

**ANÁLISIS Y DETERMINACIÓN DE LA FACTIBILIDAD DE UN PROCESO DE
BIORREMEDIACIÓN DE HIDROCARBUROS EN UNA MATRIZ DE SUELOS
EMPLEANDO COMO AGENTE CORRECTOR LODOS RESIDUALES
PROVENIENTES DE UNA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS
RESIDUALES (PTAR).**

**LADY CECILIA LAVERDE ARIAS
ALBIO ENRIQUE ESPINOSA SAFAR**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO QUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERIA QUÍMICA
ESPECIALIZACIÓN EN INGENIERIA AMBIENTAL
BUCARAMANGA**

2013

**ANÁLISIS Y DETERMINACIÓN DE LA FACTIBILIDAD DE UN PROCESO DE
BIORREMEDIACIÓN DE HIDROCARBUROS EN UNA MATRIZ DE SUELOS
EMPLEANDO COMO AGENTE CORRECTOR LODOS RESIDUALES
PROVENIENTES DE UNA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS
RESIDUALES (PTAR).**

**LADY CECILIA LAVERDE ARIAS
ALBIO ENRIQUE ESPINOSA SAFAR**

**MONOGRAFIA PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN INGENIERIA AMBIENTAL**

**DIRECTOR
ESP. ROSA MARIA HIGUERA ARDILA**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICO QUIMICAS
ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA
ESPECIALIZACION EN INGENIERIA AMBIENTAL
BUCARAMANGA**

2013

AGRADECIMIENTOS

A Albio mi compañero de proyecto por su incuestionable ayuda y paciencia, a SIAMA LTDA y la calidez de su personal por su colaboración y acompañamiento.

A Paty

A mis padres, mi tía y Hermano por su incesante, constante e incondicionalidad, factor fundamental en la consecución de este logro.

A ti Christian por tu espera, comprensión y paciencia

A mis compañeros de especialización quienes me contagiaron con su alegría, mis más sincera gratitud y mis mejores recuerdos

A mis compañeros de CORPORINOQUIA por brindarme su apoyo

A mi amiga Elizabeth por recibirme en su hogar con los brazos abiertos y a todos aquellos familiares y amigos que contribuyeron de alguna manera para la realización de este trabajo.

Lady Laverde

AGRADECIMIENTOS

A mi amada esposa Claudia y a mis adoradas hijas María Alejandra y María Paula por su paciencia, comprensión y por el tiempo robado.

A mis fallecidos padres, cada meta alcanzada es fruto de su esfuerzo.

A Patty Franco mi colaboradora incansable.

A mi familia SIAMA que la llevo en mi corazón.

A nuestra directora, Rosa María Higuera por sus valiosos aportes.

A mis nuevos amigos de la especialización, en especial a Lady "The Green".

Albio Espinosa

TABLA DE CONTENIDO

	Pág
INTRODUCCIÓN	16
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
1.1. JUSTIFICACIÓN	19
2. MARCO REFERENCIAL	21
2.1. MARCO LEGAL	21
2.2. SUELO	23
2.2.1 Importancia del Suelo	23
2.3. METABOLISMO MICROBIANO DE HIDROCARBUROS	24
2.4. TÉCNICAS DE BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS	25
2.4.1. "Landfarming"	25
2.5. TÉCNICAS PARA LA ELIMINACIÓN DE HIDROCARBUROS	26
2.6. LODOS RESIDUALES	27
2.6.1. Clases de lodos residuales:	27
2.7. FACTORES CONDICIONANTES DEL PROCESO BIORREMEDIACIÓN	28
2.7.1. Temperatura	29
2.7.2. Humedad	29
2.7.3. Aireación	30
2.7.4. pH	31
2.7.5. Relación C/N	31
2.7.6. Microbiote e inoculación	33
3. METODOLOGIA	34
3.1. FASE PRELIMINAR EN LABORATORIO	35
3.2. FASE EXPERIMENTAL EN CAMPO	35
3.3. PROGRAMA DE MONITOREO	37
3.3.1. Adecuación de las muestras	38
3.3.1.1. Secado de las muestras	38
3.3.1.2. Homogenización y tamizado	38

3.3.1.3. Conductividad eléctrica y pH:.....	39
3.3.1.4. Carbono orgánico	39
3.3.1.5. Determinación de nitrógeno:	39
3.3.1.6. Caracterización microbiológica	39
3.3.1.7. Acondicionamiento nutritivo - ambiental inicial.....	41
3.4. SEGUIMIENTO DEL TRATAMIENTO APLICADO	41
4. RESULTADOS.....	43
5. DISCUSION	48
6. RECOMENDACIONES	49
BIBLIOGRAFIA	50

LISTA DE TABLAS

	Pág
Tabla 1. Protocolo de Louisiana	22
Tabla 2 Proporciones suelo-lodo-material inerte-medio mineral.....	37
Tabla 3 Métodos y frecuencia de análisis	42
Tabla 4 Caracterización inicial del lodo, suelo y ensayos	43
Tabla 5 Control de pH y Temperaturas.....	44
Tabla 6 Control de humedad	44
Tabla 7 Control de hidrocarburos totales de petróleo HTP	45
Tabla 8 Tasa de biodegradación de HTP en porcentaje (%)	46
Tabla 9 Caracterización final del lodo, suelo y ensayos	46

LISTA DE GRÁFICAS

	Pág
Grafica 1 Metodología general.....	34
Grafica 2 Comportamiento de los HTP.	45

LISTA DE FIGURA

	Pág
Figura 1 PTAR de Rio Frio- UASB.....	35
Figura 2 Toma de muestra del lodo de la Estación de servicio.....	36
Figura 3 Unidades experimentales (5).....	36
Figura 4 . Secado de muestras	38
Figura 5. Tamizado de la muestra	38
Figura 6 . Medición de conductividad y pH	39
Figura 7 Determinación de Nitrógeno Total	39
Figura 8 Proceso de siembra	40
Figura 9 Proceso de incubación.....	40
Figura 10 Proceso de recuento.....	40
Figura 11 Determinación de HTP.	41

TITULO: ANÁLISIS Y DETERMINACIÓN DE LA FACTIBILIDAD DE UN PROCESO DE BIORREMEDIACIÓN DE HIDROCARBUROS EN UNA MATRIZ DE SUELOS EMPLEANDO COMO AGENTE CORRECTOR LODOS RESIDUALES PROVENIENTES DE UNA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES (PTAR).*

AUTORES: Lady Cecilia Laverde Arias
Albio Enrique Espinosa Safar**

PALABRAS CLAVES: Biorremediar, biorremediación, suelo, hidrocarburos, Lodos residuales, biorecuperación, cometabolismo,

DESCRIPCIÓN

Se realizaron ensayos para evaluar el efecto al adicionar lodos frescos como fuente alterna de nutrientes, los lodos contaminados con hidrocarburos, se obtuvieron de una estación de servicio y los lodos residuales se obtuvieron de la planta de tratamiento de aguas residuales de Río frío. La parte experimental se dividió en dos fases, a primera fase consiste de la caracterización del lodo de PTAR a utilizar en este proyecto, así como del suelo contaminado y de la fuente de contaminación del suelo. Se tomaron varias muestras de suelo con alto contenido de hidrocarburos, procedentes de la incorporación de hidrocarburos derivados de la estación de servicio, y se dividieron en recipientes plásticos con y sin incorporación adicional de lodos frescos provenientes de la PTAR, variando en la cantidad de estos últimos para evaluar la relación que se ajuste de mejor forma a nuestro objetivo. A lo largo del proyecto se realizó un seguimiento de la evolución de las características del suelo, en particular de aquellas relativas a su calidad microbiológica y su contenido de hidrocarburos. El monitoreo de las unidades, se hizo tomando una muestra integrada de cada unidad, midiendo pH, temperatura, HTP y humedad cada 5 días. Los análisis microbiológicos y fisicoquímicos se realizaron en el laboratorio SIAMA LTDA, siguiendo los procedimientos del Standard Methods (APHA, 2005). La determinación de HTP se llevó a cabo teniendo en cuenta el método extracción con solventes - gravimétrico (Soxleth)

* Monografía de Grado

** Facultad de Ingenierías Físico-Químicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: Rosa María Higuera.

TITLE: ANALYSIS AND DETERMINATION OF THE FEASIBILITY OF BIOREMEDIATION OF HYDROCARBONS IN A SOIL MATRIX USING AS A CORRECTIVE AGENT FROM SEWAGE SLUDGE PLANT WASTEWATER TREATMENT (WWTP). *.

