



**FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES
ESCUELA DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

**“EFECTO DE LA APLICACIÓN DE LODOS DE UNA PLANTA DE
TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN EL PROCESO DE
BIORREMEDIACIÓN DE UN SUELO CONTAMINADO POR
COMBUSTIBLE DIÉSEL”**

Tesis para optar al Título Profesional de:

Ingeniero Ambiental

Presentado por:

Jorge David Villena Vergara

LIMA - PERÚ

2019



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Lima, 19 de agosto de 2019

Los integrantes del Jurado de tesis:

Presidente: Dra. Rosa Elena Yaya Beas
Integrante: Ing. Guillermo Israel León Suematsu
Integrante: Ing. Rafael Antonio René Ponce Vargas

Se reúnen para evaluar la tesis titulada:

Efecto de la aplicación de lodos residuales provenientes de una Planta de Tratamiento de Aguas Residuales en el proceso de biorremediación de un suelo contaminado por combustible diésel

Presentada por el bachiller:

- **Jorge David Villena Vergara**

Para optar el Título Profesional de **Ingeniero Ambiental**

Asesorado por:

- **Ing. Percy Andrés Iribarren Ibáñez**

Luego de haber evaluado el informe final de tesis y evaluado el desempeño de los estudiantes en la sustentación, concluyen de manera unánime (X) por mayoría simple () calificar a:

Integrante 1: Jorge David Villena Vergara		Nota (escrito): DIECIOCHO	
Aprobado ()	Aprobado - Muy buena (X)	Aprobado - Sobresaliente ()	Desaprobado ()

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.


Presidente del Jurado


Miembro del Jurado


Miembro del Jurado


Asesor

Dedicatoria

A mis abuelos Jorge y Juan, dos grandes ejemplos de profesionales y de personas, que tuve la suerte de tener. Un beso al cielo.

Agradecimientos

A mis padres y mis hermanas, por todo su amor y constante apoyo a lo largo de toda mi vida.

A mi abuela Susana y mi tía Ceci, por su amor y por siempre respaldarme cuando más lo necesito.

A mi tía, la Dra. Gretty Villena, por todo su apoyo en la parte microbiológica de mi tesis.

A la Ing. Rosa Miglio, por su apoyo en la instalación del ensayo de laboratorio.

A mi asesor Percy Iribarren, por su guía y apoyo en el desarrollo de mi tesis.

A mis jurados, en especial al Ing. Rafael Ponce, por sus valiosas recomendaciones para el desarrollo de mi tesis.

A Gabriela, por ayudarme a perseverar y siempre darme ese empuje extra que necesito.

INDICE GENERAL

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
II. MARCO TEÓRICO	15
1. Suelo	15
1.1. Composición y propiedades	15
1.2. Calidad de suelos	16
2. Hidrocarburos de Petróleo	17
2.1. Composición y clasificación	17
2.3. Métodos de análisis	21
2.4. Impacto en el ambiente y la salud	22
3. Biorremediación de suelos	25
3.1. Biorremediación de hidrocarburos	27
3.2. Factores condicionantes	28
4. Lodos	35
4.1. Características de los lodos	37
4.2. Tratamiento de lodos	37
4.3. Reutilización de lodos en biorremediación	38
4.4. Antecedentes del uso de lodos en biorremediación	40
III. OJETIVOS E HIPOTESIS	44
1. Objetivos	44
1.1. Objetivo General	44
1.2. Objetivos Específicos	44
2. Hipótesis	44
IV. METODOLOGÍA	45
1. Diseño Experimental	45
2. Preparación del ensayo	46
2.1. Recolección y análisis de suelo y lodo	46
2.2. Contaminación artificial del suelo	47
2.3. Preparación e instalación de los tratamientos	49
2.4. Puesta en marcha del ensayo y parámetros analizados	49
2.5. Análisis físico-químicos realizados	51

2.6.	Análisis microbiológicos realizados	53
2.7.	Análisis estadístico.....	55
2.8.	Materiales, equipos e infraestructura	56
V.	RESULTADOS	57
1.	Resultados de los análisis previos.....	57
1.1.	Caracterización del suelo.....	57
1.2.	Análisis de lodo	58
2.	Resultados del ensayo.....	59
2.1.	Potencial hidrógeno (pH)	59
2.2.	Conductividad eléctrica	60
2.3.	Temperatura y humedad	62
2.4.	Relación Carbono - Nitrógeno	62
2.5.	Hidrocarburos de petróleo.....	63
2.6.	Microorganismos heterótrofos mesófilos	66
3.	Resultados del análisis estadístico.....	69
VI.	DISCUSIÓN.....	72
VII.	CONCLUSIONES.....	76
VIII.	RECOMENDACIONES	78
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	80
X.	ABREVIATURAS	89
XI.	ANEXOS.....	90

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Clasificación de hidrocarburos	¡Error! Marcador no definido.
Figura 2: Estructuras de los principales hidrocarburos	¡Error! Marcador no definido.
Figura 3 Tipos de bacterias	¡Error! Marcador no definido.
Figura 4: Degradación microbiana	¡Error! Marcador no definido.
Figura 5: Diagrama del tratamiento de aguas residuales	¡Error! Marcador no definido.
Figura 6: Diseño Experimental	¡Error! Marcador no definido.
Figura 7: Proceso de tratamiento de la PTAR “Santa Clara”	¡Error! Marcador no definido.
Figura 8: Especificaciones técnicas de la centrifuga de lodos	¡Error! Marcador no definido.
Figura 9: Contaminación artificial del suelo	¡Error! Marcador no definido.
Figura 10: Bacillus Sp. identificados en la muestra de suelo	¡Error! Marcador no definido.
Figura 11: Bacillus Sp. identificados en la muestra de lodos	¡Error! Marcador no definido.
Figura 12: Bacillus Sp. identificados en el control (C)	¡Error! Marcador no definido.
Figura 13: Bacillus Sp. identificados en el tratamiento 1 (T1)	¡Error! Marcador no definido.
Figura 14: Bacillus Sp. identificados en el tratamiento 2 (T2)	¡Error! Marcador no definido.

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Fracciones del hidrocarburos	20
Tabla 2: Proporciones suelo-lodo de las muestras	49
Tabla 3: Parámetros del ensayo	50
Tabla 4: Composición del Agar para Conteo en Placa.....	54
Tabla 5: Composición del Agar para cultivo selectivo.....	55
Tabla 6: Relación de materiales, equipos e infraestructura	56
Tabla 7: Análisis de caracterización del suelo	57
Tabla 8: Análisis físico-químico del lodo.....	58
Tabla 9: Valores de pH.....	60
Tabla 10: Valores de conductividad eléctrica.....	61
Tabla 11: Valores de la relación Carbono-Nitrógeno.....	62
Tabla 12: Concentraciones de Hidrocarburos Totales de Petróleo Fracción 2 (C ₁₀ – C ₂₈).....	64
Tabla 13: Comparación de resultados con el ECA Suelo.....	64
Tabla 14: Biorremediación de Hidrocarburos Totales de Petróleo Fracción 2 (C ₁₀ – C ₂₈).....	66
Tabla 15: Número de bacterias en el tiempo.....	67

Tabla 16: Análisis de Varianza (ANOVA) de la biorremediación de hidrocarburos ...	70
Tabla 17: Resumen de la prueba de Tukey (HSD) para la biorremediación de hidrocarburos.....	70
Tabla 18: Análisis de Varianza (ANOVA) del número de bacterias heterótrofas	71
Tabla 19: Resumen de la prueba de Tukey (HSD) para el número de bacterias heterótrofas	72

INDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo - Decreto Supremo N° 011-2017-MINAM	90
ANEXO 2: Informes de laboratorio de la caracterización del suelo	92
ANEXO 3: Informes de laboratorio de los análisis de hidrocarburos.....	94
ANEXO 4: Informes de laboratorio de los análisis de carbono y nitrógeno.....	104
ANEXO 5: Registro fotográfico	109

RESUMEN

La contaminación de suelos con hidrocarburos es un impacto ambiental de extensión mundial. En el Perú, este problema se presenta en zonas de alto riesgo por su proximidad a la población y a su amenaza al ambiente y la biodiversidad. Por otra parte, los lodos generados en las plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas (PTARD) representan un punto crítico de la gestión de residuos que aún no ha sido abordado con efectividad. La presente investigación buscó determinar el efecto de la adición de lodos de PTARD para estimular la actividad microbiana en un proceso de biorremediación aerobia de suelo contaminado con hidrocarburos de petróleo. Se realizaron 02 tratamientos (T1 y T2) y un control (C), todos con una concentración de diésel de alrededor de 10 000 mg/kg. Los tratamientos T1 y T2 se mezclaron con lodo a 25% y 50% respectivamente, mientras que el control C se mantuvo solo con suelo contaminado. Los resultados mostraron una mayor actividad microbiana en las muestras con lodos, además de una mayor biorremediación del diésel en el tratamiento T1. De esta forma se demostró que la adición de lodos influyó en la estimulación de la degradación microbiana del contaminante, favoreciendo la remediación del suelo. Asimismo, todas las muestras alcanzaron los niveles de los estándares de calidad ambiental para suelo (ECA Suelo) para uso de suelo comercial/ industrial/ extractivo; y además para uso de suelo residencial/parques, y agrícola en los tratamientos T1 y T2.

Palabras clave: biorremediación, suelos, hidrocarburos, lodos

ABSTRACT

Soil contamination with hydrocarbons has a worldwide environmental impact. In Peru, this problem occurs areas considered high risk due to its proximity to the population and its threat to the environment and biodiversity. On the other hand, sludge generated on Domestic Wastewater Treatment Plants (DWTP) represents a critical waste management aspect that has not been yet effectively addressed. The objective of this study was to determine the effect of the addition of DWTP sludge to stimulate the microbial activity in an aerobic bioremediation process of soil contaminated with petroleum hydrocarbons. There were 02 treatments (T1 and T2) and one control (C), all with a diesel contamination around 10 000 mg/kg. Treatments T1 and T2 were mixed with sludge at 25% and 50% respectively, while control C was not, maintained only with contaminated soil. The results showed a higher microbial activity in the samples with sludge, in addition to a greater bioremediation of the diesel in the T1 treatment. In this way it was demonstrated that the addition of sludge influenced the stimulation of the microbial degradation of the pollutant, enhancing the remediation of the soil. Likewise, all the samples reached the levels of the Environmental Quality Standards for soil for commercial / industrial / extractive land use, and for residential / parks, and agricultural land use for T1 and T2.

Key words: bioremediation, soil, hydrocarbons, sludge

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La calidad ambiental es uno de los aspectos principales en el funcionamiento de los ecosistemas. En este sentido, el suelo tiene una influencia significativa sobre su entorno, por lo que, al verse afectado, podría poner en peligro ecosistemas enteros, afectando sus procesos biológicos, su estructura y sus componentes. La función ecológica del suelo es reconocida como una de las más vulnerables, por lo que exige requisitos estrictos en cuanto a la presencia de contaminantes químicos en suelo (Van Straalen, 2002). Algunos de estos contaminantes son el petróleo y sus derivados. Debido al actual gran uso de productos a base de petróleo (por ejemplo: gasolina, kerosene, aceites y asfalto), la contaminación ambiental se ha extendido (ATSDR, 1999).

La contaminación de suelos con hidrocarburos puede ser causada por fugas en tanques subterráneos, refinerías de petróleo, instalaciones de almacenamiento y por derrames accidentales en unidades productivas y tuberías de transporte. (Haghollahi et al. 2016). En el Perú la actividad hidrocarburífera se extiende a lo largo de todo el territorio, siendo la selva la región con mayor incidencia. Los derrames de petróleo han ocasionado impactos ambientales significativos sobre la Amazonía peruana. En los últimos 7 años se han atendido más de 20 emergencias ambientales debido a derrames de petróleo (OEFA, 2018). Asimismo, se dan derrames de combustibles derivados del petróleo utilizados en actividades industriales o comerciales. Estos eventos ocasionan problemas sanitarios a las comunidades aledañas, relacionados al deterioro de la calidad del agua para

consumo humano (DIGESA 2017). Asimismo, se genera una amenaza a los ecosistemas debido a la contaminación de suelos y la destrucción de hábitats. En el año 2013 se aprobaron los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para suelo, donde se incluyeron parámetros para distintos tipos de hidrocarburos, siendo actualizados hasta la versión vigente aprobada en 2017 (D.S. 011-2017-MINAM), junto con los Criterios para la Gestión de Sitios Contaminados (D.S. 012-2017-MINAM).

Es en este sentido que, al igual que las acciones de prevención y los instrumentos de gestión, la aplicación de métodos eficientes de remediación para los suelos contaminados resulta muy necesaria. La biorremediación es una técnica en la cual se utilizan microorganismos para eliminar contaminantes gracias a su potencial para degradar estas sustancias y transformarlas en productos inocuos como el agua o el dióxido de carbono (Solanas, 2009). Esta se sugiere como un método rentable y amigable con el ambiente para la limpieza de suelos contaminados (Haghollahi et al. 2016), siendo adecuada para el tratamiento de varios químicos orgánicos incluyendo hidrocarburos de petróleo (EPA 2005). Para desarrollar la biorremediación de un suelo contaminado por hidrocarburos se debe tener en cuenta aspectos clave como: la naturaleza y cantidad de hidrocarburos presentes; las condiciones propias de la zona contaminada; y la actividad microbiana presente en el suelo (Das & Chandran 2011, Haghollahi et al. 2016, Suja et al. 2014).

Algunos compuestos del petróleo son capaces de adherirse a partículas en el suelo y permanecer en él durante mucho tiempo, mientras que otros pueden ser

degradados por actividad microbiana (Plice, 1948). Los hidrocarburos de petróleo ligeros como la gasolina, el kerosene y el diésel contienen partes volátiles, y además son fácilmente biodegradables, por lo que pueden ser removidos en cortos periodos de tiempo (Macaulay, 2014). Condiciones ambientales como la temperatura, humedad, intensidad del viento e radiación solar, tienen influencia sobre este proceso. Asimismo, en lo referido al suelo, el contenido de humedad, la población microbiana presente, la disponibilidad de nutrientes, la salinidad, el transporte de oxígeno y el tipo de suelo son factores que afectan el proceso de biorremediación (Haghollahi et al. 2016). Para lograr una biorremediación eficiente, deben existir condiciones favorables para la acción metabólica de los microorganismos sobre los hidrocarburos.

Los lodos de plantas de tratamiento de aguas se forman durante los tratamientos mecánicos, biológicos y químicos del agua residual (Kosobucki et al. 2000). Es necesario asegurar un manejo adecuado de estos lodos mediante técnicas que promuevan su reutilización, evitando su disposición en cuerpos receptores. En este sentido, en los últimos años se ha incrementado el interés en el desarrollo de su aplicación para otros procesos como la biorremediación, debido a su gran generación y disponibilidad (Cárdenas et al. 2010). La adición de estos es potencialmente un medio conveniente de rehabilitación, ya que su alto contenido de nutrientes y materia orgánica ejercen un efecto positivo en muchas características del suelo (Ros et al. 2013). Los lodos provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales pueden ser utilizados como una fuente alternativa de nutrientes para estimular la actividad de los microorganismos, y así lograr una

mayor degradación de los hidrocarburos del suelo. Asimismo, estos lodos contienen una alta carga bacteriana que podría favorecer a la degradación de contaminantes.

II. MARCO TEÓRICO

1. Suelo

1.1. Composición y propiedades

Entre los componentes abióticos de los ecosistemas se encuentra el suelo, el cual es una mezcla de elementos como minerales, materia orgánica, agua y aire, siendo capaz de sostener el desarrollo vegetal (Brady & Weil, 2002). Se define también como un material no consolidado de componentes orgánicos y minerales, el cual sirve como medio para el crecimiento de seres vivos (SSSA, 2016). Su formación involucra cambios físicos-químicos y biológicos, promovidos por factores climáticos y ambientales dentro de un proceso complejo (García et al. 2012).

Las propiedades del suelo se encuentran estrechamente relacionadas, interactuando entre sí para definir las características de cada tipo de suelo, de modo que resulta difícil afirmar que una o algunas propiedades dominen el comportamiento del suelo (McCauley et al. 2005). El suelo está compuesto básicamente de minerales, materia orgánica, agua y aire. La composición y proporciones de estos componentes tienen una gran influencia en propiedades como la textura, estructura y porosidad, las cuales afectan la

transferencia de aire y agua en el suelo y por ende su capacidad de funcionamiento (McCauley et al. 2005). Las propiedades biológicas están relacionadas a propiedades físicas como la agregación, así como a propiedades químicas como el pH, la capacidad de intercambio iónico y la presencia de nutrientes y otros elementos (García et al. 2012). Por otra parte, entre el 80 y 90% de las reacciones del suelo tienen como intermediaria a la microbiota, influyendo principalmente en la degradación de materia orgánica, generación de CO₂, ciclos bioquímicos de los elementos, entre otras (García et al. 2012).

El suelo es la base del desarrollo vegetal, siendo de gran importancia para actividades como la agricultura, y, por ende, para el desarrollo de la humanidad. Es así que resulta crucial mantenerlo en condiciones favorables. La fertilidad del suelo depende de una serie de factores fisicoquímicos, biológicos y bioquímicos, siendo necesario estudiar todos estos al evaluar el estado del suelo y su recuperación (Ros et al. 2003).

1.2. Calidad de suelos

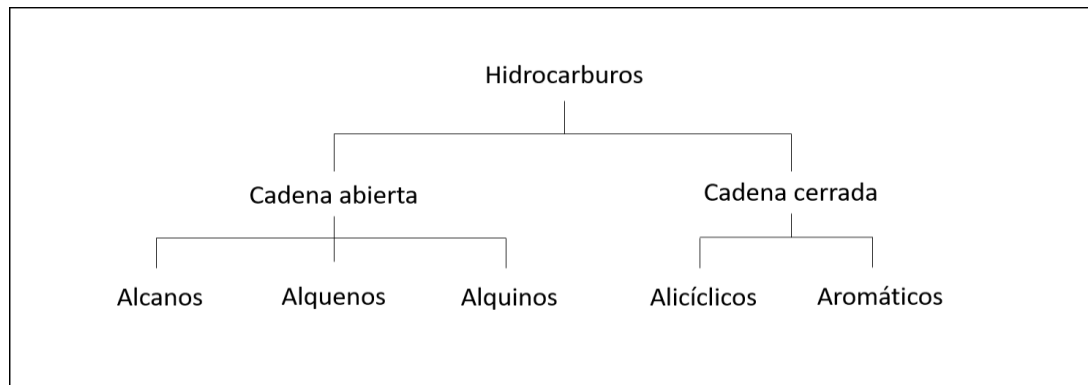
El suelo tiene una gran influencia en los demás componentes de un ecosistema, representando el soporte del mismo, es por esto que su calidad resulta particularmente importante. La calidad del suelo se define como su capacidad para sostener el desarrollo biológico de un ecosistema, manteniendo la calidad ambiental y la salud vegetal y animal (SSSA, 2016). Esta puede verse alterada por medio de la contaminación con sustancias

químicas. Entre los principales contaminantes del suelo se encuentran los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHs por sus siglas en inglés); el petróleo y sus derivados; los pesticidas; los clorofenoles; y los metales pesados (Chen et al. 2015). Debido a su capacidad depuradora, el suelo es capaz de asimilar cierta cantidad de contaminantes. La resistencia y calidad del suelo están relacionadas con respecto al cambio en el funcionamiento del suelo como resultado de una alteración. De esta forma la magnitud de decaimiento del funcionamiento del suelo definirá su grado de resistencia (Larney et al. 2016). Es necesario contar con variables que puedan servir para evaluar la condición del suelo, las cuales se traducen en indicadores que ofrecen información medible sobre sus propiedades, procesos y características (García et al. 2012). El suelo necesitará de la intervención humana para restaurarse cuando su resistencia se vea superada. Existen distintos métodos y tecnologías adecuadas para gestionar cada situación, y reducir o mitigar impactos en su calidad.

2. Hidrocarburos de Petróleo

2.1. Composición y clasificación

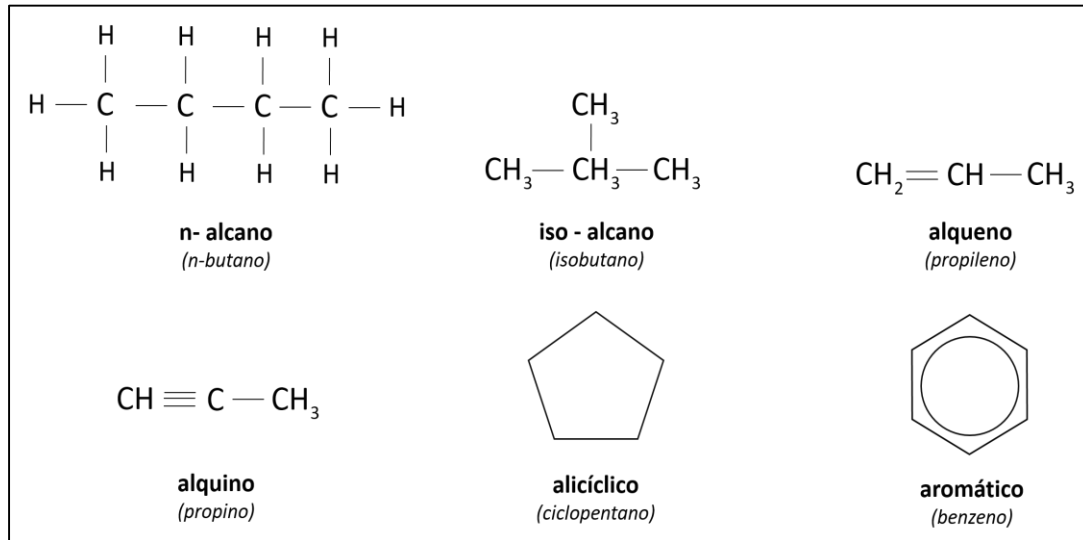
Los hidrocarburos están constituidos principalmente por carbono e hidrógeno y forman el mayor grupo de los compuestos orgánicos. Estos se dividen según su estructura en dos grupos principales: hidrocarburos de cadena abierta e hidrocarburos de cadena cerrada.



