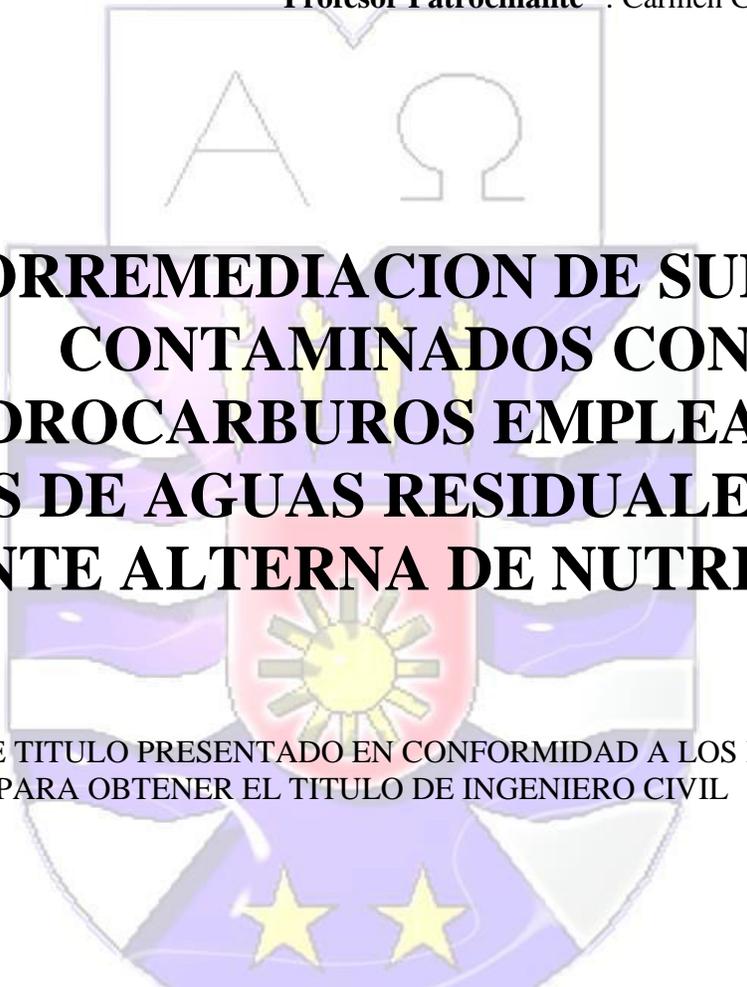


**UNIVERSIDAD DEL BÍO-BÍO**

**FACULTAD DE INGENIERIA**

**DEPARTAMENTO DE INGENIERIA CIVIL Y AMBIENTAL**

**Profesor Patrocinante** : Carmen González L.

The logo of the University of Bío-Bío is a shield-shaped emblem. At the top, it features the letters 'A' and 'Ω' (Omega) in a stylized font. Below this, there is a central sun with rays. The shield is divided into sections with various colors and patterns, including a purple section at the bottom with two yellow stars.

**BIORREMEDIACION DE SUELOS  
CONTAMINADOS CON  
HIDROCARBUROS EMPLEANDO  
LODOS DE AGUAS RESIDUALES COMO  
FUENTE ALTERNA DE NUTRIENTES**

PROYECTO DE TITULO PRESENTADO EN CONFORMIDAD A LOS REQUISITOS  
PARA OBTENER EL TITULO DE INGENIERO CIVIL

**CLAUDIO ANDRES GUTIÉRREZ RAMÍREZ**

CONCEPCIÓN, JUNIO 2017

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mi madre, y su infinito amor incondicional. su disciplina, su cariño, y apoyo. Si no fuese por sus enseñanzas, no sería el hombre que soy. Ella me enseñó los valores de la responsabilidad y la humildad, el respeto y la perseverancia, los cuales me acompañarán el resto de mi vida.

En segundo lugar, agradecer a mis tíos, Antonio Gutierrez y Bernarda Gutiérrez. un gran apoyo en mi formación y vida personal. Sobre todo, mi tío Antonio, quien paso de convertirse de jefe a casi mi figura paterna, quien siempre confió en mí y en el potencial que podía desarrollar. Sin duda, también puedo decir que, sin su ayuda, no estaría en estas circunstancias.

Existen dos personas que también llevo siempre en mi corazón, mi abuela y mi tía Rita Ramírez, Q.E.P.D. les prometí que me convertiría profesional, y nunca me rendí hasta que lo cumplí. A ellas les estoy eternamente agradecido por todo el cariño y amor con el cual me trataron en mi infancia.

también agradecer a mi polola Macarena Pinochet, quien siempre me apoyo en mis decisiones y me motivo a mejorar continuamente, como hombre y como profesional. Puedo decir sinceramente que tú me haces ser mejor de lo que ya soy.

Finalmente agradecer a mis amigos y compañeros, en los cuales encontré, apoyo, cariño, palabras de aliento y motivación para seguir adelante, sin duda seguiremos esta linda senda, que es la ingeniería.

*“Da el primer paso con fe, no importa si no vez toda la escalera, solo da el primer paso con fe”*

**INDICE GENERAL**

RESUMEN..... 1

ABSTRACT..... 2

1 CAPITULO I INTRODUCCION..... 3

    1.1 Contexto..... 3

    1.2 Descripción del Proyecto ..... 4

    1.3 Objetivos del Proyecto..... 5

        1.3.1 Objetivo general. .... 5

        1.3.2 Objetivos específicos..... 5

2 CAPITULO II MARCO TEÓRICO. .... 6

    2.1 Contaminación del Suelo con Hidrocarburos. .... 6

        2.1.1 Efectos de los hidrocarburos en el suelo..... 7

        2.1.2 Efectos de los hidrocarburos en los seres vivos..... 8

        2.1.3 Efectos de la contaminación por hidrocarburos en el ser Humano..... 9

        2.1.4 Daños a la fauna y flora. .... 10

    2.2 El Petróleo y sus Hidrocarburos ..... 11

    2.3 Composición por Familias de Hidrocarburos..... 11

    2.4 Biorremediación ..... 14

    2.5 Fundamentación Bioquímica de la Biodegradación..... 16

    2.6 Factores que Condicionan la Biorremediación de un Suelo ..... 17

        2.6.1. Temperatura ..... 17

        2.6.2. pH..... 17

        2.6.3. Humedad. .... 18

        2.6.4. Necesidad de nutrientes inorgánicos..... 18

        2.6.5. Oxígeno..... 19

	IV
2.6.6. Microorganismos. ....	20
2.6.7. Estructura del suelo.....	20
2.6.8. Estructura del contaminante.....	20
2.7. Beneficios de los Lodos de Aguas Residuales .....	21
2.7.1. Contenido orgánico.....	21
2.7.2. Contenido de nitrógeno (N). ....	21
2.7.3. Contenido de fosforo (P).....	22
2.7.4. Contenido de potasio (K). ....	22
2.7.5. Contenido de agua. ....	22
2.7.6. Presencia de agentes patógenos. ....	22
2.7.7. Contenidos de metales o ETM (elementos traza metálicos).....	23
2.7.8. Estabilidad y Mineralización. ....	23
2.7.9. Aumento de la porosidad. ....	23
2.8 Desventajas de los Lodos de Aguas Residuales.....	24
2.8.1. Contaminación del medio acuático.....	24
2.8.2. Contaminación del medio terrestre. ....	24
2.8.3. Contaminación al ambiente. ....	24
2.8.4. Contaminación de patógenos y en la cadena trófica.....	24
3 CAPITULO III METODOLOGÍA. ....	25
3.1. Preparación de la Experiencia .....	26
3.1.1. Fase I.....	26
3.1.2. Fase II: .....	26
3.1.3 Procedencia del suelo a tratar. ....	26
3.1.4 Procedencia de lodos a utilizar. ....	27
3.1.5 Relación Suelo-Lodo. ....	28
3.1.7. Concentración del contaminante (HTPs).....	29

3.2. Variables a Investigar.....	29
3.3. Configuración de Mezclas y Mesocosmos.....	29
3.4. Descripción de los Ensayos y Mediciones .....	31
3.4.1. Método para determinar la granulometría.....	31
3.4.2. Método para determinar el contenido de humedad.....	32
3.4.3. Método para determinar la capacidad de campo.....	32
3.4.4. Método para determinar pH.....	32
3.4.5. Método para determinar EC.....	33
3.4.6. Método para determinar humedad y temperatura.....	33
4 CAPITULO IV RESULTADOS.....	34
4.1. Caracterización del Suelo.....	34
4.1.1. Densidad y porosidad.....	34
4.1.2. Granulometría.....	34
4.1.3. Capacidad de campo.....	34
4.1.4. Análisis de metales pesados y materia orgánica del suelo.....	34
4.2. Caracterización de Lodos Residuales.....	35
4.2.1 Análisis de lodos activos.....	35
4.2.2 Humedad de lodos activos.....	35
4.2.3. Medición de parámetros.....	35
4.2.4. Degradación de HTPs.....	36
5 CAPITULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	37
5.1 Conclusiones.....	37
5.2 Recomendaciones .....	38
6 BIBLIOGRAFIA.....	39
7 ANEXOS.....	41
7.1. Anexo A-1. Realización de la Etapa Experimental.....	41

	VI
7.2. Anexo A-2. Caracterización de materias primas.....	43
7.3. Anexo A-3. Configuración de parámetros. ....	46
7.4. Anexo A-4. Verificación de metales pesados y cromatogramas.....	49

## **INDICE DE FIGURAS**

Figura 1: Estructuras químicas de diferentes componentes de un crudo de petróleo.....	13
Figura 2: Esquema de las fases presentes en el estudio.....	25
Figura 3: Ubicación de la toma de muestra de suelo.....	27
Figura 4: Ubicación de la toma de muestra de lodos.....	28

## **INDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Industrias que generan contaminación de suelos con hidrocarburos.....	7
Tabla 2. Ventajas y desventajas de la biorremediación.....	15
Tabla 3. Tipos de reacciones en los procesos de degradación aeróbicos y anaeróbicos. ....	16
Tabla 4: Concentración máxima de metales pesados permitidos en suelos .....	35
Tabla 5. Concentraciones de HTPs en mesocosmos. ....	36

## **BIORREMEDIACION DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS EMPLEANDO LODOS DE AGUAS RESIDUALES COMO FUENTE ALTERNA DE NUTRIENTES**

**Autor: Claudio Gutiérrez Ramírez**

Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental, Universidad del Bío-Bío

Correo Electrónico: [claaguil@alumnos.ubiobio.cl](mailto:claaguil@alumnos.ubiobio.cl)

**Profesor Patrocinante: Carmen González Labbé**

Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental, Universidad del Bío-Bío

Correo Electrónico: [cgonzal@ubiobio.cl](mailto:cgonzal@ubiobio.cl)

### **RESUMEN**

En el presente trabajo se evalúa el proceso de biorremediación aeróbica de un suelo contaminado con hidrocarburos de petróleo empleando lodos de aguas residuales (Biosólidos), provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) domésticas de la ciudad de Concepción, como fuente alterna de macro y micronutrientes. La contaminación del suelo fue resultado de derrames de diésel provocados a escala de laboratorio, en suelos cercanos a empresas productoras de hidrocarburos en la comuna de Hualpén. Se realizaron experimentos a escala laboratorio, ajustados a capacidad de campo y a una relación carbono: nitrógeno (C: N) = 10:1, en los cuales se evaluará el efecto de la adición de nutrientes inorgánicos, adición de lodos de aguas residuales y la influencia de los factores ambientales en el proceso de degradación. los lodos residuales propiciarán la estimulación de los microorganismos nativos del suelo y estos últimos a su vez serán los responsables de degradar los hidrocarburos. Los hidrocarburos serán empleados como fuente de carbono y de donador de electrones, acoplado la reacción de óxido-reducción con el oxígeno que funcionara como aceptor de electrón.

**Palabras claves:** biorremediación, hidrocarburos de petróleo, suelos contaminados, nutrientes.

Número de palabras: 10.437 Palabras de texto + 9 Figuras/Tablas\*250 = 12.687

## ABSTRACT

This work evaluates the aerobic bioremediation process of a soil contaminated with petroleum hydrocarbons using sewage sludge (Biosolids) from a domestic sewage treatment plant (WWTP) in the city of Concepción (for its good Quality), as an alternate source of macro and micronutrients. Soil contamination was the result of laboratory-scale diesel spills on soils near hydrocarbon-producing enterprises in the commune of Hualpen. Experiments were carried out at laboratory scale, adjusted to field capacity and to a carbon: nitrogen (C: N) = 10: 1 ratio, in which the effect of addition of inorganic nutrients, addition of sewage sludge and Influence of environmental factors in the degradation process. The residual sludge will stimulate the microorganisms native to the soil and the latter will be responsible for degrading the hydrocarbons. The hydrocarbons will be used as a carbon source and electron donor, coupling the oxidation-reduction reaction with the oxygen acting as an electron acceptor.

**Keywords:** bioremediation, petroleum hydrocarbons, Contaminated soil, nutrient.

## 1 CAPITULO I INTRODUCCION.

### 1.1 Contexto

Los problemas de contaminación en el ámbito local, nacional e internacional son parte de nuestra vida cotidiana; es preocupante la manera en cómo se han ido degradando los ecosistemas de nuestro planeta, y la capa superficial de la corteza terrestre no es la excepción. La actividad industrial ha ocasionado uno de los problemas más serios en materia de contaminación de suelos, donde el derrame de hidrocarburos derivados del petróleo ocupa uno de los primeros lugares.

En este sentido, los daños ocasionados por los derrames de hidrocarburos en las fuentes hídricas, el suelo, el aire, la fauna y la vegetación son difícilmente reversibles, pues los procesos de descontaminación no alcanzan a cubrir todas las áreas afectadas y en ocasiones se realizan mucho tiempo después de que el crudo ha hecho tránsito y alterado el ecosistema.

Los hidrocarburos afectan las propiedades físicas y químicas del suelo, como el pH, textura, permeabilidad, pérdida de capacidad de soporte al crecimiento vegetal y causan un impacto paisajístico. Para limpiar zonas afectadas con hidrocarburos existen tratamientos físicos, químicos y biológicos, siendo éstos últimos ambientalmente seguros y económicamente accesibles a la hora de realizar tratamientos de biorremediación de hidrocarburos. Los tratamientos biológicos emplean microorganismos (bacterias y hongos), los cuales transforman los contaminantes presentes en una matriz sólida o líquida y recuperan la matriz original.

