

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y RECURSOS NATURALES
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y RECURSOS
NATURALES



“DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA DE
BIORREMEDIACIÓN CON LODOS ACTIVADOS EN SUELO
CONTAMINADO POR HIDROCARBUROS”

TESIS PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AMBIENTAL Y DE RECURSOS NATURALES

ANGELO STEVEN GERONIMO URRUTIA
CARMEN EDELMIRA VASQUEZ SILVA

Two handwritten signatures are present. The first signature, in black ink, appears to be 'Angello' and is positioned above the second signature. The second signature, in blue ink, is more stylized and appears to be 'Carmen'.

Callao, diciembre, 2017
PERÚ

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y DE RECURSOS NATURALES

COMISION DE GRADOS Y TITULOS

**ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS PARA OPTAR EL TITULO DE
INGENIERO AMBIENTAL Y DE RECURSOS NATURALES
N° 005-2017-JEDT-FIARN**

Siendo las 17:00 horas del día jueves 30 de noviembre de 2017, en el Auditorio de la Facultad de Ingeniería Ambiental y de Recursos Naturales ubicado en la Av. Juan Pablo II 306-Bellavista-Callao; se dio inicio a la Sustentación de la Tesis titulada : "DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA DE BIORREMEDIACIÓN CON LODOS ACTIVADOS EN SUELO CONTAMINADO POR HIDROCARBUROS" presentada, para optar el título profesional de Ingeniero Ambiental y de Recursos Naturales de los Bachilleres Angelo Steven Geronimo Urrutia y Carmen Edelmira Vasquez Silva.

Contando con la asistencia del Jurado Evaluador y Asesor a fin de dar cumplimiento a la Resolución N° 078-2017-D-FIARN de fecha 28 de noviembre de 2017, los mismos que están integrados por los siguientes docentes:

Mg. Teófilo Allende Ccahuana	Presidente
Lic. Janet Mamani Ramos	Secretaria
Ing. Abner Josué Vigo Roldan	Vocal
MsC. Carmen Elizabeth Barreto Pío	Asesora

Terminada la exposición y la absolución de las preguntas del Jurado Evaluador, se invita a los Bachilleres y al público en general se retiren del Auditorio para las deliberaciones del caso.

Luego de las deliberaciones el Jurado Evaluador acuerda **APROBAR POR UNANIMIDAD**, no habiendo observación alguna con el Calificativo de **MUY BUENO** da por terminado el acto de exposición.

En señal de conformidad firman el Jurado Evaluador y Asesor, siendo las 17:45 horas del día 30 de noviembre de 2017.

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
OFICINA DE SECRETARIA GENERAL
EL SECRETARIO GENERAL DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL

DEL CALLAO que suscribe, CERTIFICA: Que la presente es copia fiel del original. Se expide la presente

Mg. Teófilo Allende Ccahuana solicitó del (a) interesado (a) para los fines que juzgue conveniente

Presidente

Lic. Janet Mamani Ramos
Secretaria

Callao, del 1.º ENE 2018 del 20

Ing. Abner Josué Vigo Roldan
Vocal

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
Oficina de Secretaria General

MsC. Carmen Elizabeth Barreto Pío
Asesora



Lic. Carmen Elizabeth Barreto Pío
Asesora

DEDICATORIA

*Dedicado a nuestros padres,
porque gracias a su apoyo
incondicional, pudimos dar
forma a nuestros sueños.*

AGRADECIMIENTOS

A nuestros familiares, quienes con su soporte y guía permanente fueron los principales responsables en nuestra formación y educación. Compartir con ellos la alegría de esta etapa es una pequeña forma de agradecerles.

A nuestro asesora, la Ing. Carmen Barreto Pío, de la Facultad de Ingeniería Ambiental y de Recursos Naturales, por sus valiosos consejos, confianza al aceptar nuestro proyecto y paciencia durante el desarrollo y presentación de esta investigación.

Al Ing. Iván Delgado Quispe, Gerente de DQ Asesoría y Consultoría EIRL, por su motivación hacia el desarrollo de esta temática y su apoyo en la financiación de gran parte de los análisis presentes en esta investigación.

A la Sra. Lucila Mas Gaslac y familia, por facilitarnos el envío de los suelos utilizados en la presente investigación, desde la región San Martín.

Al Ing. Víctor Pretell Huamán, de la Facultad de Ingeniería de Petróleo y Petroquímica de la Universidad Nacional de Ingeniería, por su siempre jovial disposición a orientarnos en el desarrollo final de la investigación.

A nuestra querida casa de estudios, la Facultad de Ingeniería Ambiental y de Recursos Naturales, por la invaluable formación humana y científica brindada a través de las miles de horas y vivencias en sus ambientes y con sus personas. Resaltar el agradecimiento por el préstamo del espacio en sus áreas verdes, así como el laboratorio de Microbiología, que albergaron la etapa experimental de esta investigación.

Al Centro Experimental Tecnológico (CET), de la Universidad Nacional del Callao, en especial a la Ing. Ana Mercado del Pino y al Blgo. Edgar Zárate Sarapura, así como a los brigadistas del mismo, quienes gentilmente nos facilitaron sus instalaciones y brindaron consejos para desarrollar parte de los análisis microbiológicos.

Por último y no menos importante, agradecemos a todas aquellas personas, quienes con su diligencia ayudaron al desarrollo exitoso de esta investigación. En afán de servir al país y a su desarrollo sostenible, este estudio es para ellos y para todos aquellos quienes deseen aplicar y mejorar lo aquí expuesto.

ÍNDICE

ÍNDICE	- 1 -
TABLA DE CONTENIDO	- 4 -
INTRODUCCIÓN	- 6 -
RESUMEN	- 9 -
ABSTRACT	- 10 -
CAPÍTULO I	
PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN	- 11 -
1.1. IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA	- 11 -
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	- 14 -
1.2.1. PROBLEMA GENERAL	- 14 -
1.2.2. PROBLEMAS ESPECÍFICOS	- 14 -
1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	- 14 -
1.3.1. OBJETIVO GENERAL	- 14 -
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	- 14 -
1.4. JUSTIFICACIÓN	- 14 -
1.4.1. JUSTIFICACIÓN LEGAL	- 14 -
1.4.2. JUSTIFICACIÓN TEÓRICA	- 15 -
1.4.3. JUSTIFICACIÓN TECNOLÓGICA	- 15 -
1.4.4. JUSTIFICACIÓN SOCIO ECONÓMICA	- 15 -
1.5. IMPORTANCIA	- 16 -
1.6. LIMITACIONES	- 16 -
CAPÍTULO II	
MARCO TEÓRICO	- 17 -
2.1. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO	- 17 -
2.2. MARCO CONCEPTUAL	- 19 -
2.2.1. SUELO	- 19 -
2.2.2. HIDROCARBUROS	- 22 -
2.2.3. LODOS ACTIVADOS	- 24 -
2.2.4. CONTAMINACIÓN DE SUELO POR HIDROCARBUROS	- 25 -
2.2.5. BIORREMEDIACIÓN	- 27 -
2.2.6. BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR HIDROCARBUROS	- 28 -
2.2.7. MARCO LEGAL	- 33 -
2.3. DEFINICIONES DE TÉRMINOS BÁSICOS	- 35 -
CAPITULO III	
VARIABLES E HIPÓTESIS	- 42 -
3.1. DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES	- 42 -
3.2. OPERACIÓN DE VARIABLE	- 42 -
3.3. HIPÓTESIS GENERAL E HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	- 44 -

3.3.1. HIPÓTESIS GENERAL:	- 44 -
3.3.2. HIPÓTESIS ESPECIFICA:	- 44 -

CAPITULO IV

METODOLOGÍA	- 45 -
4.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN	- 45 -
4.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	- 45 -
4.3. POBLACIÓN Y MUESTRA	- 46 -
4.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	- 47 -
4.4.1. TÉCNICAS DE LABORATORIO	- 47 -
4.5. PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS	- 48 -
4.5.1. ESTUDIOS PRELIMINARES	- 48 -
4.5.2. DETERMINAR LA EFICIENCIA DE BIORREMEDIACIÓN EN SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS (TPH) AL APLICAR LODOS ACTIVADOS	- 53 -
4.5.3. DETERMINAR LA DOSIS ÓPTIMA DE APLICACIÓN DE LODOS ACTIVADOS PARA UNA EFICIENTE BIORREMEDIACIÓN EN SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS (TPH)	- 53 -
4.5.4. DETERMINAR LA VARIACIÓN DE LAS PROPIEDADES NATIVAS DEL SUELO RESPECTO A LAS OBTENIDAS LUEGO DEL PROCESO DE BIORREMEDIACIÓN CON LODOS ACTIVADOS	- 54 -
4.6. PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DE DATOS	- 56 -

CAPÍTULO V

RESULTADOS	- 57 -
5.1. DETERMINAR LA EFICIENCIA DE BIORREMEDIACIÓN EN SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS (TPH) AL APLICAR LODOS ACTIVADOS	- 57 -
5.2. DETERMINAR LA DOSIS ÓPTIMA DE APLICACIÓN DE LODOS ACTIVADOS PARA UNA EFICIENTE BIORREMEDIACIÓN EN SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS (TPH).	- 57 -
5.3. DETERMINAR LA VARIACIÓN DE LAS PROPIEDADES NATIVAS DEL SUELO RESPECTO A LAS OBTENIDAS LUEGO DEL PROCESO DE BIORREMEDIACIÓN CON LODOS ACTIVADOS.	- 58 -
5.3.1. TEMPERATURA	- 58 -
5.3.2. COLOR	- 58 -
5.3.3. PH	- 59 -
5.3.4. CRECIMIENTO MICROBIANO Y TINCIÓN GRAM	- 59 -
5.3.5. RELACIÓN C:N:P	- 60 -

CAPÍTULO VI

DISCUSION DE RESULTADOS	- 62 -
6.1. CONTRASTE DE HIPÓTESIS CON RESULTADOS	- 62 -
6.1.1. PARA LA HIPÓTESIS GENERAL	- 62 -
6.1.2. PARA LA HIPÓTESIS ESPECÍFICA 1	- 64 -
6.1.3. PARA LA HIPÓTESIS ESPECÍFICA 2	- 66 -

6.2. CONTRASTE DE RESULTADOS CON OTROS ESTUDIOS SIMILARES	- 75 -
6.2.1. PARA LA HIPÓTESIS GENERAL	- 75 -
6.2.2. PARA LA HIPÓTESIS ESPECÍFICA 1	- 77 -
6.2.3. PARA LA HIPÓTESIS ESPECÍFICA 2	- 79 -
CAPITULO VII	
CONCLUSIONES	- 86 -
7.1. HIPÓTESIS GENERAL	- 86 -
7.2. HIPÓTESIS ESPECÍFICA 1	- 86 -
7.3. HIPÓTESIS ESPECÍFICA 2	- 87 -
CAPITULO VIII	
RECOMENDACIONES	- 88 -
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	- 90 -
PRESUPUESTO	- 91 -
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	- 92 -
ANEXOS	- 100 -
ANEXO 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA	101
ANEXO 2: REGISTRO FOTOGRÁFICO	103
ANEXO 3: PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES	104
P.E. Nº 01: DETERMINACIÓN DEL PH	104
P.E. Nº 02: DETERMINACIÓN DE LA TEMPERATURA	107
P.E. Nº 03: REMOCIÓN MECÁNICA	109
P.E. Nº 04: HIDRATACIÓN	110
P.E. Nº 05: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	112
ANEXO 4: INFORMES DE ENSAYO DE LABORATORIO	116
4.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE SUELO NATIVO	116
4.2. CARACTERIZACIÓN DE LODO	117
4.3. CONCENTRACIÓN INICIAL DE TPH F2 Y F3 EN SUELO	118
4.4. CONCENTRACIÓN TPH F2 Y F3 EN UNIDADES DE ANÁLISIS A LOS 15 DÍAS.	119
4.5. CONCENTRACIÓN TPH F2 Y F3 EN UNIDADES DE ANÁLISIS A LOS 30 DÍAS.	120
4.6. CONCENTRACIÓN TPH F2 Y F3 EN UNIDADES DE ANÁLISIS A LOS 60 DÍAS.	121
4.7. CONCENTRACIÓN TPH F2 Y F3 EN UNIDADES DE ANÁLISIS A LOS 90 DÍAS (C1 Y C2).	122
4.8. CONCENTRACIÓN TPH F2 Y F3 EN UNIDADES DE ANÁLISIS A LOS 90 DÍAS (C3).	123
4.9. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE UNIDADES DE ANÁLISIS AL TÉRMINO DEL TRATAMIENTO (C1 Y C2).	124
4.10. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE UNIDADES DE ANÁLISIS AL TÉRMINO DEL TRATAMIENTO (C3).	125

TABLA DE CONTENIDO

TABLAS

Tabla 2.1: Caracterización y composición de lodos activados	- 25 -
Tabla 2.2: Estándares de Calidad Ambiental para Suelo	- 34 -
Tabla 3.1: Cuadro Resumen Variables, Dimensiones, Indicadores y Medida	- 43 -
Tabla 3.2: Operación de Variables	- 43 -
Tabla 4.1: Técnicas e instrumentos de recolección de datos	- 48 -
Tabla 4.2: Métodos y resultados del análisis de suelo nativo	- 50 -
Tabla 4.3: Métodos y resultados del análisis de hidrocarburos	- 50 -
Tabla 4.4: Concentración de TPH en suelo contaminado	- 51 -
Tabla 4.5: Métodos y resultados del análisis de lodo activado	- 53 -
Tabla 4.6: Técnicas utilizadas para la determinación de eficiencia de biorremediación	- 53 -
Tabla 4.7: Técnicas utilizadas para la determinación de la dosis óptima de lodos	- 54 -
Tabla 4.8: Metodología empleada en el análisis de C:N:P	- 56 -
Tabla 5.1: Remoción de TPH F2 y F3 vs. Crecimiento microbiano	- 57 -
Tabla 5.2: Concentración de TPH en suelo contaminado (mg/Kg ms)	- 57 -
Tabla 5.3.1: Registro interdiario de temperatura durante periodo de evaluación	- 58 -
Tabla 5.3.2: Registro interdiario de temperatura durante periodo de evaluación....	- 58 -
Tabla 5.4.1: Registro interdiario de pH durante el periodo de evaluación	- 59 -
Tabla 5.4.2: Registro interdiario de pH durante el periodo de evaluación	- 59 -
Tabla 5.5: Crecimiento microbiano en unidades de análisis (NMP/100ml)	- 59 -
Tabla 5.6: Porcentaje de muestras positivas a prueba de tinción GRAM	- 59 -
Tabla 5.7: Relación C:N:P en los insumos de tratamiento y unidades de análisis..	- 60 -
Tabla 6.1: Relación dosis y porcentaje de remoción de TPH	- 66 -
Tabla 6.2: Tabla resumen de eficiencia de biorremediación	- 77 -
Tabla 6.3: Indicadores de suelo según uso	- 79 -
Tabla 6.4: Valores de C.N:P en suelos saludables y tratados	- 81 -

GRÁFICAS

Gráfica 5.1: Concentración C:N:P en los insumos de tratamiento.....	- 60 -
Gráfica 5.2: Concentración C:N en las unidades de análisis.....	- 61 -
Gráfica 6.1: Unidad de análisis C1 (20%)	- 63 -
Gráfica 6.2: Unidad de análisis C2 (30%)	- 63 -
Gráfica 6.3: Unidad de análisis C3 (40%)	- 64 -
Gráfica 6.4: Concentración de TPH F2 por unidad de análisis.....	- 65 -
Gráfica 6.5: Concentración de TPH F3 por unidad de análisis.....	- 65 -
Gráfica 6.6: Concentración de TPH-F2 – ECA Suelo.....	- 71 -
Gráfica 6.7: Concentración de TPH F3 – ECA Suelo.....	- 72 -
Gráfica 6.8: Crecimiento microbiano en los tratamiento aplicados	- 73 -

FIGURAS

Figura 2.1: Comportamiento de hidrocarburos en el ambiente.....	- 26 -
Figura 2.2: Bioquímica de la degradación de alcanos.....	- 29 -
Figura 2.3: Reacción de biodegradación de hidrocarburos	- 32 -
Figura 5.1: Color en cada unidad de análisis	- 58 -
Figura 6.1: Textura en unidades de análisis.....	- 67 -
Figura 6.2: Análisis microbiológico en laboratorio FIARN.....	- 74 -

INTRODUCCIÓN

Entre los problemas ambientales que van en aumento a nivel mundial, tenemos que hacer especial mención a la contaminación y pérdida de suelos por hidrocarburos y residuos sólidos peligrosos.

La contaminación de suelos por hidrocarburos es una de las principales causas de pérdida del recurso con capacidad agrícola en nuestro país. Esta pérdida se produce durante toda la cadena de actividades ligadas a la exploración, extracción, transporte y comercialización del petróleo y sus derivados. La industria hidrocarburífera, a nivel mundial, busca las mejores alternativas para la remediación del efecto contaminante provocado por los derrames y/o fugas del combustible, en aras de lograr operaciones más limpias y eficientes para la sostenibilidad empresarial (Sueyoshi & Wang, 2014).

En cuanto a la contaminación por pérdidas indeseadas de petróleo, es de esperar que los países con mayor producción como Israel, Arabia Saudita o Los Emiratos Árabes Unidos presenten un alto riesgo de sufrir daños ambientales, debido principalmente al desarrollo extensivo e intensivo de esta industria en dichos países (OPEC, 2014). En este panorama, surge un caso particular, que es el existente en los países de América Latina, como el Perú, que registran una menor producción de petróleo, pero estas actividades se desarrollan en zonas de enorme diversidad biológica y cultural, lo que eleva exponencialmente el riesgo total asociado al desarrollo de estas actividades, a niveles incluso mayores que los presentados en países productores de primer orden (Finer & Orta-Martínez, 2010).

En el Perú, la distribución de actividades petrolíferas se concentra en las zonas del zócalo oceánico, costa y amazonia, las cuales poseen reservas

probadas con un total de más de 741 millones de barriles de petróleo. Más del 50% de estas reservas probadas se encuentran en la amazonia. (MINEM, 2013). Entonces, si a la abundancia del recurso en la zona, la contextualizamos en su realidad de mega diversidad biológica y cultural, escasa fiscalización ambiental, gestión gubernamental deficiente y múltiples limitaciones técnico-científicas en el desarrollo de las actividades, los casos de contaminación por pérdidas indeseadas de petróleo se ven incrementados y agravados, afectando especialmente al recurso suelo.

Un evento que refleja esta realidad ocurrió en la zona central de la región Loreto en el año 2013, donde la fuga de petróleo afectó a la Reserva Nacional Pacaya Samiria, la cual posee una de las más altas tasas de diversidad biológica en el mundo y es hogar de numerosas comunidades nativas y tradicionales, por lo cual la región fue declarada en emergencia ambiental (MINAM, 2013). Casos similares han continuado registrándose hasta la actualidad en diversas locaciones, especialmente en el Oleoducto Nor Peruano (Progresiva 440 + 785 del tramo II, Progresiva Km 206+031 del ramal Norte) ocasionando pérdidas ambientales, económicas y en todos los sectores en general, además de generar tensiones entre las comunidades locales y el gobierno (PETROPERU, 2016).

Los lodos activados, subproductos generados en el tratamiento de aguas residuales domésticas, se caracterizan por presentar una alta carga microbiana, así como altas concentraciones de macronutrientes como nitrógeno, fósforo y potasio; estas características son aprovechadas legal e institucionalmente por países como México, que promulgó la norma: NOM-004-SEMARNAT-2002 que contiene Límites Máximos Permisibles (LMP) de contaminantes para el aprovechamiento de este residuo, así como especificaciones para su disposición final, llegándolo a considerar como un recurso. Otros vecinos de la región como Cuba y Venezuela plantean aplicaciones dosificadas de este residuo como agente de

biorremediación en suelos contaminados por hidrocarburos, demostrando que los lodos residuales propiciaron la estimulación de los microorganismos nativos del suelo y estos últimos a su vez fueron los responsables de degradar los hidrocarburos (Cárdenas, Araujo, & Bohórquez, 2010) (Martínez-Prado, Pérez-López, & Pinto-Espinoza, 2011).

En este contexto, esta investigación tiene dos intereses: mitigar la contaminación por hidrocarburos de petróleo en suelo y reaprovechar los lodos activados. Siendo el objetivo de esta investigación, determinar la eficiencia de biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos a través de la aplicación dosificada de lodos activados. Para determinar la eficiencia del tratamiento propuesto, evaluaremos la disminución de las fracciones media y pesada de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) durante la duración del tratamiento. Finalmente, encontraremos la dosis óptima, entre las aplicadas, de lodos activados por masa de suelo.

RESUMEN

En esta investigación se evaluó el proceso de biorremediación aeróbica de un suelo contaminado con hidrocarburos (crudo de la refinería La Pampilla), empleando lodos residuales provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales domésticas de la capital (PTAR Manchay), como fuente alterna de macro y micronutrientes.

La contaminación del suelo fue una simulación de derrames accidentales de crudo sobre suelos amazónicos, provenientes del municipio de Naranjillo, provincia Rioja, región San Martín. Se realizaron experimentos a escala laboratorio, en la ciudad del Callao durante 90 días de los meses de verano, en los cuales se evaluaron el efecto de la adición de nutrientes provenientes del lodo residual, el comportamiento de los hidrocarburos totales del petróleo (TPH), el potencial de hidrogeniones, temperatura del proceso y el tamaño de la partícula durante el proceso de degradación.

Se demostró que la adición de lodos residuales propició la estimulación de los microorganismos nativos del suelo, cuyos consorcios fueron los responsables de degradar los hidrocarburos, obteniendo remociones superiores al 46% y 49% para TPH F2 y F3 respectivamente. Los hidrocarburos fueron empleados como fuentes de carbono y donadores de electrones, acoplando las reacciones de óxido-reducción con el oxígeno que fungió como aceptor de electrones.

Los valores de TPH F2 y F3 de los suelos al final del tratamiento exceden el ECA para suelos agrícolas, pero satisfacen el ECA para suelos comerciales, industriales o extractivos, por lo que se recomienda este tratamiento como alternativa para casos de accidentes que involucren derrames o fugas en la industria hidrocarburífera, en aras de satisfacer la normativa ambiental nacional y dar sostenibilidad al proceso productivo.

ABSTRACT

In this research was assessed the process of aerobic bioremediation of soil contaminated with hydrocarbons (crude oil of refinery La Pampilla) using sludge from a wastewater treatment plant domestic wastewater from the capital (WWTP Manchay), as an alternative source of macro and micronutrients.

Soil contamination was a simulation of accidental oil spills on Amazonian soils, from the municipality of Naranjillo, province Rioja, San Martin region. Experiments at laboratory scale were performed in the city of Callao for 90 days in the summer months, in which were evaluated the effect of the addition of nutrients from the sludge, the behavior of total petroleum hydrocarbons (TPH) , the potential of hydrogen ions, the process temperature and particle size during the degradation process.

It was shown that the addition of sewage sludge led to the stimulation of native soil microorganisms, whose consortia were responsible for degrading hydrocarbons, obtaining removal exceeding 46% and 49% for TPH F2 and F3 respectively. The hydrocarbons were used as carbon source and electron donors, coupling redox reactions served with oxygen as an electron acceptor.

The values of TPH F2 and F3 soil at the end of treatment exceed the SEQ for agricultural soils, but satisfy the SEQ for commercial, industrial or extractive soil, so this treatment is recommended as an alternative in case of accidents involving spills or leaks in the hydrocarbon industry, in order to meet national environmental standards and sustainability of the production process.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Identificación del problema

El Perú está localizado dentro de una de las más prolíficas tendencias en hidrocarburos en América del Sur. La mega tendencia subandina de América del Sur posee 18 cuencas sedimentarias con potencial de hidrocarburos, localizándose las zonas productivas en 4 regiones: Costa norte, Selva Centro, Norte y Sur (PERUPETRO, 2010), concentrándose la mayor cantidad de reservas probadas de petróleo en la zona norte del país (MINEM, 2014).

El riesgo de contaminación del ambiente se ve aumentado por la creciente actividad petrolera, en cualquiera de las diversas fases del ciclo de producción y consumo: derrames de petróleo crudo por el deterioro de oleoductos, descargas de efluentes contaminados, así como diversas contingencias durante la producción, transporte y almacenamiento de este recurso natural (Wedel, Mosquera, & Goldsmith, 1988).

En el Perú, los derrames y fugas de petróleo crudo se registran desde 1978 hasta la actualidad a través de diversas instituciones como el IIAP, OSINERGMIN y OEFA. Un ejemplo de estos se dio en la Quebrada Cunico, Loreto, donde la falta de mantenimiento del oleoducto ocasionó el derrame de al menos 10 mil barriles de petróleo, afectando un área aproximada de 2 hectáreas (Meier, 2014). Otra serie de casos son los continuos derrames de crudo en el Lote 1AB, a cargo de la transnacional PlusPetrol, que desde 2007 al 2011 han registrado 112 derrames según el informe "Impactos Petroleros en Territorios Indígenas: Experiencias del Programa de Vigilancia Territorial del río Corrientes", afectando así 4 cuencas: Pastaza, Corrientes, Marañón y Tigre, las dos primeras fueron declaradas en emergencia ambiental (Zevallos, 2013).

Los derrames y/o fugas inesperadas generan una serie de impactos al ecosistema, afectando principalmente al agua y al suelo, alterando su estructura y bioprocesos (ICTA, 2009).

A nivel general, el efecto de los hidrocarburos en las matrices de agua y suelo puede tener tres diferentes intensidades, los cuales son:

Efectos directos letales: Son aquellos que provocan mortalidad al impedir la respiración o modificar la resistencia térmica, como sucede por ejemplo en el caso de las aves marinas. Se trata de un efecto físico, derivado de la impregnación o sofocación, al entrar el organismo en contacto directo con el hidrocarburo, sin necesidad, en muchos casos, de que se produzca la ingestión de los contaminantes.

Efectos directos subletales: Son aquellos motivados por el contacto directo, fundamentalmente a nivel de los tejidos corporales internos, tras la ingestión de los hidrocarburos por el organismo, sin que lleguen a provocar la muerte del mismo, aunque sí alteraciones genéticas, bioquímicas o fisiológicas que pueden reducir su viabilidad y eficacia biológica.

Efectos indirectos: Son los más abundantes, fundamentalmente perturbaciones sobre los ecosistemas. Las alteraciones de la biología de las poblaciones y sus consecuencias demográficas, en último término, desembocarán en cambios en la estructura de las comunidades ecológicas y, por lo tanto, en una alteración de la red de interrelaciones existentes. Entre los principales procesos afectados, cabe destacar (MAGRAMA - España, 2014):

- ✓ Alteraciones del hábitat.
- ✓ Alteraciones en los niveles de productividad
- ✓ Cambios en las redes tróficas, probablemente una de las claves para comprender los impactos en el ecosistema a medio y largo plazo

A nivel microbiano, un derrame de petróleo causa una disminución del número de bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre, encargadas de asimilar y reciclar nutrientes en los ciclos biogeoquímicos; afectándose así la fertilidad del suelo. (Vazquez-Luna, Montiel-Flores, Vazquez-Luna, & Herrera-Tenerio, 2011). Alteraciones en la cantidad y calidad microbiológica del suelo afectará, en función del tiempo, a la biodiversidad asociada a su interior como a la que se encuentra en su superficie y por ende mermará la capacidad agrícola o productiva en general que posea.

Ante las situaciones anteriormente expuestas, surge la necesidad de contar con técnicas que minimicen los efectos adversos de la contaminación por hidrocarburos en el suelo. Entre las técnicas más estudiadas para la mitigación de este tipo de contaminación, podemos citar a la extracción de hidrocarburos al vacío, el lavado del suelo contaminado con agua, la incineración, la recuperación electrocinética, entre otras. Siendo todos estos tratamientos físicos y/o químicos, con los cuales se han conseguido resultados positivos, pero su elevado coste económico, junto con el hecho de que no se consideran totalmente respetuosas con el ambiente, constituyen hoy en día un obstáculo muy a tener en cuenta para su empleo. En la actualidad se tiene un interés creciente en la aplicación de técnicas biológicas, ya que son más sencillas, económicas y respetuosas con el ambiente; sin embargo, la eficacia de estas está en continua comprobación, ya que dependen grandemente de factores como el tipo de contaminante, el lugar de aplicación y las condiciones del medio (Lloyd, Lovley, & Macaskie, 2003). A nivel nacional, comparados con vecinos de la región, las técnicas biológicas de remediación de suelos son poco estudiadas y a su vez desarrolladas aisladamente. La utilización de los lodos activados para la biorremediación de suelos, no ha sido estudiada en el Perú.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema General

✓ ¿Cuán eficiente será la biorremediación al aplicar lodos activados en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH)?

1.2.2. Problemas Específicos

✓ ¿Cuál será la dosis óptima de aplicación de lodos activados para una eficiente biorremediación en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH)?

✓ ¿Cuál será la variación de las propiedades nativas del suelo respecto a las obtenidas luego del proceso de biorremediación con lodos activados?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general

✓ Determinar la eficiencia de biorremediación al aplicar lodos activados en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH).

1.3.2. Objetivos específicos

✓ Determinar la dosis óptima de aplicación de lodos activados para una eficiente biorremediación en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH).

✓ Determinar la variación de las propiedades nativas del suelo respecto a las obtenidas luego del proceso de biorremediación con lodos activados.