Fuente: Riazi, 2005

Figura 1: Clasificación de hidrocarburos

Los hidrocarburos de cadena abierta (también llamados alifáticos) se clasifican a su vez en alcanos, alquenos y alquinos. Los alcanos son hidrocarburos saturados de enlace simple, que a su vez pueden ser n-alcanos (estructura lineal) o iso alcanos (estructura ramificada) (Riazi, 2005). Los alquenos son insaturados con al menos un enlace doble en su estructura, mientras que los alquinos son también insaturados, pero con al menos un enlace triple en su estructura. Por otra parte, dentro de los hidrocarburos de cadena cerrada (también llamados cíclicos) se encuentran los alicíclicos, que son hidrocarburos alifáticos con estructura cíclica. Los hidrocarburos aromáticos son hidrocarburos cíclicos insaturados con dobles enlaces conjugados y una distribución alternada de sus electrones. Según el número de anillos que contengan estos pueden ser monoaromáticos, o poliaromáticos (Riazi, 2005), siendo estos últimos los conocidos como Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos.



Fuente: Riazi, 2005

Figura 2: Estructuras de los principales hidrocarburos

Debido a las grandes aplicaciones comerciales que tienen los hidrocarburos, es necesario conocer sus principales propiedades y características. Estas se pueden clasificar según su relación con la temperatura en dependientes e independientes (Riazi, 2005). Dentro de las independientes se encuentran el punto de ebullición, peso molecular, inflamabilidad, entre otras; mientras que en las dependientes tenemos la densidad, viscosidad, presión de vapor, y poder calorífico (Riazi, 2005). Debido a la gran diversidad de hidrocarburos, estos se pueden encontrar en distintos estados y con diferentes características de acuerdo a su composición y estructura.

2.2. Derivados de petróleo: Diésel

El petróleo es una mezcla compleja de hidrocarburos y otros compuestos orgánicos (Van Hamme et al. 2003). Su complejidad y la de sus derivados incrementa según el número de carbonos presentes en su estructura. El principal proceso en la producción de productos a base del petróleo es la destilación fraccionada, la cual se basa en la separación de distintos grupos de componentes del petróleo de acuerdo a sus puntos de ebullición. De este proceso se obtienen las fracciones de petróleo o fracciones de hidrocarburos, clasificadas de acuerdo al número de carbonos en su composición. A estas fracciones se les atribuye diferentes características y aplicaciones, generándose así los productos derivados del petróleo.

Tabla 1: Fracciones del hidrocarburos

Fracción	Rango aproximado (número de carbonos)	Punto de ebullición (°C)
Gases ligeros	$C_2 - C_4$	-90 a 1
Gasolina	$C_4 - C_{10}$	-1 a 200
Naftas	$C_4 - C_{11}$	-1 a 205
Combustible de avión	$C_9 - C_{14}$	150 - 255
Kerosene	$C_{11} - C_{14}$	205 - 255
Diésel	$C_{11} - C_{28}$	205 - 425
Ceras	$C_{18} - C_{36}$	315 - 500
Aceites lubricantes	$> C_{25}$	> 400
Vacuum Gas Oil (VGO)	$C_{28} - C_{55}$	425 - 600
Asfaltos	$> C_{55}$	> 600

Fuente: Riazi, 2005; EPA, 2007.

Dentro de estos se encuentran la gasolina y el diésel, siendo este último una mezcla más compleja de hidrocarburos producidos al mezclar fracciones

obtenidas de la destilación del crudo de petróleo. El diésel está compuesto por cuatro clases estructurales principales de hidrocarburos: n-alcanos, isoalcanos, ciclo-alcanos, y aromáticos (Marchal et al. 2003). Su composición varía según el lugar de procedencia del crudo del que se obtiene, pero se puede considerar como hidrocarburos de las fracciones $C_{11} - C_{28}$, principalmente alcanos con un 25 % de compuestos aromáticos (Riazi, 2005; EPA, 2007; HPA, 2007). Las principales características del diésel son su inflamabilidad, volatilidad, viscosidad, resistencia al frío, y poder calorífico (Riazi, 2005). Esta última se estima en lo ha llevado a ser, junto con la gasolina, uno de los combustibles comerciales más utilizados. Otra característica a tener en cuenta es su contenido de azufre, ya que puede generar emisiones nocivas debido a la volatilidad y combustión del producto.

2.3. Métodos de análisis

Debido a la gran cantidad de compuestos presentes en el petróleo, no resulta práctico medirlos cada uno por separado. Debido a esto se han desarrollado distintos métodos para analizar los hidrocarburos. Hidrocarburos totales de petróleo (TPH por sus siglas en inglés) es un término usado para describir una amplia familia de varios miles de compuestos químicos que originalmente provienen del crudo de petróleo (ATSDR, 1999). TPH es un adecuado indicador de riesgo para estudiar la contaminación de productos de petróleo medianos y pesados en el ambiente (Pinedo et al. 2013). El uso de concentraciones de TPH para establecer niveles esperados de

remediación de suelo o agua, es un enfoque comúnmente implementado por agencias regulatorias en los Estados Unidos (TPHCWG, 1998).

Uno de los métodos más básicos y utilizados para este enfoque es el del Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group (TPHCWG) el cual ha servido de punto de referencia en el desarrollo de métodos de fraccionamiento de TPH en Canadá y el Reino Unido (Park y Park, 2010). Existen también métodos que se basan en las ya mencionadas fracciones de hidrocarburos, logrando un análisis más específico de estos. Un método analítico comúnmente usado para la determinación de TPH en suelo es el EPA 8015 (ATSDR, 1999), el cual se basa en la cromatografía de gases para establecer concentraciones de una variedad de compuestos orgánicos e hidrocarburos de petróleo. Dentro de este método se encuentra el *Diesel Range Organics* (DRO), análisis usado para determinar alcanos dentro del rango $C_{10} - C_{28}$, siendo así óptimo para el análisis del Diésel (EPA 2007). Asimismo, los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo utilizan este rango de hidrocarburos de petróleo, definiéndolo como Fracción de hidrocarburos F2 o fracción media.

2.4. Impacto en el ambiente y la salud

La contaminación del ambiente con hidrocarburos es un problema extendido a nivel mundial y que ocurre con mucha frecuencia y relativa facilidad debido principalmente a derrames accidentales, pero también atribuido a la actividad

de la industria petrolera. Si no se gestiona adecuadamente la contaminación por hidrocarburos puede persistir en el ambiente a lo largo del tiempo.

En lo referido a contaminación del suelo, los hidrocarburos tienden a acumularse en los poros de este, lo que genera reducción de oxígeno y permeabilidad (Morgan y Watkinson, 1989). Esto impide el intercambio gaseoso con la atmósfera, dando pie a procesos fisicoquímicos que podrían ocasionar toxicidad, dependiendo del tipo de hidrocarburo, la cantidad de este en el suelo y otras propiedades como textura del suelo, temperatura y humedad (Benavides et al. 2006). Simultáneamente a las propiedades físicas y químicas del suelo, suceden cambios en las condiciones de fertilidad (Plice, 1948). Esto puede generar problemas en el crecimiento de las plantas, así como en la actividad microbiana del suelo, reduciendo la biodiversidad de microorganismos debido a excesivas concentraciones de este contaminante. La contaminación del suelo lleva a su vez a la contaminación de otros elementos del ecosistema como el agua y el aire.

El petróleo puede generar efectos físico-químicos perjudiciales en el agua debido principalmente a su insolubilidad, viscosidad, composición química y resistencia. En los cuerpos de agua, los derrames generan películas superficiales que impiden el paso de la luz, afectando así a uno proceso vital como es la fotosíntesis. En los ecosistemas marinos, se producen impactos variados y complejos como la narcosis, el deterioro de las capacidades

reproductivas, y en algunos casos la muerte de diferentes comunidades de seres vivos (Saadoun 2015).

La contaminación de aire ocurre debido a emisiones provenientes de los procesos productivos, la volatilización y la combustión del petróleo. Estas emisiones liberan contaminantes como los compuestos BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno, xileno), el material particulado, gases de efecto invernadero y los Compuestos Orgánicos Volátiles (COV) (HSRC 2003; Ragothaman et al. 2017).

Las vías humanas de exposición a hidrocarburos son la absorción a través del contacto con la piel; la ingesta a través de agua o alimentos; y la inhalación de emisiones o materiales particulados (ATSDR, 1999; Greenpeace, 2012). Los efectos de la exposición a hidrocarburos de petróleo sobre la salud humana dependen de muchos factores, incluyendo la composición y cantidad del contaminante, y la duración de la exposición (ATSDR, 1999). Estos son generalmente puntuales y de corta duración cuando se trata de una exposición aguda, sin embargo, a exposiciones prolongadas se pueden producir impactos mayores. Se conocen efectos sobre la sangre, la gestación, el sistema inmunológico, el sistema respiratorio, y el sistema nervioso central. Asimismo, algunos compuestos como el benceno han demostrado ser cancerígenos.

3. Biorremediación de suelos

La biorremediación es el uso de microorganismos o procesos microbianos para degradar contaminantes ambientales (Boopathy, 2000), incrementando los niveles naturales de degradación a niveles significativamente más altos (Atlas, 1995). La biorremediación de sitios contaminados recae en la inmensa capacidad metabólica de los microorganismos para transformar contaminantes en compuestos inofensivos o menos peligrosos. Debido a esto, y a su capacidad de adaptación a ambientes hostiles, los microorganismos son actores clave en la remediación de sitios contaminados (Fantroussi y Agathos 2005).

La biorremediación puede aplicarse de forma *in situ* (en la zona contaminada) o *ex situ* (fuera de la zona contaminada), dependiendo de las circunstancias de cada caso. Existen distintas estrategias de biorremediación de suelos, siendo algunas de las menos costosas: bioestimulación, bioaugmentación, bioventeo, landfarming, compostaje, y fitorremediación (Bento et al. 2005). Dos de las más utilizadas últimamente son la bioaumentación y la bioestimulación, ambas buscan incrementar la población microbiana del medio para acelerar el proceso de degradación de contaminantes (Suja et al. 2014). La bioaumentación es definida como una técnica de biorremediación que busca mejorar la capacidad de una esfera ambiental para remover contaminación, a través de la introducción de cepas o consorcios de microorganismos específicos y competentes para tal fin (Fantroussi y Agathos 2005). Comúnmente este concepto se entiende como la inoculación de bacterias de rápida degradación de contaminantes para incrementar la efectividad del proceso de

biorremediación (Szulc et al 2014). Por otra parte, la bioestimulación estimula la capacidad degradadora de las comunidades microbianas autóctonas del lugar, mediante la adición de nutrientes para evitar limitaciones metabólicas (Wu et al. 2016). Es común que en muchas experiencias de biorremediación se utilicen estas dos técnicas en conjunto.

La biorremediación es uno de los métodos de descontaminación más económicos y seguros, ya que ocasiona una mínima afectación del terreno, y que ofrece un tiempo de remediación aceptable (Suja et al. 2014). Gracias a su dependencia en la actividad microbiana, la biorremediación será más o menos efectiva para distintos tipos de contaminante. Los contaminantes más frecuentes en suelo son los metales pesados y los hidrocarburos. Los metales pesados son elementos susceptibles de formar complejos como iones libres y ocasionar reacciones potencialmente tóxicas (Beltrán-Pineda et al. 2016). No obstante, muchos de estos son esenciales para procesos bioquímicos de plantas y microorganismos, siendo así objeto de biorremediación. Asimismo, los hidrocarburos, por su alto contenido de carbono, pueden ser asimilados por algunos microorganismos, y degradados hasta productos como dióxido de carbono, sales, agua, y otros productos no contaminantes (Ortiz et al. 2005). En este sentido ha surgido como una de las técnicas más ventajosas para la remediación de suelo, en sitios contaminados por contaminantes orgánicos como los hidrocarburos (Tyagi, 2011).

3.1. Biorremediación de hidrocarburos

La efectividad de la biorremediación es resultado de la habilidad de las cepas de microorganismos autóctonos para utilizar los hidrocarburos y permanecer activos en el lugar de tratamiento (Lin et al. 2011). La biorremediación es un enfoque atractivo para la remoción de hidrocarburos en suelo debido a que es aplicable a grandes áreas, requiere un mantenimiento relativamente sencillo y ha demostrado óptimos niveles de remoción del contaminante (Bento et al. 2005).

Wu et al. (2016) realizó un estudio para evaluar el impacto de la bioaumentación y la bioestimulación en la degradación de hidrocarburos de petróleo en suelo. Luego de seis semanas observó que la bioestimulación con nutrientes nitrógeno y fosforo tuvo una eficiencia de degradación de 60% mientras que la bioaumentación con *Acinetobacter* SZ-1 obtuvo 34%. Por otra parte, Kauppi et al. (2011) también comparó en laboratorio estas dos técnicas para la biorremediación de suelo contaminado con diésel, observando que luego de 61 días de incubación, la bioestimulación con suplementos de nitrógeno tuvo un impacto más significativo que la inoculación de microorganismos, siendo el oxígeno un factor determinante.

Para demostrar que una tecnología de biorremediación es aplicable in situ, es importante demostrar bajo condiciones controladas la capacidad de lograr las tasas de degradación de hidrocarburos esperadas (Atlas, 1995). La información de laboratorio brinda predicciones confiables sobre el

rendimiento de la biorremediación, con tasas de biorremediación en campo comparables con aquellas determinadas en ensayos de laboratorio (Atlas, 1995). Es así que para realizar un eficaz tratamiento de biorremediación es necesario realizar un ensayo previo en laboratorio. El objetivo de este ensayo es evaluar la actividad microbiana, determinar la biodegradabilidad de los contaminantes presentes, y encontrar las condiciones ambientales óptimas para el metabolismo microbiano que permita eliminar los contaminantes (Solanas, 2009).

3.2. Factores condicionantes

Existen tres factores que condicionantes para la biorremediación de hidrocarburos en suelo, estos son las características del contaminante, las condiciones del medio y las características de los microorganismos presentes en el lugar (Solanas, 2009). En este sentido, la intensidad de la biodegradación de hidrocarburos en suelo es influenciada por muchos factores tal y como poblaciones microbianas autóctonas involucradas, disponibilidad de nutrientes, oxígeno, pH, temperatura, contenido de agua, calidad del suelo, cantidad y biodisponibilidad de los contaminantes, y propiedades del suelo (Margesin et al. 2000).

a. Características del contaminante

La composición y biodegradabilidad inherente del hidrocarburo de petróleo contaminante es la primera y principal consideración para evaluar la idoneidad de un enfoque de biorremediación (Das y Chandran, 2011). Muchos componentes de los hidrocarburos de petróleo son biodegradables, pero algunos tienen biodegradabilidad intermedia, dependiendo de su estructura química y estado (Tyagi et al. 2011).

La fracción alifática de un producto de petróleo está formada principalmente de alcanos, los cuales se degradan más fácilmente. En estos compuestos la biodegradabilidad disminuye en tanto aumenta el número de átomos de carbono presentes (Lladó et al. 2012). En tal sentido, se ha demostrado que la aplicación de tecnologías de biorremediación a suelos contaminados por productos ligeros como gasolina y diésel es factible (Lladó et al. 2012). Las propiedades que presenta cada producto son las que determinan su comportamiento y efecto en el ambiente (EPA, 2003). No obstante, las tasas de biodegradación para un químico pueden variar significativamente en cada lugar (TPHCWG, 1997). La gravedad específica, viscosidad y solubilidad son propiedades de consideración para la remediación de hidrocarburos en suelo. Esta última puede favorecer o no el proceso de remoción del contaminante, ya que influye en su movilidad a través del suelo, pero también su disponibilidad para los microorganismos

degradadores. El grado de biodegradación de un hidrocarburo de petróleo se ve influenciado por la biodisponibilidad del compuesto, la cual se relaciona directamente con su composición molecular (Márquez-Rocha et al. 2001). Los alcanos de cadena lineal son generalmente considerados como los componentes más fáciles de degradar (Atlas 1991). Por otro lado, los hidrocarburos aromáticos tienden a ser la fracción más soluble en agua, siendo el benceno un contaminante frecuente de aguas subterráneas. La biodegradabilidad de compuestos de hidrocarburos responde al siguiente orden decreciente: n-alcanos > iso alcanos > iso alquenos > n-alquilos aromáticos de bajo peso molecular > monoaromáticos > alcanos cíclicos > poliaromáticos >> asfaltenos (Van Hamme et al. 2003). En este sentido, la biorremediación ha sido ampliamente aplicada para la degradación del diésel (Cunningham y Philp 2000), al estar este compuesto principalmente por n-alcanos e iso alcanos (Geerdink et al. 1996).

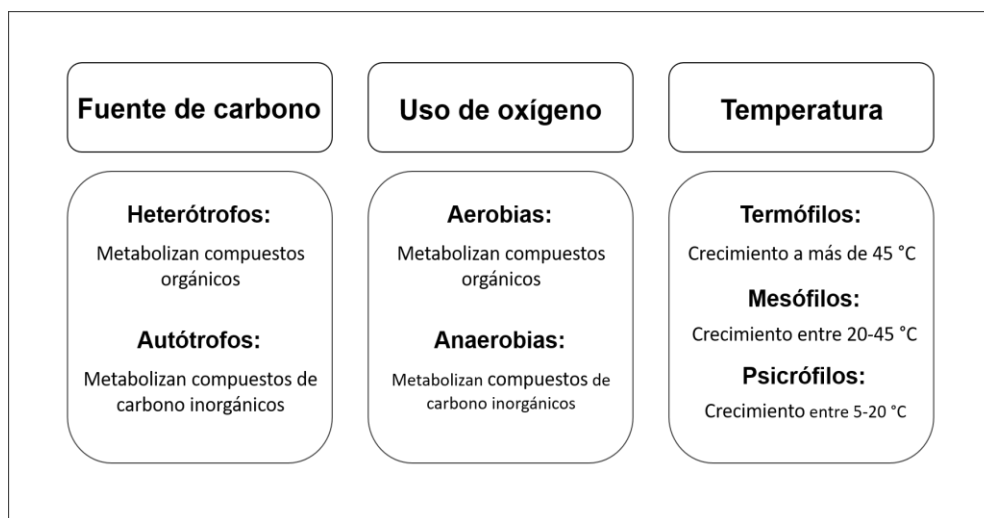
b. Condiciones ambientales

La biorremediación, además de estar en función de la química del contaminante, está en función de los parámetros del sitio (TPHCWG, 1997). Para asegurar condiciones óptimas de biorremediación es importante conocer las características del sitio contaminado antes de comenzar un tratamiento, esto incluye obtener información básica (Bento et al. 2004). Las condiciones del medio tienen también una

influencia sobre la dinámica del contaminante en el suelo y la actividad microbiana. Un pH 6 y 8 permitirá un normal desarrollo de los microorganismos, siendo 7 el valor óptimo para su crecimiento (Maroto y Rogel 2008). El contenido de humedad es también un factor importante al regular la temperatura y el flujo de aire a través de los poros del suelo. El nitrógeno, fósforo, y otros nutrientes son necesarios para el crecimiento y actividad microbianos. Es por esto que los suelos contaminados deben tener un amplio contenido de estos elementos para lograr un exitoso proceso de biorremediación (Haghollahi et al. 2016). La velocidad de degradación del contaminante está limitada por el nitrato y el fosfato disponibles, observándose que la degradación microbiana de hidrocarburos se potencia al proporcionar nutrientes como nitrógeno, fósforo y potasio (Xu y Obbard, 2003). Es generalmente considerado que la relación carbono-nitrógeno (C/N) apropiada para procesos de biorremediación va de 10:1 a 30:1 (Martínez et al. 2011). Además del tipo y concentración de nutrientes, los parámetros físicos también influyen la tasa de mineralización de los hidrocarburos por las bacterias degradadoras (Tyagi et al 2011). El tipo de suelo y su textura pueden afectar la biorremediación. Suelos de partículas finas como la arcilla tienen baja permeabilidad y retrasan o impiden el transporte de oxígeno y nutrientes a través del suelo. (Haghollahi et al. 2016). La temperatura tiene también un efecto considerable, sobre todo en la viscosidad, solubilidad y composición química del hidrocarburo (Tyagi et al. 2011).

c. Actividad microbiana

La mineralización es la transformación de los hidrocarburos por parte de microorganismos, al utilizarlos como substrato de crecimiento (Solanas, 2009). Los hidrocarburos de petróleo derramados en suelo representan una substancial fuente de carbono para los microorganismos autóctonos (Tyagi et al. 2011).