Por otra parte, los lodos residuales o biosólidos son el subproducto resultante del tratamiento biológico de las aguas domésticas, que cuando no se tiene un plan de manejo de los mismos causan impacto al ambiente y a la salud de la población y por tal motivo son considerados como residuos peligrosos. Sin embargo, estos lodos residuales, cuando no contienen sustancias tóxicas, pueden ser compostados y ser usados para mejorar la calidad de los suelos y estimular a la población microbiana para que promueva la degradación de contaminantes orgánicos, ya que son ricos en materia orgánica, macro y micro nutrientes. Además, los lodos residuales contienen una alta diversidad microbiana, mucho más grande que la de cualquier suelo fértil.

Es necesario, inicialmente, distinguir entre los siguientes conceptos:

**Biodegradación**, se refiere al proceso natural mediante el cual bacterias u otros microorganismos alteran y convierten moléculas orgánicas en otras sustancias, como ácidos grasos y CO<sub>2</sub>.

**Biorremediación**, adición de materiales a ambientes contaminados para producir una aceleración del proceso natural de biodegradación.

**Fertilización**, método de biorremediación de adición de nutrientes, como Nitrógeno o Fósforo a un medio contaminado para estimular el crecimiento de microorganismos nativos.

**Inoculación**, adición de microorganismos a un sitio contaminado, los cuales pueden adicionarse junto con nutrientes, también llamado proceso de bioaumentación.

## 1.2 Descripción del Proyecto

Este proyecto tiene como objetivo principal evaluar al proceso aeróbico de biorremediación como sistema de tratamiento, a un suelo contaminado con hidrocarburos. considerando para esto el uso de lodos activos de una planta de tratamiento de aguas servidas (PTAS) como fuente alterna de nutrientes y de inoculación. Para ello se realiza primero la construcción de 5 mesocosmos, los cuales tendrán diferentes proporciones de suelo, lodos y nutrientes. en forma posterior un seguimiento y control de los factores que influyen en un proceso de biorremediación, tales como temperatura, humedad, pH y Electroconductividad.

Esta experiencia se realizará en la comuna de concepción, en las instalaciones de la Universidad del Bío-Bío, durante la temporada de primavera-verano del año 2017, con el propósito de obtener un porcentaje de remoción de contaminante en un periodo de 105 días, bajo condiciones ideales de laboratorio. Para simular las condiciones ideales de laboratorio se utilizará una carpa de cultivo de interior, de 80x80x200 [cm]. Ancho, largo y alto respectivamente, forrada con tela de mylar para evitar el paso de los rayos ultravioleta y el incremento de temperatura, lo que trae consigo una disminución de los agentes patógenos que son sensibles a la luz y a las altas temperaturas. Agujeros para la incorporación de un extractor e intractor, conectados a sensores de temperatura y humedad, también incorpora ventanas de intracción pasiva de aire. Los mesocosmos a su vez estarán fabricados de polietileno de alta densidad, de dimensiones 60x60x30 [cm] y contendrán 6 kg de suelo cada uno. Se elige este material debido a su baja permeabilidad y mínima absorción de hidrocarburos. Una vez transcurridos los 105 días, se procederá a realizar los análisis de hidrocarburos totales de petróleo mediante cromatografía de gases, en el laboratorio de fitoquímica de la Universidad de Concepción (UDEc), y compararlos con los análisis al comienzo de la experiencia, De tal forma de determinar el porcentaje de remoción de contaminante en la etapa experimental, y así tener una noción de cuan efectivo podría ser el tratamiento.

### **1.3 Objetivos del Proyecto**

#### *1.3.1 Objetivo general.*

- Evaluar al proceso anaeróbico de biorremediación como sistema de tratamiento en suelos contaminados con diésel, considerando el uso de lodos residuales como fuente alterna de nutrientes.

#### *1.3.2 Objetivos específicos.*

- Definir la configuración de mezclas de suelo-lodo a utilizar para el proceso de tratamiento.
- Definir la concentración de contaminante diésel a utilizar.
- Comparar los resultados de los distintos escenarios de biorremediación con el fin de evaluar el mejor resultado.

## **2 CAPITULO II MARCO TEÓRICO.**

### **2.1 Contaminación del Suelo con Hidrocarburos.**

La contaminación por hidrocarburos es una problemática de carácter mundial y amplia distribución geográfica, teniendo en cuenta que independiente de la zona afectada (lagos, suelos, zonas freáticas, ríos y playas) por procesos biológicos y físicos, los hidrocarburos tienen como destino final el océano.

En la actualidad existe un creciente interés por la contaminación del suelo con hidrocarburos, por parte de los países dedicados a la explotación de petróleo, organizaciones e instituciones afines al medio ambiente, debido a los riesgos directos que ocasionan a la salud humana y el entorno, además los altos costos que implican los procesos de limpieza y mitigación de los lugares afectados. Los antecedentes descritos están direccionando sus políticas hacia la disminución y la remediación de la contaminación por hidrocarburos.

Así un suelo contaminado se define como todo aquel cuyas características físicas, químicas y biológicas naturales, han sido alteradas debido a actividades antropogénicas y representa un riesgo para la salud humana o el medio ambiente.

La contaminación de suelo por hidrocarburos es dinámica, los componentes individuales pueden separarse de la mezcla original como se detalla a continuación:

- Los Compuestos Orgánicos Volátiles (COVs) se evaporan.
- Algunos se solubilizan gracias a la polaridad de sus moléculas.
- Otros se absorben en la superficie de la fase sólida del suelo por reacciones químicas o debido a fuerzas físicas, (siendo la primera la que fija los contaminantes, limita el transporte y disminuye la biodisponibilidad para los microorganismos).
- Mientras otros son degradados por microorganismos en el suelo.

Como resultado de estas transformaciones los hidrocarburos se enriquecen en compuestos pesados, más difíciles de degradar.

En la Tabla 1 se presentan las industrias que generan contaminación del suelo por hidrocarburos.

Tabla 1. Industrias que generan contaminación de suelos con hidrocarburos.

<b>TIPO DE INDUSTRIA</b>	<b>PRINCIPALES CONTAMINANTES DEL SUELO</b>
Industria petrolera	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos.
Fábrica de gas	Alquitrán, benceno fenoles, hidrocarburos aromáticos policíclicos, cianuros.
Industria textil	Hidrocarburos y metales pesados.
Estaciones de servicio	Hidrocarburos y derivados del petróleo.
Centrales termoeléctricas	Hidrocarburos, derivados del petróleo y metales pesados.
Minería	Hidrocarburos aromáticos, metales pesados, cianuro.
Industria agropecuaria	Hidrocarburos, pesticidas, plaguicidas.
Floricultura	Pesticidas, plaguicidas e hidrocarburos.
Lavadoras de vehículos	Hidrocarburos.

Fuente: Elaboración propia.

### 2.1.1 Efectos de los hidrocarburos en el suelo.

Los efectos de los hidrocarburos tienen una variedad de escenarios potenciales, debido a la difusión lenta de los contaminantes, los cuales se redistribuyen por toda la superficie del suelo y hacia el interior de este. Cuando los hidrocarburos se filtran, se produce una separación natural de los distintos constituyentes, por la exposición de la fase no acuosa a las fases, sólida, gaseosa y acuosa del suelo, permaneciendo los compuestos de alto peso molecular cerca de la fuente, debido a que tienen menor movilidad, mientras que los compuestos más livianos migran hacia porciones profundas del perfil por su mayor solubilidad en agua.

Cuando la cantidad de hidrocarburos disminuye ya sea por disolución u otro mecanismo de remoción, se reduce la fracción del espacio poroso ocupado por los hidrocarburos, los conductos de comunicación entre los poros se tornan más pequeños y tortuosos, reduciendo la capacidad de la fase orgánica de desplazarse y cuando ya no existe suficiente volumen para que continúe la migración, la fase no acuosa en el suelo se denomina saturación residual. Los espacios degradados pierden algunas de sus funciones, características físico químicas y por lo tanto un manejo inadecuado de los hidrocarburos puede causar problemas de gran envergadura socio-ambiental.

Los principales efectos que los hidrocarburos causan en el suelo, dependen del tipo, volumen de hidrocarburo, características físicas, químicas y microbiológicas del suelo, y los factores ambientales (humedad, temperatura, factores climatológicos), todas las variables en su conjunto definen el tamaño en la distribución de la contaminación en una zona específica, entre los efectos más perjudiciales que sufre el suelo tenemos:

- Disminución del rendimiento de los cultivos y pérdida de calidad de los productos obtenidos.
- Impide o retarda el crecimiento de la vegetación en el área contaminada.
- Alteraciones en la población microbiana del suelo.
- Contaminación de aguas superficiales a través de la escorrentía.
- Contaminación de aguas subterráneas a través de lixiviados.
- Contaminación del aire por combustión, evaporación, sublimación o arrastre por el viento.
- Envenenamiento a través de la cadena alimenticia.
- Cuando la concentración de los contaminantes sobrepasa la capacidad de aceptación del suelo, se produce una disminución o anulación de su poder autodepurante.
- Impacto paisajístico en el sector en que se encuentra la matriz contaminada.
- Se impide el intercambio gaseoso con la atmósfera iniciando una serie de procesos físicos químicos simultáneos.
- Los elevados desniveles de salinidad pueden destruir la estructura terciaria de las proteínas, desnaturalizar enzimas y deshidratar células.

Los hidrocarburos ligeros penetran más en el suelo llegando a las capas freáticas y resultan tóxicos para la micro flora del suelo, en cambio los más pesados son menos tóxicos a corto plazo, pero permanecen en el ambiente por mucho más tiempo. Los compuestos solventes se filtran y los sólidos, permanecen en la superficie o son llevados hacia tierras más bajas. En la siguiente tabla se presentan los parámetros que influyen en el transporte de los contaminantes.

### *2.1.2 Efectos de los hidrocarburos en los seres vivos.*

Debido a la variedad de la composición de los hidrocarburos, los efectos en los seres vivos son muy diversos, y dependen de factores como, el tipo de compuesto químico, la cantidad vertida y el tiempo de exposición. Según el tipo de hidrocarburo se puede estimar la intensidad de los daños y efectos, así combustibles ligeros como la gasolina y el queroseno resultan más tóxicos que los medianos y pesados como el Diésel o Fuel Oil, debido a que contiene grandes cantidades de hidrocarburos saturados y bajo contenido de compuestos polares, ya que su mayor volatilidad aumenta el contacto físico entre el contaminante y las células microbianas.

### 2.1.3 Efectos de la contaminación por hidrocarburos en el ser Humano.

Las vías de ingreso de los hidrocarburos al cuerpo de las personas pueden ser, por vía respiratoria cuando se los inhala y cuando se los ingiere con los alimentos (cadena trófica), a través del agua y por contacto directo. Cuando ingresan por vía dérmica los contaminantes son absorbidos más lentamente que cuando son inhalados o ingeridos. Luego de ingresar estos son ampliamente distribuidos por la sangre y se transforman rápidamente en compuestos químicos, pudiendo resultar más dañinos, así como menos peligrosos, esto en función de factores como el tipo, composición y la cantidad expuesta de hidrocarburos; la mayoría de los hidrocarburos abandonan el cuerpo a través de la orina o con el aire exhalado. Los constituyentes de los hidrocarburos, de bajo peso molecular (benceno, tolueno, xileno) afectan el sistema nervioso central, causan irritación de la piel, dolores de cabeza, náuseas, hormigueos en manos y pies, cuando la exposición es alta pueden provocar la muerte.

Los principales peligros provenientes de elevadas concentraciones de hidrocarburos en general, están relacionados a los hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) principalmente por sus efectos cancerígenos. Se ha demostrado que el benceno es responsable de causar cáncer (leucemia) en los seres humanos, además la gasolina y benzopirenos son considerados como cancerígenos para humanos. El *n*-hexano afecta el sistema nervioso central de una forma diferente, causando un desorden nervioso llamado “neuropatía periférica” caracterizada por el entumecimiento de las extremidades y en casos graves, parálisis. Cuando se ingiere gasolina y kerosene, se produce irritación en la garganta y estómago, depresión del sistema nervioso central, dificultad para respirar y neumonía. Compuestos como el Antraceno, Pireno, Fenantreno, benzopirenos, causan la irritación de la piel, cáncer de piel, testículos y pulmones, siendo los alcanos presentes en las gasolinas depresores del sistema nervioso central.

Los metales pesados (cadmio, cromo, plomo, magnesio, cobalto, cobre) pueden originar enfermedades diferentes cada uno, se bioacumulan en los seres vivos y entran a formar parte de las cadenas alimenticias, producen la irritación de piel, problemas reproductivos y cáncer. Es fundamental tener en cuenta los procesos de intemperización, ya que estos cambian la composición de los productos y pueden afectar los resultados, la capacidad para biorremediar y la toxicidad del producto liberado al ambiente. Según algunos estudios realizados en las poblaciones aledañas a instalaciones petroleras y zonas donde existe contaminación por hidrocarburos en el Ecuador, se afirma que existe una relación directa entre la exposición a los hidrocarburos con una mayor

prevalencia de enfermedades, las mismas que se pueden manifestar a corto y largo plazo en la población. A continuación, se presentan los estudios epidemiológicos realizados.

#### *2.1.4 Daños a la fauna y flora.*

La contaminación por hidrocarburos afecta a los animales desde los mamíferos, aves, peces, las almejas, los moluscos e insectos, cuando los derrames de petróleo son sobre cursos de agua afectan de manera especial a la aves y fauna acuática, impidiéndoles nadar, alimentarse y con frecuencia volar. Numerosos estudios realizados tanto en animales (de laboratorio y animales libres) demuestran que la exposición al petróleo causa lesiones en distintos órganos, cáncer, defectos en la reproducción e incluso su muerte, en los estudios realizados a los animales se presentan los siguientes efectos.

- En las aves se ha presentado efectos negativos sobre la capacidad reproductiva.
- En estudios realizados en patos que han ingerido crudo se ha observado anemia hemolítica
- Algunos estudios en ratas han confirmado la presencia de tumores en la piel, por la exposición al crudo, además se han presentado cambios funcionales en las células hepáticas de las ratas.

También se produce destrucción de los hábitats, de especies endémicas, pérdida de la diversidad de las comunidades faunísticas que habitan cerca de lugares contaminados con hidrocarburos. En cuanto a la afección a la flora se producen los siguientes daños:

- Efectos negativos en la reproducción y propagación de la flora. □
- Destrucción de las fuentes alimenticias de las especies superiores.
- Incorporación de carcinógenos en la cadena alimentaria.
- La fauna puede verse afectada por varios factores: la persistencia de una mancha de crudo limita el paso de la luz y por tanto reduce la actividad fotosintética de muchas plantas, si la mancha las cubre dificulta también su función reproductora y la fijación.
- Pérdida de parajes con valor natural, recreativo o vacacional.