1.4. Justificación

Las razones por las cuales se ha planteado y fundamentado la presente investigación son las siguientes:

1.4.1. Justificación Legal

La biorremediación de suelos mediante el uso de lodos activados para suelos contaminados con hidrocarburos permitirá dar cumplimiento a la normativa nacional vigente, teniendo en especial consideración el D.S. N° 002-2013 MINAM “Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo”,

para los parámetros “Fracción de Hidrocarburos F2” y “Fracción de Hidrocarburos F3” de la mencionada norma.

1.4.2. Justificación Teórica

La contaminación del suelo por hidrocarburos del petróleo es uno de los problemas ambientales más comunes en el mundo (USEPA, 2000), siendo los hidrocarburos totales de petróleo (TPH) uno de los grupos más comunes de los contaminantes orgánicos persistentes (Huang, El-Alawi, Gurska, Glick, & Greenberg, 2005). Ante estas evidencias, se justifica la importancia de desarrollar soluciones adecuadas para la eliminación o control de estos contaminantes en el suelo, siendo la biorremediación una de ellas, que destaca como una tecnología relativamente nueva, eficiente y ecológica, en la cual se busca degradar el contaminante a través de la actividad microbiana. Para fomentar este desarrollo microbiano se requiere la aplicación de macro y micronutrientes, siendo los lodos activados provenientes del tratamiento de aguas residuales una posible fuente de nutrientes, además de presentar una alta carga microbiana propia, que mejoraría la capacidad conjunta para la degradación del hidrocarburo contaminante.

1.4.3. Justificación Tecnológica

El desarrollo de biotecnologías que generen la menor cantidad de efectos o subproductos residuales en el ambiente y así mismo, que sean técnicamente sencillas, representan una alternativa muy atractiva para el país en general y específicamente para industrias del sector hidrocarburo y diversas actividades relacionadas.

1.4.4. Justificación Socio Económica

Las personas tienen derecho a gozar de un ambiente equilibrado y adecuado para el desarrollo de la vida (Constitución Política del Perú 1993, Art. 2), por lo cual es de vital importancia la disminución y adecuado manejo

de residuos peligrosos, principalmente orgánicos, como son los suelos contaminados por hidrocarburos y residuos principalmente biocontaminados, como son los lodos activados. La biorremediación es un proceso generalmente sencillo y económicamente viable, siendo estas condiciones adecuadas para el desarrollo de una investigación básica en la que se busca recuperar la condición agrícola del suelo, evitando de esta forma que la población expanda la actividad agrícola a zonas con distinta capacidad de uso, especialmente hacia los bosques amazónicos y áreas naturales protegidas.

1.5. Importancia

El aspecto más importante de la presente investigación es el aprovechamiento de residuos peligrosos, como lo son el suelo empetrolado y los lodos activados, para obtener a través de su interacción, un suelo apto para uso Industrial, comercial o extractivo. Otro aspecto de gran importancia es el desarrollo experimental de una técnica de tratamiento in situ para sitios degradados, toda vez que este tipo de experiencias en el Perú son limitadas, a pesar de la gran cantidad de zonas afectadas por derrames de crudo, en donde se opta principalmente por la disposición final de los suelos empetrolados en rellenos de seguridad, ocasionando pérdidas a nivel ambiental y económico-productiva.

1.6. Limitaciones

Se realizó una investigación básica a escala de laboratorio, recreando condiciones de contaminación petrolífera en suelos, ya que no es factible económicamente su realización en el área de la problemática.

Los laboratorios de la FIARN carecen de equipos, materiales y reactivos necesarios para realizar los análisis de interés para la investigación, motivo por el cual se realizaron los análisis mínimos necesarios para determinar la eficiencia del proceso, así como contrastar las hipótesis.

CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

Para el desarrollo de esta investigación científica se realizó la revisión de referencias nacionales e internacionales, las cuales incluyen una serie de estudios, artículos científicos, normas legales, guías y protocolos relacionados a las temáticas de biorremediación de suelos, contaminación por hidrocarburos, caracterización de lodos, técnicas de muestreo, metodologías de análisis fisicoquímicos, entre otras.

Entre los estudios encontrados podemos citar el trabajo realizado a escala piloto en la Unidad Minera Goldcorp México, en el cual se trató suelo contaminado con hidrocarburos, producto de un derrame accidental, a través de la aplicación de biosólidos bajo condiciones aerobias, analizando parámetros como la relación carbono nitrógeno (C:N), entre otros. Al final de la experiencia se alcanzó tasas de remoción de hidrocarburo del 66% al 93% (Martinez-Prado, Perez-Lopez, & Pinto-Espinoza, 2011).

Otra investigación evaluó la influencia de diferentes concentraciones de lodos activos (0,5 y 10% w/w) en la degradación de hidrocarburos en suelos con diferentes concentraciones de contaminante (15 y 30 g/kg), a través de la medición de TPH, empleando cromatografía de gases y análisis de dilución para la estimación de microorganismos. Luego de su aplicación por un periodo de 120 días se llegó a la conclusión de que una mayor concentración de lodos promueve una mayor degradación del contaminante y debido a la presencia de bacterias hidrocarburo-oxidantes y micromicetos, que lograron reducciones entre 11.7% a 13.3% (Ambrazaitienė, Žukauskaitė, & Jakubauskaitė, 2013).

A nivel regional, en Venezuela, se estudió a escala de laboratorio la aplicación de lodos residuales y fertilizantes para la remediación de suelos contaminados por hidrocarburos. Se trabajó con 6 muestras en total,

variando la concentración de lodos (0%, 30% y 70%) y aplicación de fertilizante (fosfato diatómico) en 7.5%w/w. Durante el estudio, que duró 3 meses, se evaluaron heterótrofos mesófilos, concentración de TPH, pH y humedad, aplicándose también riego y labranza manual manteniendo condiciones óptimas de humedad y aireación. A través de este estudio se determinó una mayor remoción de hidrocarburos (63%) en las muestras con mayor concentración de lodos activos con aplicación de fertilizantes, así mismo se comprobó la transformación parcial de las resinas en compuestos aromáticos (Cárdenas, Araujo, & Bohórquez, 2010).

En Colombia también se ha trabajado la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos a través de bioestimulación, realizando experiencias a escala de laboratorio, donde se evaluó el efecto de la adición de nutrientes (N y P) en forma de sales inorgánicas simples y un fertilizante inorgánico compuesto. Se emplearon mesocosmos (envases) con suelo contaminado, el estudio se realizó por 125 días, donde se cuantificó TPH por el método ASTM 1995 y EPA 1994, además de parámetros fisicoquímicos y biológicos. Observándose una mayor tasa de degradación de TPH durante los primeros 28 días, luego de los cuales el pH tiende a disminuir por debajo de 5,0 grados, trayendo como consecuencia la inhibición microbiana. El agregar nutrientes en forma de sales inorgánicas fue el que logró mayor degradación de TPH (entre 39% y 41%) (Vallejos, Salgado, & Roldan, 2005).

En el Perú se han realizado diferentes investigaciones sobre la aplicación de la biorremediación para el tratamiento de suelos contaminados por hidrocarburos, entre ellas tenemos la aplicación de microorganismos EM para suelos contaminados con Diésel 2 en Arequipa, donde la concentración de TPH varió de 234 508 a 6 981 mg/Kg en 4 meses, durante el invierno (Rodríguez, 2009). En la región Callao se ha aplicado la biorremediación agregando aserrín y estiércol; reduciendo las concentraciones a niveles que no son tóxicos para las plantas (5000 mg/kg

de suelo), teniendo como control el crecimiento de maíz por un periodo de 2 meses. En ambos estudios se llega a la conclusión que la aplicación de la biorremediación es factible tanto técnica como económicamente. (Rodríguez, 2009) (Buendía R., 2012).

La presente investigación se desarrolla en base al aporte de las múltiples investigaciones mencionadas, eligiendo por conveniencia operacional una escala de laboratorio, con la evaluación de los siguientes parámetros: concentración de fracciones media y pesada de hidrocarburos totales de petróleo (TPH F2 y F3), crecimiento microbiano y su identificación básica, temperatura y pH del proceso, proporción entre carbono, nitrógeno y fósforo (C:N:P). Los sistemas serán humectados y aireados durante el proceso.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Suelo

Según la normativa peruana se define al suelo de la siguiente manera: Material no consolidado compuesto por partículas inorgánicas, materia orgánica, agua, aire y organismos, que comprende desde la capa superior de la superficie terrestre hasta diferentes niveles de profundidad (MINAM, 2013).

Los suelos se dividen en clases según sus características generales. La clasificación se suele basar en su morfología y composición, con énfasis en las propiedades mensurables por ejemplo, la profundidad, el color, la textura, la estructura y la composición química (Bustamante, 2007). Siendo propiedades de relevancia para esta investigación las siguientes:

- **pH del suelo.**- El pH del suelo generalmente se refiere a su grado de acidez o alcalinidad. Químicamente, se define como el \log_{10} de iones hidrógeno (H^+) en la solución del suelo. La escala de pH va desde 0 a 14; un pH de 7 se considera neutral. Si los valores de pH son mayores a 7, la solución se considera básica o alcalina; si están por debajo de 7, la solución

es ácida. Es importante reconocer que debido a que la escala de pH se expresa en unidades logarítmicas, un cambio de sólo unas pocas unidades de pH inducirá cambios significativos en el entorno químico sensible de los procesos biológicos. Por ejemplo, un suelo con pH 5 es 10 o 100 veces más ácido que un suelo con pH 6 o 7, respectivamente (USDA, 2011).

Entre las fuentes de iones H^+ en la solución del suelo se incluyen al ácido carbónico producido cuando el dióxido de carbono (CO_2), producto de la descomposición de materia orgánica y respiración de la rizósfera, se disuelve en el agua del suelo. Otra fuente de iones H^+ es la nitrificación del amonio de los fertilizantes, además de las liberaciones propias de la raíz, la reacción de los iones de aluminio (Al^{+3}) con agua, mineralización de la materia orgánica, la reacción de compuestos azufrados, el agua de lluvia y la lluvia ácida. Algunos suelos son más resistentes a una caída o un aumento en el pH, gracias a su capacidad de tampón (USDA, 2011).

- **Materia Orgánica del Suelo (MOS).**- Es el componente orgánico del suelo. La MOS es necesaria para todas las funciones del suelo y es el indicador más importante de la salud del suelo. Se compone de proporciones variables de: pequeños residuos de planta (frescos), pequeños organismos vivos del suelo, materia orgánica en descomposición (activa) y la materia orgánica estable (humus) en distintas fases. Algunas de las funciones más importantes que la MOS cumple son: Suministro de nutrientes, asegurar la disponibilidad de capacidad hídrica, mantener la unión de los componentes del suelo, previene la erosión y retiene carbono atmosférico (USDA, 2014).

La MOS contiene compuestos carbonados con diferentes niveles de degradabilidad, desde muy fácilmente descomponibles a extremadamente resistentes (recalcitrantes). Cada componente carbonado tiene un diferente tiempo de residencia en el suelo y realiza diferentes funciones (USDA, 2014).

- **Capacidad de agua disponible.-** Cantidad máxima de agua disponible que un suelo puede proporcionar. Es un indicador de la capacidad del suelo para retener el agua y hacerla suficientemente disponible para el uso vegetal (USDA, 2008).

El agua disponible es el agua contenida en el suelo entre su capacidad de campo y punto de marchitez permanente. Capacidad de campo es el agua relativamente constante que existe en un suelo después de que ha sido completamente saturado y dejado drenar libremente, por lo general durante 48 horas. Punto de marchitez permanente es el contenido de agua de un suelo en el que las plantas se marchitan y son incapaces de recuperarse aun cuando se les suministre suficiente humedad. La capacidad de agua se expresa generalmente como una fracción de volumen o porcentaje, o como una profundidad (cm) (FAO, 2005).

- **Textura del suelo.-** La textura del suelo determina la capacidad de absorción y retención de agua, la cantidad de aire que contiene el suelo, su capacidad portante y parcialmente su fertilidad, puede variar de una composición arenosa, limosa o arcillosa a una mezcla de estas en diferentes proporciones (USDA, 2008).

En texturas gruesas (suelos arenosos y grava) la lixiviación es más rápida que en texturas finas (suelos arcillosos), siendo estos últimos quienes poseen mayor capacidad de retener los contaminantes y prevenir su alcance a aguas subterráneas (Bustamante, 2007).

El contenido de arcilla está correlacionado con la capacidad de campo, área superficial específica, capacidad de intercambio catiónico influyendo en la adsorción de iones. Para compuestos orgánicos no polares, generalmente no existe correlación entre el contenido de arcilla y la adsorción. Dadas estas características, se ha determinado que el Perú es un país pobre en buenos suelos, a pesar de su gran extensión. De las 128 521 560 ha del país, sólo 25 525 000 ha (19,86%) son aptas para la agricultura y la

ganadería. Muestra de ello, son los suelos amazónicos donde la agricultura es una labor de bajas productividades debido: (i) a las altas temperaturas y precipitaciones y (ii) a la historia geológica de la región (Brack & Mendiola, Ecología del Perú, 2000). De estos, sólo 6% de la superficie se caracteriza por un alto contenido de carbono orgánico disponible lo que les otorga una gran capacidad de resistencia a la pérdida de nutrientes (Glaser, 2007).

En la Costa del Perú podemos observar que hay un intensivo aprovechamiento agrícola. Los suelos son fértiles y de alta calidad, debido a los sedimentos minerales depositados por los 53 ríos que bañan sus tierras. En la Costa norte (Piura y Tumbes) los suelos son arcillosos y alcalinos. En la Costa sur existen suelos volcánicos de reacción neutra (MINAGRI, 2015).

2.2.2. Hidrocarburos

Los hidrocarburos son compuestos formados por átomos de carbono e hidrógeno, de gran abundancia en la naturaleza, presentes principalmente en el petróleo. Se consideran como una mezcla compleja de gases, líquidos y sólidos, existiendo cantidades combinadas de nitrógeno, oxígeno y azufre, además de contener compuestos de hierro, níquel, vanadio y otros metales (PEMEX, 1998).

En el Perú existen 18 cuencas sedimentarias con potencial de hidrocarburos, la mayoría de ellas en la selva. La extracción de los mismos se desarrolla desde hace más de 140 años, principalmente en la costa norte, selva central, selva norte y selva sur. Teniendo un total de reservas probadas de 390 750.4 MSTB en la zona selva (MINEM, 2013).

- **Petróleo sin refinar.-**

El petróleo es un líquido oleoso bituminoso de origen natural compuesto por diferentes sustancias orgánicas, se encuentra en grandes cantidades bajo la superficie terrestre y se emplea como combustible y materia prima

para la industria (Orosco & Soria, 2008). Presenta una composición que varía según el yacimiento del cual se extrae, pudiendo considerarse una composición promedio: 85%C, 12%H y 3% S+O+N además de varios elementos metálicos en trazas.

Su viscosidad varía desde un líquido tan fluido como la gasolina hasta uno que casi no fluye. El número de Grados API ($^{\circ}$ API) es un parámetro importante para caracterizar a los crudos; un mayor número de $^{\circ}$ API representa menor viscosidad y un mayor valor comercial. El valor de la gravedad específica, relación entre el peso del crudo con respecto al peso del agua a una temperatura de referencia, varía entre 1.0366 (5° API) y 0.7389 (60° API) para crudos normales (González, 2005).

En el Perú, el mayor aporte a la producción de petróleo crudo corresponde al Lote 1-AB, seguido por el Lote X, Lote 8 y por el Lote Z-2B, en la zona norte del Perú (MINEM, 2014b), el cual es transportado hacia las siete refinерías en el país, entre ellas: Refinería Talara y Refinería La Pampilla, origen del crudo utilizado en esta investigación (REPSOL, 2013).

La Pampilla se abastece de diversos tipos de crudo con bajo contenido de azufre para cumplir con las especificaciones de calidad de los productos refinados. Los crudos cercanos como el "Loreto" (selva peruana) y los "Oriente" y "Napo" del Ecuador, tienen alto contenido de azufre, que por sí solos producen un diésel 2 que supera los límites permitidos (5000 ppm), por lo que la mayor parte del crudo adquirido en el 2014 fue importado, y sólo el 0.3% provino de proveedores peruanos (crudo "Mayna"), ya que el operador estatal dispone en Talara de la mayor parte del crudo nacional de bajo azufre, quedando sólo un porcentaje reducido que cumple con los requerimientos de calidad para la Refinería La Pampilla.

El crudo de La Pampilla presenta un 95.77% de hidrocarburos saturados alicíclicos, una gravedad API de 19° , verificando lo anteriormente mencionado (Escalante, 2002).

- **Hidrocarburos totales de petróleo (TPH).**-

Se usa para describir a un grupo extenso de varios cientos de sustancias químicas derivadas originalmente del petróleo crudo. En este sentido, los TPH son realmente un gran conjunto de sustancias químicas.

La cantidad de TPH que se encuentra en una muestra sirve como indicador general del tipo de contaminación que existe en el sitio. Sin embargo, la cantidad de TPH que se mide suministra poca información acerca de cómo hidrocarburos de petróleo específicos pueden afectar a la gente, los animales y las plantas (Escorza-Nuñez, 2007). Es por esto, que la medición de TPH es un indicador apropiado para los fines de este estudio, por representar el grado de contaminación por fugas o derrames de petróleo y/o derivados y además, estar normado en la legislación peruana.

En resumen, el análisis fisicoquímico de TPH incluye:

- ✓ Compuestos hidrocarburos parafínicos, nafténicos y aromáticos,
- ✓ La mayoría de productos líquidos de petróleo (gasolinas, kerosene, combustible para aviones, gasoil y aceites lubricantes),
- ✓ Compuestos oxigenados. Adicionalmente, excluye la detección de compuestos clorados y pesticidas.

2.2.3. Lodos activados

El tratamiento del agua residual tiene siempre como subproducto la formación de lodos residuales, residuos peligrosos los cuales implican un costo adicional para su manejo, tratamiento y disposición.

Los lodos generados en el tratamiento de aguas residuales domésticas poseen una composición variable según la fase del tratamiento (Oropeza Garcia, 2006), teniendo la siguiente caracterización (Ver Tabla 2.1).

Los lodos primarios son aquellos provenientes de clarificadores primarios y contienen entre 3 y 8% de sólidos, de los que aproximadamente 70% son

orgánicos. Los lodos secundarios contienen entre 2% a 5% de sólidos, que contiene un 90% de materia orgánica.

Tabla 2.1: Caracterización y composición de lodos activados

Parámetros		Lodos Primarios	Lodos Secundarios (mezcla)	Lodos Digeridos
pH	unidades	5.5 - 6.5	6.5 - 7.5	6.8 - 7.6
Contenido de agua	%	92 - 96	97.5 - 98	94 - 97
SSV	%ss	70 - 80	80 - 90	55 - 65
Grasas	%ss	12 - 14	3 - 5	4 - 12
Proteínas	%ss	4 - 14	20 - 30	8 - 20
Carbohidratos	%ss	8 - 10	6 - 8	5 - 8
Nitrógeno	%ss	2 - 5	1 - 6	3 - 7
Fósforo	%ss	0.5 - 1.5	1.5 - 2.5	0.5 - 1.5
Bacterias patógenas	NMP/100ml	10 ³ - 10 ⁵	100 - 1000	10 - 100
Metales pesados (Zn, Cu, Pb)	%ss	0.2 - 2	0.2 - 2	0.2 - 2

Fuente: Hernández M.A. 1992

Un examen microscópico de lodos revela que estos poseen una población heterogénea de microorganismos, que cambian continuamente en función de las variaciones de la composición de las aguas residuales y de las condiciones ambientales. Por lo general los microorganismos presentes son bacterias, hongos, algas, protozoos y rotíferos; de éstos, las bacterias son probablemente las más importantes encontrándose en todos los tipos de procesos de tratamiento biológico (Ramalho, 1996).

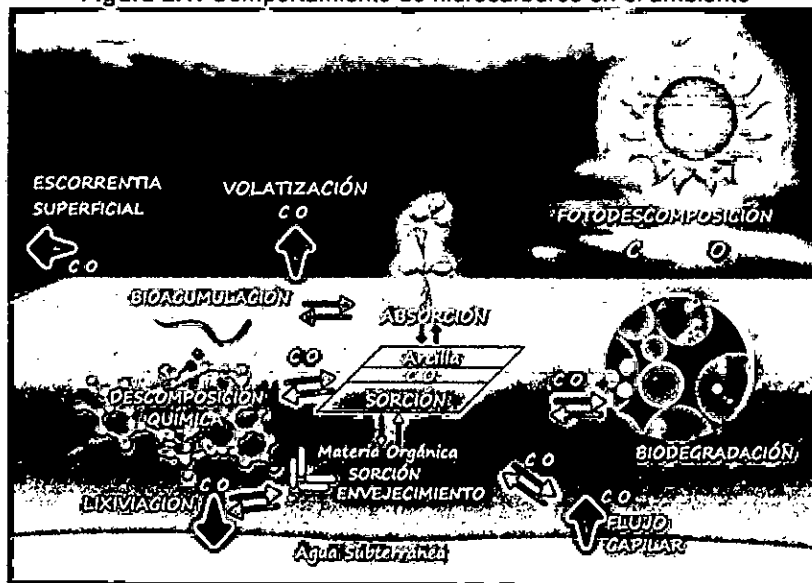
2.2.4. Contaminación de suelo por hidrocarburos

Uno de los problemas de contaminación ambiental más importantes a nivel mundial es el vertido de hidrocarburos totales de petróleo en ecosistemas terrestres y acuáticos. (Victoria & Salgado, 2005). Para los ecosistemas terrestres las principales fuentes de contaminación son las actividades de extracción, transporte, almacenamiento, refinamiento de petróleo, derrame de tuberías corroídas y tiraderos de desechos aceitosos semisólidos.

Una vez en el medio terrestre, la transferencia o movilización del hidrocarburo, sustancia hidrófoba, dependerá de las características del suelo como: porosidad, textura, agua disponible; también de las características del hidrocarburo, tales como: volumen vertido, composición, viscosidad, entre otros; además de las condiciones ambientales como: temperatura, humedad, intensidad del viento (Cando Rodriguez, 2011).

El impacto directo de los hidrocarburos en la flora, proviene de su capacidad de disolver tejidos vegetales, ocasionado daño a la membrana celular que dificulta la transpiración y aumento de la respiración, dándose el fenómeno de sofocación. Su efecto en animales y en hombre es similar, dependiendo de las vías de exposición al contaminante, pudiendo aumentar su toxicidad a lo largo de la cadena alimentaria. Pese a esto, se considera al suelo como un sistema depurador, que actúa mediante mecanismos de degradación biótica o abiótica, adsorción, complicación e insolubilización de sustancias, pero cuya capacidad depuradora se ve inhibida a causa de altas concentraciones de contaminante (Castro, 2007).

Figura 2.1: Comportamiento de hidrocarburos en el ambiente



C.O.: Contaminante orgánico

Fuente: Brady, 1999. Identificación de fuentes contaminantes de hidrocarburos en el suelo.

Ante esta realidad, surge la necesidad de contar con técnicas que minimicen los efectos adversos de la contaminación por hidrocarburos en el suelo. Entre las técnicas más difundidas para la mitigación de este tipo de contaminación, podemos citar la extracción de hidrocarburos por vacío, el lavado del suelo contaminado con agua, la incineración, la recuperación electrocinética, entre otras. Siendo todos tratamientos físicos y/o químicos con los cuales se han conseguido efectos positivos, pero su elevado coste económico sumado al hecho de que no se consideran técnicas totalmente respetuosas con el medioambiente, constituyen hoy en día un obstáculo muy a tener en cuenta para su empleo (Rodríguez, 2009). Es por esto que en la actualidad, se tiene un interés creciente en la aplicación de técnicas biológicas, ya que son relativamente más sencillas, económicas y ciertamente más respetuosas con el ambiente.

2.2.5. Biorremediación

El término biorremediación se utiliza para describir una variedad de sistemas que utilizan organismos vivos (plantas, hongos, bacterias, etc.) para degradar, transformar o remover compuestos orgánicos tóxicos a productos metabólicos inocuos o menos tóxicos. Este proceso biológico depende de las actividades catabólicas de los organismos empleados, y por ende de su capacidad para utilizar los contaminantes como fuente de alimento y energía (SEMARNAT, 2007).

Entre los sistemas tenemos: fitorremediación, micorremediación, bioestimulación y bioaugmentación; aplicadas en técnicas como: bioventeo, biopilas, compostaje, biorreactores y biolabranza, las cuales pueden aplicarse de forma tanto in situ como ex situ.

- **Técnicas de Biorremediación.-**

Existen diferentes técnicas aplicadas para la biorremediación de hidrocarburos, entre ellas tenemos: las **biopilas**, que consisten en formar

montículos con el suelo contaminado y estimular la actividad microbiana, aireando y/o adicionando nutrientes y humedad; similar a la **biolabranza** ya que ambas se llevan a cabo ex situ, utilizan el oxígeno contenido en el aire y estimulan el crecimiento de bacterias aerobias, las cuales degradan los constituyentes del petróleo; pero su diferencia radica en la forma de suministrar el oxígeno, es decir, en la biolabranza se suministra el oxígeno labrando o arando el suelo contaminado, mientras que en las biopilas el aire se inyecta o extrae a través de tubos perforados o ranurados que atraviesan el montículo. (Roldán Martín & Iturbe Arguelles, 2013).

Una variante con muchas técnicas es la fitorremediación, la cual utiliza especies vegetales para transformar o degradar compuestos orgánicos a nivel rizosférico, para posteriormente volatilizarlos o acumularlos en distintas partes del vegetal. En el caso de compuestos orgánicos, el proceso se lleva a cabo principalmente en la rizósfera, zona donde la actividad microbiana es incrementada gracias a los exudados de la raíz (Ferrera - Cerrato, 1995).

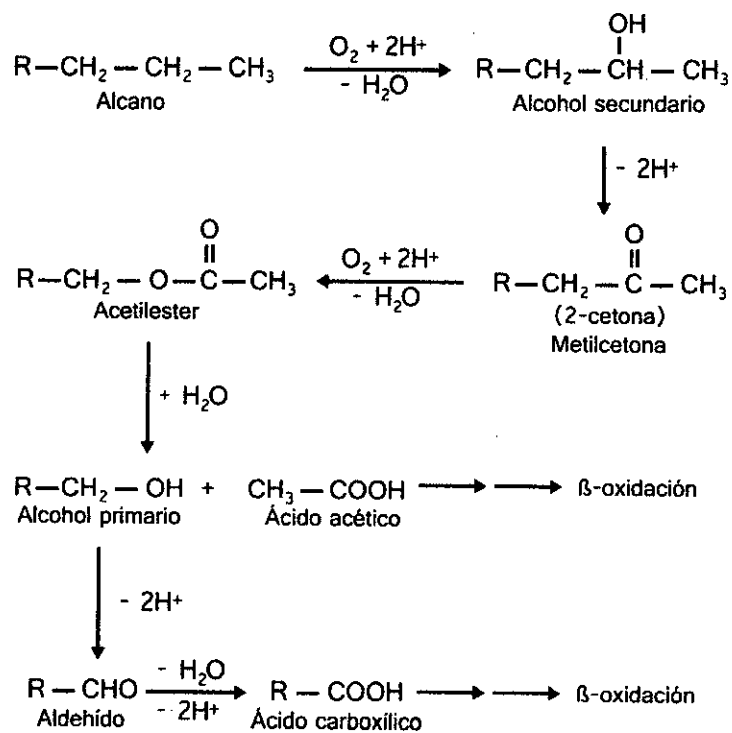
2.2.6. Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos

La biodegradación de hidrocarburos de petróleo está condicionada por diferentes variables: pH, humedad, aceptores de electrones y nutrientes (Ávila, 1999). Cuando existen derrames de hidrocarburos en el suelo se observa una elevada concentración de carbono y carencia de nitrógeno y fósforo, necesarios para el metabolismo microbiano, por este motivo se opta por la bioestimulación, que es suministrar nutrientes limitantes y aceptores de electrones que estimulen el metabolismo y el crecimiento de microorganismos, acelerando la degradación del contaminante si las condiciones ambientales son favorables (Gómez, 2001).

• **Fundamento bioquímico de la Biorremediación.-**

En la cadena respiratoria, o transportadora de electrones de las células, se va a producir una serie de reacciones de óxido-reducción, cuyo fin es la obtención de energía. La cadena la inicia un sustrato orgánico (hidrocarburos), que es externo a la célula y que actúa como dador de electrones, de modo que la actividad metabólica de la célula acaba degradando y consumiendo dicho sustrato. Dependiendo del aceptor de electrones se pueden tener procesos aerobios, con oxígeno y anaerobios en presencia de sulfatos y dióxidos de carbono (Maroto & Rogel, 2004). La tasa de biodegradación aerobia depende de la complejidad de la molécula contaminante y de la disponibilidad de aceptores de electrones. (Ñustez, 2012).

Figura 2.2: Bioquímica de la degradación de alcanos



Fuente: Burgos, 2008. Biodegradación de Hidrocarburos.

La concentración y composición de la comunidad microbiana, está influenciada por diversos factores, cuyo estado determina la tasa de transformación de contaminantes (Maroto & Rogel, 2004):

✓ **Nutrientes:** Además del carbono, esencial para la síntesis celular, son requeridos generalmente el nitrógeno y fósforo. Una adición de fuentes inorgánicas de N y P, tiene por lo general efectos positivos en las tasas de biodegradación del hidrocarburo, contrariamente, el exceso de estos nutrientes ocasionará una posible inhibición del proceso (Margesin & Schinner, 2001). Según USEPA, las proporciones de C:N:P en suelos saludables son muy variadas, considerándose de modo habitual entre: 100:15:0.5 a 100:15:1.