AUTHORS: Lady Cecilia Arias Laverde
Enrique Espinosa Safar Albio * *

KEYWORDS: bioremediate, bioremediation, soil, oil, sewage sludge, bioremediation, cometabolic

DESCRIPTION

Tests were performed to evaluate the effect by adding fresh sludge as an alternative source of nutrients, sludge contaminated with hydrocarbons, were obtained from a service station and sewage sludge were obtained from the treatment plant wastewater cold river. The experimental part was divided into two phases, the first phase consists of the characterization of the sludge treatment plant domestic wastewater used in this project and contaminated soil and ground pollution source. Several samples were taken from soil with high hydrocarbon content, from the incorporation of hydrocarbons derived from the service station, and divided into plastic containers with and without further addition of fresh sludge from the treatment plant domestic wastewater, varying the quantity of the latter to assess the relationship of best fit our purpose. Throughout the project tracked the evolution of soil characteristics, particularly those related to microbiological quality and hydrocarbon content. The monitoring of the units was made by taking a sample of each unit, measuring pH, temperature, and humidity HTP every 5 days. Microbiological and physicochemical analyzes were performed in the laboratory Siana LTDA, following the procedures of Standard Methods (APHA, 2005). HTP determination was performed taking into account the solvent extraction method - Gravimetric (Soxleth)

* Monograph of Degree

** Faculty of Engineering Physicist-Chemistry. Chemical Engineering School. Environmental Engineering Specialization. Director: Qco. Rosa Maria Higuera

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Analizar y determinar la factibilidad de un proceso de biorremediación de Hidrocarburos en una Matriz de suelos empleando como agente corrector lodos residuales provenientes de una Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Comparar el efecto de la adición de microorganismos no adaptados (lodos frescos de agua residual domestica) a suelos contaminados con hidrocarburos y la bioestimulación (adición de fertilizante como fuente de nutrientes, la estimulación con la adición de agua y volteo manual como fuente de oxígeno) en la biodegradación de hidrocarburos en sedimentos generados por una estación de servicio de combustible.

Establecer las tasas de degradación de hidrocarburos totales, en los diferentes ensayos de biorremediación de sedimentos a implementar.

Determinar el porcentaje de remoción de hidrocarburos en las diferentes concentraciones de lodos empleadas.

Evaluar la eficacia de la adición al suelo de lodos de depuradora frescos en la aceleración e intensificación de los procesos de degradación de hidrocarburos, dada su potencial capacidad para actuar como catalizadores de dichos procesos.

Determinar parámetros microbiológicos y fisicoquímicos indicativos del tamaño y actividad de las poblaciones microbianas del suelo, a fin de evaluar la calidad del suelo antes, durante, y después de los procesos de biorrecuperación.

INTRODUCCIÓN

La contaminación de suelos por hidrocarburos es un problema importante en la mayor parte de los países productores de petróleo. La matriz suelo es espacialmente variable y está demostrado que las propiedades químicas, que juegan un papel importante en la adsorción del contaminante, tales como pH, textura y materia orgánica, muestran una distribución altamente variable.

La Biorremediación surge de la necesidad de disminuir el impacto ambiental que esto conlleva, con el fin de detoxificar contaminantes en los diferentes ambientes usando microorganismos, plantas o enzimas de estos, de manera estratégica.

Una posible forma de optimizar el proceso de "*landfarming*", es la adición de lodos de la PTAR, lo que permitirá acortar el tiempo para la degradación de los hidrocarburos contenidos en el mismo, así como conseguir una mayor degradación de los hidrocarburos más recalcitrantes. Esto nos permite resolver dos problemáticas: ofertar una vía alternativa para el uso de los lodos de depuradora y establecer una metodología eficiente para la biorrecuperación de suelos contaminados con hidrocarburos.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El desarrollo de la actividad humana a nivel doméstico, industrial y agrícola conlleva un aumento del consumo de agua. La necesidad de reutilizar esta agua así como de evitar focos de contaminación lleva implícita la necesidad de su depuración. Como resultado de esta depuración aparecen como subproductos unos lodos de consistencia pastosa y composición variable en función de las características de los influentes, que se caracterizan por ser un recurso importante de materia orgánica y nutrientes. La creciente generación y acumulación de estos lodos representa un problema importante que urge resolver, siendo necesario buscar vías de reutilización de los mismos coherentes y respetuosos con el medio ambiente.

Al margen de la problemática de la acumulación de lodos y la necesidad de darles un uso adecuado, nos encontramos con que uno de los problemas medioambientales más importantes de la actualidad es la contaminación de los ecosistemas terrestres y acuáticos por derrames de hidrocarburos de petróleo y sus derivados. Los hidrocarburos son altamente tóxicos para los microorganismos e invertebrados constituyendo un riesgo potencial para la salud, mayor cuanto mayor sea su resistencia a la degradación. En el caso del suelo, la contaminación por hidrocarburos provoca la reducción o inhibición del desarrollo de la cobertura vegetal, cambios en la dinámica y diversidad poblacional de la fauna y la biota microbiana, y la contaminación de aguas subterráneas y superficiales. En las plantas, los hidrocarburos pueden dañar las membranas celulares y reducir el transporte metabólico y la velocidad de respiración, así como reducir el intercambio de gases y agua a nivel radicular y la absorción de nutrientes. Además de este impacto ambiental negativo, la contaminación con hidrocarburos genera impactos de tipo económico, social y de salud pública en las zonas aledañas al lugar afectado.

En las empresas petroquímicas, la obtención de productos derivados del petróleo conlleva el uso constante de aguas, las cuales hay que depurar de forma adecuada para evitar problemas de vertidos. Esta producción de efluentes con elevado contenido en hidrocarburos plantea el problema de su eliminación. Sabemos que su disposición no controlada puede crear problemas tales como la contaminación de aguas subterráneas y contaminación atmosférica. Algunos de los hidrocarburos que incorporan estos residuos orgánicos, debido en muchos casos a su bajo grado de degradación, pueden introducirse fácilmente con el tiempo en la cadena alimentaria.

En la actualidad es una práctica frecuente la disposición periódica de estos efluentes en terrenos situados en las inmediaciones de las refinerías, adecuados a tal efecto, con el fin de conseguir la eliminación de los hidrocarburos contenidos en los mismos mediante atenuación natural, es decir por medio de los microorganismos existentes en el suelo, que utilizan los hidrocarburos como fuente de carbono. Sin embargo, el proceso de “atenuación natural” es muy lento y puede durar muchos años. Como consecuencia de la disposición repetitiva de estos efluentes de refinería sobre un mismo suelo nos encontramos con una gran cantidad de suelos que soportan una carga muy elevada de hidrocarburos, que el suelo no es capaz de degradar a corto o medio plazo, representando un riesgo de contaminación atmosférica así como de aguas superficiales y subterráneas, por lo que se hace necesario la implementación de técnicas que permitan acelerar la degradación de los hidrocarburos existentes en estos suelos.