## 2.2 El Petróleo y sus Hidrocarburos

El petróleo es un combustible natural compuesto de varios tipos de hidrocarburos, es decir, de moléculas que contienen básicamente, carbono e hidrógeno. Estas moléculas pueden estar formadas de cadenas de átomos de carbono largas o cortas y que pueden adoptar diferentes estructuras. Los hidrocarburos del petróleo pueden dividirse en cuatro categorías de compuestos:

- I. **Los saturados:** los alcanos como el hexano, el octano, el decano, el hexadecano, los isoalcanos y los cicloalcanos como el ciclohexano.
- II. **Los aromáticos:** benceno, tolueno, xileno y naftaleno agrupados también bajo la apelación BTEX y los poliaromáticos o PAHs (Rittman, 1994).
- III. **Las resinas:** sólidos polares amorfos disueltos que contienen nitrógeno, azufre y oxígeno.
- IV. **Los asfáltenos:** grandes moléculas polares coloidales sin disolver que son más resistentes a la biodegradación (Balba; Al-Awadhi; Al-Daher, 1998).

En términos generales, de un 70 a un 97% de los hidrocarburos del petróleo es degradable (la fracción de hidrocarburos saturados y aromáticos) y el resto representa los asfáltenos y las resinas esencialmente inertes (Prince *et al.*, 1999).

Cada una de las categorías agrupa compuestos con características de solubilidad, volatilidad y toxicidad propias. Desde un punto de vista de biodegradabilidad, los hidrocarburos pueden ordenarse de mayor a menor biodegradabilidad en: alcanos lineales > alcanos ramificados > aromáticos ligeros > alcanos cíclicos > aromáticos pesados > compuestos polares (Olson, et al., 1999; Harris, 1997).

## 2.3 Composición por Familias de Hidrocarburos.

El estudio más detallado de los hidrocarburos de un crudo de petróleo agrupa estos compuestos en las siguientes familias:

**Parafinas volátiles:** Representan hasta un 30% del crudo de petróleo. Son n –alcanos e isoprenoides (alcanos ramificados) de un tamaño C1 a C106. Es la fracción más volátil del crudo y por lo tanto la más susceptible de pérdidas abióticas por volatilización. La fracción gas natural contiene, principalmente C1 a C5. Los isoprenoides volátiles, están representados principalmente por el isobutano e isopentano. Los isoprenoides volátiles también pueden llegar hasta C10 (2,6 dimetil octano) (Howe-Grant, 1996).

**Parafinas no volátiles:** Se definen como aquellos n –alcanos e isoprenoides entre C11y C40. Los n-alcanos oscilan entre C11y C40, aunque se han descrito cadenas más largas y pueden constituir entre el 15 y 20% de crudos no degradados; mientras que los isoprenoides varían de C12 a C22 y constituyen entre 1-2% del crudo, llegando a 15% en crudos degradados. Los componentes entre C11 y C15 son de volatilidad intermedia.

**Naftenos:** Esta familia está compuesta por las cicloparafinas o cicloalcanos. Los compuestos más abundantes de esta familia son los ciclopentanos alquilados (fundamentalmente metilados), que pueden llegar a representar un 31% del crudo. Los compuestos mono y dicíclicos corresponden entre el 50 y 55% de esta fracción, los tricíclicos al 20% y los tetracíclicos al 25%. Esta familia engloba a los hopanos.

**Oleofinas:** Son alquenos, los cuales están poco presentes en el crudo de petróleo, encontrándose en concentraciones traza. Adquieren importancia en los productos resultantes del refinado, ya que se generan durante el proceso de cracking, existiendo hasta un 30% en gasolinas y un 1% en fueles.

**Aromáticos:** El crudo de petróleo contiene una mezcla muy compleja de hidrocarburos aromáticos. Esta fracción la componen moléculas que contienen uno o varios anillos bencénicos en su estructura. Así se encuentran hidrocarburos monoaromáticos (un anillo bencénico), diaromáticos (2 anillos bencénicos) y poliaromáticos (HAPs, con más de dos anillos bencénicos).

- **Hidrocarburos monoaromáticos:** Se encuentran el benceno y sus alquilados (monoalquilados como el tolueno y dialquilados como los xilenos), formando la familia de los BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xileno) de gran importancia ambiental debido a su volatilidad y toxicidad.
- **Hidrocarburos poliaromáticos:** Entre los hidrocarburos diaromáticos, encontramos el naftaleno y sus alquilados (mono, di, tri y tetrametilnaftalenos). Constituyen la familia mayoritaria de hidrocarburos aromáticos presentes en un crudo.

Entre los hidrocarburos poliaromáticos de tres anillos, encontramos el fenantreno, antraceno, fluoreno, y sus derivados alquilados. El fenantreno y los metilfenantrenos, representan los componentes mayoritarios de los triaromáticos.

Entre los hidrocarburos poliaromáticos de más de tres anillos, encontramos el fluoranteno (3 anillos bencénicos y uno no bencénico), pireno y criseno (4 anillos aromáticos), pireno y benzo(a)pireno (5 anillos aromáticos) y coroneno (un HAP pericondensado con 6 anillos).

**Resinas y asfáltenos:** Se trata de mezclas complejas, integradas por núcleos policíclicos o naftenoaromáticos. Contienen cadenas hidrocarbonadas con heteroátomos de oxígeno, nitrógeno y azufre (componentes NOS del petróleo) y a veces están asociadas con pequeñas concentraciones de metales como el vanadio y el níquel. Constituyen entre un 10% en crudos poco degradados o ligeros, hasta un 60% en crudos muy degradados. Es la fracción que presenta una mayor recalcitrancia de un crudo de petróleo.

Se trata de agregados de piridinas, quinolinas, carbazoles, tiofenos, sulfóxidos, amidas, HAP, sulfuros, ácidos nafténicos, ácidos grasos, metaloporfirinas y fenoles polihidratados. (Howe-Grant, 1996).

La estructura química de diferentes componentes mayoritarios de un crudo de petróleo se puede apreciar en la siguiente Figura n° 1.

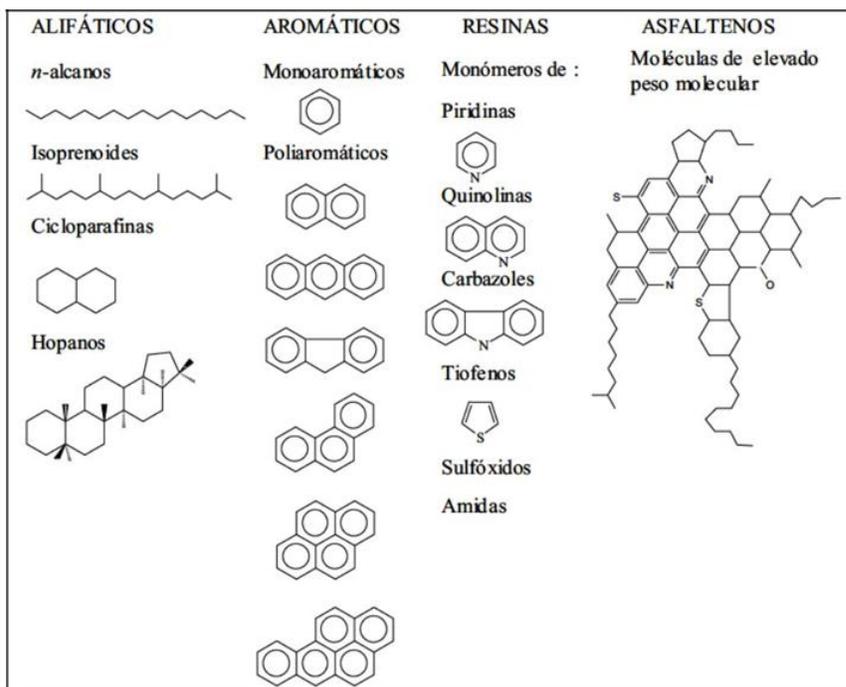


Figura 1: Estructuras químicas de diferentes componentes mayoritarios de un crudo de petróleo.

(Fuente: Marc Viñas Canals)

**Hidrocarburos Totales de Petróleo (HTP):** El término HTP se usa para describir a un grupo de sustancias químicas, derivadas del petróleo crudo, debido al gran número de hidrocarburos involucrados generalmente no es práctico medir cada uno de ellos, sin embargo, es útil medir la cantidad total del conjunto de hidrocarburos que se encuentran en una muestra de suelo contaminada que sirve como indicador general del tipo de contaminación. Uno de los factores que limita la eliminación de los hidrocarburos contaminantes es la transferencia de masa. Los tratamientos de limpieza del suelo utilizan usualmente métodos que permitan el arrastre de los hidrocarburos, pero deben vencer para ello, las fuerzas de absorción sobre las partículas del suelo por modificación de temperatura, de las interacciones químicas (extracción, emulsificación) o de la tensión de vapor. En el caso de la contaminación con hidrocarburos, se proponen tratamientos físicos, químicos y biológicos que pueden ser utilizados en complementariedad (Thomassin-Lacroix *et al.*, 2002).

#### **2.4 Biorremediación**

La biorremediación consiste en usar microorganismos (hongos, bacterias, etc.) para acelerar la tasa de degradación natural de los contaminantes para descomponerlas o degradarlas en sustancia menos tóxicas o no tóxicas obteniendo un suelo útil para la agricultura por el uso de nutrientes.

Algunos microorganismos se comen las sustancias orgánicas obteniendo de éstas los nutrientes y la energía que requieren para sobrevivir, los microorganismos descomponen los contaminantes dando como resultado principalmente dióxido de carbono y agua. Al degradarse todos los contaminantes, es decir, al acabarse la fuente de alimentación de los microorganismos la población de los mismos disminuye hasta desaparecer.

Su ámbito de aplicabilidad es muy amplio, pudiendo considerarse como objeto cada uno de los estados de la materia (Atlas y Unterman, 1999):

- **Sólido.** Con aplicaciones sobre medios contaminados como suelos o sedimentos, o bien directamente en lodos, residuos, etc.
- **Líquido.** Aguas superficiales y subterráneas, aguas residuales.
- **Gases.** Emisiones industriales, así como productos derivados del tratamiento de aguas o suelos.

También se puede realizar una clasificación en función de los contaminantes con los que se puede trabajar (Alexander, 1999; Eweiset *al.*, 1999):

- Hidrocarburos de todo tipo.
- Hidrocarburos clorados.
- Compuestos nitroaromáticos.
- Metales pesados. Estos no se metabolizan por los microorganismos de manera apreciable, pero pueden ser inmovilizados o precipitados.
- Otros contaminantes. Compuestos organofosforados, cianuros, fenoles, etc.

Los microorganismos transforman y metabolizan aeróbicamente los hidrocarburos y otros compuestos orgánicos hasta dióxido de carbono, agua y fuentes de alimento para sustentar su crecimiento y reproducción, es decir, la biodegradación ocurre naturalmente. Es conocido que los microorganismos indígenas tienen la capacidad de adaptarse y eventualmente degradar cualquier compuesto orgánico natural sin asistencia del hombre; sin embargo, esta adaptación requiere la presencia de condiciones óptimas apropiadas tales como el pH, temperatura, el aceptor final de electrones (que en procesos aeróbicos es el oxígeno), concentraciones de contaminante no tóxicas para los microorganismos y adecuadas condiciones de humedad y conductividad del medio, entre las más importantes. La ausencia de alguna o varias de las anteriores condiciones puede limitar parcial o totalmente la actividad biológica y es cuando la mano del hombre juega un papel fundamental en la optimización del proceso, ya sea mejorando estas condiciones para aumentar la población de microorganismos (bioaumentación) y/o manipulando genéticamente los microorganismos para la degradación específica de algunos compuestos químicos (bioestimulación).

Tabla 2. Ventajas y desventajas de la biorremediación.

	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
<b>Biorremediación</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Son efectivos en cuanto a costos.</li> <li>- Son tecnologías más benéficas para el ambiente</li> <li>- Los contaminantes generalmente son destruidos.</li> <li>- Se requiere un mínimo o ningún tratamiento posterior.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Requieren mayores tiempos de tratamiento.</li> <li>- Es necesario verificar la toxicidad de intermediarios y/o productos.</li> <li>- No pueden emplearse si el tipo de suelo no favorece el crecimiento microbiano.</li> </ul>

Fuente: Elaboración propia.

## 2.5 Fundamentación Bioquímica de la Biodegradación

El fundamento bioquímico de la biorremediación se basa, principalmente, en la serie de reacciones de óxido-reducción (cuyo fin es la obtención de energía) que se producen en la cadena respiratoria, o transportadora de electrones de las células. La cadena la inicia un sustrato orgánico (compuestos hidrocarburoados) que es externo a la célula y que actúa como dador de electrones, de modo que la actividad metabólica de la célula acaba degradando y consumiendo dicha sustancia. Los aceptores más comúnmente utilizados por los microorganismos son el oxígeno, los nitratos, el hierro (III), los sulfatos y el dióxido de carbono. Cuando el oxígeno es utilizado como aceptor de electrones la respiración microbiana se produce en condiciones aerobias y los procesos de biodegradación serán de tipo aerobio; sin embargo, si utiliza los sulfatos o el dióxido de carbono se produce en condiciones reductoras o anaerobias, y los procesos de biodegradación serán de tipo anaerobio.

Tabla 3. Tipos de reacciones en los procesos de degradación aeróbicos y anaeróbicos.

Degradación aerobia	<b>Sustrato + O<sub>2</sub> à Biomasa + CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O</b>
Degradación anaerobia	Sustrato + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> à Biomasa + CO <sub>2</sub> + N <sub>2</sub> Sustrato + SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> à Biomasa + CO <sub>2</sub> + S <sub>2</sub> <sup>+</sup> Sustrato + Fe <sup>3+</sup> à Biomasa + CO <sub>2</sub> + Fe <sup>2+</sup> Sustrato + Mn <sup>4+</sup> à Biomasa + CO <sub>2</sub> + Mn <sup>2+</sup> Sustrato + CO <sub>2</sub> à Biomasa + CO <sub>2</sub> + CH <sub>4</sub>

**Fuente: Elaboración propia.**

## 2.6 Factores que Condicionan la Biorremediación de un Suelo

La biodegradabilidad de una mezcla de hidrocarburos presente en un suelo contaminado depende de diversos factores:

1. Temperatura
2. pH
3. Humedad
4. Necesidad de Nutrientes Inorgánicos
5. Oxígeno
6. Microorganismos
7. Textura del Suelo
8. Estructura
9. Del Contaminante

### 2.6.1. Temperatura

Es uno de los factores ambientales más importantes que afecta la actividad metabólica de los microorganismos y la tasa de biodegradación. Generalmente, las especies bacterianas crecen a intervalos de temperatura bastante reducidos, entre 20 y 30°C (condiciones mesófilas), decreciendo la biodegradación por desnaturalización de las enzimas a temperaturas superiores a 40°C e inhibiéndose a inferiores a 0°C. Sin embargo, también se ha dado la biodegradación de hidrocarburos a temperaturas extremas:

- 10°C en suelos subárticos y subalpinos (Sparrow y Sparrow, 1988; Margesin y Schinner, 1997a, b).
- 5°C en suelos árticos (Whyte et al., 1999)
- 60°C por una cepa termófila de *Bacillus stearothermophilus* aislada de un suelo contaminado con crudo de petróleo del desierto kuwaití (Sorkohet al., 1993).

