

Universidad de Huánuco
Facultad de Ingeniería
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA
AMBIENTAL



TESIS

EVALUACIÓN TOXICA DEL ACEITE AUTOMOTRIZ A TRAVÉS DE PRUEBAS DE ENSAYO EN SERES VIVOS (SEMILLAS DE FRIJOL CAPSULA (*Phaseolus vulgaris*) Y TRIGO (*Triticum*)) A NIVEL LABORATORIO – AMARILIS – HUÁNUCO DEL 2019.

**Para Optar el Título Profesional de :
INGENIERO AMBIENTAL**

TESISTA

Bach. DAVILA MARTEL, Eddie Esleyther

ASESOR

Mg. CAMARA LLANOS Frank Erick

**Huánuco- Perú
2019**



UNIVERSIDAD DE HUANUCO
Facultad de Ingeniería

E.A.P. DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO
PROFESIONAL DE INGENIERO (A) AMBIENTAL**

En la ciudad de Huánuco, siendo las 16:12 horas del día 04 del mes de diciembre del año 2019, en el Auditorio de la Facultad de Ingeniería, en cumplimiento de lo señalado en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad de Huánuco, se reunieron el **Jurado Calificador** integrado por los docentes:

Mg. Johnny Prudencio Jacha Rojas (Presidente)
Mg. Elmer Riveros Asúero (Secretario)
Ing. Heberto Calvo Trujillo (Vocal)

Nombrados mediante la Resolución N° 1399-2019-O-FE-UOH, para evaluar la Tesis intitulada:

EVALUACIÓN TOXICA DEL ACEITE AUTOMOTRIZ A TRAVÉS DE PRUEBAS DE ENSAYO EN SERES VIVOS (SEMILLAS DE FRIJOL CAPSULA (Phaseolus vulgaris) Y TRIGO (TRITICUM)) A NIVEL LABORATORIO - AMARILIS - HUANUCO DEL 2019

presentada por el (la) Bachiller Eddie Esleyther DAVIDA MARTEL, para optar el Título Profesional de Ingeniero (a) Ambiental

Dicho acto de sustentación se desarrolló en dos etapas: exposición y absolución de preguntas; procediéndose luego a la evaluación por parte de los miembros del Jurado.

Habiendo absuelto las objeciones que le fueron formuladas por los miembros del Jurado y de conformidad con las respectivas disposiciones reglamentarias, procedieron a deliberar y calificar, declarándolo (a) aprobado por unanimidad con el calificativo cuantitativo de 14 y cualitativo de bueno (Art. 47)

Siendo las 17:08 horas del día 04 del mes de diciembre del año 2019, los miembros del Jurado Calificador firman la presente Acta en señal de conformidad.


Presidente


Secretario


Vocal

DEDICATORIA

A mis padres Jerry y Jesús, extendiendo expresamente mi eterno amor y cariño, quienes en base a sus consejos sabios y el esfuerzo y anegación, supieron darme la luz del sendero positivo a fin que pueda bregar en este arduo batallar, en la cual me he realizado profesionalmente tomando como precedente los valores y la ética que me permita encausarme en la lucha competitiva.

A mis hermanos Jerry y Brillis, a quienes profeso mi cariño y consideración, porque tuvieron con mi persona en darme su aliento imperecedero y que han sido ejemplos de muestras como personas profesionales y que yo he sabido encausarme en esa esa línea de acción, para ser una persona competitiva en el campo que me estoy desarrollado profesionalmente.

AGADECIMIENTO

En este pequeño espacio quiero expresar en mi dedicatoria de manera especial a mi grandes maestros que han inculcado la doctrina del saber y que me ha permito llegar a la culminación de mi carrera profesional, también extendiendo este saludo para mi asesor de tesis, amigos y otras personas que han fin de no herir susceptibilidades en que pueda incurrir en omitir algún nombre que forma particular me brindó su apoyo, expreso mi eterno agradecimiento a todos que fueron parte de mi formación profesional .

RESUMEN

La presente investigación relacionado al tema titulado “EVALUACIÓN TOXICA DEL ACEITE AUTOMOTRIZ A TRAVÉS DE PRUEBAS DE ENSAYO EN SERES VIVOS (SEMILLAS DE FRIJOL CAPSULA (*Phaseolus vulgaris*) Y TRIGO (*Triticum*)) A NIVEL LABORATORIO – AMARILIS – HUANUCO DEL 2019”, nos permitió fundamentalmente centrarnos en conocer que el aceite automotriz usado es un compuesto químico en los vehículos motorizados, cuyo producto residual viene siendo tratado con bastante minuciosidad, considerando su alta toxicidad para el medio ambiente.

Por la importancia que representa los tópicos tratados en la presente investigación, señalamos que al cogernos del marco metodológico es entendible que la investigación tiene un carácter experimental, en razón que utilizamos el método científico, conjuntamente con el enfoque cuantitativo para la cual se tuvo que relacionar el nivel investigativo explicativo.

Al interiorizarnos con nuestro marco conceptual y el aspecto metodológico por el cual hemos encaminado el trabajo investigativo, se tuvo como resultado, que al priorizar comparaciones investigativas de sobrevivencia, permitió establecer mediciones de crecimiento radicular, significando que al estar diseñado las muestra a través de las tablas empleadas tanto para el Frijol Capsula y Trigo, se mostró que las concentración de 75 000 mg/Lt ,tuvo menor sobrevivencia que las concentraciones de 10000 mg/Lt, 20 000 mg/Lt, 40 000 mg/Lt, 55 000 mg/Lt, por lo tanto con respecto al crecimiento Radicular del Frijol Capsula, se muestra que las concentraciones de 40000 mg/ Lt tiene mayor crecimiento radicular y con relación al Trigo que empleando la concentración de 20000 mg/Lt también se plantea que existe un mayor crecimiento radicular.

Palabras Clave. – aceite automotriz usado, sobrevivencia, toxicidad, concentración.

ABSTRACT

This research was related to the topic entitled “TOXIC EVALUATION OF AUTOMOTIVE OIL THROUGH TEST TESTS IN LIVING SERIES (CAPSULA COLD SEEDS (*Phaseolus vulgaris*) AND WHEAT (*Triticum*)) LABORATORY LEVEL - AMARILIS - HUANUCO – of the 2019” It fundamentally allowed us to focus on knowing that used automotive oil is a chemical compound in motorized vehicles, whose residual product has been treated quite thoroughly, considering its high toxicity to the environment.

Because of the importance of the topics covered in this research, we point out that by taking the methodological framework it is understandable that the research has an experimental nature, because we use the scientific method, together with the quantitative approach to which it had to relate the explanatory research level.

By internalizing with our conceptual framework and the methodological aspect by which we have directed the investigative work, it was obtained that, by prioritizing survival comparisons, it allowed us to establish measurements of root growth, meaning that when it is designed it shows them through Tables used for both Capsule and Wheat Bean, it was shown that the concentrations of 75,000 mg / Lt, had a lower survival than the concentrations of 10,000 mg / Lt, 20,000 mg / Lt, 40,000 mg / Lt, 55,000 mg / Lt, therefore with respect to the Radicular growth of the Capsule Bean, it is shown that the concentrations of 40,000 mg / Lt have greater root growth and in relation to the Wheat than using the concentration of 20,000 mg / Lt it is also considered that there is a greater growth radicular

Keywords. - used automotive oil, survival, toxicity, concentration.

ACRÓNIMOS

DL 50: Dosis Letal Media.

LMP: Límite Máximo Permisible.

ARA: Aceite Residual Automotriz.

BS: Bioestimulación.

FR: Fitorremediación.

BPCV: Bacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal.

DCA: Diseño Completamente al Azar.

ANOVA: Análisis de Varianza.

CTC: Concentración Tóxica Crítica.

ECA: Estándares de Calidad Ambiental.

PH: Potencial de Hidrógeno.

CE: Conductividad Eléctrica.

CL50: Concentración Letal Media.

NOAEL: Nivel Observado de Sin Efectos Adversos.

INTRODUCCIÓN

El presente trabajo de investigación intitulado: Evaluación tóxica del aceite automotriz a través de pruebas de ensayo en seres vivos (Semillas de Frijol Capsula (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum*)) a nivel laboratorio - Amarilis – Huánuco del 2019, esta encausada en el terreno de la investigación experimental que nos ha permitido buscar mecanismos que nos orienten a contar con un marco teórico consustancial, donde las muestras investigativas y resultados encontrados, ha sido de un trabajo arduo y sinuoso para plantear y validar el presente trabajo de investigación, el de monitorear el nivel de toxicidad de aceite automotriz en los seres vivos como por ejemplo en las Semillas de Frijol Capsula (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum*), para el cumplimiento de los objetivos de la investigación se elaboró los siguientes capítulos.

En el capítulo I, se formuló el planteamiento de la tesis; el cual influye la descripción del problema, formulación del problema, objetivos de la investigación, justificación, limitaciones y viabilidad de la investigación.

En el capítulo II, planteo del marco teórico que guiara las tesis; el cual inicio con la descripción de los antecedentes internacionales, nacionales y locales, principales bases teóricas, definición conceptual y la formulación de la hipótesis, variable y su operacionalización.

En el capítulo III, se analizó la metodología de la investigación para ello se definió el tipo, enfoque, alcance, diseño tipo de investigación así también se determinó la población, muestra, técnicas e instrumentos de recolección de datos y las técnicas para la presentación de los datos.

En el capítulo IV, se dio referencia a los resultados mediante el procesamiento de datos y la contrastación o prueba de hipótesis de la investigación.

En el capítulo V, se realizó la discusión de los resultados con las referencias bibliográficas.

Los cinco capítulos, explican el proceso de investigación realizado y los métodos aplicados con el propósito de evaluar toxicidad del aceite automotriz usado hacia la plantas.

ÍNDICE

DEDICATORIA	II
AGADECIMIENTO.....	III
RESUMEN.....	IV
ABSTRACT	V
ACRÓNIMOS	VI
INTRODUCCIÓN.....	VII
ÍNDICE	VIII
ÍNDICE DE TABLAS.....	X
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XII

CAPITULO I

PROBLEMA DE INVESTIGACION

1.1.DESCRIPCION DEL PROBLEMA:	13
1.2.FORMULACIÓN DE PROBLEMA:.....	16
1.3.OBJETIVO GENERAL	16
1.4.OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	17
1.5.JUSTIFICACIÓN.....	17
1.6.LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN.....	18
1.7.VIABILIDAD DE LA INVESTIGACION	19

CAPITULO II

.MARCO TEORICO

2.1.ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACION	20
2.2.BASES TEORICAS	27
2.3.DEFINICIONES CONCEPTUALES	48
2.4.SISTEMA DE HIPÓTESIS	51
2.5.SISTEMA DE VARIABLES	51
2.5.1. Variable independiente	51
2.5.2. Variable dependiente	51
2.6. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.	52

CAPITULO III
MARCO METODOLOGICO

3.1.TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	53
3.1.1. Enfoque	53
3.1.2. Nivel de investigación	53
3.1.3. Diseño de investigación	54
3.2.POBLACIÓN Y MUESTRA	54
3.3.TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	56
3.3.1. Para la recolección de datos	56
3.3.2. Para la presentación de datos.....	63
3.3.3. Para el análisis e interpretación de los datos	63

CAPITULO IV
.RESULTADOS

4.1.PROCESAMIENTO DE DATOS	67
4.2.CONTRASTACIÓN DE HIPOTESIS	73

CAPÍTULO V
DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1.CONTRASTACIÓN DE LOS RESULTADOS.....	77
CONCLUSIONES	80
RECOMENDACIONES.....	81
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82
ANEXOS.....	87

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Enzimas excretadas por las plantas y los contaminantes que pueden degradar.....	35
Tabla 2: Matriz de operación de Variables	52
Tabla 3: coordenadas donde se compró las semillas de Frijol Capsula.....	55
Tabla 4: coordenadas donde se compró las semillas de Trigo	55
Tabla 5: código de muestras, números de muestras, coordenadas de muestreo	56
Tabla 6: información básica de las muestras.....	58
Tabla 7: Características de los tratamientos.....	60
Tabla 8: Concentraciones de PPM con sus respectivas cantidades de aceite automotriz.	60
Tabla 9: En las pruebas experimentales se utilizó los equipos y materiales que se muestran en la tabla.....	62
Tabla 10: Datos descriptivos del crecimiento radicular del Frijol Cápsula (en mm), según la cantidad de aceite automotriz empleado en el experimento con pruebas de ensayo, Huánuco, 2019.....	67
Tabla 11: Datos descriptivos del crecimiento radicular del Trigo (en mm), según la cantidad de aceite automotriz empleado en el experimento con pruebas de ensayo, Huánuco, 2019.	68
Tabla 12: Datos descriptivos de la sobrevivencia de las semillas de Frijol Cápsula, según la concentración de aceite automotriz empleado en el experimento con pruebas de ensayo, Huánuco, 2019.	69
Tabla 13: Descriptivos de la sobrevivencia de las semillas de Trigo, según la concentración de aceite automotriz empleado en el experimento con pruebas de ensayo, Huánuco, 2019.....	70
Tabla 14: Comparación de la sobrevivencia del Frijol Cápsula y el Trigo según la concentración de aceite automotriz empleado en el experimento con pruebas de ensayo, Huánuco, 2019	71
Tabla 15: Prueba de Kolmogorov-Smirnov de los datos de crecimiento radicular del Frijol Cápsula y el Trigo	72

Tabla 16: Prueba de efectos Inter sujetos considerando el tipo de aceite y el cumplimiento del estándar del Cr, Pb, Cd, P y el Ba para evaluar si ocasionan diferencias en los promedios de crecimiento radicular del Frijol Cápsula.	73
Tabla 17: Prueba de efectos Inter sujetos considerando el tipo de aceite y el cumplimiento del estándar del Cr, Pb, Cd, F y el Ba para evaluar si ocasionan diferencias en los promedios de crecimiento radicular del Trigo.....	74
Tabla 18: Efectos Inter sujetos considerando el tipo de aceite, considerando como factor a la sobrevivencia, para evaluar si presentan diferencias los grupos de estudio del Frijol Cápsula en cuanto al crecimiento radicular.	75
Tabla 19: Prueba de efectos Inter sujetos considerando el tipo de aceite, considerando como factor a la sobrevivencia, para evaluar si presentan diferencias los grupos de estudio del Trigo en cuanto al crecimiento radicular.	76

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Especies vegetales utilizadas en la degradación de petróleo y sus derivados.	36
Figura 2: Ejemplo de la Curva de mortalidad (%) en una especie viva de 10 días tratados con el extracto total de alcaloides de lupino.	39
Figura 3: Los compuestos de reserva deben ser hidrolizados, hasta sus unidades fundamentales, para poder ser utilizados en el metabolismo energético de la semilla.	44
Figura 4: Fases del proceso de germinación de las semillas botánicas en general.	45

CAPITULO I

PROBLEMA DE INVESTIGACION

1.1. DESCRIPCION DEL PROBLEMA:

En nuestro planeta tierra a nivel mundial, los problemas de contaminación que se generan en el suelo se deben fundamentalmente a situaciones que se presenta con características antropogenicas, significando que el hombre hace uso y abuso de la extracción de los recursos naturales en sus diferentes características, este problema se relaciona básicamente en lo referentes a los aceite automotriz usado (hidrocarburo); ante tal situación es importante señalar que dado a la complejidad que se presentan ante un conjunto de aspectos que están implícito en el medio ambiente y que esto genera contaminación ambiental, donde es prioritario que las esferas del estado intervengan a través de los entes representativas llamase el Ministerio del Ambiental (MINAM), desarrollo sostenible, la agencia nacional sobre licencias ambientales (ANLA), y otras organizaciones representativas que conjuguen su accionar con el servicio ambiental, esto permitirá reducir o mermar el impacto negativo que el hombre actúa en contra de la propia naturaleza, en consecuencia la presente investigación se orienta a conocer el nivel de impacto de La aplicación de la toxicidad aplicado en seres vivos , significando que el grado de concentración conduce a investigar mediante un conjunto de pruebas en laboratorio, que permitan establecer las causas que generan el deteriora de las plantas específicamente en semillas de Frijol Cápsula y Trigo. De todo este enfoque que tiene la tendencia investigativa el objetivo fundamente, es determinar el problema con un carácter eminentemente holístico donde la investigación debe propiciar elementos sutiles que conlleven a madurar el trabajo exhaustivo con aplicación de metodologías que sirvan como instrumento de razonabilidad de cómo se debe aplicar las concentraciones optimas del aceite automotriz usado (hidrocarburo) hacías la plantas (de Frijol Cápsula y Trigo).

Por la importancia que significa este trabajo investigativo y dado a la magnitud de su impacto, nos conduce a incidir básicamente en efectuar estudios de mayor profundidad sin menoscabar otros aspectos que ayuden a la investigación a determinar las concentraciones que afectan a las plantas, se tiene conocimiento que somos nosotros mismos las personas que ahondamos con situaciones conflictuales con nuestro medio ambiente ósea, que el Perú al ser considerado como una país extractor de minerales y de manera particularizada con el petróleo nos conlleva a efectuar estrategias que induce a trabajos planificados a fin de evitar la contaminación agrícola y a la ves ayuda al ser humano a conocer los efectos de contaminación cuando excedemos en un mal uso de los aceite automotriz.

Por todo lo señalado líneas precedentes nos traen como resultado y discusión que el problema generado con respecto la contaminación de nuestros suelos por hidrocarburo (aceite automotriz), requiere buscar mecanismos y que a la vez permita lograr resultados en cuanto su uso, significado que el trabajo investigativo tiene la metodología experimental, en razón que esta orientador a la búsqueda de formas y métodos orientativo, donde se viene empleando diferentes medios llamase de carácter tecnológico, educativo y experimentativo, en razón que dentro de este análisis se orienta al uso de instrumentos de laboratorio que van ayudar a impulsar resultados óptimos y lograr beneficios urgen a la misma sociedad en favor de establecer una efectiva y eficiente sostenibilidad ambiental, así mismo la presente investigación permite conducir y estimular al hombre que por su desconocimiento no hace buen uso de las técnicas que se aplican para el mejoramiento continuo en la aplicación de los hidrocarburos que a las mismas serán usados racional y metodológicamente, al efectuar el análisis de mayor profundización porque lo hemos considerado a esta investigación como un problema de aplicabilidad al uso de la DL50 y que las mismas que dado a su propia naturaleza lo establezcamos como un indicador general de la toxicidad aguda de una sustancia. En razón a ello recalcamos que existen otras técnicas biológicas o modernas que están siendo monitoreadas mediante la aplicación de DL 50 varía a menudo

dependiendo del método de administración; por ejemplo, muchas sustancias son menos tóxicas cuando son administradas por diferentes vías que a medida de su buen uso generaremos una excelente administración en favor a las plantas. (Instituto Nacional de Ecología, 2003).

Hombre es un ser actuante y con su nivel de inteligencia debe ser un actor fundamental con el uso y aplicación de los bioensayos de toxicidad en semillas que la permitan evaluar los efectos adversos de la contaminación, cuando existe el mal uso de los hidrocarburo y que estos a su vez inhibe en los procesos de germinación y en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de su expansión y que este mecanismo de trabajo centrado en su accionar sirva de palanca de desarrollo en la germinación de la elongación de las radículas e hipocotíleo.

Es consecuencia es necesario resaltar que mediante la investigación nos ha permitido visualizar que en la germinación y los primeros días de desarrollo ocurren numerosos procesos fisiológicos, donde la presencia de un compuesto denominado toxico, puede interferir y alterar la supervisión y el desarrollo normal de las plántulas. La división celular de los ápices radiculares puede afectarse, retardando el procesos de mitosis o alterando el proceso n de alargamiento radicular, por lo que la toxicidad de un compuesto puede ser determinado a través de la medición que cuan incidente es su aplicación y que las mismas generan una respuesta (Uribe, 2008)

Por lo señalado y tomando los precedentes de acuerdo a los acápites señalados líneas arriba del trabajo investigativo, nos permite señalar que el gran problema generado por el impacto del uso y abuso de la toxicidad, en contra del Frijol Cápsula y Trigo, nos conduce establecer que en la actualidad venimos trabajando con respecto a este rubro con un enfoque relacionado a un efecto muy limitado y esto no ayuda a tener mejores mercados competitivos del Frijol Cápsula y Trigo, significando que los ensayos en gabinete y laboratorio es tratar de determinar cuál es el umbral de concentración que inhibe la germinación y desarrollo de las plantas, en nuestro caso, se está tratando básicamente de relacionar

la investigación en el monitoreo del Frijol Cápsula y Trigo al fin de alcanzar mejoras en el campo agrícola.

1.2. FORMULACIÓN DE PROBLEMA:

1.2.1. PROBLEMA GENERAL

¿Cuál es la toxicidad del aceite automotriz a través de pruebas de ensayo en seres vivos (semillas de Frijol Cápsula (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum*)) a nivel Laboratorio?

1.2.2. PROBLEMAS ESPECÍFICOS

- ¿Existe diferencia en el crecimiento radicular del Frijol Cápsula (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum*) al emplear diferentes concentraciones de aceite automotriz, considerando el cumplimiento de los parámetro del aceite?
- ¿Cuánto es el crecimiento radicular de las semillas de Frijol Cápsula (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum*) al emplear diferentes concentraciones de aceite automotriz?
- ¿Cuánto es la sobrevivencia de las semillas de Frijol Cápsula (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum*) al emplear diferentes concentraciones de aceite automotriz?
- ¿Es igual la sobrevivencia de las semillas de Frijol Cápsula (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum*) al emplear diferentes concentraciones de aceite automotriz?

1.3. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la toxicidad del aceite automotriz a través de pruebas de ensayo en seres vivos (semillas de Frijol Cápsula (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum*)) a nivel Laboratorio.

1.4. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la diferencia en el crecimiento radicular del Frijol Cápsula (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum*) al emplear diferentes concentraciones de aceite automotriz, considerando el cumplimiento de los parámetro del aceite.
- Describir cuanto es el crecimiento radicular de las semillas del Frijol Cápsula (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum*) al emplear diferentes concentraciones de aceite automotriz.
- Describir cuanto es la sobrevivencia de las semillas del Frijol Cápsula (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum*) usando diferentes concentraciones de aceite automotriz.
- Comparar la sobrevivencia de las semillas del Frijol Cápsula (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum*) al emplear diferentes concentraciones de aceite automotriz.

1.5. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación se justifica en razón a la necesidad de tratar de conocer y medir los niveles de toxicidad con relación al aceite automotriz en las semillas Frijol Capsula y Trigo, significando que esta medición también permitirán efectuar la aplicación de instrumentos en los procesos determinando protocolos de toxicidad y que a través del uso de laboratorio nos guíemos para encontrar muestras de suelo más efectivas y que retribuyan a la germinación de las semillas del Frijol Cápsula y Trigo para el muestreo de suelos, así mismo este bioensayo es una prueba que se expone para medir las semillas y determinar clasificadamente los extractos de suelo problema, y posteriormente se tratara de encontrar su incidencia inhibitoria de la germinación y del crecimiento temprano de las semillas y a su vez también se posibilitara el grado de producción que genera este experimento en su nivel de incidencia mayor, que utilizando estas herramientas durante el proceso de toxicidad sobre las semillas de Frijol Cápsula y Trigo ayudaran encausar una mejor metodología de aplicabilidad, e incluso la forma de monitorear el nivel del compuesto de

aceite automotriz usado (hidrocarburo), también nos permitirá determinar cuál es el grado de implicancia que afecta a las semillas, significando que la toxicidad puede ser un componente nocivo para el crecimiento óptimo de la semillas de Frijol Cápsula y Trigo es por ello utilizando la metodología experimental, podremos utilizar una racional dosis. Es por ello que el presente trabajo de investigación se justifica, porque a través ella identificaremos el estándar óptimo que las semillas requiere para su existencia, en el terreno de mayor productividad a nivel local, regional y nacional, en consecuencia se entiende que la toxicidad es un componente químico nocivo para las semillas, y que las mismas a través de un mal uso en su aplicabilidad vienen generando atrasos relevancia en el impacto ambiental, y es probable al no darle la debida importancia por el mismo desconocimiento de su nivel de impacto, va causar siempre situaciones problemáticas, en su debido desarrollo a la vegetación que se relaciona a la parte agrícola, forestal, pecuaria y de conservación, residencial y recreativa; e Industrial y comercial.