En Colombia los residuos sólidos y líquidos contaminados con hidrocarburos son considerados como residuos peligrosos. Actualmente en el país, el desarrollo de tecnologías alternativas biológicas para el tratamiento de sedimentos contaminados con hidrocarburos, como la fitorremediación y la biorremediación, han sido desarrolladas de manera paulatina en zonas de derrames o fugas de los

oleoductos, obteniendo eficiencias significativas; sin embargo, los estudios son pocos y han sido direccionados a resolver la problemática de un solo sector.

Por tanto, se hace necesario investigar alternativas de tratamientos económicos, eficientes y sencillos que ayuden a solucionar este problema, como la biorremediación para tratar sedimentos contaminados con hidrocarburos tendientes a remediar los daños causados por las estaciones de servicio existentes y a prevenirlos en las nuevas.

1.1. JUSTIFICACIÓN

La inadecuada disposición final de lodos contaminados con residuos de aceites lubricantes usados –compuestos por hidrocarburos totales de petróleo (TPH), bifenilos policlorados (PCB), aromáticos policíclicos (HAP), metales y otros compuestos contaminantes– ocasionan un deterioro en el medioambiente y la salud humana por sus efectos cancerígenos, tóxicos y venenosos, se consideran sustancias de difícil biodegradación y se clasifican como residuos peligrosos por la reglamentación establecida en el Convenio de Basilea* aprobado en Colombia por la Ley 253 de Enero de 1996 (Ministerio de Medio Ambiente y Desarrollo Territorial) como residuos peligrosos. (Pulgarin, 2012).

Hoy en día, a nivel mundial se cuenta con diversas técnicas biológicas con el fin de proporcionar alternativas de descontaminación de zonas impactadas en suelo, aire y agua. La biorremediación es un proceso de descontaminación que emplea una serie de reacciones bioquímicas por una población o consorcios de microorganismos inoculados en la zona contaminada, para convertir la estructura de los hidrocarburos en componentes menos tóxicos.

¹ Convenio de Basilea sobre el control de los movimientos transfronterizos de desechos peligrosos y su eliminación. Marzo de 1989.

En la actualidad los problemas de contaminación se extienden de forma pareja en todo el mundo. Ningún país está exento de sufrir y contribuir al deterioro constante que sufren los ecosistemas, la actividad humana ocasiona el mayor impacto siendo los más evolucionados y con tecnologías de punta sobre el planeta, aun así afrontamos los problemas de un desarrollo pobremente sostenible, ya que el crecimiento económico, tecnológico e industrial aumenta pero el medio ambiente decae y se deteriora cada día más a causa de nuestra intervención.

2. MARCO REFERENCIAL

2.1. MARCO LEGAL

El programa CERCLA (Comprehensive Environmental Response, Compensation and Liability Act), gestionado por la US EPA y aprobado por parte del congreso de los Estados Unidos en 1980, fue el primero en responder las preocupaciones de la sociedad sobre el riesgo que suponen los emplazamientos contaminados para la salud humana. Este programa determina las prohibiciones y requerimientos en relación a los sitios contaminados y establece, por primera vez, la responsabilidad de la contaminación. (Lladó. 2012).

En Colombia la legislación sobre contaminación del suelo no se encuentra de forma específica en una Ley o Decreto de orden nacional, si no que se tienen normas de ámbito regional o local (Resoluciones por parte de las Corporaciones Autónomas Regionales), esto se debe principalmente a que el recurso suelo necesariamente hace parte fundamental de los ecosistemas terrestres, por lo tanto no se hace referencia exclusiva a la contaminación del suelo como tal, sino que generaliza a la protección de los recursos naturales (Tosse, 2003).

Las principales normas que incluyen, entre su Articulado, acciones para prevenir y controlar la contaminación del recurso suelo:

- Ley 23 de Diciembre de 1973 Congreso de la república: Faculta al Presidente para expedir el Código de Recursos Naturales y de Protección del medio Ambiente.
- Decreto 2811 de Diciembre 1974. Código de los Recursos Naturales: Conocido como el Código Nacional de Recursos Naturales Renovables y de Protección al Medio Ambiente, entre su articulado relacionado con el medio ambiente, específicamente con el recurso suelo.

- Decreto 4741 de Diciembre de 2005 reglamenta parcialmente la prevención y manejo de los residuos o desechos peligrosos generados en el marco de la gestión integral.
- Resolución 1402 de Julio de 2006 desarrolla parcialmente el decreto 4741 del 30 de diciembre de 2005, en materia de residuos o desechos peligrosos.

Protocolo de Luisiana:

El protocolo de Luisiana establece los niveles máximos de algunos contaminantes en suelo y es la hoja de ruta que se sigue para determinar la calidad del suelo en un proceso de recuperación después de una afectación. En la tabla1 se relacionan algunas variables fisicoquímicas y sus niveles máximos establecidos en el protocolo de Luisiana.

Tabla 1. Protocolo de Luisiana

		Analítica				Protocolo LOUISIANA 29 B
			ANTEK 2855	ANTEK 2106	ANTEK 2107	
pH 1:1	UNIDADE S	Electrométrico	4,68	4,26	4,91	6,0 - 9,0
Conductividad 1:1	μS/cm	Conductimétrico	135	72	42	<40000
Humedad	%	Gravimétrica	15,39	12,90	13,00	N.E
Cloruros	mg/Kg	Titulométrico	99	168	150	N.E
COT	mg/Kg	Detección Con Infrarrojo No Dispersivo	58382	49909	55222	N.E
Salinidad	‰	Conductividad Eléctrica	0,10	0,0	0,0	N.E
Grasas Y Aceites	%	Partición / Infrarrojo	<0,000025	<0,000025	<0,000025	<1
HAPT'S	mg/Kg	Cromatografía De Gases	<0,0023	<0,0023	<0,0023	N.E
BTEX	mg/Kg	Cromatografía De Gases	<0,000014	<0,000014	<0,000014	N.E
Arsénico	mg/Kg	E.A.A.E	2,145	1,67	4,524	10
Bario	mg/Kg	E.A.A.	39	11	25	20000
Cadmio	mg/Kg	E.A.A.	<0,25	<0,25	<0,25	10
Cromo + 6	mg/Kg	Colorimétrica	<0,005	<0,005	<0,005	500
Plomo	mg/Kg	E.A.A.	9,1	6,824	8,122	500
Mercurio	mg/Kg	E.A.A./ V.F.	<0,05	<0,05	<0,05	10
Selenio	mg/Kg	E.A.A.E	1,581	1,501	1,761	10
Plata	mg/Kg	E.A.A.	<0,25	<0,25	<0,25	200
Zinc	mg/Kg	E.A.A.	63	22	65	500
RAS		E.A.A.	0,78	0,05	0,54	<12
ESP	%	E.A.A. / CALCULO	0	0	0	<15
TPH's	mg/Kg	Extracción / Infrarrojo	<0,25	<0,25	<0,25	N.E

N.E.: No Establecido E.A.A.: Espectrometría De Absorción Atómica Con Vapor Frio E.A.A./V.F.: Espectrometría De Absorción Atómica

E.A.A.E.: Espectrometría De Absorción Atómica Electrotérmica

Fuente: Laboratorio Antek

2.2. SUELO

La palabra suelo deriva del latín “*solum*”, que significa suelo, tierra o parcela. Los suelos se forman por la combinación de cinco factores interactivos: material parental, clima, topografía. Organismos vivos y tiempo. Los suelos constan de cuatro grandes componentes: materia mineral, materia orgánica, agua y aire; la composición volumétrica aproximada es de 45, 5, 25 y 25%, respectivamente.

El suelo es un recurso natural que corresponde a la capa superior de la corteza terrestre. Contiene agua y elementos nutritivos que los seres vivos utilizan. El suelo es vital, ya que el ser humano depende de él para la producción de alimentos, la crianza de animales, la plantación de árboles, la obtención de agua y de algunos recursos minerales, entre otras cosas. En él se apoyan y nutren las plantas en su crecimiento y condiciona, por lo tanto, todo el desarrollo del ecosistema (Torres & Delgado, 2009).

