



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**Biorremediación de suelos contaminados  
con hidrocarburos utilizando harina de  
sangre y composta como bioestimulantes**

**TESIS**

Que para obtener el título de

**Ingeniero Geólogo**

**P R E S E N T A**

Guillermo Salvador Herrera Díaz

**DIRECTORA DE TESIS**

Mtra. Ana Alejandrina Castro Rodríguez



Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2019

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres Salvador y Patricia, por brindarme todo lo necesario para poder llegar hasta donde estoy, pero sobre todo por su cariño, confianza y por siempre creer en mí. Los amo.

A mi hermano Enrique, por ser un ejemplo para mí, por su cariño y porque a pesar de nuestras diferencias sabemos que siempre contaremos el uno con el otro. Te amo.

A mi abuelita Genoveva, mi gran amor, gracias por todo su cariño. La amo.

A mi tía Irma, mis primos Brandon, Jazmín, Víctor, y a los demás miembros de mi familia por su cariño y apoyo a lo largo de este camino. Los amo.

A mis amigos de la prepa, Fer, Andrés, Dalia, Lego, Govea, Manzanita y Sonia, porque a pesar de haber tomado caminos separados, siempre me mostraron su apoyo.

A Angel, Alana, Vic, Brenda, Diana, David, Marianito, Ro, Luis y Giss. Más que amigos se convirtieron en mi segunda familia. La carrera no hubiera sido igual sin ustedes. Los quiero.

A la UNAM y a la Facultad de Ingeniería, espero algún día regresarles un poco de lo mucho que me dieron.

A Ariadna Mendoza por apoyarme en todo durante mis cinco años de carrera, siempre tendrás un lugar en mi corazón. Te quiero.

A mi asesora la Mtra. Alejandrina, por la confianza, paciencia, cariño y por todo el conocimiento que me brindo para poder cumplir este logro.

A la Doctora Rosario Iturbe, por la confianza y los conocimientos que me brindo en la elaboración de este trabajo.

A la Doctora Lilia Corona y Karen Ponce, por la ayuda, paciencia y conocimientos que me brindaron en los análisis microbiológicos, pero, sobre todo por aguantarme día a día compartiendo cubículo.

A la Química Adriana Ramírez, por la ayuda, paciencia y conocimientos que me brindo en los análisis químicos.

A cada miembro del grupo de trabajo de saneamiento de suelos y acuíferos que colaboró para que pudiera desarrollar de la mejor manera este trabajo.

A mis demás sinodales el Dr. Antonio Hernández Espriú, M.I. José Santos Jallath, Dr. Francisco Martín Romero, por sus comentarios y correcciones, los cuales ayudaron a mejorar la calidad de este trabajo.

# Índice

<b>RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>2</b>
<b>CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>3</b>
<b>CAPÍTULO 2. OBJETIVOS.....</b>	<b>5</b>
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	5
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	5
<b>CAPÍTULO 3. ANTECEDENTES .....</b>	<b>6</b>
3.1 ZONA DE ESTUDIO .....	11
<b>CAPITULO 4. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>13</b>
4.1. CONTAMINACIÓN .....	13
4.1.1. <i>Contaminación del Suelo</i> .....	13
4.2. HIDROCARBUROS .....	14
4.2.1 <i>Alcanos</i> .....	14
4.2.2 <i>Alquenos</i> .....	14
4.2.3 <i>Alquinos</i> .....	14
4.2.4 <i>Aromáticos</i> .....	15
4.2.5 <i>Poliaromáticos</i> .....	15
4.3 TÉCNICAS DE REMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS .....	16
4.3.1 <i>Biorremediación</i> .....	17
4.3.2 <i>Importancia de la materia orgánica del suelo para la biorremediación</i> .....	20
4.3.3 <i>Harina de Sangre (Blood Meal) como fuente de nutrientes</i> .....	20
4.3.4 <i>Composta como fuente de nutrientes</i> .....	21
4.4 BIODEGRADACIÓN DE LOS HIDROCARBUROS.....	21
<b>CAPÍTULO 5. METODOLOGÍA .....</b>	<b>23</b>
5.1 CARACTERIZACIÓN DEL SUELO .....	25
5.1.1 <i>Porosidad</i> .....	26
5.1.2 <i>pH</i> .....	26
5.1.3 <i>Capacidad de campo</i> .....	26
5.1.4 <i>Granulometría</i> .....	27
5.1.5 <i>Conteo de bacterias</i> .....	29
5.2 CARACTERIZACIÓN DE LOS BIOESTIMULANTES.....	30
5.3 EXPERIMENTO 1.....	30
5.4 EXPERIMENTO 2.....	31
5.5 EXPERIMENTO 3.....	33
<b>CAPÍTULO 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>35</b>
6.1 CARACTERIZACIÓN DEL SUELO.....	35
6.2 CARACTERIZACIÓN DE LA HARINA DE SANGRE .....	37
6.3 CARACTERIZACIÓN DE LA COMPOSTA.....	37
6.4 EXPERIMENTO 1.....	38

6.5 EXPERIMENTO 2.....	39
6.5.1 <i>Experimentación con harina de sangre</i> .....	39
6.5.2 <i>Experimentación con composta</i> .....	43
6.6 EXPERIMENTO 3.....	49
<b>CAPITULO 7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>57</b>
7.1 CONCLUSIONES .....	57
7.2 RECOMENDACIONES .....	58
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>59</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>62</b>

## Índice de figuras

Figura 3.1 Emergencias Ambientales por Estado.....	7
Figura 3.2 Pasivos Ambientales por Estado.....	8
Figura 5.1 Diagrama de flujo de los experimentos realizados.....	24
Figura 5.2 Ro-Tap y juego de mallas utilizados para el análisis granulométrico.....	28
Figura 5.3 a) Tubo de ensaye en agitación con solución salina y suelo; b) Cultivo de la solución en cajas petri con agar .....	30
Figura 5.4 Charolas numerados del 1 al 12 utilizados en el experimento 2.....	32
Figura 5.5 Charolas utilizados durante el experimento 3.....	34
Figura 6.1 Crecimiento de bacterias en los suelos del experimento 2 con harina de sangre.....	40
Figura 6.2 Concentraciones de HFP durante el experimento 2 con harina de sangre.....	41
Figura 6.3 Concentraciones de HFM durante el experimento 2 con harina de sangre.....	41
Figura 6.4 Remoción de HFP experimento 2 con harina de sangre.....	43
Figura 6.5 Remoción de HFM experimento 2 con harina de sangre.....	43
Figura 6.6 Crecimiento de bacterias en los suelos del experimento 2 con composta.....	44
Figura 6.7 Concentración de HFP durante el experimento 2 con composta.....	45
Figura 6.8 Concentración de HFM durante el experimento 2 con composta.....	45
Figura 6.9 Remoción de HFP experimento 2 con composta.....	47
Figura 6.10 Remoción de HFM experimento 2 con composta.....	47
Figura 6.11 Crecimiento de bacterias en los suelos del experimento 3.....	49
Figura 6.12 Concentración de HFP durante experimento 3.....	51
Figura 6.13 Concentración de HFM durante experimento 3.....	51
Figura 6.14 Remoción de HFP experimento 3.....	53
Figura 6.15 Remoción de HFM experimento 3.....	53