En el campo de la agrícola, por lo tanto es importante conocer y buscar los mecanismos que propicien su merma y que a través los cuales se han vertido sobre los suelos durante décadas, debido a un inadecuado manejo e insuficiente sensibilización ambiental. Como consecuencia, dichos suelos han reducido considerablemente su capacidad natural para sostener a una gran variedad de organismos vivos (plantas) y que han restringiendo su capacidad original, de ser receptivas y fructíferas, donde el suelo por su excesivo mal uso no puede germinar su desarrollo a niveles productivos.

1.6. LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN

Al enfocar de manera profunda el trabajo investigativo de lo que pretendemos lograr sobre la medición de la toxicidad con relación al aceite automotriz en la inhibición de los procesos de germinación de las semillas de Frijol Cápsula y Trigo en el distrito de amarilis, nos permitirá encausar una labor bastante compleja y tediosa, porque en ella influirán problemas aleatorios de diferentes características donde básicamente la

investigación nos llevara al terreno investigativo y razón a ello detallamos las limitaciones que afrontaremos en el desarrollaremos en el proyecto de investigación:

- Que las semillas de germinación en su etapa de plántula pueden ser de crecimiento lento ya qué medida que vayamos experimentando en este proceso, el factor tiempo y el espacio se sujetaran a ciertos contratiempos que de acuerdo a nuestro medición se prologaran en el cronograma establecido.
- Es importante señalar que el otro aspecto limitativo será el factor económico, en razón que los costos abarcaran de manera significativa mayores egresos de lo planificado en la parte económica de la investigación.
- Por la naturaleza misma de la investigación, otro de los factores puntuales en la parte investigativa del presente proyecto, podemos considerar la supervisión que efectuaremos, situación que permitirá llevar un control óptimo para obtener el nivel toxicidad y que esto nos sirva como instrumento en cuanto al desarrollo de la medición en el proyecto investigativo.

1.7. VIABILIDAD DE LA INVESTIGACION

La investigación es viable por cuanto se cuenta con el soporte técnico necesario, a cargo del Laboratorio de Biotecnología de la Universidad de Huánuco, que tiene el equipamiento necesario e insumos, como reactivos requeridos para el desarrollo de la tesis.

CAPITULO II

MARCO TEORICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACION

2.1.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES

Cisneros *et al*, (2016). México. “Bioestimulación de suelo contaminado con 10000 ppm de aceite residual automotriz y fitorremediación con *Cicer arietinum* potenciado con *Bacillus cereus* y *Rhizobium etli*”

Hoy en día vivimos en un proceso de cambio, donde interactuamos a través de la cibernética en un mundo globalizado, y como consecuencia de ello urge que propiciemos mecanismos estratégicos que ayuden a mermar, la incidencia de contaminación de suelo aceite residual automotriz (ARA) por lo tanto esto muchas veces a una disminuye su productividad donde que a través del análisis y el estudio investigativo alcancemos propuestas que ayuden a mejorar y a superar contingencias contaminantes del suelo. Por tal motivo una alternativa para su eliminación es la bioestimulación (BS) con un abono animal y posterior fitorremediación (FR) con una leguminosa potenciada con bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV), para reducirlo a nivel inferior al límite máximo permisible (LMP) de 4400 ppm de acuerdo con la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 (NOM-138) que es una norma mexicana establecida. Es importante resaltar que a fin de propiciar lineamiento que ayuden a buscar soluciones a través de los objetivos de la investigación a merita acercarnos a la: i) bioestimulación de un suelo contaminado con 10000 ppm de aceite residual automotriz con lombricomposta y ii) ulterior Fitorremediación con *Cicer arietinum* y *Bacillus cereus* /*Rhizobium etli*. En la bioestimulación del suelo la variable respuesta fue la concentración del aceite residual automotriz, mientras en la fitorremediación la fenología y biomasa de C.

arietinum y la concentración del Aceite Residual automotriz remanente. Sobre el presente caso investigativo se a podido lograr que los resultados mostrados que en suelo Bioestimulado con lombricomposta al 3% en 3 meses el aceite residual automotriz se disminuyó que el aceite residual automotriz que oscila a una concentración de 1370 ppm. En tanto que la FR con C. arietinum y R. etli, se redujo el aceite residual automotriz hasta 30 ppm, ambos valores inferiores al máximo permitido por la NOM-138.

Pérez *et al*, (2015). Ecuador. “*Evaluación de la Fitotoxicidad de Aceite Automotriz Usado con Vicia faba Y Phaseolus coccineu.*”. al interiorizarme en el trabajo investigativo me he permitido cogermme de algunos autores, caso específico del autor señalado líneas precedentes, quien de su estudio también de carácter investigativo hace referencia, de preceptos metodológicos que están siendo comparadas con el trabajo del cual vengo desarrollando en razón a ello de manera particular, la investigación se correlaciona con los aceites lubricantes automotrices usados que representan, uno de los contaminantes más recalcitrantes por su larga permanencia y lento proceso de degradación. En consecuencia dado a la necesidad investigativa representan una urgencia que me van servir para evaluar el nivel de toxicidad de este tipo de residuos. Por tal motivo mi trajinar en este campo nos demuestra que encontrando una respuesta vamos a tener dos seres vivos vegetales: Vicia faba y Phaseolus coccineus, durante su desarrollo, al crecer en suelo contaminado con aceite automotriz usado, se había efectuado el debido monitoreo con sus parámetros temperatura, pH y humedad del sustrato a lo largo del proceso de crecimiento de ambas especies. Tambiente se visualizó que dándole un mayor porcentaje de germinación en las plántulas de P. coccineus (78 %), sus variables se determinó que el monitoreo de toxicidad para estos tipos especies (altura de la planta, grosor del tallo, longitud

radicular, volumen radicular y concentración de clorofila) no demostraron diferenciaciones muy significativas entre las variables denominado tratamientos de suelo con aceite usado y el suelo testigo ($p \leq 0.05$). este diagnóstico de correlación no visualiza que las variables más relacionadas fueron altura y longitud radicular ($R^2 = 0.74$) y longitud radicular y volumen radicular ($R^2 = 0.85$). donde trabajaron concentraciones de hidrocarburos iniciales que fueron mayores de 55 000 mg/kg lo que le asiste a este efecto fracciones pesadas de pesadas de hidrocarburos siendo para ello La especie que tuvo mayor tolerancia a las concentraciones de aceite de *P. faba* y *P. coccineus*.

Ignacio *et al*, (2018). México. “*Biorrecuperación de suelo contaminado por 75,000 ppm de aceite residual automotriz y evaluado con Lactuca sativa como bioindicador*”, a fin de dar consistencia a este proceso investigativo tuvimos a recurrir a concentraciones muy altas como 75,000 ppm de aceite residual automotriz, que a las mismas nos generó una alta concentración de hidrocarburos alifáticos, aromáticos y trazas de metales pesados; que dado al efecto de proceso investigativo se tuvo que considerar que el monitoreo de un residuos genera peligro porque así lo determina las leyes mexicanas de regulación ambiental, en razón que las consecuencias que pueden presentarse como pérdida de fertilidad e inhibe la vida microbiana. Al tomar como precedente la ciudad de México, establece que la máxima concentración permitida de aceite residual automotriz en el suelo es de 4,400 ppm acorde con la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2003. Según la investigación si es superior a 35000 ppm se realizara los métodos para remediar a través de métodos químicos con la desventaja de reducir esta sustancia toxica del ambiente, una opción en esta investigación es realizar una ecológica de bioestimulación (BIS) de un suelo contaminado con una solución mineral (SOMI) cuya composición química enriquece

el suelo con nutrientes inorgánicos y orgánicos de nitrógeno (N), fósforo (F), potasio (K). Al tomar como referencia la base de lo anterior planteamiento hemos encontrado objetivos de investigación que de acuerdo a su razonabilidad son lo siguiente: a) bioestimular un suelo contaminado por 75,000 ppm de aceite residual automotriz, utilizando detergente, solución mineral, lombricomposta, *Phaseolus vulgaris* como abono verde y Peróxido de hidrógeno y b) demostrar la biorremediación del suelo mediante la siembra de *Lactuca sativa*. En el suelo, la respuesta variable de la bioestimulación fue determinada por la concentración inicial y final de aceite residual automotriz por el método de Soxhlet; Para evaluar la biorremediación, se sembró *L. sativa*, registrando la fenología de la plántula: como altura de la planta y longitud de la raíz; biomasa: peso aéreo / radical fresco y seco.

2.1.2. ANTECEDENTES NACIONAL

Buendía *et al*, (2014). Lima, "*Fitorremediación de Suelos Contaminados por Hidrocarburos de Petróleo.*". esta investigación nos permite señalar que dado al uso de las plantas constituye un método investigativo de carácter experimental, en razón que al utilizar muestras logradas del suelo con compuestos orgánicos o inorgánicos, nos indica que utilizar a la planta de girasol *Helianthus annuus* L, a fin que el estudio planteado se perciba su reacción con el contaminante de hidrocarburo, indicando que la capacidad de planta a crecer, se ha absorbida y acumulada sobre la base de metales pesados como pueden ser el plomo en sus tejidos, significando que la investigación fue realizada tuvo como impacto experimentativo llevado a cabo en el Laboratorio de Fertilidad de la Universidad Agraria La Molina, del cual se pudo apreciar que el monitoreo tuvo un espacio de duración fue 60 días. Y así mismo se efectuaron cálculos como pudo ser el diseño estadístico efectuado al azar sobre la base de tres repeticiones.

Esto permitió según el análisis investigativo que sus muestras aleatorias fueron adquirida de la refinería Maple Gas – Pucallpa acompañado de sus acondicionadores como: humus de lombriz, aserrín de bolaina blanca y perlita blanca; y planta fitoextractora, el girasol *Helianthus annuus* L. donde sus resultados y sus prueba por cálculos estadísticos arrojaron que el tratamiento T4 (suelo contaminado más humus y aserrín de bolaina) y el tratamiento T6 (suelo contaminado más humus y perlita) se alcanzaron un mejor desarrollo en altura y peso seco de los tejidos de la planta (raíz, tallo y hojas).

Caceda, (2016). Tacna, *“Determinación de la Concentración de la Inhibición Media (CE50-96) y el Efecto Fitotóxico del Arseniato de Sodio ($\text{NaH}_2\text{AsO}_4\text{H}_2\text{O}$) en *Lactuca Sativa* (Lechuga) Mediante Bioensayos, en la Provincia de Tacna”* en esta investigación trabajaron de determinar el efecto que causa el arsénico (As) en concentraciones elevadas, teniendo como referencia que las fuentes de aguas superficiales de Tacna superan los límites permisibles, cuyo objetivo fue determinar la concentración de inhibición media (CE50-96) y el efecto fitotóxico del arsénico en *Lactuca sativa* (lechuga) mediante bioensayos, haciendo uso del compuesto arseniato de sodio ($\text{NaH}_2\text{AsO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$) para la experimentación. La realización de bioensayos se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Tacna. Donde el experimento se desarrolló en condiciones de laboratorio mediante una prueba estática de toxicidad aguda (por 96 horas de exposición), con un diseño completamente al azar (DCA), un análisis de varianza (ANOVA) y el uso de la prueba de Dunnett. El bioensayo que desarrolló siguiendo el protocolo empleado por Castillo (2004), que constó de un bioensayo preliminar y ensayo definitivo. Donde para el ensayo preliminar se sometieron a 5 concentraciones de arseniato de sodio (0,01 %; 0,1 %; 1,0 %; 10 % y 100 %) además de un

control (testigo) con 3 repeticiones por tratamiento, con un total de 18 placas de Petri con 20 semillas cada una, haciendo un total de 360 semillas. Mientras que para el ensayo definitivo se sometió a 6 tratamientos (concentraciones de 0,1 mg/L; 5 mg/L; 10 mg/L; 50 mg/L; 100 mg/L y 150 mg/L), además de un control (testigo), con 6 repeticiones, con un total de 42 placas de Petri, con 20 semillas en cada una, haciendo un total de 840 semillas. Evaluándose el porcentaje de inhibición, crecimiento de la radícula e hipocótilo respecto al control. Determinándose que la concentración de inhibición media (CE50-96) del arseniato de sodio en la germinación de *Lactuca sativa* (lechuga) fue de 16,72 mg/L, la CE50-96 para el crecimiento de la radícula fue de 0,96 mg/L, mientras que la CE50-96 para el crecimiento del hipocótilo fue de 4,1 mg/L. Así mismo, se establecieron síntomas de fitotoxicidad, inhibición en la germinación y crecimiento de *Lactuca sativa*, reducción de la elongación radicular o del hipocótilo, ausencia de pelos absorbentes, reducción de ensortijamiento, clorosis en hojas y necrosis en distintas áreas de la plántula, en los tratamientos (concentraciones de As). Se encontró que a mayor concentración de arsénico, mayor será el efecto tóxico en vegetales.

2.1.3. ANTECEDENTES LOCAL

Vargas, (2018). Tingo María. “*Determinación de la Toxicidad en Suelos Contaminados por Hidrocarburos Mediante Bioensayos con Semillas de Lechuga (*Lactuca sativa* L.), Cebolla (*Allium cepa* L.) Y Rabanito (*raphanus sativus* L.)*”. con respecto a este asunto relacionado al trabajo centrado a la investigación se pueden conceptualizar, que la parte conceptual de hidrocarburos efectuados en la tierra nos permite señalar que su trabajo desarrollado está relacionado con el método conocido Soxhlet de ella se desprende que este autor ha realizado básicamente tres actos repetitivos, desde el inicio de su investigación que le

permitió extraer líquido contaminante de una muestra sólida, con la finalidad de obtener la veracidad de sus resultados aceptables. Al cumplir sus tres procesos repetitivos se alcanzó que el hidrocarburo de su muestra fue lograr su resultado desde el suelo.

En consecuencia si tomamos como precedente el estudio realizado en el laboratorio como fitotoxicidad de daño de concentración de hidrocarburo; nos demuestra que las acciones calculadas sobre el análisis físicos-químicos tienen incidencia de niveles de pH en suelo contaminado son superior al del extracto de suelo, también este experimento sucede con la temperatura, pero no con la conductividad que es elevada en el extracto del suelo. En este procesos investigativo desarrollado se extrajo un aliziz toxicológico también se percibe que trabajo con las tres especies que son: LECHUGA (*Lactuca sativa* L.), CEBOLLA (*Allium cepa* L.) Y RABANITO (*Raphanus sativus* L.), significando de esta metodología podemos enfocar comparativamente que han existido 7 tratamientos donde la comparación efectuada e estas especies germina más rápido, observando la parte porcentual de germinación que nos indica que el Rabanito adiciona un porcentaje mayor de germinación, que la misma es secuenciado con la lechuga y concluyendo con la cebolla, siendo este último caso que nos muestra no se ajusta con el rango de germinación señalado.

Mirabal, (2016). Huánuco. *“Determinación de Concentraciones Tóxicas Críticas de Plomo, que Inhiben el Proceso de Germinación y Posterior desarrollo Radicular en semillas de Frijol Cápsula en condiciones de laboratorio”* en este trabajo de investigación hizo la “determinación de la concentración tóxica crítica (CTC) de plomo, que inhiban sobre el proceso de germinación y posterior desarrollo radicular en semillas de Frijol Cápsula en condiciones de laboratorio”, la cual tomo como referencia los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo

DECRETO SUPREMO N° 002-2013-MINAM, donde estipula la concentración de 70mg/kg para plomo total en los suelos, lo cual muchas de las plantas absorben confundiendo con algún micronutriente esencial para su metabolismo, la metodología que se utilizo es calcular la concentración toxica critica (CTC), consiste en la preparación de una solución madre que tendrá 100 ppm (100 mg de plomo / litro), de la cual partió a soluciones de menor concentración; las concentraciones que utilizo para la determinación de la concentración toxica critica producida por el plomo sobre las semillas de frijol, fueron entre 100 ppm y 4 ppm (100ppm, 70ppm, 30ppm, 20ppm, 15ppm, 10ppm, 8ppm, 6ppm, 4ppm). Posteriormente lo sembró colocando en cada placa de Petri 6 recortes circulares de papel filtro, asignar aleatoriamente las diluciones de plomo a las distintas placas e identificarlas correctamente, dejando que germine por 5 días, de donde se realizó su conteo de sus semillas germinadas, midiendo el crecimiento de las raíces, y luego realizar los cálculos para determinar el resultado de que concentraciones son altamente toxicas para las plantas.

2.2. BASES TEORICAS

2.2.1. Concepto de las Semillas de Frijol Capsula (*Phaseolus Vulgaris*) y semillas de Trigo (*Triticum*)

Dice que el frijol es una de las principales leguminosas de grano alimenticio en el mundo. Tiene un alto contenido de proteína (18-23%) y es comparativamente rico en aminoácidos esenciales (lisina y triptófano). El frijol sin embargo, se siembra generalmente como un cultivo secundario, para autoconsumo, en lotes pequeños en asociación o seguido por uno principal. (CAMARENA, 1999).

Refieren que las dos familias vegetales más cultivadas e importantes por su consumo a nivel mundial son las gramíneas (arroz, maíz, trigo, etc.) y las leguminosas (fréjol, soya, maní, etc.). El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) se utiliza en la alimentación humana,

en forma de vainas inmaduras (vainitas) y granos tiernos o secos; en nuestro medio es un componente básico de la canasta familiar. Su alto contenido de proteínas en estado seco (22 %) y carbohidratos, contribuyen a mejorar la dieta de la alimentación humana. (GUAMAN, 2004)

Así mismo afirma que el trigo es uno de los cultivos más antiguos que se conocen y su historia se confunde con la agricultura. Se le cree originario de las zonas próximas a los ríos Tigris y Éufrates, en Asia occidental. De hecho, actualmente la mayor diversidad genética en trigos se encuentra en Irán, Israel y zonas limítrofes. En cuanto a su panificación, Egipto fue el primer lugar donde se practicó. Desde las zonas de Oriente Próximo, el trigo se extendió al resto del mundo. A España llegó alrededor del año 4000 años a.C., y en América lo introdujo Hernán Cortes en las épocas iniciales del proceso de colonización española. (LOPEZ, 1991)

2.2.2. Temperatura para la Germinación

Indica que la planta de frijol crece bien en temperaturas promedio entre 15 y 25 °C. En términos generales, las bajas temperaturas retardan el crecimiento, mientras que las altas causan una aceleración. Las temperaturas extremas (5° C o 40° C) pueden ser soportadas por períodos cortos, pero por tiempos prolongados causan daños irreversibles. (RIOS, 2002)

En cambio la temperatura para el trigo óptima es de 20 - 25 °C sin embargo, el trigo puede germinar en un rango de 1 a 35 °C a temperaturas más altas, el endospermo puede descomponerse por la acción de bacterias u hongos del suelo. (JARA, 1993)

2.2.3. Cultivo de células y tejidos vegetales: generalidades

Debido al incremento de la población mundial, en los últimos años se ha acentuado el interés por la biotecnología vegetal con el propósito de producir alimentos, mejorar cultivares, adaptarlos a diferentes condiciones climáticas y edafológicas y obtener metabolitos de interés comercial (PÉREZ, 1998).

En este contexto, el cultivo de tejidos vegetales ha merecido

especial atención debido a que comprende un grupo heterogéneo de técnicas que permiten el cultivo en condiciones asépticas de órganos, tejidos o células en un medio de composición química definida e incubados en condiciones ambientales controladas (PÉREZ , 1998).

Las razones que determinan que el cultivo in vitro de células y tejidos vegetales constituya una tecnología interesante para la producción de plantas y productos naturales de interés, son las siguientes:

- la producción de plantas de sanidad controlada, lo que permite incrementos en los rendimientos.
- la independencia del clima, suelo, distribución geográfica y problemas socio-políticos.
- la capacidad de establecer un sistema de producción definido, en relación a las demandas del mercado.
- el cultivo de especies no domesticadas y/o difíciles de cultivar a campo.
- la conservación del germoplasma de plantas de interés comercial o en vías de extinción.
- la posibilidad de establecer programas de mejoramiento genético, más rápidos que en los cultivos tradicionales, por técnicas biotecnológicas e ingeniería genética.
- la producción de compuestos químicos conocidos provenientes de plantas de crecimiento lento o difícil de obtener por extracción o por síntesis química.
- la síntesis de nuevos productos químicos expresados únicamente en los cultivos in vitro.
- la obtención de enzimas y sistemas de biotransformaciones para ser usados solos o combinados con síntesis química.
- la producción de plantas transgénicas resistentes a patógenos, a herbicidas o a estrés abiótico, con mejor calidad nutricional, que actúen como biorreactores en la producción de proteínas, carbohidratos o lípidos o que secuestren

metales pesados de suelos contaminados, entre otras aplicaciones.

2.2.4. Raíz de Frijol Capsula (*Phaseolus Vulgaris*) y semillas de Trigo (*Triticum*)

El sistema radical del frijol consta de una raíz principal y muchas ramificaciones laterales dándole la forma de un cono; como en todas las leguminosas, el frijol hace simbiosis con bacterias del género *Rhizobium*, formando nodulaciones de tamaños muy variados. Estas nodulaciones reciben de la planta hidratos de carbono, pero tienen la propiedad de fijar el nitrógeno del aire del suelo, el cual es cedido en una buena proporción a la planta (Calvo, 2004)

En cambio el trigo es un órgano fibroso, formado por raíces adventicias, raíces permanentes y raíces primarias. Las raíces permanentes nacen después de emerger la planta en el suelo. Las raíces adventicias son los que nacen después de los nudos que están cerca de la superficie del suelo y su objetivo es darle suficiente sostén para la planta por las inclemencias del tiempo. Las raíces primarias hacen la absorción de nutrimentos y agua del suelo para completar el ciclo del cultivo (CRUZ ,1991).

2.2.5. Los Hidrocarburos

Conocidos como sustancias naturales originadas a partir de algas acuáticas establecidas durante millones de años, gracias a la materia orgánica formada en la superficie de la tierra, proceso iniciado con la fotosíntesis, la cual hace parte del ciclo del carbono; y a través del tiempo geológico este aporte ha producido grandes cantidades de materia fósil. Dichas sustancias están conformadas principalmente de compuestos con diferente solubilidad, volatilidad, y debido a que son formadas únicamente por átomos de carbono e hidrógeno son compuestos orgánicos susceptibles para ser biodegradados, ya sea eliminados o transformados en sustancias menos tóxicas tanto en suelos como en cuerpos de

agua contaminadas, permitiendo de este modo el análisis de estudios con el fin de diseñar estrategias fitorremediadoras para contribuir con su degradación y por ende con la descontaminación de los suelos y agua (YAVARÍ *et al.*, 2015; citado por VELASQUEZ, 2018).

Hidrocarburos Acíclicos Saturados

Llamados también parafínicos, del griego parum, pequeña, y affinis, afinidad. Se les nombra así porque no reaccionan fácilmente con otros compuestos. Su fórmula general es C_nH_{2n+2} . Hidrocarburos de esta serie son el metano (CH_4), el etano (C_2H_6) y el butano (C_4H_{10}), y son los principales componentes de los gases del petróleo (ATLAS y BARTHA, 1998).