2.2.1 Importancia del Suelo

Todos los recursos naturales revisten para el hombre la misma importancia, ya que sin ellos sería imposible su supervivencia en el planeta. El suelo, sin embargo, es fundamental ya que constituye el asiento de las principales formas de la vida orgánica y en él radica el hombre sus mayores actividades económicas y culturales. Es el reservorio de otros recursos naturales como agua, minerales, flora, fauna, etc.

Proporcionalmente el suelo representa un recurso escaso, ya que sólo representa una cuarta parte de la superficie de la Tierra. Si se tiene en cuenta, que de la masa terrestre una gran extensión está ocupada por desiertos y montañas, resulta evidente que la parte aprovechable del suelo constituye una reducida superficie del globo terráqueo cuya calidad es menester conservar a todo trance, ya que de ella depende el futuro de la Humanidad.

2.3. METABOLISMO MICROBIANO DE HIDROCARBUROS

La transformación microbiana de los compuestos orgánicos va ligada a dos procesos principales, el crecimiento y el cometabolismo. La utilización de un sustrato para el crecimiento por parte de catabolismo microbiano implica el mismo principio básico: una degradación gradual de la molécula para formar al final uno o más fragmentos capaces de pasar a metabolismo central (Rodríguez & Martínez 2003). Durante el proceso conocido como mineralización, una parte de los elementos que constituyen la materia orgánica son convertidos en productos inorgánicos como CO₂ o H₂O. En algunos casos, sólo una parte del sustrato es degradado, mientras que el resto del compuesto persiste en forma parcial oxidada. Por su parte, el cometabolismo se basa en la transformación o metabolización de un compuesto orgánico por un microorganismo que no es capaz de utilizarlo como fuente de carbono y energía. De hecho, la mayoría de transformaciones cometabólicas y las de degradación parcial son producto de la baja especificidad de algunas enzimas presentes en las rutas metabólicas de degradación. (Lladó, 2012).

La biodegradación de hidrocarburos ha sido descrita en condiciones aeróbicas como anaeróbicas, aunque los procesos anaeróbicos de degradación son más lentos y los mecanismos bioquímicos todavía no están descritos, en su mayoría (Meckenstock & Mouttaki, 2011). Recientemente nuevas rutas de biodegradación anaeróbica, por bacterias sulfo reductoras, han sido propuestas para el fluoreno y el fenantreno (Tsai et al., 2009). En cambio, las rutas aeróbicas para hidrocarburos alifáticos y HAPs de hasta tres anillos están bien caracterizadas. En presencia de oxígeno, las reacciones clave para la biodegradación de hidrocarburos están catalizadas por oxigenasas tanto en hongos como en bacterias, que actúan incorporando átomos de oxígeno, procedentes de oxígeno molecular (O₂), al sustrato, las monooxigenasas incorporan un solo átomo de oxígeno y el otro es

reducido a agua, mientras que las dioxigenasas incorporan ambos átomos de oxígeno. Como consecuencia, se entiende que los microorganismos degradadores de hidrocarburos, en condiciones aeróbicas, requieren la presencia de oxígeno tanto para realizar la oxidación inicial del sustrato como al final de la cadena respiratoria, donde su papel es de aceptor final de electrones. (Lladó, 2012).

2.4. TÉCNICAS DE BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS

2.4.1. “Landfarming”.

Es una técnica de biorrecuperación que puede ser utilizada para descontaminación tanto “*in situ*” como “*ex situ*”, y consiste en provocar la oxidación biológica de los hidrocarburos contenidos en el suelo, por medio de la estimulación de la microflora natural que se encuentra en el suelo (levaduras, hongos o bacterias) mediante el agregado de fertilizantes, arado y riego superficial. En el fondo, se trata pues de una bioestimulación de las poblaciones necesarias que interesa activar. El proceso de “*landfarming*” tiene una serie de ventajas como son: su bajo costo, no dejar residuos posteriores, no provocar (si se realiza en condiciones controladas) riesgos de contaminación, tanto superficial como subterránea, debido a la migración de hidrocarburos, su impacto ambiental es mínimo, cuando el proceso está bien realizado, y puede resultar una técnica susceptible de emplearse en una gran variedad de condiciones climáticas. Además, si se realiza en condiciones óptimas, se consigue degradar una considerable proporción de los hidrocarburos contenidos en los suelos. Sin embargo, también presenta inconvenientes o desventajas, como es el a veces elevado tiempo necesario para eliminar los hidrocarburos. (García, *et al.* 2010)

La efectividad de esta metodología depende de innumerables factores tales como tipo y concentración de contaminante, nutrientes, aireación, condiciones ambientales, presencia de inhibidores, concentración de microorganismos, etc. La

capacidad de controlar y optimizar todas estas variables anteriormente citadas son las que determinaran la eficiencia del proceso de “*landfarming*” (Ferrera *et al*, 2006).

2.5. TÉCNICAS PARA LA ELIMINACIÓN DE HIDROCARBUROS

Entre las técnicas más empleadas hasta ahora para la eliminación de los hidrocarburos contenidos en suelos podemos citar la extracción de hidrocarburos por vacío, el lavado del suelo contaminado con agua, la incineración, la recuperación electrocinética, etc. Con algunas de estas técnicas se han conseguido efectos positivos, pero su elevado coste económico constituye hoy en día un obstáculo muy a tener en cuenta para su empleo (García *et al* 2011). Por ello, se ha planteado la posibilidad de buscar alternativas viables para la eliminación de los hidrocarburos contenidos en los suelos que sean ambientalmente correctas, simples y económicas. Aparecen así las técnicas de biorrecuperación, que consisten en hacer uso de los microorganismos o plantas para conseguir eliminar mediante biodegradación una contaminación por orgánicos, y constituye una tecnología en clara expansión y muy competitiva, capaz de conseguir la biodegradación de los Hidrocarburos contenidos en los suelos.

Entre los tratamientos de biorrecuperación “*in situ*” están:

- La bioestimulación, que consiste en la estimulación de las poblaciones microbianas indígenas existentes en el suelo mediante la adición de nutrientes, regulación de condiciones redox, cambio de pH, u otras condiciones diversas sobre las que se puede influir.
- La inoculación de microorganismos capaces de actuar específicamente en determinados ambientes contaminados (bioaumentación). Hemos de ser

conscientes que, prácticamente en cualquier suelo (si exceptuamos casos muy puntuales como los desiertos), y en cualquier momento en que nos fijemos, existen la mayoría de las especies de microorganismos, y entre ellos, están los que se deben de encargar de la degradación de los hidrocarburos. Sin embargo, a veces su cantidad no es elevada para que actúen, y en ese caso, las inoculaciones de microorganismos pueden ser aplicadas para descontaminar un ambiente determinado.

- Aplicación de enzimas inmovilizadas capaces de transformar o degradar algunos contaminantes específicos.
- La fitoremediación y el “*landfarming*” (Ferrera *et al.* 2006)

2.6. LODOS RESIDUALES

Desde el punto de vista de funcionamiento, el tratamiento biológico de aguas residuales mediante el proceso de fangos activados, se realiza a través de un tanque reactor biológico, donde se mantiene un cultivo bacteriano aerobio en suspensión y se realiza la oxidación de la materia orgánica. (Viñas, 2005).

2.6.1. Clases de lodos residuales:

Por su contenido en agua:

- lodos líquidos- con un contenido en agua superior al 80%
- lodos plásticos o paleables-su contenido en agua es inferior al 80% por lo que pueden ser manejados mediante pala y transportados en camiones de caja abierta.
- Lodos sólidos-cuyo contenido en agua es inferior al 60%

Por su composición química

- Lodos orgánicos
- Lodos inorgánicos
- Lodos tóxicos y peligrosos

Por su contenido en sólidos

1. En sedimentación libre
 - Frescos
 - Espesados
 - Diferidos – húmedos
2. Por precipitación química
 - Frescos.
 - Digeridos húmedos
 - Por filtración
 - Espesados sedimentados

Por su destino final:

- Lodos incinerables
- Lodos agrícolas.
- Lodos para vertido controlado.
- Lodos para depósito de seguridad.