## Índice de tablas

Tabla 3.1. Hidrocarburos a analizar de acuerdo con el producto contaminante.....	10
Tabla 3.2. Límite máximo permisible para fracciones de hidrocarburos en suelo.....	10
Tabla 3.3. Límites máximos permisibles para hidrocarburos específicos en suelo.....	11
Tabla 4.1 Ventajas y desventajas de las técnicas de acuerdo con el tipo de tratamiento.....	17
Tabla 5.1 Diagrama de flujo de los experimentos realizados.....	25
Tabla 5.2 Tiempo y temperatura de incubación requerido según el tipo de alimento y microorganismo.....	29
Tabla 5.3 Contenido de Charolas E-1.....	31
Tabla 5.4 Contenido de Charolas Iniciales E-2.....	32
Tabla 5.5 Contenido de Charolas E-2 cuando se les agregó más bioestimulante.....	33
Tabla 5.6 Contenido de Charolas E-3.....	34
Tabla 6.1 Resultados de la caracterización del suelo.....	35
Tabla 6.2 Resultados de granulometría de los dos perfiles.....	36
Tabla 6.3 Resultados de la caracterización de la harina de sangre.....	37
Tabla 6.4 Resultados de la caracterización de la composta.....	37
Tabla 6.5 Resultados conteo de bacterias de experimento 1.....	38
Tabla 6.6 Resultados de concentración y remoción de HFM en experimento 1.....	39
Tabla 6.7 Resultados pH experimento 2.....	48
Tabla 6.8 Concentración de HAP al final del experimento 3.....	54
Tabla 6.9 Porcentaje de remoción final de los suelos de los experimentos 2 y 3.....	55

## **RESUMEN**

En este trabajo se probó de manera experimental a nivel laboratorio, la técnica de biorremediación biolabranza en un suelo contaminado con hidrocarburos utilizando dos bioestimulantes, estos son la composta y la harina de sangre.

Se realizaron tres experimentos en charolas con diferentes características pero todos con el mismo tipo de suelo: en el primero se colocaron dos charolas con suelo y con una concentración diferente de harina de sangre cada una, sin aireación ni adición de agua; en el segundo, se puso suelo en cuatro charolas, dos de ellas con diferente concentración de harina de sangre, y las otras dos con diferente concentración de composta en cada una, todos estos con aireación diaria y adición semanal de agua; el tercero consistió en tres charolas con suelo, una de ellas con harina de sangre, otra con composta y la tercera con urea como tercer bioestimulante, estos con aireación diaria, adición semanal de agua y cumpliendo una proporción de C:N:P de 100:10:1.

Los resultados de estos experimentos muestran que tanto la harina de sangre como la composta incrementan la población de bacterias en el suelo y mejoran la remoción de hidrocarburos, excepto los poliarómicos. Además, existe mayor incremento en la población de bacterias en los experimentos en los que se realizó aireación y adición de agua.

## **ABSTRACT**

In this study, the bioremediation technique landfarming was tested experimentally at laboratory level in a soil contaminated with hydrocarbons using two biostimulants, these are the compost the blood meal.

Three experiments on trays with different characteristics but all with the same type of soil were carried out: in the first, two trays with soil and different concentrations of blood meal each one were placed, without aeration or addition of water; in the second, soil was placed in four trays, two of them with different concentrations of blood meal and the other two with different concentrations of compost each one, all with daily aeration and weekly addition of water; the third consisted of three trays with soil, one with blood meal, another with compost and the third with urea as third biostimulant, these with daily aeration, weekly addition of water and a ratio of C:N:P of 100:10:1.

The results of these experiments show that both the blood meal and the compost increase the population of bacteria in the soil and enhance the removal of the hydrocarbons, except the polyaromatics. Furthermore, there is a greater increase in the population of bacteria in the experiments in which aeration and addition of water was carried out.

## **CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN**

La cantidad de residuos y subproductos generados diariamente por la agricultura, la minería y la industria petrolera, se han incrementado considerablemente en los últimos tiempos. Esto ha afectado a cuerpos de agua superficiales, acuíferos y suelos

Las malas prácticas durante los procesos que se llevan a cabo en estos sectores, así como la falta de supervisión durante los mismos, han generado numerosos problemas de contaminación que ponen en riesgo a la salud humana y al medio ambiente.

México tiene una industria petrolera muy importante que comprende exploración, explotación, producción, refinación, almacenamiento y distribución de petróleo crudo y sus derivados (Iturbe et al., 2007).

Las afectaciones en el suelo van desde la exploración y explotación de pozos petroleros hasta la ocurrencia de siniestros; en México existen extensas áreas contaminadas con hidrocarburos del petróleo, debido principalmente a derrames (Cavazos et al., 2014). Existen muchas causas posibles de derrames de petróleo y sus derivados, entre ellos, el estado físico de las tuberías debido a su antigüedad, problemas de operaciones de mantenimiento y el robo de productos derivados como la gasolina y el diésel (Iturbe et al., 2007).

Es por eso que se han desarrollado diversas tecnologías de remediación para atender los problemas de contaminación de suelos y acuíferos, ya sean pasivos ambientales o emergencias ambientales, así como normatividad a nivel nacional e internacional para prevenir la contaminación de cualquier medio ya sea agua, aire y suelo.

En nuestro país la contaminación del suelo y agua causada por la explotación, refinación, distribución, almacenamiento y uso de combustibles fósiles se ha incrementado (Cavazos et al., 2014). Por tal motivo y debido a que el problema está presente en un amplio sector industrial, existen investigaciones sobre métodos de tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos. Las instituciones académicas del país y del extranjero, han desarrollado nuevas técnicas de tratamiento o han mejorado las existentes, para diversos tipos de suelo y de contaminantes.

Las técnicas de tratamiento de suelos se clasifican en tres tipos de procesos: biológicos, fisicoquímicos y térmicos (Iturbe, 2014). Cada una de estas se puede utilizar para la remediación de sitios contaminados con hidrocarburos, sólo que difieren principalmente en su eficiencia (tiempo y costo) debido a las características del suelo. Estos factores son los que al final determinan la técnica de remediación idónea para cada caso.

Los hidrocarburos se clasifican de acuerdo con su número de carbonos en hidrocarburos fracción pesada (HFP), hidrocarburos de fracción media (HFM), hidrocarburos de fracción ligera (HFL). Además, existen los hidrocarburos aromáticos polinucleares (HAP) y los BTEX que son los compuestos de la gasolina.