La proporción entre carbono orgánico y materia orgánica del suelo se puede calcular a través de utilizar un factor de corrección igual a 1.724, asumiendo que la materia orgánica tiene 58% de carbono orgánico. Es así que: $MOS/COS = 1.724$ (Kellogg Soil Survey Laboratory, 2014).

✓ **pH del suelo:** El máximo crecimiento de la mayor parte de los microorganismos se da en un intervalo de pH situado entre 6 y 8.

✓ **Temperatura:** Se tiene un crecimiento óptimo de microorganismos mesófilos entre 15°C y 45°C, decreciendo la biodegradación por desnaturalización de las enzimas a temperaturas superiores a los 40°C.

✓ **Humedad:** El agua forma parte del protoplasma bacteriano y sirve como medio de transporte a través del cual los compuestos orgánicos y nutrientes son movilizados hasta el interior de las células. Un exceso de humedad inhibirá el crecimiento bacteriano al reducir la concentración de oxígeno en el suelo.

Según (Israelsen & Hansen, 1985), podemos estimar una humedad apropiada en suelo para biorremediación en suelo franco de 10% a 30% (w/w).

✓ **Estructura química del hidrocarburo:** Influye en la biodegradabilidad del hidrocarburo, los parámetros que más van a afectar son la halogenación, la existencia de ramificaciones, la baja solubilidad en el agua y la diferente carga atómica.

Algunas especies de microorganismos pueden metabolizar un número limitado de hidrocarburos, de manera que la presencia de poblaciones mixtas con diferentes capacidades metabólicas o específicamente una amplia capacidad enzimática, es necesaria para degradar significativamente mezclas complejas de hidrocarburos como el crudo o sus derivados. La degradación de hidrocarburos se lleva a cabo principalmente por bacterias, seguidas por los hongos, levaduras y algas, entre otros (Rios, 2005) (Ñustez, 2012).

De acuerdo a la susceptibilidad al ataque microbiano, los hidrocarburos se han clasificado en forma decreciente, en función de su estructura, en: n-alcenos, alcanos ramificados, aromáticos de bajo peso molecular y alcanos cíclicos. Sin embargo esto no es una regla, ya que esto depende de factores como: concentración del hidrocarburo, estado físico del hidrocarburo, la temperatura, oxígeno disuelto disponible, nutrientes como N, P y K, y en menor grado, la salinidad, la presión, actividad del agua y pH. (Fernando, 2010).

Para que los microorganismos puedan degradar alcanos primero deben de oxidar con oxígeno el último carbono de la molécula gracias al complejo multienzimático que no hacen más que incorporar esta molécula de oxígeno. Así se obtiene un hidrocarburo con un grupo alcohol siendo así una molécula más reactiva. Mediante otras enzimas este grupo alcohol se oxida más hasta grupo aldehído y finalmente carboxílico. Así se obtiene una molécula similar a un ácido graso y puede ser degradado a acetil-CoA por β -oxidación (Burgos, 2008).

Entre los principales grupos de microorganismos degradadores de hidrocarburos tenemos (Orosco & Soria, 2008):

✓ **Bacterias:** Del género *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Acinetobacter* o *Bacillus* entre, entre otras. Estas bacterias producen bioemulsificantes y biosurfactantes que disminuyen la tensión superficial entre el petróleo y el medio acuoso facilitando el acceso microbiano a la fuente de carbono insoluble para su degradación.

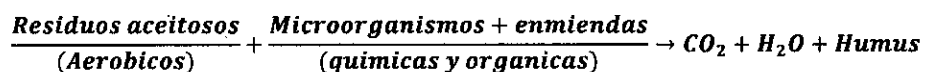
✓ **Hongos:** Destacan los géneros *Apergillus*, *Penicilium* y *Candida* (dentro de las levaduras).

✓ **Algas microscópicas:** Principalmente cianobacterias.

En muchos casos la presencia de microorganismos contribuye no solo a la degradación del hidrocarburo sino también a la fijación de nutrientes, como es el caso de *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Gordonia* que, según Acuña & Pussi, mostraron capacidad de biodegradar hidrocarburos en ausencia de nitrógeno y de realizar la fijación biológica de este nutriente, siendo los responsables de generar nitrógeno biodisponible en los suelos con baja concentración del mismo y así incrementar su biomasa y la de otros microorganismos degradadores, bioestimulando la degradación de los hidrocarburos presentes.

Las bacterias, hongos y otros microorganismos se encargan de transformar los componentes orgánicos del hidrocarburo en: CO₂, H₂O y humus, de la siguiente manera:

Figura 2.3: Reacción de biodegradación de hidrocarburos



Fuente: *Bioremediation in soil contaminated with hydrocarbons in Colombia*. Trujillo Toro. 2012

El crecimiento microbiano se puede medir a través de la técnica del **Número Más Probable (NMP)**, la cual es una estrategia eficiente de

estimación de densidades poblacionales especialmente cuando una evaluación cuantitativa de células individuales no es factible. La técnica se basa en la determinación de presencia o ausencia en réplicas de diluciones consecutivas de atributos particulares de microorganismos presentes en muestras de suelo u otros ambientes.

Algunas de las ventajas del NMP son: (i) La capacidad de estimar tamaños poblacionales basados en atributos relacionados a un proceso (selectividad); por ejemplo se puede determinar la densidad poblacional de organismos que pueden nodular leguminosas en una muestra de suelo usando el método de infección de plantas, (ii) provee una recuperación uniforme de las poblaciones microbianas de suelos diversificados, (iii) determina sólo organismos vivos y activos metabólicamente, y (iv) suele ser más rápido e igual de confiable que los métodos tradicionales de esparcimiento en platos de cultivo, entre otros.

2.2.7. Marco Legal

A nivel nacional contamos con las siguientes normativas que procuran la conservación y calidad del ambiente:

- **Constitución Política del Perú.-** El numeral 22 del artículo 2° de la mencionada normativa señala que toda persona tiene derecho a gozar de un ambiente equilibrado y adecuado al desarrollo de su vida.
- **Ley N° 28611, Ley General del Ambiente.-** Según el artículo I del Título Preliminar de la Ley N° 28611 toda persona tiene el derecho irrenunciable a vivir en un ambiente saludable, equilibrado y adecuado para el pleno desarrollo de la vida y el deber de contribuir a una efectiva gestión ambiental y de proteger el ambiente, así como a sus componentes asegurando particularmente la salud de las personas en forma individual y colectiva, la conservación de la diversidad biológica, el aprovechamiento sostenible de los recursos naturales y el desarrollo sostenible del país.

• **Ley Orgánica de Hidrocarburos, Ley N° 26221.**- Es la norma base que regula las actividades de hidrocarburos en el territorio nacional. Esta Ley establece que los titulares de actividades de hidrocarburos están obligados a salvaguardar el interés nacional; y atender la seguridad y salud de sus trabajadores; y cumplir con las disposiciones sobre protección al medio ambiente.

• **Reglamento para la Protección Ambiental en las Actividades de Hidrocarburos.**- El Decreto Supremo No. 039-2014-EM que establece las especificaciones que se deberán tomar en cuenta para desarrollar dichas actividades, buscando la protección del ambiente en el entorno próximo del proyecto, además, señala los requisitos para la presentación de instrumentos de gestión ambiental estableciendo los entes encargados de la supervisión y fiscalización ambiental.

• **Estándares de Calidad Ambiental para Suelo.**- El D.S. N° 002-2013-MINAM establece el nivel de concentración de ciertos parámetros para el suelo en su condición de cuerpo receptor, de tal forma que no representen riesgo significativo para la salud de personas ni del ambiente. De acuerdo al uso y parámetros de estudio de esta investigación tenemos parámetros característicos para esta investigación (Ver Tabla 2.2):

Tabla 2.2: Estándares de Calidad Ambiental para Suelo

Parámetro	Usos de Suelo			Método de ensayo
	Suelo agrícola	Suelo Residencial/ Parques	Suelo Comercial/ Industrial/ Extractivo	
Fracción de hidrocarburos F2 (C10-C28) (mg/Kg MS)	1200	1200	5000	EPA 8015-M
Fracción de hidrocarburos F3 (C28-C40) (mg/Kg MS)	3000	3000	6000	EPA 8015-D

Donde: MS = Materia seca a 105°C

Fuente: D.S. N°002-2013-MINAM

2.3. Definiciones de términos básicos

Para el presente marco conceptual se ha tenido en cuenta la revisión de una serie de términos útiles para la investigación científica de los cuales resaltan los siguientes términos más relevantes:

- **Aprovechamiento.-** Es el uso del lodo activado como mejorador o acondicionador de los suelos, por su contenido de materia orgánica y nutriente, o en cualquier actividad que presente un beneficio (SEMARNAT, 2002).
- **Atenuación natural.-** La atenuación natural es un método de remediación pasiva que depende de los procesos naturales para degradar y disminuir los contaminantes en el suelo y el agua subterránea (Kao, 2001). Los resultados de la atenuación natural dependen de la presencia o ausencia de los microorganismos degradadores adecuados, oxígeno disuelto y el nivel de nutrientes y de la biodisponibilidad de los contaminantes (Menéndez, y otros, 2007).
- **Bacterias heterótrofas aerobias.-** En base a la clasificación de necesidad de oxígeno y la fuente de carbono para el crecimiento microbiano las bacterias heterótrofas aerobias son aquellas que no producen su propio alimento, obteniendo el carbono necesario para su metabolismo de fuentes orgánicas, que para el caso de la investigación será el hidrocarburo, y aerobias ya que requieren del oxígeno como aceptor de electrones de su proceso metabólico (MAGRAMA, 2000).
- **Bioaugmentación.-** La actividad microbiana es estimulada por la adición de materia orgánica al suelo. La materia orgánica mejora mucho las propiedades químicas y físicas del suelo tales como la capacidad de retención de agua, aireación, pH, la capacidad de recambio iónico (Brady & Weil, 1998). Estas propiedades influyen directamente sobre las poblaciones de los microorganismos endógenos y pueden mejorar su

capacidad para degradar hidrocarburos y otros contaminantes basados en el carbono (Weelman, Ulery, Barcellona, & Duerr-Auster, 2001).

- **Bioestimulación.**- La bioestimulación es el método más empleado para reducir la concentración del contaminante (Cunningham & Philip, 2000). En la bioestimulación la actividad natural de los microorganismos es estimulada por la circulación de soluciones a través del suelo contaminado, para que nutrientes (nitrógeno y fósforo), oxígeno, entre otros puedan ser empleados para estimular la biorremediación (Salinas, y otros, 2008).

- **Biorremediación.**- La biorremediación se basa en la activación de la degradación microbiana de compuestos en sitios contaminados, a través de mejorar factores ambientales, como son la concentración de nutrimentos, el contenido de agua, el pH, la temperatura, el intercambio de oxígeno y la disponibilidad de los contaminantes hacia los microorganismos (Riser, 1992).

- **Carbono orgánico del suelo (COS).**- Se considera un indicador importante de la calidad del suelo y la sostenibilidad agrícola, ya que mejora la estabilidad de los agregados y la retención de agua del suelo, y proporciona un depósito para los nutrientes del suelo (Liu, y otros, 2006). La disponibilidad de nutrientes y almacenamiento de carbono dependen del contenido de materia orgánica del suelo (MOS), que se puede dividir en la reserva lábil y las reservas de humus. La reserva lábil se descompone fácilmente por microorganismos, mientras que la reserva de humus es más resistente a la descomposición y por lo tanto permite el almacenamiento de carbono en el suelo (Oades, 1993). En el caso de nuestra investigación, se espera una alta elevación de COS por el aporte de las cadenas carbonadas del petróleo contaminante, cantidad que irá disminuyendo durante el proceso de biorremediación.

- **Contaminante del suelo.-** Cualquier sustancia química que no pertenece a la naturaleza del suelo o cuya concentración excede la del nivel de fondo susceptible de causar efectos nocivos para la salud de las personas o el ambiente es un potencial contaminante del suelo (MINAM, 2013).
- **Cromatografía de gases.-** Es una técnica donde la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil que es un gas inerte, y a diferencia de la mayoría de los tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna. Por esta razón, la cromatografía de gases se emplea cuando los componentes de la mezcla problema son volátiles o semivolátiles y térmicamente estables a temperaturas de hasta 350-400°C. (Laboratorio de Técnicas Instrumentales de la Universidad de Valladolid, 2016)
- **Degradación aerobia.-** Conjunto de transformaciones bioquímicas de la materia orgánica presente en lodos y suelos contaminados con petróleo, que tiene como productos finales el CO₂ y H₂O, producto de la actividad microbiana en presencia de oxígeno.
- **Disposición final.-** la acción de depositar de manera permanente lodos en sitios autorizados (SEMARNAT, 2002).
- **Dosis.-** Cantidad o porción de algo, material o inmaterial (RAE, 2014). En el caso específico de esta investigación, se refiere al cociente, expresado en porcentaje, entre la masa de lodo sobre la masa de suelo contaminado.
- **Ecotoxicidad.-** Es el efecto de compuestos químicos tóxicos sobre los seres vivos, especialmente en cuanto a poblaciones, comunidades y ecosistemas. La ecotoxicidad es la resultante del estrés de los tóxicos que

actúan en el ambiente, ya sea su origen natural o antropogénica. Podemos clasificar los contaminantes en dos tipos: **Primarios**, se vierten desde los focos de emisión al ambiente y **Secundarios**, se forman en el ambiente por reacciones químicas (síntesis, oxidación, fotólisis o hidrólisis).

- **Eficiencia.**- La virtud y facultad para lograr un efecto determinado o bien, la acción con que se logra ese efecto (RAE, 2014). Calidad de hacer algo bien y efectivamente, evitando perder tiempo, dinero o energía (Pearson, 2016).

- **Eficiencia de Biorremediación.**- Para efectos de esta investigación, definiremos la eficiencia de biorremediación en base a la evidencia en el porcentaje de disminución de la concentración del contaminante de interés (TPH F2 y F3), el comportamiento de las características fisicoquímicas tales como pH, C:N:P y propiedades organolépticas como el color y olor; todo lo anterior considerando que se emplea un residuo como insumo principal para el tratamiento.

- **Flora microbiana de lodos.**- Compuesta principalmente por coliformes fecales, los cuales son bacterias patógenas presentes en el intestino de animales de sangre caliente y humanos, en forma de bacilos cortos, Gram negativos no esporulados, que pueden identificarse por su tolerancia a temperaturas de 42°C-45° C (SEMARNAT, 2002).

- **Fracción de hidrocarburos F2.**- También llamado hidrocarburos fracción media, es una mezcla de hidrocarburos cuyas moléculas contengan entre diez y veintiocho átomos de carbono (C10 a C28) (MINAM, 2013).

- **Fracción de hidrocarburos F3.**- También llamado hidrocarburos fracción pesada, es una mezcla de hidrocarburos cuyas moléculas contengan entre veintiocho y cuarenta átomos de carbono (C28 a C40) (MINAM, 2013).

- **Hidrocarburos.-** Los hidrocarburos son compuestos formados por átomos de carbono e hidrógeno, de gran abundancia en la naturaleza, presentes principalmente en el petróleo (PEMEX, 1998).
- **Lodos activados.-** Subproducto del tratamiento biológico de aguas residuales domésticas, con contenido variable de humedad y una alta carga de microorganismos de especies muy variadas, que degradan la materia orgánica a través de procesos aerobios (Long, 1991).
- **Lodos Residuales.-** Son sólidos con un contenido variable de humedad, extraídos de las aguas residuales de los sistemas de alcantarillado urbano o municipal, de las plantas potabilizadoras y de las plantas de tratamiento de aguas residuales, que no han sido sometidos a procesos de estabilización.
- **Número más probable (NMP).-** Es una estrategia eficiente de estimación de densidades poblacionales especialmente cuando una evaluación cuantitativa de células individuales no es factible. La técnica se basa en la determinación de presencia o ausencia en réplicas de diluciones consecutivas de atributos particulares de microorganismos presentes en muestras de suelos u otros ambientes. Por lo tanto, un requisito importante de este método es la necesidad de poder reconocer un atributo particular de la población en el medio de crecimiento a utilizarse. En el caso de esta investigación, el atributo particular empleado es la película en la superficie y turbiedad generada en las diluciones, debido a la proliferación de microorganismos. (Quistián García, 2014)
- **pH del suelo.-** El cambio en el pH proveniente de la adición de residuos se correlaciona con la concentración de aniones orgánicos en el residuo y el contenido de nitrógeno del residuo. En nuestra investigación, se realizó una caracterización de la concentración de nitrógeno presente en el lodo activado a adicionar, siendo el resultado de 4.19.

- **Potenciometría.-** La potenciometría es una técnica electro analítica que consiste en la medición de la diferencia de potencial existente entre los electrodos de una celda electroquímica. El potenciómetro se conforma por un electrodo de referencia, un electrodo indicador y un dispositivo para medir esa diferencia de potencial. El electrodo de referencia debe poseer un potencial conocido, retornar a su potencial original después de haber estado sometido a corrientes pequeñas y que sus propiedades varíen poco con la temperatura. Un electrodo indicador ideal responde de forma rápida y reproducible a los cambios de actividad del ion analito. Aunque ningún electrodo indicador es absolutamente específico en su respuesta, actualmente se dispone de unos pocos que son marcadamente selectivos (Martínez Rodríguez, 2012).
- **Suelo franco.-** Los suelos francos son aquellos que poseen porcentajes equilibrados de sus elementos constituyentes y debido a esto, propiedades compensadas y excelentes condiciones agronómicas (Rucks, Garcia, & Kaplan, 2004) .
- **Textura del suelo.-** La textura representa el porcentaje en que se encuentran los elementos que constituyen el suelo; arena gruesa, arena media, arena fina, limo, arcilla. Se dice que un suelo tiene una buena textura cuando la proporción de los elementos que lo constituyen le dan la posibilidad de ser un soporte capaz de favorecer la fijación del sistema radicular de las plantas y su nutrición (Rucks, Garcia, & Kaplan, 2004).
- **Propiedades organolépticas.-** Hace referencia a cualquier propiedad de un alimento u otro producto percibida mediante los sentidos, incluidos su sabor, color, olor y textura (FAO, 2009).
- **Olor.-** Impresión que los efluvios producen en el olfato (RAE, 2014).

- **Color.**- Propiedad de la luz transmitida, reflejada o emitida por un objeto, que depende de su longitud de onda, que posee la capacidad de impresionar los órganos visuales (RAE, 2014).

CAPITULO III

VARIABLES E HIPÓTESIS

3.1. Definición de las variables

3.1.1. Variable independiente: Lodos activados

Definición conceptual.- Subproducto del tratamiento biológico de aguas residuales domésticas, con contenido variable de humedad y una alta carga de microorganismos de especies muy variadas, que degradan la materia orgánica a través de procesos aerobios.

3.1.2 Variable dependiente: Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos.

Definición conceptual.- Se evidencia en el grado de disminución de la concentración de TPH en suelo contaminado con hidrocarburos.

3.1.3 Variable interviniente: Tiempo

Definición conceptual.- Periodo de aplicación del tratamiento de biorremediación seleccionado, así como los plazos asignados para la evaluación progresiva del mismo.

3.2. Operación de variables

3.2.1 Variable independiente: Lodos activados

Definición operacional: La aplicación de 3 diferentes dosis de lodos activados en relación a tres masas homogéneas de suelo contaminado (15Kg).

Dimensión: Dosis de lodos activados.

Indicadores:

*Dosis: 20%, 30% y 40% de lodo activado en relación a tres masas homogéneas de suelo contaminado.

3.2.2 Variable dependiente: **Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos.**

Definición operacional: Es la disminución de la concentración de TPH (F2 y F3) del suelo contaminado, en relación a la concentración inicial.

Dimensiones: Concentración de contaminante.

Indicadores:

*Concentración final de TPH: expresada en mg/Kg de suelo contaminado.

Tabla 3.1: Cuadro Resumen Variables, Dimensiones, Indicadores y Medida

VARIABLE		DIMENSIÓN	INDICADOR	MEDIDA
Independiente	Lodos activados	Dosis	Dosis X_n	%(W/W)
Dependiente	Biorremediación de TPH	Concentración de contaminante	Concentración final de TPH (F2-F3) Y_n, Y'_n	mg/Kg
Interviniente	Tiempo	-	Tiempo Z_n	días

Elaboración: Propia

Tabla 3.2: Operación de Variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	VARIABLE INTERVINIENTE	VARIABLE DEPENDIENTE	
Concentración de lodos (%w/w) X_n	Tiempo (días) Z_n	Concentración final TPH-F2 (%) Y'_n	Concentración final TPH-F3 (%) Y'_n
$X_1:20$	$Z_1:15$	Y_1	Y'_1
	$Z_2:30$	Y_2	Y'_2
	$Z_3:60$	Y_3	Y'_3
	$Z_4:90$	Y_4	Y'_4
$X_2:30$	$Z_1:15$	Y_5	Y'_5
	$Z_2:30$	Y_6	Y'_6
	$Z_3:60$	Y_7	Y'_7
	$Z_4:90$	Y_8	Y'_8
$X_3:40$	$Z_1:15$	Y_9	Y'_9
	$Z_2:30$	Y_{10}	Y'_{10}
	$Z_3:60$	Y_{11}	Y'_{11}
	$Z_4:90$	Y_{12}	Y'_{12}

Elaboración: Propia

3.3. Hipótesis general e hipótesis específicas

3.3.1 Hipótesis general:

- ✓ La aplicación de lodos activados permitirá una eficiente biorremediación en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH).

3.3.2. Hipótesis específica:

- ✓ La aplicación de la dosis óptima de lodos activados permitirá una eficiente biorremediación en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH).
- ✓ La variación de las propiedades nativas respecto a las obtenidas luego del proceso de biorremediación con lodos activados permitirá el uso agrícola del suelo.

CAPITULO IV METODOLOGÍA

4.1. Tipo de investigación

El presente trabajo desarrolla una investigación básica de tipo experimental, correlacional y a escala de laboratorio.

Esto permitirá crear una situación con las condiciones exactas que desea y en la cual controla algunas variables y manipula otras. Es decir, se crean situaciones artificiales para tener la posibilidad de probar, elaborar y refinar el conocimiento con el propósito de incrementar la comprensión del comportamiento de las variables relevantes.

4.2. Diseño de la investigación

Para la realización del presente trabajo de tesis se utilizará el método científico, complementando con el método deductivo e inductivo.

El estudio se realizará acondicionado un área en la parte posterior de la FIARN-UNAC, durante la estación de verano (febrero-abril), manteniéndose la temperatura en un rango de 19°C a 23°C. El área de trabajo será delimitada teniendo en cuenta una adecuada señalización a través de pictogramas de seguridad, cercado del área de trabajo y uso permanente de un recipiente especial para los residuos peligrosos que pudiesen generarse de nuestras actividades.

Los insumos que se emplearán para el desarrollo de la investigación son los siguientes:

- **Suelo.-** Procedente del Centro Poblado Naranjillo, Distrito Nueva Cajamarca, Provincia Rioja, Región San Martín.

- **Petróleo no refinado.-** Proveniente, a través de una donación, de la Refinería La Pampilla, ubicada en Ventanilla, Callao. Es un crudo denominado Amenan de API ligero.

- **Lodos activados.**- Proveniente de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas Manchay, ubicada en Pachacamac - Lima.

4.3. Población y muestra

La población en estudio está conformada por el suelo recolectado del Centro Poblado Naranjillo, Distrito Nueva Cajamarca, Provincia Rioja, Región de San Martín, el cual fue seleccionado debido a la vulnerabilidad ante escenarios de contaminación que presentan los suelos de la cuenca del Huallaga, reflejados en la variación de sus propiedades (pH, textura, C.E., relación C:N:P) y pérdida de biodiversidad.

En esta zona se desarrollan actividades agropecuarias según la Zonificación Ecológica Económica realizada por el Gobierno Regional de San Martín el 2005, donde el suelo se caracteriza físicamente por una coloración pardo a pardo oscuro sobre pardo amarillento; de textura media a moderadamente fina; químicamente, presentan una baja saturación de bases, de reacción extremadamente ácida que grada a fuertemente ácida, con una alta saturación de aluminio. La capa superficial se caracteriza por presentar contenidos: medios de materia orgánica, bajo contenido de fósforo, alto de potasio y se considera de baja fertilidad natural; y ambientalmente

La muestra se constituye por 60 Kg de suelo recolectados, siguiendo un muestreo exploratorio y sistemático, de distribución de patrón regular (D.S. N° 002-2013-MINAM "Estándares de Calidad Ambiental para suelo": Guía para Muestreo de Suelo). Se realizará un muestreo compuesto, distribuyéndose la toma en cuatro cuadrantes de una rejilla imaginaria, tomándose 15 Kg de cada cuadrante. Respecto al muestreo sistemático, se tomaron muestras de una manera directa y ordenada a partir de una regla determinística, para nuestro caso cuatro cuadrantes de una rejilla imaginaria de 100 x 100 m², es decir 1 muestra por hectárea del suelo de cultivo. Para el muestreo se procederá al desbroce del cuadrante,

realización de una calicata con una superficie de 0.50x0.50 m², donde se recolectará la muestra de los primeros 0.30 m. La muestra será trasladada al área de estudio por vía terrestre en sacos opacos herméticamente sellados para su adecuada conservación.

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

4.4.1. Técnicas de laboratorio

Para el análisis de concentración de TPH en suelo se usará un análisis cromatográfico de gases bajo el Método EPA8015-C, para el control del crecimiento microbiano se empleará la técnica del Número Más Probable para 10 diluciones con 95% de confianza, la medición de temperatura bajo el Standard Methods N° B2250, medición de pH por el método EPA 9045C.

Los compuestos de interés en esta investigación cumplen con los requisitos para poder ser analizados por la técnica de cromatografía de gases.

Para las mediciones de pH que se realizaron en esta investigación, se utilizaron electrodos de vidrio de pH que miden la concentración de H⁺ relativa a sus referencias, los cuales deben ser calibrados periódicamente para asegurar la precisión, usando buffers de calibración.

4.4.2. Instrumentos utilizados

Para la recolección de datos se utilizará: Cromatógrafo de gases, marca SHIMADZU, Modelo GC-2010 con límite de detección de 1.77 mg/Kg; termómetro de mercurio, marca GIARDINO, de 30 x 0.6 cm, de escala de 1°C en 1°C, de rango de -10°C a 100°C; potenciómetro tipo lapicero, marca OEM, de sensibilidad de ±0.01 unidades con compensación de temperatura automática, registro de rango de 1 a 14; autoclave, marca DIONET, de capacidad de 50 L, con control de temperatura; incubadora, marca Memmert de rango de temperatura: hasta +60 °C y microscopio óptico binocular Compuesto, marca Amscope resolución de 40x A 1000x.

4.4.3. Informes, guías, reportes

Para la caracterización de suelo, lodo activado y petróleo crudo se solicitó la realización de los mismos a los Laboratorio UNALM y la FIPP- UNI, según metodologías señaladas (Ver Tabla 4.1).

Tabla 4.1: Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Análisis	Parámetro	Método	Equipo
Físico	Temperatura	Standard Methods N° B2250	Termómetro de mercurio
Químico	pH	EPA 9045C	Potenciómetro
Químico	TPH – F2	EPA 8015-C	Cromatógrafo de gases
Químico	TPH – F3		
Microbiológico	Microorganismos Heterótrofos aerobios	Dilución en medio líquido (NMP)	Autoclave Incubadora
Microbiológico	Identificación de degradadores de hidrocarburos	Siembra en Placas Tinción Gram	Microscopio Electrónico

Elaboración: Propia

4.5. Procedimiento de recolección de datos

4.5.1. Estudios Preliminares

a. Determinación de las propiedades del suelo nativo

Para la determinación de las características fisicoquímicas del suelo se tomó una muestra de 500 g de suelo sin contaminar en bolsas de polietileno transparente, plana, de calibre 175 con cierre hermético, y fue llevado a analizar al Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

La caracterización microbiológica se realizó por la técnica del número más probable para 10 diluciones en el laboratorio de Microbiología Ambiental de

la FIARN, así como la identificación de microorganismos GRAM con la Prueba de Tinción Gram.

Para el análisis microbiológico se preparó una solución estéril de suelo, tomando 10 mg de suelo en 250 ml de agua destilada autoclavado a 120°C por 15 minutos, luego se colocó 9 ml esta solución en cada uno de los 10 tubos de ensayo, rotulándolos de 10^{-1} a 10^{-10} ; al primero (10^{-1}) se le agrego 1 g de suelo y se agito vigorosamente, de este se tomó 1 ml y se agregó al siguiente tubo, así sucesivamente hasta el tubo 10^{-10} . Posteriormente de cada tubo con las diluciones se tomó 1 ml de muestra que se sembró por triplicado en tubos de ensayo con 9 ml de caldo nutritivo. Posteriormente se llevó a incubar a 37°C por 7 días.

La Tinción Gram se aplicó a las muestras diluidas a 10^{-10} a 10^{-12} , se tomó una alícuota de cada dilución y se sembró por duplicado en placas con agar nutritivo, las cuales fueron incubadas a 37°C por 3 días. Posteriormente de cada colonia diferente identificada se tomó una asada y se colocó en un portaobjetos con una alícuota de agua destilada, se fijó al calor y luego se aplicó 1 gota de violeta genciana, se esperó 1 minuto y se enjuagó con agua destilada, luego se agregó una gota de lugol, se esperó 1 minuto y se enjuagó con agua destilada, se agregó alcohol cetona por un minuto y por último 1 gota de safranina y se enjuagó y fijo al calor para observar al microscopio.

