

BIORREMEDIACIÓN DE SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS EMPLEANDO LODOS RESIDUALES COMO FUENTE ALTERNA DE NUTRIENTES

Adriana MARTÍNEZ-PRADO^{1*}, Ma. Elena PÉREZ-LÓPEZ², Joaquín PINTO-ESPINOZA¹, Blanca Amelia GURROLA-NEVÁREZ¹ y Ana Lilia OSORIO-RODRÍGUEZ¹

¹Instituto Tecnológico de Durango, Blvd. Felipe Pescador # 1830 Ote. Col. Nueva Vizcaya, C. P. 34080, Durango, Dgo., México. *Autor responsable: adriana.martinez@orst.edu

²Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (IPN-CIIDIR) Unidad Durango, Sigma 119, Fracc. 20 de Noviembre, C. P. 34220, Durango, Dgo., México.

(Recibido junio 2010, aceptado enero 2011)

Palabras clave: biorremediación, hidrocarburos del petróleo, suelos contaminados, nutrientes

RESUMEN

En la presente investigación se evaluó el proceso de biorremediación aeróbica de un suelo contaminado con hidrocarburos de petróleo empleando lodos residuales (biosólidos), provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) domésticas de la localidad, como fuente alterna de macro y micronutrientes. La contaminación del suelo fue resultado de derrames accidentales de diesel, aceite y grasas en la unidad minera San Antonio perteneciente al grupo Goldcorp México, ubicada en el municipio de San Dimas, en Tayoltita, Durango. Se realizaron experimentos a escala laboratorio y piloto, ajustados a capacidad de campo y a una relación carbono:nitrógeno (C:N) = 10:1, en los cuales se evaluaron el efecto de la adición de nutrientes, la densidad del material a remediar y la influencia del tamaño de la partícula en el proceso de degradación. Se demostró 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. Los hidrocarburos fueron empleados como fuente de carbono y de donador de electrones, acoplando la reacción de óxido-reducción con el oxígeno que fungió como aceptor de electrones. El suelo sometido a remediación aeróbica alcanzó el límite máximo permisible (LMP) establecido en la normatividad mexicana vigente (NOM-138-SEMARNAT/SS-2003) en los experimentos realizados a ambas escalas y se propone como alternativa para que la empresa minera cumpla con el programa Industria Limpia, al que está adscrita de manera voluntaria.

Keywords: bioremediation, contaminated soils, nutrients, petroleum hydrocarbons

ABSTRACT

In this research an aerobic bioremediation process, of a petroleum hydrocarbon contaminated soil, was evaluated using residual sludge (biosolids) from a local domestic wastewater treatment plant, as an alternative micro and macro nutrient source. Contamination of the soil resulted from accidental spills with hydrocarbons, mainly diesel, gasoline, and residual oils, from the San Antonio mining unit which belongs to Goldcorp México Company, located in Tayoltita, from the municipality of San Dimas, Durango.

Laboratory and pilot experiments were conducted, adjusting soil water content to field capacity and carbon:nitrogen (C:N) ratio to 10:1, evaluating the effect of addition of nutrients, density of the material being remediated, and the influence of soil particle size in the remediation process. It was demonstrated that the biosolids stimulated the native microorganisms of the polluted soil; consequently the hydrocarbon degradation process was accelerated. The hydrocarbons were used as carbon and electron donor source, coupling the oxidation-reduction reaction with oxygen which served as the electron acceptor. Treated soil was remediated and reached the maximum permissible limit (MPL), established in the Mexican current regulations (NOM-138-SEMARNAT/SS-2003), at both stages, and it is recommended as an optional process to the mining company to fulfill with the Clean Industry Program.

INTRODUCCIÓN

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

En México, y como consecuencia de varios siglos de actividad minera, la industria de la química básica, petroquímica y de refinación del petróleo, han producido grandes cantidades de residuos peligrosos difíciles de cuantificar. Se sabe que en 1999, de acuerdo a cifras publicadas por el INEGI-INE (2000), los sitios contaminados, aún en las estimaciones más conservadoras, ascendían a varios miles de lugares y éstos eran equivalentes a 25 967 km² de superficie de suelo degradado.

La actividad minera del estado de Durango ocupa uno de los primeros lugares a nivel nacional. Dentro de sus empresas mineras destaca la mina San Antonio, con un área aproximada de 261.56 km², perteneciente al grupo Goldcorp México y se ubica en el municipio de San Dimas, en Tayoltita, Durango.

En 1995, la mina ingresó al programa de Auditoría Ambiental y como resultado de la misma se detectó suelo natural contaminado con hidrocarburos, cerca de 800 toneladas, el cual fue confinado en un almacén. Lo anterior debido al mantenimiento propio de la maquinaria y equipos dentro de la empresa. Para resolver este problema la empresa buscó asesoría para establecer una tecnología de remediación que fuera sencilla, flexible, de bajo costo y que permitiera alcanzar los niveles aceptables en la normatividad mexicana vigente (SEMARNAT 2003, Gurrola-Nevárez 2008, Osorio-Rodríguez 2010).

Existen numerosas tecnologías de remediación de suelos contaminados y de acuerdo a Volke y Velasco (2002) se pueden agrupar en 3 tipos: a) biológicos (biorremediación, bioestimulación, fitorremediación, biolabranza, etc.), en donde las actividades metabólicas de ciertos organismos permiten la degradación, transformación o remoción de los contaminantes a productos metabólicos inocuos; b) fisicoquímicos (electrorremediación, lavado, solidificación/estabilización, etc.), aquí se toma ventaja de las propiedades físicas y químicas de los contaminantes para destruir, separar o contener la contaminación; y c) térmicos (incineración, vitrificación, desorción térmica, etc.), en los cuales se utiliza calor para promover la volatilización, quemar, descomponer o inmovilizar los contaminantes en un suelo.