En este trabajo se probó un experimento, a nivel laboratorio, la técnica biológica de biorremediación en un suelo con muy alto contenido de hidrocarburos. Se decidió esta técnica debido a su bajo costo y a la oportunidad de probar un bioestimulante reciente. Los bioestimulantes son: composta que se produce en el sitio contaminado y harina de sangre que es un producto reciente con alto contenido orgánico, que ha mostrado buenos resultados principalmente para el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) (Wang et al., 2017).

El objetivo general de esta tesis es determinar la efectividad de la técnica de biorremediación de un suelo contaminado con hidrocarburos utilizando dos bioestimulantes (harina de sangre y composta). Probar el funcionamiento y efectividad de la harina de sangre y composta como bioestimulantes para la limpieza del suelo, comparar los resultados de ambos bioestimulantes en cuanto a crecimiento de bacterias autóctonas en el suelo y remoción de hidrocarburos fracción media (HFM), hidrocarburos fracción pesada (HFP) e hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), así como determinar cuál de estos dos es más recomendable para ser utilizado a escala piloto y en campo.

## **CAPÍTULO 2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo general**

Evaluar la eficiencia de la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos utilizando harina de sangre y composta como bioestimulantes a partir del crecimiento de bacterias y la remoción de hidrocarburos.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Evaluar la eficiencia de remoción de HFP, HFM e HAP usando harina de sangre y composta.
- Comparar el crecimiento de bacterias con cada bioestimulante.
- Evaluar la eficiencia de remoción de hidrocarburos con aireación y sin aireación.
- Determinar cuál de estos dos bioestimulantes (harina de sangre y composta) es más recomendable para ser utilizado a escala piloto y en campo.

### **CAPÍTULO 3. ANTECEDENTES**

México es un país con abundantes recursos mineros y petroleros, a lo largo de todo su territorio existen una gran cantidad de minas y campos petroleros de gran importancia para la economía de nuestro país. Sin embargo, las malas prácticas, usos, construcciones y demás aspectos relacionados directa e indirectamente con estos sectores hasta antes de la década de los 90, provocaron que los productos que se extraen y se trabajan lleguen a la atmósfera, suelos y aguas ya sean superficiales y/o subterráneas y las contaminen, provocando problemas en el ecosistema y en la salud de las personas.

La industria del petróleo es de las principales causantes de problemas de contaminación a nivel nacional, ya que durante las últimas décadas la industria del petróleo representa uno de los principales recursos económicos nacionales. En México desde hace más de tres siglos se han aprovechado los yacimientos petrolíferos del país (Industria Petrolera, marzo de 2012). Debido a esto y a la amplia variedad de actividades que lleva a cabo es que existe un alto riesgo de contaminación al ambiente.

Desde inicios del siglo XX las empresas petroleras se han encargado de la producción, transporte, refinación y venta de petróleo (Borda, 2006), y cada uno de estos procesos puede llegar a generar una fuente de contaminación. Ejemplos de estos se pueden dar durante la extracción en zonas de plataformas y pozos petroleros, durante el transporte siendo una de las más importantes las fugas en oleoductos causadas principalmente por el hombre, el desecho de residuos después y durante la refinación de los hidrocarburos del petróleo, así como los derrames de tanques de almacenamiento.

La Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) clasifica los sitios contaminados en dos tipos, el primero denominado emergencias ambientales, los cuales son atendidos en cuanto ocurre la contaminación del sitio a partir de determinado evento, que ocurre repentinamente y que tiene como resultado la liberación no controlada, incendio o explosión de unos o varios residuos peligrosos, los cuales afectan a la salud humana y al medio ambiente. El segundo tipo son los denominados pasivos ambientales, los cuales no fueron remediados a tiempo por lo que no se pudo impedir la extensión de los contaminantes, debido a esto, son de grandes dimensiones y con obligación de remediación (SEMARNAT, 2018).

Entre los años 2008 y 2017, se identificaron 1776 sitios contaminados por emergencias ambientales, de los cuales PEMEX tuvo responsabilidad en 416 sitios, debido al transporte en 1256 sitios, ferrocarriles en 224 y demás industrias en 80 sitios. Por tal motivo, los contaminantes involucrados en mayor número de emergencias ambientales fueron los hidrocarburos como la gasolina, el diésel, el petróleo crudo y el combustóleo. Así mismo, el estado que registró el mayor número de emergencias ambientales fue Veracruz con 112 (Figura 3.1) (SEMARNAT, 2018).



Figura 3.1 Emergencias Ambientales por Estado (SEMARNAT, 2018).

En cuanto a pasivos ambientales, en el año 2017 el Sistema Informático de Sitios Contaminados (SISCO) registró 623 sitios en todo el país, donde resaltan los estados de Veracruz, Querétaro, Guanajuato, Jalisco y Colima como los estados en que se encuentra mayor presencia de sitios identificados como pasivos ambientales; mientras que los estados de Tabasco, Baja California Sur, Hidalgo, Nayarit y Nuevo León presentaron la menor cantidad (Figura 3.2) (SEMARNAT, 2018).



Figura 3.2 Pasivos Ambientales por Estado (SEMARNAT, 2018).

Debido a la numerosa cantidad de emergencias y pasivos ambientales registrados en nuestro país la remediación de suelos y acuíferos es de vital importancia para proteger el ecosistema y evitar riesgos a la salud humana. Por lo tanto, se han creado normas de limpieza de sitios contaminados, así como normas para un correcto almacenamiento de residuos y así disminuir el riesgo a una posible contaminación.

El primer antecedente de legislación ambiental en México se encuentra en los años cuarenta cuando se promulga la Ley de Conservación de Suelo y Agua, siendo esta el primer antecedente de la política ambiental en nuestro país, más tarde se promulgó la Ley para Prevenir y Controlar la Contaminación Ambiental. Pero es a partir del año 1982, que la política ambiental mexicana comenzó a adquirir un enfoque integral ya que, durante este año, se reformó la Constitución para crear nuevas instituciones y elaborar las bases jurídicas y administrativas de la política de protección ambiental, además, se creó la Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología (SEDUE) y se promulgó la Ley Federal de Protección al Ambiente. Seis Años después fue publicada la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente (LEEGEPA), la cual se ha convertido en la base de la política ambiental del país (SEMARNAT, 2013).

En el mes de diciembre de 1994 se creó la Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP), la cual nace por la necesidad de planear el manejo de recursos naturales y políticas ambientales en nuestro país desde un punto de vista integral. En el año 2000 se da origen a la Secretaria de Medio Ambiente y Recurso Naturales (SEMARNAT), pasando al subsector pesca a la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), con el propósito de hacer una gestión funcional que permita impulsar una política nacional de protección ambiental (SEMARNAT, 2013).

En cuanto a la normatividad en materia de suelos contaminados contamos con dos normas, una aplicable para suelos contaminados con metales (NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004) (DOF, 2007), y otra para suelos contaminados con hidrocarburos (NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012) (DOF, 2005); esta última se tomará en cuenta para la elaboración de este trabajo.