Asimismo se evaluaron otros parámetros relevantes para la investigación (Ver Tabla 4.2).

Tabla 4.2: Métodos y resultados del análisis de suelo nativo

Parámetro	Método	Medición	Parámetro	Método	Medición
pH (1:1)	Potenciómetro	4.14	Ca ²⁺ (meq/100g)	Fotometría de llama	0.05
C.E. (1:1)	Extracto acuoso	0.1 dS/m	Mg ²⁺ (meq/100g)		0.45
Materia orgánica	Walkley y Black	2.07%	K ⁺ (meq/100g)		0.19
Fósforo	Olsen	2.6 ppm	Na ⁺ (meq/100g)		0.02
Potasio	Extracción con acetato	132 ppm	Al ³⁺ + H ⁺ (meq/100g)	Yuan	1.9
% Nitrógeno	Micro-Kjeldahl	0.16	Suma de cationes	-	2.61
Clase textural	Hidrómetro	Franco	Suma de bases	-	0.71
Capacidad de Intercambio Catiónico	Saturación con acetato	14.08	% saturación bases	-	5

Fuente: Informe de Análisis UNALM: H.R. 48566-009C-15-2015

b. Determinación de la composición del hidrocarburo

Para la determinación de composición y caracterización del hidrocarburo empleado se tomó una muestra de 1 L en un envase de plástico y se llevó a analizar al Laboratorio de Normalización de Petróleo y Derivados de la Facultad de Petroquímica de la Universidad Nacional de Ingeniería. (Ver Tabla 4.3)

Tabla 4.3: Métodos y resultados del análisis de hidrocarburos

Parámetro	Método	Unidades	Medición
Gravedad API	ASTM D1298-2b	°API	37.6
Azufre Total	ASTM D4294-10	(% masa)	0.151
Agua y Sedimentos	ASTM D1796-11	(%vol)	0.01
Presión de Vapor Reid	ASTM D323-06	KPa	4.8
Poder calorífico bruto	ASTM D240-090	MJ/Kg	39.529

Elaboración: Informe CERTIPETRO S/N

c. Determinación de la concentración de TPH en suelo contaminado con hidrocarburos

Para la recolección de datos de interés a la investigación se prepararán las unidades de análisis de la siguiente manera:

La muestra de 60 kg de suelo se tamizó, para remover objetos de diámetro mayor a 2 mm y, luego se contaminó con petróleo crudo (Ver Tabla 4.4) hasta una concentración de 20823 y 9354 mg/kg de TPH F2 y F3 respectivamente, la cual se encuentra dentro de los rangos registrados en derrames de hidrocarburos en la Cuenca del Río Marañón, realizados por OEFA y OSINERGMIN, donde la mayoría de los puntos evaluados registran concentraciones entre 15 a 25 veces el ECA-Suelos para TPH F2 (18 000 a 30 000 mg/Kg) y de 3 a 4 veces para TPH F3 (9 000 a 12 000 mg/Kg) (Lu, 2014).

Tabla 4.4: Concentración de TPH en suelo contaminado

Parámetro	Unidad	Muestra	ECA-Suelo agrícola	Cuántas veces equivale al ECA
Fracción de Hidrocarburo (C10-C28)	mg/Kg	20 823	1200	17.35
Fracción de Hidrocarburo (C28-C40)		9 354	3000	3.12

Fuente: Informe de Ensayo N°09580-2015-SAG

El suelo contaminado se distribuyó en 3 baldes de polietileno de alta densidad que contengan 15 Kg cada uno, seleccionando este material por su baja permeabilidad y mínima adsorción de TPH (Margesin & Schinner, 2001). A los baldes se les realizará 6 perforaciones laterales, a dos diferentes niveles, donde se colocaran tubos de PBC de 0.15 m para que la muestra a tratar reciba mejor ingreso de aire.

Una vez realizado el montaje de los baldes, se aplicaron lodo activado en las siguientes concentraciones: 20%, 30% y 40% (Peso de lodo/Peso de suelo).

d. Determinación de la composición del lodo activado

Para la caracterización físico química de los lodos provenientes de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Manchay se tomó una muestra de 500 ml de lodos frescos en un frasco boca ancha-ámbar de vidrio, el cual fue llevado en un envase aislado al Laboratorio de Análisis de Suelos,

Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina para un análisis especial de materia orgánica.

La caracterización microbiológica del lodo activado se realizó en el Laboratorio de Microbiología Ambiental de la FIARN, donde se realizó la técnica del número más probable (NMP) para 10 diluciones, así como la Prueba de Tinción Gram. Como muestra de interés se tomaron 250 ml de lodos frescos en un frasco ámbar de boca ancha de vidrio. Para determinar el NMP, se utilizó 1 ml de muestra, el cual fue vertido en un tubo de ensayo, adicionando 9 ml de agua destilada, obteniendo así la dilución 10^{-1} . De igual forma, se extrajo 1 ml de la dilución 10^{-1} y se llevó a un nuevo tubo, donde se adicionaron otros 9 ml de agua destilada, obteniendo así la dilución 10^{-2} . Este procedimiento se replicó hasta llegar a obtener 10 diluciones decimales consecutivas de la muestra, es decir, desde 10^{-1} hasta 10^{-10} .

Posteriormente, de cada una de las 10 diluciones iniciales, se extrajeron 3 ml para sembrar 3 tubos de ensayo que contenían 9 ml de caldo nutritivo, es decir se aplicó 1 ml de cada dilución original en 9 ml de caldo nutritivo por triplicado. Luego, estas 30 pruebas fueron llevadas a incubar a 37°C por 7 días.

La Tinción Gram se aplicó a las muestras diluidas a 10^{-10} a 10^{-12} , se tomó una alícuota de cada dilución en un portaobjetos diferente y se fijó al calor, se aplicó 1 gota de violeta genciana, se esperó 1 minuto y se enjuago con agua destilada, luego se agregó una gota de lugol, se esperó 1 minuto y se enjuago con agua destilada, se agregó alcohol cetona por un minuto y por ultimo 1 gota de safranina y se enjuago y fijo al calor para observar al microscopio. Asimismo se evaluaron otros parámetros relevantes en la investigación (Ver Tabla 4.5).

Tabla 4.5: Métodos y resultados del análisis de lodo activado

Parámetro	Método	Medición	Unidades
pH	Potenciométrico	6.68	Unidades de pH
Nitrógeno	Micro-Kjeldahl	1736.00	mg/L
Materia orgánica	Walkley y Black	1.39	% P/V
Fósforo	Olsen	333.70	mg/L
Potasio	Extracción con acetato	102.50	mg/L
Carga microbiana	Número más Probable	356.00	NMP/100 ml

Fuente: Informe de análisis de Laboratorio UNALM: H.R. 48777-2015

4.5.2. Determinar la eficiencia de biorremediación en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH) al aplicar lodos activados

Evaluación de la eficiencia de biorremediación a los 15, 30, 60 y 90 días de iniciado el proceso, a través de: (i) análisis de comparación entre la remoción de TPH (F2-F3), obtenido por cromatografía de gases en el Laboratorio Servicios Analíticos Generales SAC, y (ii) la concentración normalizada de microorganismos, mediante la técnica del número más probable en el laboratorio de microbiología ambiental de la FIARN. Se analizó cada dosis de lodo aplicada (20%, 30%, 40% WW), tomando muestras de 500 g de cada unidad de análisis en frascos de vidrio ámbar-boca ancha conservados a 4°C.

Tabla 4.6: Técnicas utilizadas para la determinación de eficiencia de biorremediación

Parámetro	Método	Unidades
Concentración de TPH	EPA 8015-C	mg/Kg
Carga microbiana	Número más probable	NMP/100 ml
Población Gram	Tinción Gram	Gram + ó Gram -

Elaboración: Propia

4.5.3. Determinar la dosis óptima de aplicación de lodos activados para una eficiente biorremediación en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH)

Evaluación de la dosis óptima de aplicación de lodos activados, a través de la comparación de concentración de TPH (F2-F3) a los 15, 30, 60 y 90 días de iniciado el proceso versus la dosis de lodo activado (WW).

La concentración de TPH (F2 y F3) se empleó análisis de cromatografía de gases en el Laboratorio Servicios Analíticos Generales S.A.C; a los 15, 30, 60 y 90 días de aplicadas las dosis de lodos (20%, 30%, 40% WW), en cada unidad de análisis de suelo contaminado con petróleo crudo, se tomaron muestras de 500 g de cada unidad de análisis en frascos de vidrio ámbar-boca ancha conservados a 4°C.

Tabla 4.7: Técnicas utilizadas para la determinación de la dosis óptima de lodos

Parámetro	Método	Unidades
Concentración de TPH	EPA 8015-C	mg de TPH/Kg de suelo seco
Concentración de lodo	-	kg de lodo/kg de suelo empetroado (WW)

Elaboración: Propia

4.5.4. Determinar la variación de las propiedades nativas del suelo respecto a las obtenidas luego del proceso de biorremediación con lodos activados

Determinación de las propiedades nativas del suelo, como: Carga microbiana, relación C:N:P, temperatura, pH y color. Asimismo, se monitorearon todas estas propiedades durante el desarrollo del tratamiento

- a. Temperatura.-** Se monitoreo de manera interdiaria en cada una de las unidades de análisis, del inicio al final del tratamiento durante 90 días, a través de termómetro de mercurio, marca GAIRDINO, de 30 x 0.6 cm, de escala de 1° en 1°, de rango de -10°C a 100 °C.
- b. Color.-** Se monitoreó de manera quincenal en cada una de las unidades de análisis, durante los 90 días de tratamiento, a través de comparaciones con los valores de color de la tabla Munsell.
- c. pH.-** Se monitoreó de manera interdiaria en cada una de las unidades de análisis, del inicio al final del tratamiento durante 90 días, análisis a través de potenciómetro tipo lapicero, marca OEM, de sensibilidad de ± 0.01 unidades con compensación de temperatura automática, registro de rango de 1 a 14.

d. Crecimiento microbiano.- Se determinó la carga microbiana e identificación de microorganismos GRAM del suelo nativo antes del inicio, durante y al final del tratamiento (90 días) para cada una de las unidades de análisis, a través de la técnica del número más probable (NMP) para 10 diluciones. Estas pruebas fueron realizadas por los autores en el Laboratorio de Microbiología Ambiental de la FIARN.

Para determinar la carga microbiana se preparó una solución estéril de suelo, tomando 10 mg de suelo en 250 ml de agua destilada y llevado a autoclave a 120°C por 15 minutos, luego se colocó 9 ml de esta solución estéril 10 tubos de ensayo, rotulándolos de 10^{-1} a 10^{-10} ; al primero (10^{-1}) se le agregó 1 g de suelo y se agitó vigorosamente, formando una mezcla. De esta mezcla (10^{-1}) se tomó 1 ml y se agregó al siguiente tubo, así sucesivamente hasta el tubo 10^{-10} . Posteriormente de cada uno de los 10 tubos con las diluciones se tomaron 3 ml de muestra que se sembraron por triplicado en tubos de ensayo con 9 ml de caldo nutritivo. Finalmente se llevaron a incubar todos los cultivos a 37° por 7 días.

Para realizar la técnica de Tinción Gram, previamente se procedió a diluir hasta 10^{-12} . Se tomó una alícuota de cada dilución (10^{-10} , 10^{-11} y 10^{-12}) y se sembró por duplicado en placas con agar nutritivo, las cuales fueron incubadas a 37 °C por 3 días. Luego se realizó una resiembra de cada colonia en placas Petri con agar nutritivo y un cuadrado 4 cm² impregnado con petróleo crudo en su tapa, fue llevado a incubar por 3 días a 37°C. Posteriormente de cada colonia diferente identificada se realizó una resiembra en agar de sales básicas con 1% de petróleo y fue llevado a incubar por 3 días a 37°C. De estas últimas se tomó una asada de cada colonia diferente y se colocó en un portaobjetos con una alícuota de agua destilada, se fijó al calor y se aplicó 1 gota de violeta genciana, se esperó 1 minuto y se enjuagó con agua destilada, luego se agregó una gota de lugol, se esperó 1 minuto y se enjuagó con agua destilada, se agregó

alcohol cetona por un minuto y por último 1 gota de safranina y se enjuagó y se fijó al calor para observar al microscopio con la lente de 100X.

e. **Relación C:N:P.**- Se analizó la concentración de Carbono, Nitrógeno y Fósforo en suelo sin contaminar, al inicio del experimento, y a los 90 días de aplicado el tratamiento en cada unidad de análisis. Para ello, se tomaron muestras de 500 g de suelo y fueron llevadas al Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina. (Ver Tabla 4.8)

De los resultados obtenidos se determinó la relación C:N:P antes y después de aplicado el tratamiento para cada unidad de análisis.

Tabla 4.8: Metodología empleada en el análisis de C:N:P

Parámetro	Método	Unidades
Nitrógeno	Micro-Kjeldahl	mg/L
Materia orgánica	Walkley y Black	% P/V
Fosforo	Olsen	mg/L

Elaboración: Propia

Interdiariamente, cada una de las 3 unidades de análisis fueron humedecidas y aireada manualmente, esto proporcionó las condiciones óptimas para el desarrollo de microorganismos degradadores de hidrocarburos para temperaturas entre 25°C y 37°C, debe mantenerse una humedad entre el 10% y 20% y una adecuada aireación, ya que la biorremediación de los hidrocarburos es considerada un proceso aerobio, donde bacterias y hongos catabolizan los hidrocarburos alifáticos, cíclicos y aromáticos mediante reacciones de oxidación (Hamsen, 1991).

4.6. Plan de análisis estadísticos de datos

Para el análisis de datos se ha considerado una prueba de contraste tomando como referencia el valor asignado para suelo de uso agrícola según el D.S. N° 002-2013-MINAM, considerando la concentración de TPH F2 y F3.

CAPÍTULO V RESULTADOS

5.1. Determinar la eficiencia de biorremediación en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH) al aplicar lodos activados

Tabla 5.1: Remoción de TPH F2 y F3 vs. Crecimiento microbiano

Concentración de lodo activado (w/w)	15 días			30 días			60 días			90 días		
	% de Remoción		C.N. de m.o.	% de Remoción		C.N. de m.o.	% de Remoción		C.N. de m.o.	% de Remoción		C.N. de m.o.
	TPH F2	TPH F3		TPH F2	TPH F3		TPH F2	TPH F3		TPH F2	TPH F3	
C1 (20%)	8.8	-0.8	2.3	15.3	6.7	4.7	28.1	17.6	4.9	32.2	40.4	2.4
C2 (30%)	20.5	18.5	4.8	28.9	21.0	5.1	31.0	25.9	5.1	39.3	45.1	4.1
C3 (40%)	33.2	27.5	6.3	41.4	31.9	6.6	41.4	40.6	6.6	46.2	49.9	6.4

Donde: C.N. de m.o.: Crecimiento normalizado de microorganismos

Fuente: Informe de análisis SAG: 09580-2015, 09813-2015, 09986-2015, 092190-2015, 091934-2015

En la tabla 5.1 se puede apreciar que, según lo definido para eficiencia de biorremediación, las remociones totales de TPH al cabo del proceso (90 días) varían entre 32% a 46% para TPH F2 y 40% a 50% para TPH F3. Manteniendo, en todas las unidades de análisis, una relación directamente proporcional entre la dosis aplicada, la concentración de microorganismos y la remoción de hidrocarburos totales del petróleo a través del tiempo.

5.2. Determinar la dosis óptima de aplicación de lodos activados para una eficiente biorremediación en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH).

Tabla 5.2: Concentración de TPH en suelo contaminado (mg/Kg ms)

Concentración de lodo activado (w/w)	Concentración de TPH (mg/Kg MS)									
	0 días		15 días		30 días		60 días		90 días	
	F2	F3	F2	F3	F2	F3	F2	F3	F2	F3
C1 (20%)	20823	9354	18982	9433	17647	8725	14977	7706	14121	5579
C2 (30%)	20823	9354	16546	7625	14812	7394	14360	6933	12641	5133
C3 (40%)	20823	9354	13910	6783	12207	6374	12207	5556	11212	4690

Donde: MS: Materia seca a 105 °C

Fuente: Informe de análisis SAG: 09580-2015, 09813-2015, 09986-2015, 092190-2015, 091934-2015

En la Tabla 5.2 se puede apreciar que la concentración de TPH mantiene, en todas las unidades de análisis, una relación directamente proporcional

entre la dosis de lodo activado aplicada y la remoción de hidrocarburos totales del petróleo de cadena media y pesada a través del tiempo.

5.3. Determinar la variación de las propiedades nativas del suelo respecto a las obtenidas luego del proceso de biorremediación con lodos activados.

5.3.1. Temperatura

Tabla 5.3.1: Registro interdiario de temperatura durante periodo de evaluación (90 días)

Concentración de lodo activado (w/w)	Temperatura (°C)																	
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16	T18	T19
C1 (20%)	24	24	25	25	24	24	25	25	24	26	27	27	29	26	24	22	23	22
C2 (30%)	25	23	25	25	24	24	24	25	24	26	27	27	27	26	23	22	23	22
C3 (40%)	25	24	27	24	24	24	24	25	24	27	27	27	27	27	23	22	23	22

Elaboración: Propia

Tabla 5.3.2: Registro interdiario de temperatura durante periodo de evaluación (90 días)

Concentración de lodo activado (w/w)	Temperatura (°C)																
	T20	T21	T22	T23	T24	T25	T26	T27	T28	T29	T30	T31	T32	T33	T34	T35	T36
C1 (20%)	22	27	28	24	23	22	22	23	24	22	23	22	22	21	21	21	21
C2 (30%)	22	27	27	23.5	23	21	22	22	23	22	23	22	22	21	21	21	21
C3 (40%)	22	27	28	25	22	21	22	22	23	22	23	22	22	21	21	21	21

Elaboración: Propia

5.3.2. Color

Figura 5.1: Color en cada unidad de análisis



Fuente: Registro fotográfico propio

En la Figura 5.1 se puede apreciar la variación del color de las unidades de análisis al pasar los días, que la concentración de TPH mantiene, en todas las unidades de análisis, una relación directamente proporcional entre la dosis de lodo activado aplicada y la remoción de hidrocarburos totales del petróleo de cadena media y pesada a través del tiempo.

5.3.3. pH

Tabla 5.4.1: Registro interdiario de pH durante el periodo de evaluación (90 días)

Concentración de lodo activado (w/w)	pH																
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P18
C1	4.95	4.81	-	4.9	4.86	4.94	4.94	4.73	4.25	4.25	4.23	4.09	5.13	3.93	4.77	5.04	5.08
C2	4.98	4.14	-	5.03	4.84	5.25	4.86	4.78	4.42	4.44	4.15	4.1	5.26	4.02	5.01	5.12	5.14
C3	5.25	5.23	-	5.33	4.15	5.0	4.78	4.95	4.82	4.84	4.92	4.66	6.18	4.76	5.5	5.29	5.46

Elaboración: Propia

Tabla 5.4.2: Registro interdiario de pH durante periodo de evaluación (90 días)

Concentración de lodo activado (w/w)	pH																	
	P19	P20	P21	P22	P23	P24	P25	P26	P27	P28	P29	P30	P31	P32	P33	P34	P35	P36
C1	5.12	5.11	4.09	5.01	4.95	5.07	5.02	5.1	5.08	4.09	5.04	5.08	5.1	5.11	5.13	5.09	5.08	5.16
C2	5.18	5.13	4.1	5.2	5.1	5.12	5.21	5.07	5.16	4.17	5.12	5.14	5.18	5.13	5.11	5.24	5.13	5.18
C3	5.46	5.48	4.66	5.27	5.41	5.21	5.25	5.33	5.5	4.51	5.29	5.46	5.46	5.48	5.48	5.45	5.48	5.43

Elaboración: Propia

5.3.4. Crecimiento microbiano y tinción Gram

Tabla 5.5: Crecimiento microbiano en unidades de análisis (NMP/100ml)

Concentración de lodo activado (w/w)	Tiempo (Días)				
	A los 0	A los 15	A los 30	A los 60	A los 90
C1 (20%)	356.19	9.95	107.94	140.60	10.83
C2 (30%)	356.19	116.37	158.76	168.45	58.83
C3 (40%)	356.19	536.48	711.40	756.38	603.81

Donde: MS: Materia seca a 105 °C

Fuente: Análisis propio en laboratorio FIARN - 2015

Tabla 5.6: Porcentaje de muestras positivas a prueba de tinción GRAM

Concentración de lodo activado (w/w)	A los 15 días		A los 30 días		A los 60 días		A los 90 días	
	Gram-	Gram+	Gram-	Gram+	Gram-	Gram+	Gram-	Gram+
C1 (20%)	75%	25%	70%	30%	75%	25%	68%	32%
C2 (30%)	33%	67%	40%	60%	37%	63%	30%	70%
C3 (40%)	20%	80%	30%	70%	25%	75%	22%	78%

Fuente: Análisis propio en laboratorio FIARN - 2015

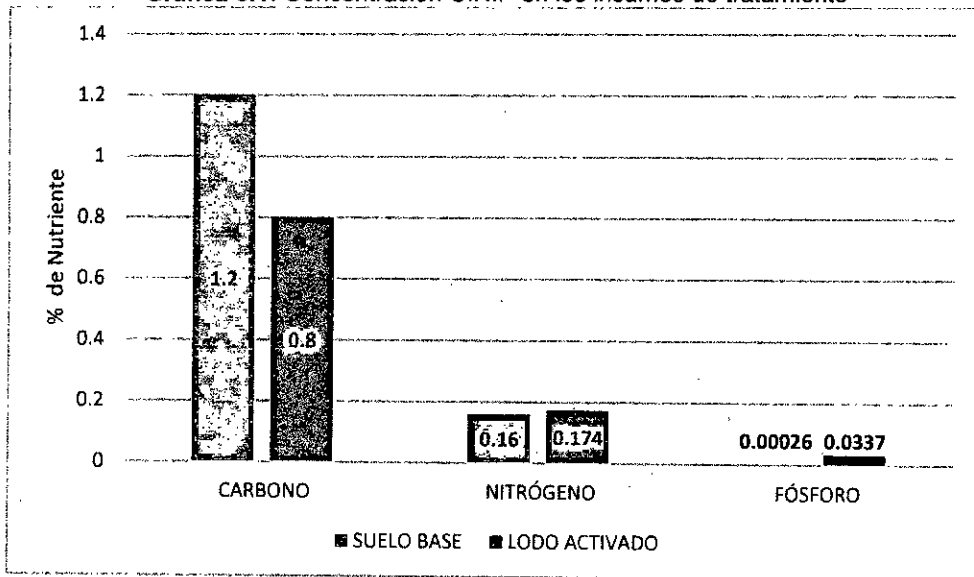
5.3.5. Relación C:N:P

Tabla 5.7: Relación C:N:P en los insumos de tratamiento y unidades de análisis

UNIDAD DE ANÁLISIS	% CARBONO	% NITRÓGENO	% FÓSFORO	C:N:P	C:N
SUELO BASE	1.20	0.16	0.00026	4615:615:1	8:1
LODO ACTIVADO	0.80	0.174	0.0337	24:5:1	5:1
C1 (20%)	2.17	0.15	0.00036	6028:417:1	14:1
C2 (30%)	1.78	0.14	0.0005	3560:280:1	13:1
C3 (40%)	3.46	0.17	0.00057	5964:218:1	20:1

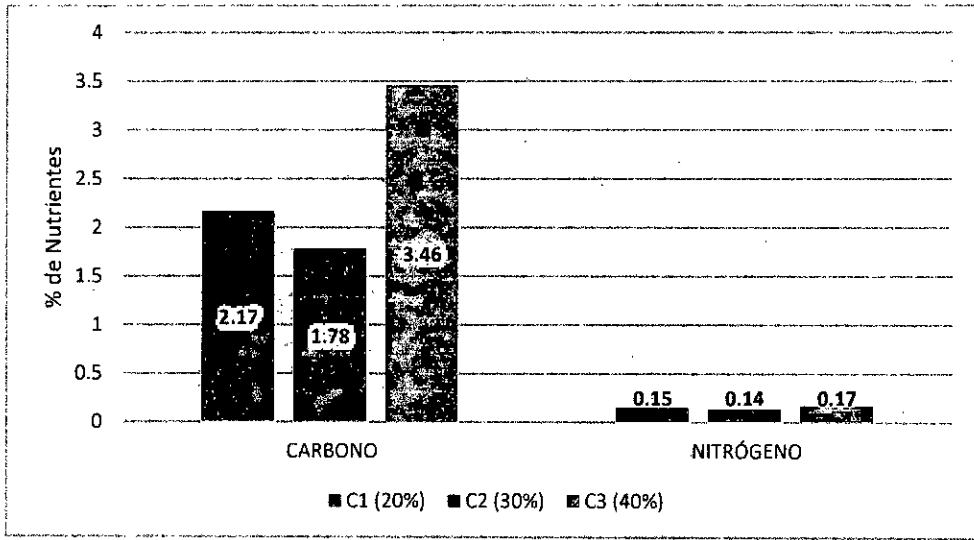
Fuente: Análisis de laboratorio UNALM: H.R. 48566-009C-15-2015, H.R. 49766-049C-15-2015

Gráfica 5.1: Concentración C:N:P en los insumos de tratamiento



Fuente: Análisis de laboratorio UNALM

Gráfica 5.2: Concentración C:N en las unidades de análisis



Nota: Solo se presenta la relación C:N puesto que la cantidad de fósforo no es apreciable

Fuente: Análisis de laboratorio UNALM

CAPÍTULO VI

DISCUSION DE RESULTADOS

6.1. Contraste de hipótesis con resultados

6.1.1. Para la Hipótesis General

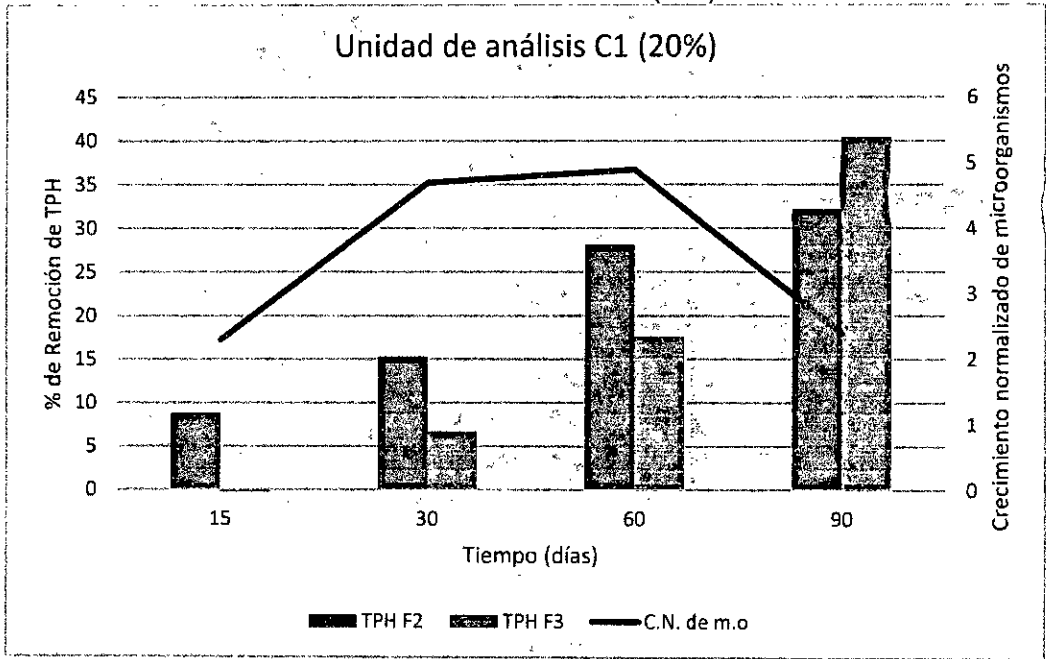
“La aplicación de lodos activados permitirá una eficiente biorremediación en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH).”

Para discutir la hipótesis general con respecto a los resultados obtenidos, evaluaremos el porcentaje de remoción de TPH (F2 y F3) y el crecimiento microbiano normalizado a través del tiempo, para cada unidad de análisis estudiada.

En las Gráficas 6.1, 6.2 y 6.3 se puede apreciar que, según lo definido para eficiencia de biorremediación, las remociones totales de TPH al cabo del proceso (90 días), son 32%, 39% y 46% para TPH F2 y de 40%, 45% y 50% para TPH F3, en cada unidad de análisis respectivamente. Con respecto al comportamiento de los microorganismos, se puede decir que para el caso de las unidades de análisis C1 y C3, este comportamiento se ajusta correctamente a las curvas de crecimiento microbiano generalizadas, pudiendo identificar fases de crecimiento, estacionaria y decadencia.