Hidrocarburos cíclicos Saturados o Naftenicos

De fórmula general C_nH_{2n} ; ejemplos: el ciclopentano (C_5H_{10}) y el ciclohexano (C_6H_{12}). La gran mayoría de estos compuestos tienen una serie de constituyentes de importancia menor y, a semejanza de los isoprenoides, también están formados por precursores específicos, sea de plantas o de animales. Además, son empleados como “marcadores moleculares”, de gran uso e importancia en estudios geoquímicos y de comportamiento de derrames (ATLAS y BARTHA, 1998).

Hidrocarburos Cíclicos No Saturados

Mejor conocidos como hidrocarburos aromáticos, cuya fórmula general es C_nH_{2n-6} . El compuesto más simple de esta serie es el benceno (C_6H_6), que tiene seis átomos de carbono unidos por dobles ligaduras alternadas formando un anillo. Estos hidrocarburos por lo general están constituidos por poliaromáticos, que son varios anillos bencénicos unidos entre sí y se encuentran principalmente en las fracciones pesadas, por ejemplo en asfaltenos y parafinas (ATLAS y BARTHA, 1998).

2.2.6. Aceite Automotriz

El aceite de motor es un lubricante muy importante que se usa en motores de combustión interna. Entre ellos se incluyen automóviles, motocicletas, autobuses, vehículos comerciales, karts, botes, cortacéspedes, tractores, trenes, aviones, diversos equipamientos para la construcción y la agricultura y motores estáticos como generadores eléctricos. En los motores hay componentes que se mueven a distancias muy reducidas con desgaste de los componentes, desembocando en una reducción de la eficiencia y en una degradación del motor. Esto, a su vez, supone un aumento del consumo de combustible, reduce la potencia del motor y puede, en casos extremos, causar una avería irreversible del motor (DIRIND, 2016)

El aceite lubricante crea una película separadora entre las superficies móviles adyacentes para minimizar el contacto directo, el desgaste y la producción de calor, protegiendo así al motor y alargando su vida. Gracias a la buena conductividad de calor del aceite, al ponerse en contacto con una superficie caliente, absorbiendo parte del calor para transmitirlo a otro sitio, normalmente al aire o a un disipador de algún tipo. (DIRIND, 2016)

Mecanismos del Consumo de Aceite

Dos son las razones básicas por las que se produce el consumo del aceite lubricante en el motor:

- Debido a pérdidas del fluido en diferentes puntos: a través de las diferentes juntas, respiraderos, orificios de indicador de nivel y de llenado de aceite, etc.
- Por la combustión del aceite que pasa entre pistones y cilindros y entre las varillas y guías de las válvulas hacia la cámara de combustión.

El consumo por fugas o pérdidas de diversa naturaleza está relacionado con el diseño del motor y con sus condiciones de utilización (circulación por carreteras accidentadas, elevado régimen medio del motor, nivel de aceite demasiado alto), así

como el mantenimiento efectuado (BERNARDO, 2006).

Características del Aceite que tienen Influencia Sobre su Consumo.

Las características principales del aceite que tienen influencia en el consumo son: la volatilidad, la viscosidad y la variación de la viscosidad con la temperatura (índice de viscosidad).

Parece lógico pensar que aceites más volátiles, esto es, con mayor facilidad para dejar evaporar las fracciones más ligeras de los mismos, van a presentar un mayor consumo del mismo en el motor. Utilizando como parámetro representativo de la volatilidad del aceite el punto de inflamación del mismo, aunque este no sea un parámetro excesivamente preciso como medida de la volatilidad del aceite se ha comprobado que aceites de igual viscosidad sobre ensayos en motor en banco muestran la tendencia anteriormente mencionada (BERNARDO, 2006).

Análisis o Ensayo

Este método permite determinar las propiedades de un aceite usado a partir de su dispersión sobre un papel absorbente. Las distintas partículas presentes en el lubricante son arrastradas por el frente de la mancha, pudiéndose determinar tanto los contaminantes del aceite como las propiedades de detergencia del lubricante.

Se realizan los ensayos a la temperatura ambiente, 20°C, para tener una idea del comportamiento del lubricante a la temperatura del arranque en los puntos críticos. El ensayo también se puede realizar a 200°C que es la temperatura crítica que soporta el lubricante en el motor, no obstante, el proceso analítico y los resultados son similares para ambas temperaturas. Normalmente se opta por el ensayo a temperatura ambiente dado la dificultad de calentar el aceite hasta los 200°C en taller con equipos portátiles. (BERNARDO, 2006).

Clasificación de una Base Lubricante.

Los componentes básicos de un lubricante son: la base y los aditivos. A ellos hay que añadir los materiales auxiliares como el

envase, tapón y etiqueta que si bien no intervienen en la formulación del producto juegan un papel fundamental en la puesta a disposición del cliente. Las bases lubricantes utilizados en la formulación de los aceites y grasas son de varios orígenes:

Bases minerales de crudo de petróleo, las cuales se clasifican a su vez en:

- Bases minerales convencionales y
- Bases hidrocraqueadas.
- Bases sintéticas: ésteres, hidrocarburos sintéticos (poli- α -olefinas, poliisobutenos) y polioxietilenos.
- Bases regeneradas a partir de aceites usados. Actualmente todos los lubricantes han de contener un 15% de bases regeneradas.
- Bases naturales: aceite de colza, girasol, etc

2.2.7. El Papel de las Plantas en la Degradación

Según HERNÁNDEZ *et al.* (2004), mencionan que las plantas participan indirectamente en la degradación de los hidrocarburos del petróleo en los siguientes metabolismos:

Las enzimas excretadas en la rizófora de las plantas fitorremediadoras juegan un papel fundamental en la degradación de los compuestos orgánicos. La dehalogenasa, nitroreductasa, lacasa y nitrilasa pueden degradar contaminantes de origen orgánico. Las enzimas peroxidasas también degradan contaminantes, pero no existen reportes que indiquen cuál tipo de contaminante degradan.

Efectos de las plantas sobre las condiciones físico-químicas del suelo. Las plantas y sus raíces pueden influir indirectamente en la degradación de contaminantes, alterando las condiciones físicas y químicas del suelo. La exploración del suelo permite una mayor interacción (contacto) entre las plantas, los microorganismos y los contaminantes. Las plantas también proveen de materia orgánica al suelo, aun después de morir.

Tabla 1: Enzimas excretadas por las plantas y los contaminantes que pueden degradar

Enzima excretada	Estado de desarrollo	Contaminante degradado
Nitroreductas a	Ensayos en campo Plantas crecidas en sustratos a nivel de laboratorio	TNT, dinitromonotolueno y mononitrodiaminotolueno. Nitrotolueno, dinitrotolueno, nitrofenoles, dinitrofenoles, trinitrofenoles, nitrobenzanos, nitrobenzenos clorinados, RDX
Lacasa	Ensayos en campo	Triaminotolueno
Dehalogenas a	Plantas crecidas en sustratos a nivel de laboratorio	Etileno, metileno, hexacloroetano, percloroetileno, TCE, dicloroetileno, cloroformo.
Nitrilasa	Plantas crecidas en sustratos a nivel de laboratorio	4 - clorobenzonitrilo

Fuente: BOYAJIAN y CARREIRA (1997).

Los exudados son el enlace entre las plantas y los microorganismos que conducen al efecto rizosférico. El tipo y cantidad de exudados radicales dependen de la especie de planta y del estado del desarrollo de la misma; así, se ha encontrado que las plantas de mora (*Morus rubra*) liberan mayor cantidad de compuestos fenólicos cuando la planta es joven en comparación con la liberación que ocurre durante su estado senescente. El lugar y los factores del tiempo, además del tipo de suelo, nivel de nutrimentos, pH, disponibilidad de agua, temperatura, estado de oxígeno, intensidad de luz y concentración de CO₂ en la atmósfera, afectan significativamente el tipo y cantidad de exudados radicales (HERNÁNDEZ *et al.*, 2004).

Nombre común	Nombre científico	Petróleo o derivado y su concentración	Referencia
Pasto	<i>Panicum miliaceum</i>	Petróleo 20 000mg/kg	Breus <i>et al.</i> (2001)
Pasto alemán	<i>Echinochloa polystachya</i>	Petróleo 115 211 a 322 841 mg/kg	Rivera (2001)
Maíz	<i>Zea mays</i>	Petróleo crudo 25 000 mg/kg	Quiñones <i>et al.</i> (2001)
Pasto	<i>Panicum sp.</i>	Petróleo 1 500 a 3 500 mg/kg	Hernández <i>et al.</i> (2000)
Rábano	<i>Raphanus sativus</i>	Pireno 81 mg/kg	Hangs y Alexander (2000)
Mimosa	<i>Chamaecrista nictilans</i>	Hidrocarburos totales del petróleo	Hernández <i>et al.</i> (2000)
Fescue	<i>Festuca arandinaea</i>	Naftaleno 0.5 a 5 mg/kg	Schawab <i>et al.</i> (1998)
Alfalfa	<i>Medicago sativa</i>	Petróleo 20 g/kg	Wiltse <i>et al.</i> (1998)
Frijol	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Keroseno (0,500,2500 y 5000 mg/kg)	Hernández <i>et al.</i> (1998)
Girasol	<i>Helianthus annus</i>		
Trigo	<i>Triticum aestivum</i>	Petróleo 6000 a 12000 mg/kg	Chaineau <i>et al.</i> (1997)
Trébol	<i>Trifolium repen</i>		
Frijol	<i>Phaseolus vulgaris</i>		
Maíz	<i>Zea mays</i>	Petróleo 10 000 a 30 000 mg/kg	Nichols <i>et al.</i> (1996)
Ryegrass	<i>Lolium perenne</i>	Mezcla de hidrocarburos 5000 mg/kg	Gunther <i>et al.</i> (1996)
Cebada	<i>Hordeum vulgare</i>		
Chícharo	<i>Pisum arvense</i>	Petróleo 55g/kg	Xu y Johnson (1995)
Soya	<i>Gycine max</i>	Benzo pireno y antraceno 2 a 10 mg/kg	Goodin y Webber (1995)
Col	<i>Brassica oleracea</i>	PAH totales 17.2 mg/kg	Wild y Jones (1992)
Zanahoria	<i>Daucus carota</i>		
Tubérculo de papa	<i>Solanum tuberosum</i>		
	<i>Andropogon gerardi</i>		
	<i>Sorghastrum nutans</i>		
Pastos	<i>Panicum virgatum</i>	30 ug PAH	Wild <i>et al.</i> (1992)
	<i>Elymus canadensis</i>		
	<i>Bouteloua curtispindula</i>		
	<i>Agropyron smithii</i>		
Espinaca	<i>Spinacea oleracea</i>	Benzopireno 12 a 20 ug/Kg	Edwards (1983)
Lechuga	<i>Lactuca sativa</i>		
Avena	<i>Avena sativa</i>	PAH 8-1,324 ug/Kg	

Figura 1: Especies vegetales utilizadas en la degradación de petróleo y sus derivados.

2.2.8. Toxicidad

Se define toxicidad como los efectos adversos que causan en un organismo los contaminantes, generalmente un veneno o la mezcla de venenos. La toxicidad es el resultante de la concentración y del tiempo de exposición, modificado por variables como la temperatura, formas químicas y disponibilidad (APHA, 1992).

Toxicidad aguda

Es causada generalmente por la exposición a una dosis grande de un compuesto tóxico por un período de tiempo corto. Un efecto rápido se produce en los organismos, generalmente muerte, y esto se puede utilizar para determinar la concentración mortal de un excedente del compuesto o del efluente al período del tiempo dado. (NUÑEZ y HURTADO, 2005).

La toxicidad aguda es manifiesta por un efecto severo (a menudo muerte) sobre el organismo dentro de un corto plazo de exposición. Todos los contaminantes son capaces de ser tóxicos, dependiendo de su concentración, el organismo expuesto y de las condiciones ambientales de la exposición. En muchos casos, las concentraciones de las sustancias más bajas que el límite permisible pueden tener un efecto inhibitor en la capacidad reproductiva de un organismo o en el caso de cladóceros se evalúa la inmovilización (PERSOONE *et al.*, 2009)

Toxicidad crónica

Es causada por las dosis muy bajas de un compuesto o de un efluente tóxico sobre un período de tiempo largo y puede ser mortal o sub-letal (no suficiente para causar la muerte). Los efectos sub-letales pueden ocurrir en el nivel bioquímico, fisiológico o del comportamiento, incluyendo mutagenicidad y genotoxicidad e interferencia con el ciclo vital normal de un organismo. Hay actualmente gran interés en los métodos para detectar toxicidad sub-letal como medios de la detección temprana para el daño ambiental (NUÑEZ *et al.*, 2005).

2.2.9. Parámetros toxicológicos

Concentración Letal Media (CL50)

Concentración de tóxico que produce la muerte del organismo, generalmente conocida como la concentración letal de la mediana (50 por 100) es decir la concentración que mata al 50% de los seres expuestos durante un tiempo de exposición específico (APHA, 1992).

El nivel de estímulo que causa una respuesta en el 50% de los individuos de una población bajo estudio es un importante parámetro de caracterización denotado como CL50 por concentración letal media. El periodo de tiempo durante el cual se expone el estímulo debe ser especificado, por ejemplo, 24 horas DL50 (dosis letal media en 24h), esto con el fin comparar y estimar la potencia relativa del estímulo.

La determinación de la CL50, se utiliza para encontrar umbrales de toxicidad para determinadas sustancias o sustancias complejas como es el caso del agua residual, consideradas como mezclas ambientales (NUÑEZ *et al.*, 2005).

Nivel observado de sin efectos adversos (NOAEL)

NOAEL (por sus siglas en inglés: No Observed Adverse Effect Level) Es la dosis más elevada de una sustancia que no ha mostrado en las pruebas tener efectos perjudiciales para la salud en personas o animales (CASTRO, 2013).

2.2.10. Bioensayos toxicológicos

Los ensayos de toxicidad son los ensayos empleados para reconocer y evaluar los efectos de los contaminantes sobre la biota. En los bioensayos se usa un tejido vivo, organismo, o grupo de organismos, como reactivo para evaluar los efectos de cualquier sustancia fisiológicamente activa, bajo condiciones experimentales específicas y controladas estos efectos pueden ser tanto de inhibición como de magnificación, evaluados por la relación de los organismos, tales como muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o

histológicos (HADER y ERZINGER, 2015).

Tipos de Ensayos Toxicológicos

Según LÓPEZ y GRAU (2005), mencionan los tipos de ensayos toxicológicos en los siguientes:

- Ensayos Estáticos: estos consisten en colocar cámaras de prueba o montajes de las soluciones que se vayan a utilizar en el ensayo y los organismos que se van a examinar. En estos ensayos, las soluciones siempre son las mismas.
- Ensayos semi-estáticos: en ellos se renueva periódicamente el medio de ensayo (ejemplo: una vez cada 24 horas).
- Ensayos de flujo continuo: en los que existe una renovación continua del medio de ensayo.
- Ensayos de reproducción: el período de exposición cubre al menos tres generaciones de los organismos de prueba. Permiten evaluar el comportamiento reproductivo como consecuencia de la exposición al tóxico.
- Ensayos de recuperación: en los que el período de exposición es seguido por la transferencia y observación de los organismos de prueba en un medio no tóxico.

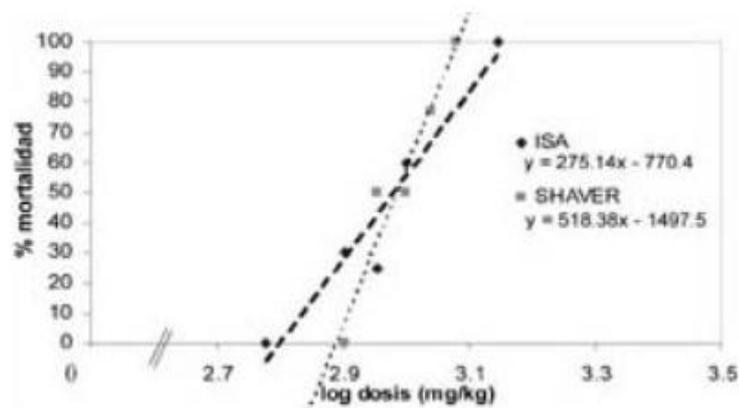


Figura 2: Ejemplo de la Curva de mortalidad (%) en una especie viva de 10 días tratados con el extracto total de alcaloides de lupino.

Fuente: CUBILLOS *et al* (1999).

Bioensayos con Trigo (*Triticum*)

La integral térmica del trigo es muy variable según la variedad de que se trate. Como ideal puede decirse que los trigos de otoño tienen una integral térmica comprendida entre los 1.850 °C y 2.375 °C (carrera.2005) . La temperatura no debe ser demasiado fría en invierno, pero no estando el trigo muy desarrollado cuando lleguen las heladas, éstas tienen un efecto beneficioso en el desarrollo de las raíces. Son perniciosas las temperaturas elevadas en primavera y al final de la maduración, cuando se puede producir el asurado, sobre todo si la cantidad total de lluvia caída durante el ciclo ha sido escasa y especialmente si lo han sido las lluvias de primavera.(FEISTRIZER.1985).

El coeficiente de transpiración del trigo es de 450 a 550, es decir, que se necesitan de 450 a 550 litros de agua para elaborar 1 kg. De materia seca.

En las tierras arenosas es más importante que en las arcillosas que la lluvia se distribuya regularmente en la primavera, ya que, como hemos dicho, hay en aquéllas muy poca capacidad de retención del agua.

La riqueza en proteínas del grano de trigo varía entre 9% y 12 %.

El grano de trigo adquiere su madurez fisiológica antes de su madurez comercial que depende del estado de sequedad del grano. Para algunas variedades, la semilla esta fisiológicamente madura, es decir, capaz de germinar, cuando aún no está suficientemente seca, lo que es muy perjudicial para las que tienen tendencia a germinar sobre la espiga, lo que supone un inconveniente en zonas húmedas.(Guerrero, 1998)

Según CARRERA *et al* (2005), clasifica taxonómicamente el cultivo del trigo en:

- Reino:Plantae
- División:Magnoliophyta
- Clase: Liliopsida

- Orden:Poales
- Familia:Poaceae
- Subfamilia:Pooideae
- Tribu: Triticeae
- Género:Triticum
- Especie:Triticum aestivum

Entre los requerimientos edáficos para el cultivo del trigo, es importante que las tierras donde se cultiva el trigo sean profundas para que haya desarrollo del sistema radicular, así como las tierras arcillosas tienen el inconveniente de que, por su poca permeabilidad, conserva mucha humedad en inviernos lluviosos, las arenosas, en cambio, requieren mucha lluvia de primavera, dado su poca capacidad de retención (Guerrero, 1998)

Lo procedimiento del bioensayo para determinar la inhibición de la germinación en la elongación de la raíz y el hipocotíleo de la planta, se realiza un procedimiento de incubación convencional para las pruebas de germinación de las semillas de Trigo (WARHAM, 2000).

- Números de semillas: x
- Humedad: el sustrato debe estar suficientemente húmedo para promover la humedad óptima a las semillas durante toda la prueba.
- Sustrato: papel
- Temperatura: trigo 20°C
- Luz blanca
- Dura ración: 7 días

Bioensayos con Frijol Capsula (*Phaseolus vulgaris*)

El frijol común (*Phaseolus vulgaris*), una leguminosa, fue escogido como planta modelo debido a su rápido crecimiento y a la capacidad para restaurar la fertilidad de suelos agrícolas. En la primera etapa de desarrollo, el sistema radical está formado por la radícula del embrión, la cual se convierte posteriormente en la

raíz principal o primaria. A los pocos días de la emergencia de la radícula, es posible ver las raíces secundarias, presenta nódulos distribuidos en las raíces laterales. Estos nódulos son colonizados por bacterias del género *Rhizobium*, las cuales fijan el nitrógeno atmosférico. El ciclo biológico de la planta de frijol se divide en dos fases sucesivas: la fase vegetativa y la fase reproductiva. La fase vegetativa se inicia cuando se le brinda a la semilla las condiciones para iniciar la germinación y termina cuando aparecen los primeros botones florales. La fase reproductiva comprende desde el desarrollo de los botones florales hasta la madurez de cosecha (Fernandez, 1989).

Los fitopatógenos representan uno de los principales problemas para la producción del frijol. Dentro de las enfermedades limitantes en el cultivo de frijol se encuentran la antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum*), mancha anillada (*Phoma exigua* var. *diversispora*), mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*), pudriciones radicales (*Fusarium solani* f.sp. *phaseoli*, *F. oxysporum* f.sp. *phaseoli* *Pythium* sp. y *Rhizoctonia solani* y) y virus del mosaico común del frijol (Fernandez, 1989)

Según Debouck *et al* (1985), describe taxonómicamente al cultivo del Frijol Cápsula en:

- Reino: Plantae
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Orden: Fabales
- Familia: Fabaceae
- Género: *Phaseolus* L.
- Especie: *vulgaris* L

En los bioensayos se utilizan todas las semillas que deben estar certificadas o de tipo orgánico. Como control de calidad de las semillas debe realizarse una prueba de viabilidad antes de realizar los ensayos de toxicidad. Una vez determinada la viabilidad de los lotes de semillas, estos deben guardarse en

recipientes a prueba de humedad a 5 °C, en oscuridad y ambiente seco.

Antes de realizar los bioensayos de toxicidad, se deberá determinar la viabilidad de las semillas mediante el método químico de cloruro de trifeniltetrazolio (Moore, 1985) modificado. Este método, también llamado prueba rápida de germinación, consiste en probar en un periodo de 24 a 48 h la capacidad de germinación de un lote tomando semillas al azar. (CUEVA, *et al*, 2012).

2.2.11. Germinación de Semillas

La germinación se inicia con la entrada de agua en La semilla (imbibición) y finaliza con el comienzo de la elongación de la radícula.

En condiciones de laboratorio, la posterior rotura de las cubiertas seminales por la radícula es el hecho que se utiliza para considerar que la germinación ha tenido lugar (criterio fisiológico) (Figura 3). Sin embargo en condiciones de campo se considera que la germinación ha finalizado hasta que se produce la emergencia y desarrollo de una plántula normal.

Fases de la Germinación

Desde el punto de vista fisiológico, la germinación comprende cuatro fases (UFPEL, 2003):

- Absorción de agua
- Alargamiento de las células
- División celular
- Diferenciación de las células en tejidos
- Desde el punto de vista físico-bioquímico se consideran las siguientes fases (UFPEL, 2003):
 - Rehidratación
 - Aumento de la respiración
 - Síntesis de enzimas o activación de enzimas pre-existentes
 - Digestión enzimática de las reservas

- Movilización y transporte de reservas
- Asimilación metabólica
- Crecimiento y diferenciación de los tejidos

Movilización de Reservas

Los compuestos de reserva que se encuentran en las semillas son glúcidos, proteínas y lípidos, en mayor o menor proporción según la especie considerada. La movilización de estas reservas, durante la germinación, es un proceso esencial que permite la supervivencia de la semilla hasta que la plántula se desarrolla lo suficiente como para poder realizar la fotosíntesis.

La movilización de reservas ha sido estudiada esencialmente en semillas de cereales y leguminosas,



Figura 3: Los compuestos de reserva deben ser hidrolizados, hasta sus unidades fundamentales, para poder ser utilizados en el metabolismo energético de la semilla.

Proceso de germinación de las semillas

El proceso de germinación está constituido por varias fases: i) Absorción de agua por la semilla o imbibición; ii) Activación del metabolismo y proceso de respiración, síntesis de proteínas y

movilización de sustancias de reserva; iii) Elongación del embrión y ruptura de la testa a través de la cual se observa salida de la radícula.