2.7. FACTORES CONDICIONANTES DEL PROCESO DE BIORREMEDIACIÓN

La principal diferencia entre el proceso se da forma natural en el medio ambiente es que el hombre ejerce un control sobre dicho proceso. Así, se pueden proporcionar a los microorganismos las condiciones idóneas para que realicen su actividad de la forma más rápida y eficaz posible.

Por ello, los factores limitantes del proceso son los que puedan influir sobre el desarrollo de estos microorganismos.

Determinando la velocidad del proceso de biorremediación los factores que intervienen en cualquier proceso biológico de transformación están relacionados entre sí y son muchos y complejos.

Entre estos factores destacan:

- - Temperatura
- - Humedad
- - Aireación
- - Balance de nutrientes
- - pH
- - Microbiota

Todas estas variables, están a su vez influidas por las condiciones ambientales, los tipos de residuos a tratar y la técnica de biorremediación empleada.

2.7.1. Temperatura

Es un factor indicativo de la evolución del proceso. Los cambios experimentados por este parámetro se utilizan normalmente para conocer la actividad microbiana a lo largo del proceso y determinan la estabilidad de la materia orgánica. (Ríos, 2005)

2.7.2. Humedad

Este factor afecta a la composición y actividad de la población microbiana, estando relacionada con la evolución de la temperatura y el grado de descomposición del material orgánico.

Aparte, la presencia de agua disuelve compuestos que pueden incorporarse fácilmente al interior celular.

Suele ser necesario un aporte de agua externo a la matriz, ya que las elevadas temperaturas en la fase termófila y la actividad microbiana producen una gran pérdida de humedad por evaporación directa.

Pero por otro lado, tampoco es bueno el exceso de agua, ya que el agua desplazaría el aire de los espacios porosos, produciendo malos olores debido a que se establecen situaciones anaerobias.

2.7.3. Aireación

Al tratarse de un proceso aeróbico, el oxígeno es necesario para que los microorganismos puedan realizar la descomposición. Por ello es necesario mantener un nivel de oxígeno óptimo, evitando que se produzcan situaciones anaeróbicas que reducirían la velocidad del proceso.

Además de para los organismos, el oxígeno es necesario para muchas reacciones de oxidación de especies químicas orgánicas e inorgánicas presentes en las materias primas.

Por otro lado, también hay que tener cuidado con la excesiva aireación de la matriz ya que podría provocar el enfriamiento del material, así como un incremento de la evaporación de agua, lo que supondría la reducción de la actividad microbiana.

La mejor forma de conseguir el nivel óptimo de oxígeno es realizar una aireación por volteo, que además ayuda a la homogeneización del material, permitiendo así, además, que todo el material quede expuesto a las temperaturas interiores.

2.7.4. pH

El pH es un factor muy importante ya que influye activamente sobre la actividad microbiana ya que las bacterias y los hongos se desarrollan óptimamente a valores de pH diferentes. Las bacterias tendrán su máximo de desarrollo a pH de 6 y 7,5 mientras que los hongos los tendrán a valores entre 5 y 6.

Gracias a las fracciones de materia orgánica que van siendo biotransformadas en las distintas fases del proceso, sabemos cómo varía el pH.

Con esto vemos la variación del pH por fases:

Mesófila: el pH disminuye por la formación de ácidos orgánicos originados por la acción de microorganismos sobre los carbohidratos, lo que favorece el crecimiento de hongos y la descomposición de la celulosa y la lignina.

Termófila: el pH aumenta hasta valores entre 8 y 9, por la formación de amoníaco por la desaminación de las proteínas, a parte aumentos fuertes de pH facilitan la pérdida de nitrógeno en forma amoniacal.

Maduración: el pH se sitúa en torno a 7- 8, como consecuencia de la capacidad tamponante que confiere a la materia orgánica el humus que se va formando. (Gomez. S., *et al.*, 2008)

2.7.5. Relación C/N

El carbono y el nitrógeno son dos elementos importantes en el proceso de biorremediación, ya que además de soportar el crecimiento microbiano son elementos básicos de la materia orgánica a compostar. El carbono es aproximadamente el 50% de la masa celular, así como fuente de energía metabólica.

El nitrógeno por su parte es un componente mayoritario de ácidos nucleicos, proteínas estructurales, enzimas y coenzimas, todo necesario para el crecimiento y desarrollo de las funciones microbianas.

Crecimiento microbiano 25 – 30 partes de carbono por cada parte de nitrógeno consumido

Fuente nitrogenada:

- - gallinaza
- - úrea
- -nitrato amónico

Compuestos ricos en carbono:

- - serrín
- - paja

Por otro lado, si un sustrato contiene carbono difícilmente asimilable, la relación óptima para dicho residuo será mayor que la indicada anteriormente.

Sin embargo, la relación óptima C/N rara vez se ve afectada por la accesibilidad del N ya que la mayor parte de los compuestos nitrogenados son fácilmente asimilables.

El nitrógeno se convierte en factor limitante a valores de relación C/N elevados, lo que conlleva a una disminución de la actividad biológica. Aunque normalmente si el proceso fuera lento indicaría que la materia orgánica carbonatada es poco degradable y no que haya una deficiencia de nitrógeno.

La situación contraria, una relación C/N baja, no afecta realmente al proceso, pero produce malos olores por la producción de amoníaco por la pérdida de nitrógeno.

2.7.6. Microbiote e inoculación

Los microorganismos son un importante factor en el proceso de compostaje ya que depende de ellos la degradación de la materia orgánica.

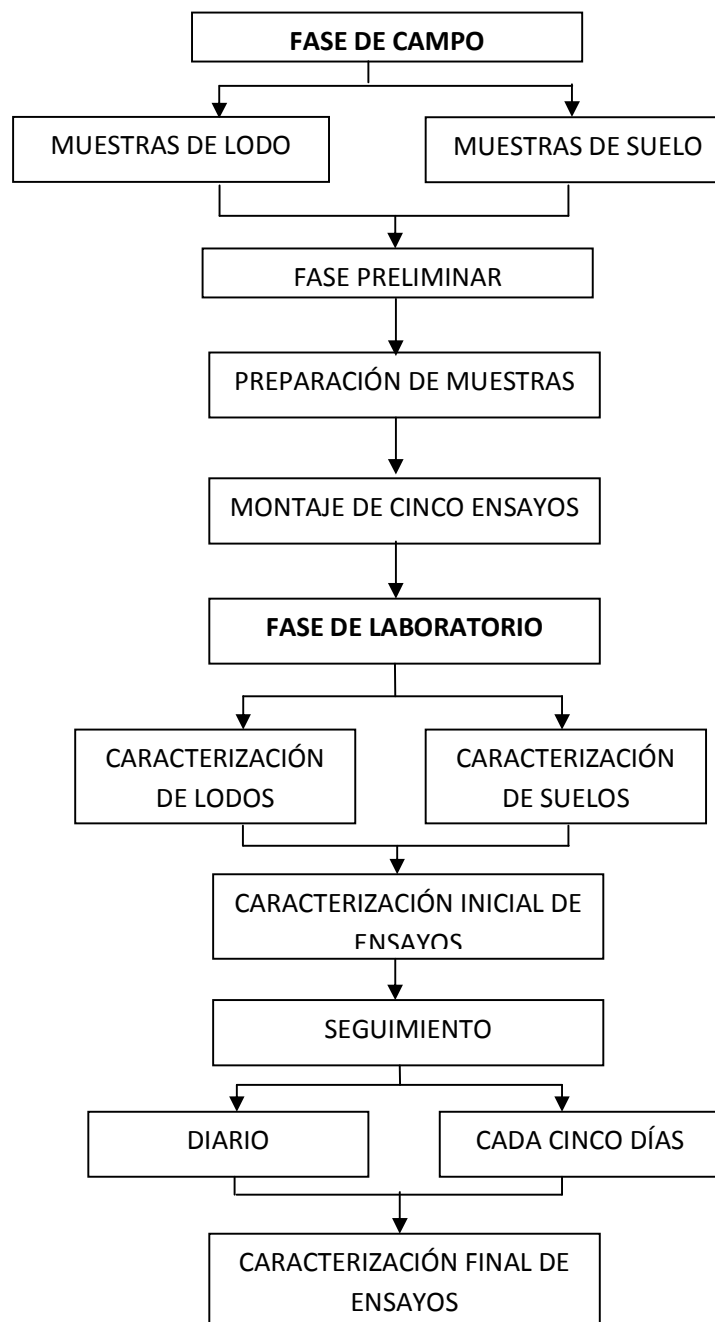
Las bacterias se encargan fundamentalmente de la descomposición de los carbohidratos y las proteínas.