La biorremediación puede emplear organismos autóctonos del sitio contaminado o de otros sitios (exógenos), puede realizarse *in situ* o *ex situ*, en condiciones aerobias (en presencia de oxígeno) o anaerobias (sin oxígeno). Aunque no todos los compuestos orgánicos son susceptibles a la biodegradación, los procesos de biorremediación se han usado con éxito para tratar suelos, lodos y sedimentos contaminados con hidrocarburos del petróleo, solventes, explosivos, clorofenoles, pesticidas, conservadores de madera e hidrocarburos aromáticos policíclicos, en procesos aeróbicos y anaeróbicos (Leahy y Colwell 1990, Dott *et al.* 1995, Dragun y Barkach 2000, Semple *et al.* 2001, Wan *et al.* 2002, Volke y Velasco 2003, Boopathy 2004, Rivera-Espinoza y Dendooven 2004, Lee *et al.* 2007).

Además se ha incursionado en el desarrollo de tecnologías emergentes e innovadoras tales como la fitorremediación, electrorremediación y electrobiorremediación, en donde si bien es cierto hoy en día la información es limitada, la investigación desarrollada respalda su uso y se encuentra cobrando auge (de la Rosa-Pérez *et al.* 2007, Olguín *et al.* 2007, Unzueta-Medina 2010).

Sin duda muchas son las alternativas reportadas como exitosas, pero para seleccionar la tecnología de remediación adecuada se debe tener en consideración: a) características del sitio, b) tipo de contaminante, concentración y características fisicoquímicas, c) propiedades fisicoquímicas y tipo de suelo a tratar y d) costo (Volke y Velasco 2002).

Por otra parte, los lodos residuales o biosólidos son el subproducto resultante del tratamiento biológico de las aguas domésticas, que cuando no se tiene un plan de manejo de los mismos causan impacto al ambiente y a la salud de la población (SEMARNAT 2002) y por tal motivo son considerados como residuos peligrosos (SEMARNAT 2005). Sin embargo estos lodos residuales, cuando no contienen sustancias tóxicas, pueden ser compostados y ser usados para mejorar la calidad de los suelos y estimular a la población microbiana para que promueva la degradación de contaminantes orgánicos, ya que son ricos en materia orgánica, macro y micro nutrientes. Además, los lodos residuales contienen una alta diversidad microbiana, mucho más grande que la de cualquier suelo fértil.

Ya que los microorganismos son los agentes primarios de la degradación de contaminantes orgánicos en el suelo, una premisa es que al incrementar la densidad microbiana en un suelo contaminado, se puede también acelerar la degradación de los contaminantes orgánicos como los hidrocarburos (Wan *et al.* 2002, Lee *et al.* 2007).

De acuerdo a lo anterior, el proceso más ampliamente usado es la biorremediación y la variable a controlar es la bioestimulación de los microorganismos nativos del suelo a través de la adición de nutrientes (fuente alterna). Tal aseveración está basada en el hecho de que la entrada de grandes cantidades de carbono (hidrocarburos) perturba el balance natural de nutrientes en el sistema ocasionando una rápida disminución de otros, como el nitrógeno y el fósforo, y con ello se reduce o detiene la tasa de crecimiento bacteriano.

Como ya se mencionó, los lodos residuales contienen grandes concentraciones de nitrógeno inorgánico, fósforo y materia orgánica, lo que los hace ideales para estimular la actividad microbiana del suelo. Los lodos residuales pueden ser usados como fuente alterna de macro y micro nutrientes y al estimular la actividad microbiana se logrará una mayor degradación de los hidrocarburos presentes en el suelo, siempre y cuando la concentración de patógenos, metales pesados y compuestos orgánicos tóxicos sea baja (Rivera-Espinoza y Dendooven 2003). Dicha práctica resulta benéfica para el ambiente, dándole

un uso a lo que comúnmente se ha venido manejando como un desecho.

La biorremediación es un proceso de mineralización, al que también se le conoce como composteo. Dicho proceso es usado para estabilizar los lodos residuales y del cual se obtiene el humus como producto, mismo que funge como mejorador de las características físicas de un suelo (Haug 1980). Lo que resulta de la combinación de suelo con hidrocarburo y lodos residuales es un suelo mejorado en sus características físicas y sin el contaminante, apto para ser usado en cualquier actividad agrícola.

Con base en dichos antecedentes y para resolver el problema de suelo contaminado de la mina, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar al proceso aeróbico de biorremediación como sistema de tratamiento, considerando para esto el uso de lodos residuales como fuente alterna de nutrientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para evaluar el efecto de los lodos residuales de una planta tratadora de aguas residuales de la localidad, como fuente alterna de nutrientes, en la biorremediación de un suelo contaminado con hidrocarburos, procedente de una unidad minera, se establecieron pruebas a nivel laboratorio en dos etapas y una más a escala piloto.

Lo anterior se realizó a través de diseños experimentales que evaluaron el efecto de la adición de lodos frescos y mineralizados, como fuente alterna de nutrientes, a una relación C:N de 10:1; la densidad del material a remediar, la cual se modificó a través de la adición de vermiculita (material inerte) como agente corrector y se contrastó con el efecto de los lodos; así como la influencia del tamaño de la partícula en el proceso de degradación. Todos los tratamientos se mantuvieron a capacidad de campo del mismo (Gurrola-Nevárez 2008, Osorio-Rodríguez 2010).

Procedencia del suelo a tratar

El suelo contaminado a remediar provino de los talleres del grupo Goldcorp México (antes Luismin S. A. de C. V.), Unidad Minera San Antonio, en el municipio de San Dimas Tayoltita, en el estado de Durango, México. El muestreo fue efectuado por la propia empresa y enviado hasta las instalaciones del IPN-CIIDIR en la Ciudad de Durango, en donde se realizaron las pruebas experimentales.

Procedencia de los lodos

Los lodos residuales (biosólidos) empleados

fueron recolectados de la planta tratadora de aguas residuales (PTAR) del Club Campestre de Durango A. C., ubicada al sur de la ciudad. En la etapa a nivel laboratorio se emplearon lodos frescos, mientras que en la escala piloto se usaron los mismos lodos recolectados pero ya mineralizados, por el tiempo transcurrido (2 a 14 meses). Tanto el suelo como los lodos fueron tamizados con una malla de 2 mm antes de ser usados en los diferentes tratamientos.