El proceso de germinación está influenciado tanto por factores internos como externos. Dentro de los factores internos están la viabilidad del embrión, la cantidad y calidad del tejido de reserva y los diferentes tipos de dormancia. Algunos de los factores externos que regulan el proceso son el grosor de la testa, disponibilidad de agua, temperatura y tipos de luz. El estudio de la biología y fisiología de las semillas es de vital importancia para el hombre, ya que la mayoría de las especies cultivadas como los cereales son propagadas a partir de semillas sexuales (RUSSO *et ál.* 2010).

Este proceso consta de tres fases: i) incremento rápido en la absorción de agua; ii) fase de estabilización y movilización de nutrientes; iii) absorción de agua que generalmente coincide con el proceso de germinación

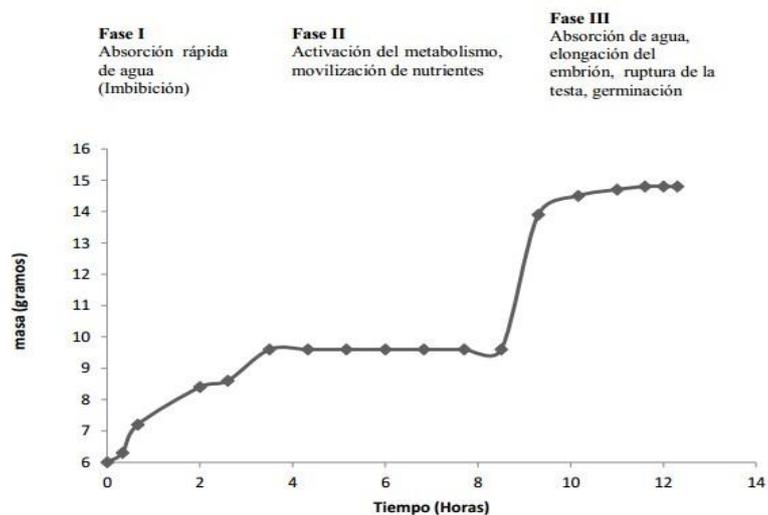


Figura 4: Fases del proceso de germinación de las semillas botánicas en general.

Ensayo de Germinación

Los ensayos de germinación en laboratorio, se hacen para determinar el potencial máximo de germinación de un lote

de semillas y para ello se utilizan métodos mediante los cuales se controlan las condiciones externas para dar una germinación más regular, rápida y completa para la mayoría de las muestras de una especie en particular (ISTA, 2004).

Según ISTA (2004), la clasificación e identificación de plántulas y semillas, es la siguiente:

➤ **Plántulas normales:** Son aquellas que muestran potencial para su desarrollo en plantas normales cuando crecen en suelos de buena calidad y bajo condiciones favorables de humedad, temperatura y luz. Estas deben pertenecer a las siguientes categorías:

- Plántulas intactas: Tienen todas sus estructuras esenciales bien desarrolladas, completas, proporcionadas y sanas.
- Plántulas con ligeros defectos: Muestran ciertos defectos en sus estructuras esenciales, presentan desarrollo satisfactorio y equilibrado semejante al de las plántulas intactas.
- Plántulas con infección secundaria: Se encuadran en los dos grupos anteriores, pero han sido afectadas por hongos o bacterias cuyo foco es distinto al de la semilla de la que proceden.

➤ **Plántulas anormales:** Son aquellas que no muestran potencial para desarrollarse en plantas normales, cuando crecen en suelos de buena calidad y bajo condiciones favorables de humedad, temperatura y luz. Estas se clasifican en:

- Plántulas dañadas: Carecen de cualquiera de las estructuras esenciales o están muy dañadas o tan irreparablemente dañadas que no se puede esperar un desarrollo equilibrado.
- Plántulas deformadas o desequilibradas: Con

desarrollo débil o alteraciones fisiológicas, o en las que las estructuras esenciales están deformadas o desproporcionadas.

- Plántulas podridas: Aquellas con estructuras esenciales enfermas o podridas como resultado de una infección primaria que impide su desarrollo normal.
- **Semillas no germinadas:** Semillas que no han germinado al final del ensayo, estas se clasifican en:
 - Semillas duras: Semillas que permanecen duras al final del período de ensayo porque no han absorbido agua. Estas no pueden embeberse de agua bajo las condiciones establecidas y permanecen duras.
 - Semillas frescas: Semillas, distintas de semillas duras, que no han germinado bajo las condiciones del ensayo de germinación, pero que permanecen sanas, firmes y tienen el potencial de desarrollarse en una plántula normal. Estas sí pueden embeberse de agua cuando se les brinda las condiciones establecidas pero el proceso de germinación está bloqueado.
 - Semillas muertas: Son las que al final del ensayo no están ni duras ni frescas ni han producido ninguna estructura de la plántula; normalmente están blandas, decoloradas, frecuentemente enmohecidas.
 - Las estructuras esenciales de una plántula para su desarrollo posterior, dependiendo de la especie ensayada, pueden ser, según ISTA (2014):
 - Sistema radicular (raíces primarias; en ciertos casos raíces seminales).
 - Eje del brote (hipocotilo; epicotilo; en ciertos casos de Poaceae (Gramineae), mesocotilo; yema terminal).
 - Cotiledones (uno o varios).
 - Coleoptilo (en todas las Poaceae (Gramineae))

2.3. DEFINICIONES CONCEPTUALES

2.3.1. La fitotoxicidad

Es un término que se emplea para describir el grado de efecto tóxico producido por un compuesto sobre el crecimiento de las plantas. Estos daños pueden ser causados por una gran variedad de compuestos, incluyendo trazas metálicas, pesticidas, salinidad, fitotoxinas o la alelopatía natural entre las plantas. También se llama la capacidad que tiene los productos para producir daños en las plantas. Un formulado puede ocasionar fitotoxicidad porque tiene las propiedades por ejemplo como aceites de invierno o bien porque se emplea a dosis mayores de las recomendadas; también por efectos de acumulación/o deriva. Se puede ocasionar daños porque las plantas son sensible al producto (KROGMEIER *et al* 1989).

2.3.2. La semilla

De acuerdo a la botánica, el componente de una fruta que alberga el embrión que puede derivar en una nueva planta. También se conoce como semilla al grano que producen los vegetales y que, cuando se siembran o caen al suelo, genera otros ejemplares que pertenecen a la especie en cuestión (PÉREZ Y MERINO, 2012).

2.3.3. partes por millón (ppm)

Es otra manera de expresar la concentración de las disoluciones cuando éstas se encuentran muy diluidas. En ellas, la concentración del soluto es tan pequeña que la densidad del solvente casi no varía. En estos casos se utilizan los datos referenciados en masa tanto del soluto como del solvente y la disolución. Estas unidades permiten reportar sustancias tóxicas o cancerígenas, así como agentes diversos que se encuentran en muy bajas concentraciones. Generalmente las concentraciones se realizan con base en el elemento o ion, sin embargo también están referidas a una molécula o sustancia, que se define de la siguiente manera:

10 000 ppm = 1 % o 0.0001%= 1 ppm

Es decir que 10 000 ppm equivalen al uno por ciento. De lo anterior, se puede deducir que esta unidad es usada de manera análoga al porcentaje pero para concentraciones o valores mucho más bajos.

2.3.4. Ecotoxicología

Ciencia que estudia la polución, su origen, evolución e interacciones con las moléculas que integran dinámicamente los ecosistemas, sus acciones y efectos sobre los seres vivos que forman estos ecosistemas (DUFFUS, 1983)

2.3.5. Plantas vasculares

Se denominan también plantas cormofitas y son las plantas que contienen verdaderas raíces, tallo y hojas. La raíz, además de sujetar la planta, succiona los nutrientes del suelo o sirve de reserva de alimentos.

2.3.6. Estándar de Calidad Ambiental (ECA)

Es la medida que establece el nivel de concentración o del grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, presentes en el aire, agua o suelo, en su condición de cuerpo receptor, que no representa riesgo significativo para la salud de las personas ni al ambiente. Según el parámetro en particular a que se refiera, la concentración o grado podrá ser expresada en máximos, mínimos o rangos. .

2.3.7. Límites Máximos Permisibles (LMP)

Son los valores máximos admisibles de los parámetros representativos de efluentes Líquidos para el Sub sector Hidrocarburos, que exige el cumplimiento obligatorio a las actividades de hidrocarburos (explotación, exploración, transporte, refinación, procesamiento, almacenamiento, comercialización), que afecten el medio ambiente mediante flujos o descargas.

2.3.8. El análisis químico toxicológico

Es el conjunto de procesos de análisis químico cuyo objetivo es aislar, identificar y determinar de forma cuantitativa las sustancias

tóxicas, para realizar el diagnóstico de la intoxicación y para evaluar la presencia de tóxicos en la muestra y buscar los posibles agentes etiológicos de un cuadro clínico de intoxicación (LÓPEZ, 2017).

2.3.9. El análisis físico químico

Se utiliza la interacción energía- materia para efectuar la cuantificación o cualificación del analítico (valoraciones instrumentales). Toda vez que para llevar a cabo experimentalmente las integraciones energía -materia se requiere de instrumentación más sofisticada que aquella usada en los métodos químicos, suele llamarse a los métodos fisicoquímicos (BAEZA, 2015).

2.3.10. Dosis letal LD 50

Es la cantidad de un material determinado completo de una sola vez, que provoca la muerte del 50% (una mitad) de un grupo de seres vivos de prueba. El LD50 es una forma de medir el envenenamiento potencial a corto plazo (toxicidad aguda) de un material (REPETTO, 2009).

2.3.11. La tasa de mortalidad

Es el proceso de crecimiento poblacional en organismos en el caso de plantas cuyos módulos se separan fácilmente formando unicidad independientes durante el proceso de crecimiento del genotipo. Así, por ejemplo, el crecimiento de una colonia de plantas como frijol o trigo, representa tanto el crecimiento de una población (con su típica forma sigmoidea) como el crecimiento de una planta individual (esto es, un genotipo) que se fragmenta en pedazos, resulta entonces que los factores de una población de organismos individuales afectan los números de organismos por ejemplos como enemigos fisicoquímicos.

2.3.12. Aceite automotriz usado

Se define estos aceites como aquellos provenientes de fuentes industriales o no, que han sido adquiridos para propósitos de lubricación y que son inapropiados para su propósito original debido a la presencia de impurezas o la pérdida de las propiedades originales. Se excluyen de la denominación de aceites lubricantes

usados aquellos obtenidos de aceites vegetales o animales (El CCME ,1989).

2.4. SISTEMA DE HIPÓTESIS

2.4.1. Hipótesis General:

Hi: La toxicidad del aceite automotriz a través de pruebas de ensayo en seres vivos (semillas de Frijol Cápsula (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum*)) es diferente considerando la sobrevivencia.

Ho: La toxicidad del aceite automotriz a través de pruebas de ensayo en seres vivos (semillas de Frijol Cápsula (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum*)) no es diferente considerando la sobrevivencia.

2.4.2. Hipótesis Específico:

Hi: Existe diferencia en el crecimiento radicular del de Frijol Cápsula (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum*) al emplear diferentes concentraciones de aceite automotriz, considerando el cumplimiento de los parámetros del aceite.

Ho: No existe diferencia en el crecimiento radicular del de Frijol Cápsula (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum*) al emplear diferentes concentraciones de aceite automotriz, considerando el cumplimiento de los parámetros del aceite.

2.5. SISTEMA DE VARIABLES

2.5.1. Variable Independiente

- Evaluación toxica del aceite automotriz.

2.5.2. Variable dependiente

- Pruebas de ensayo en seres vivos (semillas de Frijol Capsula (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum*))

2.6. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.

Título: “EVALUACIÓN TOXICA DEL ACEITE AUTOMOTRIZ A TRAVÉS DE PRUEBAS DE ENSAYO EN SERES VIVOS (SEMILLAS DE FRIJOL CAPSULA (*Phaseolus vulgaris*) Y TRIGO (*Triticum*)) A NIVEL LABORATORIO – AMARILIS – HUANUCO DEL 2019”

Tesista: Bach. Davila Martel, Eddie Esleyther

Tabla 2: Matriz de operación de Variables

VARIABLES	DIMENSION	INDICADORES	UNIDADES O CATEGORIA	ESCALA
variables independientes: Evaluación toxica del aceite automotriz	Concentración de dosis de aceite automotriz usado.	10000 ppm, 20000 ppm, 40000 ppm, 55000 ppm y 75000 ppm	Concentración: $ppm = \frac{(mg \text{ de aceite automotriz})}{volumen(Lt)}$	Numérica continua
Variables Dependientes: Pruebas de ensayo en seres vivos (semillas de Frijol Capsula (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y Trigo (<i>Triticum</i>))	Germinación de las semillas de Frijol Capsula (<i>Phaseolus vulgaris</i>) Y Trigo (<i>Triticum</i>). Vigor del Frijol Capsula (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y Trigo (<i>Triticum</i>).	<ul style="list-style-type: none"> ● % DE NUMERO SEMILLAS GERMINADAS Y MUERTAS ● LONGITUD DE CRECIMIENTO RADICULAR 	$\%CG = 100 \cdot \left(1 - \frac{N^{\circ} \text{ de semillas germinadas por cada disolucion}}{N^{\circ} \text{ total de semillas}}\right)$ $TM = \frac{N^{\circ} \text{ de semillas germinadas}}{\text{total de semillas}} \times 100$ $TM = \frac{N^{\circ} \text{ de semillas de crecimiento radicular}}{\text{total de semillas}} \times 100$ $\%CR = 100 \cdot \left(1 - \frac{\text{promedio elongacion de dilucion}}{\text{promedio de elongacion del control}}\right)$	Numérica continua

Fuente: Bach.Davila Martel, Eddie Esleyther

CAPITULO III

MARCO METODOLOGICO

3.1. Tipo de Investigación

Es una investigación experimental donde utilizamos el método científico. Las mismas nos conducirán a establecer experimentos que nos lleven a ser más incisivos a través de trabajos de laboratorio o fuera de ella. Esto generalmente involucra un número relativamente pequeño de semillas para ser investigados. Los experimentos son más efectivos para la investigación explicativa y frecuentemente están limitados a temas en los cuales en esta investigación puede manipular la situación, como por ejemplo las semillas de cómo saber medir el grado de contaminación por un compuesto químico. Esta investigación tiene experimentos de variabilidad (independiente y dependiente) en la que es controlada por el investigador para ver qué efectos produce en los resultados en cuanto la medición de la toxicidad del aceite automotriz. (FIDIAS, 2012).

3.1.1. Enfoque

Presenta un enfoque cuantitativo ya que los objetivos de la investigación solo se lograrán analizando datos numéricos (HERNANDEZ *et al.*, 2006).

Utilizar la recolección de datos para probar hipótesis con base a la medición numérico y el análisis estadístico, con el fin de establecer pautas de comportamiento y probar teorías (HERNANDEZ, 2014)

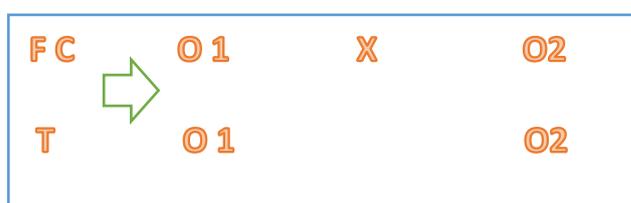
3.1.2. Nivel de investigación

El nivel de investigación es explicativo, porque dentro de este proceso se podrá generar cuales fueron las causas que inciden con mayor incidencia en cuanto al desarrollo del problema planteado y estas permitirán medir el efecto que trascienda con énfasis en el proceso investigativo, de tal efecto se aceptará la hipótesis de manera racional y que las mismas tienen las características de análisis multivariada que se explicarán tal como se presentan en el momento de la toma de muestra. (FIDIAS, 2012).

3.1.3. Diseño de investigación

El siguiente trabajo de investigación presenta un diseño experimental simple, en la que el investigador tiene el control de las variables y medir la relación causa y efecto.

En un estudio experimental clásico, las muestras son designadas de forma aleatoria Frijol y Trigo (FC Y T), tanto para el grupo control como para el grupo experimental. Ambos grupos son previamente sometidos a una prueba piloto (O1). El grupo experimental es expuesto al tratamiento con aceite automotriz (X) a diferentes concentraciones (X1, X2, X3, X4 y X5), obteniendo posteriormente los resultados (O2). (FIDIAS, 2012).



3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

3.2.1. Población

Consideramos 50 muestras representativas para el estudio del proyecto de investigación, siendo esto 25 muestras la planta de trigo y otras 25 muestras para la planta del frijol cápsula que hacen un total de 250 semillas de Frijol Cápsula y Trigo para realizar las pruebas de toxicidad de aceite automotriz, donde se trabajó con 5 concentraciones diferentes.

Las dos especies que se utilizaron para el presente trabajo de investigación fueron 125 semillas de Frijol Capsula (*Phaseolus vulgaris*) que fueron obtenidos en la Universidad Nacional Hermilio Valdizan de Huánuco y 125 semillas de Trigo (*Triticum*) obtenidas en la tienda molino San Rafael.

Tabla 3: coordenadas donde se compró las semillas de Frijol Capsula

COORDENADAS UTM	
Norte	0363202
Este	8899854

Fuente: Bach.Davila Martel, Eddie Esleyther

Tabla 4: coordenadas donde se compró las semillas de Trigo

COORDENADAS UTM	
Norte	0363458
Este	8902134

Fuente: Bach.Davila Martel, Eddie Esleyther

3.2.2. Muestra y Muestreo.

Para este trabajo de investigación se trabajó con un total 5 concentraciones, haciendo 50 muestras, 10 muestras por cada concentración diferente. El resultado después de realizar los cálculos de distribución normal estimando por muestra fue 250 semillas de Frijol Capsula (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum*) respectivamente; donde se colocó 5 semillas en cada placa de Petri, para el tratamiento de toxicidad con el aceite automotriz.

Tabla 5: código de muestras, números de muestras, coordenadas de muestreo

CÓDIGO DE MUESTRAS	PUNTOS DE MUESTREO Y Nº DE MUESTRAS	COORDENADAS DE MUESTREO	
Punto A			
Nº:001	Muestra 1 y 2	Este:0363215	Norte:890201
Nº:002			
Punto B			
Nº:003	Muestra 3 y 4	Este:0364176	Norte:890093
Nº:004			
Punto C			
Nº:005	Muestra 5	Este:0363618	Norte:889984

Fuente: Bach.Davila Martel, Eddie Esleyther

3.3. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.3.1. Para la recolección de datos

- a) Técnicas:** El procedimiento a seguir para la evaluación de la toxicidad de aceite automotriz en seres vivos como: El Frijol Cápsula (*Phaseolus Vulgaris*) y Trigo (*Triticum*), se realizó el planteamiento de la hipótesis del presente trabajo de investigación, se indica que puede ver un crecimiento Radicular o un porcentaje de sobrevivencia con las diferentes concentraciones de aceite automotriz, por lo tanto, en el desarrollo de la ejecución del trabajo de investigación se

realizaron pruebas que nos delimita las concentraciones de toxicidad del aceite automotriz hacia los seres vivos como el Frijol Capsula y Trigo , específicamente a determinar la influencia de las variables, seguidamente después de realizar las pruebas necesarias para llegar a una hipótesis positiva o negativa, se realizó cuidadosamente con los pasos como desinfección de las semillas con gotas de hipoclorito de sodio (NaHClO_4) y concentraciones de aceite automotriz bajas y altas. Así mismo el desarrollo experimental permitió verificar los antecedentes bibliográficos y los conceptos teóricos que se han analizado en los capítulos anteriores, así como la hipótesis planteada en el presente trabajo, siguiendo la técnica del bioensayo, se detalla a continuación:

Obtención de las muestras de aceite automotriz usado:

Primeramente se revisó los antecedentes para asegurarnos cuál es la metodología correcta que debemos utilizar, con el objetivo de que la extracción de la muestra de aceite automotriz usado no se contamine con otras toxinas. Por lo tanto este procedimiento fue vital con la comunicación de los dueños de los vehículos para que ellos mismos nos autoricen para la extracción y así para que nos brinde la información necesaria de su dicho vehículo y de su aceite de lubricación, para ser validar la toma muestra y registrarlo. (WIDMAN INTERNATIONAL SRL., 2018), A continuación se detalla el procedimiento de toma de muestreo:

- Con la bomba de vampiro artesanal y con su tubo respectivo se introdujera a la varilla de medición. Este debería llegar al centro del reservorio.
- Enroscar una botella nueva a la bomba vampiro artesanal y pasar el tubo al aceite, sin permitir que choque con el fondo del cárter.
- Succionar con la bomba para crear un vacío, manteniéndola en posición horizontal.
- Llenar la botella en un 80%.

- Sacar el tubo del compartimiento y la bomba artesanal para desecharlo.
- Enroscar la tapa de la botella hasta asegurar la integridad del sello.
- Llenar la etiqueta de la botella o revisar los datos si ya fueron anotados.
- Luego las muestras extraídas se guardara en la caja de tecnopor para posteriormente realizar el análisis en laboratorio.

A continuación se detalla en la (tabla 6) los tipos de vehículos y aceites que se obtuvo durante la extracción de las muestras:

Tabla 6: información básica de las muestras

Numero de muestras	Marca del vehículo	Marca del aceite del vehículo	Tipo de combustible
1	Nissan Sentra	Shelix 20w - 50 - G	Gasolina
2	Toyota Hilux	Mobil super 1000	Diesel
3	Daewoo sedan	Castrol 25w - 60 viscus	Gasolina
4	Toyota Cresta	Repsol 15w40	Diesel
5	KIA sportage	Castrol 5W20	Gasolina

Fuente: Bach.Davila Martel, Eddie Esleyther

Organismo de prueba: En estos bioensayos se utilizó Semillas de Frijol Cápsula (*Phaseolus Vulgaris*) y de Trigo (*Triticum*), estas semillas deben ser de buena calidad y de tipo orgánico, lo cual se adquirieron en locales comerciales y en la UNHEVAL, que nos garantizan que estas semillas pasaron por tratamiento de control de la calidad de sus productos, siendo requisito

indispensable antes de realizar los ensayos de toxicidad. Una vez ya obtenidas las semillas de alta calidad, estos deben guardarse en recipientes a prueba de humedad, en oscuridad y ambiente seco.

Preparación de las disoluciones distintas concentraciones de aceite automotriz: Para el cálculo de concentración del aceite automotriz usado, donde las 5 muestras fueron obtenidas en diferentes equipos, este cálculo nos permitirá ver el grado de porcentaje o cantidad en cuánto será la extracción de aceite automotriz con las 5 concentraciones de 10 000 mg/Lt, 20 000 mg/Lt, 40 000 mg/Lt, 55 000 mg/Lt y 75 000 mg/Lt. En los diferentes frascos, este procedimiento se llevara a cabo en la siguiente manera.

Con el fin de controlar la sensibilidad de las semillas, es preciso incluir un control negativo usando solo agua (la misma que se emplee para las diluciones) y realizar repeticiones tanto para el blanco como para cada dilución ensayada. (SAMO, 2008).

Para el procedimiento con las respectivas concentraciones se buscó antecedentes de aceite automotriz en cual se realizó un serie de cálculos determinar la concentración de aceite automotriz usado que se llevara a cabo un procedimiento de cálculo para ver la cantidad exacta en la cual se va regar en cada placa Petri, que posteriormente podemos ver las reacciones de las semillas con estos contaminantes.

Donde las 5 concentraciones de 10 000 mg/L, 20 000 mg/L, 40 000 mg/L, 55 000 mg/L y 75 000 mg/L. a continuación se detalla en la (tabla 7) el cálculo para medir las concentraciones respectivas y en la (tabla 8) se observa la dosis en ml para la incubación con las semillas de Frijol Capsula y Trigo.

Tabla 7: Características de los tratamientos

Tratamiento	Descripción en volumen
T ₁	
T ₂	
T ₃	$PPM = \frac{\text{Masa del soluto}}{\text{Masa por la Disolucion}} \times 1\,000\,000$
T ₄	
T ₅	

Fuente: Bach.Davila Martel, Eddie Esleyther

Tabla 8: Concentraciones de PPM con sus respectivas cantidades de aceite automotriz.