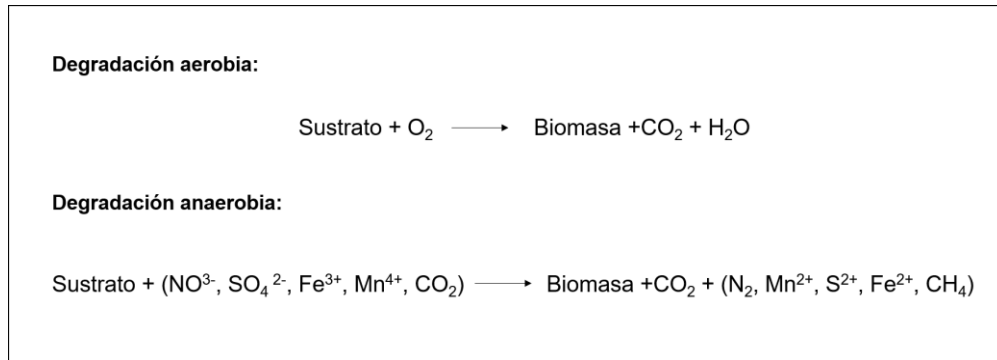
Fuente: Adaptado de Manahan 2007.

Figura 3 Tipos de bacterias

La población microbiana del suelo puede clasificarse según sus condiciones óptimas para procesos metabólicos (Figura 3). Las bacterias heterotróficas mesófilas aeróbicas juegan un rol importante en la degradación de hidrocarburos en suelo. Las bacterias heterótrofas dependen de compuestos orgánicos para satisfacer sus necesidades energéticas y formar biomasa utilizando carbono (Manahan, 2007). Asimismo, las bacterias mesófilas son aquellas cuya temperatura óptima se encuentra entre 20 y 45°C (Manahan, 2007).

Se han reportado distintas cepas de bacterias que poseen las rutas metabólicas requeridas para la degradación de compuestos recalcitrantes. Especies de *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Haemophilus*, *Rhodococcus*, *Paenibacillus* y *Ralstonia*, son algunas de las bacterias más estudiadas por sus capacidades de biorremediación (Tyagi et al. 2011).

El proceso bioquímico de la biorremediación se basa en la cadena respiratoria de los microorganismos, en la cual se producen reacciones de óxido-reducción para la obtención de energía. Los microorganismos necesitan de un sustrato orgánico (este caso los hidrocarburos) que actúa como aceptor de electrones y que termina siendo degradado y consumido por la actividad metabólica (Maroto y Rogel 2008). Los aceptores de electrones más utilizados por los microorganismos son: el oxígeno, los nitratos, el hierro (III), los sulfatos y el dióxido de carbono. Dependiendo del tipo de aceptores que utilicen los microorganismos, la degradación será aerobia (si se utiliza oxígeno), o anaerobia (si se utilizan sulfatos o dióxido de carbono). (Maroto y Rogel 2008).

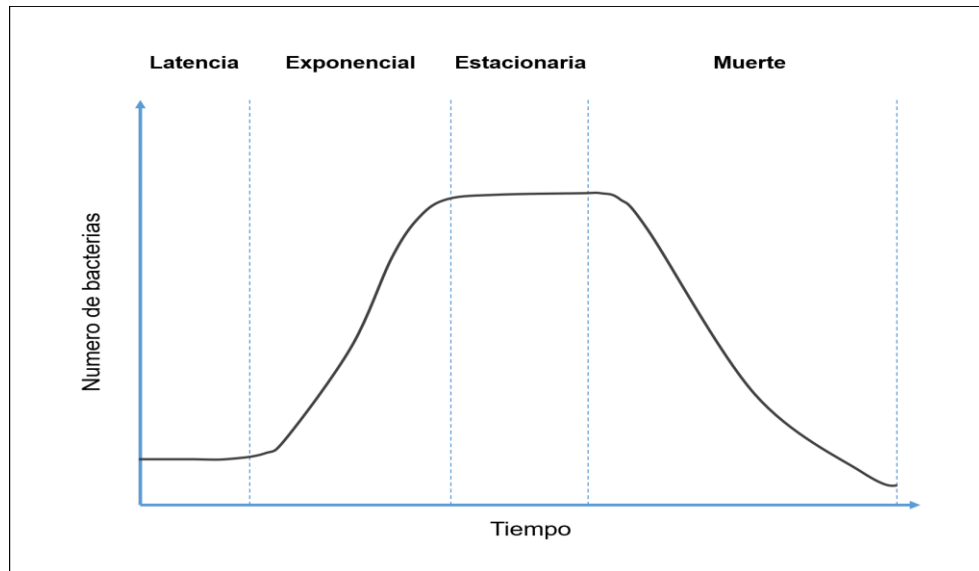


Fuente: Maroto y Rogel 2008

Figura 4: Degradación microbiana

Las tasas de degradación de los hidrocarburos están limitadas por las capacidades metabólicas de las poblaciones microbianas degradadoras de hidrocarburos. (Balba et al. 1998). Estas naturalmente constituyen menos del 1% de las comunidades microbianas totales, pero en presencia de petróleo aumentan aproximadamente al 10% (Atlas, 1995). La composición de la población microbiana es afectada por las condiciones ambientales y las características de los hidrocarburos contaminantes (Bento et al. 2004). En este sentido se deben considerar aspectos como el contenido de humedad, pH, temperatura y disponibilidad de nutrientes. El agua forma parte del protoplasma de las células bacterianas, sirviendo como medio para el transporte de compuestos orgánicos y nutrientes hacia el interior (Maroto y Rogel 2008). En lo referido al pH, el crecimiento de la mayor parte de los microorganismos se da dentro del rango de 6 a 8 (Maroto y Rogel 2008).

Gráfico 1: Curva del crecimiento microbiano



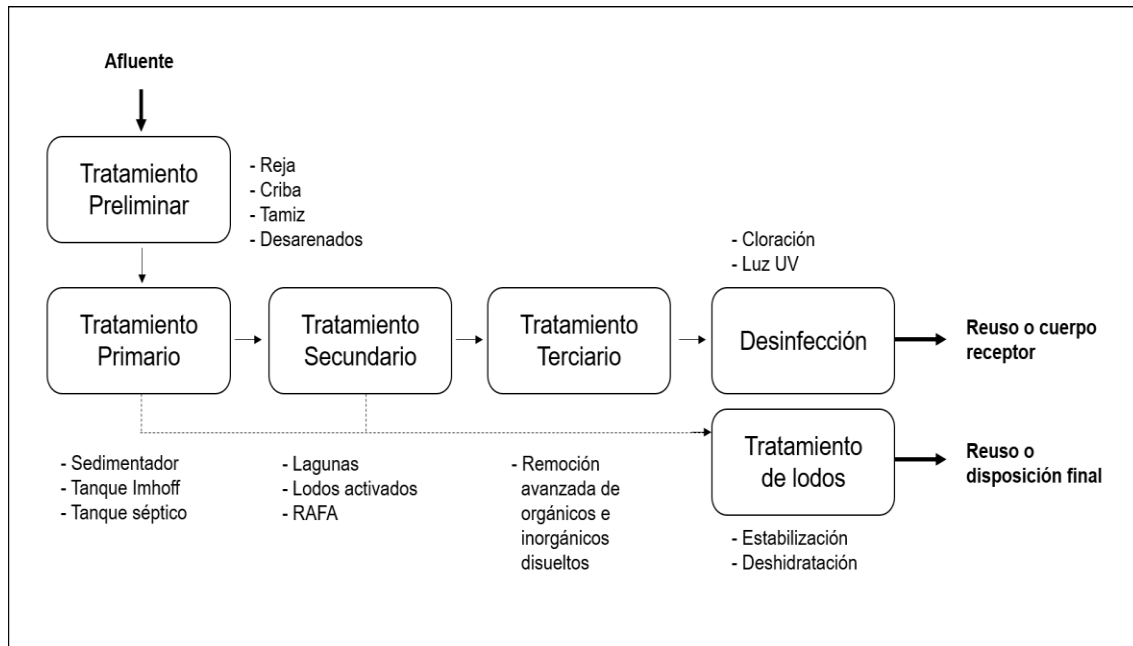
Fuente: Maroto y Rogel 2008

Otro factor importante es el tiempo de aclimatación de los microorganismos, el cual se define como el tiempo que requieren las poblaciones microbianas presentes para iniciar la degradación los contaminantes (Solanas, 2009). La cinética de crecimiento bacteriano sigue una tendencia general constituida por cuatro fases principales: latencia, exponencial, estacionaria, y muerte.

4. Lodos

Los tratamientos municipales de aguas residuales resultan en la producción de grandes cantidades de lodo, el cual requiere de un manejo apropiado y ambientalmente aceptado antes de su disposición final (Kelessidis & Stasinakis, 2012). La composición de estos lodos dependerá de la composición del agua residual y de los procesos y tecnologías utilizadas para tratarla. A su vez, la tecnología a utilizar dependerá de la calidad esperada del efluente final, según

intención de uso, ya sea para vertido en cuerpo receptor o reúso. Todo esto considerando asegurar la salud de las personas al cumplir con la normatividad ambiental vigente (SUNASS 2015).



Fuente: SUNASS 2015

Figura 5: Diagrama del tratamiento de aguas residuales

Los lodos se generan principalmente en las etapas de tratamiento primario y secundario de una PTAR, en este sentido se pueden identificar dos tipos principales de lodos: lodos primarios y lodos secundarios (Limón 2013). Los lodos primarios provienen de procesos físicos-químicos utilizados principalmente para la remoción de materiales y partículas sedimentables, mientras que los lodos secundarios son el resultado de tratamientos biológicos. Existen también los llamados lodos terciarios, provenientes del postratamiento

del agua residual (MVCS 2017) donde se realizan procesos avanzados para la remoción de sólidos finos y compuestos disueltos (SUNASS 2015).

4.1. Características de los lodos

Las características de los lodos de PTAR varían en función del proceso mediante el cual son generados (Oropeza 2006), de esta forma los diferentes tipos de lodo tendrán diferentes características, por ejemplo, un lodo primario tendrá mayor concentración de sólidos, mientras que uno secundario tendrá un mayor contenido de humedad (Limón 2013). Algunas características son importantes para el manejo de los lodos. Una de ellas es el volumen, el cual depende principalmente del contenido de humedad (Limón 2013). Los lodos deben someterse a un análisis para determinar su corrosividad, reactividad, explosividad, toxicidad y características biológico-infecciosas, lo que permitirá determinar si estos deben ser considerados como residuos peligrosos o no peligrosos (Oropeza 2006). El contenido de patógenos, y el contenido de metales pesados son factores importantes, ya que muchas veces limitan la reutilización de los lodos en el ambiente (Kosobucki et al. 2000).

4.2. Tratamiento de lodos

Uno de los beneficios del tratamiento de lodos es que permite convertir un residuo potencialmente peligroso en un recurso reaprovechable. El tratamiento de lodos consta de tres procesos principales: estabilización, higienización y deshidratación. La estabilización de lodos es un proceso en

el cual se reduce su parte orgánica, permitiendo así controlar la degradación biológica, la generación de olores, la aparición de vectores y la patogenicidad de lodos (MVCS 2017). Los procesos de higienización de lodos permiten reducir o eliminar microorganismos patógenos, quedando así aptos para su segura reutilización como enmienda de suelos (Diocaretz y Vidal 2010). La deshidratación es un proceso que busca reducir el volumen del lodo para facilitar su manejo (Oropeza 2006).

Existe una gran variedad de métodos para tratar lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales, sin embargo, su costo es una seria limitación en la práctica (Kosobucki et al. 2000). Algunos de los métodos más comunes para estabilizar lodos son la digestión, el compostaje, y la adición de cal (Limón 2013). Los procesos biológicos como la digestión aerobia y el compostaje permiten aprovechar las temperaturas alcanzadas durante la degradación de la materia orgánica para destruir o inactivar patógenos (Diocaretz y Vidal 2010). Estos se aplican generalmente a lodos que posteriormente se utilizarán como mejoradores o acondicionadores de suelo (Limón 2013).

4.3. Reutilización de lodos en biorremediación

Una alternativa en el manejo de residuos con un enfoque de economía circular, es la reutilización de los lodos para distintos fines (Smol et al. 2015). El interés en la aplicación de lodos en suelo ha aumentado debido a la escasez de alternativas más eficientes para su manejo, promoviendo su

disponibilidad en la biorremediación debido a sus grandes cantidades y sus características (Cárdenas et al. 2010).

Los biosólidos son materiales orgánicos ricos en nutrientes provenientes del tratamiento de lodos domésticos (EPA, 2000). Los lodos producidos en las PTAR son considerados biosólidos solo cuando han sido previamente estabilizados (Torres et al. 2005). Los principales beneficios de los biosólidos incluyen su bajo o ningún costo, lenta liberación de nutrientes (similar al estiércol animal) y su fácil disponibilidad (Sarkar et al. 2005).

Es conocido que la adición de una fuente de nutrientes en un suelo contaminado mejora la tasa de degradación de un contaminante al estimular el crecimiento de los microorganismos responsables de la biodegradación del contaminante (Agamuthu et al. 2013). Es así que la adición de enmiendas orgánicas incluyendo lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales o compost puede facilitar la degradación de contaminantes orgánicos, ya que aportan nutrientes y fuentes de carbono en suelos contaminados (Namkoong et al. 2002).

Los lodos son ricos en nitrógeno, el cual es esencial para el crecimiento de los microorganismos, sabiendo además que en la mayoría de ambientes la presencia de nitrógeno y fósforo es un factor limitante (Tyagi et al. 2011). Estos lodos poseen también una gran diversidad microbiana, muchas veces mayor a la del suelo lo que podría acelerar la remoción del contaminante (Ling e Isa 2006). Si bien existen muchas ventajas en la reutilización de lodos en biorremediación también se debe tener en consideración su contenido de

metales y patógenos, de modo que se eviten riesgos de contaminación. Asimismo, se deben asegurar características como el contenido de humedad para asegurar un efecto positivo en los procesos de degradación de contaminantes. De la misma forma la relación entre el suelo contaminado y las enmiendas orgánicas debe ser determinada cuidadosamente, ya que una proporción inadecuada podría retrasar o inhibir la actividad microbiana (Thomas et al. 1992). Debido a la mezcla de lodos con el suelo se puede generar la dilución de la concentración del contaminante, lo cual en el marco de un proceso de remediación de suelos como la biorremediación, puede ser aceptado (MINAM 2017).

En el Perú la reutilización de biosólidos está enmarcada en el Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (D.S. N°015-2017-VIVIENDA), el cual busca promover el reaprovechamiento de estos lodos de manera segura, considerando los riesgos a la salud y el ambiente (MVCS 2017).

4.4. Antecedentes del uso de lodos en biorremediación

Namkoong (2002) utilizó lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales y compost de manera diferenciada, como enmiendas para suplemento de materia orgánica en el compostaje de suelo contaminado con diésel a una concentración de 10 000 mg/kg. La adición de estas enmiendas mejoró significativamente la degradación del diésel, obteniéndose mejores resultados a proporciones de 1:0.5 de suelo contaminado y enmiendas. En

tres meses se logró una degradación de hidrocarburos totales de petróleo de 98.1 %.

Cárdenas *et al.* (2004) realizó ensayos con muestras de diferente proporción de lodo de plantas de tratamiento de aguas residuales y suelo contaminado, algunas de estas fertilizadas con fosfato di-amónico. En un periodo de tres meses demostró que los lodos y la fertilización ejercieron una influencia significativa sobre eficiencia la biorremediación de suelo contaminado por hidrocarburos, alcanzando una remoción del 62.68% en muestras con 70% de lodos más fertilización.

Sarkar (2005) comparó dos métodos de bioestimulación para la degradación de hidrocarburos totales de petróleo en suelo limoso contaminado con diésel y con bajo contenido de carbono. Para el primero utilizó fertilizantes inorgánicos de rápida liberación, ricos en N y P. En el segundo aplicó biosólidos esterilizados de liberación lenta, los cuales agregaron C además de N y P. Los biosólidos son principalmente materiales orgánicos producidos durante el tratamiento de aguas residuales, que pueden clasificarse según el tratamiento que han recibido (EPA 2000). Los resultados revelaron que la biorremediación fue mejorada gracias a la adición de biosólidos con una degradación mayor al 96%.

Ling (2006) realizó ensayos para determinar la proporción óptima de suelo y lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales para mejorar la

biorremediación de suelo contaminado con lodos de una refinería de petróleo. Esto se realizó mediante un proceso de compostaje utilizando césped como material de relleno. Luego de nueve semanas se obtuvo que la máxima remoción de contaminante fue de 65.6% con una proporción suelo-lodo de 1:0.5, mostrando la mejora en la biodegradación gracias a la adición de los lodos.

Martines-Prado *et al.* (2011) realizó experimentos a nivel de laboratorio y piloto, donde la utilización de lodos frescos y mineralizados respectivamente, provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales, como fuente alterna de nutrientes, propicio la estimulación de los microorganismos nativos del suelo, logrando degradar entre 66 y 93% de hidrocarburos en el suelo. Se determinó que entre más frescos los lodos existía una mayor remoción de contaminante. Asimismo, la presencia de nutrientes, la densidad de suelo y la cantidad de agua disponible, fueron factores determinantes en el proceso de biorremediación.

Chrorom (2011) realizó un ensayo de biorremediación para un suelo artificialmente contaminado con 1% de crudo de petróleo. Se utilizaron lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales en dos niveles equivalentes a 50 y 100 ton/ha. Las muestras se mantuvieron entre 25 y 30 °C, y a 60% de capacidad de campo. Luego de 5 a 10 semanas el número de bacterias heterotróficas degradadoras de hidrocarburos se elevó considerablemente. Asimismo, se logró una degradación entre 43 y 61% del contaminante.

Zhang (2012) aplicó un sistema de remediación basado en la acción de plantas y microorganismos. Para ello utilizó lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales y estiércol de ganado como enmiendas orgánicas para un suelo agrícola contaminado, en presencia de alfalfa (*Medicago sativa L.*) y microorganismo degradadores de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos como *Bacillus sp.* y *Flavobacterium sp.* Tras 60 días los resultados de la aplicación de lodos y estiércol mostraron un aumento en la remoción de PAHs de 35.5- 44.9% y 25.5- 42.3% respectivamente. Las enmiendas de residuos orgánicos incrementaron los nutrientes y materia orgánica del suelo, estimulando la proliferación de organismos y mejorando la biorremediación de PAHs.

Agamuthu (2013) utilizó lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales y estiércol de vaca como enmiendas orgánicas para mejorar la biorremediación de suelo contaminado con aceite lubricante usado. Tras 98 días el ensayo con estiércol mostró una degradación del 94% mientras que el ensayo con lodos dio como resultado un 82% de degradación del contaminante. Ambos tratamientos presentaron mayor degradación en comparación con las muestras sin enmiendas, que lograron 56% de biorremediación. La presencia de nutrientes disponibles fue un factor determinante en la biodegradación del contaminante por parte de los microorganismos presentes en el suelo.

III. OJETIVOS E HIPOTESIS

1. Objetivos

1.1. Objetivo General

Determinar la eficiencia de la adición de lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales domesticas en la biodegradación de hidrocarburos de petróleo en un suelo contaminado con diésel.

1.2. Objetivos Específicos

- Determinar la reducción de la concentración de hidrocarburos de petróleo (Fracción 2) en las muestras luego de 12 semanas de tratamiento.
- Determinar el crecimiento de bacterias heterótrofas mesófilas a lo largo de las 12 semanas de tratamiento.
- Determinar los cambios en características físicas y químicas del suelo luego de 12 semanas de tratamiento.
- Comparar los resultados obtenidos con los Estándares de Calidad Ambiental para suelo (ECA Suelo).

2. Hipótesis

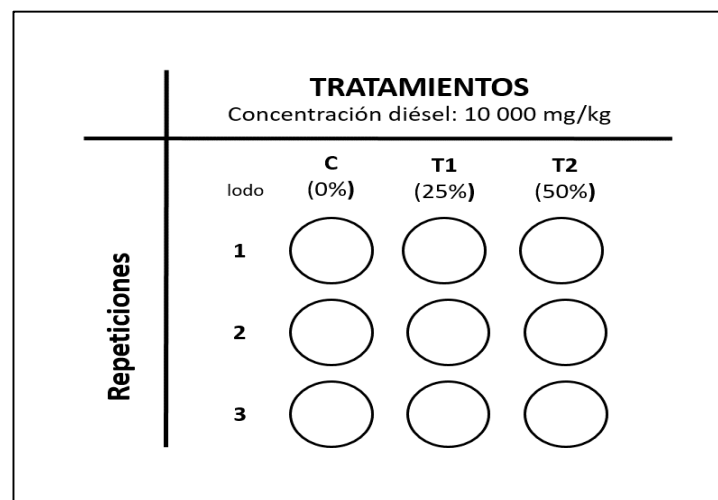
(H+): La aplicación de lodos de una planta de tratamiento de aguas residuales domésticas favorece la biorremediación de suelos contaminados con diésel.

(H-): La aplicación de lodos de una planta de tratamiento de aguas residuales domésticas no favorece la biorremediación de suelos contaminados con diésel.

IV. METODOLOGÍA

1. Diseño Experimental

El ensayo de laboratorio consistió en muestras de mezclas de suelo contaminado artificialmente con diésel, y lodos de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Domesticas (PTARD), en distintas proporciones. Se realizaron 02 tratamientos y 01 control. Los porcentajes de lodo utilizados en las muestras fueron: 0% para la muestra control (C); 25% para el Tratamiento 1 (T1); y 50% para el Tratamiento 2 (T2). Tanto los tratamientos como el control se encontraron a una concentración de 10 000 mg/Kg de diésel (Namkoong 2012, Wang 2011, Xu and Obbard 2003, OEFA 2013). Se realizaron 03 repeticiones, obteniendo un total de 09 muestras. El ensayo se llevó a cabo en el Laboratorio de Saneamiento y Medio Ambiente, de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Tuvo una duración de 12 semanas. Se consideró un diseño experimental de bloques completamente al azar.