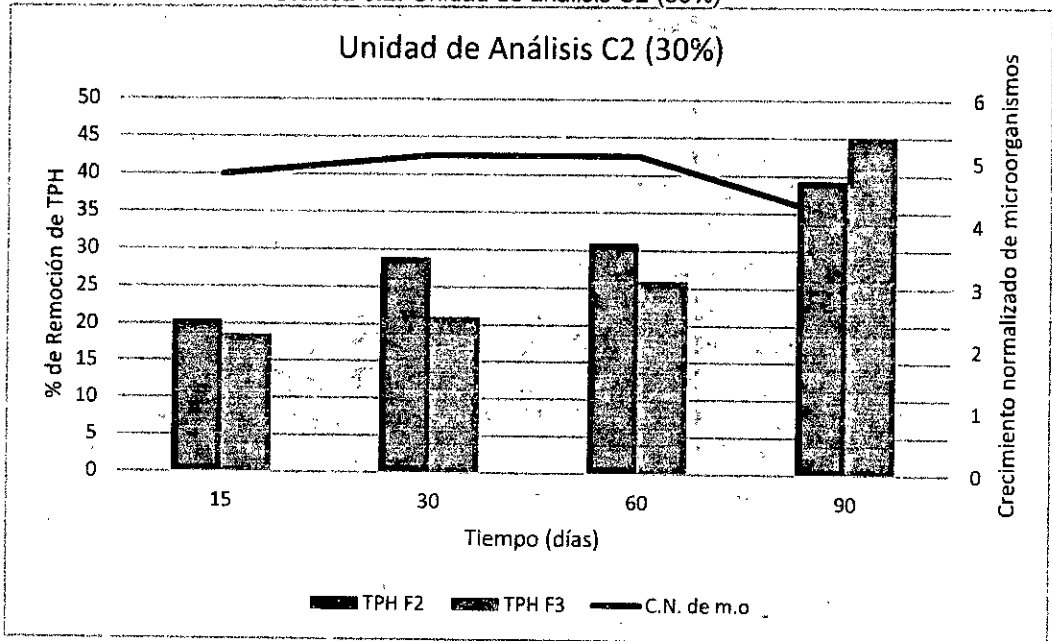
Por lo tanto, se puede apreciar que en las tres unidades de análisis, se mantiene una relación directamente proporcional entre la dosis aplicada, el crecimiento normalizado de microorganismos y la remoción de hidrocarburos totales del petróleo a través del tiempo, lo que afirma la eficiencia del tratamiento empleado.

Gráfica 6.1: Unidad de análisis C1 (20%)



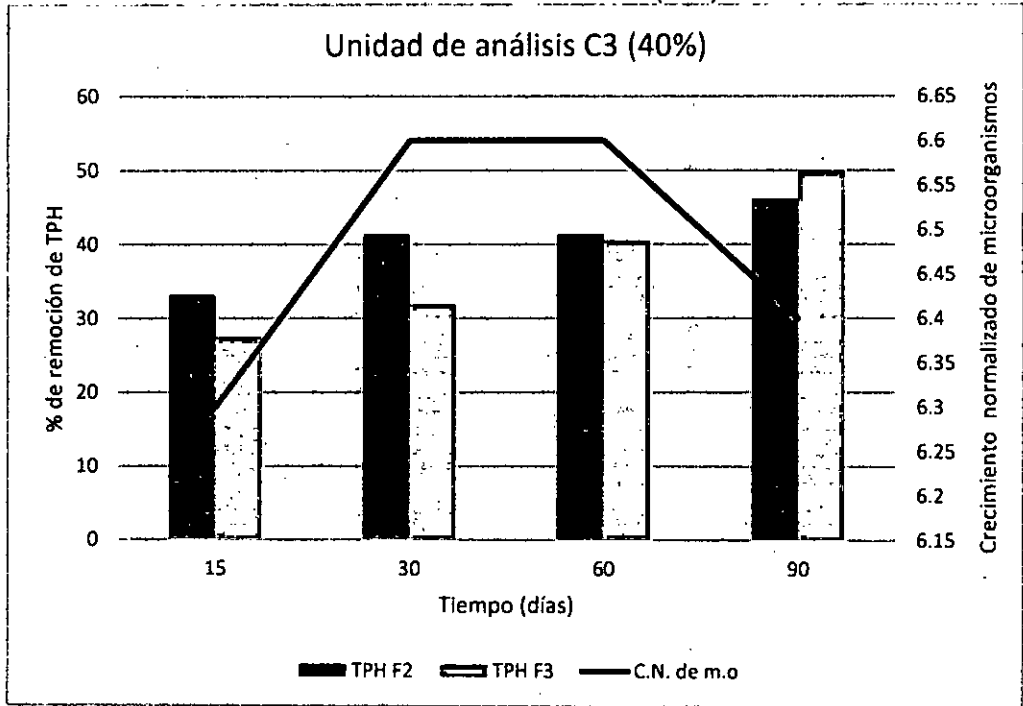
Elaboración: Propia

Gráfica 6.2: Unidad de análisis C2 (30%)



Elaboración: Propia

Gráfica 6.3: Unidad de análisis C3 (40%)

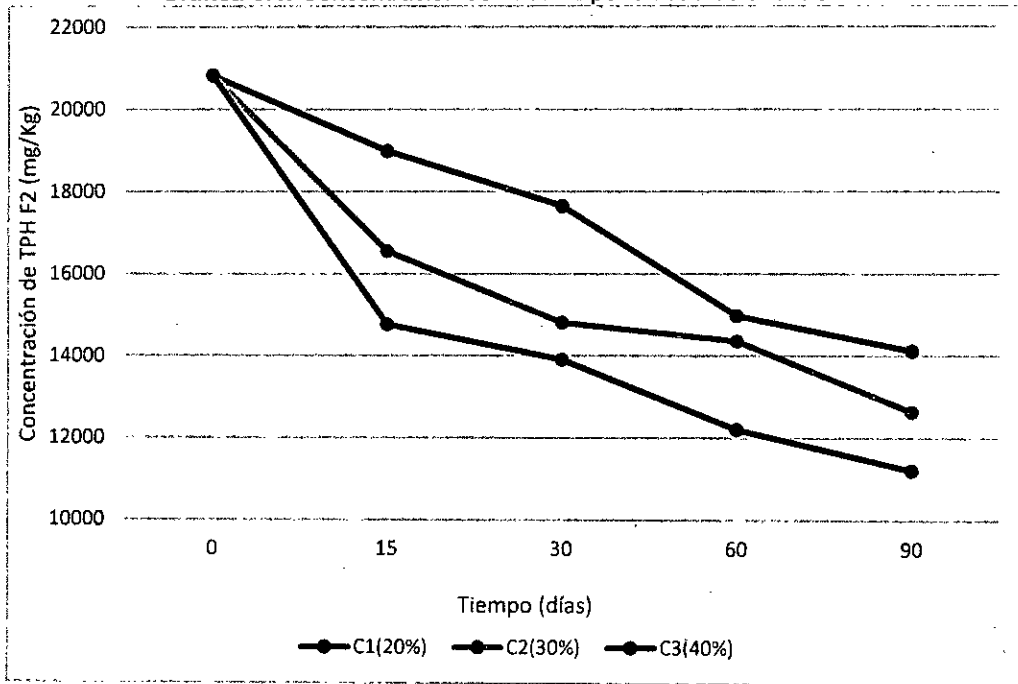


6.1.2. Para la Hipótesis específica 1

“La aplicación de la dosis óptima de lodos activados permitirá una eficiente biorremediación en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH)”

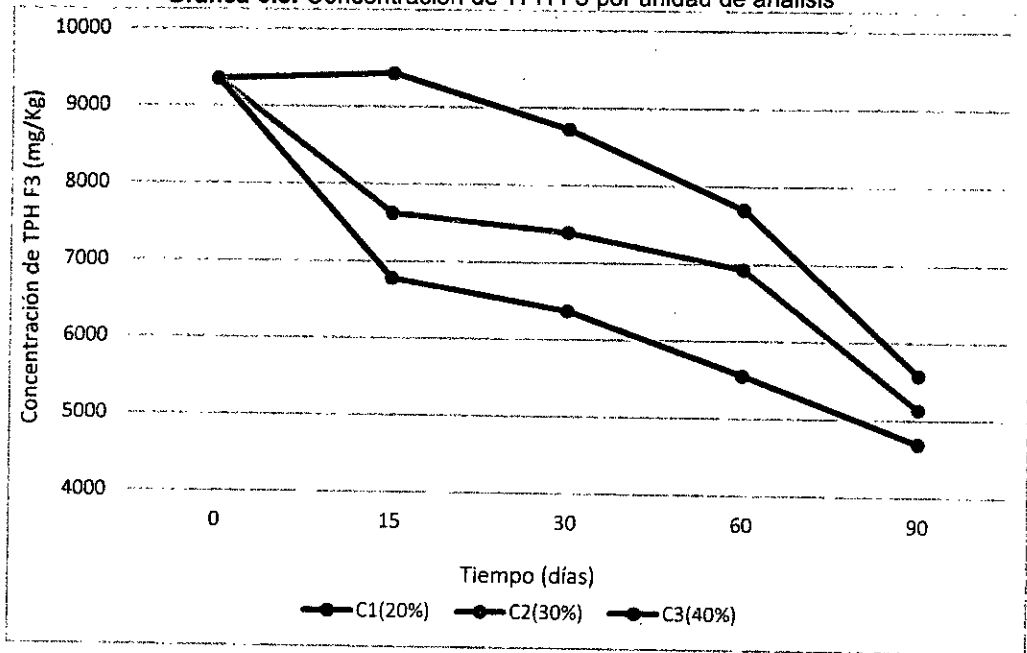
Para determinar la dosis óptima de lodos activados, se realiza una evaluación considerando las concentraciones de TPH F2 y F3 (mg/Kg) durante el proceso de biorremediación y el porcentaje de lodos activados aplicado en cada unidad de análisis.

Gráfica 6.4: Concentración de TPH F2 por unidad de análisis



Elaboración: Propia

Gráfica 6.5: Concentración de TPH F3 por unidad de análisis



Elaboración: Propia

Según el análisis de la Gráficas 6.4 y 6.5, tenemos la menor concentración absoluta de contaminante en la dosis de 40% de lodo activado con respecto al suelo a tratar (C3). Sin embargo, consideramos más útil e importante analizar la relación existente entre la remoción máxima obtenida y la dosis de lodos activados aplicados en sí misma, teniendo:

Tabla 6.1: Relación dosis y porcentaje de remoción de TPH

Código	% Lodo Aplicado	% Total removido	
		TPH F2	TPH F3
C1	20	32	40
C2	30	39	45
C3	40	46	50

Elaboración: Propia

Evaluando la Tabla 6.1 podemos observar la relación constante con que varía el porcentaje de remoción con respecto a la proporción de lodos activados aplicados, siendo así que para cada 50% más de lodo aplicado, las remociones sólo se elevan 7% y 5% para TPH F2 y F3 respectivamente. Cabe mencionar, que por medio de estas aproximaciones podemos inferir que las dosis de lodos activados necesarias para efectuar remociones considerables de TPH en suelos contaminados pueden ser incluso menores al 20% con respecto al peso de suelo a tratar.

Por lo tanto, la mejor eficiencia de biorremediación se obtiene con la dosis de 20% de lodo activado (C2). Debido a que esta utiliza un 100% menos de agente tratante y logra una remoción sólo 10% y 14% por debajo de la obtenida por la unidad de análisis C4, para TPH F2 y F3 respectivamente (Ver Tabla 6.1).

6.1.3. Para la Hipótesis específica 2

“La variación de las propiedades nativas respecto a las obtenidas luego del proceso de biorremediación con lodos activados permitirá el uso agrícola del suelo.”

Para la evaluación y discusión de esta hipótesis se contrastarán las propiedades físicas (organolépticas), químicas y biológicas del suelo nativo

original, con las obtenidas al final del tratamiento, considerando que el suelo nativo tenía ya un uso agrícola.

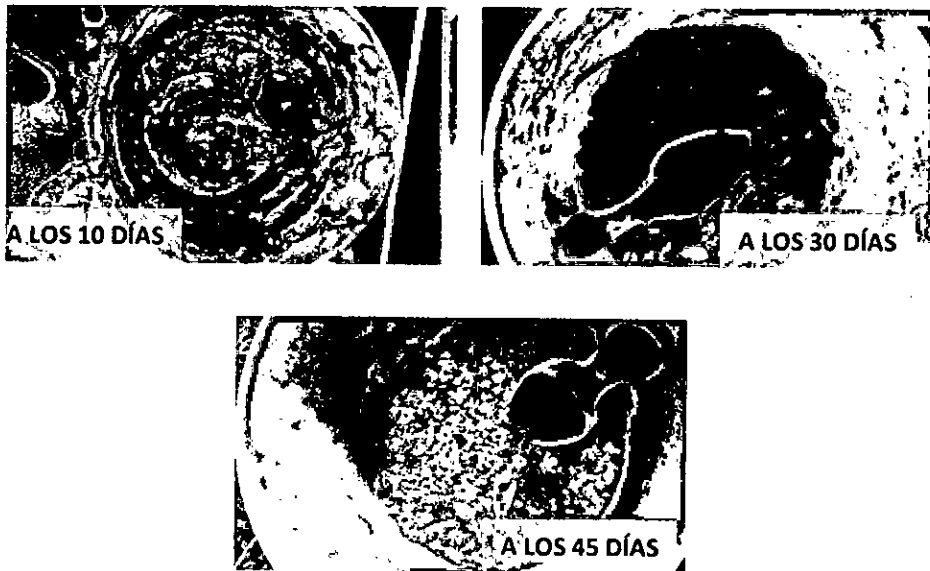
a. Propiedades físicas (organolépticas) en las unidades de análisis

- **Textura:** El suelo nativo original posee una textura natural *franca*, apropiada para la agricultura. Al inicio del tratamiento se tenía suelo contaminado con hidrocarburos (empetrolado), de textura entre arena gruesa a grava fina (2 a 5 mm), a causa del hidrocarburo, sin llegar a formarse aglomeraciones individuales de suelo (PED).

Al finalizar el estudio, 90 días, se pudo observar la formación de aglomeraciones individuales de suelo (PED), retornando en un gran porcentaje a su textura franca original.

Se evidencia mejora de esta propiedad, favoreciendo así la aireación y consecuente remediación del suelo. (Ver Figura 6.1)

Figura 6.1: Textura en unidades de análisis



Fuente: Registro fotográfico propio

- **Temperatura:** El suelo nativo original se encuentra en promedio a 23°C. Durante todo el tratamiento, esta propiedad se mantiene casi constante, con un valor promedio de 24,5°C. Se observaron los valores más elevados

durante a la mitad del tratamiento evaluado, es decir a los 45 días, con un valor promedio de 28°C. El comportamiento de la temperatura es consistente con el desarrollo microbiano observado paralelamente. Este rango de temperatura es propicio para el tratamiento biológico y la actividad agrícola en general. (Ver tabla 5.3)

- **Color:** El suelo nativo original posee una coloración café clara. Al inicio del tratamiento, se observó en el suelo empetrolado una coloración parda oscura, de apariencia oleosa y brillante, características propias del crudo. Al finalizar el estudio, 90 días, se observaron coloraciones café de claras a oscuras, más propias de suelos amazónicos francos arcillosos y que en definitiva son más apropiadas para la agricultura.

- **Olor:** El suelo nativo original posee un olor leve a *petricor* debido a su humedad. Al inicio del tratamiento el suelo contaminado poseía un olor intenso a diésel, fácilmente identificable con el de crudo petrolífero. Al finalizar el estudio, 90 días, se percibieron olores similares al inicial, pero con intensidades muchos menores en cada unidad de análisis. Cabe mencionar que durante algunos días al inicio y medio del tratamiento, el olor predominante pasó a ser el olor de los lodos activados aplicados. La disminución notable del olor de crudo representa mejores condiciones para las actividades agrícolas.

b. Propiedades químicas en las unidades de análisis:

- **pH:** El suelo nativo original posee un pH de 4.14, típico de los suelos amazónicos en general. Al inicio del tratamiento se observó un pH de 5.0, lo que representa una importante disminución de la acidez inmediata. Al finalizar el estudio, 90 días, se observaron valores promedio de 5.9. Los valores obtenidos favorecen el crecimiento microbiano e intercambio catiónico del suelo; adicionalmente, debemos considerar que a estos valores de pH se amplía la gama de cultivos posibles. (Ver Tabla 5.4)

- **C:N:P:** El suelo nativo original posee una relación C:N:P igual 4615:615:1, lo que es lo mismo a una relación C:N igual a 8:1, lo que representa bajas cantidades de materia orgánica (Carbono) y fósforo. Se compararon los resultados obtenidos al final del proceso de tratamiento realizado al cabo de 90 días con los valores estimados, según bibliografía, para niveles de C:N:P de suelos aptos para uso agrícola. (Ver Tabla 5.7)

La proporción sugerida para C:N:P surge de las recomendaciones de instituciones como la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, que estima que dicha proporción debe oscilar entre 100:1:0,5 y 100:10:1 (USEPA, 1995).

Los valores de C:N:P resultantes de las unidades de análisis al cabo de 90 días son los siguientes, interpretados de forma independiente: En cuanto al carbono, los valores se encuentran entre un 40% y 100% sobre la proporción deseada. En cuanto al nitrógeno, los valores se mantienen estables consiguiendo una proporción cuasi óptima. En cuanto al fósforo, su presencia es escasa tanto originalmente como luego de la aplicación del lodo activado.

A pesar de la aparente falta de nutrientes en el sistema, la capacidad del suelo para degradar hidrocarburos son cuasi óptimas (Margesin & Schinner, 2001) (Leys, Leen, Verstraete, & Springael, 2005). Es necesario resaltar esta capacidad, ya que los suelos utilizados en este estudio, pertenecientes a la Región San Martín, son clasificados por este Gobierno Regional como suelos con escasa materia orgánica, presente sobre todo en la capa superficial, bajos niveles de fósforo y baja fertilidad natural (Gobierno Regional de San Martín - Instituto de Investigación de la Amazonia Peruana, 2005).

Los valores incrementados de materia orgánica (carbono) resultan en una mejora sustancial para el aprovechamiento agrícola de los suelos tratados.

- **TPH (F2 y F3):** Al inicio del tratamiento se observó que el suelo empetroado poseía 20823 mg/kg MS de TPH F2 y 9354 mg/kg MS de TPH F3. A fin de determinar la validez de las concentraciones alcanzadas se somete a un análisis estadístico “Prueba de hipótesis”, con un nivel de significancia de 1%, para la evaluación de las variables de concentración de TPH F1 y TPH F2, tomando como como media muestral equivalente a los valores señalados por el D.S. N° 002-2013-MINAM para suelos de uso agrícola que son 1200 mg/kg MS y 3000 mg/kg MS para TPH F2 y F3 respectivamente.

Análisis para la fracción de TPH F2:

La hipótesis nula es “La media poblacional es menor o igual a 1200 mg/Kg MS para THP F2”. La hipótesis alternativa es “La media poblacional mayor de 1200 mg/Kg MS para TPH F2”. Las dos hipótesis se expresan como sigue:

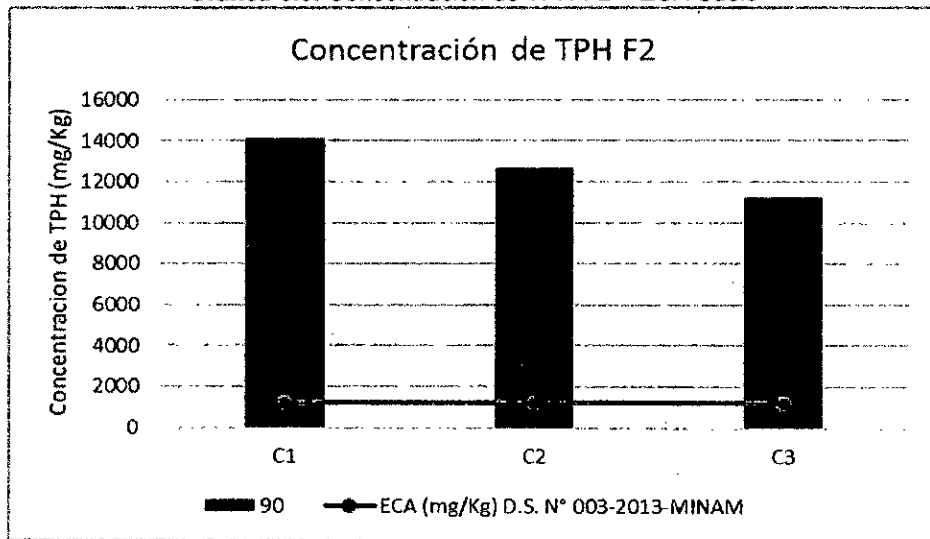
$$H_0: \mu \leq 1200 \frac{\text{mg de TPH F2}}{\text{Kg de MS}}$$

$$H_0: \mu > 1200 \frac{\text{mg de TPH F2}}{\text{Kg de MS}}$$

Ante lo expuesto, la regla de decisión es: Rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alternativa.

En el gráfico de contraste se muestra que la concentración de TPH F2 al finalizar el proceso de biorremediación es mayor que el ECA-Suelo para suelo de uso agrícola, que representa el valor medio del indicador, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa. Se concluye que la hipótesis para este indicador no se ha demostrado, contrastando esta con el resultado.

Gráfica 6.6: Concentración de TPH-F2 – ECA Suelo



Fuente: Análisis de laboratorio SAG / Elaboración: Propia

Análisis para la fracción de THP F3:

La hipótesis nula es "La media poblacional es menor o igual a 3000 mg/Kg MS para THP F3". La Hipótesis alternativa es "La media poblacional mayor de 3000 mg/Kg MS". Las dos hipótesis se expresan como sigue:

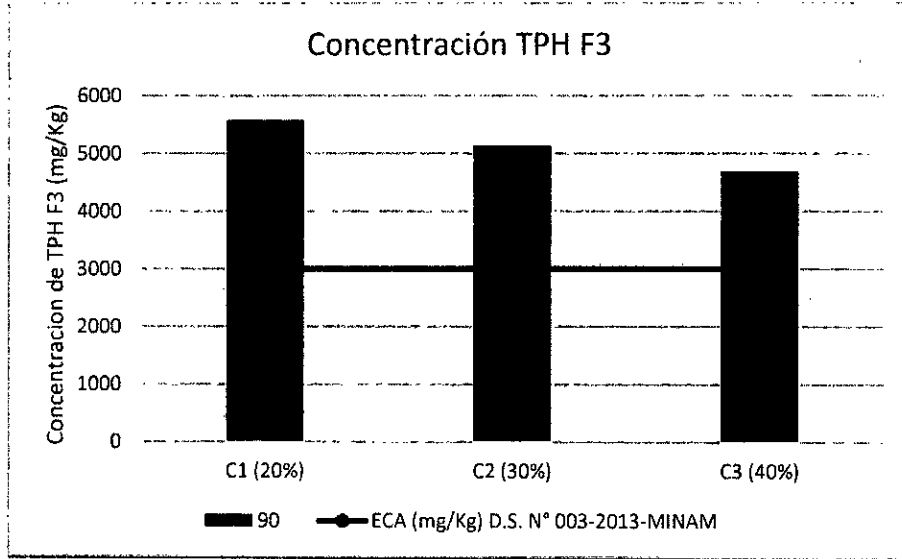
$$H_0: \mu \leq 3000 \frac{\text{mg de TPH F3}}{\text{Kg de MS}}$$

$$H_0: \mu > 3000 \frac{\text{mg de TPH F3}}{\text{Kg de MS}}$$

Ante lo expuesto, la regla de decisión es: Rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alternativa.

En el gráfico de contraste se muestra que la concentración de TPH F3 al finalizar el proceso de biorremediación es mayor que el ECA-Suelo para suelo de uso agrícola, que representa el valor medio del indicador, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa. Se concluye que la hipótesis para este indicador no se ha demostrado, contrastando esta con el resultado.

Gráfica 6.7: Concentración de TPH F3 – ECA Suelo



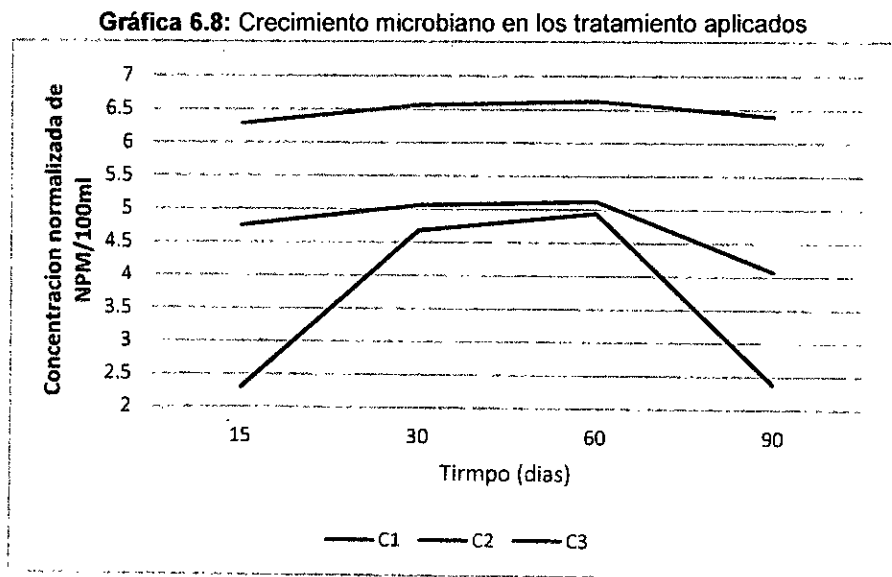
Fuente: Análisis de laboratorio SAG / **Elaboración:** Propia

Cabe considerar que esta investigación no evaluó el tratamiento en periodos mayores y que los valores iniciales de contaminante excedían entre 2 a 10 veces la concentración esperada. Finalmente queda mencionar en esta discusión de resultados, que los ECA para Suelo (D.S. N°002-2013-MINAM) indican tan sólo valores referenciales para señalar contaminación ambiental, incluyendo al ser humano. Es así que valores que exceden estos estándares no conllevan necesariamente a un estado inmediato de contaminación del sitio. Para la mejor determinación del valor de un parámetro, por sobre el cual, un sitio se encuentre en estado contaminado, es necesario realizar específicamente un Estudio de Evaluación de Riesgos a la Salud y el Ambiente (ERSA), instrumento de Gestión Ambiental recientemente introducido en la normativa nacional, que a la fecha ya posee una guía para su implementación.

c. Propiedades microbiológicas:

El suelo nativo original posee consorcios microbianos variados, con una concentración NMP/100ml equivalente a 356.19. Al inicio del tratamiento,

el crecimiento microbiano se vio afectado por la adición del lodo activado, ya que este posee su propio conjunto de consorcios microbianos, que en cierta forma compiten con la flora nativa del suelo contaminado. Durante el tratamiento se observó que las poblaciones microbianas se elevan y estabilizan, conforme mejoran los valores de los otros parámetros físicos y químicos de interés. Al finalizar el tratamiento se observa un decaimiento en las poblaciones microbianas, producto, posiblemente, de la limitación de nutrientes, como el nitrógeno, o simplemente a una estabilización de las mismas debido a la disminución del contaminante (40%), que sirve como su alimento principal (Ver Tabla V-5).



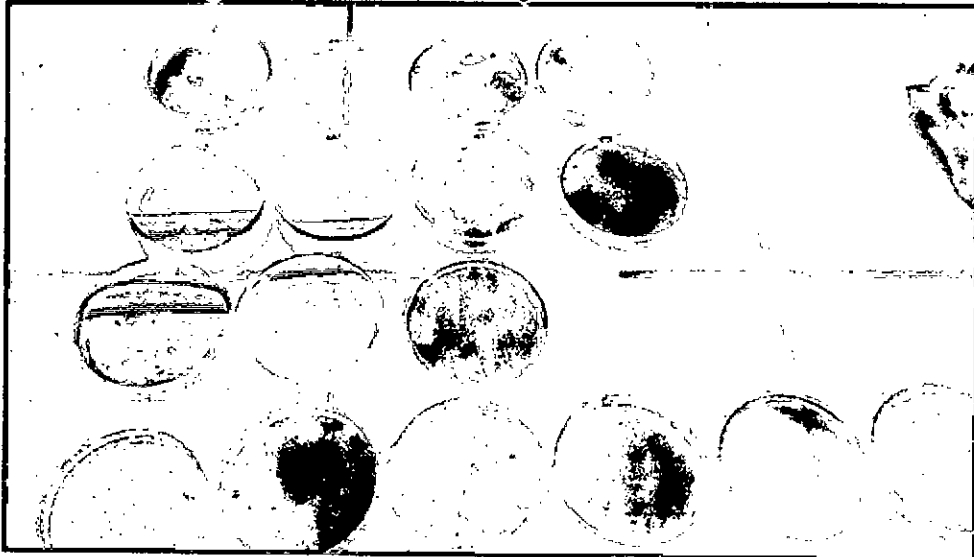
Fuente: Análisis de laboratorio FIARN / Elaboración: Propia

Como se observa en las Gráficas 6.1, 6.2 y 6.3, el crecimiento microbiano siguió el comportamiento esperado, siendo la unidad de análisis C1 en la cual se observa un mejor comportamiento característico de las poblaciones microbianas, con etapa de crecimiento, estabilización y descenso poblacional.

A través de pruebas de tinción y catalasa se pudo observar la predominancia de bacterias Gram+ en C2 y C3 (Enterobacterias) y Gram- en C1 (Pseudomas, Staphylococcus) (Ver Tabla 5.6).

Al final del tratamiento, 90 días, las tasas de crecimiento microbiano presentan claras tendencias hacia su disminución con el tiempo, cuestión que es entendible luego del pico de actividad presenciado durante los primeros 30 días del tratamiento. Todo parece indicar que haría falta de algún nutriente o labor que posibilite su crecimiento, para que el tratamiento pueda continuar hasta alcanzar porcentajes de remoción aún mayores con el tiempo.

Figura 6.2: Análisis microbiológico en laboratorio FIARN



Fuente: Registro fotográfico propio

Por lo tanto, las propiedades del suelo biorremediado por aplicación de lodos activados al cabo de 90 días, no permitirían su uso agrícola intensivo, toda vez que los Estándares de Calidad Ambiental peruanos para concentración de TPH F2 y F3 resultan superiores a lo normado. Sin embargo, tratándose de suelos en pleno proceso de remediación y habiendo alcanzado valores significativamente menores a la situación contaminada original, el cultivo de especies herbáceas temporales con

asociaciones nitrificantes en su rizósfera, facilitaría la recuperación deseada.