Concentración en PPM	Cantidad de aceite automotriz
10 000ppm	0.23 ml
20 000 ppm	0.46 ml
40 000 ppm	0.92 ml
55 000 ppm	1.26 ml
75 000 ppm	1.72 ml

Fuente: Bach. Davila Martel, Eddie Esleyther

Desarrollo de las Pruebas Experimentales

Para la realización de cada ensayo se preparó 10 000 mg/Lt, 20 000 mg/Lt, 40 000 mg/Lt, 55 000 mg/Lt y 75 000 mg/Lt de concentración por cada una de las 5 muestras.

El tipo de aceite automotriz y las concentraciones fueron establecidos por cada una de los 5 ensayos diferentes.

Todas las pruebas tienen los mismos procedimientos, estas pruebas antes se realizaron sus respectivos cálculos de cuanto el porcentaje de extracciones de aceite automotriz usado.

Primeramente usaremos el procedimiento de esterilización y son de la siguiente manera:

- Determinar los materiales suficientes para llevar a cabo de esterilización y posteriormente trabajar con cada una de ellas.
- Para los vasos precipitados de 250 ml se realizó cortes de papel kraft de 16 x 16 cm para tapar la boca del vaso y

posteriormente otro corte de 32 x 22 cm para envolver todo el vaso precipitado.

- Para las placas petri de diámetro de 90 mm se realizó un corte de papel kraft de 32 x 32 cm y posteriormente envolverlo.
- Para las pipetas de 10 y 5 ml se cortó el papel kraft con 5 x 60 cm y el uso algodón para tapar el menisco, y posteriormente envolverlo.
- Las varillas de se realizó un corte de papel de kraft de 5 x60 cm y posteriormente envolverlo.
- Colocar todos los materiales en la canasta y llevarlo directo al autoclave.
- Encender el equipo autoclave con una temperatura de 121 °C con una duración de 30 min y hecha 3 lt de agua destilada para su esterilización de materiales.
- Para la desinfección de las semillas tanto para Frijol Cápsula y Trigo se utilizó 5 ml de hipoclorito de sodio y 70 ml de agua destilado durante un remojo de 15 min aproximadamente.
- Luego se enjugara 3 veces las semillas con distintos vaso esterilizados aproximadamente 5 min.

Seguidamente se explicara los pasos para la colocación de las semillas de Frijol Capsula y Trigo en sus respectivas placas Petri:

- Primeramente se hizo camas circulares de 90 mm para la colocación de las semillas de Frijol Cápsula y Trigo
- Tener los 5 ensayos de toxicidad por cada una de las muestras con sus respectivas concentraciones de 10 000 mg/Lt, 20 000 mg/Lt, 40 000 mg/Lt, 55 000 mg/Lt y 75 000 mg/Lt, por lo tanto se utiliza una pipeta de 5 ml por cada una de las dichas concentraciones usadas con el fin de que no se mescle los diferentes tipos de aceite.
- Luego con Pipeta de 10 ml en la cual se roció 7 ml de agua destilada por cada placa Petri.

- Con la pinzas se colocó 5 semillas en cada una de las placas Petri por diferente especie.
- Se encenderá la incubadora para 5 días con una temperatura de 32 °C donde se colocaran las placas juntas con las semillas de manera correcta.

Instrumentos de recolección de datos: Para fundamentar los antecedentes y marco teórico, se utilizó información secundaria a través de libros, revistas, boletines técnicos, tesis de grado, el sistema informático (internet), otros materiales documentales, estudios, diagnósticos o proyectos propuestos para ser ejecutados en nuestro estudio.

Para cada una de las 5 concentraciones ensayadas se calculó el promedio de la elongación de la raíz, de las plántulas de cada repetición.

Tabla 9: En las pruebas experimentales se utilizó los equipos y materiales que se muestran en la tabla.

EQUIPOS	MARCA Y DESCRIBIÓ
Balanza Analítica	
Autoclave	
Incubadora	
Bomba vampiro artesanal	
Reactivo	
Aceite automotriz usado	Concentraciones de 10 000 mg/lt, 20 000 mg/lt, 40 000 mg/lt, 55 000 mg/ lt y 75 000 mg/lt.
Agua destilada	
Hipoclorito de Sodio	Lejía Clorox 680 gr
Materiales de vidrio	
Placas Petri	De 90 mm
Baso precipitado	De 250 ml
Probeta	De 100 ml
Materiales volumétricos	
Pipetas graduadas	De 10 y 5 ml
Materiales de Metal	
Pinzas	Para no agarrar las semillas con las manos
Materiales de plástico	
Botellas de primer uso	De 100 ml para obtención de muestras.
Bomba pipeteadora	SciPette
Cronometro	Digital deportivo
Materiales de protección	

Guantes de nitrilo
Mascarilla
Guardapolvo
Otro materiales
Papel filtro
Papel fraft
Tijera
Regla

Fuente: Bach. Davila Martel, Eddie Esleyther

3.3.2. Para la presentación de datos

Procesamiento para la recolección de datos

Para la recolección de datos se utilizó el programa IBM SPSS Statistics, donde los datos fueron presentados en la tesis en forma cualitativa y cuantitativamente.

Se trabajó con 5 muestras de aceite automotriz y 5 concentraciones de aceite automotriz. Donde el nivel de significancia o grado de error será al 5% esto es igual a decir ($\alpha < 0.05$) y el nivel de confianza del 95%.

Procesamientos de elaboración de datos:

Se utilizaron las tablas para el registro de información estadística en los cuales se ejecutó un análisis e interpretación de los mismos basados en los objetivos planteados; para posteriormente someterlo a la discusión con las literaturas de los autores.

3.3.3. Para el análisis e interpretación de los datos

3.3.3.1. Plan de Tabulación.

Luego de la aprobación del proyecto de investigación se continuó con el siguiente procedimiento para la recolección de los datos los cuales fueron desarrollados con los resultados de las variables y la relación entre ellas en base a los objetivos planteados, continuando con el post monitoreo.

3.3.3.2. Plan de análisis

Fue realizado mediante la descripción de cada una de las tablas, analizándose e interpretándose los datos obtenidos.

3.3.4.2. Prueba estadística

Se define según (ELORZA, 2000), como una “*Regla convencional para comprobar o constatar Hipótesis estadísticas*”; es decir, establece la probabilidad de rechazar falsamente una hipótesis alterna a un valor lo más pequeño posible; con la Hipótesis se determinó una zona de rechazo tal que la probabilidad de observar un valor muestral en esa región sea igual o menor que a cuando Hipótesis alterna es cierta; se emplearon los siguientes pasos:

a. Paso 1: Plantear la hipótesis nula (H_0) y la hipótesis alternativa (H_a):

- Hipótesis Nula. - Plantea exactamente lo contrario.
- Hipótesis Alterna. – Plantea matemáticamente lo que queremos demostrar.

b. Paso 2: Seleccionar el nivel de significancia (Rango de aceptación de hipótesis alternativa):

- El nivel de significancia, es la probabilidad de rechazar la hipótesis nula cuando es verdadera. Se utilizó un nivel de significancia de 0.05 (nivel del 5%); es decir, la prueba tuvo un nivel de significancia cuando $P < 0.05$, que se interpreta como rechazo de la hipótesis de nulidad y aceptación de la hipótesis alterna y si $P > 0.05$, se acepta la hipótesis nula.

c. Paso 3: Calcular el valor estadístico de la prueba:

Para la prueba de hipótesis, se empleó la prueba estadístico ANOVA análisis de la varianza con un factor.

d. Paso 4: Formular la regla de decisión:

- Una regla de decisión es un enunciado de condiciones según las que se acepta o se rechaza la hipótesis nula. La región del rechazo precisa la ubicación de todos los valores que son excesivamente grandes o excesivamente pequeños, por lo que es muy remota la probabilidad de que ocurran según la hipótesis nula verdadera.

e. Paso 5: Tomar una decisión:

- Se mide el valor observado de la estadística muestra con el valor crítico de la estadística de prueba. Después se acepta o se rechaza la hipótesis nula. Si se rechaza esta, se acepta la alternativa.
- La regla de decisión es: si el valor calculado es mayor o igual que el valor crítico, se debe rechazar la hipótesis nula.

3.3.4. ÁMBITO GEOGRÁFICO Y PERIODO DE LA INVESTIGACIÓN

3.3.4.1. Ámbito Geográfico

El proyecto de investigación se ejecutó en Laboratorio Químico de la Universidad de Huánuco.

- Ubicación Política

Departamento: Huánuco

Provincia: Huánuco

Distrito: Amarilis

- Posición geográfica

Altitud: 1910 m.s.n.m.

- **Coordenadas UTM:**

Geográficamente el Laboratorio Químico de la Universidad de Huánuco se localiza entre las siguientes coordenadas.

Norte: 8906423

Este: 0366257

3.3.4.2. Periodo de la investigación.

- **Fase de campo:**

Primera se obtendrá muestras de Aceite automotriz usado, esto se llevó a cabo en donde los dueños de los automóviles nos autorizó.

Para las extracciones de su aceite automotriz usado realizaron actividades con el cumplimiento del protocolo de extracción de muestras de aceite automotriz que se ha encontrado como un antecedente cumpliendo todos los pasos establecidos.

- **Fase de laboratorio:**

Tratar de monitorear el trabajo investigativo utilizando los instrumentos de laboratorio a fin de lograr resultados que permitan generar la sobrevivencia y el, radicular considerando que dichos estudios son instrumentos que validan el accionar investigativo cuando se emplea estos mecanismos que por su naturaleza misma tienen la tendencia de aproximarse a una real y justa investigación.

- **Fase gabinete.**

Se transformara la información recolectada en las pruebas de laboratorio para un análisis estadístico con el trabajo de investigación se empleó los programas de Microsoft Word 2013, Excel 2013, PowerPoint 2013, CorelDraw X6, VLC media player, ArcGis.

CAPITULO IV

RESULTADOS

4.1. PROCESAMIENTO DE DATOS

Tabla 10: Datos descriptivos del crecimiento radicular del Frijol Cápsula (en mm), según la cantidad de aceite automotriz empleado en el experimento con pruebas de ensayo, Huánuco, 2019.

Aceite	Media	Error estándar de la media	Límite inferior NC 95%	Límite superior NC 95%
1	39.42	5.03	29.56	49.27
2	29.86	3.79	22.44	37.29
3	46.54	5.28	36.19	56.89
4	45.56	4.80	36.16	54.96
5	45.15	4.35	36.63	53.67

Fuente: Datos obtenido en el laboratorio de química de la UDH – 2019.

Análisis y descripción

En la tabla se muestra que, la mayor media en el crecimiento radicular del Frijol Cápsula, medido en mm, se dio al emplear el aceite 3, que tiene una concentración de 40 000 mg/Lt. Asimismo, la tabla muestra que el menor crecimiento radicular se dio cuando se empleó el aceite 2, que tiene una concentración de 20 000 mg/Lt. La concentración de aceite que exhibe un menor error estándar de la media es también el aceite 2.

Tabla 11: Datos descriptivos del crecimiento radicular del Trigo (en mm), según la cantidad de aceite automotriz empleado en el experimento con pruebas de ensayo, Huánuco, 2019.

Aceite	Media	Error estándar de la media	Límite inferior NC 95%	Límite superior NC 95%
1	58.49	4.90	48.88	68.10
2	58.57	3.89	50.95	66.19
3	53.20	5.44	42.53	63.87
4	51.88	4.85	42.37	61.39
5	50.20	4.07	42.23	58.17

Fuente: Datos obtenido en el laboratorio de química de la UDH – 2019.

Análisis y descripción

En la tabla se muestra que, la mayor media en el crecimiento radicular del Trigo, medido en mm, se dio al emplear el aceite 2, que tiene una concentración de 20 000 mg/Lt. La concentración de aceite que exhibe un menor error estándar de la media es justamente del mismo modo, el aceite 2. Asimismo, la tabla muestra que el menor crecimiento radicular se dio cuando se empleó el aceite 4, que tiene una concentración de 55 000 mg/lit.

Tabla 12: Datos descriptivos de la sobrevivencia de las semillas de Frijol Cápsula, según la concentración de aceite automotriz empleado en el experimento con pruebas de ensayo, Huánuco, 2019.

			Sobrevivencia		
			No	Si	Total
Aceite	1	Recuento	2	23	25
		% dentro de Aceite	8.0%	92.0%	100.0%
	2	Recuento	2	23	25
		% dentro de Aceite	8.0%	92.0%	100.0%
	3	Recuento	2	23	25
		% dentro de Aceite	8.0%	92.0%	100.0%
	4	Recuento	4	21	25
		% dentro de Aceite	16.0%	84.0%	100.0%
	5	Recuento	5	20	25
		% dentro de Aceite	20.0%	80.0%	100.0%
Total		Recuento	15	110	125
		% dentro de Aceite	12.0%	88.0%	100.0%

Fuente: Datos obtenido en el laboratorio de química de la UDH – 2019.

Análisis y descripción

La tabla muestra que, al emplear el aceite de tipo 5, que tiene una concentración de 75000 mg/Lt. Es el que menos supervivencia de semillas de frijol tuvo, seguido del aceite de tipo 4, que tiene una concentración de 55 000 mg/Lt. En total, se aprecia que el 12% de las semillas de Frijol Cápsula no sobrevivieron. La mayor sobrevivencia se dio al emplear el aceite tipo 1, 2 y 3, con un 92%. La sobrevivencia total fue de 88%.

Tabla 13: Descriptivos de la sobrevivencia de las semillas de Trigo, según la concentración de aceite automotriz empleado en el experimento con pruebas de ensayo, Huánuco, 2019.

			Sobrevivencia		
			No	Si	Total
Aceite	1	Recuento	0	25	25
		% dentro de Aceite	0.0%	100.0%	100.0%
	2	Recuento	1	24	25
		% dentro de Aceite	4.0%	96.0%	100.0%
	3	Recuento	1	24	25
		% dentro de Aceite	4.0%	96.0%	100.0%
	4	Recuento	3	22	25
		% dentro de Aceite	12.0%	88.0%	100.0%
	5	Recuento	4	21	25
		% dentro de Aceite	16.0%	84.0%	100.0%
Total		Recuento	9	116	125
		% dentro de Aceite	7.2%	92.8%	100.0%

Fuente: Datos obtenido en el laboratorio de química de la UDH – 2019.

Análisis y descripción

La tabla muestra que al emplear el aceite de tipo 5, que tiene una concentración de 75000 mg/Lt. es el que menos supervivencia de semillas de Trigo tuvo, seguido del aceite de tipo 4, que tiene una concentración de 55000 mg/Lt. En total, se aprecia que el 7.2% de las semillas de Trigo no sobrevivieron. La mayor sobrevivencia se dio al emplear el aceite tipo 1, con un 100%. La sobrevivencia total fue de 92.8%.

Tabla 14: Comparación de la sobrevivencia del Frijol Cápsula y el Trigo según la concentración de aceite automotriz empleado en el experimento con pruebas de ensayo, Huánuco, 2019.

	N°	Sobrevivencia del Frijol Capsula			Sobrevivencia del Trigo		
		No	si	Total	No	si	Total
Concentra ción de aceite	1	2	23	25	0	25	25
		8.0%	92.0%	100.0 %	0.0%	100.0 %	100.0 %
	2	2	23	25	1	24	25
		8.0%	92.0%	100.0 %	4.0%	96.0 %	100.0 %
	3	2	23	25	1	24	25
		8.0%	92.0%	100.0 %	4.0%	96.0 %	100.0 %
	4	4	21	25	3	22	25
		16.0%	84.0%	100.0 %	12.0%	88.0 %	100.0 %
	5	5	20	25	4	21	25
		20.0%	80.0%	100.0 %	16.0%	84.0 %	100.0 %
Total	15	110	125	9	116	125	
	12.0%	88.0%	100.0 %	7.2%	92.8 %	100.0 %	

Fuente: Datos obtenido en el laboratorio de química de la UDH – 2019.

Análisis y descripción

La tabla muestra que, al emplear el aceite 1, se dio una mayor sobrevivencia en las semillas de Trigo (100%), respecto al Frijol Cápsula, lo mismo ocurrió al emplear el aceite de tipo 1 (92.0%).

Tabla 15: Prueba de Kolmogorov-Smirnov de los datos de crecimiento radicular del Frijol Cápsula y el Trigo

		Crec.	
		Radicular del Frijol Cápsula	Crec. Radicular del Trigo
N		125	125
Parámetros normales ^{a,b}	Media	41.2637	54.4686
	Desviación estándar	23.70846	23.21275
Máximas diferencias extremas	Absoluta	.096	.127
	Positivo	.096	.063
	Negativo	-.077	-.127
Estadístico de prueba		.296	.127
Sig. asintótica (bilateral)		0.17^c	0.11^c

a. La distribución de prueba es normal.

b. Se calcula a partir de datos.

c. Corrección de significación de Lilliefors.

Análisis y descripción

Con un nivel de significancia del 5%, (0.05) se tiene que los datos presentan normalidad. La significancia asintótica o p-valor (0.17 y 0.11) nos indica que se ha superado la prueba de normalidad, por lo que es pertinente el uso de procedimientos estadísticos paramétricos.

4.2. CONTRASTACIÓN DE HIPOTESIS

Para la contratación de la hipótesis de esta investigación se fundamentó en función a los objetivos planteados.

Tabla 16: Prueba de efectos Inter sujetos considerando el tipo de aceite y el cumplimiento del estándar del Cr, Pb, Cd, P y el Ba para evaluar si ocasionan diferencias en los promedios de crecimiento radicular del Frijol Cápsula.

Origen	Tipo III de		Media		
	suma de	GL	cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	4840.364 ^a	4	1210.091	2.240	0.069
Intersección	162524.817	1	162524.817	300.799	0.000
Aceite	4366.460	3	1455.487	2.694	0.049
Cumplimiento Cr	.000	0	.	.	.
Cumplimiento Pb	.000	0	.	.	.
Cumplimiento Cd	.000	0	.	.	.
Cumplimiento P	.000	0	.	.	.
Cumplimiento Ba	.000	0	.	.	.
Error	64296.857	119	540.310		
Total	280271.245	124			
Total corregido	69137.222	123			

a. R al cuadrado = .070 (R al cuadrado ajustada = .039)

Fuente: Datos obtenido en el laboratorio de química de la UDH – 2019.

Análisis y descripción

Considerando un nivel de significancia del 5%, al analizar el modelo, encontramos que no es significativo (p -valor=0.069), por lo que nos quedamos con H_0 , que indica que no existe diferencias en el crecimiento radicular del Frijol Cápsula en los grupos debido a la participación del tipo de aceite empleado, siendo indiferente el cumplimiento de los estándares en cuanto a la cantidad de Cr, Pb, Cd, P y Ba en el aceite automotriz.

Tabla 17: Prueba de efectos Inter sujetos considerando el tipo de aceite y el cumplimiento del estándar del Cr, Pb, Cd, F y el Ba para evaluar si ocasionan diferencias en los promedios de crecimiento radicular del Trigo

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	1487.514 ^a	4	371.879	.683	0.605
Intersección	254863.812	1	254863.812	468.158	.000
Aceite	919.294	3	306.431	.563	.641
Cumplimiento Cr	.000	0	.	.	.
Cumplimiento Pb	.000	0	.	.	.
Cumplimiento Cd	.000	0	.	.	.
Cumplimiento P	.000	0	.	.	.
Cumplimiento Ba	.000	0	.	.	.
Error	65327.611	120	544.397		
Total	437668.129	125			
Total corregido	66815.126	124			

a. R al cuadrado = .022 (R al cuadrado ajustada = -.010)

Fuente: Datos obtenido en el laboratorio de química de la UDH – 2019.

Análisis y descripción

Considerando un nivel de significancia del 5%, al analizar el modelo, encontramos que no es significativo (p -valor=0.605), por lo que nos quedamos con H_0 , que indica que no existe diferencias en el crecimiento radicular del Trigo en los grupos debido a la participación del tipo de aceite empleado, siendo indiferente el cumplimiento de los estándares en cuanto a la cantidad de Cr, Pb, Cd, P y Ba en el aceite automotriz.

Tabla 18: Efectos Inter sujetos considerando el tipo de aceite, considerando como factor a la sobrevivencia, para evaluar si presentan diferencias los grupos de estudio del Frijol Cápsula en cuanto al crecimiento radicular.

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	26692.528 ^a	5	5338.506	14.842	0.000
Intersección	34260.377	1	34260.377	95.247	.000
Aceite	2236.844	4	559.211	1.555	.191
Sobrevivencia	21852.164	1	21852.164	60.751	.000
Error	42444.693	118	359.701		
Total	280271.245	124			
Total corregido	69137.222	123			

a. R al cuadrado = .386 (R al cuadrado ajustada = .360)

Fuente: Datos obtenido en el laboratorio de química de la UDH – 2019.

Análisis y descripción

Considerando un nivel de significancia del 5%, al analizar el modelo, encontramos que es significativo (p-valor=0.000), por lo que nos quedamos con H1, que indica que existe diferencias en el crecimiento radicular del Frijol Cápsula en los grupos debido a la participación de la sobrevivencia como factor en el experimento.

Tabla 19: Prueba de efectos Inter sujetos considerando el tipo de aceite, considerando como factor a la sobrevivencia, para evaluar si presentan diferencias los grupos de estudio del Trigo en cuanto al crecimiento radicular.

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	30241.224 ^a	5	6048.245	19.679	0.000
Intersección	26423.308	1	26423.308	85.973	.000
Aceite	1468.147	4	367.037	1.194	.317
Sobrevivencia	28753.710	1	28753.710	93.556	.000
Error	36573.901	119	307.344		
Total	437668.129	125			
Total corregido	66815.126	124			

a. R al cuadrado = .453 (R al cuadrado ajustada = .430)

Fuente: Datos obtenido en el laboratorio de química de la UDH – 2019.

Análisis y descripción

Considerando un nivel de significancia del 5%, al analizar el modelo, encontramos que es significativo (p -valor=0.000), por lo que nos quedamos con H1, que indica que existe diferencias en el crecimiento radicular del Trigo en los grupos debido a la participación de la sobrevivencia como factor en el experimento

CAPÍTULO V

DISCUSION DE RESULTADOS

5.1. Contrastación de los resultados

Según los resultados del análisis del aceite automotriz a diferentes concentraciones: 10 000 mg/Lt, 20 000 mg/Lt, 40 000 mg/Lt, 55 000 mg/Lt y 75 000 mg/Lt., obtenido en el laboratorio de química ambiental de la Universidad de Huánuco, se tiene:

En la tabla 10., donde se muestra que el crecimiento radicular del Frijol Cápsula, se dio al emplear la concentración de 40 000 mg/Lt. Asimismo, la tabla muestra que el menor crecimiento radicular se dio cuando se empleó la concentración de 20 000 mg/Lt, además se muestra un menor error estándar de la media de esta concentración.

En la tabla 11., encontramos que la mayor media de crecimiento radicular del Trigo se da a una concentración de 20 000 mg/Lt., y presenta un menor error estándar de la media. Asimismo la tabla muestra que el menor crecimiento radicular se dio a una concentración de 55 000 mg/Lt. En la tabla 12., se observa que a una concentración de 75000 mg/Lt., se tiene una menor supervivencia de semillas de Frijol Cápsula, seguido de la concentración de 55 000 mg/Lt. En total se aprecia que el 12% de las semillas de Frijol Cápsula no sobrevivieron. La mayor supervivencia se dio al emplear las concentraciones de 10 000 mg/Lt, 20 000 mg/Lt, y 40 000 mg/Lt., con un 92%; la supervivencia total fue de 88%.