### 2.6.2. pH

Afecta significativamente la actividad microbiana. En consecuencia, cuanto mayor sea la diversidad de microorganismos existentes, potencialmente mayor será el rango de tolerancia. No existen unas condiciones preestablecidas que sean óptimas en todos los casos, pero en términos generales el crecimiento de la mayor parte de los microorganismos es máximo dentro de un

intervalo de pH situado entre 6 y 8. En general, el pH óptimo para las bacterias heterótrofas es neutro (pH 6 - 8), mientras que es más ácido para los hongos (pH 4 - 5). El pH óptimo establecido para procesos de biodegradación es neutro (pH 7,4 - 7,8) (Dibble y Bartha, 1979). Así mismo el pH también afecta directamente en la solubilidad del fósforo y en el transporte de metales pesados en el suelo. La acidificación o la reducción del pH en el suelo se puede realizar adicionando azufre o compuestos del azufre.

### *2.6.3. Humedad.*

Los microorganismos requieren unas condiciones mínimas de humedad para su crecimiento. El agua forma parte del protoplasma bacteriano y sirve como medio de transporte a través del cual los compuestos orgánicos y nutrientes son movilizados hasta el interior de las células. Un exceso de humedad inhibirá el crecimiento bacteriano al reducir la concentración de oxígeno en el suelo (el rango varía en función de la técnica).

Por lo anterior, la humedad del suelo puede limitar de forma severa la biodegradación, fundamentalmente en suelos superficiales afectados por oscilaciones importantes en el contenido de agua. No obstante, el nivel óptimo de humedad depende de las propiedades de cada suelo, el tipo de contaminación y si la biodegradación es aeróbica o anaeróbica.

### *2.6.4. Necesidad de nutrientes inorgánicos*

El metabolismo microbiano está orientado a la reproducción de los organismos y éstos requieren que los constituyentes químicos se encuentren disponibles para su asimilación y sintetización. Los nutrientes principalmente requeridos son el fósforo y el nitrógeno, por tanto, las concentraciones asimilables de dichos elementos presentes en el suelo, suelen ser limitantes para un incremento y activación de la población microbiana, mientras que otros nutrientes esenciales como el  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^{+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{SO}_4^{2-}$  ya están presentes en cantidades suficientes (Menn et al., 2000). La adición de fuentes de N y P inorgánicas, generalmente tiene un efecto positivo incrementando las poblaciones microbianas y las tasas de biodegradación de hidrocarburos en suelos contaminados (Dott et al., 1995; Breedveld y Sparrevik, 2001; Chaineau et al., 2003). Las proporciones molares de C:N:P, descritas en la bibliografía, respecto al contenido de carbono a degradar son muy distintas; el rango normal de C:N:P depende del sistema de tratamiento a emplear, siendo de modo habitual 100:10:1. Aunque en general la adición de fuentes inorgánicas de N y P al suelo es beneficiosa para los procesos de biodegradación, de igual manera, el uso

excesivo de nutrientes inorgánicos también puede inhibir los procesos de biodegradación (Zhou y Crawford, 1995; Margesin y Schinner, 1997; Genouw et al., 1994). Para evitar el exceso de nutrientes, así como la pérdida de los mismos por lixiviación, también se han utilizado fertilizantes inorgánicos oleofílicos de liberación lenta (Inipol EPA® 22) para la biorremediación de suelos contaminados (Lindstrom et al., 1991; Pritchard y Costa, 1991) Además es importante destacar que la acción de los nutrientes inorgánicos puede estar limitada debido a la interacción química con los minerales del suelo. (el amonio se puede unir a las arcillas por intercambio catiónico y el fosfato puede unirse y precipitar con iones calcio, hierro y aluminio) (Morgan y Watkinson, 1992).

Por otra parte, los lodos residuales contienen grandes concentraciones de nitrógeno inorgánico, fósforo y materia orgánica, lo que los hace ideales para estimular la actividad microbiana del suelo.

Los lodos residuales pueden ser usados como fuente alterna de macro y micro nutrientes y al estimular la actividad microbiana se logrará una mayor degradación de los hidrocarburos presentes en el suelo, siempre y cuando la concentración de patógenos, metales pesados y compuestos orgánicos tóxicos sea baja (Rivera-Espinoza y Dendooven 2003). Dicha práctica resulta benéfica para el ambiente, dándole un uso a lo que comúnmente se ha venido manejando como un desecho

#### 2.6.5. Oxígeno.

La cantidad de oxígeno disponible determinará si un sistema es aerobio o anaerobio. La degradación de HCs se da mejor en los sistemas aerobios y para ello los microorganismos deben utilizar O<sub>2</sub> como aceptor de electrones como el oxígeno (O<sub>2</sub>) ya que los procesos de oxidación de los HCs requieren de enzimas oxigenasas. Sin embargo, la presencia de otros aceptores de electrones como nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), sulfato (SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>) o hierro (Fe<sup>+3</sup>) permiten la biodegradación de HCs en ambientes anaerobios (Atlas, 1981; Heitzer y Sayler, 1993; Alexander, 1999; Roberts, 2000).

En los procesos de biorremediación el oxígeno es proporcionado por el uso de aire, oxígeno puro, peróxido de hidrógeno u ozono a través de bombas, propulsores, agitadores, vaporizadores y chorros, aunque también se puede suministrar el oxígeno de forma manual mediante el arado directo del sistema (Levin y Gealt, 1997; EPA, 2000).

#### 2.6.6. *Microorganismos.*

La capacidad metabólica de utilizar HCs está ampliamente distribuida entre diversas poblaciones bacterianas (Atlas, 1981). Las transformaciones biológicas de los hidrocarburos se llevan a cabo por la acción de enzimas adecuadas para esa transformación. Las enzimas son específicas con relación al compuesto que atacan y a las reacciones que catalizan, generalmente más de una enzima es requerida para degradar una sustancia orgánica y los microorganismos que poseen las enzimas están presentes ya en el suelo (Atlas, 1981; Rittman y McCarty, 2001).

La densidad de microorganismos en el suelo es un factor primordial en el proceso de biorremediación. Se requiere una concentración mayor de  $1 \times 10^3$  UFC/g para que se alcance una aceptable actividad biodegradativa por los microorganismos (EPA, 1994; Leahy y Colwell, 1990; EPA, 2000). En ecosistemas no contaminados las comunidades degradadoras de hidrocarburos constituyen menos del 0.1% y en ecosistemas contaminados forman el 85% de microorganismos viables, estas diferencias se dan por el grado de exposición y por la adaptabilidad de los microorganismos a los hidrocarburos del ambiente (Levin y Gealt, 1997; Sylvia *et al.*, 1999; Roberts, 2000).

#### 2.6.7. *Estructura del suelo.*

La estructura del suelo (granulometría y textura) puede afectar directamente la entrada efectiva de aire, agua, nutriente y la movilidad del contaminante durante la biodegradación (Atlas, 1981; Vidali, 2001).

Un suelo con baja permeabilidad impedirá los movimientos de agua, nutrientes y oxígeno al formarse complejos húmicos de arcilla disminuyendo la disponibilidad para los microorganismos, de la misma forma esto contribuye a la formación de residuos persistentes en el ambiente (Eweis *et al.*, 1999).

El contaminante puede ser absorbido en las partículas del suelo formando agregados los cuales son difícilmente transportados hasta las células que los degradan con lo cual aumenta la concentración de la contaminación (Bouwer y Zehnder, 1993).

#### 2.6.8. *Estructura del contaminante.*

La estructura molecular del contaminante, afecta a sus propiedades químicas y físicas y su capacidad para ser biodegradado. La capacidad para ser biodegradado está relacionada con

factores tales como la solubilidad, el grado de ramificación, el grado de saturación y la naturaleza y el efecto de los sustituyentes.

La concentración de los hidrocarburos en el ambiente también afecta considerablemente las tasas de biodegradación:

- Si las concentraciones presentes en el suelo son muy bajas los compuestos presentes no suministran la energía suficiente para el mantenimiento de los microorganismos.
- Si las concentraciones de HCs son altas pueden ser tóxicos para las células al generar cambios en la estructura y función de la membrana celular.

## **2.7. Beneficios de los Lodos de Aguas Residuales**

### *2.7.1. Contenido orgánico.*

Los lodos poseen un alto contenido orgánico debido a que son el resultado de una biodegradación por microorganismos de compuestos químicos, que están presentes en las aguas residuales tales como; proteínas, grasas, aceites y compuestos orgánicos sintéticos. Los valores de materia orgánica de lodos varían normalmente entre 25 a 60 % peso seco.

### *2.7.2. Contenido de nitrógeno (N).*

En los lodos encontramos nitrógeno orgánico, amoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ) y nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ). Estas concentraciones van a variar dependiendo de cómo se manejen algunos procesos de la depuración del agua residual. El nitrógeno orgánico está asociado a la parte sólida de los lodos y por ello los niveles de nitrógeno orgánico no cambian con los procesos de espesamiento y deshidratación de los lodos. No es así el caso del nitrógeno inorgánico (nitratos y amoniacal), los cuales son solubles en agua y su concentración varía con los procesos de deshidratación mecánica. Cuando se trata de otros procesos de tratamiento de aguas servidas, como lo son las lagunas facultativas, el nitrógeno de los lodos puede ser perdido a través de la volatilización del amoniacal, mientras los niveles de nitrato en estos sistemas permanecen inalterables. El nitrógeno como ion está disponible para las plantas, sin embargo, una aplicación excesiva de lodos al suelo puede producir lixiviación y contaminar aguas subterráneas. Los nitratos por ejemplo son muy móviles y se desplazan libremente con la humedad del suelo.

### 2.7.3. Contenido de fósforo (P).

El fósforo en los lodos se presenta en su mayor porcentaje como compuesto orgánico. La aplicación de los lodos al suelo basado en las concentraciones de nitrógeno trae como resultado tasas más altas de fósforo. Para evitar incrementos notables de fósforo en el suelo, se sugiere que la aplicación de los fangos está basada en las tasas de consumo de este, ya que el fósforo es el reactivo limitante en estos procesos. Una alta tasa de fósforo puede provocar procesos de eutrofización.

### 2.7.4. Contenido de potasio (K).

Los lodos presentan potasio en forma orgánica y como  $K_2O$ . En si el potasio no presenta mayores problemas sobre la salud o el medio ambiente.

### 2.7.5. Contenido de agua.

Los lodos que se obtienen en el tratamiento de lodos activos tienen un alto contenido de humedad por sobre el 99%. Esto trae consigo el movimiento de grandes masas de lodos, pero a la vez permite un mejor transporte por tuberías y ductos. El agua esta retenida en los lodos por dos formas:

- Agua libre que fácil de ser eliminada por filtración o decantación
- Agua ligada, más fácil de ser eliminada debido a que está contenida en las moléculas químicas, sustancias coloidales y materia orgánica, que solo puede ser eliminada por calor.

### 2.7.6. Presencia de agentes patógenos.

Los lodos se producen por decantación de microorganismos biodegradados que están presentes en las aguas residuales, por este motivo los lodos tienen agentes patógenos. Sin embargo, estos agentes pueden ser reducidos en gran medida dependiendo de distintos procesos que se puedan aplicar a los lodos luego de su deshidratación. Para la estabilización de la materia orgánica existen distintos procesos que permiten una reducción significativa de patógenos como digestión aeróbica de lodos, digestión anaeróbica de lodos, secado al aire y compostaje entre otras.

### *2.7.7. Contenidos de metales o ETM (elementos traza metálicos).*

Los lodos contienen variadas concentraciones de metales como son potasio, calcio, magnesio, sodio, cobre, hierro, zinc, cobalto. También encontramos metales pesados debido a que las aguas residuales generalmente reciben desechos de industrias y otros, la cuales se mezclan con las aguas residuales urbanas. En Chile los valores de metales pesados son muy inferiores a los encontrados en la norma E.P.A para EE.UU. y Comunidad Económica Europea (C.E.E). unos de los factores que influye en esto es el nivel de desarrollo de las ciudades, lo cual trae consigo más productos insolubles y menos material biodegradable, si el desarrollo es mayor (Leppe A y otros, 2011).

### *2.7.8. Estabilidad y Mineralización.*

La estabilización del fango está relacionada con el nivel de mineralización de los lodos. La mineralización del fango está relacionada con los Sólidos Suspendedos Minerales (SSM), y el cociente entre SSM/SST nos da una idea del nivel de estabilidad de los lodos

Una de las grandes ventajas del régimen de operación por fangos activos es que los lodos tienen un alto nivel de estabilidad. En la aireación extendida se producen los lodos más estabilizados que en cualquier otro tipo de régimen.

La fase endógena estimula el canibalismo de los microorganismos, es decir, debido a la falta de sustrato ellos deben alimentarse de los microorganismos muertos, lo que trae por consecuencia que los primeros van a usar como sustrato la materia orgánica de material celular muerto, y con ello aumentara la población de microorganismos que posean alto porcentaje de células que básicamente son material mineral. Con esto se consigue aumentar la proporción mineral (SSM) y el nivel de estabilidad de los fangos (Cisterna, 2001).

### *2.7.9. Aumento de la porosidad.*

Los lodos al aplicarlos al suelo modifican su estructura dejando más huecos entre las partículas de suelo. Esto ayuda a mejorar la permeabilidad del suelo. Las arcillas tienen velocidades de infiltración muy bajas, lo que ayuda a que las capas superficiales del suelo se saturen muy rápido apareciendo la escorrentía, lo cual se reduce con la aplicación de los fangos, por el aumento de la permeabilidad.