6.2. Contraste de resultados con otros estudios similares

6.2.1. Para la Hipótesis general

“La aplicación de lodos activados permitirá una eficiente biorremediación en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH)”.

Para contrastar la hipótesis general con respecto a los resultados obtenidos en otros estudios similares de manera más consistente, debemos establecer importantes consideraciones previas:

- Se seleccionaron los estudios con tratamientos por biorremediación que utilicen lodos activados frescos como insumo principal.
- Se contrastó sólo con aquellos estudios que utilicen una metodología de análisis cromatográfico de gases para determinar las concentraciones de TPH, dejando de lado a aquellos que utilicen técnicas gravimétricas o de otra índole. Esto debido a que el empleo de otras técnicas analíticas de medición de TPH genera valores no homogéneos y que no consideran todas las cadenas de hidrocarburos, que sí son consideradas por la cromatografía de gases.
- Se centró la discusión principalmente en torno a los porcentajes de remoción de TPH obtenidos al cabo de 90 días de tratamiento, considerando como factores relevantes a la localización, tipo de suelo y temperatura ambiental media del tratamiento.

Una vez hechas estas consideraciones, podemos mencionar que la eficiencia de remoción de TPH obtenida va desde 46% para la fracción media, hasta 50% para la fracción pesada; siendo valores próximos a los 53% alcanzados en la investigación de (Cárdenas, Araujo, & Bohórquez, 2010).

En el presente estudio se dosifican únicamente lodos activados frescos sobre el suelo contaminado, en contraste a lo realizado por (Martinez-

Prado, Perez-Lopez, & Pinto-Espinoza, 2011) y (Cárdenas, Araujo, & Bohórquez, 2010) quienes adicionan nutrientes inorgánicos, en forma de fosfatos y nitratos, alcanzando remociones de TPH próximas a 80% y 63% respectivamente. Esta mayor remoción se puede deber a que ellos trabajaron con masas reducidas, de 1Kg y 8Kg respectivamente, manteniendo además, en el caso de (Martinez-Prado, Perez-Lopez, & Pinto-Espinoza, 2011) el sistema a capacidad de campo constante.

Un aspecto importante que determina la eficiencia de los tratamientos biológicos es justamente la incorporación de un conjunto de microorganismos, que en el mejor de los casos, acelerará la degradación de los hidrocarburos contaminantes, ya sea por elevar la carga microbiana simplemente y/o por lograr degradar compuestos que la flora microbiana autóctona del suelo contaminado no consiga degradar. Este aspecto, presente en esta investigación, es también estudiado en (Ambrazaitienė, Žukauskaitė, & Jakubauskaitė, 2013) , quienes logran eficiencias máximas de 20% y 30% al cabo de 90 días, empleando dosis de 5% y 10% de lodos activados respectivamente. Según lo contrastado y a pesar de las bajas remociones registradas, en este estudio se verifica que la dosis creciente de lodos activados aplicados afectó estadísticamente al número total de bacterias oxidantes de hidrocarburos y actinobacterias, quienes junto a los micromicetos son las principales responsables de la degradación de la fracción pesada de los TPH (F3) que es justamente la más difícil de degradar por la complejidad de sus estructuras moleculares.

Tabla 6.2: Tabla resumen de eficiencia de biorremediación

Autor, Año	País	Remoción máxima (%)	Periodo de evaluación (días)	Técnica empleada	Tipo de suelo	Temp. media (°C)
1	Perú	50	90	Bioestimulación con lodos activados frescos	Franco arcilloso	24
2	Venezuela	53.2	90	Bioestimulación con lodos activados frescos	-	28
3	Lituania	30.7	90	Bioestimulación con lodos activados frescos	Franco arenoso	26
4	México	80	50	Bioestimulación con lodos activados frescos más nutrientes inorgánicos	Arenoso limoso	28

Elaboración: Propia

Leyenda:

1. Geronimo, & Vásquez, 2015
2. Cárdenas, Araujo, & Bohórquez, 2010
3. Ambrazaitienė, Žukauskaitė, & Jakubauskaitė, 2013
4. Martínez-Prado, Pérez-López, & Pinto-Espinoza, 2011

Con todo lo analizado, podemos afirmar que el tratamiento presentado en esta investigación es eficiente, debido a que se encuentra a la par de tratamientos llevados a cabo a nivel mundial, en condiciones muy similares de temperatura media ambiental, naturaleza de los lodos activados aplicados, duración del tratamiento, entre otros.

6.2.2. Para la Hipótesis específica 1

"La aplicación de la dosis óptima de lodos activados permitirá una eficiente biorremediación en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH)".

Para contrastar esta hipótesis específica, respecto a los resultados obtenidos en estudios similares, se realizó la revisión de aquellos que comparan diferentes dosis de aplicación de lodos activados, a fin de determinar si en un estudio la mayor dosis de lodos se asocia a una mayor tasa de remoción.

En el experimento realizado por (Ambrazaitienė, Žukauskaitė, & Jakubauskaitė, 2013), en suelo empetrolado a 15 y 30 g/Kg, se aplicaron dosis de lodos activados de 5% y 10%; a los 90 días se obtuvieron remociones totales entre 20% y 30%, respectivamente. En la unidad de análisis empetrolada a 15 g/Kg, se observó que al duplicar la dosis de lodo activado, el porcentaje de remoción se mantiene casi constante (elevándose en solo 0.7%). En la unidad de análisis empetrolada a 30 g/Kg, se observó que al duplicar la dosis de lodo activado, el porcentaje de remoción presentó una variación significativa (elevándose en 9%). Ante ello se puede inferir que una dosis óptima de aplicación de lodo activado depende directamente de la concentración del contaminante en el suelo.

(Cárdenas, Araujo, & Bohórquez, 2010) realizaron experimentos con dosis de 30% y 70% de aplicación de lodos, obteniendo tasas de remoción entre 41% y 54% de petróleo en un periodo de 90 días. Demostrando que los lodos activados ejercieron una influencia muy significativa ($P < 0,001$) sobre la eficiencia de la biorremediación del suelo contaminado con hidrocarburos. Ante ello se puede inferir que una mayor aplicación de lodos activados, 2.3 veces la dosis básica, sólo genera una ligera mejora en la remoción de hidrocarburo, 1.25 veces la remoción básica. Lo cual demuestra una no linealidad en la relación de dosis vs remoción de hidrocarburos.

Con todo lo analizado y luego de verificar en las experiencias de otros autores, que la elevación considerable de la dosis de lodos activados aplicada no genera una respuesta de igual magnitud en la remoción total de hidrocarburos, podemos reafirmar que, para la presente investigación, la dosis de 20% de lodos activados (C1) es la óptima entre las estudiadas, pues permite una eficiente biorremediación en suelo contaminado con hidrocarburos y a su vez emplea la menor cantidad de agente tratante (100% menos uso de lodos activados con respecto a C4).

6.2.3. Para la Hipótesis específica 2

“La variación de las propiedades nativas respecto a las obtenidas luego del proceso de biorremediación con lodos activados permitirá el uso agrícola del suelo.”

Para contrastar esta hipótesis específica, se realizó una búsqueda de los resultados y valores para suelos de uso agrícola presentes en estudios y documentos de valor académico, los cuales puedan ser comparados con lo obtenido en el presente estudio. Cabe mencionar, que para muchos de los parámetros estudiados no existen valores referenciales de amplia aceptación, debido a la gran variedad de valores para propiedades de suelos en general, y los suelos amazónicos, en específico, han sido poco estudiados científicamente.

Tabla 6.3: Indicadores de suelo según uso

	Parámetro	Urbano	Agrícola	Natural
Propiedades físicas (organolépticas)	Textura	ND	Limosa – Franco arcillosa (A)	Limosa – Franco arcillosa (B)
	Temperatura media anual	ND	ND	22.5°C – 27.2°C (C)
	Color	ND	ND	Parda a parda oscura, sobre pardo amarillento (D)
	Olor	ND	ND	ND
Propiedades químicas	pH	ND	5 – 8 (E)	5 – 7 (F)
	C:N:P	ND (Cualquier otra proporción)	100:15:0.5 - 100:10:1 (G)	(Cualquier otra proporción)
	Concentración de TPH F2(H)	1 200 mg/Kg MS	1 200 mg/Kg MS	ND
	Concentración de TPH F3(H)	3 000 mg/Kg MS	3 000 mg/Kg MS	ND
Propiedades micro biológicas	Flora bacteriana (I)	<ul style="list-style-type: none"> - Bacterias (Del género <i>Pseudomonas</i>, <i>Rhodococcus</i>, <i>Acinetobacter</i> o <i>Bacillus</i> entre, entre otras) - Hongos (Del genero <i>Apergillus</i>, <i>Penicillium</i> y <i>Candida</i>) 		

Fuentes: (A) (B) (D) Zonificación Ecológica Económica, Gobierno Regional de San Martín, 2005. (C) IIAP, 1995. (E) Infoagro.com, 2017 (F) Infoagro.com (Valores para suelos de zonas húmedas), (G) USEPA, 1995. (H) ECA'S Suelo. (I) Oroscó & Soria, 2008.

Leyenda: ND – No determinado en referencias

a. Propiedades físicas (organolépticas) en las unidades de análisis

De acuerdo a lo señalado en la Tabla 6.3, muchas de las propiedades físicas del suelo no están definidas para un suelo de uso agrícola, dependiendo estas de la zona en estudio y el tipo de cultivo que se desee sembrar.

De acuerdo a estudios realizados por el Gobierno Regional de San Martín, Perú, para actividades agrícolas en esta zona se requiere de un suelo de textura limosa – franco arcillosa, para el cultivo de arroz, maíz, palma aceitera, entre otros.

Según la Tabla 4.5, al inicio de la experiencia se tiene un suelo con textura franco y al finalizar franco arcillosa (61% de arena, 28% limo y 11% arcilla), encontrándose dentro del rango establecido para un suelo con uso agrícola.

De lo anterior se concluye que, al cabo de 90 días de tratamiento, el suelo retoma en gran medida su textura franca original y estructuralmente forma PEDs granulares; la temperatura se mantiene dentro de los valores óptimos para el desarrollo microbiano; el color café del suelo nativo fue retomado en gran medida y finalmente, el olor del suelo ha perdido en gran medida el olor característico del crudo.

b. Propiedades químicas en las unidades de análisis

- **pH.**- El suelo nativo original posee un pH de 4.14, típico de los suelos amazónicos en general. Al finalizar el estudio, 90 días, se observaron valores de pH promedio de 5.9.

Según (Perry, 2012) los valores de pH óptimos para cultivo en suelos con alto contenido de arcilla, como el estudiado, se encuentran entre 5.5 y 7.0, es decir siempre tendientes a la acidez. Por lo tanto podemos afirmar que el pH del suelo, luego del proceso de biorremediación con lodos activados, poseerá una mejor capacidad agrícola. Incluso podemos afirmar, que para

fines agrícolas, posee ahora una mejor capacidad que en su estado natural previo a la contaminación

- **C:N:P.**- El suelo nativo original posee una relación C:N:P igual 4615:615:1, lo que es lo mismo a una relación C:N igual a 8:1, lo que representa bajas cantidades de materia orgánica (carbono) y fósforo.

Para entender a mayor profundidad las proporciones de C:N:P mostradas en el presente estudio y poder a su vez compararlas con aquellas obtenidas en estudios similares (Ver Tabla 6.4), debemos comprender la diferencia de una proporción C:N:P en un suelo saludable y otro contaminado, con hidrocarburos en este caso. La proporción antes mencionada de 100:10:1, surge como recomendación estándar para una gran gama de suelos saludables, mientras que en suelos contaminados con hidrocarburos la presencia de carbono se eleva enormemente, razón por la cual, incluso luego de un tratamiento biológico, la concentración de carbono seguirá siendo alta, reflejando así valores marcadamente distantes con el estándar, como los resultantes en el presente estudio.

Tabla 6.4: Valores de C.N:P en suelos saludables y tratados

Muestra	C:N	Fuente
Suelos saludables diversos	< 10 a 100 >	USEPA, 1995
Suelo saludable de similares características	< 10,17 a 10,67 >	Carvajal, 2008
Suelo contaminado que recibe biorremediación	< 14,47 a 20,35 >	Propia
	< 44,60 a 45,10 >	Ñustez, 2012

Elaboración: Propia

Abordando más profundamente las causas que ocasionan valores de exceso para C:N:P, se deben mencionar las siguientes:

Los resultados mostrados corresponden a un análisis hecho a los 90 días, lapso en que el proceso de biorremediación se encuentra aún en su etapa de mayor intensidad o próxima a estabilizarse, donde existe gran acumulación de carbono orgánico (Ñustez, 2012).

Se observaron variaciones no significativas en las concentraciones de fósforo en el proceso, es entonces la concentración de nitrógeno orgánico aquella que llegado a un punto, limita la cadena de procesos de degradación microbiológica de la enorme cantidad de carbono acumulado y otros procesos de síntesis orgánica (Thompson & Troeh, 1988).

En base al análisis realizado al comportamiento de los nutrientes, se hace evidente la necesidad de apoyar el proceso mediante el aporte de nitrógeno orgánico, preferiblemente a través de fijación natural del N₂ atmosférico, puesto que se requiere dar lugar a la síntesis de moléculas orgánicas más complejas que utilicen el carbono orgánico abundante en esta etapa del proceso, es decir a los 90 días de iniciado.

En cuanto a la duración del tratamiento realizado, se encuentra ciertamente bajo la media presentada en otros estudios similares, que fijan el horizonte final de evaluación entre 75, 120, 180 y 300 días, recalcando que para obtener valores de C:N:P acorde a los estándares deseados, se debe aún continuar el tratamiento (Martínez-Prado, Pérez-López, & Pinto-Espinoza, 2011) (Gómez, 2001) (Lee, Kwon, Young-Min, Hae-Suk, & Woo-Sung, 2011) (Ortega, 2012)

Por lo tanto, según la discusión precedente, podemos afirmar que la relación de C:N:P del suelo, luego del proceso de biorremediación con lodos activados, facilitará un mejor uso agrícola. Esto debido a la incorporación de los principales nutrientes para suelos, en especial carbono orgánico, originado por la oxidación de los TPH.

- **TPH (F2 y F3).**- Al inicio del tratamiento, el suelo empetroado posee concentraciones de 20823 y 9354 mg/Kg MS, para TPH F2 y F3 respectivamente. Al finalizar el estudio, 90 días, las unidades de análisis presentan valores promedios de 12658 y 5134 mg/Kg MS para TPH F2 y F3 respectivamente.

Según los ECA para suelos (MINAM, 2013) los valores de TPH óptimos para suelos agrícolas son 1200 y 3000 (mg/Kg MS) para TPH F2 y F3 respectivamente, por lo que bajo la normativa nacional vigente, nos encontramos ante suelos contaminados que no se encuentran recomendados para su uso agrícola.

En nuestro país, (Rodríguez, 2009) utilizó un inóculo de microorganismos eficientes (EM), producto comercial que incluye 80 especies de microorganismos, para tratar un derrame de 9000 galones de diésel (D2) ocurrido en mayo del 2009 en la quebrada del Toro, Camaná, Arequipa. La técnica empleada fue una variación de biopilas con aireación. Obtuvo una remoción de TPH próxima a los 79,7% a los 90 días de tratamiento, con una concentración de TPH final neta de 50 017 mg/kg. Pese a la enorme remoción, los valores finales de TPH se encuentran muy por encima de los exigidos por los ECA para suelos. Cabe mencionar, que no se hace diferenciación de las fracciones de TPH individualmente, pues se realizaron los análisis por técnicas gravimétricas, lo que dificulta su comparación con la norma. Pese a los altos valores referenciales de TPH en general, el autor hizo entrega del lote tratado a la Municipalidad de Camaná, cual reutilizó este insumo en sus parques y jardines, aprovechando así los altos niveles de nutrientes obtenidos por la actividad microbiana.

En un tratamiento mixto, fitorremediación con aplicación de diversas fuentes de nutrientes, (Buendía, 2012) utiliza un conjunto de residuos orgánicos para biorremediar suelos contaminados con hidrocarburos. Según su experiencia, obtuvo mejores resultados con la aplicación de estiércol de vaca más aserrín, un 25% de remoción de TPH en 60 días, con una concentración de TPH final neta de 16 280 mg/kg. De esta forma no iguala la eficiencia alcanzada en la presente investigación ni logra cumplir los valores normados en los ECA para suelos. No se hace diferenciación de las fracciones de TPH individualmente, pues se realizaron los análisis por técnicas gravimétricas, lo que dificulta su comparación con la norma.

Pese a los altos valores de TPH en general, el autor utiliza especies vegetales para una fitorremediación asistida desde el inicio del tratamiento, demostrando que cultivos, como el maíz, pueden prosperar bajo estas condiciones con diferentes grados de crecimiento.

Por lo tanto, podemos afirmar que las concentraciones de TPH F2 y F3 del suelo, luego del proceso de biorremediación con lodos activados, disminuyeron notablemente, sin llegar a cumplir para un uso agrícola óptimo. Cabe mencionar que los antecedentes evaluados, afirman que es posible realizar el cultivo de especies vegetales en concentraciones de TPH similares a las obtenidas en el presente estudio, aportando esta práctica a mejorar la remediación de suelo

c. Propiedades microbiológicas

El suelo nativo posee una carga microbiana variada, propia de suelos de la región amazónica. Caracterizándose por presentar bacterias como *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Acinetobacter* o *Bacillus* entre, entre otras y hongos del género *Aspergillus*, *Penicillium* y *Candida* (Orosco & Soria, 2008). Al finalizar el estudio, a los 90 días, se observaron poblaciones microbianas variadas con predominancia de GRAM NEGATIVAS, asociadas a la presencia de *pseudomonas*, entre otras; las cuales durante el periodo de análisis tuvieron el comportamiento tipos para el crecimiento microbiano.

Según (Brock, 1987) microorganismos juegan un papel indispensable en los ciclos biogeoquímicos, tanto del carbono, nitrógeno como de muchos otros elementos, encontrando en el suelo alrededor de 10^6 a 10^9 bacterias por gramo de suelo, encontrándose más bacterias Gram positivas que en otro hábitat. Y cuando el suelo está contaminado se emplea como indicador biológico de impacto para el crecimiento de flora y calidad de suelo.

Experiencias como la de (Hernandez-Acosta, 2003), han demostrado que durante los procesos de biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos se han logrado aislar cepas de bacterias *Pseudomonas* sp. (bacilo gram negativo, colonias de borde redondo entero, forma circular, color crema, colonias pequeñas), así como *Agrobacterium* sp. (bacilo gram negativo, colonia de borde redondo y entero. Forma circular convexo, color crema, textura mucosida). Asimismo la adición de bacterias del género *Pseudomonas* (aportadas en lodos activados) llevan a cabo procesos de biodegradación que contribuyen a la remoción de cantidades importantes del contaminante que asociado a la incorporación de plantas llevan a cabo procesos eficientes.

En otros casos como la experiencia de (Ñustez, 2012) se demuestra que en periodos cortos de aplicación del tratamiento bioestimulante se tiene un comportamiento creciente de la flora microbiana degradadora a diferencia de nuestro estudio donde se tienen picos de crecimiento hasta los 60 días logrando mayores tasas de remoción.

Por lo tanto, podemos afirmar que el crecimiento microbiano del suelo, luego del proceso de biorremediación con lodos activados, se mantiene óptimo para la incorporación de plantas no presentando bacterias dañinas para la salud, donde algunos autores señalan la asociación con plantas nitrificantes para mejorar el proceso de biorremediación.

CAPITULO VII CONCLUSIONES

7.1. Hipótesis General

“La aplicación de lodos activados permitirá una eficiente biorremediación en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH) ”.

La biorremediación de suelos contaminados con petróleo crudo, a través de la aplicación de lodos activados, llega a ser un proceso altamente eficiente y sostenible.

Se concluye lo anterior, ya que el tratamiento logra remover, en sólo 90 días, hasta un 50% de la concentración neta hidrocarburos totales del petróleo (TPH F2 y F3), además de restituir y/o mejorar ciertas propiedades organolépticas del suelo. Resaltando, que para este tratamiento se utilizó un residuo como insumo principal, lo que demuestra una práctica de reaprovechamiento de residuos potencialmente peligrosos, como los lodos activados, además de minimizar costes para la disposición de los mismos.

La eficiencia final del proceso del proceso de biorremediación resulta tener una relación directa con el tiempo de evaluación establecido.

7.2. Hipótesis Específica 1

“La aplicación de la dosis óptima de lodos activados permitirá una eficiente biorremediación en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH)”

La dosis de 20% W (lodo activado)/W(suelo empetrolado) se verifica como la dosis óptima, entre las estudiadas, para permitir una eficiente biorremediación en suelos contaminado con hidrocarburos (TPH).

Se concluye lo anterior, toda vez que en esta unidad de análisis se observa la mejor tasa relativa de remoción de TPH F2 y F3, al cabo de 90 días.

Las remociones netas de TPH F2, al cabo de 90 días, se elevaron sólo 7% por cada 50% adicional de lodo activado aplicado inicialmente; así como,

las remociones netas de TPH F3, al cabo de 90 días, se elevaron sólo 5% por cada 50% adicional de lodo activado aplicado inicialmente.

7.3. Hipótesis Específica 2

“La variación de las propiedades nativas respecto a las obtenidas luego del proceso de biorremediación con lodos activados permitirá el uso agrícola del suelo.”

Las propiedades obtenidas luego del proceso de biorremediación con lodos activados no permitirá el uso agrícola del suelo; principalmente, a causa de los valores de TPH F2 y F3 superiores a lo normado en el ECA para suelos. Cabe mencionar, que propiedades como el olor, color, textura, temperatura, pH y población microbiana del suelo han mejorado notablemente respecto a las condiciones iniciales de contaminación.

CAPITULO VIII

RECOMENDACIONES

Del desarrollo de la experiencia de biorremediación de suelos contaminados con crudo de petróleo a través de la aplicación de lodos activados, se tienen las siguientes recomendaciones para la mejora del proceso:

- Se debe caracterizar a detalle el suelo a remediar e identificar el consorcio microbiano incorporado gracias al lodo activado aplicado, con la finalidad de brindar las condiciones de crecimiento necesarias para dichos microorganismos en específico y de esta forma, se garanticen la mejor capacidad de degradación del contaminante.

- Considerar y evaluar con detenimiento todas las condiciones propias del tratamiento seleccionado a realizarse, entre las más importantes se debe procurar, en la medida de lo posible, estabilidad térmica ambiental, fomentar la aireación permanente, realizar actividades mecánicas para mejorar la estructura del suelo y tratar a capacidad de campo. Todo lo anterior a propósito de obtener las mayores tasas de remoción con la menor cantidad de lodos activados posible, considerando que no siempre existen plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) próximas a la zona del tratamiento. orado gracias al lodo activado aplicado, con la finalidad de brindar las condiciones de crecimiento necesarias para dichos microorganismos en específico y de esta forma, se garanticen la mejor capacidad de degradación del contaminante.

- Se recomienda realizar una Evaluación de Riesgo, la Salud y el Ambiente (ERSA) en la zona a remediar, a fin de identificar las concentraciones reales y específicas de contaminante que llegarían a ocasionar daño directo a la salud ambiental, incluyendo la humana. Todo esto debido a que los ECA para Suelos sólo contienen valores referenciales de contaminación a nivel nacional, mas no de manera específica ni certera

para cada zona del país ni mucho menos para la realidad de cada proyecto, que en el caso de hidrocarburos, son muy variadas.

- Complementar el presente tratamiento con fitorremediación, usando especies vegetales con asociaciones nitrificantes de preferencia, a partir de los 70 a 100 días de haber iniciado el tratamiento. Ya que en este periodo existe una gran acumulación de carbono orgánico en suelo, que puede ser aprovechado en la síntesis de estructuras vegetales más complejas, logrando en definitiva mayor degradación del hidrocarburo contaminante. Recomendamos utilizar esta técnica preferentemente antes de recurrir a la adición de compuestos inorgánicos comerciales, los cuales pueden desestabilizar el proceso

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDADES	MES																											
	DICIEMBRE				ENERO				FEBRERO				MARZO				ABRIL				MAYO				JUNIO			
	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4
1	ELECCIÓN DEL PROYECTO A EJECUTAR																											
Elaboración del ante proyecto																												
2	DIAGNOSTICO DEL LUGAR DEL PROYECTO																											
Identificación de la zona donde se ejecutará el proyecto																												
Adquisición de equipos y materiales																												
Habilitación de los espacios dónde se realizará el proyecto																												
3	EJECUCIÓN DEL PROYECTO																											
Mezcla de suelo contaminado con lodos de PTAR																												
Período de arranque																												
Monitoreo de parámetros básicos																												
Análisis de TPH y microorganismos																												
4	FINALIZACIÓN DEL PROYECTO																											
Recopilación y ordenamiento de datos																												
Discusión de resultados proyecto																												

PRESUPUESTO

Concepto	Unidad	Cantidad	Precio Unitario	Costo
MATERIALES				
Agua destilada	Litro	10	S/. 5.00	S/. 50.00
Bolsa hermética para 500g	Unidad	3	S/. 0.50	S/. 1.50
Baldes	Unidad	5	S/. 5.00	S/. 25.00
Tubo de PVC 3metros	Unidad	3	S/. 1.00	S/. 3.00
Soguilla	Unidad	2	S/. 0.50	S/. 1.00
Gaveta	Unidad	1	S/. 25.00	S/. 25.00
Martillo	Unidad	1	S/. 15.00	S/. 15.00
Matraz 250ml	Unidad	2	S/. 10.00	S/. 20.00
Bagueta	Unidad	3	S/. 5.00	S/. 15.00
Vaso de precipitado 100ml	Unidad	3	S/. 10.00	S/. 30.00
Frasco ámbar boca ancha	Unidad	1	S/. 12.00	S/. 12.00
Guantes	Caja x 50 Unid.	1	S/. 12.00	S/. 12.00
Mandil	Unidad	4	S/. 2.00	S/. 8.00
Mascarilla	Caja x 50 Unid.	1	S/. 9.00	S/. 9.00
Paleta	Unidad	1	S/. 5.00	S/. 5.00
Balanza	Unidad	1	S/. 75.00	S/. 75.00
Papel aluminio	Rollo x 5metros	1	S/. 10.00	S/. 10.00
Papel toalla	Rollo x 1,5metros	2	S/. 2.00	S/. 4.00
EQUIPOS				
Potenciómetro	Unidad	1	S/. 140.00	S/. 140.00
Termómetro de alcohol	Unidad	1	S/. 15.00	S/. 15.00
ANÁLISIS DE LABORATORIO				
Caracterización fisicoquímica de suelo	Servicio	5	S/. 60.00	S/. 300.00
Caracterización TPH de suelo	Servicio	1	S/. 270.00	S/. 270.00
Caracterización fisicoquímica de lodo	Servicio	1	S/. 75.00	S/. 75.00
Caracterización microbiológica de lodo	Servicio	1	S/. 75.00	S/. 75.00
Análisis periódico de TPH	Servicio	20	S/. 270.00	S/. 5,400.00
MEDIO DE CULTIVO				
Agar Nutritivo 500g	Frasco	1	S/. 170.00	S/. 170.00
			TOTAL	S/. 6,765.50

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMBRAZAITIENĖ, D., ŽUKAUSKAITĖ, A., & JAKUBAUSKAITĖ, V.. **Biodegradation activity in the soil contaminated with oil products.** *Zemdirbyste-Agriculture*, Vol. 100 (3): 235-242. 2013

ÁVILA, M.. **Biorremediación de Procesos y aplicaciones.** *Instituto de Investigaciones*, 1-33. 1999

BRACK, A., & MENDIOLA, C.. **Perú Ecológico Enciclopedia "Ecología del Perú"**. Disponible en: <http://www.peruecologico.com.pe/libro.htm> articulo web. Consultado el 28 de mayo de 2015.

BRADY, N., & WEIL, R.. **The nature and properties of soil.** New jersey: Prentice Hall. 1998

BROCK, T. **Microbiología.** Prentice-Hall Hispanoamericana. Cuarta Edición. 1987

BUENDÍA R., H.. **Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos.** *Instituto de Investigacion* , 123-130. 2012

BURGOS, R.. **BIOINFORMATICA.** Disponible en: http://bioinformatica.uab.es/biocomputacio/treballs02-03/RBurgos/dades/degradaci%C3%B3n_de_hidrocarburos.htm articulo web. Consultada el 15 de julio del 2015.

BUSTAMANTE, J. L.. **Remediación de suelos y aguas subterráneas por contaminación de Hidrocarburos en los terminales de Mollendo y Salaverry en la Costa Peruana.** Tesis de grado, Lima. *Universidad Nacional de Ingeniería*. 2007.

CANDO RODRIGUEZ, M. A. **Determinación y Análisis de un proceso de biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos.** Tesis de grado. Cuenca, Ecuador. Universidad Politécnica Salesiana. 2011

CÁRDENAS, C., ARAUJO, I., & BOHÓRQUEZ, M.. **IngenieroAmbiental.com.** Disponible en <http://www.ingenieroambiental.com/4014/angulo.pdf>(2010) articulo web, Consultado el 29 de Noviembre de 2014

CASTRO, G.. **Diseño monitoreo frente a derrames de hidrocarburos.** Quillota: Proyectos y Asesorías Ambientales SAC. 2007

CHIRINOS, I., LARRÉAL, M., & DIAZ, J.. **Biorremediación de lodos petroquímicos mediante el uso de la biota microbiana autóctona en un oxisol del municipio Lagunillas del estado Zulia, Venezuela.** *Revista Científica UDO Agrícola*, 133-144. 2010.