En la tabla 13., se observa que la concentración de 75000 mg/Lt., tiene una menor supervivencia de semillas de Trigo, seguido de una concentración de 55000 mg/Lt. En total, se aprecia que el 7.2% de las semillas de Trigo no sobrevivieron. La mayor supervivencia se dio al emplear la concentración de 10 000 mg/Lt., con un 100%; la supervivencia total fue de 92.8%.

En la tabla 14., se observa que al emplear la concentración de 10 000 mg/Lt., se tiene un 100% de supervivencia en el Trigo con respecto al frijol, lo mismo ocurre al emplear la concentración de 10 000 mg/Lt, que tiene una supervivencia de (92.0%).

En la tabla 15., se observa que el nivel de significancia del 5%, (0.05) en nuestros datos presenta normalidad. La significancia asintótica o p-valor (0.17 y 0.11) nos indica que se ha superado la prueba de normalidad, por lo que es pertinente el uso de procedimientos estadísticos paramétricos.

Cisneros *et al* (2016) “Bioestimulación de suelo contaminado con 10000 ppm de aceite residual automotriz y fitorremediación con *Cicer arietinum* potenciado con *Bacillus cereus* y *Rhizobium etli*”, nos dice que se pudo remediar el suelo a un 70%; lo que se confirmó en nuestra investigación que si se puede remediar el suelo contaminado con aceite automotriz.

Caceda (2016) Tacna, “*Determinación de la Concentración de la Inhibición Media (CE50-96) y el Efecto Fitotóxico del Arseniato de Sodio (NaH₂AsO₄H₂O) en Lactuca Sativa (Lechuga) Mediante Bioensayos, en la Provincia de Tacna*”., en nuestra investigación encontramos que a una concentración hay mayor inhibición a 75000 mg/Lt. Donde determinó que la concentración de inhibición media (CE50-96) del arseniato de sodio en la germinación de *Lactuca sativa* (lechuga) fue de 16,72 mg/L, la CE50-96 para el crecimiento de la radícula fue de 0,96 mg/L, mientras que la CE50-96 para el crecimiento del hipocotíleo fue de 4,1 mg/L, nosotros encontramos que la concentración mayor de inhibición de aceite automotriz en el crecimiento radicular de Frijol Cápsula y Trigo es de 75 000 mg/Lt.

Mirabal (2016) Huánuco “*Determinación de Concentraciones Tóxicas Críticas de Plomo, que Inhiben el Proceso de Germinación y Posterior desarrollo Radicular en semillas de Frijol Capsula en condiciones de laboratorio*” en el presente trabajo de investigación se pudo corroborar los efectos toxicológicos del plomo en semillas de Frijol Cápsula, se pudo observar que el plomo inhibe el proceso de germinación con un porcentaje de inhibición de 33.33%, en las concentraciones de 20ppm y 100 ppm plomo, cuando alcanza el límite umbral de 100 ppm la germinación de las semillas será nulo; y la elongación radicular se inhibe cuando se sobrepasa los 100ppm; nosotros encontramos que el crecimiento radicular del Frijol Cápsula, se dio al emplear la

concentración de 40 000 mg/Lt. Asimismo, la tabla muestra que el menor crecimiento radicular se dio cuando se empleó la concentración de 20 000 mg/Lt, además se muestra un menor error estándar de la media de esta concentración.

CONCLUSIONES

- En el presente trabajo de investigación intitulado “Evaluación Toxica del Aceite Automotriz a través de pruebas de ensayo en seres vivos (semillas de Frijol Cápsula (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum*)) a nivel laboratorio – Amarilis – Huánuco del 2019”, se concluye que el crecimiento radicular del Frijol Cápsula, es mejor a una concentración 40 000 mg/Lt. Asimismo, el crecimiento radicular es menor a una concentración de 20 000 mg/Lt.
- A concluir con relación al crecimiento radicular del Trigo es mejor a una concentración de 20 000 mg/Lt. Asimismo el crecimiento radicular es menor a una concentración de 55 000 mg/Lt.
- Así mismo al tomar como precedente la supervivencia de Frijol Capsula se estableció que este es menor a una concentración de 75000 mg/Lt, seguido la concentración de 55 000 mg/Lt., en total, se aprecia que el 12% de las semillas de Frijol Capsula no sobrevivieron y la mayor supervivencia se dio al emplear las concentraciones de 10 000 mg/Lt, 20 000 mg/Lt y 40 000 mg/Lt con un 92%, haciendo un total de supervivencia de 88%.
- Se observa que la supervivencia del Trigo es menor a una concentración de 75000 mg/Lt, seguido a una concentración de 55000 mg/Lt., en total se aprecia que el 7.2% de las semillas de Trigo no sobrevivieron y la mayor supervivencia se dio al emplear la concentración de 10 000 mg/Lt con un 100%, haciendo un total de supervivencia de 92.8%.
- Al emplear la concentración de 10 000 mg/Lt., se tiene un 100% de supervivencia en el Trigo con respecto al Frijol, ocurre similitud al emplear la concentración de 10 000 mg/Lt que tiene un 96 % de supervivencia.
- Al efectuar la comparaciones entre el nivel de significancia del 5%, (0.05) en nuestros datos se observado que presenta normalidad. Así mismo significancia asintótica o p-valor (0.17 y 0.11) nos indica que se ha superado la prueba de normalidad, por lo que es pertinente el uso de procedimientos estadísticos paramétricos.

RECOMENDACIONES

En el presente trabajo de investigación se tiene las siguientes recomendaciones:

- Es importante sugerir que todo proceso de observación que existe en el crecimiento radicular del Frijol Capsula, siempre es preferible tomar muestras de Vehículos que tengan mayor demanda y disponibilidad en el mercado industrial y comercial.
- Por la importante que significa el crecimiento del Trigo y al tomar las muestras de vehículos de marcas conocida nos permite referenciar las comparaciones de crecimiento radicular, ósea determinar cuál es menor la concentraciones que podamos enfocar el trabajo investigativo.
- En concentraciones mayores de 75000 mg/Lt de aceite automotriz se entiende que el frijol capsula y trigo progresivamente va muriendo y como consecuencia de ellos es recomendable no darle mayores concentraciones a fin de no permitir su desvanecimiento de fertilidad.
- Al Efectuar el análisis respectivo sobre el Frijol capsula Y Trigo en concentraciones 10000 mg/Lt se debe de tener en cuenta, que al emplear la concentraciones no debe ser mayor delo señalado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASTO, M. (2012). *Exigencias edáficas de Haplorhus peruviana Engl en bosques naturales en los centros poblados de Chilcapata y Chilhuapata – Huancavelica*. Tesis Ing. Forestal y Ambiental. Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo, Perú. 110 p.
- APHA. (1992). *Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales*. (Asociación de la Salud Pública Americana). Díaz de Santos S.A. Madrid, España. s.p.
- ATLAS R. y BARTHA, R. (1998). *Microbiología ecológica. Fundamentos y aplicaciones*. 4ta Edición. Edit. Benjamin/Cummings Science Publishing. Menlo Park, Estados Unidos.
- BERNARDO T, (2006). *Diagnóstico de Motores diésel Mediante el Análisis del aceite usado*. Editorial Reverte, S, A., 2005, España.
- BOTELLO, A. (1996). *Características y propiedades fisicoquímicas del petróleo. Contaminación e impacto ambiental: Diagnostico y tendencias*. Universidad Autónoma de Campeche. Serie Científica, Golfo de México. 5. 666 p.
- BARBARO, A; KARLANIA, A; y MATA, A. (2010). *Importancia del PH y la conductividad eléctrica (CE) en los Sustratos para la Planta*, 7 p.
- CAMARENA, F. (1990). *El fríjol reventón "numia", "ñuña" o "apa"*. Revista INIAA. Lima- Perú.
- CARRERA, M; GALAN, S; GONZALES. T; HIDALGO,F; MAROTO, B; MATEO, B; NAVARRO, F; PUERTA, C; ROJO, H, ZARAGOZA, A; (2005). *Prontuario de agricultura cultivos agrícolas*. México.
- CALVO, G. (2004) *Bacterias Simbióticas Fijadores de Nitrógeno*. Universidad de Salamanca. España.
- CASTILLO, G. (2004). *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: Estandarización, intercalibración, resultados y*

Aplicaciones. 1ra edición. Edit. Instituto Mexicano de Tecnología de Agua. México. 189 p.

CASTRO, G. (2013). *Dependencia de la dosis en los mecanismos de toxicidad y la evaluación de riesgo en toxicología*. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. Buenos Aires, Argentina. 47 (3): 561 – 585

CUEVA, D; ESPINOZA, R; ILIZALITURRI, H; MEDOZA, C; (2012). *Métodos eco toxicológicos para la evaluación de suelo contaminados con hidrocarburos*. México. P 87-105.

Cruz G.R. (1991). *Evaluación del Modelo de Palacios Vélez para Simular el Balance de la Humedad del Suelo en el Cultivo de Trigo (Triticum Aestivum L) Variedad Seri M-82*. U.A.A.A.N, México. P 63.

Debouck, D.; Hidalgo, R (1985). *Morfología de la planta de frijol común*, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Colombia. P 7-41.

D.S N° 037-2008-PCM (2008). *Establecen Límites Máximos Permisibles de Efluentes Líquidos para el Subsector Hidrocarburos*. [En línea]: (<https://sinia.minam.gob.pe/normas/limites-maximos-permisibles-imp-efluentes-liquidos-sub-sector>, 14 Mayo, 2008)

Directorio de la Industria de Proveedores Industriales de la República Mexicana (DIRIND). 2016. Consultado el 20 agosto del 2019.

DUFFUS, H. (1983). *Toxicología Ambiental*. Ed. Omega. Barcelona.

DOUGLA, A. (2010). *Evaluación de seis variedades de frijol (phaseolus vulgaris L.), bajo condiciones de cultivo tradicional en localidades de chimaltenango y Sololá*, Guatemala. P 11

FEISTRIZER, W. (1985). *Procesamiento de Semillas de Cereales y Leguminosas de Grano*. Italia.

FERNÁNDEZ, C. PAUL, C. Y MARCELINO, L. (1989). *Etapas de Desarrollo de la Planta de Frijol común (phaseolous vulgaris L.)* Colombia. P 61

FIDIAS, G. (2012). *El proyecto de investigación introducción a metodología científica*. Editorial Episteme, C.A. Venezuela

- GUILLERMO, F. (2018). *Plantas vasculares y no vasculares*. [En línea]: Botanipedia, (www.botanipedia.org/index.php?title=plantas_vasculares_y_no_vasculares, 26 de May. 2018).
- GUEVARA, A. (2012). *Partes por millon*. [En línea]: Uveg, (<http://roa.uveg.edu.mx/repositorio/bachillerato/78/Partespormilln.pdf>)
- GUERRERO, C. (1998). *Cultivos Herbáceos Extensivos*. México. P 23-28
- GUSMAN, LL. (2013). *Fitoestabilización con (plantas-macrofitas) lemna minor, en las aguas del rio chaluanka*. Monografía. Universidad Alas Peruanas. Perú. 14 p.
- GUAMÁN, R.; ANDRADE, C. Y ALAVA, J. (2004). *Guía para el cultivo de fréjol E.E. Boliche*. INIAP-PROMSAEC. Boletín divulgativo. Guayaquil. No. 316. 51 p.
- HADER, D. y ERZINGER, G. 2015. Monitorreo de la contaminación y sustancias toxicas en ecosistemas acuáticos. Revista Ecológica y Environmental Sciences. ISSN: 2347 – 7830.
- HERNANDEZ, E.; RUBIÑOS, J. y ALVARADO, J. 2004. *Restauración de suelos contaminados con hidrocarburos: conceptos básicos*. 1ra Edición. Edit. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 160 p.
- ISTA (International Seed Testing Association). 2004. International Rules for Seed Testing. Ed. 2004/1: 700 copies.
- JARA, V. J. (1993), *Cultivo del trigo en la sierra del Perú*. Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA). Lima - Perú.
- KROGMEIER J., MCCARTY W., Y BREMNER M. (1989). *Fitotoxicidad potencial asociada con el uso de inhibidores de la ureasa del suelo*. [En línea]: (https://www.pnas.org/content/86/4/1110.long?utm_source=trendmd&utm_medium=cpc&utm_campaign=proc_natl_acad_sci_u_s_a_trendmd_0).

- LOPEZ, M. y GRAU, M. (2005). *Metales pesados, materia orgánica y otros parámetros de la capa superficial de los suelos agrícolas y de los pastos de la España peninsular. II Resultados por Provincias. Ministerio de Educación y Ciencia e Instituto Nacional de Tecnología Agraria y Alimentaria. España.*
- LOPEZ B; (1991), *Cultivos herbáceos. Vol. I. Cereales. Mundi-Prensa, España. 539 p.*
- NUÑEZ, M. y HUERTADO, (2005). *Bioensayos de toxicidad aguda utilizado Daphia magna Straus (Cladocera: Daphniidae) desarrollada en medio de cultivo modificado. Revista Peruana de Biología. Peru. 12 (1): 165 – 170.*
- PÉREZ, P Y MERINO, M. (2009). *Definición de semilla. [En línea]: (https://definicion.de/semilla/)*
- PEREIRA, C.; MAYCOTTE, C.; RESTREGO, B.; MAURO, F.; CALLE, A. y ESTHER, M. (2011). *Edafología 1. 1ra Edic. Edit. Espacio Grafico Comunicaciones S.A. Caldas, Colombia. 170 p.*
- PERSOONE, G.; BAUDO, R.; COTMAN, M.; BLAISE, K.; TRHOMPSON, C.; MOREIRA, M.; VOLLAT, B. y HAN, T. (2009). *Revisión de la prueba de toxicidad aguda por Daphnia magna: evaluación de la sensibilidad y la precisión de los ensayos realizados con organismos de cultivos de laboratorio o eclosionados a partir de huevos inactivos, conocimiento y manejo de ecosistemas acuáticos. Estados Unidos. 393 (1): 33 - 50.*
- PÉREZ, J. (1998). *Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología. Instituto de Biotecnología de las Plantas. España. p 390.*
- REPETTO. J; REPETTO, K; (2009). *Toxicología Fundamental. P34-35*
- RÍOS, M., J. & QUIRÓS D., J. (2002). *El Fríjol (Phaseolus vulgaris L.): Cultivo, beneficio y variedades. Boletín Técnico. FENALCE. Bogotá, Colombia.*
- TISST, B. y WELTE, D. (1982). *El petróleo su formación y localización. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.*

- UFPEL (Universidad Federal de Pelotas); PNS (Programa Nacional de Semillas-Bolivia). (2003-2004). *Curso de Postgrado de Especialización en Tecnología de Semillas por Tutoría a Distancia*. Módulo 2: Fisiología de Semillas. BO. p. 62. P 17.
- VELASQUEZ, J. (2018). *Contaminación de suelos y aguas por hidrocarburos en Colombia. Análisis de la fitorremediación como estrategia biotecnológica de recuperación*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD. Casanare, Colombia. 16 p.
- VOLKE, S. VELASCO, T. Y ROSA, P. (2005). *Suelos Contaminados por Metales y Metaloides: muestreo y alternativas para su medición*. México. 109 p.
- VOLKE, S. Y VELASCO, T. (2001). *Tecnologías de Remediación para Suelos Contaminados*. Mexico.36p
- WARHAM, E. J. (2000). *Ensayos para la semilla de maíz y de trigo: Manual de laboratorio*. Colombia. 74- 75 p.
- WIDMAN INTERNATIONAL SRL. (2018). *Como tomar muestras de aceite*. [En línea]: (https://widman.biz/Analisis/toma_muestras.html, 18 de Noviembre, 2018)

ANEXOS

Resolución de aprobación del proyecto de trabajo de investigación

UNIVERSIDAD DE HUÁNUCO *Facultad de Ingeniería*

RESOLUCIÓN N° 516-2019-CF-FI-UDH

Huánuco, 10 de Junio de 2019

Visto, el Oficio N° 403-2019-C-EAPIA-FI-UDH, del Coordinador Académico de Ingeniería Ambiental, referente a **Eddie Esleyther, DAVILA MARTEL**, del Programa Académico Ingeniería Ambiental Facultad de Ingeniería, quien solicita Aprobación del Proyecto de Investigación;

CONSIDERANDO:

Que, según Resolución N° 529-99-CO-UH, de fecha 06.09.99, se aprueba el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Ingeniería, vigente;

Que, según el Expediente 1445-19, del Programa Académico de, Ingeniería Ambiental, Informa que el Proyecto de Investigación Presentado por **Eddie Esleyther, DAVILA MARTEL**, ha sido aprobado, y

Que, según Oficio N° 403-2019-C-EAPIA-FI-UDH, del Presidente de la Comisión de Grados y Títulos del Programa Académico de Ingeniería Ambiental, Facultad de Ingeniería, Informa que el recurrente ha cumplido con levantar las observaciones hechas por la Comisión de Grados y Títulos, respecto al Proyecto de Investigación; y

Estando a lo acordado por el Consejo de Facultad de fecha 10 de Junio de 2019 y normado en el Estatuto de la Universidad, Art. N° 44 inc.r);

SE RESUELVE:

Artículo Primero. - **APROBAR**, el Proyecto de Investigación Titulado:
“EVALUACIÓN TOXICA DEL ACEITE AUTOMOTRIZ A TRAVÉS DE PRUEBAS DE ENSAYO EN SERES VIVOS (SEMILLAS DE FRIJOL CAPSULA (PHASEOLUS VULGARIS) Y TRIGO(TRITICUM) A NIVEL LABORATORIO – AMARILIS – HUÁNUCO DEL 2019” presentado por **Eddie Esleyther, DAVILA MARTEL**, para optar el Título Profesional de Ingeniero(a) Ambiental del Programa Académico de Ingeniería Ambiental de la Universidad de Huánuco.

REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE, ARCHÍVESE



UNIVERSIDAD DE HUÁNUCO
FACULTAD DE INGENIERÍA
CONSEJO DE FACULTAD
[Signature]
Ing. JOHNNY P. JACHA ROJAS
SECRETARIO DOCENTE



UNIVERSIDAD DE HUÁNUCO
[Signature]
Mg. Bertha Campos Ríos
DECANA (E) DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA

Distribución:

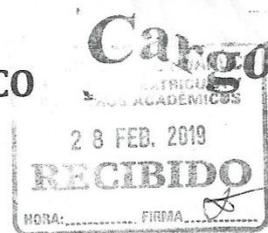
Fac. de Ingeniería – EAPIA – Asesor – Exp. Graduando – Interesado - Archivo.
BCR/JJR.

Resolución de aceptación de asesor de tesis

UNIVERSIDAD DE HUÁNUCO
Facultad de Ingeniería

RESOLUCIÓN N° 088-2019-D-FI-UDH

Huánuco, 20 de febrero de 2019



Visto, el Oficio N° 084-2019-C-EAPIA-FI-UDH presentado por el Coordinador de la Escuela Académica Profesional de Ingeniería Ambiental y el Expediente N° 246-19, del estudiante **Eddie Esleyther, DAVILA MARTEL**, quién solicita Asesor de Tesis, para desarrollar el trabajo de investigación.

CONSIDERANDO:

Que, de acuerdo a la Nueva Ley Universitaria 30220, Capítulo V, Art 45° inc. 45.2, es procedente su atención, y;

Que, según el Expediente N° 246-19, presentado por el (la) estudiante **Eddie Esleyther, DAVILA MARTEL**, quien solicita Asesor de Tesis, para desarrollar su trabajo de investigación, el mismo que propone al Mg. Frank Erick Camara Llanos, como Asesor de Tesis, y;

Que, según lo dispuesto en el Capítulo II, Art. 27° y 28° del Reglamento General de Grados y Títulos de la Universidad de Huánuco vigente, es procedente atender lo solicitado, y;

Estando a Las atribuciones conferidas al Decano de la Facultad de Ingeniería y con cargo a dar cuenta en el próximo Consejo de Facultad.

SE RESUELVE:

Artículo Único.- DESIGNAR, como Asesor de Tesis del estudiante **Eddie Esleyther, DAVILA MARTEL**, al Mg. Frank Erick Camara Llanos, Docente de la Escuela Académica Profesional de Ingeniería Ambiental, Facultad de Ingeniería.

Regístrese, comuníquese, archívese

[Handwritten signature]
16/02/2019
DNI: 72845124



UNIVERSIDAD DE HUÁNUCO
FACULTAD DE INGENIERÍA
CONSEJO DE FACULTAD
[Handwritten signature]
Ing. JOHNNY P. JACHA ROJAS
SECRETARIO DOCENTE



UNIVERSIDAD DE HUÁNUCO
[Handwritten signature]
Mg. Bertha Campos Ríos
DECANA (A) DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA

Distribución:

Fac. de Ingeniería – EAPIA– Asesor – Mat. y Reg.Acad. – File Personal – Interesado – Archivo.
BCR/JPJR/nto.



protocolo para la medición de toxicidad con aceite automotriz

A. MATERIALES

- 10 frascos Agua destilada
- Detergente para lavar los materiales
- 50 placas de Petri de 90 mm de diámetro
- Papel filtro Whatman N°3, o equivalente, cortado en círculos de 90 mm de diámetro
- 12 pliegues de papel kraft
- 8 vasos de 250 ml
- 5 Pipetas volumétricas de 5 ml
- 5 Pipetas volumétricas de 10 ml
- 2 Pinzas, para no tocar las semillas con las manos y evitar contaminarlas
- Etiquetas adhesivas y lapiceros
- 125 Semillas de Frijol Cápsula
- 125 Semillas de Trigo
- Pie de rey o regla milimetrada

B. EQUIPOS.

- Balanza analítica
- Autoclave
- Incubadora

C. PROCEDIMIENTO

De acuerdo al proyecto de investigación me permitirá llevar a un orden cronológico de carácter procedimental, en el sentido que las etapas que se han diseñado de manera secuenciada y articulada, se someterán a diversas fases a fin de establecer los pasos que seguirá el proceso investigativo a fin de encontrar formas y medios en lograr un orden que permite establecer el logro de los objetivos deseados, significando que esto nos llevara a señalar lo siguiente pasos:

1. Ubicación

Al tomar como precedente y la referencias que me van permitir identificar como primer paso el lugar o espacio donde voy extraer la muestra de aceite automotriz usado, al enfocarlo con mayor incidencia me ceñiré exclusivamente a ubicar el lugar donde existe incidencia de este producto investigativo estos fueron extraídos por personas que autorizándonos de extraer su aceite automotriz usado en diferente ubicaciones de nuestra ciudad de Huánuco estos fueron y estos fueron extraídos por engrase y cambio de aceite de vehículos motorizados.

2. Caracterización del aceite automotriz.

En el proceso de investigación se mide a través del uso de instrumentos que orienten a efectuar un trabajo eminentemente profundizado, donde nos posibilite la solución del problema al fin de tener un efecto de la caracterización donde se obtuvo 10 muestras de embaces de 100 ml debidamente de primer uso, en esto contendrá aceite automotriz usado, donde trasladara 5 muestras al Laboratorio de la Universidad de Huánuco y otros 5 muestras más se trasladara al laboratorio de BLENDING S.A.C. en donde se caracterizara de la cantidad sustancias químicas de los francos obtenidos de los establecimientos con aceite automotriz con el objetivo de obtener información más detallada sobre el aceite donde se va trabajar en laboratorio de la UDH .

3. Preparación de las diluciones

Se analizarán 5 disoluciones del compuesto a estudiar empleando distintas soluciones para la preparación de la serie de diferentes concentraciones. De esta forma se podrá evaluar la toxicidad considerándose el intervalo entre el 10000 ppm hasta 75000 ppm correspondiéndose con concentraciones de 0.23 ml/kl a 1.72 ml/kl.