Análisis realizados

La biorremediación es producto de la actividad aeróbica bacteriana y para ello es necesario establecer sus requerimientos nutricionales y físicos, de aquí que el material empleado en la formulación de los tratamientos fue caracterizado con base en lo siguiente:

Lodos residuales: Coliformes fecales (CF), materia orgánica (MO), nitrógeno total (N_T), contenido de carbono, humedad y densidad (ρ). Cabe mencionar que los lodos residuales son considerados como residuos peligrosos, por el alto contenido de coliformes fecales que contienen, entre otras cosas (SEMARNAT 2002, SEMARNAT 2005).

Suelo a remediar: pH, conductividad eléctrica (CE), concentración de hidrocarburos (como hidrocarburos totales de petróleo, [HTP]), materia orgánica, capacidad de campo (CC), textura, sólidos fijos, cuenta estándar de microorganismos mesofílicos, contenido de carbono, humedad y coliformes fecales.

La concentración de hidrocarburos del petróleo se determinó empleando la técnica TNRCC Method 1005 (TNRCC 2001), cuantificado como concentración de hidrocarburos totales del petróleo en matrices sólidas y acuosas, usando cromatografía de gases con detector de ionización de flama (Gurrola-Nevárez 2008).

Para determinar el pH y la CE, se pesaron 10 g de muestra y se mezclaron con 90 mL de agua purificada; la muestra se agitó constantemente durante 1 h y posteriormente se realizó la medición de pH y CE del extracto. Los medidores se calibraron según las especificaciones del fabricante.

Todos los análisis se realizaron de acuerdo al procedimiento establecido por el método estándar de análisis (APHA 2005).

Relación carbono-nitrógeno

Para que los microorganismos trabajen de manera adecuada deben tener a su disposición una buena cantidad y relación de nutrientes (macro y micro). La más importante es la de carbono:nitrógeno, por

ser macronutrientes, la cual para procesos de biorremediación va de 10:1 a 30:1. Aunque con relaciones mayores la atenuación natural ocurre a velocidades menores, gracias a bacterias fijadoras de nitrógeno, según informan Acuña *et al.* (2008). Tomando como base que una baja relación C:N ofrece mayores velocidades de degradación, los tratamientos a evaluar en este trabajo se establecieron a una relación de 10:1 empleando nutrientes inorgánicos.

Pruebas de degradabilidad

Las pruebas de degradabilidad se hicieron partiendo de la consideración de que los nutrientes encontrados en los biosólidos (lodos residuales) estimularían a los microorganismos nativos presentes en el suelo contaminado, bajo condiciones aeróbicas para efectuar la degradación de los hidrocarburos totales de petróleo presentes en el mismo. Para que esto no fuera motivo de variación entre los tratamientos se igualó la relación de C:N a 10:1, excepto los controles, con solución de medio mineral (SMM) y fertilizante (sulfato de amonio). Se realizaron pruebas a escala laboratorio (2 etapas) y una piloto como se resume en la **figura 1** y se describe a continuación.

Escala laboratorio

Primera etapa

Para establecer la influencia de los microorganismos de los lodos en la biorremediación éstos se usaron de dos formas: esterilizados (en una autoclave a 120 °C y una atmósfera de presión, por 15 minutos) y sin esterilizar.

De acuerdo a lo anterior se establecieron 4 tratamientos (por triplicado), el diseño de experimentos se muestra en el **cuadro I** y la formulación de los mismos en el **cuadro II**. Los tratamientos se evaluaron en matrices de 1 kg en frascos limpios de vidrio de 2 L, se taparon con torundas de algodón envueltas en gasa para permitir el paso del aire y todos a capacidad de campo.

La capacidad de campo es la cantidad de agua óptima, retenida en contra de la gravedad sin anegar el sistema, que necesitan los microorganismos para su metabolismo y depende de la formulación de la matriz. Para mejorar la humedad en la incubadora se introdujo una charola con agua y se mantuvo a nivel constante a lo largo del experimento.

Cada tres días, por un periodo de 50 días, se monitoreó pH, CE, contenido microbiano y concentración de HTP, a cada una de las matrices. La relación carbono:nitrógeno (C:N) fue de 10:1; elegido con base en la revisión bibliográfica (Rivera-Espinoza y Dendooven 2003, Acuña *et al.* 2008).

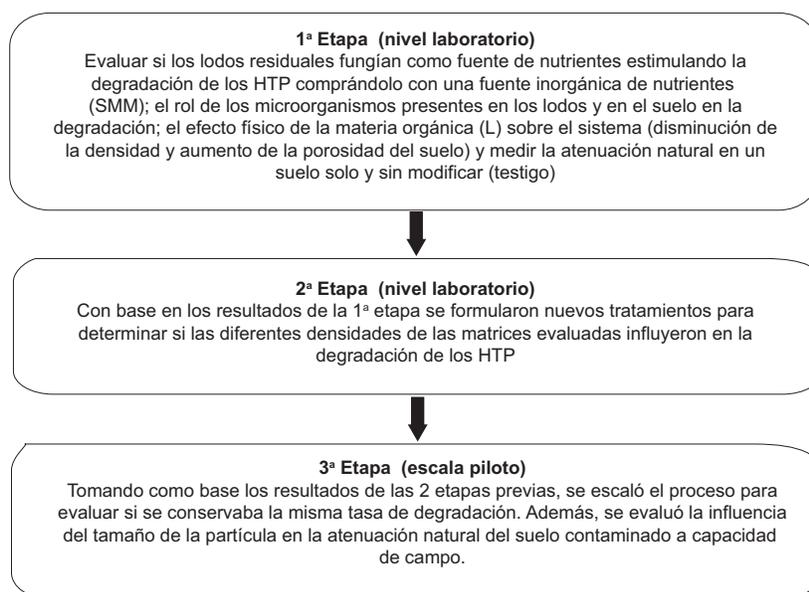


Fig. 1. Definición de las variables evaluadas en las tres etapas experimentales

CUADRO I. DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS PARA CADA UNA DE LAS ETAPAS