Por otro lado, los hongos y actinomicetos actúan principalmente sobre la fracción lignocelulósica. (Gomez. S., *et al.*, 2008).

3. METODOLOGIA

La descripción general Metodológica se presenta en el gráfico 1.

Grafica 1 Metodología general.



Fuente: Autores del proyecto

A continuación se explica de una manera detallada la metodología de este proyecto:

3.1. FASE PRELIMINAR EN LABORATORIO

La primera fase consistió en la caracterización del lodo de PTAR a utilizar en este proyecto, así como del suelo contaminado y de la fuente de contaminación del suelo (residuos de estaciones de servicios);

Figura 1 PTAR de Rio Frio- UASB



Fuente: Director del proyecto

3.2. FASE EXPERIMENTAL EN CAMPO

Se tomaron varias muestras de suelo con alto contenido de hidrocarburos, procedentes de la incorporación de hidrocarburos derivados de una estación de servicio, (Figura 2.) y se dividieron en recipientes plásticos con y sin incorporación adicional de lodos frescos (provenientes de la PTAR de Rio Frio) (Figura 1.), variando en la cantidad de estos últimos para ser evaluada la relación que se ajuste de mejor forma a nuestro objetivo. A lo largo del proyecto se realizó un seguimiento de la evolución de las características del suelo, en particular de aquellas relativas a su calidad microbiológica y su contenido de hidrocarburos.

Figura 2 Toma de muestra del lodo de la Estación de servicio



Fuente: Autores del proyecto

Se construyeron cinco (5) unidades experimentales (0,28 m de ancho x 0,31 m de largo y 0,135 m de profundidad). (Figura 3.) Mediante el acondicionamiento de uno de los lechos de secado de sedimentos extraídos del sistema de tratamiento de la estación de servicio de LA ESMERALDA.

Figura 3 Unidades experimentales (5).



Fuente: Autores del proyecto

En el ensayo 1 se utilizó la relación 40% de suelo y 60% de lodo residual, sin adicionar fuente de nutrientes y sin material inerte, en los siguientes ensayos se

manejó de forma constante el porcentaje de suelo a remediar (40%) y variamos el porcentaje de lodo con adición de material inerte, de la siguiente forma (tabla 2):

Tabla 2 Proporciones suelo-lodo-material inerte-medio mineral.

Nº de ensayo	% suelo a remediar	Peso de suelo (Kg)	% lodo residual	Peso de lodo (Kg)	% material inerte (arena lavada)	Peso de arena (Kg)	% medio mineral (Urea 46% de Nitrógeno)
1	40%	2,4	60%	3,6	0	0	0
2	40%	2,4	50%	3	10%	0,6	0
3	40%	2,4	40%	2,4	20%	1,2	0
4	40%	2,4	30%	1,8	30%	1,8	0
5	40%	2,4	20%	1,2	40%	2,4	0

Fuente: Autores del Proyecto

Las unidades fueron irrigadas diariamente con el propósito de mantener la humedad inicial. El seguimiento del proceso de remoción de hidrocarburos se hizo mediante mediciones cada 5 días de hidrocarburos totales de petróleo HTP y humedad en cada una de los ensayos, durante 30 días.

3.3. PROGRAMA DE MONITOREO

El monitoreo de las unidades, se hizo tomando una muestra integrada de cada unidad, midiendo pH, temperatura, HTP y humedad cada 5 días. Los análisis microbiológicos y fisicoquímicos se realizaron en el laboratorio SIAMA LTDA, siguiendo los procedimientos del Standard Methods (APHA, 2005). La determinación de HTP se llevó a cabo teniendo en cuenta el método extracción con solventes - gravimétrico (Soxleth)

3.3.1. Adecuación de las muestras

3.3.1.1. Secado de las muestras

El secado y determinación de humedad se realizó utilizando el método de estufa a 105°.

Figura 4 . Secado de muestras



Fuente: Autores del proyecto

3.3.1.2. Homogenización y tamizado

Después del secado se homogenizaron con mortero y se pasaron por un tamiz.

Figura 5. Tamizado de la muestra



Fuente: Autores del proyecto

3.3.1.3. Conductividad eléctrica y pH: Se midió la conductividad y el pH utilizando un multiparamétrico HACHC HQ 40

Figura 6 . Medición de conductividad y pH



Fuente: Autores del proyecto

3.3.1.4. Carbono orgánico

METODO: Digestión vía húmeda (walkley-Black)

3.3.1.5. Determinación de nitrógeno: Se utilizó el método de Kjeldhal

Figura 7 Determinación de Nitrógeno Total



Fuente: Autores del proyecto

3.3.1.6. Caracterización microbiológica

Se realizó caracterización microbiológica del lodo residual, con la cuantificación de coliformes fecales, aerobios mesófilos y pseudomona aeruginosa.

Figura 8 Proceso de siembra



Fuente: Autores del proyecto

Figura 9 Proceso de incubación



Fuente: Autores del proyecto

Figura 10 Proceso de recuento



Fuente: Autores del proyecto

3.3.1.7. Acondicionamiento nutritivo - ambiental inicial.

De forma independiente de las características del suelo a remediar se empleó material inerte (arena lavada) para la preparación de los ensayos, con el objetivo de mantener una capacidad de campo óptima para el crecimiento de los microorganismos de forma tal que se pueda obtener la siguiente relación.

C/N = 10:1

3.4. SEGUIMIENTO DEL TRATAMIENTO APLICADO

Se realizó seguimiento del proceso midiendo grasas y aceites e hidrocarburos totales de petróleo TPH (Figura 11), para lo cual las muestras fueron homogenizadas, secadas, y tamizadas a través de un tamiz de 2 mm, de donde se tomó una muestra representativa para ser analizada.

Figura 11 Determinación de HTP.