Con el fin de controlar la sensibilidad de las semillas, es preciso incluir un control negativo usando solo agua (la misma que se emplee para las diluciones) y realizar repeticiones tanto para el blanco como para cada dilución ensayada. (SAMO, A.J; Madrid ,2008)

4. Siembra

Colocar en cada placa de Petri 4 recortes circulares de papel filtro, asignar aleatoriamente las diluciones a las distintas fuentes e identificarlas correctamente, así como la fecha de inicio y terminación del ensayo. Saturar cuidadosamente el papel con 7 ml de la dilución con ayuda de una pipeta (utilizar una pipeta diferente para cada dilución). Con la ayuda de unas pinzas, colocar cuidadosamente 5 semillas, teniendo cuidado de dejar espacio suficiente entre las semillas para permitir el desarrollo de las raíces.

Una vez dispuestas las semillas las cajas se tapan, se incubaran 5 días a una temperatura de 30 a 32. °C en la oscuridad.

Tras el periodo de incubación se medirá cuidadosamente la longitud de la raíz y del epicotíleo de cada una de las plántulas correspondientes a cada concentración y a los controles, contando además el número de semillas que no germinaron.

5. Calculo de índices

Calculo del porcentaje de inhibición en la germinación de cada dilución con respecto del blanco.

Para cada una de las 5 concentraciones ensayadas deberá calcularse el promedio y la desviación estándar de la elongación de la raíz y del epicotíleo de las plántulas de cada repetición.

Con este valor se calculará el porcentaje de inhibición del crecimiento, como el porcentaje de inhibición del crecimiento de la radícula y del epicotíleo, respecto del promedio de elongación del control del blanco.

$$\%CG = 100. \left(1 - \frac{N^{\text{a}} \text{ semillas germinadas por cada disolucion}}{N^{\text{a}} \text{ total de semillas}}\right)$$

$$\%CR = 100. \left(1 - \frac{\text{promedio elongacion de dilucion}}{\text{promedio de elongacion del control}}\right)$$

$$TM = \frac{N^{\circ} \text{ de semillas germinadas}}{\text{total de semillas}} \times 100$$

$$TM = \frac{N^{\circ} \text{ de semillas de crecimiento radicular}}{\text{total de semillas}} \times 100$$

6. Representaciones Gráficas

Dibujar la gráfica de % de germinación de las semillas de Frijol Capsula (*Phaseolus vulgaris*) Y Trigo (*Triticum*).

Dibujar la gráfica de % de crecimiento radicular de semillas de Frijol Capsula (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum*).

Dibujar la gráfica de % de de la Tasa de mortalidad de la germinación y crecimiento radicular de las semillas de Frijol Capsula (*Phaseolus vulgaris*) y Trigo (*Triticum*).

: MATRIZ DE CONSISTENCIA

**“EVALUACIÓN TOXICA DEL ACEITE AUTOMOTRIZ A TRAVÉS DE PRUEBAS DE ENSAYO EN SERES VIVOS
(SEMILLAS DE FRIJOL CAPSULA (*Phaseolus vulgaris*) Y trigo (*Triticum*) A NIVEL LABORATORIO – AMARILIS –
HUANUCO DEL 2019”**

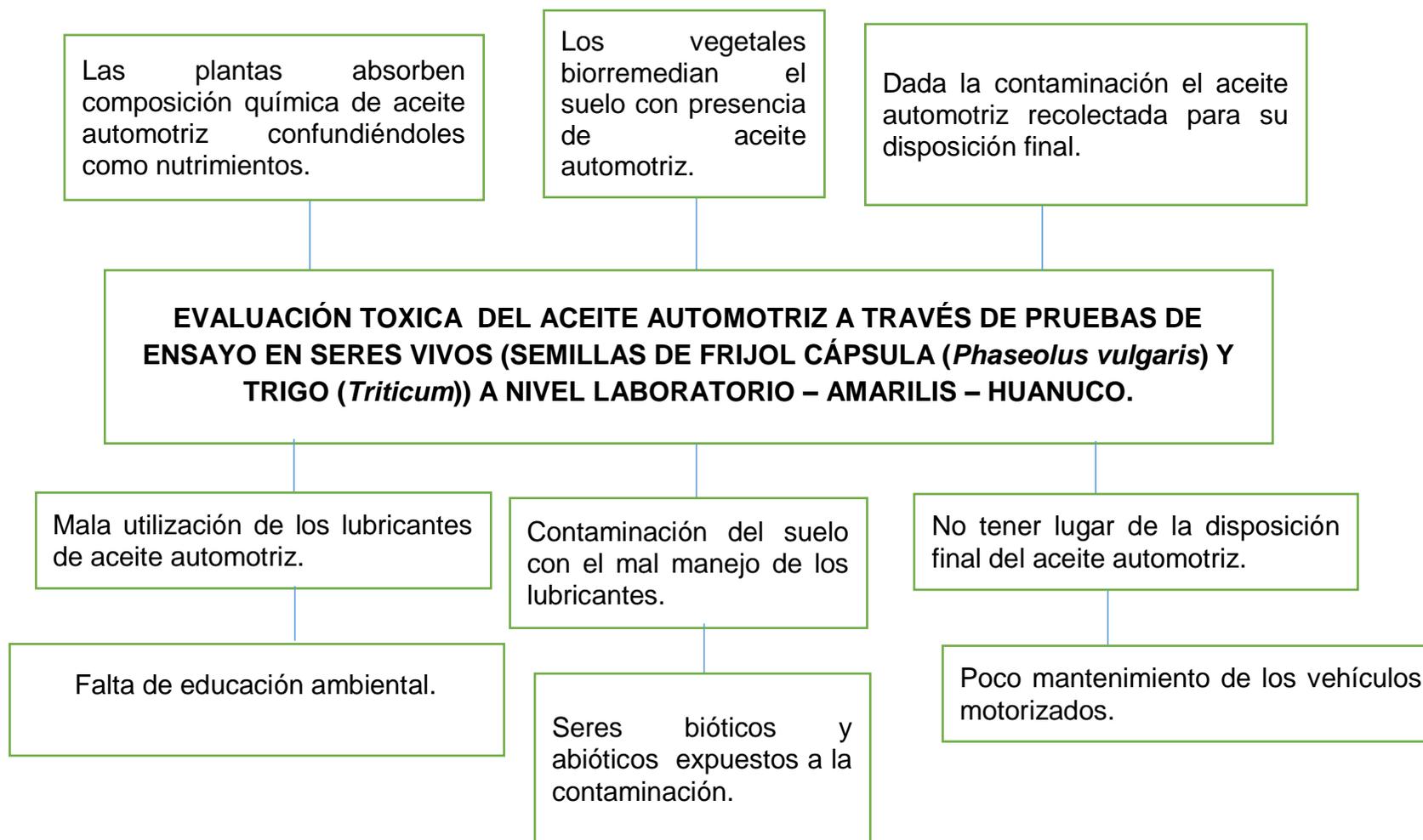
Tesista: Bach. Eddie Esleyther Davila Martel

MATRIZ DE CONSISTENCIA

Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Metodología	Población
<p>FORMULACIÓN DE PROBLEMA:</p> <p>PROBLEMA GENERAL</p> <p>¿Cuál es la toxicidad del aceite automotriz a través de pruebas de ensayo en seres vivos (semillas de Frijol Cápsula (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y Trigo (<i>Triticum</i>)) a nivel Laboratorio?</p>	<p>OBJETIVO GENERAL</p> <p>Evaluar la toxicidad del aceite automotriz a través de pruebas de ensayo en seres vivos (semillas de Frijol Cápsula (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y Trigo (<i>Triticum</i>)) a nivel Laboratorio.</p>	<p>Hipótesis General</p> <p>Hi: Existe diferencia en el crecimiento radicular del de Frijol Cápsula (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y Trigo (<i>Triticum</i>) al emplear diferentes concentraciones de aceite automotriz, considerando cumplimiento de los parámetros del aceite.</p>	<p>Variables independientes</p> <p>Evaluación toxica</p> <p>Variables dependientes</p> <p>Pruebas de ensayo en seres vivos (semillas de Frijol Capsula (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y Trigo (<i>Triticum</i>))</p>	<p>Tipo de investigación</p> <p>Es una investigación experimental donde utilizaremos el método científico. Las mismas nos conducirá a establecer experimentos que no lleven a ser más incisivos a través de trabajos de laboratorio o fuera de ella. Esto generalmente involucra un número relativamente pequeño de semilla para ser investigados. Los experimentos son más efectivos para la investigación explicativa y frecuentemente están limitados a temas en los cuales en esta investigación puede manipular la situación, como por ejemplo las semillas de cómo saber medir el grado de contaminación por un compuesto químico. Esta investigación tiene experimentos de variabilidad (independiente y</p>	<p>Población</p> <p>Las dos especies que se utilizaron para el presente trabajo de investigación fueron 125 semillas de Frijol Capsula (<i>Phaseolus vulgaris</i>) que fueron obtenidos en la Universidad Nacional Hermilio Valdizan de Huánuco y 125 semillas de Trigo (<i>Triticum</i>) obtenidas en la tienda molino San Rafael.</p>
<p>PROBLEMA ESPECÍFICO</p> <p>¿Existe diferencia en el crecimiento radicular del Frijol Cápsula (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y Trigo (<i>Triticum</i>) al emplear diferentes concentraciones de aceite automotriz, considerando el cumplimiento de los paramento del aceite?</p> <p>¿Cuánto es el crecimiento radicular de las semillas de Frijol Cápsula (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y Trigo (<i>Triticum</i>) al emplear diferentes</p>	<p>OBJETIVOS ESPECIFICOS</p> <p>Determinar la diferencia en el crecimiento radicular del Frijol Cápsula (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y Trigo (<i>Triticum</i>) al emplear diferentes concentraciones de aceite automotriz, considerando el cumplimiento de los paramento del aceite.</p> <p>Describir cuanto es el crecimiento radicular de las semillas del Frijol Cápsula (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y Trigo (<i>Triticum</i>) al emplear diferentes concentraciones de aceite automotriz</p> <p>Describir cuanto es la sobrevivencia de las semillas del Frijol Cápsula (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y Trigo</p>	<p>Hipótesis Especifico</p> <p>Ho: No existe diferencia en el crecimiento radicular del de Frijol Cápsula (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y Trigo (<i>Triticum</i>) al emplear diferentes concentraciones de aceite automotriz, considerando cumplimiento de los parámetros del aceite.</p> <p>Hi: Existe diferencia en el crecimiento radicular del de Frijol Cápsula (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y Trigo (<i>Triticum</i>) al emplear diferentes concentraciones de aceite automotriz, considerando cumplimiento de los parámetros del aceite.</p>		<p>Muestra</p> <p>Resultado después de realizar los cálculos de distribución normal estimando una muestra de "n" semillas de Frijol Capsula (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y Trigo (<i>Triticum</i>), puestas en una cama de germinación, para el posterior tratamiento con aceite automotriz.</p> <p>Técnicas e instrumentos de recolección de datos</p> <p>Tablas de control diario.</p>	

<p>concentraciones de aceite automotriz?</p>	<p>(Triticum) usando diferentes concentraciones de aceite automotriz</p>	<p>Ho: No existe diferencia en el crecimiento radicular del de Frijol Cápsula (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y Trigo (<i>Triticum</i>) al emplear diferentes concentraciones de aceite automotriz, considerando cumplimiento de los parámetros del aceite.</p>	<p>dependiente) en la que es controlada por el investigador para ver qué efectos que produce en los resultados en cuando la medición de la toxicidad del aceite automotriz.</p>	<p>Protocolo para la medición de la toxicidad aguda de una sustancia.</p>
<p>¿Cuánto es la sobrevivencia de las semillas de Frijol Cápsula (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y Trigo (<i>Triticum</i>) al emplear diferentes concentraciones de aceite automotriz?</p>	<p>Comparar la sobrevivencia de las semillas del Frijol Cápsula (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y Trigo (<i>Triticum</i>) al emplear diferentes concentraciones de aceite automotriz</p>		<p>Enfoque Presenta un enfoque cuantitativo ya que los objetivos de la investigación solo se logran analizando datos numéricos.</p>	<p>Recolección de datos La metodología que propondré es de determinar el umbral máximo que soportaría las semillas Frijol Capsula (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y Trigo (<i>Triticum</i>), con la utilización de la sustancia química del aceite automotriz , donde esta investigación se basara en 3 fases</p>
<p>¿Es igual la sobrevivencia de las semillas de Frijol Cápsula (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y Trigo (<i>Triticum</i>) al emplear diferentes concentraciones de aceite automotriz?</p>			<p>Nivel de investigación El nivel de investigación es explicativo, porque dentro de este proceso se podrá generar cuales fueron las causas que inciden con mayor incidencia en cuanto al desarrollo del problema planteado y estas permitirán medir el efecto que trascienda con énfasis en el proceso investigativo, de tal efecto se formulara la hipótesis de manera racional y que las mismas tienen las características de análisis multivariada que se explicaran tal como se presentan en el momento de la toma de muestra</p>	

Árbol de Causa y Efecto



instrumento para la toma de muestra de aceite automotriz usado.

Ficha de Toma de Muestras de Aceite Usado de Vehículos										
Datos del equipo		Datos del vehículo					Datos del aceite			
Código	equipo	Tipo (sección lubricada)	Marca	Modelo o serie	Capacidad (g)	Nombre del Lubricante	Km de aceite	Km del equipo	Hora de la toma de muestra	Fecha de la toma de muestra

LABORATORIO DE QUÍMICA AMBIENTAL DE LA UNIVERSIDAD DE HUÁNUCO

Resultados de la toma de muestras para la caracterización de aceite automotriz usado en el laboratorio BLENDING S.A.C

BLENDLAB
Laboratorio de Monitoreo
de Aceites en Servicio
laboratorio@blending.sac.com

REPORTE DE ANALISIS

Blending s.a.c.

Soluciones y servicios integrados

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

			ALERTA
CODIGO EQUIPO	005	CODIGO ASIGNADO	027469
DESCRIPCION EQUIPO	NO INDICA	FECHA MUESTREO	12/07/2019
MARCA EQUIPO	KIA	FECHA RECEPCION	17/07/2019
MODELO/SERIE EQUIPO	SPORTAGE	FECHA REPORTE	19/07/2019
CODIGO COMPONENTE	005MOTOR	LUBRICANTE	CASTROL GTX 5W-20
DESCRIPCION COMPONENTE	MOTOR		
MODELO/SERIE COMPONENTE	NO INDICA	SAE O ISO	5W-20
MARCA COMPONENTE	NO INDICA	HR ACEITE	-
CAPACIDAD TANQUE ACEITE (gal)	0.00	KM ACEITE	-
VOLUMEN DE RELLENO (gal)	0.00	HR EQUIPO	-
FRECUENCIA DE RELLENO	NO INDICA	KM EQUIPO	2637.00

	ENSAYOS	METODOS	RESULTADOS
CONTAMINANTES EXTERNOS			
	Silicio, ppm	ASTM D6595	151
	Sodio, ppm	ASTM D6595	15
CONTENIDO METÁLICO			
	Aluminio, ppm	ASTM D6595	20
	Cobre, ppm	ASTM D6595	28
	Cromo, ppm	ASTM D6595	0
	Hierro, ppm	ASTM D6595	61
	Plomo, ppm	ASTM D6595	0
	Estaño, ppm	ASTM D6595	13
	Niquel, ppm	ASTM D6595	0
	Cadmio, ppm	ASTM D6595	0
	Vanadio, ppm	ASTM D6595	0
	Plata, ppm	ASTM D6595	0
METALES DE ADITIVO (REFERENCIALES)			
	Calcio, ppm	ASTM D6595	1962
	Fosforo, ppm	ASTM D6595	726
	Zinc, ppm	ASTM D6595	1085
	Magnesio, ppm	ASTM D6595	13
	Boro, ppm	ASTM D6595	4
	Bario, ppm	ASTM D6595	10
OTROS METALES			
	Titanio, ppm	ASTM D6595	0
	Molibdeno, ppm	ASTM D6595	895
	Manganeso, ppm	ASTM D6595	24

COMENTARIOS

Aluminio en precaución. Desgaste de cobre en precaución. Silicio elevado. Revisar filtros, sellos, ajustes, evitar ingreso de polvo del ambiente. Presencia de silicio acelera el desgaste abrasivo. Se requiere tomar acción correctiva antes de cambiar el aceite. Sugerimos identificar y corrija las condiciones que pueden haber contribuido al estado del lubricante. Continuar monitoreando.

BLENDING S.A.C.

Maria Del Carmen Malasquez Anchante

Maria Del Carmen Malasquez Anchante
QUÍMICO CQP 921 DNI 45008548
Jefe De Laboratorio

Análisis de Monitoreo de Aceites de Servicio - Laboratorio

Estimado cliente: El propósito de este análisis es únicamente para detectar desgastes mecánicos, contaminación, condición del lubricante y desarrollar tendencias. No debe entenderse como garantía expresa que no ocurrirá una falla en el equipo o en uno de sus componentes.

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

			NORMAL
CODIGO EQUIPO	004	CODIGO ASIGNADO	027468
DESCRIPCION EQUIPO	B2F - 908	FECHA MUESTREO	12/07/2019
MARCA EQUIPO	TOYOTA	FECHA RECEPCION	17/07/2019
MODELO/SERIE EQUIPO	CRESTA	FECHA REPORTE	19/07/2019
CODIGO COMPONENTE	004MOTOR	LUBRICANTE	TURBO THPD 15W40
DESCRIPCION COMPONENTE	MOTOR		
MODELO/SERIE COMPONENTE	NO INDICA	SAE O ISO	15W40
MARCA COMPONENTE	NO INDICA	HR ACEITE	-
CAPACIDAD TANQUE ACEITE (gal)	0.00	KM ACEITE	-
VOLUMEN DE RELLENO (gal)	0.00	HR EQUIPO	-
FRECUENCIA DE RELLENO	NO INDICA	KM EQUIPO	202679.00

	ENSAYOS	METODOS	RESULTADOS
CONTAMINANTES EXTERNOS			
	Silicio, ppm	ASTM D6595	10
	Sodio, ppm	ASTM D6595	8
CONTENIDO METÁLICO			
	Aluminio, ppm	ASTM D6595	6
	Cobre, ppm	ASTM D6595	8
	Cromo, ppm	ASTM D6595	3
	Hierro, ppm	ASTM D6595	14
	Plomo, ppm	ASTM D6595	5
	Estaño, ppm	ASTM D6595	0
	Niquel, ppm	ASTM D6595	0
	Cadmio, ppm	ASTM D6595	0
	Vanadio, ppm	ASTM D6595	0
	Plata, ppm	ASTM D6595	0
METALES DE ADITIVO (REFERENCIALES)			
	Calcio, ppm	ASTM D6595	2981
	Fosforo, ppm	ASTM D6595	651
	Zinc, ppm	ASTM D6595	903
	Magnesio, ppm	ASTM D6595	71
	Boro, ppm	ASTM D6595	3
	Bario, ppm	ASTM D6595	0
OTROS METALES			
	Titanio, ppm	ASTM D6595	0
	Molibdeno, ppm	ASTM D6595	5
	Manganeso, ppm	ASTM D6595	1

COMENTARIOS

Los resultados evaluados están en valores permisibles para el lubricante en servicio. Continuar monitoreando el lubricante para evaluar cambios en las tendencias.

BLENDING S.A.C.

Maria Del Carmen Malasquez

Maria Del Carmen Malasquez Anchante
QUÍMICO CQP 921 DNI 45008548
Jefe De Laboratorio

Análisis de Monitoreo de Aceites de Servicio - Laboratorio

Estimado cliente: El propósito de este análisis es únicamente para detectar desgastes mecánicos, contaminación, condición del lubricante y desarrollar tendencias. No debe entenderse como garantía expresa que no ocurrirá una falla en el equipo o en uno de sus componentes.

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

			NORMAL
CODIGO EQUIPO	002	CODIGO ASIGNADO	027466
DESCRIPCION EQUIPO	B2F-908	FECHA MUESTREO	12/07/2019
MARCA EQUIPO	TOYOTA	FECHA RECEPCION	17/07/2019
MODELO/SERIE EQUIPO	HILUX	FECHA REPORTE	19/07/2019
CODIGO COMPONENTE	002MOTOR	LUBRICANTE	MOBIL SUPER 1000 SAE
DESCRIPCION COMPONENTE	MOTOR		20W-50
MODELO/SERIE COMPONENTE	NO INDICA	SAE O ISO	20W-50
MARCA COMPONENTE	NO INDICA	HR ACEITE	-
CAPACIDAD TANQUE ACEITE (gal)	0.00	KM ACEITE	-
VOLUMEN DE RELLENO (gal)	0.00	HR EQUIPO	-
FRECUENCIA DE RELLENO	NO INDICA	KM EQUIPO	882610.00

	ENSAYOS	METODOS	RESULTADOS
CONTAMINANTES EXTERNOS			
	Silicio, ppm	ASTM D6595	7
	Sodio, ppm	ASTM D6595	7
CONTENIDO METÁLICO			
	Aluminio, ppm	ASTM D6595	5
	Cobre, ppm	ASTM D6595	8
	Cromo, ppm	ASTM D6595	2
	Hierro, ppm	ASTM D6595	8
	Plomo, ppm	ASTM D6595	5
	Estaño, ppm	ASTM D6595	0
	Niquel, ppm	ASTM D6595	0
	Cadmio, ppm	ASTM D6595	0
	Vanadio, ppm	ASTM D6595	0
	Plata, ppm	ASTM D6595	0
METALES DE ADITIVO (REFERENCIALES)			
	Calcio, ppm	ASTM D6595	2831
	Fosforo, ppm	ASTM D6595	639
	Zinc, ppm	ASTM D6595	847
	Magnesio, ppm	ASTM D6595	55
	Boro, ppm	ASTM D6595	1
	Bario, ppm	ASTM D6595	0
OTROS METALES			
	Titanio, ppm	ASTM D6595	0
	Molibdeno, ppm	ASTM D6595	4
	Manganeso, ppm	ASTM D6595	1

COMENTARIOS

Los resultados evaluados están en valores permisibles para el lubricante en servicio. Continuar monitoreando el lubricante para evaluar cambios en las tendencias.

BLENDING S.A.C.

Maria Malasquez

Maria Del Carmen Malasquez Anchante
QUÍMICO CQP 921 DNI 45008548
Jefe De Laboratorio

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

			ALERTA
CODIGO EQUIPO	001	CODIGO ASIGNADO	027465
DESCRIPCION EQUIPO	W3W-667	FECHA MUESTREO	12/07/2019
MARCA EQUIPO	NISSAN	FECHA RECEPCION	17/07/2019
MODELO/SERIE EQUIPO	SENTRA	FECHA REPORTE	19/07/2019
CODIGO COMPONENTE	001MOTOR	LUBRICANTE	HELIX HX3 G 20W-50
DESCRIPCION COMPONENTE	MOTOR		
MODELO/SERIE COMPONENTE	NO INDICA	SAE O ISO	20W-50
MARCA COMPONENTE	NO INDICA	HR ACEITE	-
CAPACIDAD TANQUE ACEITE (gal)	0.00	KM ACEITE	-
VOLUMEN DE RELLENO (gal)	0.00	HR EQUIPO	-
FRECUENCIA DE RELLENO	NO INDICA	KM EQUIPO	541643.00

	ENSAYOS	METODOS	RESULTADOS
CONTAMINANTES EXTERNOS			
	Silicio, ppm	ASTM D6595	50
	Sodio, ppm	ASTM D6595	16
CONTENIDO METÁLICO			
	Aluminio, ppm	ASTM D6595	26
	Cobre, ppm	ASTM D6595	4
	Cromo, ppm	ASTM D6595	18
	Hierro, ppm	ASTM D6595	122
	Plomo, ppm	ASTM D6595	1
	Estaño, ppm	ASTM D6595	1
	Niquel, ppm	ASTM D6595	0
	Cadmio, ppm	ASTM D6595	0
	Vanadio, ppm	ASTM D6595	0
	Plata, ppm	ASTM D6595	0
METALES DE ADITIVO (REFERENCIALES)			
	Calcio, ppm	ASTM D6595	1361
	Fosforo, ppm	ASTM D6595	762
	Zinc, ppm	ASTM D6595	879
	Magnesio, ppm	ASTM D6595	336
	Boro, ppm	ASTM D6595	55
	Bario, ppm	ASTM D6595	0
OTROS METALES			
	Titanio, ppm	ASTM D6595	1
	Molibdeno, ppm	ASTM D6595	37
	Manganeso, ppm	ASTM D6595	2

COMENTARIOS

Desgaste de cromo en precaución. Silicio elevado. Revisar filtros, sellos, ajustes, evitar ingreso de polvo del ambiente. Presencia de silicio acelera el desgaste abrasivo. Desgaste de aluminio elevado, el aluminio que no ingresa como tierra podría provenir de los cojinetes, bujes (varios), pistones o sus faldas, arandelas de empuje y el turbo. Desgaste de hierro elevado podría indicar desgaste en eje de levas, camisas, cigüeñal, tren de válvulas, anillos de pistón. Se requiere tomar acción correctiva antes de cambiar el aceite. Sugerimos identifique y corrija las condiciones que pueden haber contribuido al estado del lubricante. Continuar monitoreando.