1ª Etapa (nivel laboratorio) 1 kg masa total. Incubada a 30 °C y mantenidas a capacidad de campo durante 50 días			2ª Etapa (nivel laboratorio) 6 kg masa total. Incubada a 30 °C y mantenidas a capacidad de campo (excepto LY1) durante 50 días		
Fuente de nutrientes	Tratamientos	Evaluación	Fuente de nutrientes	Tratamientos	Evaluación
Sin nutrientes	LX1: SCC	Testigo (AN, ajustado a CC)	Sin nutrientes	LY1: S	AN (Sin ajustar a CC)
				LY2: SCC	Testigo (AN, ajustado a CC)
				LY3: SCC + V	Influencia de la vermiculita como modificador de densidad
Con nutrientes*	LX2: SCC + MM	Nutrientes de origen inorgánico	Con nutrientes*	LY4: SCC + L	Influencia de lodos como modificador de densidad
	LX3: SCC + LE	Con nutrientes y sin MO en lodos			
	LX4: SCC + L	Con nutrientes y con MO en lodos			
3ª Etapa (escala piloto) 150 kg masa total. Experimentación durante 75 días a temperatura ambiente y mantenidas a capacidad de campo					
Fuente de nutrientes	Tratamientos		Evaluación		
Sin nutrientes	P1: SCC		Testigo (AN, ajustado a CC) en suelo tamizado Influencia de la densidad en la degradación AN, ajustado a CC, en suelo sin tamizar		
	P3: SCC + V				
	P4: SCC + P				
Con nutrientes*	P2: SCC + LM + N		Efecto de los nutrientes en los lodos y el fertilizante		

* Relación C:N = 10:1; Suelo (S) Piedra (P) Medio mineral (MM) Lodo estéril (LE) Lodo sin esterilizar (L) Lodo mineralizado (LM) Vermiculita (V) Microorganismos (MO) Sulfato de Amonio (N) Atenuación natural (AN) Suelo a capacidad de campo (SCC)

CUADRO II. FORMULACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS A NIVEL LABORATORIO

Componente	1ª Etapa				2ª Etapa			
	LX1	LX2	LX3	LX4	LY1	LY2	LY3	LY4
Suelo, g	1000	1000	647	647	6000	6000	5280	2760
Lodos frescos, g	----	----	353	353	----	----	----	3240
Medio mineral, mL	----	200	----	----	----	----	----	----
Agua, mL	200	----	----	----	----	1080	1643	2276
Vermiculita, g	----	----	----	----	----	----	180	----

Ver descripción de los tratamientos en el **cuadro I**

Balance de nutrientes

Para cumplir la relación C:N = 10:1 en los tratamientos, excepto el testigo, se tomó en cuenta el contenido de nitrógeno y carbono en el suelo y en los lodos, los cálculos correspondientes se realizaron haciendo uso de la Ecuación 1 propuesta por Tchobanoglous (1993):

$$\frac{g \text{ C en el Suelo} + g \text{ C en el Lodo}}{g \text{ N en el Suelo} + g \text{ N en el Lodo}} = 10 \quad (1)$$

Para establecer la relación C:N en el tratamiento de suelo sin lodos se utilizó medio mineral (MM). El MM se preparó agregando a un litro de agua 2 g de nitrato de amonio (NaNO_3), 1.5 g de fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4), 1.5 g de fosfato de potasio dibásico (K_2PO_4), 0.5 g de sulfato de magnesio heptahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 1 g de cloruro de sodio (NaCl) y 1 mL de solución ferroácido etilendiaminotetraacético (3.6 mM FeCl_3 + 50 mM EDTA) (Unzueta-Medina 2010). Dado que al mismo tiempo se debía ajustar la humedad, el MM se concentró tanto como fue necesario.

Segunda etapa

Se establecieron 4 tratamientos de acuerdo con el diseño de experimentos (**Cuadro I**). Consistieron en matrices de 6 kg en recipientes rectangulares de plástico; cada uno se dividió en tres secciones iguales, empleando una malla plástica con el fin de tomarlas como replicas (triplicado).

La humedad se mantuvo constante agregando a cada tratamiento la cantidad de agua que se perdía por evaporación, la cual se determinó por diferencia de peso de cada una de las unidades experimentales. El contenido de agua varía según la capacidad de campo de cada matriz, por lo que cada tratamiento se ajustó a su propia capacidad de campo, evitando así la anegación del material. Cabe destacar que al disminuir la densidad, la porosidad del sistema aumenta

y con ello es más eficiente la aireación (presencia de oxígeno). La formulación de los tratamientos se describe en el **cuadro II**.

Escala piloto

Se escaló el proceso a nivel piloto (25 veces) tomando como base los resultados de los estudios de la segunda etapa a nivel laboratorio (Gurrola-Nevárez 2008). Debido a que el material se tamizó, excluyéndose gravas y piedras impregnadas de hidrocarburos, se incluyó un tratamiento independiente (P4) de 6 kg, similar a las matrices evaluadas en la segunda etapa (**Cuadro I**). Lo anterior con la finalidad de evaluar la influencia del tamaño de la partícula en la atenuación natural del suelo contaminado a capacidad de campo.

La formulación de los tratamientos propuestos se resume en el **cuadro III**, los cálculos se hicieron considerando satisfacer la relación C:N = 10:1, capacidad de campo (% de humedad) y densidad.

CUADRO III. FORMULACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS A ESCALA PILOTO

Componente	P1	P2	P3	P4
Suelo (S), kg	150	125	146.25	4.62
Lodos mineralizados (LM), kg	----	25	----	----
Vermiculita (V), kg	----	----	3.75	----
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (N), kg	----	4.95	----	----
Agua, mL	18.12	36.69	23.85	0.78
Piedra (P), kg	----	----	----	1.38

Ver descripción de los tratamientos en el **cuadro I**

Balance de nutrientes

Los balances se realizaron de acuerdo a lo establecido en las pruebas de laboratorio pero en este caso empleando un fertilizante comercial, sulfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, por su facilidad de manejo, en vez del MM. Dicho fertilizante es de naturaleza química con fórmula N-K-P, 21 % de nitrógeno y

24 % de azufre, de color café pardo y en forma de cristales en la presentación estándar.