## **2.8 Desventajas de los Lodos de Aguas Residuales**

### *2.8.1. Contaminación del medio acuático.*

El arrastre por percolación a través del suelo, o por escurrimiento, produce una contaminación importante de las aguas subterráneas y superficiales, lo que es notorio en el nitrógeno y los microcontaminantes minerales. Existe el riesgo de transporte de microorganismos patógenos a través del agua superficial, lo cual no ocurre en las aguas subterráneas.

### *2.8.2. Contaminación del medio terrestre.*

El suministro de nitrógeno, fósforo, metales pesados y la presencia de microorganismos patógenos e inofensivos modifican las condiciones biológicas del suelo. El suelo actúa como un filtro que retiene en su superficie contaminantes y microorganismos.

### *2.8.3. Contaminación al ambiente.*

Este tipo de molestia se manifiesta principalmente con la proliferación de malos olores en el caso de condiciones anaerobias. Los gérmenes que se transportan por los aerosoles afecta principalmente al ambiente inmediato del trabajador que efectúa la aplicación por aspersión.

### *2.8.4. Contaminación de patógenos y en la cadena trófica.*

Los suelos como los lodos poseen un número muy elevado de gérmenes inofensivos, pero junto a ellos están los microorganismos de origen fecal, que son dañinos para el hombre y los animales. Por otra parte, si algún metal persistente se incorpora en algún vegetal, este puede ser consumido por un animal herbívoro y luego por un carnívoro, ingresando a la cadena trófica. Es por ello que hay que tener mucho cuidado con los minerales persistentes.

### 3 CAPITULO III METODOLOGÍA.

La etapa experimental se llevó a cabo en dos instalaciones, una primera fase de caracterización físico química del suelo, realizada en laboratorio del Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental. posteriormente una segunda fase de seguimiento, por un periodo de 105 días, al interior de sector viveros, ambas dependencias de la Universidad del Bío-Bío, Concepción. Los ensayos fueron realizados en los meses de diciembre de 2016, enero, febrero y marzo de 2017.

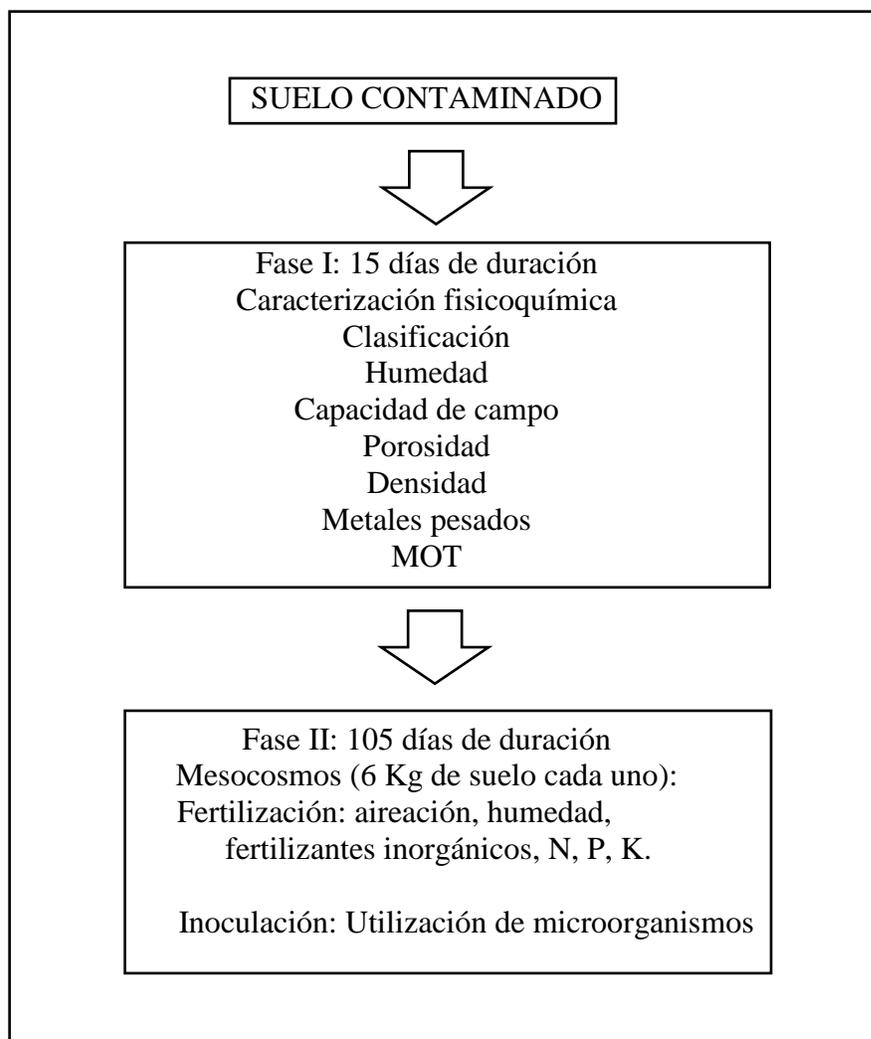


Figura 2: Esquema de las fases presentes en el estudio.

### **3.1. Preparación de la Experiencia**

Para la preparación y el procesamiento de la experiencia es necesario definir los siguientes puntos: Fase I “Caracterización físico-química del suelo contaminado”, Fase II “Bioestimulación del suelo contaminado”, procedencia del suelo a tratar, procedencia de lodos a utilizar, relación suelo-lodo, concentración del contaminante.

#### *3.1.1. Fase I*

Estudio a corto plazo, basado en una caracterización físico-química del suelo. Se lleva a cabo un análisis de HTPs, para ello se envía una muestra de suelo al departamento de fitología de la Universidad de Concepción (UDEEC), también se encarga a la facultad de agronomía e ingeniería forestal de la Pontificia Universidad Católica de Chile (PUC), el análisis de materia orgánica total y metales pesados presente en el suelo a tratar. La determinación de humedad del suelo y lodos, granulometría, densidad, porosidad, Ph, y capacidad de campo se realizan en el laboratorio de mecánica de suelos de la Universidad del Bío-Bío.

#### *3.1.2. Fase II:*

Estudio a medio-largo plazo en mesocosmos con 6 kg de suelo, donde se evalúan distintos escenarios de bioestimulación y Bioaumentación, empleando lodos de aguas residuales y nutrientes inorgánicos, midiendo los parámetros, humedad, pH, EC, temperatura.

#### *3.1.3 Procedencia del suelo a tratar.*

El suelo contaminado a remediar proviene de la población la emergencia, cercano a Empresa Nacional del Petróleo (ENAP), en el Municipio de Hualpén, Octava región del Bío-Bío, Chile. El muestreo fue efectuado el día 11 de noviembre del 2016 y corresponde a material de la subrasante de áreas verdes, posteriormente transportado hasta las instalaciones de la Universidad del Bío-Bío, en la Ciudad de Concepción, en donde se realizaron las pruebas antes mencionadas. El plano de la ubicación se puede apreciar en la figura n°2 a continuación.

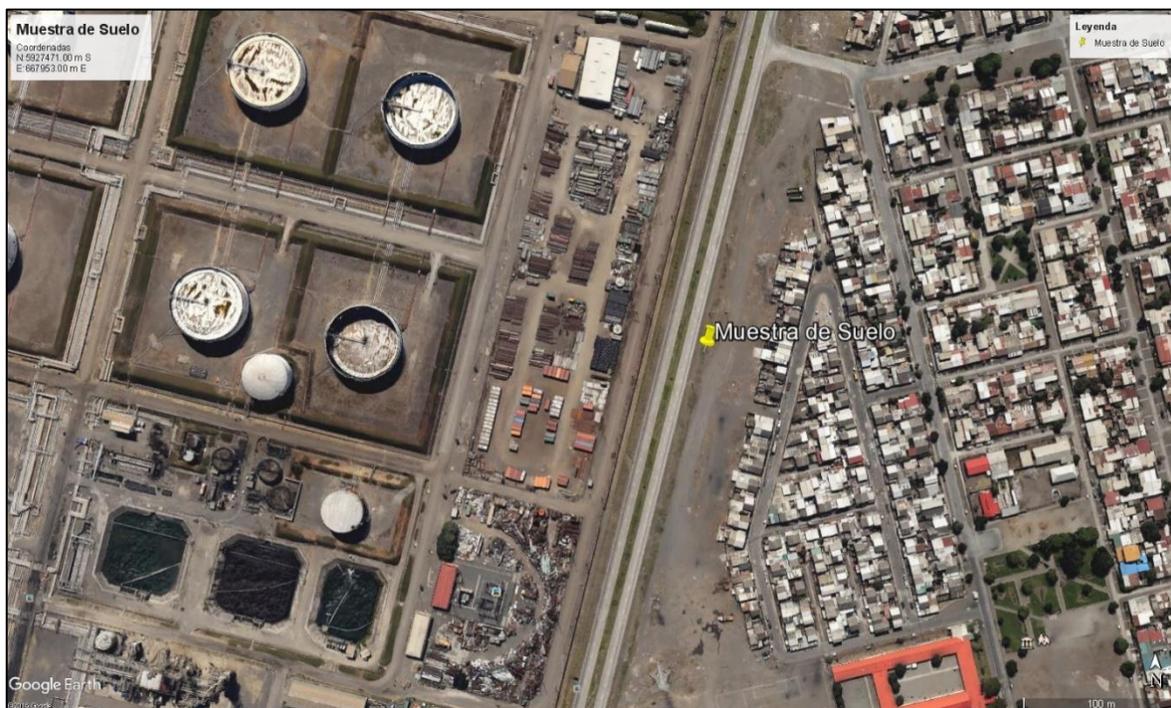


Figura 3: Ubicación de la toma de muestra de suelo (Fuente: Elaboración propia).

#### 3.1.4 Procedencia de lodos a utilizar.

Los lodos empleados provienen de la planta PTAS ESSBIO Concepción, Octava región del Bío-Bío, Chile, como muestra la figura n°3. El muestreo fue efectuado el día 28 de noviembre de 2016 y corresponde a lodos activados estabilizados en base húmeda, a los cuales se les ha reducido los sólidos volátiles en un 38% como mínimo. Posteriormente fueron transportados hasta las instalaciones de la Universidad del Bío-Bío, en la Ciudad de Concepción, para ser aplicados en el suelo contaminado sin perder su humedad original y no alterar la población microbiana por efectos del calor.

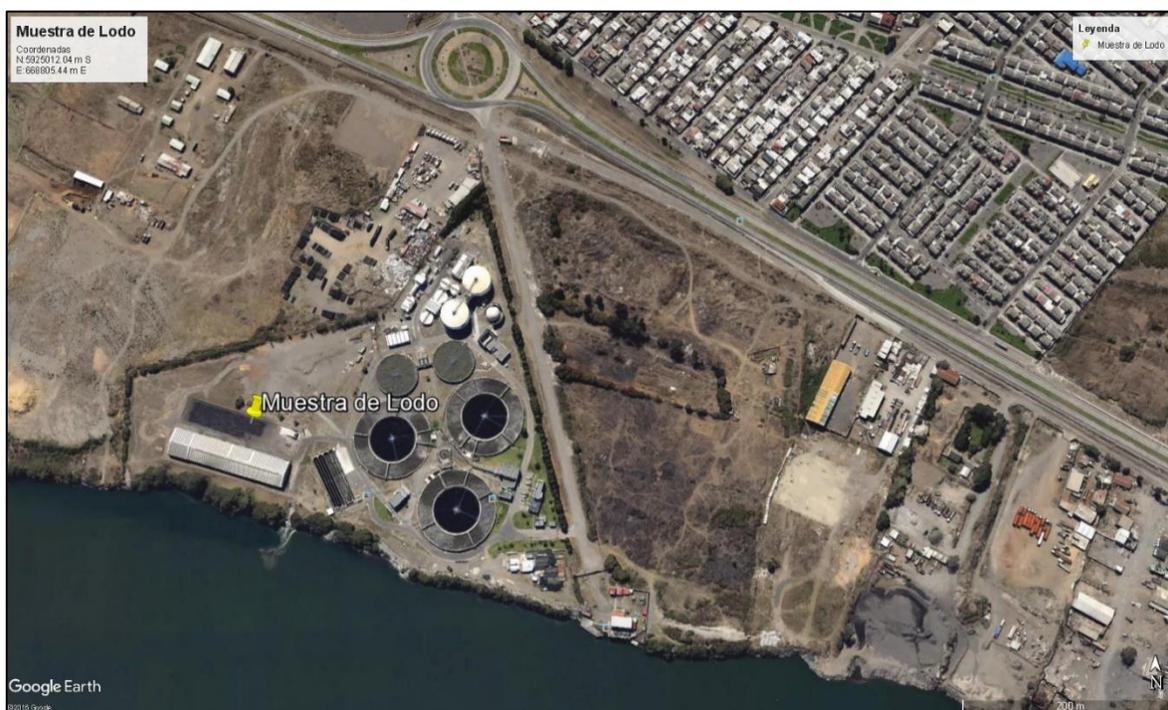


Figura 4: Ubicación de la toma de muestra de lodos (Fuente: Elaboración propia).

### 3.1.5 Relación Suelo-Lodo.

Wan *et al.* (2001) realizaron un experimento en el cual mejoraron la degradación de hidrocarburos agregando materiales orgánicos, entre ellos lodos residuales. Ellos encontraron que la mejor relación suelo: lodo residual fue del 1:0.5 en base húmeda (sin tomar en cuenta la relación C: N), obteniendo una remoción superior al 98 %, mientras que para suelo solo, obtuvieron un 65 % de remoción. Esto se puede deber a diferencias en los tratamientos, ya que, en dicho experimento, se mantuvieron los tratamientos a aireación constante.

Para este experimento se considerará utilizar la misma relación suelo-lodo, utilizando 6 kg de suelo y 3 kg de lodos activos, y un tratamiento de acuerdo al decreto supremo DS4 “Reglamento para el manejo de lodos generados en plantas de tratamiento de aguas servidas”. El cual establece un límite máximo de 90 ton/ha/año, no obstante, en este experimento no se considera la aplicación por unidad de área sino por cantidad de suelo, por lo tanto, al ajustarse al decreto supremo, para un área de 0.16 m<sup>2</sup>, corresponden 1.44 kg de lodo.

### *3.1.7. Concentración del contaminante (HTPs).*

Las concentraciones de hidrocarburos en los suelos utilizados para las pruebas, se encuentran en un intervalo [4,000 -25,000] mg / Kg de suelo, estas concentraciones son aceptables para la aplicación de un método de biorremediación (Gutiérrez y Santos, 2011).