BLENDING S.A.C.

Maria Del Carmen Malasquez Anchante

Maria Del Carmen Malasquez Anchante
QUÍMICO EQP 921 DNI 45008548
Jefe De Laboratorio

Para: Davila Martel, Eddie Esleyther
Atención: Eddie Davila
De: Blending S.A.C.
Fecha: 03.07.2019
Referencia: Servicio de análisis
Número de propuesta: 01

Por este medio nos permitimos presentar la siguiente cotización para su consideración:

TIPO DE MUESTRA	Muestra de aceite Usado		
ANÁLISIS	MÉTODO	TARIFA DÓLARES UNIT.	5 muestras
Ensayos para Paquete Tipo I	Apéndice A	10.00	50.00
		Sub total	50.00
		IGV	1.80
		Total USD.	59.00

CONDICIONES

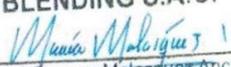
- Tiempo de entrega de resultados: 48 horas para aceites usados luego de recibir las muestras en nuestras instalaciones.
- Es servicio es al contado. La forma de pago es mediante transferencia bancaria a cualquiera de las siguientes cuentas. De requerir crédito a determinados días, solicitarlo.

Banco	No. Cta. Cte. En Dólares
Banco de Crédito del Perú (1)	193-1831567-1-85
Scotiabank	000-3970711

- Luego de la confirmación del pago, adjuntar voucher o depósito y enviarlo al correo del Centro de Servicio al Cliente dirigido a la Sra. Cecilia Fernandez: cfernandez@blendingsac.com y laboratorio@blendingsac.com
- De manejar dentro de su proceso de pagos órdenes de servicios u órdenes de compra, hacerlo llegar.
- Los resultados de los análisis son enviados en PDF al correo electrónico que indiquen. De estar el ensayo dentro del alcance de acreditación, este se emitirá con símbolo de acreditación. De no requerir dicho símbolo, devolver la declaración jurada adjunta firmada.
- En el caso de aceites usados y en monitoreo, se realizará la creación de usuario para poder descargar los reportes en forma online en el aplicativo web BLENDLAB.
- El horario de atención del laboratorio es de lunes a viernes de 7:30 am a 5:30 pm.
- El servicio no incluye entrega de material de muestreo y traslado de las muestras a nuestro laboratorio. Las muestras deben ser remitidas a Calle Carlos Concha 313, Callao (referencia: costado de la Base Naval, altura de la cuadra 5 de la Av. Contralmirante Mora) o Calle. 25 Nro 195 Urb. Corpac-San Isidro

Atentamente

BLENDING S.A.C

BLENDING S.A.C.

 Maria Del Carmen Matasquez Anchante
 QUÍMICO CQP 921 DNI 45008548
 Jefe De Laboratorio

Certificado



La Dirección de Acreditación del Instituto Nacional de Calidad - INACAL, en el marco de la Ley N° 30224, OTORGA el presente certificado de Renovación de la Acreditación al:

BLENDING S.A.C.

Laboratorio de Ensayo

En su sede ubicada en: Calle Carlos Concha 313, Callao, Provincia Constitucional del Callao y Departamento de Lima

Con base en la norma

NTP-ISO/IEC 17025:2017 Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración

Facultándolo a emitir Informes de Ensayo con Símbolo de Acreditación. En el alcance de la acreditación otorgada que se detalla en el DA-acr-06P-21F que forma parte integral del presente certificado llevando el mismo número del registro indicado líneas abajo.

Fecha de Renovación: 29 de junio de 2019

Fecha de Vencimiento: 28 de junio de 2023

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Estela Contreras Jugo', is written over a horizontal line.

ESTELA CONTRERAS JUGO
Directora, Dirección de Acreditación - INACAL

Cédula N° : 0418-2019/INACAL-DA
Contrato N° : Adenda al Contrato de Acreditación
N°018-2016/INACAL-DA
Registro N° : LE-095

Fecha de emisión: 26 de junio de 2019

El presente certificado tiene validez con su correspondiente Alcance de Acreditación y cédula de notificación, siendo que el alcance puede estar sujeto a ampliaciones, reducciones, actualizaciones y suspensiones temporales. El alcance y vigencia debe confirmarse en la página web www.inacal.gob.pe/acreditacion/categoria/acreditados al momento de hacer uso del presente certificado.

La Dirección de Acreditación del INACAL es firmante del Acuerdo de Reconocimiento Multilateral OMLA del Inter American Accreditation Co-operation (IAAC) e International Accreditation Forum (IAF) y del Acuerdo de Reconocimiento Mutuo con la International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC).

BUREAU VERITAS
Certification



BLENDING S.A.C.

Contracting Entity: Av. Contralmirante Mora Nro. 541, Callao – Perú.

This is a multi-site certificate, additional site details are listed in the appendix to this certificate

Bureau Veritas Certification Holding SAS – UK Branch certifies that the Management System of the above organisation has been audited and found to be in accordance with the requirements of the management system standards detailed below

ISO 9001:2015

Scope of certification

Servicio de descarga y recepción de líquidos a granel a través de tuberías desde el puerto del Callao; almacenamiento en tanques y despacho (derivados de hidrocarburos y productos químicos).

Servicio de recepción y almacenamiento de materiales, insumos y productos terminados de procedencia local y de importación, para el mercado de lubricantes, combustibles y refrigerantes.

Servicio de carga, despacho, transporte y distribución a nivel nacional de productos empacados y a granel (carga seca y líquida).
Servicio de mezcla, análisis y envasado de aceites y grasas lubricantes.

*Exclusión Permitida: 8.3 Diseño y desarrollo de los productos y servicios.

Discharge and reception services of bulk liquids through pipes from the port of Callao; storage in tanks and dispatch (hydrocarbon derivatives and chemical products).

Reception and storage services of local and imported materials, supplies and finished products, for the lubricants, fuels and coolants markets.

Loading, dispatch, transport and distribution services of packaged and bulk products (dry and liquid cargo) nationwide.

Blending, analysis and packaging of lubricating oils and greases services.

*Permitted exclusion: 8.3 Design and development of products and services.

Original cycle start date: **21-May-2015**

Expiry date of previous cycle: **20-May-2018**

Recertification Audit date: **05-Febrero-2018**

Recertification cycle start date: **08-August-2018**

Subject to the continued satisfactory operation of the organization's Management System, this certificate expires on: 20-May-2021

Certificate No. CO18.00191/U **Versión: No.0** **Revision date: 08-August-2018**

Certification body address: **5th Floor, 66 Prescott Street, London E1 8HG, United Kingdom**
Local Office: **Bureau Veritas Del Perú S.A. Av. Camino Real 390 – Torre Central del Centro Comercial Camino Real, Piso 14, Oficina 1402, Lima 27, Perú.**



Further clarifications regarding the scope of this certificate and the applicability of management system requirements may be obtained by consulting the organisation.
To check this certificate validity please call: 51-1-422 9000





BLENDING S.A.C.

ISO 9001:2015

Scope of certification

Oficina central: Servicio de descarga y recepción de líquidos a granel a través de tuberías desde el puerto del Callao; almacenamiento en tanques y despacho (derivados de hidrocarburos y productos químicos).
 Servicio de recepción y almacenamiento de materiales, insumos y productos terminados de procedencia local y de importación, para el mercado de lubricantes, combustibles y refrigerantes.
 Servicio de carga, despacho, transporte y distribución a nivel nacional de productos empacados y a granel (carga seca y líquida).
 Servicio de envasado de aceites y grasas lubricantes.

*Exclusión Permitida: 8.3 Diseño y desarrollo de los productos y servicios.

Head Office: Discharge and reception services of bulk liquids through pipes from the port of Callao; storage in tanks and dispatch (hydrocarbon derivatives and chemical products).
 Reception and storage services of local and imported materials, supplies and finished products, for the lubricants, fuels and coolants markets.
 Loading, dispatch, transport and distribution services of packaged and bulk products (dry and liquid cargo) nationwide.
 Packaging of lubricating oils and greases services.

*Permitted exclusion: 8.3 Design and development of products and services.

Site Name/Location	Site Addition Date*	Site Address	Site Scope
Site 1	21-05-2015	Calle Carlos Concha Nro. 313, Callao – Perú.	<p>Servicio de descarga y recepción de líquidos a granel a través de tuberías desde el puerto del Callao; almacenamiento en tanques y despacho (derivados de hidrocarburos y productos químicos).</p> <p>Servicio de recepción y almacenamiento de materiales, insumos y productos terminados de procedencia local y de importación, para el mercado de lubricantes, combustibles y refrigerantes.</p> <p>Servicio de mezcla, análisis y envasado de aceites y grasas lubricantes.</p> <p>Discharge and reception services of bulk liquids through pipes from the port of Callao; storage in tanks and dispatch (hydrocarbon derivatives and chemical products).</p> <p>Reception and storage services of local and imported materials, supplies and finished products, for the lubricants, fuels and coolants markets.</p> <p>Blending, analysis and packaging of lubricating oils and greases services.</p>

Certificate No. CO18.00191/U Version: No.0 Revision date: 08-August-2018

Certification body address: 5th Floor, 66 Prescott Street, London E1 8HG, United Kingdom
 Local Office: Bureau Veritas Del Perú S.A. Av. Camino Real 390 – Torre Central del Centro Comercial Camino Real, Piso 14, Oficina 1402, Lima 27, Perú.

Further clarifications regarding the scope of this certificate and the applicability of management system requirements may be obtained by consulting the organisation.
 To check this certificate validity please call: 51-1-422 9000



0008

Panel fotográfico

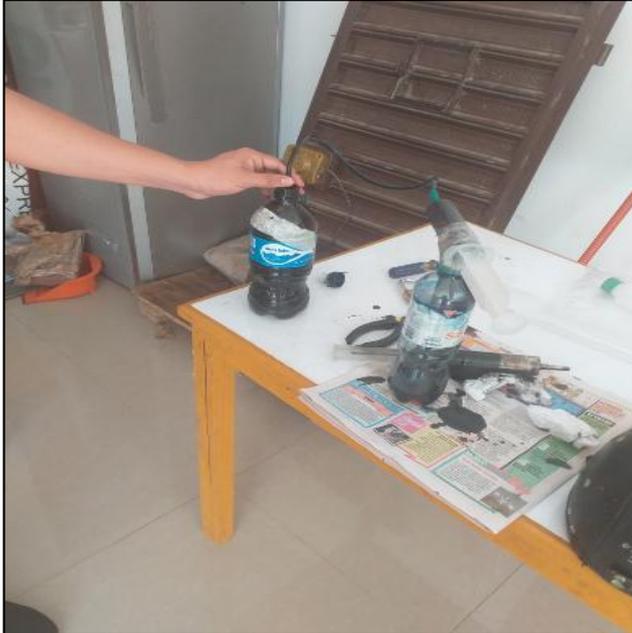


Foto 01: Creación de la bomba vampiro artesanal.



Foto02: Extracción de la muestra de aceite Automotriz.



Foto03: Extracción de la muestra de aceite automotriz.

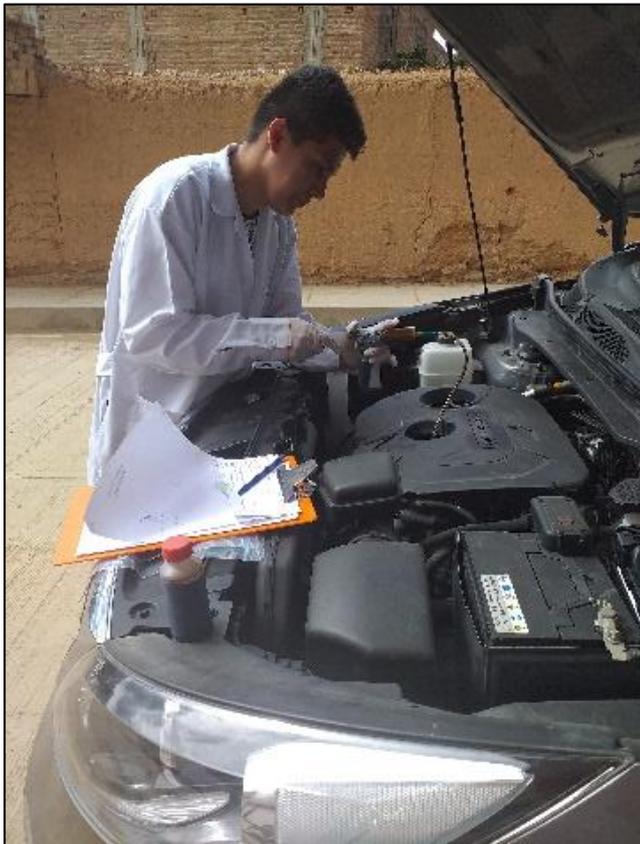


Foto04: Extracción de la muestra de aceite automotriz.



Foto05: Toma de datos sobre información de los vehículos obtenidos.



Foto06: Los materiales para obtención de la muestra aceite automotriz tienen que ser de primer uso.



Foto07: Una vez obtenidas las muestras se hará su rotulado en cada bolsa hermética.



Foto08: La extracción de la muestra tiene que ser directamente del medidor.



Foto09: Todos los materiales de laboratorio serán lavados con detergente y agua destilada.



Foto10: Se escogerá las semillas más grandes para poder utilizar en las pruebas de aceite automotriz usado.



Foto11: Las muestras serán envueltas con papel Kraft segunda con las medidas de los antecedentes.



Foto12: Los materiales deben ser forrados de manera cuidadosa para la esterelizacion.



Foto13: Unas ves forradas se colocaran de manera cuidadosa en el balde del autoclave y luego se procedera para su esterelizacion a un tiempo de 20 min.



Foto14: Se hicieron pruebas en laboratorio para verificar el tiempo de crecimiento de las semillas temperatura de 32°C.



Foto15: Se realizó pruebas con aceite automotriz con una solución de detergente y en donde no se encontró ningún crecimiento.



Foto16: Las semillas siempre estarán desinfectada con el 5% de hipoclorito de sodio.



Foto17: Se realizó pruebas de oxigenación de las semillas con una temperatura de 32°C con un tiempo de una noche.



Foto18: Preparación de materiales para el desarrollo de la tesis debidamente esterilizados.



Foto19: Una vez obtenido los materiales y las semillas se llevó a cabo colocar las concentraciones en cada semilla.



Foto20: Colocacion de aceite automotriz hacia placas con sus debidas concentraciones.

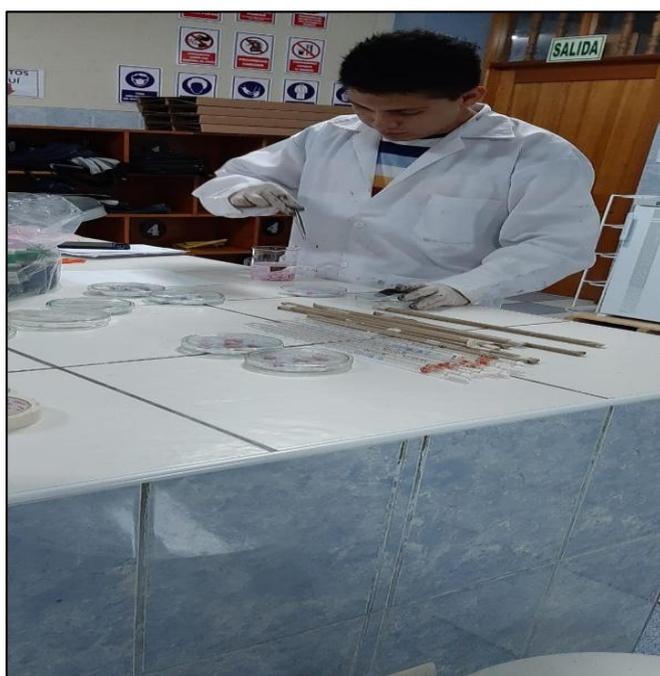


Foto21: Una ves colocado las concentraciones se llevo a cabo la colocacion de las semilals de frijol capcula y trigo.



Foto22: Estando todo listo se colocara la incubadora con un tiempo 5 días para obtener la toxicidad que puede afectar hacia estas semillas.



Foto23: Esta vez se trabajó con 20 placas con sus 5 semillas cada uno, con 15 placas de frijol capsula con concentraciones de 10K, 20k y 30k y de trigo se trabajó con 10k.



Foto24: Por lo tanto se llevara el conteo de cuantas semillas germinaron y cuanto es el crecimiento radicular de cada semilla.



Foto25: Preparación de materiales para el desarrollo de la tesis debidamente esterilizados.

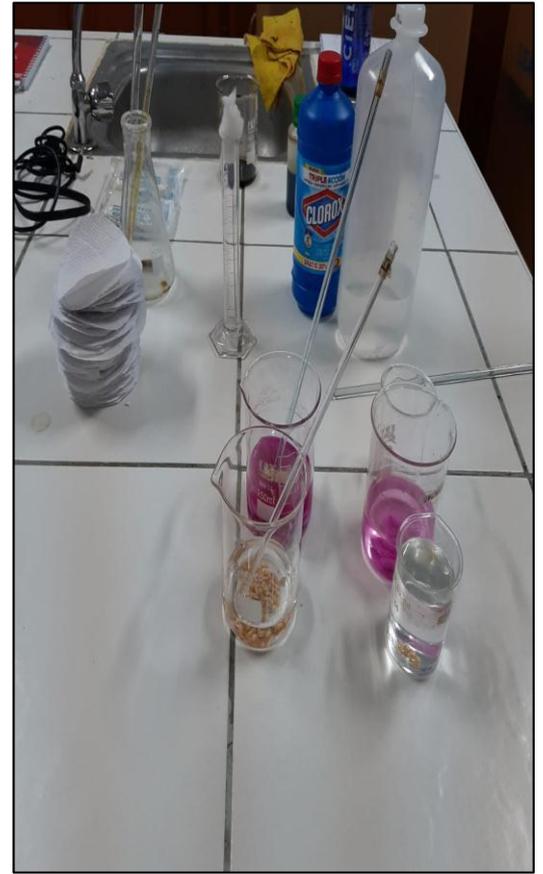


Foto26: Las semillas siempre estarán desinfectada con el 5% de hipoclorito de sodio.

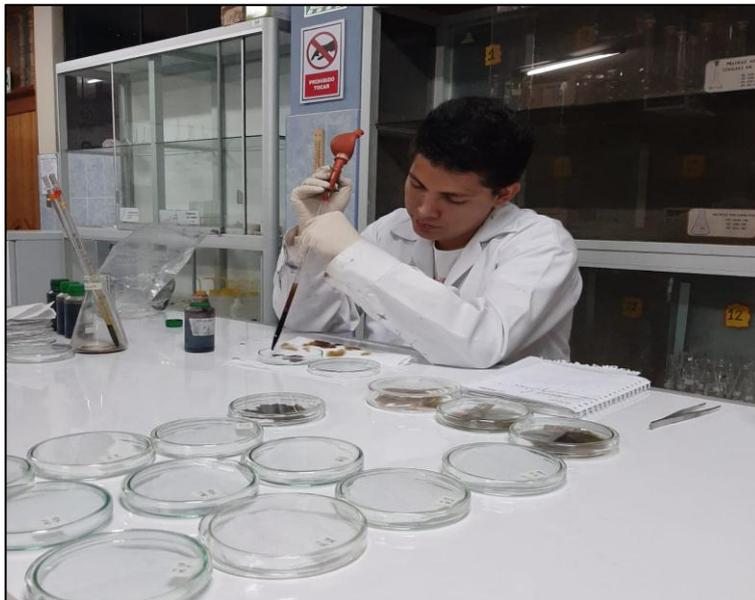


Foto27: Colocacion de aceite automotriz hacia placas con sus debidas concentraciones.



Foto28: Colocacion 7ml de solucion de agua destilada en cada plata petri.



Foto29: Una ves colocado las concentraciones se llevo a cabo la colocacion de las semilals de frijol capcula y trigo.

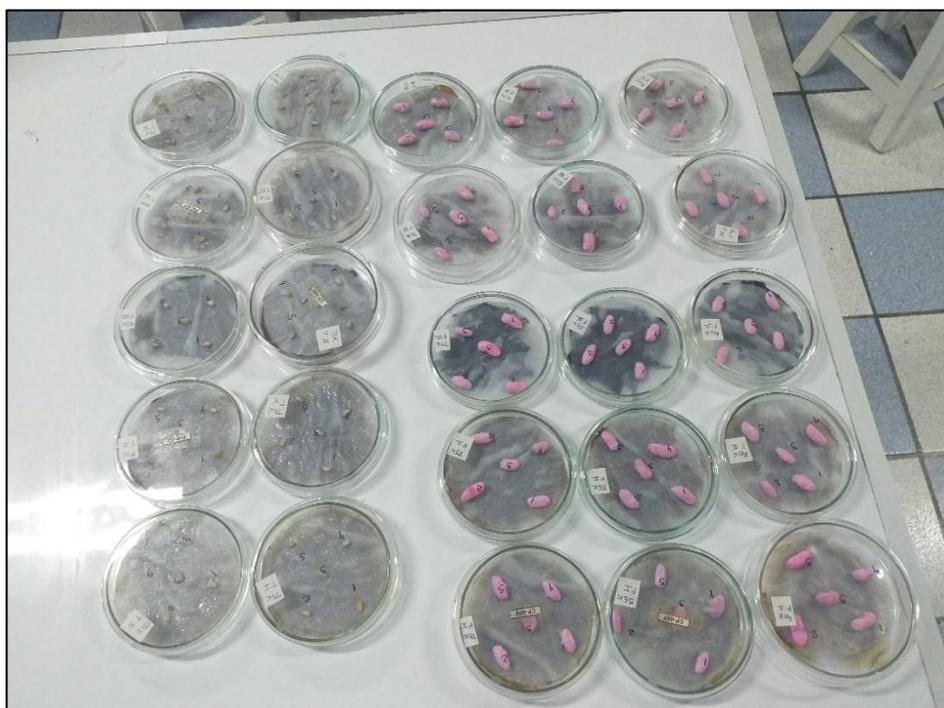


Foto30: Una vez teniendo cada placa con sus respectivas semillas y sus concentraciones se llevara a cabo al traslado hacia la incubadora.



Foto31: Estando todo listo se colocara la incubadora con un tiempo 5 días para obtener la toxicidad que puede afectar hacia estas semillas.



Foto32: Por lo tanto se llevara el conteo de cuantas semillas germinaron y cuanto es el crecimiento radicular de cada semilla.