Para cumplir la relación C:N = 10:1 se tomó en cuenta el contenido de nitrógeno en los lodos, en el fertilizante y en el suelo, así como el contenido de carbono en el suelo y en los lodos, haciendo uso de la Ecuación 2 como a continuación se detalla (Tchobanoglous 1993):

$$\frac{\text{kg C en el suelo} + \text{kg C en el lodo}}{\text{kg N en el suelo} + \text{kg N en el lodo} + x (\text{kg N en fertilizante})} = 10 \quad (2)$$

La formulación de cada tratamiento fue pesada, homogeneizada perfectamente y colocada en tres bastidores de madera de dimensiones de 100 x 96 x 14 cm, debidamente identificadas.

La toma de la muestra se realizó cada tres días de manera aleatoria empleando el método de cuarteo, para así obtener una muestra representativa de 100 g. En cada toma el material era mezclado de forma manual, haciendo uso de una pala para proporcionar una distribución uniforme.

Se monitorearon las características físicas, químicas y microbiológicas de cada una de las matrices cada 72 horas, durante los primeros 50 días de experimentación; posteriormente se tomó una muestra por semana durante 25 días más.

Análisis de la información

Los datos obtenidos, a nivel laboratorio y piloto, se normalizaron y con ello se establecieron las ciné-

ticas de degradación. Las diferencias entre las velocidades de degradación fueron validadas mediante un análisis de pendientes separadas y la prueba de medias Newman-Keuls a una $\alpha = 0.05$, utilizando el software STATISTICA versión 7[®] (StatSoft Inc. 2004).

Para establecer el peso de la variación encontrada es común usar los valores de F y p en estadística. A mayor valor de F mayor es el soporte para decir que existen diferencias significativas entre los tratamientos. Por otra parte, p es el valor de probabilidad, esto se interpreta al revés, entre menor es el valor (ej: 0.00001) implica la posibilidad de estar equivocado cuando se dice que son diferentes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Es importante destacar que se trabajó con dos lotes de suelo contaminando enviados por la empresa minera. Dichos lotes fueron diferentes en contenido de HTP y textura.

El primer lote contenía $51\,191 \pm 2746$ mg HTP kg^{-1} suelo (ppm), mientras que en el segundo fue de 1752 ± 46 mg HTP kg^{-1} suelo. El primero se utilizó en los experimentos a escala laboratorio y el segundo en la escala piloto. El lote de suelo empleado en la escala piloto estuvo muy por debajo del límite máximo permisible (LMP) establecido por la norma para suelo de uso industrial (5000 mg HTP kg^{-1} suelo). Aún así se decidió trabajar con este suelo para evaluar la alternativa de tratar un suelo

CUADRO IV. CARACTERIZACIÓN DE SUELO SOMETIDO A TRATAMIENTO

Parámetro	Nivel laboratorio	Escala piloto
HTP (mg HTP kg^{-1} de suelo seco)	$51\,191 \pm 2746$	1752 ± 46
Cuenta estándar de mesófilos (UFC g^{-1} suelo)	38600	108
Coliformes fecales (UFC g^{-1} suelo)	170	1500
Materia orgánica % base seca (cenizas)	9.43 ± 0.59	12.15 ± 0.23
Contenido de carbono (% base seca)	5.24 ± 0.33	7.03 ± 0.98
Humedad (%)	1.92 ± 0.29	1.65 ± 0.17
Capacidad de campo (%)	14.83 ± 1.83	12 ± 0.07
Textura	Areno limoso: % de arena = 81.28 % de limos = 15.28 % de arcilla = 3.44	Franco arenoso: % de arena = 78.72 % de limos = 18.36 % de arcilla = 2.92
pH	6.96 ± 0.044	8.46 ± 0.14
Conductividad eléctrica ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	516 ± 9	302.5 ± 16.37

HTP: Hidrocarburos totales de petróleo; UFC: Unidades formadoras de colonias

que pudiera ser destinado para fines agrícolas, cuyo LMP es de 1200 mg HTP kg⁻¹ suelo.

Caracterización del suelo

El suelo contaminado sometido a tratamiento procedió de 2 lotes diferentes, los resultados obtenidos en la caracterización se detallan en el **cuadro IV**.

CUADRO V. CARACTERIZACIÓN DE LODOS A ESCALA LABORATORIO

Parámetro	1ª Etapa	2ª Etapa
Nitrógeno total (%)	5.72	2.00
Materia orgánica (%)	34.92	27.50
Contenido de carbono (%)	19.40	15.29
Humedad (%)	89.66	7.39
Densidad (kg L ⁻¹)	1.7508	0.958
Coliformes fecales (UFC g ⁻¹)	143456.00	-----

Caracterización de los lodos residuales (biosólidos)

Escala laboratorio: Se utilizó un solo lote de lodos para todos los experimentos considerados en las 2 etapas a nivel laboratorio, pero con diferentes tiempos de madurez. En la primera etapa se usó el lodo recién generado (fresco) y en la segunda etapa se emplearon los lodos remanentes que permanecieron a la intemperie por dos meses. Los resultados se presentan en el **cuadro V**.

Escala Piloto: Para esta etapa los lodos estaban mineralizados, con una madurez de 14 meses, por lo que fueron caracterizados de nuevo, los resultados están en el **cuadro VI**.

CUADRO VI. CARACTERIZACIÓN DE LODOS A ESCALA PILOTO

Parámetros	Valor
pH	7.57 ± 0.05
Conductividad eléctrica, (μS cm ⁻¹)	385.00 ± 12.58
Contenido de nitrógeno, (%)	1.57 ± 0.02
Contenido de carbono, (%)	33.75 ± 2.58
Materia orgánica, (%)	39.95 ± 0.84
Densidad (g mL ⁻¹)	0.3942 ± 0.02
Humedad, (%)	9.25 ± 0.56
Coliformes fecales, (UFC g ⁻¹ suelo)	1900
Cuenta estándar de mesófilos, (UFC g ⁻¹ suelo)	104 000
Capacidad de campo, (%)	21.48 ± 1.37

Pruebas de degradabilidad

Los resultados obtenidos se normalizaron, debido a que las diferentes formulaciones modificaron el conte-

nido de hidrocarburos. En otras palabras, a tiempo cero los tratamientos contenían diferentes concentraciones de hidrocarburos debido a la formulación de los mismos. De tal forma que se cuantificó el porcentaje de HTP removidos con respecto a la concentración inicial en cada matriz, para así comparar las eficiencias de remoción alcanzadas por los tratamientos.