La norma oficial mexicana NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012, fue publicada el 20 de agosto de 2002 en el Diario oficial de la Federación como norma de emergencia NOM-EM-138-ECOL-2002, actualmente esta norma tiene como objetivo establecer límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y lineamientos para el muestreo en la caracterización y especificaciones para la remediación. Es aplicable en todo el territorio nacional para quienes resulten responsables de la contaminación de suelos con hidrocarburos.

En esta norma se especifican los hidrocarburos que se deberán analizar en función del producto contaminante (Tabla 3.1), así como sus límites máximos permisibles (Tablas 3.2 y 3.3), los cuales varían en función del uso de suelo que se le vaya a dar al sitio después de su remediación y en caso de que el suelo vaya a ser de uso mixto se debe aplicar el límite máximo más estricto. Los hidrocarburos a analizar son los hidrocarburos fracción pesada (HFP), hidrocarburos fracción media (HFM), hidrocarburos fracción ligera (HFL), seis hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y los conocidos como BTEX (Benceno, Tolueno, Etilbenceno, Xilenos).

Tabla 3.1. Hidrocarburos a analizar de acuerdo con el producto contaminante.

PRODUCTO CONTAMINANTE	HIDROCARBUROS				
	FRACCIÓN PESADA	FRACCIÓN MEDIA	HAP	FRACCIÓN LIGERA	BTEX
Mezcla de productos desconocidos derivados del petróleo	X	X	X	X	X
Petróleo crudo	X	X	X	X	X
Combustóleo	X		X		
Parafinas	X		X		
Petrolatos	X		X		
Aceites derivados del petróleo	X		X		
Gasóleo		X	X		
Diesel		X	X		
Turbosina		X	X		
Queroseno		X	X		
Creosota		X	X		
Gasavión				X	X
Gasolvente				X	X
Gasolinas				X	X
Gas nafta				X	X

Fuente: NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 (DOF, 2005)

Tabla 3.2. Límite máximo permisible para fracciones de hidrocarburos en suelo.

FRACCIÓN DE HIDROCARBUROS	USO DE SUELO PREDOMINANTE (mg/kg BASE SECA)			MÉTODO ANALÍTICO
	Agrícola, forestal, pecuario y de conservación	Residencial y recreativo	Industrial y comercial	
<b>Ligera</b>	200	200	500	NMX-AA-105-SCFI-2008
<b>Media</b>	1 200	1 200	5 000	NMX-AA-145-SCFI-2008
<b>Pesada</b>	3 000	3 000	6 000	NMX-AA-134-SCFI-2006

Fuente: NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 (DOF, 2005)

Tabla 3.3. Límites máximos permisibles para hidrocarburos específicos en suelo.

HIDROCARBUROS ESPECÍFICOS	USO DE SUELO PREDOMINANTE (mg/kg BASE SECA)			MÉTODO ANALÍTICO
	Agrícola, forestal, pecuario y de conservación	Residencial y recreativo	Industrial y comercial	
Benceno	6	6	15	NMX-AA-141-SCFI-2007
Tolueno	40	40	100	NMX-AA-141-SCFI-2007
Etilbenceno	10	10	25	NMX-AA-141-SCFI-2007
Xilenos (suma de isómeros)	40	40	100	NMX-AA-141-SCFI-2007
Benzo[a]pireno	2	2	10	NMX-AA-146-SCFI-2008
Dibenzo[a,h]antraceno	2	2	10	NMX-AA-146-SCFI-2008
Benzo[a]antraceno	2	2	10	NMX-AA-146-SCFI-2008
Benzo[b]fluoranteno	2	2	10	NMX-AA-146-SCFI-2008
Benzo[k]fluoranteno	8	8	80	NMX-AA-146-SCFI-2008
Indeno (1,2,3-cd)pireno	2	2	10	NMX-AA-146-SCFI-2008

Fuente: NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 (DOF, 2005)

En cuanto al muestreo, la norma establece una mínima cantidad de puntos de muestreo en superficie de acuerdo con el área contaminada, sin embargo, no se presenta alguna especificación en cuanto a las profundidades del muestreo, la distancia entre los puntos, el volumen de la muestra y el número de muestras que se deban obtener de estos puntos. Además, la norma pide coleccionar como medida de control de calidad la toma y análisis de una muestra duplicada por cada 10 muestras tomadas.

Asimismo, se establece el tipo de recipiente que deberá utilizarse de acuerdo con el parámetro a muestrear, así como la temperatura a la cual se deben preservar las muestras y el tiempo máximo de conservación de las mismas.

### 3.1 Zona de estudio

El suelo utilizado en los experimentos de este trabajo proviene de una zona al norte del país. Esta zona fue un complejo minero industrial, encargado de la extracción de carbón, el cual posteriormente dejó de extraerlo para únicamente fungir como zona de lavado de carbón y coquización. Debido principalmente a la falta de normatividad, ya que esta empresa operó por aproximadamente un siglo, y al desconocimiento sobre las consecuencias a la salud humana y al ambiente que se tuvo por mucho tiempo, se convirtió en un pasivo ambiental; sin embargo, actualmente la empresa está muy interesada en remediar el sitio.

La geología regional de la zona se conforma principalmente por rocas sedimentarias, marinas y continentales con edades que datan del Paleozoico hasta el Cuaternario con fuertes plegamientos en dirección este-oeste en el sur de la zona y noroeste-sureste hacia el centro y norte. La orientación de las sierras y las líneas estructurales como fallas y fracturas siguen este mismo direccionamiento (INEGI, 2003).

La zona se identifica por la gran cantidad de recursos minerales, siendo el más importante el carbón, cuya existencia se conoce desde el año de 1850, y desde entonces ha sido decisivo en el desarrollo de la industria minero-metalúrgica de la región y del país. Este carbón es un depósito singenético de edad Maastrichtiano, el cual ocurre en sinclinales que se conocen como subcuencas. La acumulación de grandes volúmenes de material orgánico, posteriormente sujetos a la acción química de hongos, bacterias y a la evolución térmica debido a la subsidencia de la cuenca, dieron origen a un carbón autóctono, sub-bituminoso de espesor y calidad no uniformes, dispuestos como horizontes entre los sedimentos terrígenos, conformando hasta 15 mantos conocidos en esta subcuenca (INEGI, 2003).

En cuanto al suelo de la zona, este principalmente consta de un tipo de suelo vertisol, el cual está compuesto por un alto contenido de arcillas y se caracteriza por una estructura masiva de color rojizo. Hacia el norte se observa principalmente suelo tipo xerosol y rendzina, este último también se observa hacia la parte sur. El suelo xerosol tiene por lo general una capa de bajo contenido de materia orgánica hacia la superficie, es de color claro y a profundidad es rico en arcillas, en el caso del suelo rendzina la parte superficial es abundante en materia orgánica, es arcilloso y poco profundo (INEGI, 2004).