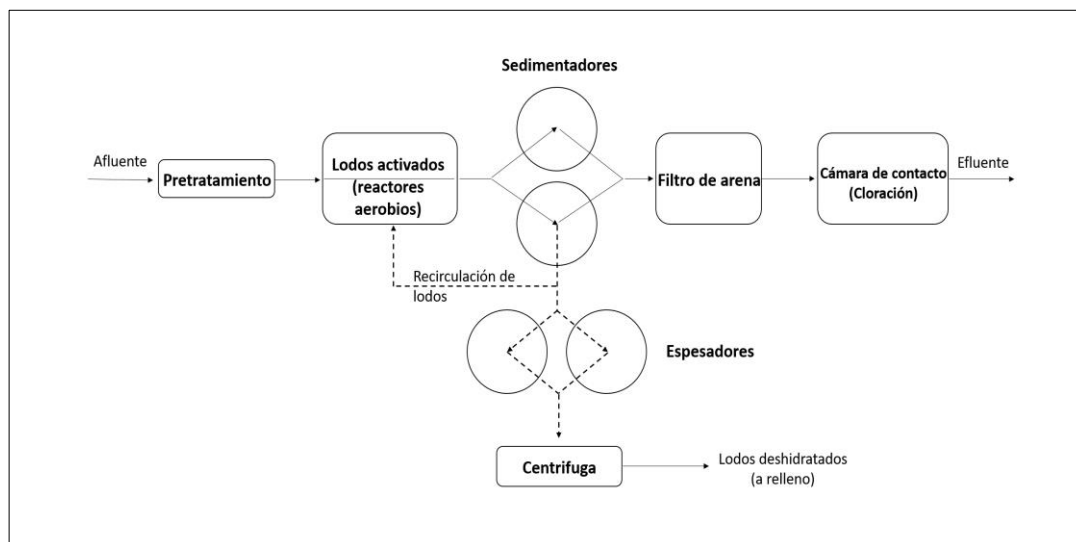
Fuente: Elaboración propia

Figura 6: Diseño Experimental

2. Preparación del ensayo

2.1. Recolección y análisis de suelo y lodo

El suelo se obtuvo de un terreno agrícola de la Universidad Nacional Agraria La Molina, en el distrito de La Molina. Se realizó una calicata de 70 cm de profundidad, de donde se recolectó una muestra compuesta de 72 kg de suelo. Se recolectó una muestra compuesta de lodo residual proveniente de procesos aerobios de la planta de tratamiento de aguas residuales “Santa Clara”, ubicada en el distrito de Ate Vitarte, y perteneciente a la empresa SEDAPAL. El principal proceso de tratamiento de esta planta son los lodos activados. El lodo remanente de los sedimentadores de la PTAR, pasó por los espesadores, y finalmente por un proceso de centrifugado para ser deshidratado. Este se recolectó luego de permanecer almacenado por 02 días. Cabe mencionar que en el proceso de centrifugado se utilizó el polímero FLOPAM EM840CT, sin considerarse ningún efecto adverso para el uso del lodo en el ensayo. El esquema de tratamiento de la PTAR y las especificaciones de la centrifuga se presentan en la Figura 7 y la Figura 8 respectivamente.



Fuente: SEDAPAL 2019

Figura 7: Proceso de tratamiento de la PTAR “Santa Clara”



Marca	GEA
Modelo	UCD 346-00-32
Número de serie	8007-517
Año de fabricación	2011
Velocidad máxima admisible del tambor (RPM)	4500

Fuente: SEDAPAL 2019

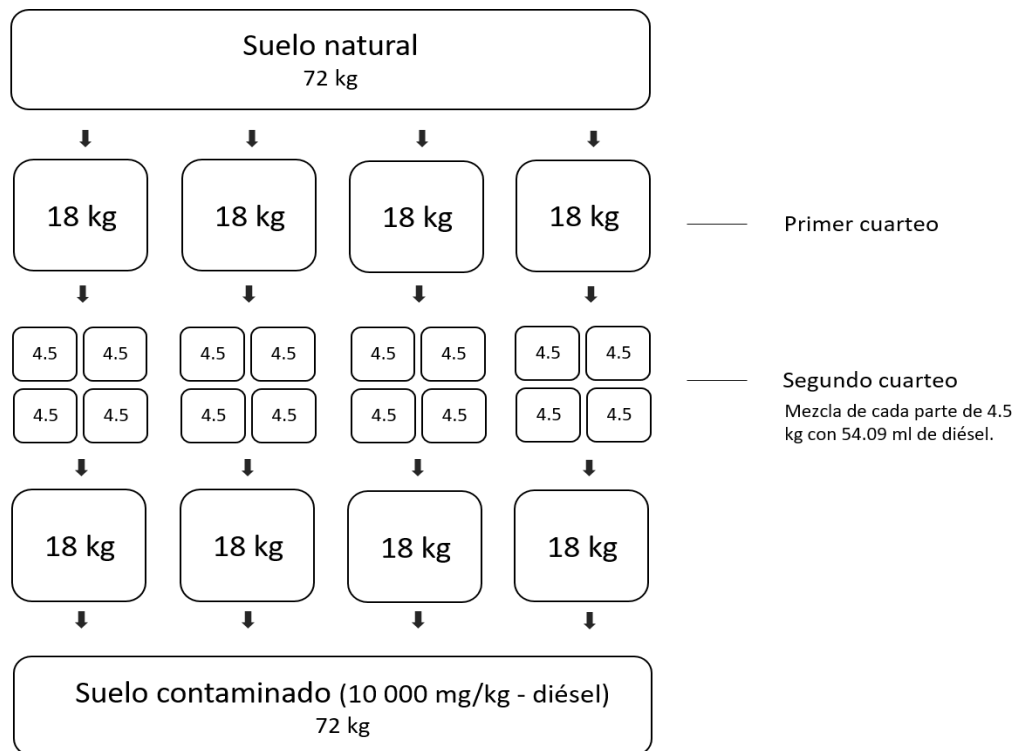
Figura 8: Especificaciones técnicas de la centrifuga de lodos

Previo al inicio del ensayo se realizó un análisis de línea base para determinar las condiciones iniciales del suelo y los lodos. Se realizaron análisis físico-químicos (pH, conductividad eléctrica, contenido de carbono, contenido de nitrógeno, humedad, temperatura) y microbiológicos (conteo de bacterias heterótrofas mesófilas). Se envió una muestra del suelo recolectado al Laboratorio de Análisis de agua, suelo y medio ambiente de la UNALM, para un análisis de caracterización. Asimismo, se analizó una muestra de lodo en laboratorio para los parámetros de pH, CE, temperatura y humedad; y se envió otra muestra al Laboratorio de análisis de agua, suelo y medio ambiente de la UNALM para un análisis de carbono y nitrógeno.

2.2. Contaminación artificial del suelo

Para el ensayo de biorremediación se contaminó artificialmente el suelo recolectado, adicionando diésel comercial proveniente de una estación de servicios de la empresa Repsol. La concentración objetivo fue 10 000 mg/kg.

La contaminación artificial del suelo se llevó a cabo por partes para asegurar una mayor homogeneidad. Se realizaron 02 cuarteos consecutivos de la muestra inicial de 72 kg, obteniendo así partes de 4.5 kg de suelo. Para determinar la cantidad de diésel a adicionar en cada parte, se consideró una densidad de 832.5 mg/ml, descrita en la ficha técnica de este producto. Se calculó una cantidad de 54.09 ml de diésel para cada parte de 4.5 kg de suelo. En total se utilizaron 865.44 ml de diésel. Una vez adicionado el diésel, se homogeneizó manualmente cada parte de 4.5 kg, con ayuda de una pala pequeña de metal. Finalmente se mezclaron de vuelta las partes de 4.5 kg hasta volver a formar la muestra compuesta de 72 kg, como se muestra en la Figura 9.



Fuente: elaboración propia

Figura 9: Contaminación artificial del suelo

2.3. Preparación e instalación de los tratamientos

Siguiendo el diseño experimental, se realizaron 02 tratamientos y un control. El Control (C) consistió en suelo contaminado sin adición de lodo; el Tratamiento 1 (T1) en una mezcla de 75% de suelo contaminado y 25% de lodo; y el Tratamiento 2 (T2) en una mezcla de 50% suelo contaminado y 50% lodo. El ensayo se realizó con tres repeticiones.

Tabla 2: Proporciones suelo-lodo de las muestras

	C	T1	T2
Suelo contaminado	100%	75%	50%
Lodo	0 %	25%	50%

Fuente: elaboración propia

Para la preparación de los tratamientos T1 y T2 se mezclaron las proporciones indicadas en la *Tabla 2* en base a una muestra de 8 Kg, y se colocaron las muestras en macetas de plástico de 10 L. Se utilizaron en total 54 Kg de suelo contaminado y 18 Kg de lodo, considerando las repeticiones. Las 09 macetas se mantuvieron durante todo el ensayo en el laboratorio. El excedente de suelo contaminado se guardó como respaldo.

2.4. Puesta en marcha del ensayo y parámetros analizados

Durante el ensayo se analizaron 02 grupos de parámetros: principales y secundarios. Los parámetros principales fueron la concentración de

hidrocarburos de petróleo en el suelo (específicamente de la fracción F2), y la cantidad de microorganismos heterótrofos, siendo el primer parámetro el más importante. Los secundarios fueron parámetros físico-químicos relacionados con el proceso de biorremediación. El único parámetro que fue controlado fue el contenido de humedad, mediante riego y volteo manual. De acuerdo a los análisis realizados se consideran tres momentos del ensayo: inicio, semana 6, y semana 12. Los parámetros, sus frecuencias de monitoreo, y métodos de análisis se presentan en la *Tabla 3*.

Tabla 3: Parámetros del ensayo

Parámetro	Frecuencia	Método de análisis
Parámetros principales		
Hidrocarburos de petróleo (Fracción F2)	Inicio, semanas 6 y semana 12	EPA Method 8015 C
Microorganismos heterótrofos	Inicio, semana 6 y semana 12	Conteo en Placa Tinción diferencial de Gram
Parámetros secundarios		
C/N	Inicio, semanas 6 y semana 12	Contenido de carbono: Walkley y Black Contenido de nitrógeno: micro-Kjeldahl.
pH	Semanal	Medición con equipo multiparámetro (suspensión suelo agua 1:2)
Conductividad eléctrica (CE)	Semanal	Medición con equipo multiparámetro
Humedad	Semanal	Standard test methods for Laboratory Determination of Water (Moisture) Content of Soil and Rock by Mass.
Temperatura	Semanal	Medición con termómetro de suelo

Fuente: Elaboración propia

2.5. Análisis físico-químicos realizados

- Hidrocarburos de Petróleo (Fracción F2)

Para determinar la remoción total del contaminante, se enviaron muestras de los tratamientos y el control al laboratorio ALAB para el análisis de Hidrocarburos Totales de Petróleo Fracción 2 ($C_{10} - C_{28}$). Estos análisis fueron realizados por el laboratorio ALAB mediante el método EPA Method 8015 C.

Para determinar la remoción por biorremediación, se contempló realizar una corrección de la concentración inicial de los tratamientos T1 y T2, debido a la dilución del contaminante producto de la mezcla de suelo y lodo. Esta corrección se realizó de la siguiente forma:

$$C_{T1} = C_1 \times 0.75 + C_L \times 0.25$$

$$C_{T2} = C_2 \times 0.50 + C_L \times 0.50$$

Donde:

CT1: Concentración inicial de hidrocarburos corregida de T1

CT2: Concentración inicial de hidrocarburos corregida de T2

C1: Concentración inicial de hidrocarburos de T1

C2: Concentración inicial de hidrocarburos de T2

CL: Concentración de hidrocarburos en lodo

- Relación Carbono-Nitrógeno (C/N)

Estos análisis fueron realizados por el Laboratorio de Análisis de agua, suelo y medio ambiente de la UNALM.

- Potencial hidrogeno y conductividad eléctrica

Los análisis se realizaron por cuenta propia en el Laboratorio de Saneamiento y Medio Ambiente de la UNALM. Para la determinación de pH y conductividad eléctrica se realizó una dilución 1:2 de muestra y agua destilada en un beaker de 250 mL. Se homogeneizó la mezcla por 02 minutos y se dejó sedimentar por 20 minutos. Posteriormente se midieron los parámetros con un equipo multiparámetro.

- Contenido de humedad

La determinación del contenido de humedad (ASTM D 2216) se realizó por cuenta propia en el Laboratorio de Saneamiento y Medio Ambiente de la UNALM. Para el secado de las muestras se utilizaron capsulas de cerámica, las cuales fueron secadas previamente en estufa a 110 °C por 15 min. Se pesó capsula y luego de tarar, se pesaron 100 g de cada muestra. Se secaron las muestras en estufa a 110°C por 24 h. Luego de este tiempo se pesaron las muestras secas y se determinó el contenido de humedad por la formula general:

$$W = \frac{wi - wf}{wf - wc} \times 100$$

Donde:

W: contenido de humedad (%)

wi: Peso inicial (cápsula + suelo húmedo)

wf: Peso final (cápsula + suelo seco)

wc: Peso de la cápsula

- Temperatura

La medición de temperatura se realizó por cuenta propia en el Laboratorio de Saneamiento y Medio Ambiente de la UNALM. Se utilizó un termómetro de suelo (marca: Digi-Sense), midiendo en la parte media de las muestras.

2.6. Análisis microbiológicos realizados

Los análisis microbiológicos fueron realizados por cuenta propia en el Laboratorio de Micología y Biotecnología de la UNALM.

- Conteo de bacterias heterótrofas mesófilas

Para estimar el número de bacterias heterótrofas vivas en las muestras del ensayo se utilizó el método de conteo en placa. Se mezclaron 10g de muestra con 90 ml de agua destilada, y se homogeneizó por 01 minuto. Se realizaron diluciones seriadas a partir de la mezcla. Para esto se prepararon 05 tubos de ensayo de 16 x 150 mm con 4.5 ml cada uno. Para la primera dilución (10^{-1}) se tomaron 0.05 ml (50 μ L) de mezcla y se echaron en el primer tubo, homogeneizando luego en vortex. Para la segunda (10^{-2}) se repitió el procedimiento a partir de la primera dilución, y así sucesivamente hasta la última dilución (10^{-5}). Este procedimiento se realizó por duplicado.

Tabla 4: Composición del Agar para Conteo en Placa

Componente	Cantidad
Peptona	2.5 g
Extracto de levadura	1.25 g
Glucosa	0.5 g
Agar-Agar	7.5 g
Agua destilada	500 ml

Fuente: Standard Methods 1992

Para el cultivo placa de las diluciones se elaboró un Agar con la composición presentada en la *Tabla 4*. Se prepararon tubos de ensayo con 10 mL del medio de cultivo y se mantuvieron en baño maría a 50°C para evitar su solidificación. Se tomaron 0.1 mL de la primera dilución (10^{-1}) y se inocularon en uno de los tubos con Agar, homogeneizando luego en vortex para verter en una placa de Petri y dejar solidificar por unos minutos. Se repitió este procedimiento para todas las diluciones realizadas, incluyendo los duplicados. Las placas cultivadas se llevaron a la estufa a 27°C por 24h. Luego del tiempo de cultivo se contaron las colonias presentes en cada placa.

- Identificación de bacterias

Se realizó un cultivo selectivo de las colonias encontradas en las muestras del ensayo, para identificar las bacterias degradadoras de hidrocarburos. Para esto se preparó un Agar nutritivo (*Tabla 5*) con 1% de diésel.

Tabla 5: Composición del Agar para cultivo selectivo

Componente	Cantidad
Solución hidropónica A	40 ml
Solución hidropónica B	20 ml
Agar-Agar	7.5 g
Diésel	5 ml
Agua destilada	500 ml

Fuente: UNALM 2018

Se tomaron 10 ml del medio para cada placa, dejando solidificar para luego sembrar con asa de siembra y llevar las muestras a la estufa a 27°C por 24h. Finalmente se tomaron las colonias más representativas del control y los tratamientos (C, T1, T2) y se les realizó una tinción diferencial de Gram para su observación en microscopio.

2.7. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico, se analizó la significancia de los resultados de remoción de hidrocarburos y de crecimiento microbiano, mediante la prueba Análisis de Varianza (ANOVA), y la prueba de Tukey para evaluar la significancia de los distintos tratamientos. Asimismo, se analizó la correlación entre el crecimiento bacteriano y la remoción de los hidrocarburos. Para estos fines se utilizó el complemento XLSTAT del programa Microsoft Excel.

2.8. Materiales, equipos e infraestructura

El ensayo se llevó a cabo en dos partes: recolección de suelo y lodo, y trabajo de laboratorio. En la *Tabla 6* se presentan los materiales, equipos e infraestructura utilizados.

Tabla 6: Relación de materiales, equipos e infraestructura

Materiales	Equipos	Infraestructura
Recolección de suelo y lodo		
<ul style="list-style-type: none"> - Pala metálica - Pico - Tamiz de 5 mm - Macetas de plástico - Guantes de tela 	<ul style="list-style-type: none"> - Balanza de piso 	<ul style="list-style-type: none"> - Terreno de la facultad de Ingeniería Agrícola de la UNALM
<ul style="list-style-type: none"> - Pala metálica - Guantes de látex - Baldes de plástico - Bolsas negras de basura 		<ul style="list-style-type: none"> - Planta de Tratamiento de Aguas Residuales "Santa Clara" (SEDAPAL)
Trabajo de laboratorio		
<ul style="list-style-type: none"> - Macetas de plástico - Recipientes grandes de plástico - Pala metálica manual - Varillas de madera - Rociador manual - Guantes de látex - Lentes de seguridad - Mascarilla de laboratorio - Papel toalla - Alcohol - Beakers 250 mL - Probeta 1000 mL - Capsulas de porcelana - Agua destilada - Diésel Comercial (Repsol) 	<ul style="list-style-type: none"> - Balanza electrónica - Multiparámetro - Termómetro de suelo - Estufa 	<ul style="list-style-type: none"> - Laboratorio de saneamiento y medio ambiente (UNALM)
<ul style="list-style-type: none"> - Agar PCA (Peptona, extracto de levadura, glucosa, agar, agua destilada) - Placas Petri - Puntas de pipeta (tips) 1μ - Pipeta automática 1000 μ - Beakers 250 mL - Tubos de ensayo 16 x 150 mm - Matraces 250 MI - Asa de Kolle - Mechero de alcohol - Mandil de laboratorio - Mascarilla de laboratorio - Algodón - Alcohol - Kit para Tinción Gram 	<ul style="list-style-type: none"> - Estufa - Balanza electrónica - Vortex - Baño María - Microscopio 	<ul style="list-style-type: none"> - Laboratorio de micología y biotecnología (UNALM)

Fuente: Elaboración propia

V. RESULTADOS

1. Resultados de los análisis previos

1.1. Caracterización del suelo

Los resultados obtenidos de la caracterización del suelo (*Tabla 7*) mostraron un pH neutro, así como una textura franco arcilloso arenoso, y una relación carbono nitrógeno cercana a 10. Asimismo, se determinaron los contenidos de materia orgánica, otros nutrientes (P y K), y carbonatos de calcio. Las características observadas se consideraron óptimas para el desarrollo del ensayo.

Tabla 7: Análisis de caracterización del suelo

Parámetro	Valor
pH	7.68
CE ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	58
CaCO ₃ (%)	2
MO (%)	0.69
C (%)	0.45
N (%)	0.05
C/N	9
P (ppm)	2.3
K (ppm)	135
Humedad (%)	5
Arena (%)	47
Limo (%)	26
Arcilla (%)	27
Clase Textural	Franco arcilloso arenoso

Se realizó un análisis microbiológico mediante el método de conteo en placa de bacterias heterótrofas, obteniéndose un total de 54×10^3 UFC/g suelo. Asimismo, se realizó la identificación de bacterias mediante Tinción de Gram, observándose la predominancia de bacilos gram positivos (*Bacillus Sp.*).



Figura 10: Bacillus Sp. identificados en la muestra de suelo

1.2. Análisis de lodo

Los resultados de la muestra de lodo de la PTAR al inicio antes de la contaminación artificial (*Tabla 8*), presentaron un pH neutro, y un alto contenido de nitrógeno, con una humedad de 75.80%, y una conductividad de 410.57 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Tabla 8: Análisis físico-químico del lodo

Parámetro	Valor
pH	7.38
CE ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	410.57
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	20
Humedad (%)	75.80
C (%)	22.56
N (%)	4.32
C/N	5.22

Se realizó un análisis microbiológico mediante el método de conteo en placa bacterias heterótrofas, obteniéndose un total de 130.67×10^4 UFC/g lodo. Asimismo, se realizó la identificación de bacterias mediante Tinción de Gram, observándose la predominancia de *Bacillus Sp.*

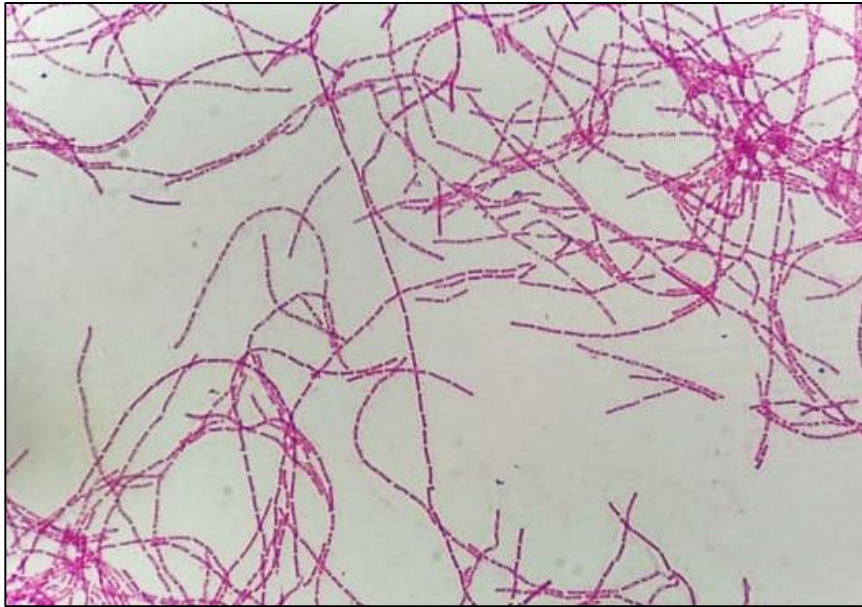


Figura 11: Bacillus Sp. identificados en la muestra de lodos

2. Resultados del ensayo

Se presentan los resultados obtenidos luego de la puesta en marcha del ensayo.