Escala laboratorio

Se monitoreó CE, pH, HTP y microorganismos mesofílicos cada tres días, por triplicado y durante 50 días; así como la cantidad de coliformes fecales al inicio del experimento y hasta que alcanzaron el límite máximo permisible por la norma NOM-004-SEMARNAT-2002 (SEMARNAT 2002).

Primera etapa: Las cinéticas de degradación a lo largo de 50 días no mostraron diferencias estadísticas significativas entre ellas ($F = 0.51554$ y $p = 0.67252$). Esto indica que todos los tratamientos mostraron la misma velocidad en la degradación del hidrocarburo; pero al compararse las cinéticas de 0 a 18 días, entonces sí existieron diferencias significativas ($F = 7.382$, $p = 0.0108$) entre ellos, además de un comportamiento lineal correspondiente a una reacción de primer orden.

De acuerdo con lo anterior los mejores tratamientos fueron los que contenían lodos residuales con una remoción de $78.9 \pm 1.70\%$ (LX3: suelo a capacidad de campo + lodo estéril) y del $82.3 \pm 3.21\%$ (LX4: suelo a capacidad de campo + lodo sin esterilizar), contra $68.53 \pm 5.82\%$ (LX1: suelo a capacidad de campo) y de $69.79 \pm 5.76\%$ (LX2: suelo a capacidad de campo + MM) (**Fig. 2**). De aquí que el mejor tratamiento fue LX4, sin embargo no se logró alcanzar el LMP establecido por la normatividad (SEMARNAT 2003).

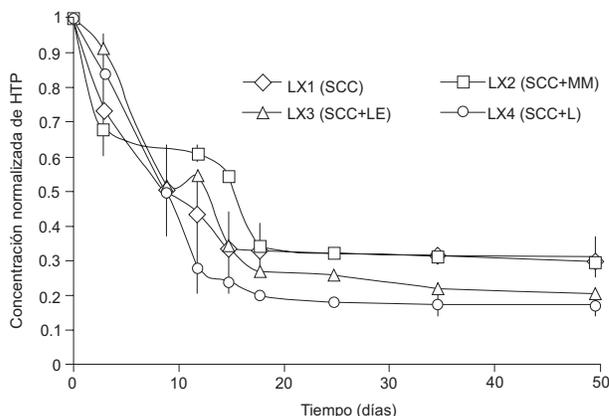


Fig. 2. Comparación de la degradación de HTP escala laboratorio: 1ª Etapa, las barras indican la desviación estándar entre las 3 repeticiones de cada punto

En el pH se observó un incremento de aproximadamente 2 unidades (pH final entre 8 y 8.5) en todos los tratamientos. El rango recomendado para una buena degradación aeróbica de hidrocarburos en el suelo oscila entre 5 y 9, con un óptimo de 7 (Dragun y Barkach 2000).

En relación a la CE, el tratamiento formulado con MM (LX2) presentó valores 4 veces mayor que en los otros tres tratamientos (LX1, LX3 y LX4) como era de esperarse por la presencia de sales en el medio. Sin embargo los valores no fluctuaron a lo largo de los 50 días de experimentación.

La adición de nutrientes en los biosólidos estimuló a los microorganismos nativos del suelo contaminado. Estos degradaron a los hidrocarburos, empleándolos como fuente de carbono y donador de electrones, en un proceso aeróbico al utilizar al oxígeno como aceptor de electrones.

Segunda etapa: La degradación de los HTP fue monitoreada a lo largo de 50 días, encontrándose que las diferencias entre las cinéticas de remoción fueron estadísticamente significativas ($F = 163.391$ y $p = <0.01$). Además, el análisis de las pendientes de las curvas (ANOVA de una vía), para los datos de 0 a 18 días, mostraron una tendencia lineal con una tasa de utilización de primer orden, indicando que también existieron diferencias significativas ($F = 134.65$ y $p = <0.01$).

El tratamiento con mayor pendiente (tasa de utilización de sustrato o remoción) fue el correspondiente a LY3 (suelo a capacidad de campo + vermiculita), lo cual confirma la influencia que tiene la baja densidad de la matriz, lo que propicia un intercambio de aire (oxígeno) mayor. Sin embargo cabe resaltar que el porcentaje de degradación fue menor que el alcanzado en LY4.

El tratamiento LY1, suelo sin ajustar a capacidad de campo, fue empleado como testigo de atenuación natural y la concentración de HTP permaneció prácticamente constante a lo largo del experimento (7.59 ± 2.24 %).

De nueva cuenta, el tratamiento de suelo a capacidad de campo (LY2) presentó una remoción considerable (59.78 ± 3.43 %); lo cual indica que existió suficiente transferencia de oxígeno hacia la matriz de suelo por no estar anegado, permitiendo que los microorganismos degradaran los hidrocarburos de forma natural y sin ayuda de fuentes alternas de nutrientes.

En LY3 (suelo a capacidad de campo + vermiculita) se alcanzó una remoción del 80.34 ± 1.43 %; atribuible a la influencia que tiene el haber modifi-

cado la densidad de la matriz, lo que permitió una mayor difusión de oxígeno.

Por último, el mejor tratamiento fue LY4 (suelo a capacidad de campo + lodos sin esterilizar); se alcanzó el LMP establecido por la norma ($5000 \text{ mg HTP kg}^{-1}$ suelo) con un 93 ± 3.25 % de remoción. Se considera que los microorganismos fueron estimulados gracias a la adición de los nutrientes presentes en los biosólidos como fuente alterna, demostrándose el éxito del proceso de remediación. La concentración final del tratamiento LY4 fue de $1789 \pm 840 \text{ mg HTP kg}^{-1}$ de mezcla en base seca. El comportamiento de los porcentajes de remoción de HTP se observa en la **figura 3**.