El contaminante elegido para este experimento es diésel grado B-1, procedente de la empresa Copec, el cual detalla en sus especificaciones una densidad a 15°C de 0.85 [Kg/lt], por lo tanto, para una concentración promedio de HTPs igual 10,500 mg/Kg (6 Kg de suelo), agregamos 75 ml de diésel. Se agrega el contaminante en forma homogénea en una bandeja plástica y mezcla junto con la muestra de suelo en forma continua durante 2 horas.

### **3.2. Variables a Investigar.**

En el desarrollo de la parte experimental del presente estudio se identifica como variable fundamental la concentración de hidrocarburos totales de petróleo (HTPs). Sin embargo, existe una serie de variables asociadas a las condiciones óptimas en un proceso de biorremediación, tales como pH, electro conductividad (EC), humedad, capacidad de campo y temperatura.

La cuantía de las variables anteriormente señaladas se obtiene mediante ensayos estandarizados bajo normativas internacionales, tales como, granulometría, capacidad de campo, determinación de humedad, etc. Otros mediante mediciones directas con instrumentos específicos como medidor digital de pH, EC, termohigrometros, etc., y otros debido a su complejidad y requerimiento de equipos específicos y costosos, es más conveniente enviar muestras a analizar en laboratorios especializados en estos estudios, que emprender en forma particular. otra observación importante es que debido a la experiencia del personal que trabaja en estos laboratorios, induce a un menor error en los resultados que podrían cometerse al aventurarse a hacerlos de forma propia. Tal como el caso de analizar HTPs, metales pesados, materia orgánica y otros elementos.

### **3.3. Configuración de Mezclas y Mesocosmos.**

Para la comparación del efecto de bioaumentación y bioestimulación se trabaja con 5 mesocosmos de madera de forma rectangular de dimensiones 0.4x0.4 [m], forrados en el interior con HDPE a modo de evitar filtraciones y se distribuyen de la siguiente manera:

Mesocosmos N°1: (S+L+F: Suelo bioaumentado con lodos más fertilizante inorgánico).

- 6 Kg de suelo contaminado.
- 3Kg de lodos de aguas residuales.
- Agua destilada ajustada a capacidad de campo.
- Fertilizantes inorgánicos (NPK: 20:20:1), correspondiendo por cada kilogramo de tierra: 1,62 g de  $\text{NO}_3\text{NH}_4$ , 0,067 g de  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  y 0,087 g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ .

Mesocosmos N°2: (S+L: Suelo bioaumentado con lodos sin fertilizante inorgánico).

- 6 Kg de suelo contaminado.
- 3 Kg de lodos de aguas residuales.
- Agua destilada ajustada a capacidad de campo.

Mesocosmos N°3: (S+F: Suelo nativo con fertilizante inorgánico).

- 6 Kg de suelo contaminado.
- Agua destilada ajustada a capacidad de campo.
- Fertilizantes inorgánicos (NPK: 20:20:1), correspondiendo por cada kilogramo de tierra: 1,62 g de  $\text{NO}_3\text{NH}_4$ , 0,067 g de  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  y 0,087 g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ .

Mesocosmos N°4: (S: Suelo nativo).

- 6 Kg de suelo contaminado.
- Agua destilada ajustada a capacidad de campo.

Mesocosmos N°5: (S+L(DS4) -: Suelo bioaumentado con lodos de acuerdo a decreto DS4).

- 6 Kg de suelo contaminado.
- 1,44 Kg de lodos de aguas residuales de acuerdo a DS4 para aplicación de lodos.
- Agua destilada ajustada a capacidad de campo.

Se formuló la concentración de los fertilizantes inorgánicos, de la siguiente manera (C/N: 100:1 y NPK: 20:20:1). Se utiliza:

- $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (Nitrato de amonio), como fuente de nitrógeno.
- $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  (Fosfato diamónico), como fuente de fósforo.
- $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (Fosfato dipotásico), como fuente de potasio.

### **3.4. Descripción de los Ensayos y Mediciones**

Para lograr establecer claramente el efecto de degradación de hidrocarburos en suelos contaminados, que produce la adición de lodos activos, es necesario realizar una serie de ensayos, los cuales cumplen una función exclusiva en cuanto a la obtención de los parámetros necesarios para establecer una caracterización de las variables en estudio y finalmente, evaluar el sistema de tratamiento.

Los ensayos de caracterización del suelo comienzan desde el momento en que se extraen las muestras, este procedimiento busca obtener muestras homogéneas de material de tal manera que las granulometrías observadas posteriormente no se encuentren influenciadas por el sistema de transportación del material, o bien por el sistema de acopio utilizado. Seguido de esto, comienzan las mediciones que describen la naturaleza del proceso de biorremediación entre los cuales se encuentra la determinación del pH, humedad, y electro conductividad. Al mismo tiempo, se ejecuta el montaje de la carpa de cultivo, y un controlador de temperatura conectado a un intractor y extractor de 150 mm, cuya función es mantener los rangos óptimos al interior de la carpa de cultivo, descritos con más detalle en Tabla A4, y Figura A2, en anexos.

#### *3.4.1. Método para determinar la granulometría.*

Este método permite determinar la distribución por tamaños de las partículas mayores que 0,08mm, de una muestra de suelo que es tamizado mediante el procedimiento estandarizado por la noma NCh 165 of 77. El procedimiento del ensayo consiste, bajo un ordenamiento secuencial, en pesar toda la muestra a ensayar para luego cortar la totalidad de la muestra en el tamiz correspondiente al tamaño máximo absoluto y registrar las dos fracciones resultantes. Luego, con la fracción de material que paso por el tamiz correspondiente al tamaño máximo absoluto especificado, se realiza un nuevo corte de material, pero esta vez con el tamiz de abertura 5mm. Con la fracción que pasa por el tamiz 5mm se extrae una porción de 500 a 100g para luego practicar un lavado del material y con la fracción retenida se realiza el procedimiento de tamizado utilizando los tamices con abertura 150, 100, 80, 50, 40, 25, 10 y 5mm. Con la fracción que fue lavada se practica un tamizado con las mallas 2, 1, 0.5, 0.25 y 0.08mm. Finalmente se registran los pesos retenidos en cada tamiz y se calculan los porcentajes retenidos y porcentajes que pasan para cada abertura de tamiz.

#### *3.4.2. Método para determinar el contenido de humedad.*

El procedimiento se define bajo la norma NCh 1515 Of.79 y consiste en obtener una muestra de suelo húmedo, la cual es dispuesta en una cápsula con masa previamente medida. Luego se registra la masa de la muestra húmeda con correspondiente capsula. Seguido, se dispone la muestra en un horno con temperatura  $100 \pm 5^{\circ}\text{C}$  hasta lograr masa constante. Se registra la masa de la muestra seca junto con su capsula y se determina la humedad según la diferencia de masa entre muestra húmeda y muestra seca. Mismo procedimiento para determinar la humedad presente en los lodos.

#### *3.4.3. Método para determinar la capacidad de campo.*

La capacidad de campo, es a la cantidad máxima de agua (expresada en valores de humedad) que es capaz de retener el suelo justo en el momento que llega al estado de saturación. Para su determinación es necesario saturar el suelo con agua, y eliminar el exceso de agua por gravedad. Finalmente, se determina el contenido de agua (humedad) del suelo cuando ya no se libera agua por escurrimiento. Para ello se emplean viales de plástico de 100 ml de capacidad nominal, que se perforan en su base (1 cm de separación entre poros) y se añade fibra de vidrio para evitar que se escape el particulado del suelo cuando se encuentre colmatado de agua. Luego se añaden 30 gramos de suelo secado 16h a  $105^{\circ}\text{C}$ , y se tara el conjunto. Posteriormente se colmata el suelo con agua y se deja que el exceso de agua se elimine por gravedad. Finalmente se determina la humedad del suelo saturado (cuando ya no pierde agua por gravedad), obteniéndose así la capacidad de campo del suelo.

#### *3.4.4. Método para determinar pH.*

El pH determina el grado de adsorción de iones por las partículas del suelo, afectando así su solubilidad, movilidad, disponibilidad y formas iónicas de un contaminante y otros constituyentes del suelo (Alexander 1994). La solubilidad de muchos contaminantes inorgánicos cambia en función del pH y normalmente su movilidad disminuye con altos valores de pH. La determinación del pH en suelo se realiza según el método de la pasta saturada en una suspensión de suelo: agua en proporción 1:2,5 (p/v). Para ello se suspenden 10 g de suelo en 25 ml de agua, se agita la mezcla durante 40 minutos y se mide el pH en un medidor digital calibrado según especificaciones del fabricante. La medición se realizó semanalmente en cada uno de los mesocosmos.

#### *3.4.5. Método para determinar EC.*

El método de la conductividad eléctrica se realiza por medio de un medidor digital sobre una muestra de agua o extracto de suelo. Para determinar la EC, se pesan 10 g de muestra y se mezclan con 90 ml de agua purificada; la muestra se agita constantemente durante 40 min y posteriormente se realiza la medición de EC del extracto. Los medidores se calibran según las especificaciones del fabricante.

#### *3.4.6. Método para determinar humedad y temperatura.*

Para determinar humedad relativa y temperatura al interior de la carpa de cultivo, utilizaremos un termohigrometro, el cual entrega en tiempo real los valores de cada uno.

Se consideraron los rangos óptimos de los factores que influyen en la degradación de hidrocarburos totales, descritos con más detalle en Tabla A3, en anexos. La cantidad de agua que se adiciona a cada mesocosmos para ajustarlos capacidad de campo, se determinara por diferencia de pesos en cada uno, descritos con más detalle en Tabla A5, en anexos.

En cada evento de muestreo, se utilizan guantes de látex desechables, palas de jardinería, las cuales de un mesocosmos a otro se enjuagan previamente con agua y una esponja, para evitar contaminación cruzada, se realiza el volteo manual y se toma sedimento de puntos aleatorios dentro de cada mesocosmos con la pala aproximadamente 20g hasta alcanzar unos 100 a 160g, muestra compuesta, para los diferentes análisis de laboratorio.

## 4 CAPITULO IV RESULTADOS.

### 4.1. Caracterización del Suelo.

El suelo contaminado sometido a tratamiento procedió de una sola muestra, los resultados se muestran a continuación.

#### 4.1.1. Densidad y porosidad.

De acuerdo a ensayo detallado en Figura A3, en anexos. Podemos caracterizar la muestra de suelo con una porosidad aproximada de un 40 % y una densidad de 1,45 [gr/m<sup>3</sup>]

#### 4.1.2. Granulometría.

De acuerdo a nuestro ensayo de granulometría realizado, la clasificación de suelo obtenida de acuerdo a normativa U.S.C.S corresponde a una arena limosa. Como la cantidad de finos que pasa por el tamiz 200 es menor al 30%, no podemos determinar plasticidad o más bien la muestra carece de plasticidad. El detalle de los pesos retenidos en cada tamiz se puede apreciar en la Tabla A1, en anexos.

#### 4.1.3. Capacidad de campo.

De acuerdo al ensayo realizado, detallado en figura A4, en anexos. la capacidad de campo de cada mesocosmos equivale a un 37%, significa que, por cada 100 gr de suelo seco, se retiene 37 gr de agua.

#### 4.1.4 Análisis de metales pesados y materia orgánica del suelo.

La muestra de suelo se envió a analizar al laboratorio de la facultad de agronomía e ingeniería forestal del pontífice universidad católica de chile, el resultado muestra un bajo porcentaje de materia orgánica, solo un 2% (ver figura A5, en anexos).

En cuanto a metales pesados existen valores en los cuales supera el máximo que establece la norma NCh 2952c-2004 “requisitos y restricciones para la aplicación de lodos como enmienda de suelos”. Que se detallan en la siguiente tabla n° 9 de concentración máxima de metales pesados en suelos.

Tabla 4: Concentración máxima de metales pesados permitidos en suelos (Fuente: INN)

<b>Concentración máxima permitida de metales para suelos agrícolas [mg/kg]</b>									
Macrozona Sur pH>5	As	Cd	Cu	Hg	Ni	Pb	Se	Zn	Cr
Norma	10	2	75	1	30	50	4	175	n.n
Muestra	2.47	0.6	94.9	0.01	57.6	33.1	0.02	224.4	29.8

La concentración de cobre, níquel y zinc salen de los rangos aceptables por la normativa. También destaca el valor de concentración de hierro 43.725 [mg/Kg], mucho mayor a las demás concentraciones de metales pesados.

## 4.2. Caracterización de Lodos Residuales

### 4.2.1 Análisis de lodos activos.

La muestra de suelo se envió a análisis a laboratorios ANAM, Santiago. La concentración de metales pesados cumple los valores que establece la norma NCh 2952c-2004 “requisitos y restricciones para la aplicación de lodos como enmienda de suelos”. Como se puede apreciar en Tabla A6, y Figura A6, en anexos.

### 4.2.2 Humedad de lodos activos.

La muestra de Lodos permaneció durante 2 días en horno a  $100 \pm 5^\circ\text{C}$ , se obtuvo una humedad del 72 % aproximadamente, lo cual guarda relación al momento de la recolección de los lodos, ya que estos estaban dispuestos en base humedad. El ensayo de humedad se realizó inmediatamente después de la recolección, para no influenciar la muestra a las temperaturas del ambiente, o el transporte. El detalle de los pesos se precisa en la Tabla A2, en anexos.

### 4.2.3. Medición de parámetros.

Las mediciones se realizaron los días lunes, miércoles y viernes, por un periodo de 105 días. Los valores de EC están en [ $\mu\text{S}/\text{cm}$ ], el agua agregada se determinó por diferencia de pesos en cada mesocosmos y su unidad de medida en [ml].

En el pH se observó un incremento de aproximadamente 2 unidades (pH final entre 8 y 8.5) en todos los tratamientos con adición de lodos. El rango recomendado para una buena degradación aeróbica de hidrocarburos en el suelo oscila entre 6 y 9, con un óptimo de 7.

En relación a la EC, el tratamiento formulado con lodos presentó valores mayores que en los otros tratamientos (SN, S+F) como era de esperarse por la presencia de sales en el medio.

En relación a la temperatura debido a factores ambientales, se registraron valores mayores a 30° C, en el periodo 23-01/30-01. Por lo tanto, representan una singularidad en los datos. Los valores de temperatura registrados en amarillo, representan mediciones realizadas en el día, por lo tanto, es la máxima temperatura y humedad, a su vez los valores registrados en gris, representan mediciones realizadas en las tardes, con el fin de registrar un gradiente de temperatura que fluctúa entre los 5 a 7 °C. el detalle de las mediciones se puede apreciar en Figura A7, en anexos.