Fuente: Autores del proyecto

La tasa de biodegradación se calculó según la siguiente expresión:

$$\text{Tasa (\%)} = \frac{\text{Concentración Inicial} - \text{Concentración Final}}{\text{Concentración Inicial}} * 100$$

Tabla 3 Métodos y frecuencia de análisis

VARIABLE	METODO	FRECUENCIA
pH	Potenciómetro	cada 5 días
Temperatura	Termómetro digital	cada 5 días
Hidrocarburos totales de petróleo HTP	St. Mth. 5520 D y 5220 –F Hidrocarburos	cada 5 días
Humedad	Estufa - Gravimétrico	cada 5 días
Carbono orgánico	Digestión vía húmeda (walkley-Black)	Al inicio y al final
Nitrógeno total	Kjeldahl	Al inicio y al final
Conductividad eléctrica	Electrométrico	Al inicio y al final
Coliformes fecales	NTC 4458	Al inicio
Recuento de mesofilos	NTC 4519	Al inicio
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	NTC 5230	Al inicio

Fuente: Autores del proyecto

4. RESULTADOS

Tabla 4 Caracterización inicial del lodo, suelo y ensayos

PARAMETROS FISICOQUIMICOS Y MICROBIOLÓGICOS	MUESTRA SUELO	Ensayo 1 60% Lodo 0% inerte	Ensayo 2 50% Lodo 10% inerte	Ensayo 3 40% Lodo 20% inerte	Ensayo 4 30% Lodo 30% inerte	Ensayo 5 20% Lodo 40% inerte	LODOS RESIDUALES
Conductividad Eléctrica μS	2,38	9,21	6,60	6,90	6,11	3,50	4,21
Contenido de Carbono %	12,32	15,46	13,98	12,71	11,89	11,48	25,57
Humedad %	1,40	1,02	0,80	0,69	0,77	0,77	2,15
Hidrocarburos Totales de Petróleo %	3,71	1,92	1,72	0,98	0,83	0,65	----
Sólidos Totales %	98,6	98,98	99,30	99,31	99,23	99,23	97,85
Materia Orgánica %	13,85	10,78	8,32	7,29	5,22	3,45	
Nitrógeno Total %	0,07	1,72	1,63	1,50	1,37	1,21	
Relación C/N		8,9	8,6	8,5	8,7	9,5	
Recuento de Mesófilos UFC/g	3200						7400
Coliformes Fecales UFC/g	<10						1440
Pseudomonas	Ausente						Ausente

Fuente: Autores del proyecto

En esta serie de datos (Tabla 4.) podemos observar que la relación carbono:nitrógeno se aproxima a lo deseado que es 10:1, por lo tanto no se ajustó esta relación con la adición de urea como se programó inicialmente.

No hay presencia de Pseudomonas, que según la literatura son los microorganismos más eficientes para metabolizar hidrocarburos.

Tabla 5 Control de pH y Temperaturas

FECHA	Ensayo 1 60% Lodo 0% inerte		Ensayo 2 50% Lodo 10% inerte		Ensayo 3 40% Lodo 20% inerte		Ensayo 4 30% Lodo 30% inerte		Ensayo 5 20% Lodo 40% inerte	
	pH	Temp °C	pH	Temp °C	pH	Temp °C	pH	Temp °C	pH	Temp °C
11/01/13	6,93	24,7	7,02	23,4	7,15	23,2	7,68	23,4	7,89	24,2
16/01/13	6,95	24,3	7,01	23,6	7,13	23,0	7,67	23,7	7,82	24,1
21/01/13	6,85	23,0	7,02	23,6	7,12	23,1	7,62	23,7	7,80	24,0
26/01/13	6,89	23,6	7,08	23,5	7,15	23,2	7,63	23,5	7,82	23,8
31/01/13	6,87	23,9	7,05	23,8	7,10	23,4	7,64	23,6	7,81	23,9
05/02/13	6,86	23,7	7,02	23,3	7,12	23,2	7,63	23,3	7,81	24,1
10/02/13	6,85	23,6	7,03	23,6	7,11	23,0	7,65	23,2	7,82	24,2
15/02/13	6,89	23,5	7,02	23,4	7,12	23,2	7,64	23,4	7,80	24,1

Fuente: Autores del proyecto

No se observó una variación de temperatura y pH representativa (Tabla 5.), lo que indica o que la actividad microbiana fue muy baja o que los ensayos hay que diseñarlos mejor en cuanto a cantidad de material a tratar y en cuanto a protección de la influencia del ambiente.

Tabla 6 Control de humedad

HUMEDAD					
FECHA	Ensayo 1 60% Lodo 0% inerte	Ensayo 2 50% Lodo 10% inerte	Ensayo 3 40% Lodo 20% inerte	Ensayo 4 30% Lodo 30% inerte	Ensayo 5 20% Lodo 40% inerte
11/01/13	1,02	0,80	0,69	0,77	0,77
16/01/13	1,00	1,01	0,94	0,88	0,83
21/01/13	1,03	1,00	0,95	0,81	0,85
26/01/13	1,02	1,03	0,94	0,81	0,9
31/01/13	1,01	1,01	0,98	0,84	0,91
05/02/13	1,04	1,04	0,93	0,82	0,88
10/02/13	1,03	1,03	0,84	0,85	0,86
15/02/13	1,05	1,02	0,90	0,84	0,84

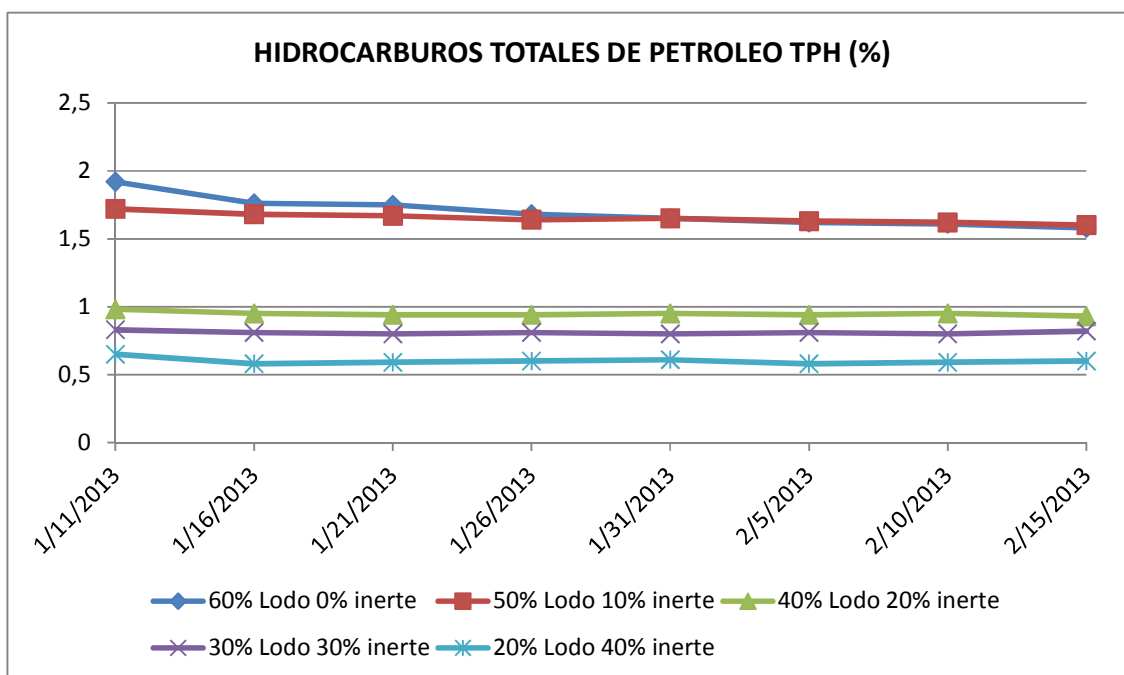
Fuente: Autores del proyecto

Tabla 7 Control de hidrocarburos totales de petróleo HTP

HIDROCARBUROS TOTALES DE PETROLEO TPH (%)					
FECHA	Ensayo 1 60% Lodo 0% inerte	Ensayo 2 50% Lodo 10% inerte	Ensayo 3 40% Lodo 20% inerte	Ensayo 4 30% Lodo 30% inerte	Ensayo 5 20% Lodo 40% inerte
11/01/13	1,92	1,72	0,98	0,83	0,65
16/01/13	1,76	1,68	0,95	0,81	0,58
21/01/13	1,75	1,67	0,94	0,80	0,59
26/01/13	1,68	1,64	0,94	0,81	0,6
31/01/13	1,65	1,65	0,95	0,80	0,61
05/02/13	1,62	1,63	0,94	0,81	0,58
10/02/13	1,61	1,62	0,95	0,80	0,59
15/02/13	1,58	1,6	0,93	0,82	0,6

Fuente: Autores del proyecto

Grafica 2 Comportamiento de los HTP.