2.1. Potencial hidrógeno (pH)

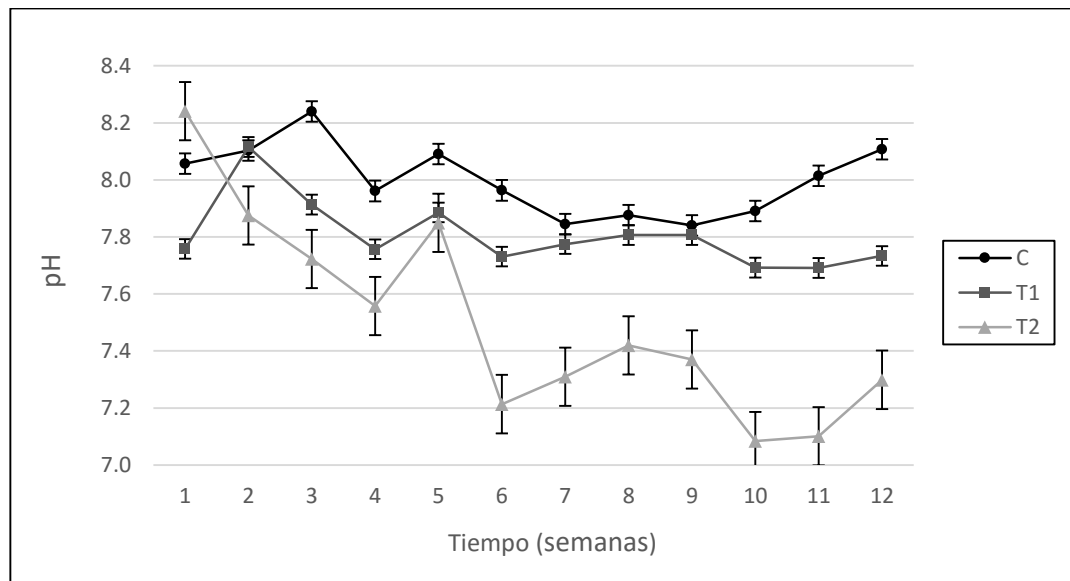
Los resultados de la medición de pH (*Tabla 9*) se mantuvieron alrededor de 7 y 8 durante todo el ensayo. La muestra control y el tratamiento T1

mantuvieron sus valores estables durante las 12 semanas. El tratamiento T2 sufrió una disminución en el pH a partir de la semana 05, sin embargo, las variaciones fueron menores a 1 punto.

Tabla 9: Valores de pH

Muestras	Semanas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
C	8.1	8.1	8.2	8.0	8.1	8.0	7.8	7.9	7.8	7.9	8.0	8.1
T1	7.8	8.1	7.9	7.8	7.9	7.7	7.8	7.8	7.8	7.7	7.7	7.7
T2	8.2	7.9	7.7	7.6	7.8	7.2	7.3	7.4	7.4	7.1	7.1	7.3

Gráfico 2: Valores de pH



2.2. Conductividad eléctrica

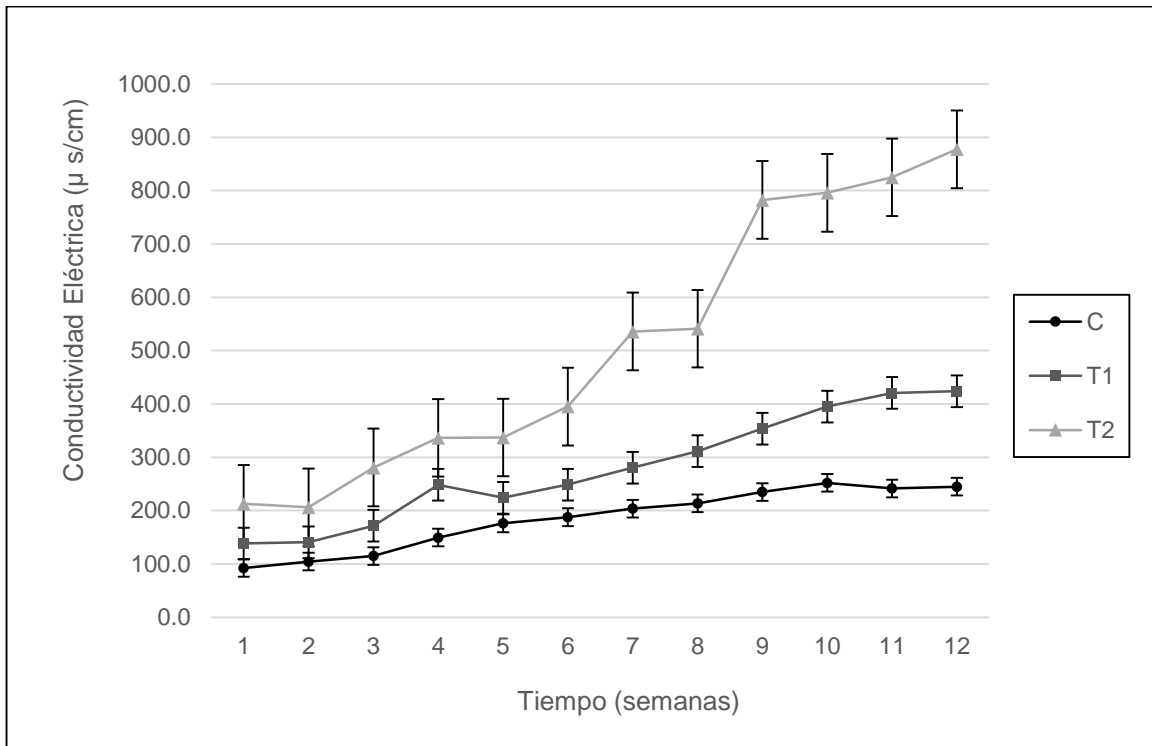
Los resultados obtenidos en las mediciones de conductividad eléctrica de las muestras (*Tabla 10*), mostraron un aumento a lo largo del ensayo. Los

tratamientos T1 y T2 presentaron un mayor incremento a comparación de la muestra control. El tratamiento T2 alcanzó los mayores niveles de conductividad.

Tabla 10: Valores de conductividad eléctrica

Muestras	Semanas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	μ s/cm											
C	92.5	104.3	115.0	149.4	176.3	187.7	203.6	213.5	234.8	251.9	241.5	244.8
T1	138.2	140.8	171.5	248.3	224.1	248.5	280.4	311.3	353.6	395.1	420.5	423.8
T2	212.9	206.0	280.9	336.5	337.1	395.0	535.9	540.9	782.4	795.7	824.7	877.4

Gráfico 3: Variación de la conductividad eléctrica



2.3. Temperatura y humedad

La temperatura promedio de las muestras fue de 22.1 ($\sigma = 0.07$), siendo similares entre sí en condiciones de laboratorio. Se evidenció un incremento hacia las semanas finales debido al cambio de estación. El contenido humedad se mantuvo en 25 % ($\sigma = 1.64$) ajustándose con riego manual semanal, según la necesidad de agua determinada por método de secado en horno y diferencia de pesos.

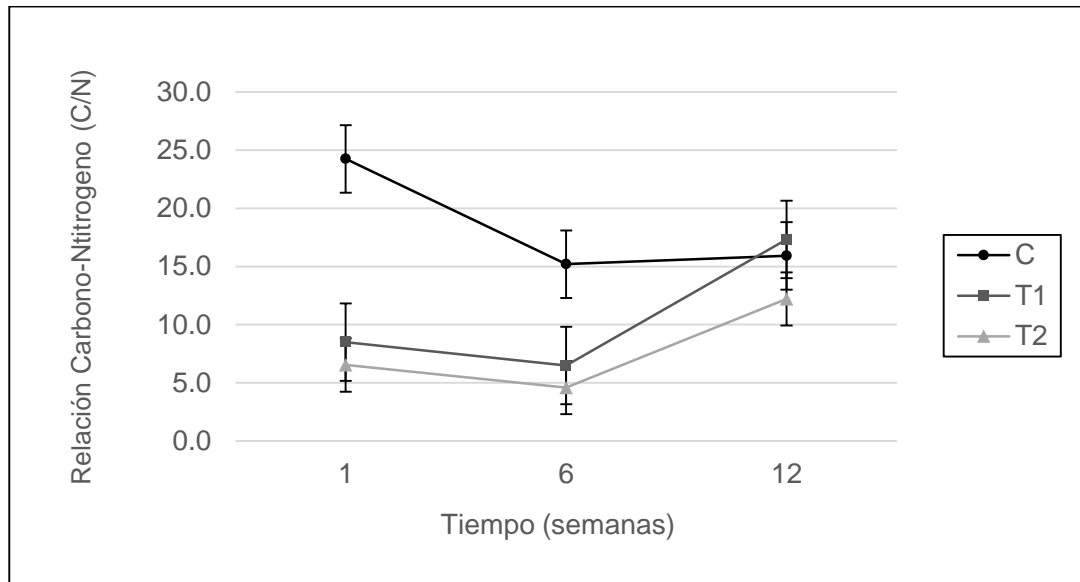
2.4. Relación Carbono - Nitrógeno

Se monitoreo el contenido de carbono y nitrógeno para obtener la relación Carbono – Nitrógeno (C/N) de las muestras a lo largo del ensayo (*Tabla 11*). Entre el inicio del ensayo y la semana 6, se redujo la relación C/N en todas las muestras. Entre las semanas 6 y 12 se observó un incremento considerable en los tratamientos T1 y T2, y en menor medida en la muestra control. Al final del ensayo las relaciones de las 03 muestras se estabilizaron, encontrándose entre 12 y 18.

Tabla 11: Valores de la relación Carbono-Nitrógeno

Muestras	Semanas		
	1	6	12
C	24.3	15.2	15.9
T1	8.5	6.5	17.3
T2	6.5	4.6	12.2

Gráfico 4: Variación de la Relación Carbono-Nitrógeno



2.5. Hidrocarburos de petróleo

En la *Tabla 12* se presentan las concentraciones de hidrocarburos de petróleo (Fracción F2) de cada muestra, obtenidas tras los análisis de laboratorio en tres momentos del ensayo: semana 0 (previo al inicio del ensayo), semana 6 y semana 12. La concentración de hidrocarburos, previo a la mezcla de las muestras con lodos residuales, se encontró alrededor de los 10 000 mg/kg. Los resultados en las semanas 6 y 12 mostraron una reducción de la concentración de hidrocarburos a lo largo del tiempo del ensayo.

Tabla 12: Concentraciones de Hidrocarburos Totales de Petróleo Fracción 2 (C₁₀ – C₂₈)

Muestras	Semanas		
	0	6	12
	mg/kg		
C	10427.00	9188.27	3539.67
T1	10468.67*	4700.70	1075.00
T2	10358.67*	2516.40	1129.67

*Concentración en T1, antes de la mezcla con 25% de lodos.

*Concentración en T2, antes de la mezcla con 50% de lodos.

La muestra T2 tuvo la menor concentración de hidrocarburos hasta la semana 6, seguida de la muestra T2 y por último el control C. En la semana 12 la muestra T2 obtuvo la menor concentración de hidrocarburos (1075 mg/kg), seguida de cerca por la muestra T2 (1129.67 mg/kg), y por último el control C (3539.67 mg/kg). Cabe mencionar que todas las muestras lograron alcanzar los niveles del ECA Suelo para Fracción de Hidrocarburos F2 (C₁₀–C₂₈) en al menos una categoría de uso de suelo (*Tabla 13*). Los tratamientos T1 y T2 alcanzaron los niveles para uso de suelo Agrícola, y Residencial/Parques; y el control C alcanzó los niveles para suelo Comercial/ Industrial/ Extractivo.

Tabla 13: Comparación de resultados con el ECA Suelo

Muestras	Concentración al final del ensayo	ECA SUELO		
		Fracción de Hidrocarburos F2 (C ₁₀ – C ₂₈).		
		Agrícola	Residencial / Parques	Comercial / Industrial / Extractivo
(mg/kg)				
C	3539.67	1200	1200	5000
T1	1075.00			
T2	1129.67			

Fuente: Adaptado de ECA Suelo (MINAM)

La tendencia de biorremediación según las concentraciones de hidrocarburos en las muestras se observó en tres momentos del ensayo: semana 1 (luego de la mezcla de las muestras T1 y T2 con lodos residuales), semana 6, y semana 12 (Gráfico 5). Asimismo, los porcentajes de biorremediación se evaluaron en tres momentos: primera mitad del ensayo (entre la semana 1 y la semana 6), segunda mitad del ensayo (entre la semana 6 y la semana 12) y biorremediación total (entre la semana 1 y la semana 12). En la primera mitad del ensayo, el tratamiento T2 (50% lodo) presentó una mayor biorremediación, con una remoción de hidrocarburos de 53%. El tratamiento T1 (25% lodo) presentó una remoción de 41%, mientras que en el control C (0% lodo) se dio una remoción del 12%. En la segunda mitad del ensayo, la biorremediación se incrementó. Las muestras C, T1 y T2 alcanzaron 54%, 46% y 26% respectivamente, siendo C la de mayor remoción. Al final del ensayo la mayor biorremediación se dio en el tratamiento T1, seguido por el tratamiento T2, y finalmente el control C con la menor remoción. Se obtuvieron porcentajes finales de biorremediación de 66%, 87% y 79% para C, T1 y T2 respectivamente (*Tabla 14*).

Gráfico 5: Biorremediación de Hidrocarburos Totales de Petróleo Fracción 2 (C₁₀ – C₂₈)

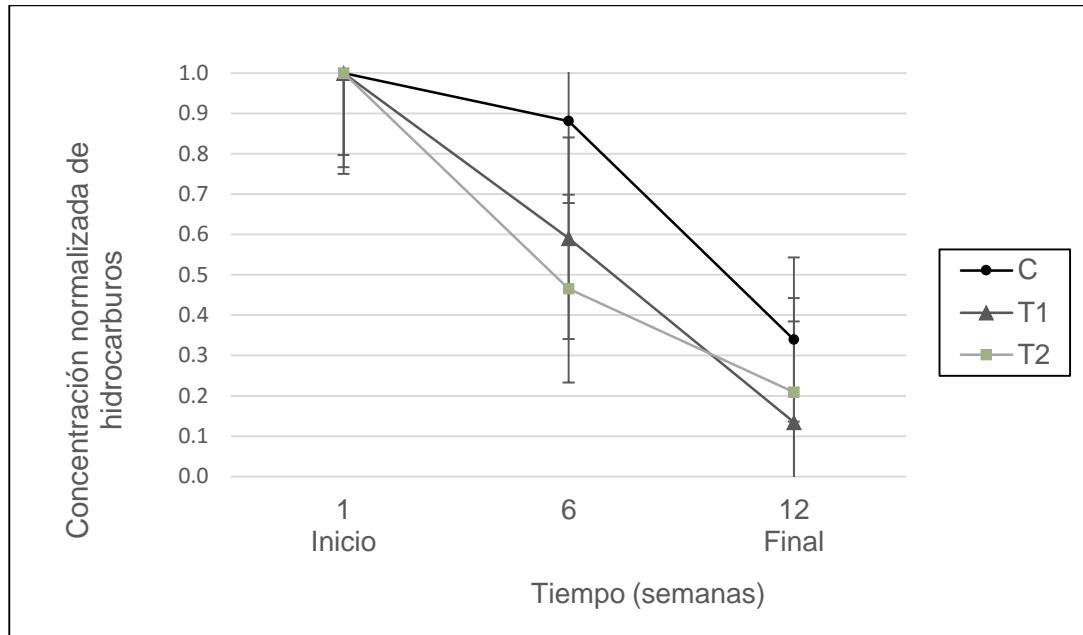


Tabla 14: Biorremediación de Hidrocarburos Totales de Petróleo Fracción 2 (C₁₀ – C₂₈)

Muestras	Periodos del ensayo (semanas)		
	1-6	6-12	Biorremediación Total
C	12%	54%	66%
T1	41%	46%	87%
T2	53%	26%	79%

2.6. Microorganismos heterótrofos mesófilos

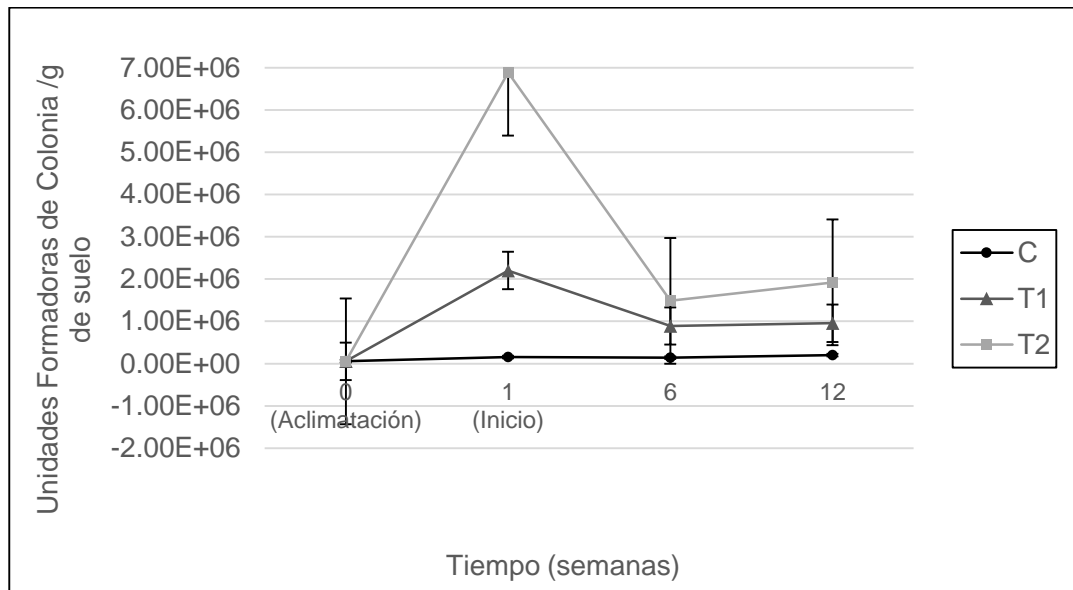
Se realizó un conteo de bacterias heterótrofas mesófilas. Los resultados presentados en la *Tabla 15*, mostraron un crecimiento en la fase de aclimatación hasta el inicio del ensayo (*Gráfico 6*). Desde la semana 1 hasta la semana 6 se evidenció disminución de la población bacteriana en todas

las muestras. Por último, se observó un crecimiento hacia la semana 12 en todas las muestras, superándose los niveles iniciales solo en el control C. La muestra T2 se mantuvo con la mayor cantidad de bacterias a lo largo de todo el ensayo.

Tabla 15: Número de bacterias en el tiempo

Muestras	Aclimatación	Semana 1 (inicio)	Semana 6	Semana 12
	Unidades Formadoras de Colonia (UFC)			
C	54 x 10 ³	154.83 x 10 ³	141.83 x 10 ³	197.43 x 10 ³
T1		220.17 x 10 ⁴	89 x 10 ⁴	95.50 x 10 ⁴
T2		68.84 x 10 ⁵	148.50 x 10 ⁴	192.17 x 10 ⁴

Gráfico 6: Crecimiento bacteriano



Se realizó la identificación de bacterias mediante el método de Tinción de Gram. Los resultados de observación en microscopio mostraron la predominancia de bacilos gram positivos (*Bacillus Sp.*).