#### 4.2.4. Degradación de HTPs.

Para determinar la degradación de hidrocarburos totales de petróleo, se enviaron las muestras asociadas a cada uno de los mesocosmos, al laboratorio de química de productos naturales de la Universidad de Concepción. Un análisis al comienzo de la experiencia y 5 análisis al final del periodo de 105 días (ver figura A8, en anexos). Con el fin de realizar análisis de HTPs.

**Luego de 15 días, los resultados de los análisis demuestran los porcentajes de remoción de contaminante en cada mesocosmos. En todos los tratamientos se registran porcentajes de degradación mayor al 80%, los cuales se detallan mejor en la siguiente tabla n° 5.**

Tabla 5. Concentraciones de HTPs en mesocosmos.

Mesocosmos	Muestra	Concentración Inicial ug/g (ppm)	Concentración Final ug/g (ppm)	Remoción de contaminante (%)
Suelo Natural	4-2-R	1732.0	187.0	89%
Suelo+Lodo+Fertilizante	0-2-R	1732.0	68.2	96%
Suelo+Lodo	6-3-R	1732.0	19.2	99%
Suelo+Lodo (DS4)	2-2-R	1732.0	49.6	97%
Suelo+Fertilizante	0-1-R	1732.0	96.5	94%

Fuente: Elaboración propia

Las muestras fueron extraídas con solvente y luego analizadas por cromatografía de gas con detector de ionización de llama. Las muestras tenían distintas concentraciones de hidrocarburos de petróleo, como se aprecia en los cromatogramas de figura A9, en anexos, los hidrocarburos van desde el C-12 al C-33.

## **5 CAPITULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.**

### **5.1 Conclusiones**

El proceso de biorremediación anaerobia de suelo contaminado con hidrocarburos de petróleo, a nivel laboratorio, alcanzó tasas de remoción del 89 al 99 %, donde el mejor tratamiento fue el que contenía lodos residuales (biosólidos) como fuente alterna de nutrientes, en razón 1:0.5. La mineralización o madurez de los lodos influyó en la tasa de remoción de hidrocarburos, entre más frescos mayor remoción. La humedad fue también un factor importante para aumentar el porcentaje de biodegradación.

Mantener los suelos a capacidad de campo y con flujos de aireación es también un buen estimulante de la flora nativa y permitió obtener porcentajes altos de biodegradación en todos los escenarios, lo cual es una buena alternativa cuando no existen plantas de tratamientos de aguas residuales cerca a los sitios contaminados.

Con base en un análisis de los resultados, se determinó que tanto la presencia de nutrientes, como la densidad y la cantidad de agua disponible, fueron factores que ayudaron a la remoción de los HTP; sin embargo, fue la mezcla de estos tres factores la que mejores resultados brindó, lográndose al agregar los biosólidos al suelo contaminado.

El empleo de desechos orgánicos de fácil degradación como aditivos o correctores de densidad, resulta una alternativa técnicamente factible, viable y sencilla que favorece la degradación de contaminantes orgánicos en suelos a través de procesos de composteo, ya que éstos mejoran las propiedades del sistema y aportan nutrientes para mantener activas las poblaciones microbianas.

Al comprar la experiencia con otros autores, como por ejemplo Lee et al. (2007), la adición de nutrientes tales como nitrógeno y fósforo en una relación de C: N: P que va desde 100:10:1 hasta 500:10:1 a suelos contaminados con hidrocarburos, incrementa la velocidad de remoción de dichos contaminantes, lo cual fue comprobado en el presente trabajo. Estos autores obtuvieron entre un 42 y 51 % de remoción en el suelo contaminado con HTP después de 105 días, agregándole un fertilizante al suelo contaminado, mientras que el valor de atenuación natural fue de 18 % después del mismo periodo. trabajaron con volúmenes menores de suelo contaminado, proporcionándole menor aireación y sin ajustar a capacidad de campo. Las variaciones pueden deberse al cambio en esos factores.

## **5.2 Recomendaciones**

- I. Es preciso señalar que el valor de los resultados correspondientes a las mediciones de las características físicas, pueda variar, ya que el factor de precisión entre distintas marcas no es estándar, en este experimento no se trabajó con instrumentos certificados, sino existentes en el mercado a precio accesible, y la exactitud de las mediciones está directamente relacionada, con la calibración previa de estos.
  
- II. Se recomienda una línea investigativa que permita variar la concentración del contaminante, con el tipo de tratamiento de lodos de este experimento de acuerdo a los mejores resultados, esto debido a podrían darse buenas tasas de biodegradación de hidrocarburos en suelos con otras características o niveles más severos de contaminación.

## **6 BIBLIOGRAFIA.**

1. Verónica Orosco y Mercedes Soria (2008). Biorremediación de Vegetación Contaminada con Petróleo por Derrames en el Campamento Guarumo. Tesis de Grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Riobamba, Ecuador.
2. Miguel Cando (2011). Determinación y Análisis de un Proceso de Biorremediación de Suelos Contaminados por Hidrocarburos. Tesis de Grado, Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca, Ecuador.
3. Katherine Torres y Tatiana Zuluaga (2009). Biorremediación de Suelos Contaminados por Hidrocarburos. Tesis de grado, Facultad de Minas e Ingeniería Química, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.
4. Elizabeth Samanez (2008). Biodegradación Bacteriana por Bioestimulación en Suelos Contaminados con Petróleo Crudo. Tesis de Grado, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
5. Héctor Rojas (2010). Efectos de los Surfactantes en la Biorremediación de Suelos Contaminados con Hidrocarburos. Tesis de Grado, Departamento de Recursos Naturales, Instituto Tecnológico de Sonora, Sonora, México
6. Fabian Montenegro (2007). Aislamiento y Selección de Cepas Bacterianas Nativas de Suelos de la XII Región de Chile, para la Degradación de Crudo de Petróleo. Tesis de Grado. Facultad de Ingeniería, Usach, Santiago, Chile.
7. María Mallea (2008). Remediación de Suelos Contaminados y Análisis de un Proyecto Piloto en Chile, en el Marco del Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental. Tesis de Grado. Facultad de Química y Farmacia. Universidad de Chile, Santiago, Chile.
8. F.J. García (2011). Remedation Trials for Hydrocarbon-Contaminated Sludge from a Soil Washing. *Journal of Hazardous Materials*, pág. 10.

9. Francisco García (2010). Bioventing Remedation and Ecotoxicity Evaluation of Phenanthrene - Contaminated Soil. *Journal of Hazardous Materials*, pág. 8.
  
10. Marcos Viñas (2005). Biorremediación de Suelos Contaminados por Hidrocarburos: Caracterización Microbiológica, Química y Eco toxicológica. Tesis de Grado, Facultad de Biología, Departamento de Microbiología, Universidad de Barcelona, España.
  
11. Instituto Mexicano del Petróleo (2006). Manual de Técnicas de Análisis de Suelos Aplicadas a La Remediación de Sitios Contaminados. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología. México.
  
12. Diana Ñustez (2012). Biorremediación para la Degradación de Hidrocarburos Totales Presentes en los Sedimentos de una Estación de Servicio de Combustible. Tesis de Grado, Facultad de Ciencias Ambientales, Universidad Tecnológica de Pereira. Colombia.
  
13. Adriana Martínez, Elena Pérez, Joaquín Pinto, Blanca Gurrola y Lilia Rodríguez (2011). Biorremediación de Suelo Contaminado con Hidrocarburos Empleando Lodos Residuales Como Fuente alterna de Nutrientes. Instituto Tecnológico de Durango. México.
  
14. Margarita Gutiérrez, José Santos, Laura Ortiz, Enrique Sánchez (2014). Estudio de Tratabilidad Para la Remediación de Suelos Contaminados con Hidrocarburos en una Empresa Minera. Centro de Investigación en Biotecnología, UAEM. México

## 7 ANEXOS.

### 7.1. Anexo A-1. Realización de la Etapa Experimental

Figura A1. Construcción de mesocosmos y montaje de equipos.

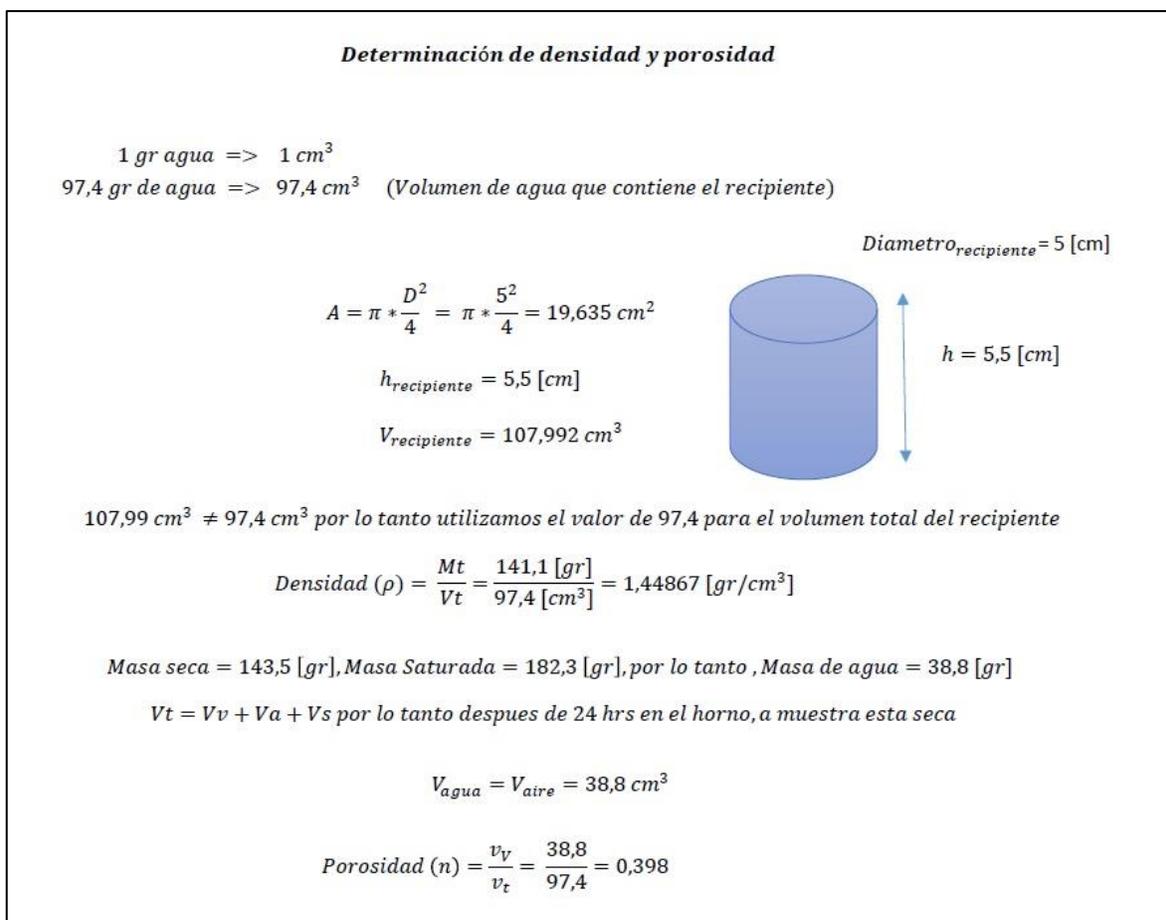


Figura A2. Calibración de instrumentos



## 7.2. Anexo A-2. Caracterización de materias primas.

Figura A3. Determinación de densidad y porosidad del suelo.



**Tabla A1. Granulometría del suelo.**

Descripción de material: Población 18 de Septiembre, Sector la Emergencia, Hualpén				
Granulometría				
Peso muestra total seca a tamizar (g)				420.7
Abertura (mm)	Tamiz	Retenido		Pasa (%)
		Peso (g)	(%)	
20	3/4	0	0	100
10	3/8	4	0.95	99.05
5	4	6	1.42	97.63
2	10	39.22	9.32	88.31
0.5	40	232	55.14	33.17
0.08	200	76	18.06	15.11
	Residuo	63.48	15.08	
Clasificación AASHTO		Clasificación USCS		
Clasificación	A1-b	Clasificación	SM	
IG:	0	Arena Limosa; Lp=LL=0		
Humedad Natural				
Capsula	W-3			
Tara	95.3	gr		
Peso húmedo más tara	516	gr		
Peso seco más tara	503.7	gr		
Peso húmedo	420.7	gr		
Peso seco	408.4	gr		
Peso agua	12.3	gr		
Humedad	3.01	%		



Fuente: Elaboración propia.

**Figura A4. Determinación de capacidad de campo del suelo.**

**Determinación de Capacidad de Campo**

$V_t = 135,02 \text{ [cm}^3\text{]}$

$Muestra_{seca} = 168,48 \text{ [gr]} \quad ; \quad Muestra_{humeda} = 230,91 \text{ [gr]} \quad \Rightarrow \quad \Delta_{h_2o} = 62,43 \text{ [gr]}$

168,48 [gr] de Suelo seco pueden almacenar 62,43 cm<sup>3</sup> de agua, por regla tres simple un mesocosmo de 6 kg de suelo , puede almacenar 2223,29 cm<sup>3</sup> de agua.

Figura A5. Análisis de metales pesados y materia orgánica del Suelo.

ANALISIS	N° de Laboratorio	33265
	CUARTEL	BIORREMEDIACION
	Unidad	
pH susp	-	6,25
CE susp	mS/cm	0,08
M.O	%	2,02
<b>Totales</b>		
As	mg/kg	2,47
Cd	mg/kg	0,6
Cu	mg/kg	94,9
Cr	mg/kg	29,8
Fe	mg/kg	43725
Mn	mg/kg	975
Hg	mg/kg	<0,01
Mo	mg/kg	1,37
Ni	mg/kg	57,6
Pb	mg/kg	33,1
Se	mg/kg	0,02
Zn	mg/kg	224,4

Figura A6. Análisis de lodos Laboratorio.