## **CAPITULO 4. MARCO TEÓRICO**

### **4.1. Contaminación**

Se entiende por contaminación a la acumulación de materiales que son dañinos a la salud y el medio ambiente a partir de un valor de referencia. Estos valores de referencia están determinados para suelos por la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), mientras que para los acuíferos la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) aún no realiza una norma en donde se establezcan los límites máximos permisibles por lo que la concentración objetivo de la remediación es conveniente que se obtenga a través de un análisis de riesgo a la salud.

Un sitio contaminado es un lugar, espacio, suelo, cuerpo de agua, instalación o cualquier combinación de éstos que ha sido contaminado con materiales o residuos que, por sus cantidades y características, pueden representar un riesgo para la salud humana, a los organismos vivos y el aprovechamiento de los bienes o propiedades de las personas (DOF, 2003).

#### **4.1.1. Contaminación del Suelo**

Existen diversas definiciones de suelo, estas varían de acuerdo con el área de estudio. Para este trabajo, la definición que se toma es la que se presenta en la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 (DOF, 2005), que es la norma de referencia para este trabajo.

En la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 (DOF, 2005), se define a un suelo como un 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

La contaminación del suelo se da cuando una sustancia o compuesto ingresa a él y cambia una o más de sus características físicas o químicas y que puede representar un riesgo para la salud y el medio ambiente.

Asimismo, la extensión del contaminante en el suelo dependerá de diversos factores como el tipo de fuente de contaminación, el tipo de contaminante y sobre todo de las características del suelo.

## **4.2. Hidrocarburos**

Los hidrocarburos son compuestos químicos orgánicos formados por carbono e hidrógeno, estos se clasifican en cuatro clases principalmente, alcanos, alquenos, alquinos e hidrocarburos aromáticos. Esta clasificación está referida al tipo de enlace de los hidrocarburos.

### **4.2.1 Alcanos**

Los alcanos son hidrocarburos que sólo contienen enlaces sencillos. Los nombres de los alcanos por lo general tienen el sufijo -ano, y la primera parte del nombre indica el número de átomos de carbono. Los cicloalcanos forman una clase especial de alcanos en forma de un anillo. Los alcanos experimentan pocas reacciones debido a que no tienen un grupo funcional, que es la parte de la molécula en donde por lo regular ocurren las reacciones (Wade, 2017a).

Los alcanos son no polares, además, son hidrofóbicos por lo que no se disuelven en agua. Sus densidades son cercanas a los  $0.7 \text{ g/cm}^3$ , por lo que al estar en contacto con el agua éste se separa y queda en la parte superior. Su punto de ebullición y de fusión aumenta conforme aumenta la cantidad de átomos de carbono y las masas moleculares (Wade, 2017a).

### **4.2.2 Alquenos**

Los alquenos son hidrocarburos que contienen enlaces dobles carbono-carbono. Un enlace doble carbono-carbono es la parte más reactiva de un alqueno, por lo que decimos que el enlace doble es el grupo funcional del alqueno. Los nombres de los alquenos terminan con el sufijo -eno (Wade, 2017a).

Al igual que los alcanos, los alquenos tienen densidades de aproximadamente  $0.6$  o  $0.7 \text{ g/cm}^3$ , y el punto de ebullición aumenta conforme aumenta la cantidad de carbonos. Asimismo, los alquenos son relativamente no polares e insolubles en agua (Wade, 2017a).

### **4.2.3 Alquinos**

Los alquinos son hidrocarburos con enlaces triples carbono-carbono como su grupo funcional. Los nombres de los alquinos por lo general tienen el sufijo -ino aunque algunos

de sus nombres comunes (por ejemplo el acetileno) no cumplen con esta regla. En un alquino, cuatro átomos deben estar en línea recta. No es sencillo curvar estos cuatro átomos colineales para formar un anillo, por lo que los cicloalquinos son raros. Los cicloalquinos son estables sólo si el anillo es grande, con ocho o más átomos de carbono (Wade, 2017a).

Las propiedades físicas de los alquinos son parecidas a las de los alcanos y alquenos con masas moleculares similares. Los alquinos son relativamente no polares y casi insolubles en agua. Muchos alquinos tienen olores característicos, algo desagradables. El acetileno, el propino y los butinos son gases a temperatura ambiente, al igual que los alcanos y alquenos correspondientes. De hecho, los puntos de ebullición de los alquinos son casi iguales a los de los alcanos y alquenos con esqueletos de carbonos parecidos (Wade, 2017a).

#### **4.2.4 Aromáticos**

Los siguientes compuestos pueden parecer cicloalquenos, pero sus propiedades son diferentes a las de los alquenos simples. Estos hidrocarburos aromáticos son derivados del benceno, el cual se representa mediante un anillo de seis miembros con tres enlaces dobles (Wade, 2017b).

#### **4.2.5 Poliaromáticos**

Estos hidrocarburos están formados por dos o más anillos de benceno fusionados, estos anillos comparten dos átomos de carbono. Hay un gran interés en los hidrocarburos aromáticos más grandes, porque se forman en la mayor parte de los procesos de combustión y muchos de ellos son cancerígenos (Wade, 2017b).

El benceno y otros hidrocarburos aromáticos son más densos que sus análogos no aromáticos, pero siguen siendo menos densos que el agua. Los bencenos halogenados son más densos que el agua. Los hidrocarburos aromáticos y los compuestos aromáticos halogenados son, en general, insolubles en agua, aunque algunos derivados con grupos funcionales fuertemente polares (fenol, ácido benzoico, etcétera) son moderadamente solubles en agua (Wade, 2017b).

Sin embargo, la clasificación utilizada en la norma que se utiliza como referencia para este trabajo es diferente, ya que se clasifican en hidrocarburos fracción pesada (HFP), hidrocarburos fracción media (HFM) e hidrocarburos fracción ligera (HFL). Esta

clasificación se debe a la cantidad de moléculas de carbono que contienen los compuestos. Además, se consideran seis hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y los BTEX.

Los hidrocarburos fracción ligera son una mezcla de hidrocarburos cuyas moléculas contienen entre cinco y diez átomos de carbono. Mientras que los hidrocarburos fracción media son una mezcla de hidrocarburos cuyas moléculas contienen entre diez y veintiocho átomos de carbono. Y por último los hidrocarburos fracción pesada son una mezcla de hidrocarburos cuyas moléculas contienen entre veintiocho y cuarenta átomos de carbono.

### **4.3 Técnicas de remediación de suelos contaminados**

Las técnicas de remediación se pueden clasificar con base en tres criterios, el tipo de tratamiento, la estrategia de remediación y el lugar en que se realiza.