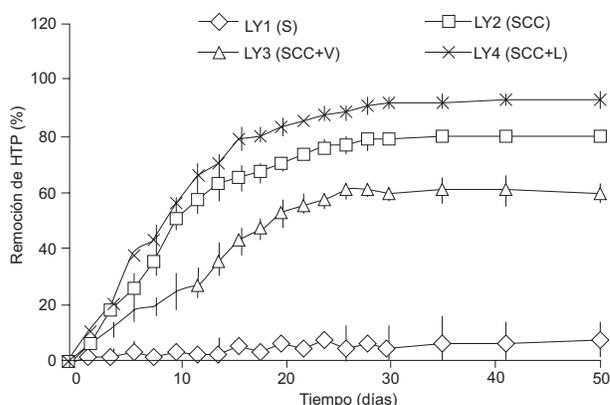


Fig. 3. Remoción (%) de hidrocarburos escala laboratorio: 2ª Etapa, las barras indican la desviación estándar entre las 3 repeticiones de cada punto

El pH y la CE ($500 \mu\text{S cm}^{-1}$) mantuvieron el mismo comportamiento que en la primera etapa.

Escala piloto

Esta prueba se efectuó tomando como base los resultados de la 2ª etapa experimental a nivel laboratorio. Se hizo el escalamiento a 25 veces el material tratado con respecto a la segunda etapa a nivel laboratorio y se evaluó el efecto de los nutrientes, la humedad y la densidad del material a remediar en la degradación de los hidrocarburos a la misma relación de C:N (10:1). Se utilizó un testigo correspondiente al proceso de atenuación natural y la influencia del tamaño de partícula del material. La humedad de todos los tratamientos se ajustó a la CC propia de la matriz a evaluar.

El análisis de los resultados indicó que los tratamientos P1 (suelo a capacidad de campo) y P3 (suelo a capacidad de campo + vermiculita) fueron estadísticamente iguales con un porcentaje de remoción muy similar, de 67 ± 1.19 % y 66 ± 1.06 %, respectivamente. El tratamiento P2 (suelo a capacidad

de campo + lodos mineralizados + fertilizante) fue diferente estadísticamente con una remoción del $58 \pm 2.68 \%$. En la **figura 4** se observan las cinéticas de remoción de las diferentes formulaciones.

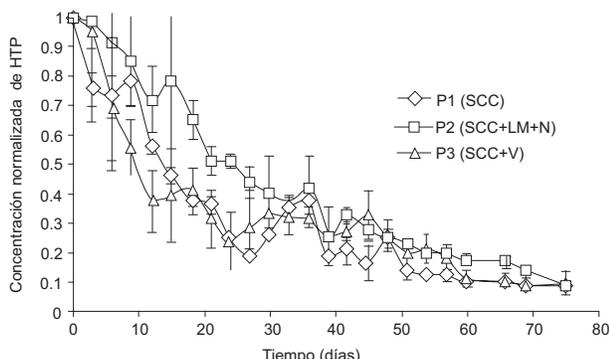


Fig. 4. Comportamiento de la concentración normalizada de HTP en el proceso aeróbico de biorremediación a escala piloto, las barras indican la desviación estándar entre las 3 repeticiones de cada punto

En el tratamiento P4 (suelo a capacidad de campo + piedra), en donde solamente se evaluó la influencia del tamaño de partícula (suelo sin tamizar) se logró una remoción de $33 \pm 1.78 \%$; mismo que no fue analizado estadísticamente por la diferencia de escala en la masa tratada (**Cuadro I**).

Se presentó una ligera disminución del pH en los tratamientos a lo largo del experimento, oscilando entre un rango de 7 y 8. La CE en los tratamientos P1 y P3 fue muy similar, del orden de $300 \mu\text{S cm}^{-1}$, permaneciendo constante a lo largo de los 75 días; mientras que para P2 inició con valores de $4500 \mu\text{S cm}^{-1}$ y finalizó con $3500 \mu\text{S cm}^{-1}$.

Es importante destacar que la concentración de HTP del lote de suelo sometido a tratamiento en la tercera etapa fue muy bajo, $1752 \pm 46 \text{ mg HTP kg}^{-1}$ de suelo, comparado con el nivel de concentración del suelo remediado en la escala laboratorio. Esto indica que el suelo confinado en el almacén de la empresa minera procede de distintos puntos y que la concentración no es homogénea.

Con el fin de respaldar los resultados de la degradación de HTP, en ambas escalas, se enviaron muestras de suelo contaminado a analizar al laboratorio certificado ALS Laboratory Group. Los resultados fueron muy similares a los encontrados en los análisis propios.

Comparación con otros autores

De acuerdo con Lee *et al.* (2007), la adición de nutrientes tales como nitrógeno y fósforo en una relación de C:N:P que va desde 100:10:1 hasta 500:10:1 a suelos contaminados con hidrocarburos, incrementa

la velocidad de remoción de dichos contaminantes, lo cual fue comprobado en el presente trabajo. Estos autores obtuvieron entre un 42 y 51 % de remoción en el suelo contaminado con HTP después de 105 días, agregándole un fertilizante al suelo contaminado, mientras que el valor de atenuación natural fue de 18 % después del mismo periodo.

En el presente trabajo se logró mayor porcentaje de remoción en tratamientos de suelo de características similares. El suelo fertilizado se puede comparar al suelo + medio mineral ($69.79 \pm 5.7 \%$ de remoción) y en atenuación natural se obtuvo un $7.59 \pm 2.24 \%$. Lee *et al.* (2007) trabajaron con volúmenes menores de suelo contaminado, proporcionándole menor aireación y sin ajustar a capacidad de campo. Las variaciones pueden deberse al cambio en esos factores.

Wan *et al.* (2001) realizaron un experimento en el cual mejoraron la degradación de hidrocarburos agregando materiales orgánicos, entre ellos lodos residuales. Ellos encontraron que la mejor relación suelo:lodo residual fue del 1:0.5 en base húmeda (sin tomar en cuenta la relación C:N), obteniendo una remoción superior al 98 %, mientras que para suelo solo, obtuvieron un 65 % de remoción. Esto se puede deber a diferencias en los tratamientos, ya que en dicho experimento, se mantuvieron los tratamientos a aireación constante. Ellos encontraron que la cinética de degradación de HTP es bien descrita por una ecuación de primer orden, especialmente para los primeros 15 días. En la presente investigación se confirman dichos resultados.