Fuente: Autores del proyecto

En la Tabla 7. (Grafico 1.) está representado el comportamiento de los hidrocarburos totales de petróleo para cada ensayo, de lo cual se puede concluir

que el ensayo N° 1 con un contenido de lodo del 60% , es el único que presenta una tendencia de degradación de hidrocarburos (Tabla 8.), que si puede ser debida a los microorganismos presentes en el lodo, en los demás ensayos se puede afirmar que no es representativa la degradación, ya que los valores obtenidos al calcular la tasa de biodegradación (Tabla 8.) son tan bajos, que pueden ser causados por la variación de humedad de los ensayos al realizar los análisis al final del proceso (Tabla 6.).

Tabla 8 Tasa de biodegradación de HTP en porcentaje (%)

	Ensayo 1 60% Lodo	Ensayo 2 50% Lodo	Ensayo 3 40% Lodo	Ensayo 4 30% Lodo	Ensayo 5 20% Lodo
% HTP inicial	1,92	1,72	0,98	0,83	0,61
%HTP final	1,58	1,6	0,93	0,82	0,6
% biodegradación	17,7	6,97	5,1	1,2	1,6

Fuente: Autores del proyecto

$$\text{Tasa de biodegradación (\%)} = \frac{\text{Concentración Inicial} - \text{Concentración Final}}{\text{Concentración Inicial}} * 100$$

Tabla 9 Caracterización final del lodo, suelo y ensayos

PARAMETROS FISICOQUIMICOS Y MICROBIOLOGICOS	Ensayo 1 60% Lodo 0% inerte	Ensayo 2 50% Lodo 10% inerte	Ensayo 3 40% Lodo 20% inerte	Ensayo 4 30% Lodo 30% inerte	Ensayo 5 20% Lodo 40% inerte
Contenido de Carbono %	13,25	12,46	11,82	10,99	10,88
Humedad %	1,05	1,02	0,90	0,84	0,84
Nitrógeno Total %	1,54	1,50	1,45	1,32	1,18
Relación C/N	8,6	8,3	8,15	8,32	9,22

Fuente: Autores del proyecto

Aunque se observa una pequeña disminución del carbono orgánico en los análisis finales (Tabla 9.), la relación C/N se mantuvo casi igual desde el principio al final de cada ensayo, evidencia de que la degradación de hidrocarburos no fue significativa.

Los niveles de humedad aunque se trataron de mantener constantes, hubo un pequeño incremento al final del ensayo, lo que repercute en los resultados obtenidos al medir TPH, aportando una leve disminución.

5. DISCUSION

- Hay una tendencia de disminución del contenido de hidrocarburos en el ensayo 1 donde el contenido de lodos es del 60%, en los otros ensayos solo se hace perceptible el efecto de la dilución.
- El efecto inicial importante en un proceso de biorecuperación es la dilución con el material utilizado para la recuperación y con el material inerte.
- Muy posiblemente si los lodos procedieran de PTAR que contengan hidrocarburos, los resultados serían más relevantes, ya que los microorganismos estarían adaptados a estas sustancias.
- Está probado que la contaminación de suelos por productos de la industria petrolera, pueden ser tratados y recuperados ecológicamente con la biorremediación, basada en la estimulación de los microorganismos del mismo suelo o adicionados.
- La biorremediación de suelos es ambiental y económicamente viable, cuando se realizan procesos "*in situ*" que no impliquen utilización de materiales costosos y que los tiempos de tratamiento sean relativamente cortos.
- En los procesos de bioremediación es indispensable establecer una línea base fisicoquímica y microbiológica, para poder evaluar los avances y los resultados obtenidos.

6. RECOMENDACIONES

- Se debe hacer el experimento con lodos procedentes de PTAR de diferentes actividades industriales, buscando un pool de microorganismos nativos que tengan afinidad por contaminantes hidrocarbonados
- Mejorar los niveles de humedad de los ensayos, la humedad es determinante en la actividad de los microorganismos.
- Hacer los ensayos con cantidades mayores de material, debido a que estos se enfrían por el solo efecto de la temperatura ambiente y estos procesos dependen de la temperatura. La otra opción es proteger los ensayos de corrientes de aire.

BIBLIOGRAFIA

FERRERA CERRATO, Ronald, ROJAS AVELIZAPA, Norma G; POGGI-VARALDO Héctor M; ALARCON, Alejandro; CAÑOZARES VILLANUEVA, ROSA OLIVIA. 2006. Procesos de Biorremediación de suelo y agua contaminados por hidrocarburos del petróleo y otros compuestos orgánicos. Revista Latinoamericana de Microbiología. Volumen 48, Abril – Junio. 2006, Pagina 179 – 187.

GARCIA, E., ROLDÁN, F., GARZÓN, L. 2011. Evaluación de la Bioestimulación (Nutrientes) en suelos Contaminados con Hidrocarburos utilizando Respirimetría. Acta biol.Colomb., Vol. 16 N.1, 195-208.

GOMEZ. S., GUTIERREZ, D., HERNANDEZ, A., HERNANDEZ, C., LOSADA, M., y MANTILLA, P. 2008. Factores bióticos y abióticos que condicionan la biorremediación por *Pseudomonas* en suelos contaminados por hidrocarburos. Bacteriología y Laboratorio Clínico de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Bogotá. Colombia.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACION Y CERTIFICACION., Microbiología de alimentos para consumo humano y animal. Método horizontal para el recuento de microorganismos. Técnica de recuento de colonias a 30°C. NTC 4519:2009. Bogotá D.C.: El Instituto, 2009. 38 p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACION Y CERTIFICACION., productos para la industria agrícola, productos orgánicos usados como abonos o fertilizantes y enmiendas de suelo. NTC 5167:2004. Bogotá D.C: El Instituto, 2004. 32 p.

LLADÓ FERNÁNDEZ, Salvador. Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos pesados y caracterización de comunidades microbianas implicadas. Tesis Doctoral. Barcelona. Facultad de Biología, Departamento de microbiología. 2012. 274 p.

MECKENSTONCK, R.U., Mouttaki, H. 2011. Anaerobic degradation of non-substituted aromatic hydrocarbons. En:Curr. Opin. Biotechnol, 22(3), 406-14.

PULGARIN, Maria. Evaluacion de la fitorremediacion como alternativa de tratamiento de sedimentos contaminados con hidrocarburos procedentes de las estaciones de servicio de Risaralda. Trabajo de Pregrado. Pereira, Colombia, Facultad de Ciencias Ambientales. 2012. 66 p.

RIOS, R. 2005. Estudio de la estimulación biológica para el tratamiento de residuos de perforación petrolera empleando lisímetros. Universidad autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. Casa abierta al Tiempo. México D.F.

RODRIGUEZ GALLEGO, José Luis y SANCHEZ Martin, 2003. Biorremediación. Artículo: Fundamentos y Aspectos Microbiológicos. ISSN 1137-8042, N°. 351, 2003, págs. 12-16.

TORRES DELGADO, Katerine Y ZULUAGA MONTOYA, Tatiana. Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos. Trabajo de grado Ingeniera Química. Medellín. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Minas, Departamento de Ingeniería Química. 2009. 92 p.

TOSSE, LUNA, Oscar. Dirección de ecosistemas. Legislación ambiental relacionada con contaminación del recurso suelo en Colombia. Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial. 2003. Bogotá.

TSAI, J.C., Kumar, M., Lin, J.G.. Anaerobic biotransformation of fluorence and phenanthrene by sulfate-reducing bacteria and identification of biotransformation pathway. En: J. Hazard. Mater. 2009. 164(2-3). 847-55.

VIÑAS CANALS, Marc. Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos: caracterización microbiológica, química y ecotoxicológica. Tesis Doctoral. Barcelona. Facultad de Biología, departamento de Biología.2005. 352 p.