Con base en el tipo de tratamiento se divide en biológicas, las cuales utilizan la actividad de los microorganismos presentes en el suelo para degradar, transformar o remover los contaminantes; fisicoquímicas, en las que se utilizan las propiedades físicas y químicas del contaminante o del suelo contaminado para destruir, separar o contener la contaminación; y térmicas, las que a través del calor pueden volatilizar, quemar, descomponer o inmovilizar los contaminantes presentes en el suelo (Iturbe, 2014).

De acuerdo con la estrategia de remediación se tienen nuevamente tres divisiones, la destrucción o modificación de los contaminantes, la extracción o separación de los contaminantes del suelo y aislamiento o inmovilización del contaminante (Iturbe, 2014).

Y, por último, de acuerdo con el lugar en que se realiza se divide en dos, *in situ*, las cuales son técnicas en las que la remediación se hace sin la necesidad de remover el suelo; y fuera del sitio, donde se requiere remover el suelo para llevar a cabo su remediación (Iturbe, 2014).

En la siguiente tabla se señalan una serie de ventajas y desventajas entre las técnicas biológicas, fisicoquímicas y térmicas:

Tabla 4.1 Ventajas y desventajas de las técnicas de remediación de suelos de acuerdo con el tipo de tratamiento (Iturbe, 2014).

TRATAMIENTO	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Biológicos	Tecnologías amigables con el ambiente. Efectivos en cuanto a costos. Generalmente los contaminantes se destruyen. Se requiere un mínimo o ningún tratamiento posterior.	Se requiere un mayor tiempo de tratamiento. Es necesario verificar la toxicidad de intermediarios y productos. Solo se pueden emplear si el tipo de suelo favorece el crecimiento microbiano.
Fisicoquímicos	El costo es más elevado que los biológicos. Menor tiempo para obtención de resultados. El equipo que se utiliza es accesible, por lo que no se necesita de mucha energía ni ingeniería	Los costos se incrementan debido a que los residuos generados deben tratarse o disponerse. Las soluciones de extracción pueden aumentar la movilidad de los contaminantes y pueden requerirse sistemas de recuperación.
Térmicos	Los tiempos de limpieza son muy cortos.	Son las técnicas de tratamiento más costosas. El costo aumenta en función del empleo de energía y equipo. Intensivos en mano de obra y capital.

#### 4.3.1 Biorremediación

La biorremediación es una técnica biológica, la cual se encarga de biodegradar los contaminantes orgánicos para transformarlos en un producto que no es tóxico (agua y CO<sub>2</sub>), y se puede realizar tanto *in situ*, así como fuera del sitio. La técnica consiste principalmente en usar los microorganismos autóctonos del sitio para degradar los contaminantes presentes en él.

Existen dos procesos que ayudan a que esta técnica sea más efectiva, la bioestimulación y el bioaumentación. La primera se refiere a la ayuda que se les da a los microorganismos para que estos se reproduzcan y realicen la degradación de los contaminantes de manera más eficiente, controlando parámetros como la cantidad de agua, temperatura, pH, oxígeno y nutrientes, por nombrar algunos. Por otro lado, el bioaumentación se trata de la adición de microorganismos externos al medio contaminado, principalmente cuando la población de microorganismo autóctonos es deficiente y es posible que no puedan llevar a cabo la degradación del contaminante. Sin embargo, el bioaumentación tiene como limitante que puede

afectar la competencia de los microorganismos nativos que ya están adaptados al suelo y al sustrato, por lo que puede presentarse una disminución en la población que se adiciona o bien esta última no se adapta y disminuye.

La biorremediación se puede aplicar de diferentes formas, las principales son las biopilas, biolabranza y fitorremediación.

La biolabranza como se ha mencionado, es una forma de biorremediación, la cual se trata de estimular la actividad microbiana aeróbica mediante la aireación y la adición de nutrientes y agua, ya que el movimiento de oxígeno a través del suelo promueve la degradación de los contaminantes orgánicos (USEPA, 2014).

Existen diversos factores que influyen en que la técnica sea o no efectiva, estos factores son pH, temperatura, la cantidad mínima de microorganismos presentes en el suelo, carga contaminante, la humedad del suelo, textura del suelo, el oxígeno y los nutrientes (USEPA, 2014).

El valor de pH en el suelo debe estar entre 6 y 8 para facilitar el crecimiento bacteriano, ya que fuera de este rango el pH tiene un gran efecto sobre la movilidad de los metales, la estructura del suelo y la disponibilidad de nutrientes (USEPA, 2014). Al-Hawash et al. (2018) mencionan que en general, las bacterias prefieren un pH casi neutro, además, señalan que se ha encontrado que un suelo con un pH de 7.5 fue más conveniente para la degradación de todos los hidrocarburos del petróleo.

La temperatura ideal que se debe mantener en el suelo para que se promueva la actividad biológica deberá estar en el rango de 10-45 °C (USEPA, 2014). Sin embargo, Al-Hawash et al. (2018) mencionan que a pesar de que la biodegradación tiene lugar en un amplio rango de temperaturas, esta disminuye a medida que la temperatura lo hace, y las tasas más altas de degradación en suelos ocurren en un rango de 30 a 40 °C.

Las densidades de población microbiana en suelos típicos oscilan entre  $10^4$  y  $10^7$  UFC/g. Para que la biorremediación sea efectiva, la población mínima debe ser de  $10^3$  UFC/g, a pesar de esto, si la población es menor la biorremediación puede ser efectiva si las bacterias son estimuladas con nutrientes (bioestimulación) o se le añadan bacterias al suelo (bioaumento) (USEPA, 2014).

El tratamiento de suelos con concentraciones por arriba del 8% de hidrocarburos totales del petróleo por lo general no son recomendables para la implementación de una técnica biológica. Esto se debe a que las altas concentraciones de aceite, grasa y alquitrán pueden bloquear los poros, limitando la transferencia de nutrientes, agua y oxígeno, limitando la biorremediación (USEPA, 2014).

La humedad ideal del suelo debe estar entre el 12 y el 30% por peso, o bien entre 40 y 85% de la capacidad de campo; sin embargo, el exceso de humedad puede restringir el paso del aire a través del suelo (USEPA, 2014).

Por otro lado, Al-Hawash et al. (2018) indican que el rango ideal para que la biodegradación sea efectiva está entre el 30 y 90% de la capacidad de campo. Como se puede ver es un amplio rango el propuesto tanto por ellos como por la USEPA y los rangos son similares.

Los suelos arcillosos que llegan a formar grumos son difíciles de airear y presentan bajas concentraciones de oxígeno, además, la distribución de nutrientes y humedad también puede resultar afectada. Los suelos gruesos no son adecuados para la biorremediación ya que estos, no retienen la humedad ni los nutrientes, aunque en estos la volatilización de varios compuestos ocurre más rápido que en suelos finos (USEPA, 2014).

La aireación que permite la entrada de oxígeno, es un proceso muy importante para esta técnica de remediación, esta debe ser suficiente para promover la degradación microbiana y que esta sea óptima, pero lo suficientemente baja para evitar la volatilización de compuestos como los BTEX (USEPA, 2014).