Muestra 3753060					
Análisis/Método	Fecha de ensayo	Resultado	Unidad	Requisito Normativo	Límite de Detección
Arsénico Total (As) M.S. SM 3120 B	Inicio 26/10/2016 13:50 Fin 27/10/2016 16:32	7,28	mg/Kg	-	1,2
Cadmio Total (Cd) M.S. SM 3120 B	Inicio 26/10/2016 13:50 Fin 27/10/2016 16:32	0,64	mg/Kg	-	0,1
Cobre Total (Cu) M.S. SM 3120 B	Inicio 26/10/2016 13:50 Fin 27/10/2016 16:32	421,50	mg/Kg	-	1,4
Coliformes Fecales St Met 9221 E	Inicio 14/10/2016 10:30 Fin 19/10/2016 17:22	1,60E+03	NMP/g	-	1,8
Conductividad Eléctrica TMECC 04.10-A	Inicio 14/10/2016 10:15 Fin 21/10/2016 11:53	5,78	dS/m	-	0,0005
Humedad SM 2540G (2012)	Inicio 14/10/2016 12:35 Fin 18/10/2016 11:36	82,71	%	-	-
Materia Orgánica TMECC 05.07	Inicio 17/10/2016 10:00 Fin 21/10/2016 09:26	70,48	%	-	0,28
Mercurio total (Hg) M.S. St Met 3112B	Inicio 18/10/2016 14:01 Fin 18/10/2016 14:22	1,12	mg/Kg	-	1
Niquel Total (Ni) M.S. SM 3120 B	Inicio 26/10/2016 13:50 Fin 27/10/2016 16:32	10,41	mg/Kg	-	1,2
pH TMECC 04.11-A	Inicio 14/10/2016 10:15 Fin 21/10/2016 12:03	7,2	unidad de	-	-
Plomo Total (Pb) M.S. SM 3120 B	Inicio 26/10/2016 13:50 Fin 27/10/2016 16:32	44,40	mg/Kg	-	1,2
Selenio Total (Se) M.S. SM 3120 B	Inicio 26/10/2016 13:50 Fin 27/10/2016 16:32	5,05	mg/Kg	-	0,9
Sólidos Totales St Met 2540G	Inicio 14/10/2016 12:35 Fin 18/10/2016 11:35	17,3	%	-	-
Sólidos Volátiles St Met 2540G	Inicio 14/10/2016 12:35 Fin 18/10/2016 12:15	68,1	%	-	0,003
Zinc Total (Zn) M.S. SM 3120 B	Inicio 26/10/2016 13:50 Fin 27/10/2016 16:32	1025,36	mg/Kg	-	2,8

**Tabla A2. Determinación de humedad en lodos**

Humedad Lodos		
Capsula	LC-4	
Tara	22.97	gr
Peso húmedo más tara	36.59	gr
Peso seco más tara	30.87	gr
Peso húmedo	13.62	gr
Peso seco	7.9	gr
Peso agua	5.72	gr
Humedad	72.41	%



**Tabla A3. Análisis, métodos y frecuencia para medir características físicas.**

ANÁLISIS	METODO	FRECUENCIA
Temperatura	Termo higrómetro	3 veces por semana
pH	Medidor digital	3 veces por semana
Electroconductividad	Medidor digital	3 veces por semana
Humedad	Termo higrómetro	3 veces por semana

### 7.3. Anexo A-3. Configuración de parámetros.

**Tabla A4. Rangos óptimos para procesos de biorremediación**

Propiedad	Rango	Referencia
Temperatura (°C)	18° - 30°	Gómez, S., et al, 2008
pH (unidades)	6 - 9	Ríos, R., 2005
Humedad (% capacidad de campo)	20% - 75%	Gómez, S., et al, 2008
Nutrientes N:P:K	20:20:1	Gómez, S., et al, 2008

**Tabla A5. Cantidad de agua aplicada y volteos manuales por semana.**

Días de la semana	Actividad	Cantidad de agua
Lunes	A todos los mesocosmos se les adiciona agua y volteo manual	A capacidad de campo
Miércoles		A capacidad de campo
Viernes		A capacidad de campo

**Figura A7. Medición de características físicas.**

Fecha	Temperatura [°C]	Humedad [%]	pH-SN	EC-SN	pH-S+L	EC-S+L	pH-S+L (DS4)	EC-S+L (DS4)	pH-S+L+F	EC-S+L+F	pH-S+F	EC-S+F	Agua Agregada
28-11-2016	24	70	6.3	0.08	7.2	5.8	7.3	5.78	7.2	5.78	6.5	5.78	300
30-11-2016	19	80	6.3	0.11	7.2	5.8	7.3	5.82	7.2	5.83	6.5	5.8	0
02-12-2016	23	77	6.3	0.14	7.2	5.8	7.3	5.86	7.2	5.88	6.5	5.82	0
05-12-2016	19	70	6.3	0.17	7.3	5.9	7.4	5.9	7.3	5.93	6.5	5.84	150
07-12-2016	22	67	6.3	0.2	7.3	5.9	7.4	5.94	7.3	5.98	6.6	5.86	0
09-12-2016	20	78	6.3	0.23	7.3	5.9	7.4	5.98	7.3	6.03	6.6	5.88	0
12-12-2016	21	55	6.3	0.26	7.3	6.0	7.4	6.02	7.3	6.08	6.6	5.9	100
14-12-2016	24	62	6.3	0.29	7.4	6.0	7.5	6.06	7.3	6.13	6.6	5.92	0
16-12-2016	20	72	6.3	0.32	7.4	6.0	7.5	6.1	7.4	6.18	6.6	5.94	0
19-12-2016	22	73	6.3	0.35	7.4	6.1	7.5	6.14	7.4	6.23	6.6	5.96	150
21-12-2016	21	69	6.4	0.38	7.4	6.1	7.5	6.18	7.4	6.28	6.7	5.98	0
23-12-2016	21	68	6.4	0.41	7.5	6.1	7.6	6.22	7.4	6.33	6.7	6	0
26-12-2016	22	90	6.4	0.44	7.5	6.1	7.6	6.26	7.4	6.38	6.7	6.02	130
28-12-2016	25	80	6.4	0.47	7.5	6.2	7.6	6.3	7.5	6.43	6.7	6.04	0
30-12-2016	18	87	6.4	0.5	7.5	6.2	7.6	6.34	7.5	6.48	6.7	6.06	0
02-01-2017	22	66	6.4	0.53	7.6	6.2	7.6	6.38	7.5	6.53	6.7	6.08	100
04-01-2017	21	61	6.4	0.56	7.6	6.3	7.7	6.42	7.5	6.58	6.7	6.1	0
06-01-2017	23	65	6.4	0.59	7.6	6.3	7.7	6.46	7.5	6.63	6.8	6.12	0
09-01-2017	22	71	6.4	0.62	7.6	6.3	7.7	6.5	7.6	6.68	6.8	6.14	150
11-01-2017	24	68	6.4	0.65	7.7	6.4	7.7	6.54	7.6	6.73	6.8	6.16	0
13-01-2017	24	75	6.5	0.68	7.7	6.4	7.8	6.58	7.6	6.78	6.8	6.18	0
16-01-2017	25	73	6.5	0.71	7.7	6.4	7.8	6.62	7.6	6.83	6.8	6.2	200
18-01-2017	24	63	6.5	0.74	7.7	6.4	7.8	6.66	7.6	6.88	6.8	6.22	0
20-01-2017	28	67	6.5	0.77	7.8	6.5	7.8	6.7	7.7	6.93	6.8	6.24	0
23-01-2017	36	49	6.5	0.8	7.8	6.5	7.9	6.74	7.7	6.98	6.9	6.26	300
25-01-2017	32	54	6.5	0.83	7.8	6.5	7.9	6.78	7.7	7.03	6.9	6.28	50
27-01-2017	31	59	6.5	0.86	7.8	6.6	7.9	6.82	7.7	7.08	6.9	6.3	50
30-01-2017	35	52	6.5	0.89	7.8	6.6	7.9	6.86	7.7	7.13	6.9	6.32	50
01-02-2017	17	70	6.5	0.92	7.9	6.6	7.9	6.9	7.8	7.18	6.9	6.34	0
03-02-2017	16	78	6.5	0.95	7.9	6.7	8.0	6.94	7.8	7.23	6.9	6.36	0
06-02-2017	18	75	6.5	0.98	7.9	6.7	8.0	6.98	7.8	7.28	6.9	6.38	150
08-02-2017	16	80	6.6	1.01	7.9	6.7	8.0	7.02	7.8	7.33	7.0	6.4	0
10-02-2017	17	75	6.6	1.04	8.0	6.7	8.0	7.06	7.8	7.38	7.0	6.42	0
13-02-2017	17	80	6.6	1.07	8.0	6.8	8.1	7.1	7.9	7.43	7.0	6.44	100
15-02-2017	16	85	6.6	1.1	8.0	6.8	8.1	7.14	7.9	7.48	7.0	6.46	0
17-02-2017	14	78	6.6	1.13	8.0	6.8	8.1	7.18	7.9	7.53	7.0	6.48	0
20-02-2017	15	82	6.6	1.16	8.1	6.9	8.1	7.22	7.9	7.58	7.0	6.5	150
22-02-2017	18	78	6.6	1.19	8.1	6.9	8.2	7.26	7.9	7.63	7.1	6.52	0
24-02-2017	19	83	6.6	1.22	8.1	6.9	8.2	7.3	8.0	7.68	7.1	6.54	0
27-02-2017	17	79	6.6	1.25	8.1	7.0	8.2	7.34	8.0	7.73	7.1	6.56	100
01-03-2017	16	60	6.6	1.28	8.2	7.0	8.2	7.38	8.0	7.78	7.1	6.58	0
03-03-2017	18	67	6.7	1.31	8.2	7.0	8.2	7.42	8.0	7.83	7.1	6.6	0
06-03-2017	16	75	6.7	1.34	8.2	7.0	8.3	7.46	8.0	7.88	7.1	6.62	50
08-03-2017	15	83	6.7	1.37	8.2	7.1	8.3	7.5	8.1	7.93	7.1	6.64	0
10-03-2017	15	73	6.7	1.4	8.3	7.1	8.3	7.54	8.1	7.98	7.2	6.66	0
13-03-2017	16	74	6.7	1.43	8.3	7.1	8.3	7.58	8.1	8.03	7.2	6.68	0
15-03-2017	15	73	6.7	1.46	8.3	7.2	8.4	7.62	8.1	8.08	7.2	6.7	0

Figura A- 8. Grafico relación temperatura v/s agua agregada.

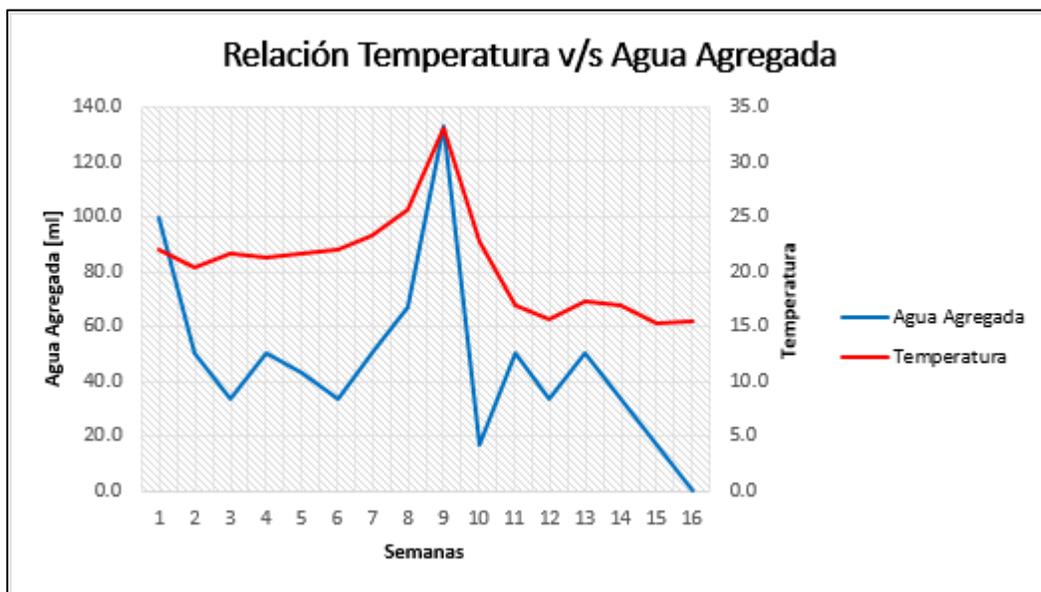
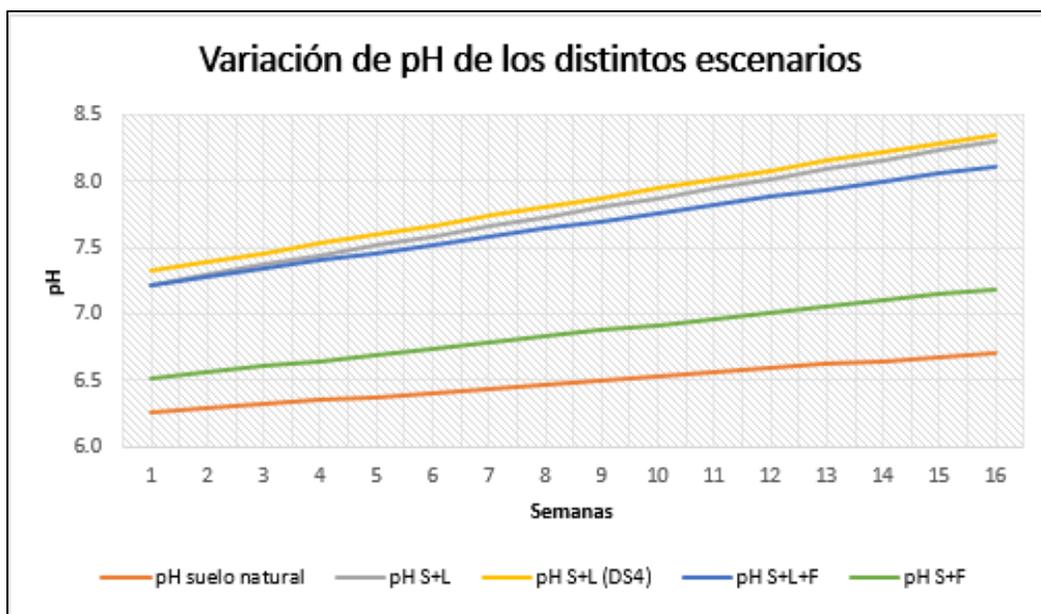


Figura A- 9. Gráfico de variación de pH de los distintos escenarios.



**7.4. Anexo A-4. Verificación de metales pesados y cromatogramas.**

**Tabla A- 6. Verificación de metales pesados en lodos de acuerdo a normativa**

<b>Concentración máxima permitida de metales para Lodos [mg/kg]</b>									
Suelos aptitud frutal o forestal	As	Cd	Cu	Hg	Ni	Pb	Se	Zn	Cr
Norma	20	8	1000	10	80	300	50	2000	n.n
Muestra	7.28	0.64	421.5	1.12	10.41	44.4	5.05	1025.36	n.i

**Figura A- 10. Recolección de muestras a analizar.**



Figura A- 11. Cromatogramas de muestras.