COMISIÓN AMBIENTAL REGIONAL SAN MARTIN. **Estrategia Regional de la Diversidad Biológica de San Martín.** Lima: Instituto de Investigación de la Amazonia Peruana. 2005.

CUNNINGHAM, C., & PHILIP, J. **Comparison of bioaugmentation and biostimulation in ex situ treatment of diesel contaminate soil.** *Land Contamination and Reclamation*, 261-269. 2000.

ESCALANTE, R. **Biodegradación de crudo de petróleo en terrarios.** Tesis de post-grado. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2002.

ESCORZA-NUÑEZ, J. G.. **Estudio de Inócuos Bacterianos como biorremediadores de suelos contaminados con petróleo.** Tesis de grado. Ecuador. Escuela Superior Politecnica de Chimborazo. 2007.

FAO.. **Optimización de la humedad del suelo para la producción vegetal.** *Boletín de suelos de la FAO*, 15. (2005)

FAO. **Glosario de Agricultura Orgánica de la FAO.** Roma: FAO. (2009).

FERNANDO, H. **Evaluación de la diversidad de bacterias degradadoras de hidrocarburos aisladas de suelos.** Tesis de Post grado. Bogota, Colombia: Universidad Nacional de Colombia. 2010.

FERRERA - CERRATO, R. **Agromicrobiología elemento útil en la agricultura sustentable.** En *Colegio de Posgraduados en Ciencias Agrícolas*. Montecillos Estado de México: Colegio de Posgraduados en Ciencias Agrícolas. 1995.

FERRERA-CERRATO, R., ALARCÓN, A., MENDOZA-LÓPEZ, M., SANGABRIEL, W., TREJO-AGUILAR, D., CRUZ-SÁNCHEZ, J. S.-O., & DELGADILLO-MARTÍNEZ, J. **Fitorremediación de un suelo contaminado con combustóleo utilizando *Phaseolus coccineus* y fertilización orgánica e inorgánica.** Xalapa, Veracruz. 2006.

FUND, B. M. **Monitoreo y Mitigación de Impactos de los Cultivos Agroenergéticos en la Amazonía Peruana.** de Bio Fuel Observatory: Disponible en: <http://www.biofuelobservatory.org/Documentos/Monitoreo->

y-Mitigacion/Anexo-I-II.pdf articulo web. Consultado el 18 de Enero de 2015.

GARCIA, F., & GARCES, P. **La Industrialización del Petroleo en America Latina y El Caribe**. Quito, Ecuador, julio 2013: OLADE. 2013

GLASER, B. **Prehistorically modified soils of central Amazonia: A model for sustainable agriculture for the twenty-first century**. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 187-196. 2007.

GOBIERNO REGIONAL DE SAN MARTÍN - INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN DE LA AMAZONIA PERUANA. **Estudio de suelos y capacidad de uso mayorde la tierra de la región San Martín**. Moyobamba: GORESAM - IIAP. 2005.

GOMEZ ORTEGA, P. Y. **Dinamica de Sistemas**. Disponible en: <http://www.dinamica-de-sistemas.com/revista/0913b-dinamica-de-sistemas.pdf> articulo web consultado el 27 de Diciembre de 2014.

GONZÁLEZ, J. I. **Obtención , recepción , manejo y consumo de combustibles a bordo**. Valdivia: Universidad Austral de Chile. 2005.

HUANG, EL-ALWI, GRUSKA, GLICK & GREENBERG . **Field and Laboratory Tests of a Multi-Process Phytoremediation System for Decontamination of Petroleum and Salt Impacted Soils**. Earthmaster Environmental Strategies Inc., Alberta, Canadá. 2005.

IBARRA, D. **Evaluacion del Potencial de biodegradacion de hidrocarburos totales de petroleo en suelos contaminados provinientes de petroSatander**. Tesis de grado. Bucaramanga, Mexico: Universidad Pontifica Bolivariana. 2008.

ICTA. **Actividad Petrolera en la Amzonia Peruana**. Lima. 2009.

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN DE LA AMAZONIA PERUANA . **El recurso Suelo en la Amazonia Peruna** . Lima: IIAP. 1995.

ISRAELSEN, & HANSEN. **Principios y aplicaciones del riego**. Barcelona: Reverté. 1985.

KAO, C. **Application of microbial enumeration technique to evaluate the occurrence of natural bioremediation**. *Water Research*, 1951-1960. 2001.

KELLOGG SOIL SURVEY LABORATORY. **Soil Survey Investigations Report No. 42**. Lincoln, Nebraska: USDA. 2014.

LEE, J.-Y., KWON, T.-S., YOUNG-MIN, C., HAE-SUK, K., & WOO-SUNG, J. **Application of biorremediation to soil contaminated by lubricants around railroad turnouts**. *International Journal of Railway*, 1-4. 2011.

LEYS, N., LEEN, B., VERSTRAETE, W., & SPRINGAEL, D. **Influence of the carbon/nitrogen/phosphorus ratio on polycyclic aromatic hydrocarbons degradation by Mycobacterium an Sphingomonas in soil**. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 726-736. 2005.

LIU, D., WANG, Z., ZHANG, B., SONG, K., LI, X., LI, J. DUAN, H. **Spatial distribution of soil organic carbon and analysis of related factors in croplands of the black soil region, Northeast China**. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 73-81. 2006.

LLOYD, J. R., LOVLEY, D. R., & MACASKIE, L. E. **Biotechnological Application of Metal-reducing**. En D. R. Jonathan R. Lloyd, *ADVANCES IN APPLIED MICROBIOLOGY* págs. 85-128. Londres: Elsevier Inc. 2003.

LONG, D. **Water Treatment Handbook**. Degremont. 1991.

LU, M. **Interpretación de los Resultados del Monitoreo Ambiental Participativo en la Cuenca del Río Marañón presentado por OEFA, OSINERGMIN, DIGESA, ANA Y SERNANP**. Environmental Law Alliance Worldwide. 27 de enero de 2014.

MAGRAMA - ESPAÑA. **Impacto ambiental de los hidrocarburos y recuperación de los ecosistemas**. Disponible en: http://www.magrama.gob.es/es/costas/temas/proteccion-del-medio-marino/la-contaminacion-marina/impacto_ambiental.aspx. artículo web consultado el 28 de Marzo de 2015,

MAGRAMA. **Bacterias heterótrofas**. Madrid: MAGRAMA. (2000).

MARGESIN, F., & SCHINNER, R. **Bioremediation (Natural attenuation and biostimulation) of Diesel-oil-contaminated soil in an alpine glacier skiing area**. *Applied and environmental microbiology*, 3127-3133. 2001.

MAROTO, E., & ROGEL, J. **Aplicación de Sistemas de Biorremediación de Suelos y Aguas Contaminadas por Hidrocarburos**. *Proteccion Ambiental de Suelos*, 297-305. 2004.

MARTINEZ-PRADO, A., PEREZ-LOPEZ, M., & PINTO-ESPINOZA, J. **Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos empleando lodos residuales como fuente alterna de nutrientes.** *Contaminacion Ambiental*, 241-252. 2011.

MEIER, M.. **Cronica de un derrame anunciado.** *El Comercio.* (22 de Julio de 2014)

MENÉNDEZ, D., GALLEGO, J., PELÁEZ, A., FERNÁNDEZ DE CÓRDOBA, G., MORENO, J., MUÑOZ, D., & SÁNNCHEZ, J. **Engineered in situ bioremediation of soil and groundwater polluted with weathered hydrocarbons.** *European Journal of Soil Biology*, 310-321. 2007.

MINAGRI. *Portal MINAGRI.* Disponible en: <http://minagri.gob.pe/portal/marco-legal?catid=0&id=361>, articulo web consultado el 17 de abril de 2015.

MINAM. **Estándares de Calidad Ambiental para Suelo. Anexo II - D.S. N° 002-2013.** Perú. 2013.

MINEM.. **Manual de Reservas de Hidrocarburos.** Lima, Peru. 2013.

MINEM. **Producción de hidrocarburos.** Lima: MINEM. 2014.

ÑUSTEZ, D. C. **Biorremediación para la degradación de TPH en los sedimentos de una estación de servicios de combustible.** Tesis de grado. Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira. 2012.

OADES, J. **The role of biology in the formation, stabilization and degradation of soil structure.** *Soil Structure/Soil Biota Interrelationships*, 377-400. 1993

OROPEZA GARCIA, N. **Lodos Residuales: estabilizacion y manejo.** *Caos Conciencia 1* , 51-58. 2006.

OROSCO, V., & SORIA, M. **Bacterias producen bioemulsificantes y biosurfactantes que disminuyen la tensión superficial entre el petróleo y el medio acuoso.** Riobamba, Ecuador: Escuela Superior Politecnica de Chimborazo. Tesis de Grado. 2008.

ORTEGA, M. **Modelización de un proceso de biorremediación de suelos contaminados con gasoil.** Madrid: Universidad Politécnica de Madrid. 2012.

PEMEX. *El Petróleo*. Gerencia de Información y Relaciones Públicas. Mexico. 1998.

PERRY, LEONARD. «*PH for the Garden*». Consultado el 11 de diciembre de 2012. <http://pss.uvm.edu/ppp/pubs/oh34.htm>

PERUPETRO. *Actividades de exploración y explotación de hidrocarburos en el Perú*. Lima: PERUPETRO. 2010.

QUINTERO MONTOYA, O. *Unidad de Asistencia Técnica Ambiental para biorremediación de suelos contaminados*. Bogotá: Cámara de Comercio de Bogotá. 2004.

RAE. *Diccionario de la lengua española 23° Edición*. Madrid: RAE. Disponible en: <http://dle.rae.es/?w=diccionario>. artículo web, consultado el 16 de junio de 2014.

RAMALHO, R. S. *Tratamiento de Aguas residuales*. Madrid: Reverte. 1996.

REPSOL. *Memoria Anual*. Callao: REPSOL. 2013.

RIOS, R.. *Estudio de la Estimulación Biológica Para el Tratamiento de Residuos de Perforación Petrolera Empleando Lisímetros*. Mexico DF, Mexico: Casa Abierta al Tiempo. 2005

RISER, E.. *Bioremediation of Petroleum Contaminated Sites*. Florida : CRC Press. 1992

RODRÍGUEZ, J. M. *Mitigación y biorremediación de suelos contaminados por el derrame de combustible diésel 2 en la Quebrada del Toro, Camaná, 2009*. Arequipa: UAP. 2009.

ROLDÁN MARTÍN, A., & ITURBE ARGUELLES, R. *Saneamiento de suelos contaminados con hidrocarburos mediante biopilas*. Universidad Nacional Autónoma de México. 2013.

RUCKS, L., GARCIA, F., & KAPLAN, A.. *Propiedades físicas del suelo*. Montevideo, Uruguay: Facultad de Agronomía - Universidad de la República. 2004

SALINAS, A., SANTOS, M., SOTO, O., DELGADO, E., PÉREZ, H., AGUAD, L., & MEDRANO, H. *Development of a bioremediation process by biostimulation of native microbial consortium through the heap*

leaching technique. *Journal of Environmental Management*, 115-119. 2008.

SEMARNAT. NORMA OFICIAL MEXICANA 004 SEMARNAT 2002. ***Protección Ambiental Lodos y Biosólidos Especificaciones y Límites Máximos Permisibles de Contaminantes para su Aprovechamiento y Disposición Final.*** Mexico: SEMARNAT. 2002.

SOLANAS, A. M. ***La biodegradación de hidrocarburos y su aplicación en la biorremediación de suelos.*** Barcelona, España: Departamento de Microbiología - Facultad de Biología Universidad de Barcelona. 2003.

SUEYOSHI, T., & WANG, D.. **Sustainability development for supply chain management in U.S. petroleum industry by DEA environmental assessment.** *Energy Economics*, 360-374. 2014

THOMPSON, L., & TROEH, F. ***Los suelos y su fertilidad.*** Barcelona: Reverté. 1988.

U.S. Environmental Protection Agency. **Fate and Transport of Petroleum Hydrocarbons in Soil.** U.S. Geological Survey, Reston, Virginia. 2000.

USDA. **Soil Quality Indicators.** *Natural Resources Conservation Service.* 2014.

USDA. **Soil Quality Indicators.** *Natural Resources Conservation Service.* 2008.

USDA. **Soil Quality Indicators.** *Natural Resources Conservation Services.* 2011.

VALLEJOS, V., SALGADO, L., & ROLDAN, F. **Evaluación de la bioestimulación en la biodegradación de TPH's en suelos contaminados con petróleo.** *Revista Colombiana de Biotecnología*, 67-68. 2005.

VAZQUEZ-LUNA, M., MONTIEL-FLORES, A., VAZQUEZ-LUNA, D., & HERRERA-TENERIO, M. **Impacto del petróleo crudo en suelo sobre la microbiota de vida libre fijadora de nitrógeno.** *Tropical and SubTropical Agroecosystems*, 511-523. 2011.

VICTORIA, V., & SALGADO, L. **Evaluación de la bioestimulación en la biodegradación de TPH en suelos contaminados con petróleo.** *Biotecnología*, 65-78. 2005.

WEDEL, R., MOSQUERA, J., & GOLDSMITH, D. H. **Bacterial biodegradation of petroleum hydrocarbons in groundwater in situ augmented bioreclamation with enrichment isolates in California**. *Water Science and Technology*, 501-530. 1988.

WEELMAN, D., ULERY, A., BARCELLONA, M., & DUERR-AUSTER, S. **Animal waste enhanced degradation of hydrocarbon-contaminated soil**. *Soil Sediment Contaminat*, 511-523. 2001.

ZEVALLOS, M. **Oro negro contamina la amazonía**. *Diario16*. (18 de Setiembre de 2013).

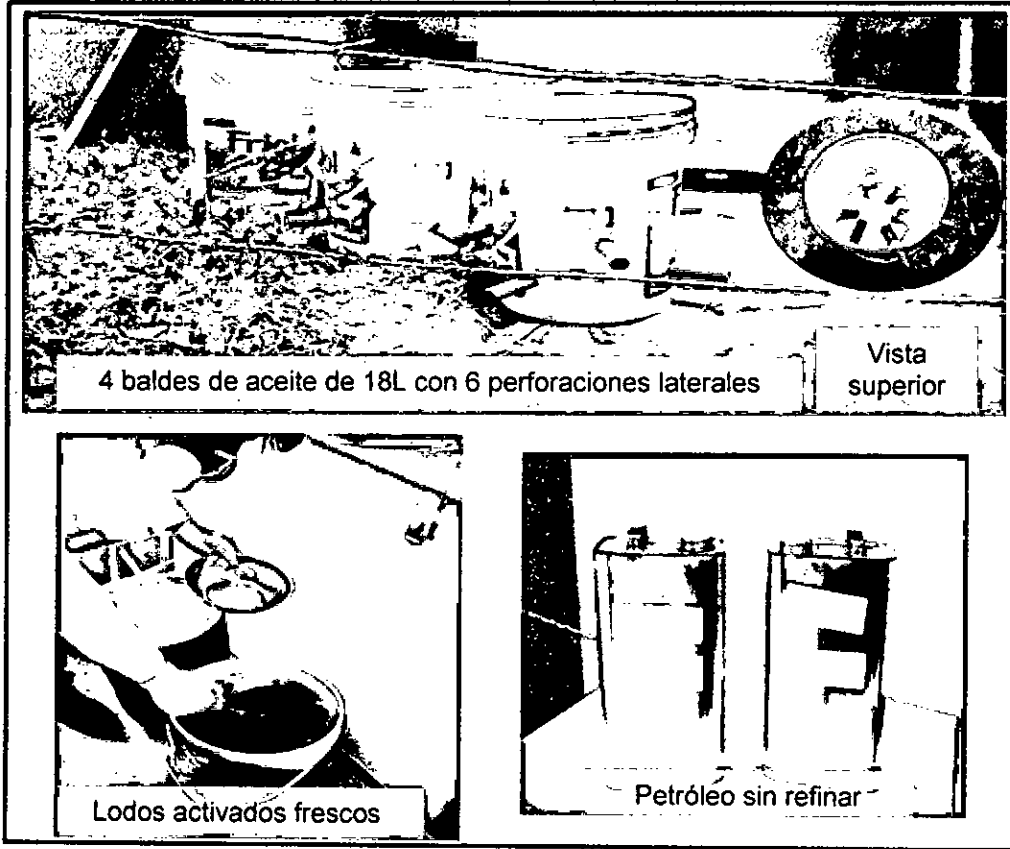
ANEXOS

ANEXO 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA

DETERMINACIÓN DE LA EFICIENCIA DE BIORREMEDIACIÓN CON LODOS ACTIVADOS EN SUELO CONTAMINADO POR HIDROCARBUROS		
PROBLEMA	General	¿Cuán eficiente será la biorremediación al aplicar lodos activados en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH)?
	Específicos	¿Cuál será la dosis óptima de aplicación de lodos activados para una eficiente biorremediación en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH)? ¿Cuál será la variación de las propiedades nativas del suelo respecto a las obtenidas luego del proceso de biorremediación con lodos activados?
OBJETIVO	General	Determinar la eficiencia de biorremediación al aplicar lodos activados en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH).
	Específicos	Determinar la dosis óptima de aplicación de lodos activados para una eficiente biorremediación en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH). Determinar la variación de las propiedades nativas del suelo respecto a las obtenidas luego del proceso de biorremediación con lodos activados.
HIPÓTESIS	General	La aplicación de lodos activados permitirá una eficiente biorremediación en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH).
	Específicos	La aplicación de la dosis óptima de lodos activados permitirá una eficiente biorremediación en suelo contaminado con hidrocarburos (TPH). La variación de las propiedades nativas del suelo respecto a las obtenidas luego del proceso de biorremediación con lodos activados permitirá su uso agrícola.
VARIABLES	Independiente	Lodos activados
	Interviniente	Tiempo
	Dependiente	Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos
INDICADORES	Independiente	Concentración de lodo aplicado (% W/W)
	Dependiente	Concentración de TPH (mg/Kg)
METODOLOGÍA	Diseño experimental realizado a escala de laboratorio.	

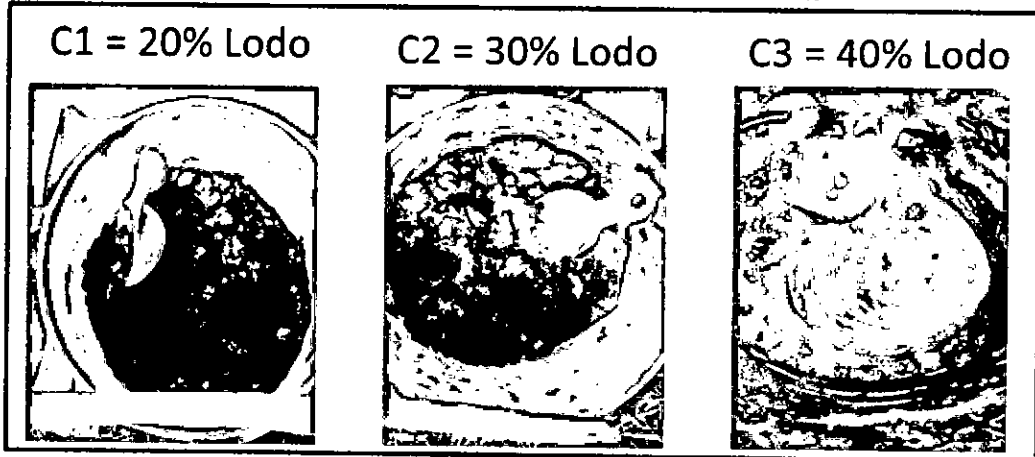
ANEXO 2: REGISTRO FOTOGRÁFICO

Figura 1: Insumos para unidades de análisis



Fuente: Registro fotográfico propio

Figura 2: Unidades de análisis al inicio del tratamiento



Fuente: Registro fotográfico propio

ANEXO 3: PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

P.E. N° 01: Determinación del pH

Para la determinación del potencial de hidrogeniones de cada una de las unidades de análisis:

Se utilizaron los siguientes materiales y equipos:

- Potenciómetro de bolsillo
- Agua destilada
- Bagueta
- Vasos de precipitado de 250 ml

Y se realizó el siguiente procedimiento:

1. Tomar una muestra de suelo (20g aproximadamente)
2. Adicionar agua destilada (50mL aproximadamente)
3. Agitación uniforme y constante durante 2 minutos
4. Dejar en reposo el vaso durante 2 minutos
5. Introducir delicadamente el potenciómetro en la fase clarificada
6. Anotar el valor mostrado, una vez se estabilice

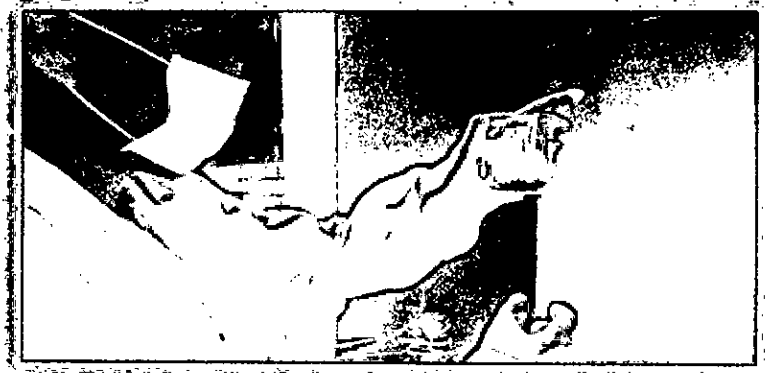
Consideraciones:

- ✓ Antes de iniciar los análisis y cada vez que exista duda de los resultados, el potenciómetro debe ser calibrado con sus soluciones tampón establecidas.
- ✓ Antes de iniciar los análisis, las unidades deben ser aireadas, mediante movimientos enérgicos del suelo, para así elevar su representatividad.
- ✓ Los materiales de vidrio y el potenciómetro deben ser cuidadosamente enjuagados con agua destilada antes y después del procedimiento.
- ✓ El procedimiento debe ser realizado inmediatamente consecutivo en cada una de las unidades de análisis, para evitar variaciones debido a la temperatura ambiental.

- ✓ El procedimiento debe ser realizado de la unidad de análisis con pH más neutro hacia aquella más extrema, para así evitar un desajuste del potenciómetro.
- ✓ Para la preparación de la muestra se considera la relación 1:1 de suelo y agua, de acuerdo a la Sociedad Americana de Materiales, considerando una densidad del suelo de 2,6g/ml.

Registro Fotográfico:

Figura 1: Toma de muestra de suelo en vaso de precipitado



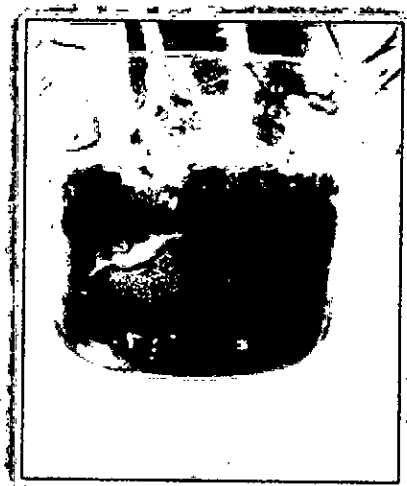
Fuente: Registro fotográfico propio

Figura 2: Adición de agua destilada, relación 1:1



Fuente: Registro fotográfico propio

Figura 3: Agitación uniforme



Fuente: Registro fotográfico propio

Figura 4: Medición de pH con equipo calibrado para cada medición



Fuente: Registro fotográfico propio

P.E. N° 02: Determinación de la temperatura

Para la determinación de la temperatura en cada una de las unidades de análisis:

Se utilizaron los siguientes materiales:

- Termómetro de mercurio
- Cucharón

Y se realizó el siguiente procedimiento:

1. Realizar un orificio dentro del suelo analizado con ayuda del cucharón individual para cada unidad de análisis.
2. Introducir verticalmente el termómetro hasta alcanzar la altura media de la unidad de análisis.
3. Mantener en esa posición durante 1 minuto.
4. Retirar el termómetro y anotar el valor indicado.

Consideraciones:

- ✓ El termómetro debe ser cuidadosamente enjuagados con agua destilada antes y después del procedimiento, esperando 1 minuto antes de repetir.
- ✓ El procedimiento debe ser realizado inmediatamente consecutivo en cada una de las unidades de análisis, para evitar variaciones debido a la temperatura ambiental.
- ✓ Cada vez que exista duda de los resultados, el procedimiento debe ser repetido.
- ✓ Para el procedimiento se estableció de acuerdo al Standard Method N° B2250.

Registro Fotográfico:

Figura 1: Limpieza del termómetro con agua destilada



Fuente: Registro fotográfico propio

Figura 2: Orificio intermedio en la unidad de análisis



Fuente: Registro fotográfico propio

Figura 3: Medición de temperatura por el tiempo



Fuente: Registro fotográfico propio

P.E. N° 03: Remoción mecánica

A cada una de las unidades de análisis se le aplicó aireación manual.

Se utilizaron los siguientes materiales:

- Paletas
- Malla de orificios de 2 mm de diámetro

Y se realizó el siguiente procedimiento:

1. Mezclar en forma circular, de las paredes al centro, por 2 minutos.
2. Dar 4 vueltas en sentido horario, llevando el contenido de la unidad de análisis desde abajo hacia arriba.
3. Al mes realizar un tamizado con la malla para mejorar las condiciones aerobias.

Consideraciones:

- ✓ Utilizar una paleta diferente para cada unidad de análisis,
- ✓ El procedimiento debe ser realizado con cuidado de no salpicar el contenido, fuera de la unidad de análisis.
- ✓ Verificar en la aireación que se abarque todos los estratos de la unidad de análisis para asegurar las mejores condiciones aerobias.

Figura 1: Remoción mecánica en forma circular



Fuente: Registro fotográfico propio

P.E. N° 04: Hidratación

A cada una de las unidades de análisis se le aplicó agua destilada a partir de la segunda semana de iniciado el tratamiento. Se hidrató con 5%VV (semana 2° a 4°) y 10% (semana 5° en adelante) de agua destilada.

Se utilizaron los siguientes materiales:

- Paletas
- Agua destilada
- Vaso de precipitado

Y se realizó el siguiente procedimiento:

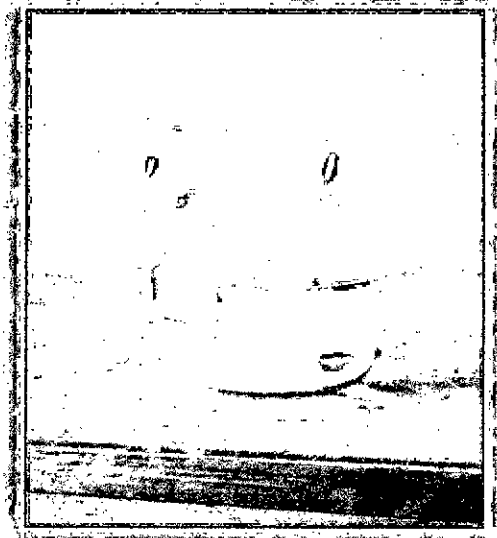
1. Medir el volumen de agua destilada en el vaso de precipitado.
2. Agregar a la unidad de análisis en 3 partes mientras se mueve la muestra para que se humecte homogéneamente.

Consideraciones:

- ✓ Considerar el volumen de agua a aplicar, en base a la masa de cada unidad de análisis.
- ✓ El procedimiento debe ser realizado con cuidado de no salpicar el contenido fuera de la unidad de análisis.
- ✓ Procurar distribuir homogéneamente el agua destilada.

Registro Fotográfico:

Figura 1: Aforo de agua destilada a aplicar en vaso de precipitado



Fuente: Registro fotográfico propio

Figura 2: Remoción homogénea durante la hidratación en cada unidad



Fuente: Registro fotográfico propio

P.E. N° 05: Análisis Microbiológico
Recuento de microorganismos heterótrofos mesófilos aerobios
totales en medio líquido

Objetivo:

Determinar el crecimiento microbiano en base al NMP de microorganismos por cada 100 ml de muestra de suelo analizada.

Materiales:

- Tubos de ensayo con tapa
- Caldo nutritivo
- Rejillas
- Papel platino
- Balanza
- Incubadora
- Autoclave
- Pipeta
- Propipeta
- Matraz de 250 ml
- Espátula
- Agua destilada

Procedimiento:

1. Pesar un gramo de suelo y se siembra en un tubo de ensayo conteniendo 9 ml de solución de suelo base estéril rotulado con 10^{-1} que corresponde al primer nivel de dilución.
2. Agitar continuamente por 5 minutos y se deja reposar.
3. Tomar 1 ml del sobrenadante con otra pipeta estéril y se lo agrega al segundo tubo con de solución de suelo base estéril rotulado como 10^{-2} .
4. Se procede de la misma manera hasta el tubo correspondiente a la última dilución 10^{-10} .