Figura 12: *Bacillus Sp.* identificados en el control (C)

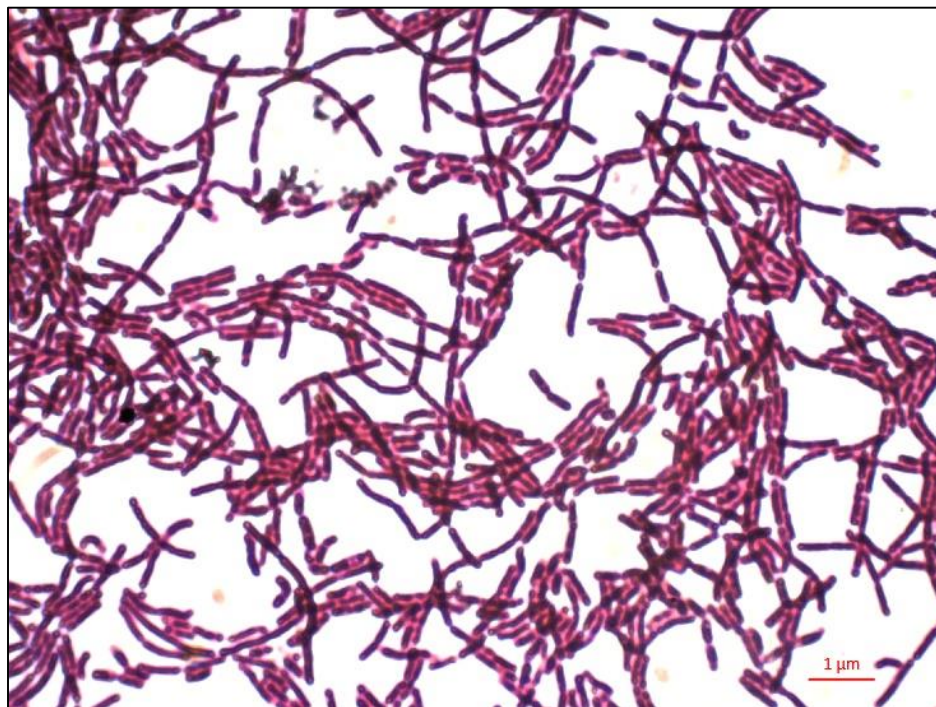


Figura 13: *Bacillus Sp.* identificados en el tratamiento 1 (T1)

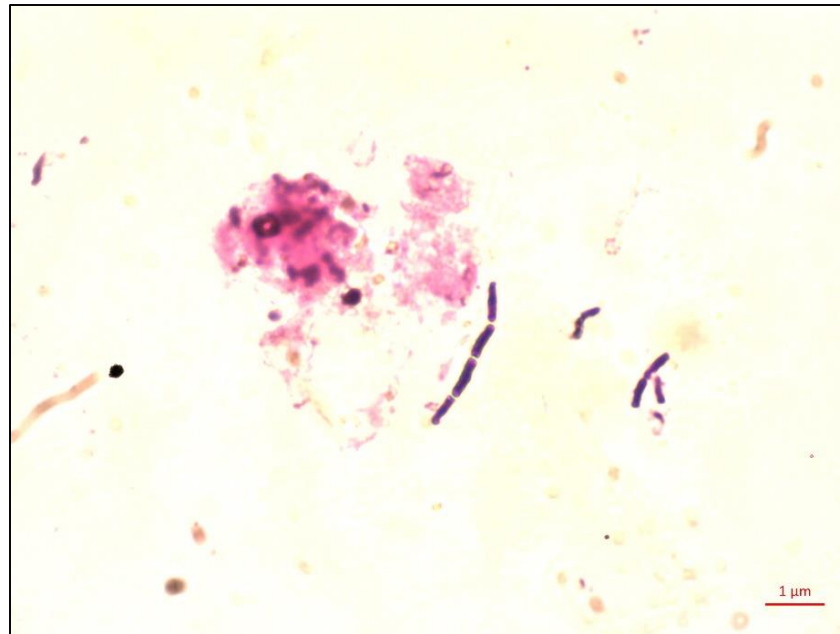


Figura 14: Bacillus Sp. identificados en el tratamiento 2 (T2)

3. Resultados del análisis estadístico

Se compararon los niveles de biorremediación de hidrocarburos entre las muestras. Se realizó el análisis ANOVA de un factor para las muestras en los periodos de la semana 1 a la 6; y de la semana 6 a la 12. Se utilizó un intervalo de confianza del 95%. Asimismo, se realizó la Prueba de Tukey para comparaciones múltiples, bajo los mismos criterios.

Los resultados del análisis de varianzas de las concentraciones biorremediadas de hidrocarburos en las muestras (*Tabla 16*), presentaron diferencias significativas en la semana 6 ($F = 78.07$; $p < 0.05$); y en la semana 12 ($F = 238.915$; $p < 0.05$). Se obtuvieron diferencias significativas en todas las comparaciones entre muestras, excepto entre T1 y T2 en la semana 6 (*Tabla 17*).

Tabla 16: Análisis de Varianza (ANOVA) de la biorremediación de hidrocarburos

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Semanas 1 - 6						
Entre grupos	6964580.06	2	3482290.03	78.07	5.08E-05	5.14
Dentro de los grupos	267636.04	6	44606.01			
Total	7232216.10	8				
Semanas 6 - 12						
Entre grupos	27268603.63	2	13634301.81	238.15	1.93E-06	5.14
Dentro de los grupos	343503.97	6	57250.66			
Total	27612107.60	8				

Tabla 17: Resumen de la prueba de Tukey (HSD) para la biorremediación de hidrocarburos

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Dif	Significativo
Semana 1 - 6					
T1 vs C	2025.07	11.74	3.068	< 0.0001	Sí
T1 vs T2	374.87	2.17	3.068	0.155	No
T2 vs C	1650.20	9.57	3.068	0.0000	Sí
Valor crítico del d de Tukey:			4.339		
Semana 6 -12					
C vs T2	4261.87	21.82	3.068	< 0.0001	Sí
C vs T1	2022.90	10.35	3.068	0.0000	Sí
T1 vs T2	2238.97	11.46	3.068	< 0.0001	Sí
Valor crítico del d de Tukey:			4.339		

Con relación a los resultados microbiológicos, se llevaron a cabo también el análisis de varianzas ANOVA y la prueba de Tukey. Los resultados del análisis de varianzas del número de bacterias (*Tabla 18*), presentaron diferencias significativas en la semana 1 ($F = 56.51$; $p < 0.05$); en la semana 6 ($F = 300.19$; $p < 0.05$); y en la semana 12 ($F = 130.08$; $p < 0.05$). Se obtuvieron diferencias significativas en todas las comparaciones entre muestras de las semanas 1, 6 y 12 (*Tabla 19*).

Tabla 18: Análisis de Varianza (ANOVA) del número de bacterias heterótrofas

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Semana 1						
Entre grupos	7.138E+13	2	3.569E+13	56.51	0.00012811	5.14
Dentro de los grupos	3.7894E+12	6	6.3157E+11			
Total	7.517E+13	8				
Semana 6						
Entre grupos	2.7179E+12	2	1.3589E+12	300.19	9.6873E-07	5.14
Dentro de los grupos	2.7161E+10	6	4526861111			
Total	2.745E+12	8				
Semana 12						
Entre grupos	4.4813E+12	2	2.2407E+12	130.08	1.1456E-05	5.14
Dentro de los grupos	1.0335E+11	6	1.7225E+10			
Total	4.5847E+12	8				

Tabla 19: Resumen de la prueba de Tukey (HSD) para el número de bacterias heterótrofas

Contraste	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Dif	Significativo
Semana 1					
T2 vs C	6728500.000	10.369	3.068	0.000	Sí
T2 vs T1	4681666.667	7.215	3.068	0.001	Sí
T1 vs C	2046833.333	3.154	3.068	0.045	Sí
Valor crítico del d de Tukey:			4.339		
Semana 6					
T2 vs C	1343166.667	22.646	3.068	< 0.0001	Sí
T2 vs T1	520000.000	8.767	3.068	0.000	Sí
T1 vs C	823166.667	13.879	3.068	< 0.0001	Sí
Valor crítico del d de Tukey:			4.339		
Semana 12					
T2 vs C	1724233.333	10.387	3.068	0.000	Sí
T2 vs T1	900000.000	5.422	3.068	0.004	Sí
T1 vs C	824233.333	4.965	3.068	0.006	Sí
Valor crítico del d de Tukey:			4.339		

VI. DISCUSIÓN

A partir de los resultados obtenidos, se analizó la variación de los diferentes parámetros, así como las relaciones entre ellos y la influencia de las condiciones ambientales en las que se desarrolló la fase experimental.

Las bacterias presentes (*Bacillus Sp.*) en el suelo muestreado tuvieron una respuesta positiva al periodo de aclimatación, experimentando un crecimiento en este tiempo. Al inicio del ensayo se evidenció una diferencia en el número de bacterias entre la muestra control y los tratamientos con lodos. La adición de lodos en las muestras T1 y T2 potenció la capacidad metabólica de las bacterias autóctonas del suelo al incrementar el contenido de nitrógeno disponible, así como

al mejorar las condiciones de humedad. Asimismo, la carga microbiana de los lodos tuvo influencia en el aumento del número de bacterias en las muestras. Por otro lado, la muestra control presentó un crecimiento considerablemente menor que el de las muestras T1 y T2.

El crecimiento bacteriano y la remoción de hidrocarburos siguieron tendencias similares al ser dos factores relacionados. Es así que tras la primera mitad del ensayo (semana 6) los tratamientos T1 y T2 presentaron mayores velocidades de degradación del contaminante, obteniendo remociones del 41% y 54% respectivamente. La muestra control no siguió la misma dinámica, removiendo solo el 12% de los hidrocarburos. Se observaron diferencias significativas entre los niveles de remoción de las muestras ($F = 78.07$; $p < 0.05$).

Al finalizar la primera mitad del ensayo, el número de bacterias se redujo en todas las muestras, sobre todo en T1 y T2. Esto se debió al rápido consumo de los nutrientes por parte de las bacterias, que a su vez consumieron gran cantidad del contaminante, dejando condiciones insuficientes para mantener la tendencia metabólica antes vista. La relación C/N se redujo en todas las muestras, mientras que el pH se mantuvo estable y la conductividad eléctrica fue en aumento debido al riego semanal para control de humedad.

Durante la segunda mitad del ensayo se observó una tendencia distinta entre las muestras. Según los resultados de la semana doce, el número de bacterias se incrementó en todas las muestras con respecto a la semana seis, pero manteniéndose por debajo de las cantidades iniciales. A diferencia de la primera

mitad, la muestra control fue la que presentó un incremento considerable en comparación a las muestras T1 y T2, las cuales aumentaron levemente. Este crecimiento pudo deberse al aumento de temperatura por el inicio del verano. Se observó una dinámica similar en la biorremediación de hidrocarburos. Las muestras C y T1 incrementaron sus niveles a 54% y 46%, mientras que la muestra T2 redujo su nivel a 26%. La biorremediación total en las muestras C, T1, y T2, fue de 66%, 87% y 79% respectivamente. Se observaron diferencias significativas entre los niveles de biorremediación de las muestras ($F = 238.15$; $p < 0.05$). El pH se mantuvo constante hasta el final del ensayo, mientras que la conductividad eléctrica siguió en aumento. La relación carbono nitrógeno experimento un incremento debido a la considerable disminución del contenido de nitrógeno, producto de la actividad bacteriana.

Los resultados del ensayo demostraron un crecimiento más lento de las bacterias presentes en la muestra C, alcanzando su mejor desempeño hacia el final del ensayo, luego de un proceso más largo de adaptación. A pesar de esto, esta muestra obtuvo un 66% de biorremediación, posiblemente por la óptima adaptación de las bacterias presentes en el suelo, siendo principalmente *Bacillus Sp.*, muy utilizadas para remediación de hidrocarburos. Asimismo, la naturaleza del diésel, sumada a las condiciones ambientales y del suelo, pudieron haber aumentado la tasa de remoción por volatilización u otros factores, contribuyendo a la favorable eficiencia de biorremediación observada. Por otro lado, las muestras T1 y T2 experimentaron un rápido incremento de la actividad metabólica de las bacterias gracias a la adición C y N de los lodos. Al tratarse de un lodo no estabilizado,

características como su alta carga de materia orgánica, alta conductividad y alto contenido de humedad no permitieron una mezcla estable a lo largo del ensayo en la muestra T2 (50%). Por otra parte, en la muestra T1 (25%) hubo una mejor mezcla, al predominar las características del suelo y permitir así un aporte más estable de nutrientes para las bacterias. Se evidencia la influencia de estas características y cantidades de lodos, sobre las tendencias de biorremediación. La biorremediación de la muestra T1 se mantuvo estable a lo largo del ensayo, a diferencia de la muestra T2, que sufrió una desaceleración hacia el final del ensayo, una vez terminado el efecto favorable de los lodos. La muestra C obtuvo el menor nivel de biorremediación, así como la menor velocidad. Por su parte la muestra T2 alcanzó la mayor velocidad y un alto nivel de biorremediación. Sin embargo, se considera a la muestra T1 como la mejor, al obtener el máximo nivel de biorremediación de hidrocarburos y demostrar además una dinámica de degradación más estable a lo largo de todo el ensayo.

Se considera que las pérdidas de contaminante por factores externos a la biorremediación, como por ejemplo la evaporación o volatilización, no superan el 10% (Dradasnia y Agamuthu 2013), no obstante, esto puede variar de acuerdo a las condiciones ambientales y las características del contaminante. Por otra parte, la reducción de concentración de hidrocarburos debido a las distintas composiciones de las muestras (mezcla con lodos) influyó en la remoción total del contaminante, considerándose un factor a favor del procedimiento de remediación. Asimismo, es importante considerar el efecto de la concentración inicial de hidrocarburos en cada muestra, luego de darse la dilución del contaminante por la mezcla con lodos. Al ser

la concentración de hidrocarburos inversamente proporcional a la velocidad y capacidad de degradación en el suelo, se entiende que suelos con menores concentraciones serán más fáciles de remediar que suelos con altas concentraciones, hasta pudiendo, en algunos casos, inhibirse la degradación debido a las grandes cantidades de hidrocarburos.

En comparación con otros autores, se encontró una similitud con los resultados obtenidos por Baek et al. (2007), quien observó una rápida degradación de los hidrocarburos en los primeros 28 días de ensayo, para tratamientos de bioestimulación y bioaumentación. Asimismo, también resalta la influencia de la disponibilidad de nutrientes para activar la comunidad bacteriana presente en el suelo, al favorecer su adaptación y capacidades de biodegradación. Por otra parte, Martínez et al. (2011) tras probar lodos como fuente alterna de nutrientes, obtuvo remociones de hidrocarburos entre 66 y 93%, siendo los mejores los tratamientos con lodos, al igual que en la presente investigación. Finalmente, Sarkar et al. (2005) obtuvo degradaciones de hasta 96% gracias a la adición de biosólidos para mejorar el proceso de biorremediación.

VII. CONCLUSIONES

El ensayo experimental permitió confirmar el aumento de eficiencia en el proceso de biorremediación del suelo contaminado con diésel, generado por la adición de lodos de PTARD como fuente de nutrientes y masa microbiana. Las muestras C, T1

y T2 alcanzaron eficiencias de biorremediación de hidrocarburos de 66%, 87%, y 79% respectivamente. Se obtuvo mayor eficiencia en los tratamientos con lodos.

El crecimiento bacteriano en las muestras T1 y T2 siguió la curva general, marcándose las etapas de crecimiento exponencial y muerte. La adición de lodos incrementó significativamente la velocidad de degradación del diésel en las primeras 6 semanas del ensayo. No obstante, condicionó la actividad bacteriana, evidenciándose un rápido decrecimiento del número de bacterias luego de la semana 6, al reducirse los valores de carbono y nitrógeno disponible. Por el contrario, las muestras sin lodo demostraron una tendencia distinta, con una etapa de latencia extendida y un posterior crecimiento progresivo.

En cuanto a las características físico-químicas del suelo, el pH y la temperatura se mantuvieron estables a lo largo del ensayo. La relación C/N presentó variaciones influenciadas de manera inversamente proporcional por la remoción de hidrocarburos y la actividad bacteriana. La conductividad eléctrica tuvo una tendencia de crecimiento a lo largo del ensayo, posiblemente ocasionada por el riego semanal para el control del contenido de humedad, que se mantuvo constante.

Las concentraciones de hidrocarburos obtenidas al final del ensayo alcanzaron los límites de los Estándares de Calidad Ambiental para Suelo (ECA Suelo) para el parámetro de Hidrocarburos de Petróleo - Fracción de Hidrocarburos F2 (C₁₀ – C₂₈). Las muestras T1 y T2 cumplieron el límite para suelo agrícola, y suelo

residencial/parques; mientras que la muestra control cumplió el límite para suelo comercial/industrial/extractivo.

Se logró aceptar la hipótesis de la presente investigación, comprobando el efecto positivo de la aplicación de lodos en el proceso de biorremediación de un suelo contaminado con diésel, al favorecer significativamente la biorremediación del contaminante a través de un incremento en la capacidad metabólica de las bacterias del suelo y sus velocidades de degradación. De esta forma se respalda el potencial de los lodos de PTARD para la mejora de procesos de biorremediación, dando a su vez una alternativa de gestión para este subproducto del tratamiento de aguas residuales.

VIII. RECOMENDACIONES

- Una mayor frecuencia de monitoreo de los parámetros principales (concentración de hidrocarburos, y número de bacterias), secundarios (C/N, pH, CE, humedad y temperatura), así como otros no considerados por temas de limitación de recursos, permitirá conocer a mayor profundidad la cinética de degradación del contaminante y la influencia de las condiciones ambientales, así como diferenciar completamente los estados del proceso de biorremediación.
- Para un mayor detalle en relación a los resultados de remoción de hidrocarburos, se recomienda analizar en la medida de lo posible otras variables relacionadas a la dinámica del contaminante en el suelo, tales como

la volatilidad, evaporación, solubilidad en agua, procesos bioquímicos alternativos, etc. Asimismo, la posible reducción de la concentración del contaminante por procesos ajenos a la biorremediación, como por ejemplo la dilución por mezcla de suelos.

- Para un análisis más detallado de la población microbiana se recomienda realizar pruebas más exhaustivas como ensayos bioquímicos o análisis molecular (extracción de ADN, PCR, etc).
- El análisis de los parámetros característicos de los lodos de PTARD (metales pesados, sólidos volátiles, patógenos, etc.) permitirá determinar su influencia sobre el suelo, siendo importante asegurar su estabilización de modo que pueda considerarse su aplicación en campo.
- Los ensayos de laboratorio son un primer acercamiento a los resultados reales, los cuales se determinarán en las experiencias de campo. Es importante reducir los márgenes de error en laboratorio al mantener la seguridad de las muestras y seguir los protocolos determinados para cada procedimiento. Asimismo, se recomienda asegurar las condiciones ambientales óptimas para el ensayo (temperatura, humedad, pH, etc.).

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Agamuthu P., Tan Y.S., y Fauziah S.H. (2013). Bioremediation of hydrocarbon contaminated soil using selected organic wastes. *Procedia Environmental Sciences*, 18: 694-702.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (1999). Public Health Statement: Total Petroleum Hydrocarbons. Recuperdo de: <http://www.atsdr.cdc.gov/PHS/PHS.asp?id=422&tid=75>.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (1999). Toxicological Profile for Total Petroleum Hydrocarbons (TPH). Recuperdo de: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp123.pdf>
- American Society of Testing and Materials (2014). Standard Test Methods for Laboratory Determination of Water (Moisture) Content of Soil and Rock by Mass. *Annual Book of ASTM Standards*, 04.08.
- Atlas M. (1995). Bioremediation of Petroleum Pollutants. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 35: 317-327.
- Atlas M. (1991). Microbial Hydrocarbon Degradation – Bioremediation of Oil Spills. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 52: 149-156.
- Baek K., Yoon B., Kim B., Cho D., Lee I., Oh H., y Kim H. (2007). Monitoring of microbial diversity and activity during bioremediation of crude oil-contaminated soil with different treatments. *Journal of Microbiology and Technology*, 17 (1): 67-73.
- Balba M.T., Al-Awadhi N., y Al-Daher R. (1998). Bioremediation of oil-contaminated soil: microbiological methods for feasibility assessment and field evaluation. *Journal of Microbiological Methods*, 32: 155-164.
- Beltrán-Pineda M.E., y Gómez-Rodríguez A.M. (2016). Biorremediación de metales pesados Cadmio (Cd), Cromo (Cr) y Mercurio (Hg). Mecanismos Bioquímicos e ingeniería genética: una revisión. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 4: 82-90.
- Benavides J., Quintero G., Guevara A.L., Jaimes D.C., Gutierrez S.M., y Miranda J. (2006). Bioremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. *Nova*, 4: 82-90.

- Bento F.M., Camargo F.A.O., Okeke B. C., y Frankenberger W.T. (2004). Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. *Bioresource Technology*, 96: 1049-1055.
- Brady N.C., y Weil R.R. (2002). *The Nature and Properties of Soils*, Nueva Jersey, Estados Unidos, Prentice Hall.
- Boopathy R. (2000). Factors limiting bioremediation technologies. *Bioresource Technology*, 74: 63-67.
- Cardenas C., Araujo I., Gómez K., Bohórguez M., Gómez A., Angulo N., Saules L., y Morillo G. (2010). Compostaje y fertilización en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. *Boletín del centro de investigaciones biológicas*, 44 (2): 129-142.
- Chen M., Xu P., Zeng G., Yang C., Huang D., y Zhang J. (2015). Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavymetals by composting: Applications, microbes and future research needs. *Biotechnology Advances*, 33: 745-755.
- Chrorm M., y Hosseini S.S. (2011). Bioremediation of Crude Oil-Polluted Soil by Sewage Sludge. *Pedologist*, 54 (3): 294-301.
- Cunningham C.J. y Philp J.C. (2000). Comparison of bioaugmentation and biostimulation in ex situ treatment of diesel contaminated soil. *Land Contamination & Reclamation*, 8 (4): 261-269.
- Dahalan F.A., Yunus I., Johari W.L.W, Shukor M.Y., Halmi M.I.E., Shamaan N.A., y Syed M.A. (2013). Growth kinetics of a diesel-degrading bacterial strain from petroleum-contaminated soil. *Journal of Environmental Biology*, 35: 399-406.
- Das N., y Chandran P. (2011). Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants: An Overview. *Biotechnology Research International*. doi:10.4061/2011/941810.