La adición de nutrientes adicionales puede ser necesaria para optimizar la biodegradación, ya que los nutrientes principales que la limitan son el nitrógeno y el fósforo. La biodegradación efectiva requiere que las relaciones de carbono, nitrógeno y fósforo estén entre 100:10:1 y 100:1:0.5 (USEPA, 2014). Sin embargo, Wang et al. (2017) realizó un estudio donde se utiliza la harina de sangre para adicionar nutrientes y muestra que una relación de nutrientes de 100:15:1 resulta efectiva para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos aromáticos policíclicos.

### **4.3.2 Importancia de la materia orgánica del suelo para la biorremediación**

Diversos estudios han demostrado que la biodisponibilidad de contaminantes orgánicos hidrofóbicos se controla mediante la interacción entre estos y la materia orgánica del suelo, debido principalmente al secuestro en los materiales carbonosos. Sin embargo, la materia orgánica del suelo se puede utilizar como fuente de carbono y energía para los microorganismos con capacidad de degradar compuestos orgánicos (Yang et al., 2011). Es por esto que la actividad microbiana y su potencial de degradación de compuestos orgánicos podrían verse afectados por la materia orgánica del suelo (Yang et al., 2010).

Yang et al. (2011) indicaron que la materia orgánica del suelo es la parte más importante que secuestra los contaminantes orgánicos, y es capaz de disminuir significativamente su biodisponibilidad. Así, la biodisponibilidad de los HAP probablemente puede influir en el desarrollo de microorganismos degradadores de estos compuestos.

Amellal et al. (2001) determinaron que el tamaño de los microorganismos degradantes de los HAP era relativamente mayor en los agregados arenosos de los suelos, por lo que los HAP eran ciertamente más accesibles y disponibles que en las partículas de limo. Por lo tanto, mientras que el contenido de materia orgánica del suelo aumenta, el secuestro de los HAP probablemente inhibe el crecimiento de los microorganismos degradantes de los mismos (Yang et al., 2011).

### **4.3.3 Harina de Sangre (Blood Meal) como fuente de nutrientes**

La harina de sangre es un material oscuro de origen animal comúnmente utilizado como fertilizante, se obtiene a partir de la deshidratación, cocción y aplastamiento de la sangre de ganado o aves de corral, es rica en lisina, leucina valina, histidina y triptófano, además de que no tiene sustancias tóxicas. Estos compuestos ayudan a la proliferación de microorganismos del suelo y pueden ayudar a remediar suelos contaminados con compuestos orgánicos (Wang et al., 2017). De acuerdo con este mismo autor, se demostró que el uso de esta sustancia como bioestimulante combinada con aireación semanal mejoran la efectividad de remediación de suelos contaminados con DDT e HAP.

Por otro lado, la USEPA (2006) utiliza la harina de sangre como bioestimulante para la biorremediación anaerobia de insecticidas y plaguicidas como el toxafeno y el DDT. Sin

embargo, no mencionan su uso para degradación de hidrocarburos, y en general hay muy poca literatura sobre el uso de harina de sangre como bioestimulante.

#### **4.3.4 Composta como fuente de nutrientes**

La composta es un producto generado a partir de un método para estabilizar los desechos orgánicos como el estiércol, los desechos de jardín, los biosólidos municipales y los desechos urbanos orgánicos, a este proceso se le denomina composteo. La composta se utiliza principalmente para mejorar la estructura de los suelos, proporcionar nutrientes a las plantas y cultivos, así como para facilitar la revegetación de suelos alterados (EPA, 1998).

Además, la composta puede ser utilizada como medio para eliminar la contaminación de sustancias químicas y no solo para mejorar del suelo. Existen evidencias significativas de que la adición de composta madura puede emplearse de manera exitosa y económica para limpieza de sitios contaminados con contaminantes como hidrocarburos totales del petróleo, hidrocarburos aromáticos policíclicos, plaguicidas y algunos explosivos (Sauri y Castillo, 2002).

Además, diversos autores han comprobado la efectividad del uso de la composta para remediar suelos contaminados. Sayara et al. (2011), muestra que la degradación de HAP es de hasta un 89% después de 30 días utilizando la composta como bioestimulante, y menciona que los microorganismos de esta contribuyen a la degradación de los mismos.

Namkoong et al. (2002), menciona que cuando fue utilizada composta la mayor degradación de hidrocarburos totales del petróleo fue observada en la mezcla suelo-composta 1 :0.5, llegando a degradar el 98.4% de estos hidrocarburos en 30 días.

#### **4.4 Biodegradación de los hidrocarburos**

La biodegradación es uno de los procesos que ha tomado importancia debido al papel que juegan los microorganismos en la reducción de la complejidad de compuestos orgánicos y que tiene lugar en la naturaleza, debido a esto, es una opción muy viable para el tratamiento de suelos contaminados con estos compuestos (Deyta, 1999).

El proceso de biodegradación involucra una transformación química a través de microorganismos, los cuales satisfacen sus necesidades energéticas, satisfacen sus

necesidades nutricionales y desintoxican el medio ambiente, lo que implica que el microorganismo no recibe ningún beneficio adicional (Speight y Arjoon, 2012).

La biodegradación de los hidrocarburos es un proceso donde los microorganismos reducen la complejidad de los compuestos químicos, transformándolos a compuestos más simples y, por lo tanto, de menor peso molecular (Roldán, 2001).

La biodegradación de los constituyentes del petróleo puede ocurrir tanto en condiciones aerobias como en condiciones anaerobias, esto es gracias a la actividad de diversos tipos de microorganismos (Speight y Arjoon, 2012).

La biodegradación aerobia involucra el uso de oxígeno molecular ( $O_2$ ) y este recibe electrones transferidos de un contaminante orgánico, en este caso de los hidrocarburos.



Así, el sustrato orgánico es oxidado y el oxígeno es reducido en agua. También, este sustrato sirve como fuente de energía para los microorganismos y como fuente de carbón para la creación de biomasa. Mientras que el oxígeno sirve como aceptor de electrones en la biodegradación aerobia, los procesos de degradación en sistemas anaerobios dependen de otros aceptores como sulfatos, nitratos o carbonatos (Speight y Arjoon, 2012).

Un problema que puede afectar la biodegradación es que en altas concentraciones de contaminante en el suelo pueden existir efectos de toxicidad sobre la población microbiana; además, la presencia de poca cantidad de nitrógeno y fósforo causa que la biodegradación se dé a velocidades muy bajas (Roldán, 2001).

Las etapas principales de la biodegradación se caracterizan por la pérdida de alcanos o alcanos ramificados, mientras que otras clases de compuestos como los hidrocarburos aromáticos son más resistentes a la biodegradación. Sin embargo, incluso los hidrocarburos más resistentes se destruyen a medida que avanza la biodegradación (Speight y Arjoon, 2012).