5. Una vez que se dispone de estos 10 tubos conteniendo la solución del suelo se procede a sembrar una alícuota, por duplicado, de cada uno de ellos en caldo nutritivo realizando la técnica de dilución límite en un medio líquido

Cálculo del número más probable

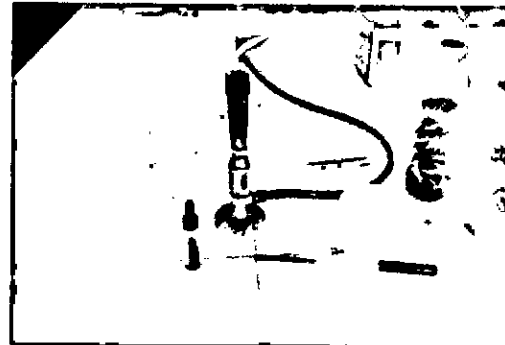
1. Sembrar como mínimo tres tubos para cada dilución.
2. Al cabo de una semana leer los resultados, tomándose como positivos los tubos en los que ha habido desarrollo (se ven turbios debido a la proliferación de microorganismos y película en la superficie).
3. Se toma nota, para cada dilución, del número de tubos positivos (+) y se introducen los datos en la hoja de cálculo de Excel programada para el cálculo estadístico del NMP.

Registro Fotográfico: (Ver páginas siguientes)

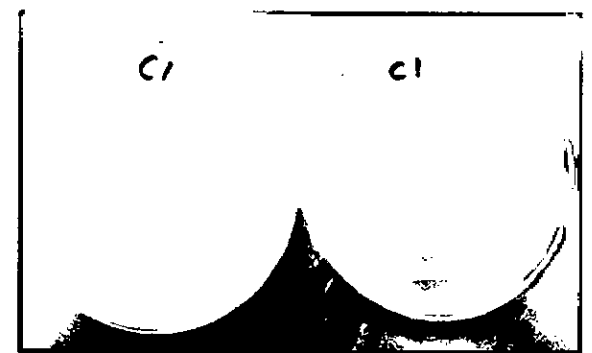
Figura 1: Análisis microbiológico



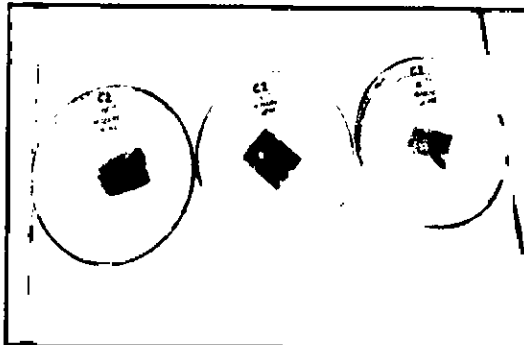
Preparación de diluciones para cada unidad de análisis



Siembra de muestras inóculos en ambiente estéril



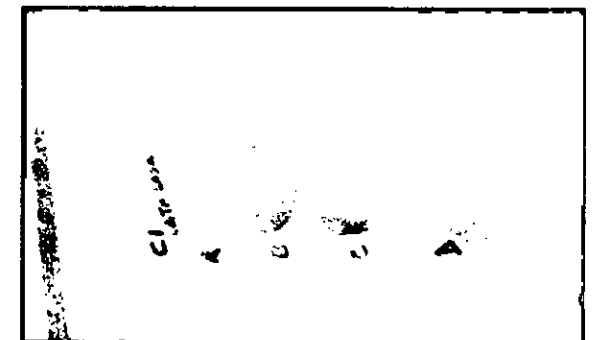
Crecimiento de colonias



Crecimiento de colonias, con adaptación a TPH de hidrocarburos



Crecimiento de colonias en medio con hidrocarburos disueltos



Prueba de Catalasa a inóculos adaptados

Fuente: Registro fotográfico propio

ANEXO 4: INFORMES DE ENSAYO DE LABORATORIO

4.1. Caracterización fisicoquímica de suelo nativo



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



ANALISIS DE SUELOS : CARACTERIZACION

Solicitante : CARMEN VASQUEZ SILVA

Departamento : SAN MARTÍN

Distrito :

Referencia : H.R. 48500-009C-15

Bo'l: 11785

Provincia : RIOJA

Proedio :

Fecha : 11/02/15

Número de Muestra		pH (1:1)	CE (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. Oc Bases
Lab.	Claves							Arena %	Limo %	Arcilla %			Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	Al ³⁺ + H ⁺			
1300		4.14	0.10	0.00	2.07	2.6	132	38	40	21	Fr.	14.08	0.05	0.45	0.19	0.02	1.90	2.61	0.71	5


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

Número de Muestra		N %
Lab.	Claves	
1300		0.16




Sady García-Bendazú
Sady García-Bendazú
 Jefe del Laboratorio

4.2. Caracterización de lodo



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



INFORME DE ANALISIS ESPECIAL DE MATERIA ORGANICA

SOLICITANTE : CARMEN VÁSQUEZ SILVA

PROCEDENCIA : LIMA

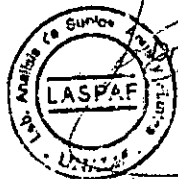
MUESTRA DE : LODO

REFERENCIA : H.R. 48777

BOLETA : 11831

FECHA : 04/03/15


N° LAB	CLAVES	pH	N mg/L	P mg/L	K mg/L	M.O. % PV
109		6.68	1736.00	333.70	102.50	1.39



Sady Garcia Bendezu
Jefe de Laboratorio


Av. La Molina s/n Campus UNALM
 Telf.: 614-7800 Anexo 222 Telefax: 349-5622
 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

4.3. Concentración inicial de TPH F2 y F3 en suelo



SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.S.
SARG

**LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR
EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INDECOPI - SNA
CON REGISTRO N° LE-047**



ACREDITADO - LABORATORIO DE ENSAYO
INDECOPI - SNA
REGISTRO N° LE-047

INFORME DE ENSAYO N° 09580-2015 CON VALOR OFICIAL

RAZÓN SOCIAL : DO ASESORIA & CONSULTORIA E.I.R.L.

DIRECCIÓN LEGAL : CALLE OUNGER N° 1111 URB. MERCURIO - LOS OLIVOS - LIMA

SOLICITADO POR : SR. ANGELO GERÓNIMO URRUTIA

REFERENCIA : ANÁLISIS DE SUELOS

PROCEDENCIA : PARCELA DE INVESTIGACIÓN - FIARSI - UNAC

FECHA DE RECEPCIÓN : 2015-02-19

FECHA DE FINICIO DE ENSAYOS : 2015-02-19

MUESTREADO POR : EL CLIENTE

1. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C.	Unidades
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH DRO (C ₁₀ -C ₂₅)	EPA 8013 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007	1.77	mg/kg
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₂₅)	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007	1.77	mg/kg

L.C.: límite de cuantificación.

II. RESULTADOS

Producto declarada		Suelo
Matriz analizada		Suelo
Fecha de muestreo		2015-02-18
Hora de inicio de muestreo (H)		17:00
Condiciones de la muestra		Preservada y Refrigerada
Código del Cliente		L6
Código del Laboratorio		15021031
Ensayo	Unidades	Resultados
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH DRO (C ₁₀ -C ₂₅)	mg/kg	20823.00
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₂₅)	mg/kg	9354.00
** Resultados de campo proporcionados por el cliente		
Parámetro	Unidades	Resultados
** Temperatura	°C	23.5

Resultados de suelo en base seca

** Resultados proporcionados por el cliente, no forman parte del alcance de la acreditación.

III. PERIODO DE CONSERVACIÓN DE MUESTRAS:

Ensayo	Tiempo de conservación
TPH	14 días

Urb. D3 de Ranco del 2015

El presente informe ha sido elaborado por INDECOPI/SNA

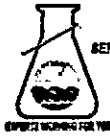
INDECOPI/SNA is a member of the European of Metrology and Measurement (EMRP) - www.emrp.eu - and of the ISO 17025 - EPA (U.S. Environmental Protection Agency) - ASTM (American Society for Testing and Materials) - IFT (Instituto Tecnológico Peruano)

CONSEJO REGULADOR: Este informe es propiedad intelectual de SARG y no puede ser reproducido o distribuido sin el consentimiento escrito de SARG. Este es un informe de laboratorio y no debe ser utilizado para fines legales o de responsabilidad.

Los resultados de este informe de laboratorio son válidos por un periodo de 30 días calendario de haberse generado la muestra de laboratorio.

Página 1 de 1

4.4. Concentración TPH F2 y F3 en unidades de análisis a los 15 días.



SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.S.
SAC

LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR
EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INDECOPI - SNA
CON REGISTRO N° LE-047



Registro N° LE - 047

**INFORME DE ENSAYO N° 09813-2015
CON VALOR OFICIAL**

RAZÓN SOCIAL : DQ ASESORIA & CONSULTORIA E.I.R.L.
DOMICILIO LEGAL : CALLE CAÑEZ N° 1111 URB. MERCURIO - LOS OLIVOS - LIMA
SOLICITADO POR : GR. ANGELO GERÓNIMO URRUTIA
REFERENCIA : ANÁLISIS DE SUELOS
PROCEDENCIA : PARCELA DE INVESTIGACIÓN - FIARR - UNAC
FECHA DE RECEPCIÓN : 2015-03-05
FECHA DE FINITO DE ENSAYOS : 2015-03-05
MUESTREADO POR : EL CLIENTE

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C.	Unidades
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH DRO (C ₁₀ -C ₂₈)	EPA 8015 C, Rev 3, Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007	1.77	mg/kg
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₂₈)	EPA 8015 C, Rev 3, Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007	1.77	mg/kg

L.C.: Límite de cuantificación.

II. RESULTADOS

Producto declarado	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo
Matriz analizada	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo
Fecha de muestreo	2015-03-04	2015-03-04	2015-03-04	2015-03-04
Hora de inicio de muestreo (H)	15:13	15:25	15:58	15:30
Condiciones de la muestra	Conservada	Conservada	Conservada	Conservada
Código del Cliente	CO	CO1	CO2	CO3
Código del Laboratorio	1503283	1503284	1503285	1503286
Ensayos	Unidades	Resultados		
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH DRO (C ₁₀ -C ₂₈)	mg/kg	11519	18982	16546
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₂₈)	mg/kg	6298	8433	7625
Producto declarado	Suelo			
Matriz analizada	Suelo			
Fecha de muestreo	2015-03-04			
Hora de inicio de muestreo (H)	16:00			
Condiciones de la muestra	Conservada			
Código del Cliente	CO4			
Código del Laboratorio	1503287			
Ensayos	Unidades	Resultados		
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH DRO (C ₁₀ -C ₂₈)	mg/kg	11029		
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₂₈)	mg/kg	5637		

Resultados de suelo en base seca

César Antonio Poma Pardo
GERENTE GENERAL - SAG S.A.C.
C.D.P. N° 219

III. PERIODO DE CONSERVACIÓN DE MUESTRAS:

Ensayo	Tiempo de preservación
TPH	14 días

Lima, 16 de Marzo del 2015

Cod: F102 / Versión: 04 / FE: 04/07/12

* El servicio indicado se ha sido analizado por INDECOPI/SNA

ISE: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (ISEW) APHA-18th Ed. 2012 - EPA-816. Environmental Protection Agency - ASTM: American Society for Testing and Materials - NTP: Norma Técnica Peruana de Clasificación de Suelos. Este período de conservación permite a todo el presente documento a menos que sea expreso la autorización expresa de Servicios Analíticos Generales S.A.C. Solo es válido para las muestras referidas en el presente informe. Los resultados serán emitidos de acuerdo al periodo de preservación del parámetro analizado en un máximo de 30 días calendario de haber ingresado la muestra al laboratorio. Página 1 de 1

NOTA: 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.

Av. Naciones Unidas N° 1585 Chorrillos Ríos Norte - Lima 01 - Perú Central Telefónica: 511-425-7227-4-425-6886 - FPG: 994878442 Fax: 511-425-7133
Website: www.sagperu.com E-mail: sagperu@sagperu.com, laboratorio@sagperu.com

4.5. Concentración TPH F2 y F3 en unidades de análisis a los 30 días.



SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.S.
SAC

LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR
EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INDECOPI - SNA
CON REGISTRO N° LE-047.



Registro N° LE - 047

**INFORME DE ENSAYO N° 09986-2015
CON VALOR OFICIAL**

RAZÓN SOCIAL : DQ ASESORIA & CONSULTORIA E.I.R.L.
DOMICILIO LEGAL : CALLE CANCER N° 1111 URB. MERCURIO - LOS OLIVOS - LIMA
SOLICITADO POR : SR. ANGELO GERÓNIMO URRUTIA
REFERENCIA : ANÁLISIS DE SUELOS
PROCEDENCIA : PLANTA FIARN
FECHA DE RECEPCIÓN : 2015-03-19
FECHA DE INICIO DE ENSAYOS : 2015-03-19
MUESTREO POR : EL CLIENTE

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C.	Unidades
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH DRO (C ₁₀ -C ₂₈)	EPA 8015 C, Rev 3, Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007	1.77	mg/kg
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₂₈)	EPA 8015 C, Rev 3, Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007	1.77	mg/kg

L.C.: límite de cuantificación.

II. RESULTADOS

Producto declarado	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo
Matriz analizada	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo
Fecha de muestreo	2015-03-19	2015-03-19	2015-03-19	2015-03-19
Hora de inicio de muestreo (h)	11:20	11:25	11:25	11:30
Condiciones de la muestra	Conservada	Conservada	Conservada	Conservada
Código del Cliente	C0	C1	C2	C3
Código del Laboratorio	15031059	15031060	15031061	15031062
Ensayos	Unidades	Resultados		
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH DRO (C ₁₀ -C ₂₈)	mg/kg	11816.00	14645.00	14812.00
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₂₈)	mg/kg	7494.00	8725.00	9247.00
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH DRO (C ₁₀ -C ₂₈)	mg/kg	8727.00		
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₂₈)	mg/kg	5455.00		

Resultados de suelo en base seca

III. PERIODO DE CONSERVACIÓN DE MUESTRAS:

Ensayo	Tiempo de preservación
TPH	14 días

Lima, 31 de Marzo del 2015

[Firma]
Culim. Belbéth Y. Fajardo León
Director Técnico
C.Q.P. N° 648
Servicios Analíticos Generales S.A.C.

COP: F102 / Versión: 04 / F.C.: 04/2012

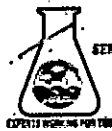
* El método utilizado es el que acreditado por INDECOPI SNA.

EN: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (SM/WW)-APHA-AWWA-WEF 22nd Edition 2012 - EPA - US Environmental Protection Agency - ASTM American Society for Testing and Materials - NTP: Norma Técnica Peruana OSELEVACIONES. Está prohibida la reproducción parcial o total del presente documento a menos que sea bajo la autorización expresa de Servicios Analíticos Generales S. A. C. Sólo es válido para las muestras recibidas en el presente laboratorio. Las muestras están almacenadas de acuerdo al periodo de preservación del parámetro analizado con un máximo de 30 días calendario de inicio de la muestra al laboratorio.

NOTA: 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.

Av. Naciones Unidas N° 1565 Chacra Ries Norte - Lima 01 - Perú Central Telefónica: 511-425-5222 / 425 8886 JRPC: 89467842. Huancayo: 80-489*1133
Website: www.sagperu.com E-mail: sagperu@sagperu.com, laboratorio@sagperu.com

4.6. Concentración TPH F2 y F3 en unidades de análisis a los 60 días.



SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.
SAG

LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR
EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACION
INDECOPI - SNA
CON REGISTRO N° LE-047



Registro N° LE - 047

**INFORME DE ENSAYO N° 091515-2015
CON VALOR OFICIAL**

RAZÓN SOCIAL : DQ ASESORÍA & CONSULTORÍA E.I.R.L.
DOMICILIO LEGAL : CALLE CANCER N° 1111 URB. MERCURIO - LOS OLIVOS - LIMA
SOLICITADO POR : SR. ANGELO GERÓNIMO URRUTIA
REFERENCIA : ANÁLISIS DE SUELOS
PROCEDENCIA : PLANTA FIARR
FECHA DE RECEPCIÓN : 2015-04-16
FECHA DE INICIO DE ENSAYOS : 2015-04-16
MUESTREADO POR : EL CLIENTE

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C.	Unidades
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH DRD (C ₁₀ -C ₂₆)	EPA 8015 C, Rev 3, Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007	1,77	mg/kg
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₂₆)	EPA 8015 C, Rev 3, Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007	1,77	mg/kg

L.C.: límite de cuantificación.

II. RESULTADOS

Producto declarado	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo
Matriz analizada	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo
Fecha de muestreo	2015-04-15	2015-04-15	2015-04-15	2015-04-15
Hora de inicio de muestreo (h)	04:48	04:56	05:26	05:46
Condiciones de la muestra	Conservada	Conservada	Conservada	Conservada
Código del Cliente	C0	C1	C2	C3
Código del Laboratorio	1504773	1504774	1504775	1504776
Ensayos	Unidades	Resultados		
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH DRD (C ₁₀ -C ₂₆)	mg/kg	11708.00	14977.00	14350.00
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₂₆)	mg/kg	6485.00	7706.00	6933.00
				5556.00
Producto declarado	Suelo			
Matriz analizada	Suelo			
Fecha de muestreo	2015-04-16			
Hora de inicio de muestreo (h)	4:36			
Condiciones de la muestra	Conservada			
Código del Cliente	C4			
Código del Laboratorio	1504777			
Ensayos	Unidades	Resultados		
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH DRD (C ₁₀ -C ₂₆)	mg/kg	8779.00		
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₂₆)	mg/kg	5141.00		

Resultados de suelo en base seca

III. PERIODO DE CONSERVACIÓN DE MUESTRAS:

Ensayo	Tiempo de conservación
TPH	14 días

Lima, 28 de Abril del 2015

[Signature]
Quim. Belbeth Y. Fajardo León
Director Técnico
C.Q.P. N° 648
Servicios Analíticos Generales S.A.C.

Doc. F-02 / Versión: 04 / F.E: 04/2012

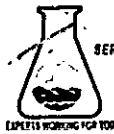
* El método indicado no ha sido certificado por INDECOPI/SNA

EN: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (SM/WW)-APHA-18th-ED-1992. EPA: U.S. Environmental Protection Agency - ASTM: American Society for Testing and Materials - NTP: Norma Técnica Peruana 002/2004-C023. Cada muestra de referencia tendrá a su vez el protocolo documentado o norma que sea la subsecuente según el Servicio Analítico Operativo S.A.C. Sólo se validó para los ensayos referidos en el presente informe. Las muestras están conservadas en cámara de refrigeración del laboratorio analizando con un máximo de 30 días contados desde haber ingresado la muestra al laboratorio.

NOTA: 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.

Av. Naciones Unidas N° 1885 Chacra Ríos Norte - Lima 01 - Perú. Central Telefónica: 511-425-7227 / 425-6835. RPC: 084876442 Nextel: 88-109*1133
Website: www.sagperu.com E-mail: sagperu@sagperu.com, laboratorio@sagperu.com

4.6. Concentración TPH F2 y F3 en unidades de análisis a los 60 días.



SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES SAG

LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN INDECOPI - SNA CON REGISTRO N° LE-047



INFORME DE ENSAYO N° 091515-2015 CON VALOR OFICIAL

RAZÓN SOCIAL : DQ ASESORÍA & CONSULTORÍA E.I.R.L.
 DOMICILIO LEGAL : CALLE CANCER N° 1111 URB. MERCURIO - LOS OLIVOS - LIMA
 SOLICITADO POR : SR. ANGELO GERÓNIMO URRUTIA
 REFERENCIA : ANÁLISIS DE SUELOS
 PROCEDENCIA : PLANTA FTAJAH
 FECHA DE RECEPCIÓN : 2015-04-16
 FECHA DE INICIO DE ENSAYOS : 2015-04-16
 MUESTREO POR : EL CLIENTE

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C.	Unidades
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH DRD (C ₁₀ -C ₂₅)	EPA 8015 C, Rev 3, Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007	1,77	mg/kg
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₂₅)	EPA 8015 C, Rev 3, Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007	1,77	mg/kg

L.C.: límite de cuantificación.

II. RESULTADOS

Producto declarado	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo
Matriz analizada	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo
Fecha de muestreo	2015-04-15	2015-04-15	2015-04-15	2015-04-15
Hora de inicio de muestreo (h)	04:48	04:56	05:26	05:46
Condiciones de la muestra	Conservada	Conservada	Conservada	Conservada
Código del Cliente	C0	C1	C2	C3
Código del Laboratorio	1504773	1504774	1504775	1504776
Ensayos	Unidades	Resultados		
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH DRD (C ₁₀ -C ₂₅)	mg/kg	11708.00	14977.00	14360.00
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₂₅)	mg/kg	6485.00	7706.00	6933.00
5556.00				
Producto declarado	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo
Matriz analizada	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo
Fecha de muestreo	2015-04-16			
Hora de inicio de muestreo (h)	4:36			
Condiciones de la muestra	Conservada			
Código del Cliente	C4			
Código del Laboratorio	1504777			
Ensayos	Unidades	Resultados		
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH DRD (C ₁₀ -C ₂₅)	mg/kg	8779.00		
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₂₅)	mg/kg	5141.00		

Resultados de suelo en base seca

III. PERIODO DE CONSERVACIÓN DE MUESTRAS:

Ensayo	Tiempo de preservabilidad
TPH	14 días

[Signature]
 Quim. Beibeth Y. Fajardo León
 Director Técnico
 C.O.P. N° 648
 Servicios Analíticos Generales S.A.C.


Lima, 29 de Abril del 2015

Cod: R.02 / Versión: 04 / F.E. 04/2012


* El método indicado en los datos analizados por INDECOPI S.A.
 SV: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (SM/WW), APHA/AWWA/WEF 22nd Edition 2012 - EPA, U.S. Environmental Protection Agency - ASTM American Society for Testing and Materials - NTP, Instituto Tecnológico Peruano
 OBSERVACIONES: Este protocolo de reproducción permite a los usuarios obtener resultados a partir de los datos de laboratorio de Servicios Analíticos Generales S.A.C. Este es un servicio para las muestras referidas en el presente informe. Los métodos están sujetos a cambios de acuerdo al protocolo de procedimientos de laboratorio autorizado con un máximo de 30 días calendario de haber ingresado la muestra al laboratorio. Página 1 de 1

NOTA: Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como evidencia del sistema de calidad de la entidad que lo produce.
 Av. Naciones Unidas N° 1565 Chacra Ríos Norte - Lima 01 - Perú Central Telefónica: 511-425-7227 / 425 6885 RPC: 994976442 Nextat: 98-109-1133
 Website: www.sagperu.com E-mail: sagperu@sagperu.com, laboratorio@sagperu.com

4.7. Concentración TPH F2 y F3 en unidades de análisis a los 90 días (C1 y C2).



LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR
EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INDECOPI - SNA
CON REGISTRO N° LE-047



**INFORME DE ENSAYO N° 092190-2015
CON VALOR OFICIAL**

RAZÓN SOCIAL	CARMEN VASQUEZ SILVA
DONDE LEO LEGAL	SOL-HERA 1942 URB. MERCURIO LOS OLIVOS
SOLICITADO POR	SITA CARMEN VASQUEZ SILVA
REFERENCIA	INVESTIGACIÓN DE REMEDIACIÓN DE SUELOS
PROVENIENCIA	PARCELA FIARU
FECHA DE RECEPCIÓN	2015-05-29
FECHA DE INICIO DE ENSAYOS	2015-05-29
MUESTREO POR	SOLICLENTE

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	LC	Unidades
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH DRO (C ₁₀ -C ₂₅)	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007	157	mg/kg
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₂₅)	EPA 8015 C, Rev 3. Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007	157	mg/kg

L.C.: límite de cuantificación.

II. RESULTADOS

Producto declarado	Suelo	Suelo
Muestra analizada	Suelo	Suelo
Fecha de muestreo	2015-05-16	2015-05-16
Hora de inicio de muestreo (h)	10:15	10:30
Condiciones de la muestra	Conservada	Conservada
Código del Cliente	C1	C2
Código del Laboratorio	15051893	15051894


Ensayos	Unidades	Resultados
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH DRO (C ₁₀ -C ₂₅)	mg/kg	14121
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₂₅)	mg/kg	5779

Resultados de suelo en base seca

III. PERIODO DE CONSERVACIÓN DE MUESTRAS:

Ensayo	Tiempo de preservación
TPH	14 días

Lima, 06 de Junio del 2015

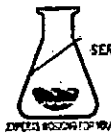

Quim. Belbeth Y. Fajardo León
 Director Técnico
 C.O.P. N° 648
 Servicios Analíticos Generales S.A.C.

El presente informe es emitido por INDECOPI. Este informe es válido para el uso que se le indique en el momento de su emisión y no garantiza la exactitud de los datos presentados. El presente informe es válido por un periodo de 90 días desde la fecha de emisión. Página 1 de 1

NOTA: Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del laboratorio de calidad de la entidad que lo emite.

Av Naciones Unidas s/n 1565 Chaca Rios Norte - Lima 01 - Perú Central Telefónica: 511-425-7227 / 425 6885 RPC: 994978442 Natel: 98-108*1133 Website: www.sagperu.com Email: sagperu@sagperu.com, laboratorio@sagperu.com

4.8. Concentración TPH F2 y F3 en unidades de análisis a los 90 días (C3).



SERVICIOS ANALÍTICOS GENERALES S.A.C.
SAG

LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR
EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INDECOPÍ - SNA
CON REGISTRO N° LE-047



Registro N° LE - 047

**INFORME DE ENSAYO N° 091934-2015
CON VALOR OFICIAL**

RAZÓN SOCIAL	: CARMEN VÁSQUEZ SILVA
DOMICILIO LEGAL	: JR. LIBRA 1043 U.P.O. HERCULEO LOS OLIVOS
SOLICITADO POR	: SRTA. CARMEN VÁSQUEZ SILVA
REFERENCIA	: INVESTIGACIÓN DE REMEDIACIÓN DE SUELOS
PROCEDENCIA	: PARCELA FIARRI
FECHA DE RECEPCIÓN	: 2015-05-15
FECHA DE INICIO DE ENSAYOS	: 2015-05-15
MUESTREADO POR	: EL CLIENTE

I. METODOLOGÍA DE ENSAYO:

Ensayo	Método	L.C.	Unidades
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH DFO (C ₁₀ -C ₂₈)	EPA 8015 C, Rev 3, Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007	1.77	mg/kg
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₂₈)	EPA 8015 C, Rev 3, Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007	1.77	mg/kg

L.C.: límite de cuantificación.

II. RESULTADOS

Producto declarada	Suelo	Suelo
Muestra analizada	Suelo	Suelo
Fecha de muestreo	2015-05-15	2015-05-15
Hora de inicio de muestreo (h)	11:23	11:40
Condiciones de la muestra	Conservada	Conservada
Código del Cliente	C3	C4
Código del laboratorio	1505791	1505792
Ensayos	Unidades	Resultados
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH DFO (C ₁₀ -C ₂₈)	mg/kg	11212
Hidrocarburos totales de petróleo - TPH (C ₁₀ -C ₂₈)	mg/kg	4154

Resultados de suelo en base seca

III. PERIODO DE CONSERVACIÓN DE MUESTRAS:

Ensayo	Tiempo de preservación
TPH	14 días

Lima, 25 de Mayo del 2015

[Firma]
Quim. Babeth Y. Fajardo León
Director Técnico
C.C.P. N° 648
Servicios Analíticos Generales S.A.C.





Cod. F02 / Versión: 04 / FE: 04/2012

* El método ensayado es de tipo acreditado por INDECOPÍ S.A.C.
EPA 8015 C, Rev 3, Nonhalogenated Organics by Gas Chromatography, 2007 - EPA: U.S. Environmental Protection Agency - ASTM: American Society for Testing and Materials - NTP: Norma Técnica Peruana
OBJETIVO: El presente informe tiene como finalidad informar al cliente sobre los resultados de los ensayos de laboratorio realizados en el laboratorio de Servicios Analíticos Generales S.A.C. Sobre los métodos para las muestras recibidas en el presente informe.
Los resultados serán comunicados al cliente a través de la plataforma de gestión de información de laboratorio o a través de un correo electrónico a la dirección de correo electrónico del cliente.

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

Av. Naciones Unidas N° 1563 Chocoma Ríos Norte - Lima 01 - Perú Central Telefónica: 511-425-7227 / 425 6885 RPC: 994978442 Nextel: 98-105*1133
Website: www.sagperu.com E-mail: sagperu@sagperu.com, laboratorio@sagperu.com

4.10. Caracterización fisicoquímica de unidades de análisis al término del tratamiento (C3).

		UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA FACULTAD DE AGRONOMIA - DEPARTAMENTO DE SUELOS LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES																			
ANALISIS DE SUELOS : CARACTERIZACION																					
Solicitante : CARMEN VASQUEZ												Provincia : RIOJA									
Departamento : SAN MARTIN												Predio :									
Distrito :												Fecha : 22/05/15									
Referencia : H.R. 49766-049C-15												Boll: 12058									
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 %	Arcillo %			Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	Al ³⁺ + H ⁺				meq/100g
5739	C-3	4.54	0.35	0.00	5.97	5.7	27	63	20	11	Fr.A.	12.00	2.56	0.47	0.19	0.05	0.50	3.78	3.28	27	
<p>A = Arena ; A.Fr. = Arena Franca ; Fr.A. = Franco Arenoso ; Fr. = Franco ; Fr.L. = Franco Limoso ; L = Limoso ; Fr.Ar.A. = Franco Arcillo Arenoso ; Fr.Ar. = Franco Arcilloso ; Fr.Ar.L. = Franco Arcillo Limoso ; Ar.A. = Arcillo Arenoso ; Ar.L. = Arcillo Limoso ; Ar. = Arcilloso</p>																					
Número de Muestra		N %																			
Lab	Claves																				
5739	C-3	0.17																			
  Sedy García Bendezy Jefe del Laboratorio																					
Av. La Molina s/n Campus UNALM - Telf.: 614-7800 Anexo 222 Telefax: 349-5622 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe																					