- Dirección General de Salud Ambiental e Inocuidad Alimentaria-DIGESA (2017). Resolución Directoral N° 026-2017/DIGESA/SA - Disponen medidas de seguridad en materia de la calidad del agua para consumo humano en los distritos de Urarinas y Parinari de la provincia y departamento de Loreto. Recuperado de: <http://siar.regionloreto.gob.pe/normas/disponen-medidas-seguridad-materia-calidad-agua-consumo-humano-distritos>.
- Diocaretz M.C., y Vidal G. (2010). Aspectos técnicos y económicos de procesos de higienización de lodos provenientes del tratamiento de aguas servidas. *Theoria*, 19 (1): 51-60.
- Dradasnia A., y Agamuthu P. (2013). Dynamics of diesel fuel degradation in contaminated soil using organic wastes. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 10: 769-778.
- Environmental Protection Agency. (2007). EPA Method 8015C: Nonhalogenated organics by gas chromatography. Recuperado de: <https://www.epa.gov/hw-sw846/sw-846-test-method-8015c-nonhalogenated-organics-gas-chromatography>
- Environmental Protection Agency. (2005). EPA Guidelines: Soil Bioremediation. Recuperado de: www.epa.sa.gov.au/files/8372_guide_soil.pdf.
- Environmental Protection Agency. (2003). Characteristics of Spilled Oils, Fuels, and Petroleum Products: 1. Composition and Properties of Selected Oils. Recuperado de: <https://www.epa.gov/nscep>.
- Environmental Protection Agency. (2000). Folleto Informativo de tecnología de biosólidos, Aplicación de biosólidos al terreno. Recuperado de: <https://www.epa.gov/nscep>
- Fantroussi S.E., y Agathos S.N. (2005). Is bioaugmentation a feasible strategy for pollutant removal and site remediation? *Current Opinion in Microbiology*, 8: 268-275.
- García Y., Ramírez W., y Sánchez S. (2012). Indicadores de la calidad de los suelos: una nueva manera de evaluar este recurso. *Pastos y Forrajes*, 35 (2):125-138.
- Geerdink M.J., van Loosdrecht M., y Luyben K. (1996). Biodegradability of diésel oil. *Biodegradation*, 7:73-81.

- Greenpeace (2012). Impactos ambientales del petróleo. Recuperado de: <https://www.greenpeace.org/mexico/publicacion/982/impactos-ambientales-del-petroleo/>
- Haghollahi A., Fazaelipoor M. H., y Schaffie M. (2016). The effect of soil type on the bioremediation of petroleum contaminated soils. *Journal of Environmental Management*, 180: 197-201.
- Han G., Cui B. X., Zhang X.X., Li K.R. (2016). The effects of petroleum-contaminated soil on photosynthesis of *Amorpha fruticosa* seedlings. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 13: 2383-2392.
- Hazardous Substance Research Center (2003). Environmental Update #12, South & Southwest Outreach Program. Recuperado de https://cfpub.epa.gov/ncer_abstracts/index.cfm/fuseaction/display.highlight/abstract/5345
- Health Protection Agency. (2007). Chemical hazards compendium. Diesel: General Information. Recuperado de: <https://www.gov.uk/government/publications/diesel-properties-incident-management-and-toxicology>.
- Kauppi S., Sinkkonen A., y Romantschuk M. (2011). Enhancing bioremediation of diesel-fuel-contaminated soil in a boreal climate: *Comparison of biostimulation and bioaugmentation*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65: 359-368.
- Kosobucki P., Chmarzynski A., Buszewski B. (2000). Sewage Sludge Composting. *Polish Journal of Environmental Studies*, 9 (4): 243-248.
- Kelessidis A., y Stasinakis A.S. (2012). Comparative study of the methods used for treatment and final disposal of sewage sludge in European countries. *Waste Management*, 32: 1186-1195.
- Larney F.J., Li L., Janzen H.H., Angers D.A., y Olson B.M. (2016). Soil quality attributes, soil resilience, and legacy effects following topsoil removal and one-time amendments. *Canadian Journal of Soil Science*, 96: 177-190.
- Limón J. (2013). Los lodos de las plantas de tratamiento de aguas residuales, ¿problema o recurso? Academia de Ingeniería, Jalisco, México.

- Ling C.C., e Isa M.H. (2006). Bioremediation of oil sludge contaminated soil by co-composting with sewage sludge. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 65: 364-369.
- Lin T., Pan P., Young C., Chang J., Chang T., y Cheng S. (2011) Evaluation of the optimal strategy for ex situ bioremediation of diesel oil-contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 18: 1487-1496.
- Lladó S., Solanas A.M., De Lapuente J., Borrás M., y Viñas M. (2012). A diversified approach to evaluate biostimulation and bioaugmentation strategies for heavy-oil-contaminated soil. *Science of the Total Environment*, 435-436: 262-269.
- MaCaulay B.M. (2014). Understanding the behaviour of oil-degrading micro-organisms to enhance the microbial remediation of spilled petroleum. *Applied Ecology and Environmental Research*, 13 (1): 247-262.
- Manahan, S., (2007), Introducción a la química ambiental, México DF, México, Editorial Reverté.
- Marchal R., Penet S., Solano-Serena F., y Vandecasteele J.P. (2003). Gasoline and Diesel Oil Biodegradation. *Oil & Gas Science and Technology*, 58 (4): 441-448.
- Margesin R., Zimmerbauer A., y Schinner F. (2000). Monitoring of bioremediation by soil biological activities. *Chemosphere*, 40: 339-346.
- Maroto A., y Quesada R. (2008) Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminados por hidrocarburos. *Geocisa. Div. Protección Ambiental de Suelos*: 297-305.
- Márquez-Rocha F.J., Hernández-Rodríguez V., y Lamela T. (2001). Biodegradation of diésel oil in soil by a microbial consortium. *Water, Air, and Soil Pollution*, 128: 313-320.
- Martínez A., Pérez M.E., Pinto J., Gurrola B.A., y Osorio A.L. (2011). Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos empleando lodos residuales como fuente alterna de nutrientes. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 27 (3): 241-252.
- Ministerio del Ambiente. (2016). Emergencia ambiental en cuencas de Loreto: Más de 40 años de extracción petrolera. Lima, Perú: <http://www.minam.gob.pe/cuencas/mas-de-40-anos-de-extraccion-petrolera>.

- Ministerio del Ambiente. (2013). Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo. Recuperado de: <http://www.minam.gob.pe/calidadambiental/wp-content/uploads/sites/22/2013/10/D-S-N-002-2013-MINAM.pdf>.
- Ministerio de Vivienda Construcción y Saneamiento (2017). Reglamento para el Reaprovechamiento de los Lodos generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales. Recuperado de: <http://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2017/06/DS-015-2017-VIVIENDA.pdf>
- Morgan P., y Watkinson R. (1989). Hydrocarbon degradation in soils and methods for soil biotreatment. *Critical Reviews in Biotechnology*, 8: 305-333.
- Namkoong W., Hwang E., Park J., y Choi J. (2002). Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting. *Environmental Pollution*, 119: 23-31.
- Organismo de Evaluación y Fiscalización Ambiental. (2013). Resumen Evaluación ambiental de calidad de suelos en el lote 1-ab, correspondiente a la cuenca del Corrientes. Recuperado de: <https://observatoriopetrolero.org/wp-content/uploads/2013/08/RESUMEN-INFORME-OEFA-Corrientes2013.pdf>
- Organismo de Evaluación y Fiscalización Ambiental. (2016). Resolución Directoral N°012 - 2016 - OEFA/DS. Recuperado de: https://www.oefa.gob.pe/?wpfb_dl=16917.
- Oropeza N. (2006). Lodos residuales: estabilización y manejo. *Caos Conciencia*, 1: 51-58.
- Ortiz E., Núñez R., Fonseca E., Oramas J., Almazán V., Cabranes Y., Miranda A., Barbán O., Martínez C., Díaz Y., y Borges G. (2005). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. *Revista Contribución a la Educación y la Protección del Medio Ambiente*, (6): 51-60.
- Park I., y Park J. (2010). Determination of a risk management primer at petroleum-contaminated sites: Developing new human health risk assessment strategy. *Journal of Hazardous Materials*, 185: 1374-1380.
- Pinedo J., Ibáñez R., Lijzen J.P.A, y Irabien Á. (2013). Assessment of soil pollution based on total petroleum hydrocarbons and individual oil substances. *Journal of Environmental Management*, 130: 72-79.

- Plice M. J. (1948). Some Effects of Crude Petroleum on Soil Fertility. *Soil Science Society of America Journal*, 13: 413-416.
- Ragothaman A., y Anderson W.A. (2017) Air Quality Impacts of Petroleum Refining and Petrochemical Industries. *Environments*, 4, 66.
- Riazi M.R. (2005). Characterization and Properties of Petroleum Fractions, Ciudad de Kuwait, Kuwait, ASTM International.
- Richard T., y Trautmann N. (1996). Cornell Composting. Cornell Waste Management Institute. Recuperado de: http://compost.css.cornell.edu/calc/cn_ratio.html
- Ros M., Hernández M.T., García C. (2003). Bioremediation of Soil Degraded by Sewage Sludge: Effects on Soil Properties and Erosion Losses. *Environmental Management*, 31 (6): 741-747.
- Saadoun I. (2015). Impact of Oil Spills on Marine Life. Emerging Pollutants in the Environment - Current and Further Implications. IntechOpen. Recuperado de: <https://www.intechopen.com/books/emerging-pollutants-in-the-environment-current-and-further-implications/impact-of-oil-spills-on-marine-life>
- Sarkar D., Ferguson M., Datta R., y Birnbaum S. (2005). Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: Comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation. *Environmental Pollution*, 136: 187-195.
- Sepic E., Trier C., y Leskovsek H. (1996). Biodegradation Studies of Selected Hydrocarbons From Diesel Oil. *Analyst*, 121: 1451-1456.
- Smol M., Kulczycka J., Henclik A., y Gorazda K. (2015). The possible use of sewage sludge ash (SSA) in the construction industry as a way towards a circular economy. *Journal of Cleaner Production*, 95: 45-54.
- Soil Science Society of America. (2016). Soil Basics. Washington DC, Estados Unidos: <https://www.soils.org>.
- Solanas A.M. (2009). La biodegradación de hidrocarburos y su aplicación en la biorremediación de suelos. *Estudios en la Zona no Saturada del Suelo*, 9.
- Suja F., Rahim F., Taha M.R., Hambali N., Razali M. R., Khalid A. y Hamzah A. (2014). Effects of local microbial bioaugmentation and biostimulation on

the bioremediation of total petroleum hydrocarbons (TPH) in crude oil contaminated soil based on laboratory and field observations. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 90: 115-122.

- Superintendencia Nacional de Servicios de Saneamiento (2015). Diagnóstico de las plantas de tratamiento de aguas residuales en el ámbito de operación de las entidades prestadoras de servicios de saneamiento. Recuperado de: <https://www.sunass.gob.pe/doc/Publicaciones/ptar.pdf>
- Szulc A., Ambrozewicz D., Sydow M., Lawniczak L., Piotrowska-Cyplik A., Marecik R., y Chrzanowski L. (2014). The influence of bioaugmentation and biosurfactant addition on bioremediation efficiency of diesel-oil contaminated soil: Feasibility during field studies. *Journal of Environmental Management*, 132:121-128.
- Thomas J.M., Ward C.H., Raymond R.L., Wilson J.T., y Loehr R.C. (1992). Bioremediation. *Encyclopedia of Microbiology*. California, Estados Unidos. Academic Press.
- Torres P., Escobar J., Pérez A., Imery R., Nates P., Sánchez G., Sánchez M., y Bermúdez A. (2005). Influencia del material de enmienda en el compostaje de lodos de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales –PTAR. *Ingeniería e Investigación*, 25 (2): 53-61.
- Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group. (1998). Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group Series, Volume 1: Analysis of Petroleum Hydrocarbons in Environmental Media.
- Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group (1997). Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group Series, Volume 3: Selection of Representative TPH Fractions Based on Fate and Transport Considerations. Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group Series, 3.
- Tyagi M., Da Fonseca M.M.R., y de Carvalho C.C.C.R. (2011). Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes. *Biodegradation*, 22: 231-241.
- Van Hamme J.D., Singh A., y Ward O.P. (2003). Recent Advances in Petroleum Microbiology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67 (4): 503-549.
- Van Straalen N.M. (2002). Assessment of soil contamination – a functional perspective. *Biodegradation*, 13: 41-52.

- Wang J., Liu X., Zhang X., Liang X., Zhang W. (2011). Growth response and phytoremediation ability of Reed for diesel contaminant. *Procedia Environmental Sciences*, 8:68-74.
- Wu M., Dick W.A., Li W., Wang X., Yang Q., Wang T., Xu L., Zhang M., Chen L. (2016). Bioaugmentation and biostimulation of hydrocarbon degradation and the microbial community in a petroleum-contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 107: 158-164.
- Xu R., y Obbard P. (2003). Effect of Nutrient Amendments on Indigenous Hydrocarbon Biodegradation in Oil- contaminated Beach Sediments. *Journal of Environmental Quality*, 32: 1234-1243.
- Zhang J., Lin X., Liu W., Wang Y., Zeng J., y Chen H. (2012). Effect of organic wastes on the plant-microbe remediation for removal of aged PAHs in soils. *Journal of Environmental Sciences*, 24 (8): 1476-1482.

X. ABREVIATURAS

ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
BTEX	Benceno, Tolueno, Etilbenceno y Xileno
COV	Compuestos Orgánicos Volátiles
DIGESA	Dirección General de Salud Ambiental e Inocuidad Alimentaria
DWTP	Domestic Waste Water Treatment Plant
DRO	Diesel Range Organics
EPA	Environmental Protection Agency
ECA	Estándares de Calidad Ambiental
HPA	Health Protection Agency
HSRC	Hazardous Substance Research Center
MINAM	Ministerio del Ambiente
MVCS	Ministerio de Vivienda Construcción y Saneamiento
OEFA	Organismo de Evaluación y Fiscalización Ambiental
PAH	Polycyclic Aromatic Hydrocarbons
PCR	Polymerase Chain Reaction
PTAR	Planta de Tratamiento de Aguas Residuales
PTARD	Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Domesticas
SUNASS	Superintendencia Nacional de Servicios de Saneamiento
SSSA	Soil Science Society of America
TPH	Total Petroleum Hydrocarbons
TPHCWG	Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group
UNALM	Universidad Nacional Agraria La Molina
UFC	Unidades Formadoras de Colonia
VGO	Vacuum Gas Oil

XI. ANEXOS
ANEXO 1: Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo - Decreto Supremo N° 011-2017-MINAM

Parámetros en mg/kg PS	Usos del Suelo			Métodos de ensayo
	Suelo Agrícola	Suelo Residencial/ Parques	Suelo Comercial/ Industrial/ Extractivo	
ORGÁNICOS				
Hidrocarburos aromáticos volátiles				
Benceno	0.03	0.03	0.03	EPA 8260(9) EPA 8021
Tolueno	0.37	0.37	0.37	EPA 8260 EPA 8021
Etilbenceno	0.082	0.082	0.082	EPA 8260 EPA 8021
Xilenos	11	11	11	EPA 8260 EPA 8021
Hidrocarburos poliaromáticos				
Naftaleno	0.1	0.6	22	EPA 8260 EPA 8021 EPA 8270
Benzo(a) pireno	0.1	0.7	0.7	EPA 8270
Hidrocarburos de Petróleo				
Fracción de hidrocarburos F1 (C6-C10)	200	200	500	EPA 8015
Fracción de hidrocarburos F2 (>C10-C28)	1200	1200	5000	EPA 8015
Fracción de hidrocarburos F3 (>C28-C40)	3000	3000	6000	EPA 8015
Compuestos Organoclorados				
Bifenilos policlorados - PCB	0.5	1.3	33	EPA 8082 EPA 8270
Tetracloroetileno	0.1	0.2	0.5	EPA 8260
Tricloroetileno	0.01	0.01	0.01	EPA 8260
INORGÁNICOS				

Arsénico	50	50	140	EPA 3050 EPA 3051
Bario total	750	500	2000	EPA 3050 EPA 3051
Cadmio	1.4	10	22	EPA 3050 EPA 3051
Cromo total	**	400	1000	EPA 3050 EPA 3051
Cromo VI	0.4	0.4	1.4	EPA 3060/ EPA 7199 ó DIN EN 15192
Mercurio	6.6	6.6	24	EPA 7471 EPA 6020 ó 200.8
Plomo	70	140	800	EPA 3050 EPA 3051
Cianuro Libre	0.9	0.9	8	EPA 9013 SEMWW-AWWA- WEF 4500 CN F o ASTM D7237 y/ó ISO 17690:2015

Fuente: El Peruano 2017

ANEXO 2: Informes de laboratorio de la caracterización del suelo

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES

ANÁLISIS DE SUELO: CARACTERIZACIÓN

Solicitante : JORGE VILLENA VERGARA

Departamento : LIMA

Distrito : LA MOLINA

Referencia : H.R. 64875-128SC-18

Bolt. : 1874

Provincia : LIMA

Predio :

Fecha : 11/09/18

Número de Muestra		pH (1:1)	C.E. (1:1) dS/m	CaCO ₃ %	M.O %	P ppm	K ppm	Análisis Mecánico			Clase Textural	CIC	Cationes Cambiables					Suma de cationes	Suma de bases	% Sat. De Bases
Lab	Claves							Arena	Limo	Arcilla			Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	AL ³⁺ + H ⁺			
								%	%	%										
11510		7.68	0.58	2.00	0.69	2.3	135	47	26	27	Fr.Ar.A.	12.80	10.69	1.48	0.31	0.32	0.00	12.80	12.80	100

A=Arena; A.Fr. = Franco Arenoso; Fr = Franco; Fr.L. = Franco Limoso; L = Limoso; Fr.Ar.A. = Franco Arcilloso Arenoso; Fr. Ar. = Franco Arcilloso;
 Fr.Ar.L. = Franco Arcillo Limoso; Ar.A = Arcillo Arenoso; Ar. L=Arcillo Limoso; Ar. = Arcilloso

Dr. Sady García Bendezú
Jefe del Laboratorio

ANEXO 3: Informes de laboratorio de los análisis de hidrocarburos

INFORME DE ENSAYO N°: IE-18-3441

I. DATOS DEL SERVICIO

1. RAZÓN SOCIAL	:	JORGE VILLENA
2. DIRECCION	:	NO INDICA
3. PROYECTO	:	NO INDICA
4. PROCEDENCIA	:	UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA (UNALM)
5. SOLICITANTE	:	JORGE VILLENA
6. ORDEN DE SERVICIO N°	:	OS-18-1407
7. PLAN DE MONITOREO	:	NO APLICA
8. MUESTREO POR	:	EL CLIENTE
9. FECHA DE EMISIÓN DE INFORME	:	2018-10-04

II. DATOS DE ÍTEMS DE ENSAYO

1. MATRIZ	:	SUELO
2. NÚMERO DE MUESTRAS	:	10
3. FECHA DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS	:	2018-09-21
4. PERIODO DE ENSAYO	:	2018-09-21 al 2018-10-04

III. MÉTODOS Y REFERENCIAS

TIPO DE ENSAYO	NORMA REFERENCIA	TÉCNICA
Hidrocarburos Totales de Petróleo Fracción 2 (C10 A C28)(*)	EPA METHOD 8015C Rev. 03. 2007	Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography

Marco A. Valencia Huerta

Ing. Químico

Gerente General

N° CIP: 152207

IV. RESULTADOS

ITEM	1	2	3
CÓDIGO DE LABORATORIO: CÓDIGO DEL CLIENTE:	M-9990 C1	M-9991 C2	M-9992 C3
COORDENADAS UTM WGS 84:	NO INDICA		
MATRIZ:	SUELO		
INSTRUCTIVO DE MUESTREO:	NO APLICA		
FECHA: HORA:	2018-09-20 14:00	2018-09-20 14:00	2018-09-20 14:00
ENSAYO	UNIDAD	L.C.M.	RESULTADOS
Hidrocarburos			
Hidrocarburos Totales de Petróleo Fracción 2(C10 a C28)(*)	mg/kg MS	10	10421 10525 10335

ITEM	4	5	6
CÓDIGO DE LABORATORIO: CÓDIGO DEL CLIENTE:	M-9993 T1.1	M-9994 T1.2	M-9995 T1.3
COORDENADAS UTM WGS 84:	NO INDICA		
MATRIZ:	SUELO		
INSTRUCTIVO DE MUESTREO:	NO APLICA		
FECHA: HORA:	2018-09-20 14:00	2018-09-20 14:00	2018-09-20 14:00
ENSAYO	UNIDAD	L.C.M.	RESULTADOS
Hidrocarburos			
Hidrocarburos Totales de Petróleo Fracción 2(C10 a C28)(*)	mg/kg MS	10	10282 10628 10496

"L.C.M." : Límite de Cuantificación del Método

(*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL- DA

Los resultados contenidos en el presente documento sólo están relacionados con los ítems ensayados.

No se debe reproducir el informe de ensayo, excepto en su totalidad, sin la aprobación escrita de Analytical Laboratory E.I.R.L.