CONCLUSIONES

El proceso de biorremediación aerobia de suelo contaminado con hidrocarburos de petróleo, a nivel laboratorio y piloto, alcanzó tasas de remoción del 66 al 93 %, donde el mejor tratamiento fue el que contenía lodos residuales (biosólidos) como fuente alterna de nutrientes. La mineralización o madurez de los lodos influyó en la tasa de remoción de hidrocarburos, entre más frescos mayor remoción. La densidad fue también un factor importante para aumentar el porcentaje de degradación.

Mantener los suelos a capacidad de campo y con aireación constante es también un buen estimulante de la flora nativa y permitió remociones entre el 60 y 70 %, lo cual es una buena alternativa cuando no existen plantas de tratamientos de aguas residuales cerca a los sitios contaminados.

Con base en un análisis de los resultados, se determinó que tanto la presencia de nutrientes, como

la densidad y la cantidad de agua disponible, fueron factores que ayudaron a la remoción de los HTP; sin embargo, fue la mezcla de estos tres factores la que mejores resultados brindó, lográndose al agregar los biosólidos al suelo contaminado.

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

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por Fondos Mixtos Durango (Clave: DGO-2006-CO1-44107), por la DGEST (Clave: 915.09-P), por el grupo minero Goldcorp México (Usuario), ITD e IPN-CIIDIR. Beca de estudios de maestría por CONACyT México y beca de licenciatura del programa incorporación de estudiantes a la investigación (DGEST).

REFERENCIAS

- Acuña A.J., Pucci O.H. y Pucci G.N. (2008) Caracterización de un proceso de biorremediación de hidrocarburos en deficiencia de nitrógeno en un suelo de Patagonia Argentina. *Ecosistemas* 17, 85-93.
- APHA (2005). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 21ª ed. American Public Health Association. Washington, EUA.
- Boopathy R. (2004). Anaerobic biodegradation of no. 2 diesel fuel in soil: a soil column study. *Bioresource Technol.* 94, 143-151.
- de la Rosa-Pérez D.A., Teutli-León M.M.M. y Ramírez-Islas M.E. (2007). Electrorremediación de suelos contaminados, una revisión técnica para su aplicación en campo. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 23, 129-138.
- Dott W., Feidieker D., Steiof M., Becker P.M. y Kampfer P. (1995). Comparison of ex situ and in situ techniques for bioremediation of Hydrocarbon-polluted soils. *Int. Biodet. Biodegrad.* 35, 301-316.
- Dragun J. y Barkach J.H. (2000). Overview: *Fate of Petroleum in Soil systems*. En: *Assessment and remediation of oil contaminated soils*. Arab School on Science and Technology. State of Kuwait. 18-22 March 1995. Amherst, MA: Amherst Scientific Publications.
- Gurrola-Nevárez B.A. (2008). Tratamiento de un suelo de la industria minera contaminado con hidrocarburos, empleando lodos residuales como fuente alterna de nutrientes: Biorremediación a nivel piloto. Tesis de Maestría. Departamento de Ingenierías Química y Bioquímica. Instituto Tecnológico de Durango. Durango, México, 151 pp.
- Haug, R. T. (1980). *Compost engineering, principles and practice*. Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, Michigan.
- INEGI-INE (2000). Indicadores de Desarrollo Sustentable en México. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática e Instituto Nacional de Ecología. México, DF. 213 pp.
- Leahy J.G. y Colwell R.R. (1990). Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiol. Rev.* 54, 305-315.
- Lee S.H., Lee S., Kim D.Y. y Kim J.G. (2007). Degradation characteristics of waste lubricants under different nutrient conditions. *J. Hazard. Mater.* 143, 65-72.
- Olguín E.J., Hernández M.E. y Sánchez-Galván G. (2007). Contaminación de manglares por hidrocarburos y estrategias de biorremediación, fitorremediación y restauración. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 23, 139-154.
- Osorio-Rodríguez A.L. (2010). Biorremediación a nivel piloto de un suelo contaminado con hidrocarburos del petróleo empleando lodos compostados como fuente alterna de nutrientes. Tesis de Licenciatura. Departamento de Ingenierías Química y Bioquímica. Instituto Tecnológico de Durango. Durango, México, 118 pp.
- Rivera-Espinoza Y. y Dendooven L. (2004). Dynamics of carbon, nitrogen and hydrocarbons in diesel-contaminated soil amended with biosolids and maize. *Chemosphere* 54, 379-386.
- SEMARNAT (2002). Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002. Protección ambiental. Lodos y biosólidos. Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. Diario Oficial de la Federación. 15 de Agosto de 2003.
- SEMARNAT (2003). Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2003. Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación. Diario Oficial de la Federación. 29 de Marzo de 2005.
- SEMARNAT (2005). Norma Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005. Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y listados de los residuos peligrosos. Diario Oficial de la Federación. 23 de Junio de 2006.
- Semple K.T., Reid B.J. y Fermor T.R. (2001). Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. *Environ. Pollut.* 112, 269-283.

- STATISTICA (2004). Data analysis software system, version 7[®]. StatSoft, Inc. Tulsa, OK., EUA.
- Tchobanoglous G.T.H. y Vigil S. (1993). *Integrated solid waste management. Engineering principles and Management Issues*. Mc. Graw-Hill. Singapore. 684-704, 992 pp.
- TNRCC Method 1005 (2001). Texas Natural Resource Conservation Commission. Total Petroleum Hydrocarbons. Revision 03, 26 pp. Texas, EUA.
- Unzueta-Medina J. (2010). Tratamiento de suelo contaminado con HTP's en un sistema de electrobiorremediación con recirculación. Tesis de Maestría. Departamento de Ingenierías Química y Bioquímica. Instituto Tecnológico de Durango. Durango, México. 204 pp.
- Volke T. y Velasco J. (2002). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados*. Instituto Nacional de Ecología, México, 64 pp.
- Volke T. y Velasco J. (2003). Biodegradación de hidrocarburos del petróleo en suelos intemperizados mediante composteo. Centro Nacional de Investigación y Capacitación Ambiental INE-SEMARNAT. 34 pp.
- Wan N., Hwang E.Y., Park J.S. y Choi J.Y. (2002). Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting. *Environ. Pollut.* 119, 23-31.