Los resultados de los ensayos, no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

ITEM			7	8	9
CÓDIGO DE LABORATORIO: CÓDIGO DEL CLIENTE:			M-9996 T2.1	M-9997 T2.2	M-9998 T2.3
COORDENADAS UTM WGS 84:			NO INDICA		
MATRIZ:			SUELO		
INSTRUCTIVO DE MUESTREO:			NO APLICA		
FECHA: HORA:			2018-09-20 14:00	2018-09-20 14:00	2018-09-20 14:00
ENSAYO	UNIDAD	L.C.M.	RESULTADOS		
Hidrocarburos					
Hidrocarburos Totales de Petróleo Fracción 2(C10 a C28)(*)	mg/kg MS	10	10306	10364	10406

ITEM			10
CÓDIGO DE LABORATORIO: CÓDIGO DEL CLIENTE:			M-9999 L
COORDENADAS UTM WGS 84:			NO INDICA
MATRIZ:			SUELO
INSTRUCTIVO DE MUESTREO:			NO APLICA
FECHA: HORA:			2018-09-20 14:00
ENSAYO	UNIDAD	L.C.M.	RESULTADOS
Hidrocarburos			
Hidrocarburos Totales de Petróleo Fracción 2(C10 a C28)(*)	mg/kg MS	10	452

"L.C.M." : Límite de Cuantificación del Método

(*) Los métodos indicados no han sido acreditados por el INACAL- DA

Los resultados contenidos en el presente documento sólo están relacionados con los ítems ensayados.

No se debe reproducir el informe de ensayo, excepto en su totalidad, sin la aprobación escrita de Analytical Laboratory E.I.R.L.

Los resultados de los ensayos, no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

"FIN DEL DOCUMENTO"

INFORME DE ENSAYO N°: IE-18-4065

V. DATOS DEL SERVICIO

10. RAZÓN SOCIAL	:	JORGE DAVID VILLENA VERGARA
11. DIRECCION	:	NO INDICA
12. PROYECTO	:	NO INDICA
13. PROCEDENCIA	:	UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
14. SOLICITANTE	:	JORGE DAVID VILLENA VERGARA
15. ORDEN DE SERVICIO N°	:	OS-18-1645
16. PLAN DE MONITOREO	:	NO APLICA
17. MUESTREO POR	:	EL CLIENTE
18. FECHA DE EMISIÓN DE INFORME	:	2018-11-16

VI. DATOS DE ÍTEMS DE ENSAYO

5. MATRIZ	:	SUELO
6. NÚMERO DE MUESTRAS	:	9
7. FECHA DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS	:	2018-11-06
8. PERIODO DE ENSAYO	:	2018-11-06 al 2018-11-16

VII. MÉTODOS Y REFERENCIAS

TIPO DE ENSAYO	NORMA REFERENCIA	TÉCNICA
Hidrocarburos Totales de Petróleo Fracción 2 (C10 A C28)(*)	EPA METHOD 8015C Rev. 03. 2007	Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography

Marco A. Valencia Huerta

Ing. Químico

Gerente General

N° CIP: 152207

VIII. RESULTADOS

ITEM		1	2	3	
CÓDIGO DE LABORATORIO: CÓDIGO DEL CLIENTE:		M-11579 C1	M-11580 C2	M-11581 C3	
COORDENADAS UTM WGS 84:		NO INDICA			
MATRIZ:		SUELO			
INSTRUCTIVO DE MUESTREO:		NO APLICA			
FECHA: HORA:		2018-11-06 12:00	2018-11-06 12:00	2018-11-06 12:00	
ENSAYO	UNIDAD	L.C.M.	RESULTADOS		
Hidrocarburos					
Hidrocarburos Totales de Petróleo Fracción 2(C10 a C28)(*)	mg/kg MS	10	8954.0	9415.5	9195.3

ITEM		4	5	6	
CÓDIGO DE LABORATORIO: CÓDIGO DEL CLIENTE:		M-11582 T1.1	M-11583 T1.2	M-11584 T1.3	
COORDENADAS UTM WGS 84:		NO INDICA			
MATRIZ:		SUELO			
INSTRUCTIVO DE MUESTREO:		NO APLICA			
FECHA: HORA:		2018-11-06 12:00	2018-11-06 12:00	2018-11-06 12:00	
ENSAYO	UNIDAD	L.C.M.	RESULTADOS		
Hidrocarburos					
Hidrocarburos Totales de Petróleo Fracción 2(C10 a C28)	mg/kg MS	10	4736.8	4783.2	4582.1

"L.C.M." : Límite de Cuantificación del Método

Los resultados contenidos en el presente documento sólo están relacionados con los ítems ensayados.

No se debe reproducir el informe de ensayo, excepto en su totalidad, sin la aprobación escrita de Analytical Laboratory E.I.R.L.

Los resultados de los ensayos, no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

ITEM			7	8	9
CÓDIGO DE LABORATORIO: CÓDIGO DEL CLIENTE:			M-11585 T2.1	M-11586 T2.2	M-11587 T2.3
COORDENADAS UTM WGS 84:			NO INDICA		
MATRIZ:			SUELO		
INSTRUCTIVO DE MUESTREO:			NO APLICA		
FECHA: HORA:			2018-11-06 12:00	2018-11-06 12:00	2018-11-06 12:00
ENSAYO	UNIDAD	L.C.M.	RESULTADOS		
Hidrocarburos					
Hidrocarburos Totales de Petróleo Fracción 2(C10 a C28)	mg/kg MS	10	2792.4	2358.3	2398.5

"L.C.M." : Límite de Cuantificación del Método

Los resultados contenidos en el presente documento sólo están relacionados con los ítems ensayados.

No se debe reproducir el informe de ensayo, excepto en su totalidad, sin la aprobación escrita de Analytical Laboratory E.I.R.L.

Los resultados de los ensayos, no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

“FIN DEL DOCUMENTO”

INFORME DE ENSAYO N°: IE-18-4952

IX. DATOS DEL SERVICIO

19. RAZÓN SOCIAL	:	JORGE DAVID VILLENA VERGARA
20. DIRECCION	:	NO INDICA
21. PROYECTO	:	NO INDICA
22. PROCEDENCIA	:	UNALM
23. SOLICITANTE	:	JORGE DAVID VILLENA VERGARA
24. ORDEN DE SERVICIO N°	:	OS-18-1976
25. PLAN DE MONITOREO	:	NO APLICA
26. MUESTREADO POR	:	EL CLIENTE
27. FECHA DE EMISIÓN DE INFORME	:	2019-01-07

X. DATOS DE ÍTEMS DE ENSAYO

9. MATRIZ	:	SUELO
10. NÚMERO DE MUESTRAS	:	9
11. FECHA DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS	:	2018-12-20
12. PERIODO DE ENSAYO	:	2018-12-20 al 2019-01-07

XI. MÉTODOS Y REFERENCIAS

TIPO DE ENSAYO	NORMA REFERENCIA	TÉCNICA
Hidrocarburos Totales de Petróleo Fracción 2 (C10 A C28)(*))	EPA METHOD 8015C Rev. 03. 2007	Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography

Marco A. Valencia Huerta

Ing. Químico

Gerente General

N° CIP: 152207

"EPA" : U. S. Environmental Protection Agency. Methods for Chemicals Analysis

XII. RESULTADOS

ITEM				1	2	3
CÓDIGO DE LABORATORIO: CÓDIGO DEL CLIENTE:				M-14204 C1	M-14205 C2	M-14206 C3
COORDENADAS UTM WGS 84:				NO INDICA		
MATRIZ:				SUELO		
INSTRUCTIVO DE MUESTREO:				NO APLICA		
FECHA: HORA:				2018-12-20 3:30	2018-12-20 3:30	2018-12-20 3:30
ENSAYO	UNIDAD	L.C.M.	RESULTADOS			
Hidrocarburos						
Hidrocarburos Totales de Petróleo Fracción 2(C10 a C28)(*)	mg/kg MS	10	3653	3439	3527	

ITEM				4	5	6
CÓDIGO DE LABORATORIO: CÓDIGO DEL CLIENTE:				M-14207 T1-1	M-14208 T1-2	M-14209 T1-3
COORDENADAS UTM WGS 84:				NO INDICA		
MATRIZ:				SUELO		
INSTRUCTIVO DE MUESTREO:				NO APLICA		
FECHA: HORA:				2018-12-20 3:30	2018-12-20 3:30	2018-12-20 3:30
ENSAYO	UNIDAD	L.C.M.	RESULTADOS			
Hidrocarburos						
Hidrocarburos Totales de Petróleo Fracción 2(C10 a C28)	mg/kg MS	10	959	1201	1065	

"L.C.M." : Límite de Cuantificación del Método

Los resultados contenidos en el presente documento sólo están relacionados con los ítems ensayados.

No se debe reproducir el informe de ensayo, excepto en su totalidad, sin la aprobación escrita de Analytical Laboratory E.I.R.L.

Los resultados de los ensayos, no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

ITEM		7	8	9	
CÓDIGO DE LABORATORIO: CÓDIGO DEL CLIENTE:		M-14210 T2-1	M-14211 T2-2	M-14212 T2-3	
COORDENADAS UTM WGS 84:		NO INDICA			
MATRIZ:		SUELO			
INSTRUCTIVO DE MUESTREO:		NO APLICA			
FECHA: HORA:		2018-12-20 3:30	2018-12-20 3:30	2018-12-20 3:30	
ENSAYO	UNIDAD	L.C.M.	RESULTADOS		
Hidrocarburos					
Hidrocarburos Totales de Petróleo Fracción 2(C10 a C28)	mg/kg MS	10	1193	1149	1047

"L.C.M." : Límite de Cuantificación del Método

Los resultados contenidos en el presente documento sólo están relacionados con los ítems ensayados.

No se debe reproducir el informe de ensayo, excepto en su totalidad, sin la aprobación escrita de Analytical Laboratory E.I.R.L.

Los resultados de los ensayos, no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.

"FIN DEL DOCUMENTO"

ANEXO 4: Informes de laboratorio de los análisis de carbono y nitrógeno

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES

INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN SUELO

SOLICITANTE : JORGE VILLENA VERGARA
 PROCEDENCIA : LIMA
 REFERENCIA : H.R. 65092
 BOLETA : 1940
 FECHA : 28/09/2018

Número Muestra		N %	C %
Lab	Claves		
5402	C1	0.04	0.96
5403	C2	0.04	0.96
5404	C3	0.04	0.99
5405	T1.1	0.25	2.18
5406	T1.2	0.25	2.14
5407	T1.3	0.26	2.14
5408	T2.1	0.44	2.82
5409	T2.2	0.43	2.88
5410	T2.3	0.46	2.98
5411	S.N	0.05	0.45

Dr. Sady García Bendezú
Jefe del Laboratorio

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES

INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN SUELO

SOLICITANTE : JORGE VILLENA VERGARA
 PROCEDENCIA : LIMA
 REFERENCIA : H.R. 65093
 MUESTRA : LODO
 BOLETA : 1940
 FECHA : 28/09/2018

Número Muestra		N %	C %
Lab	Claves		
5412		4.32	22.56

Dr. Sady García Bendezú
Jefe del Laboratorio

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES

INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN SUELO

SOLICITANTE : JORGE DAVID VILLENA VERGARA
 PROCEDENCIA : LIMA/ LIMA/ LA MOLINA
 REFERENCIA : H.R. 65830
 BOLETA : 2119
 FECHA : 19/11/2018

Número Muestra		N %	C %
Lab	Claves		
6469	C1	0.05	0.83
6470	C2	0.05	0.80
6471	C3	0.05	0.65
6472	T1-1	0.26	1.60
6473	T1-2	0.25	1.66
6474	T1-3	0.24	1.60
6475	T2-1	0.46	1.91
6476	T2-2	0.50	2.53
6477	T2-3	0.50	2.27

Dr. Sady García Bendezú
Jefe del Laboratorio

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA
 LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES

INFORME DE ANALISIS ESPECIAL EN SUELO

SOLICITANTE : JORGE DAVID VILLENA VERGARA
 PROCEDENCIA : LIMA
 REFERENCIA : H.R. 66581
 BOLETA : 2406
 FECHA : 07/01/2019

Número Muestra		N %	C %
Lab	Claves		
7288	1.1	0.10	1.76
7289	1.2	0.06	1.76
7290	1.3	0.11	1.66
7291	2.1	0.47	3.07
7292	2.2	0.29	3.29
7293	2.3	0.23	2.94
7294	C1	0.06	1.12
7295	C2	0.07	0.95
7296	C3	0.04	1.02

Dr. Sady García Bendezú
Jefe del Laboratorio

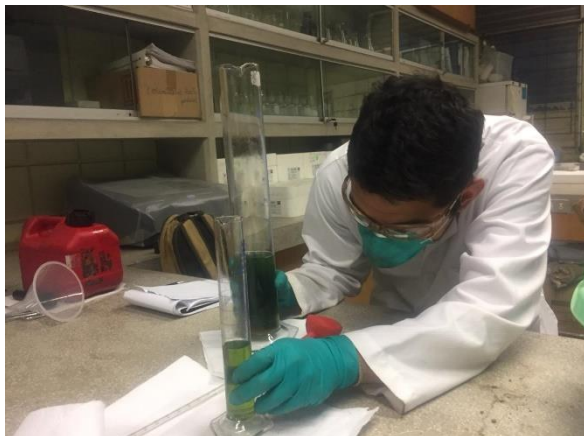
ANEXO 5: Registro fotográfico del ensayo



Calicata para muestreo de suelo



Muestra compuesta de suelo



Diésel comercial Repsol



Contaminación artificial de la muestra



Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Santa Clara (SEDAPAL)



Recolección de lodos



Lodos de PTARD



Instalación del ensayo en laboratorio



Medición de parámetros físico-químicos



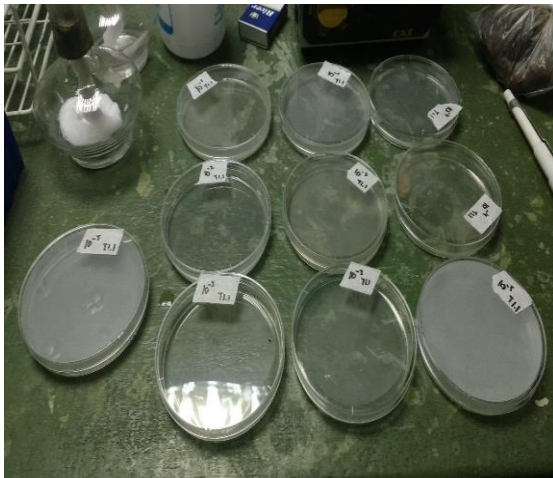
Determinación de humedad



Muestras para análisis de hidrocarburos



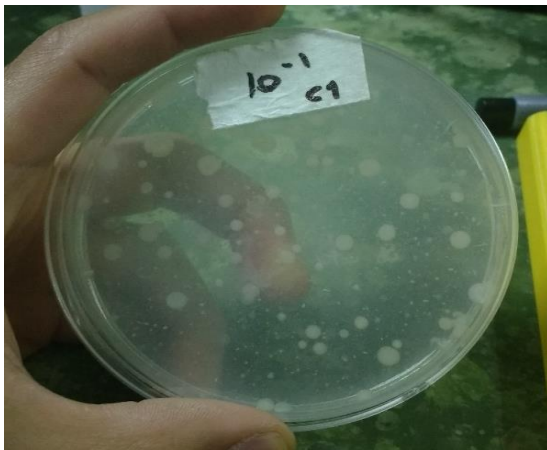
Insumos para elaboración de Agar para conteo en placa



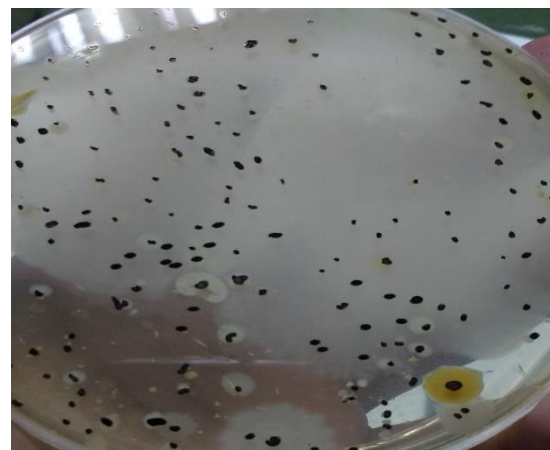
Cultivos de bacterias



Placas en estufa (27°C por 24h.)



Crecimiento de colonias



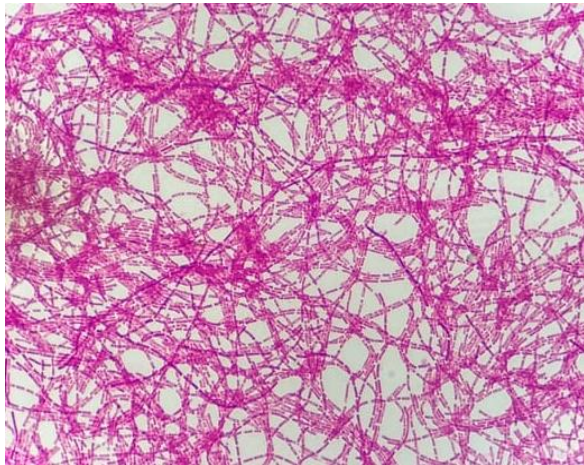
Conteo de colonias



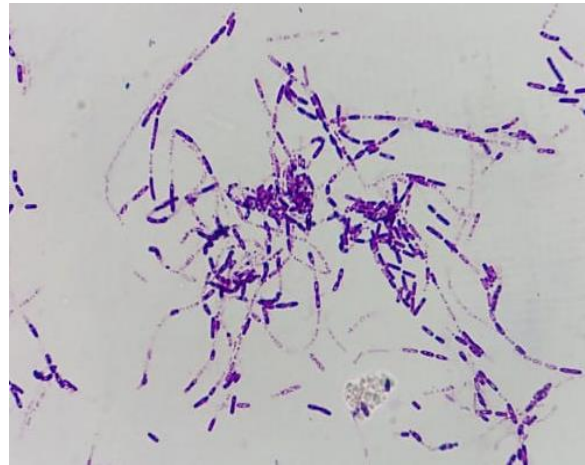
Materiales de laboratorio (microbiología)



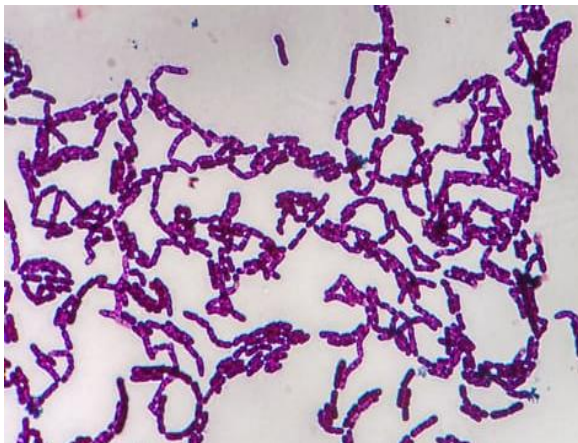
Microscopio



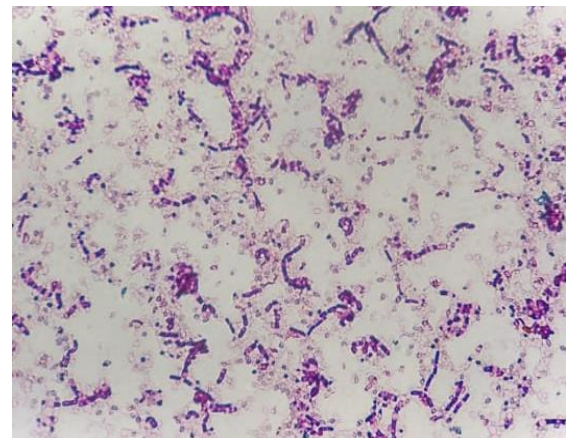
Observación en microscopio (100X) de muestra de lodo



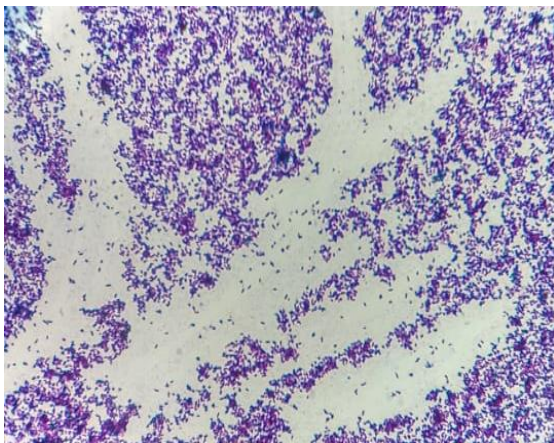
Observación en microscopio (100X) de muestra de suelo natural



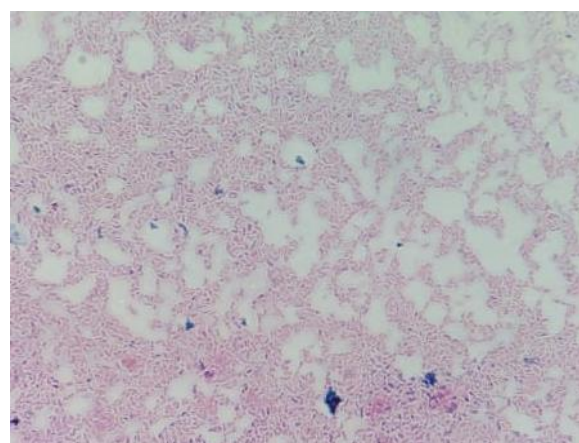
Observación en microscopio (100X) de una muestra control



Observación en microscopio (100X) de una muestra del tratamiento 1



Observación en microscopio (100X) de una muestra del tratamiento 2



Observación en microscopio (100X) de una muestra del tratamiento 2