## **CAPÍTULO 5. METODOLOGÍA**

Como se mencionó anteriormente, el suelo utilizado proviene de un ex complejo minero industrial, que fue contaminado por muchos años, por lo que se encuentra contaminado por una mezcla de diversos productos derivados del petróleo que eran utilizados dentro del complejo.

El suelo utilizado en los experimentos es una mezcla de los suelos de las dos zonas (1 y 2) más contaminadas dentro del ex complejo minero.

Se realizaron tres experimentos para determinar la remoción de los hidrocarburos en el suelo bajo distintas condiciones, principalmente en cuanto a proporción de nutrientes. Antes y durante estos experimentos, se realizó la caracterización del suelo, donde se obtuvieron sus principales propiedades físicas, químicas y biológicas; algunas de estas características se realizaron en un laboratorio externo y otras se realizaron en las instalaciones de la universidad, en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental (LIA) del Instituto de Ingeniería y el Laboratorio de Mecánica de Suelos de la Facultad de Ingeniería.

El experimento uno (E-1) consistió en determinar en qué concentraciones la harina de sangre presentaba una mayor remoción de hidrocarburos fracción media (HFM).

El experimento dos (E-2) consistió en determinar qué bioestimulante (harina de sangre y composta), y qué concentración de estos presentaba mayor remoción de HFM y HFP.

Para el experimento tres (E-3) se probó la urea como tercer bioestimulante y un fertilizante con alto contenido de fósforo para tener la relación C:N:P exactamente en 100:10:1, y determinar cuál de los tres bioestimulantes presentaba mayor remoción de HFM, HFP e hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP).

El siguiente diagrama muestra de manera general las características y el proceso que se llevó a cabo en cada uno de los experimentos:

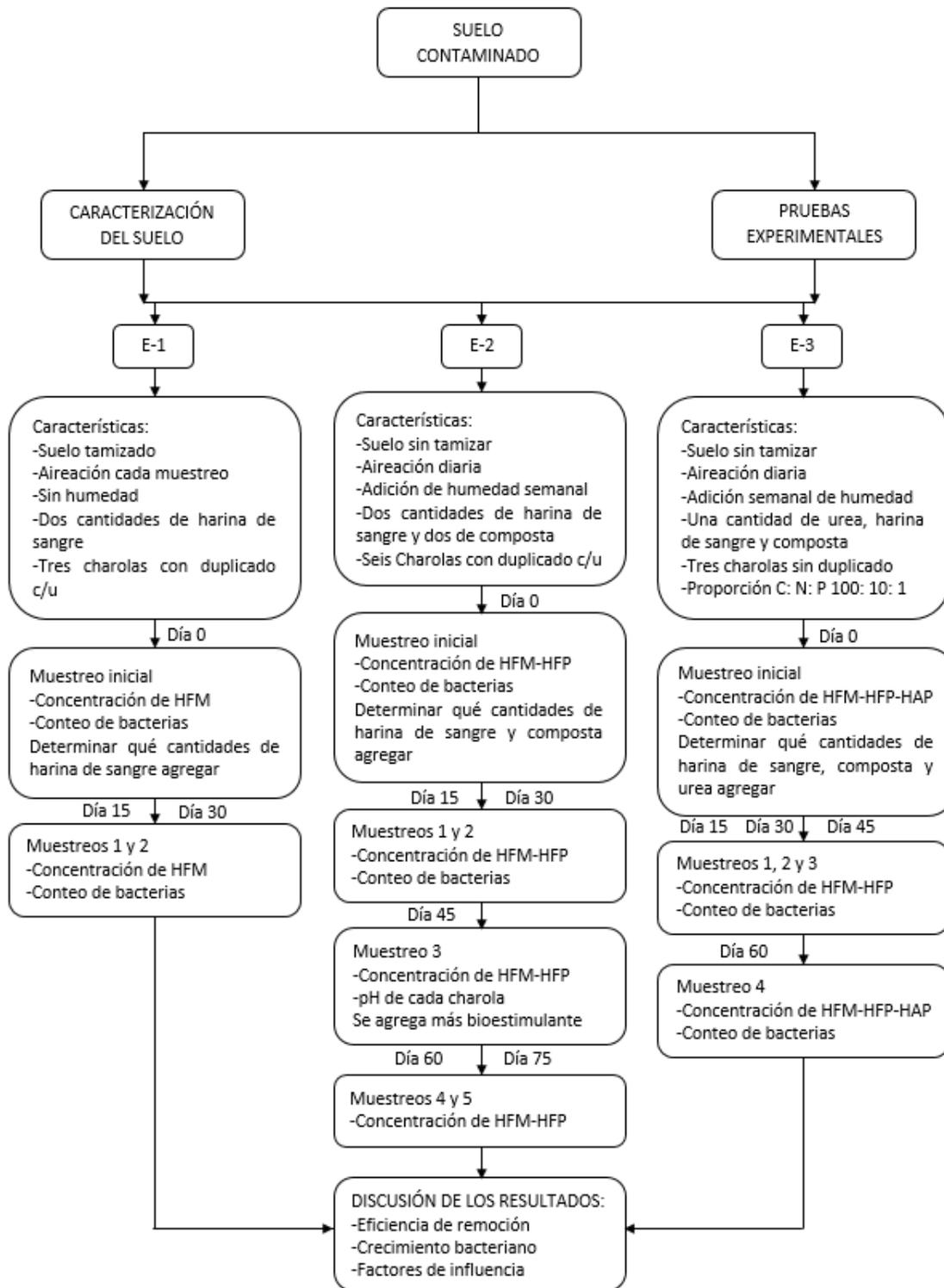


Figura 5.1 Diagrama de flujo de los experimentos realizados.

## 5.1 Caracterización del suelo

Las propiedades físicas que se determinaron fueron la capacidad de campo, densidad real, densidad aparente, porosidad y granulometría del suelo. En cuanto a propiedades químicas se determinó el pH, conductividad eléctrica (CE), porcentaje de materia orgánica en el suelo, así como la cantidad de nitrógeno orgánico y de fósforo asimilable. Por último, se determinó una propiedad biológica la cual fue el conteo de bacterias aerobias heterótrofas presentes en el suelo.

Las concentraciones iniciales de materia orgánica, pH, CE, nitrógeno inorgánico y fósforo, así como los parámetros de densidad real y densidad aparente se determinaron en el Departamento de Suelos de la Universidad Autónoma Chapingo.

En la siguiente tabla se muestran las propiedades analizadas, el método por el cual se obtuvieron y el lugar donde se realizaron:

Tabla 5.1 Propiedades obtenidas durante la caracterización, métodos utilizados para su obtención y lugar en donde se realizaron

	Método	Realizado en
pH	Potenciométrico, relación suelo - agua 1:5, 1:2	II y UCh
Conductividad eléctrica	Puente de conductividad eléctrica en suspensión, muestra - agua 1:5	UCh
Materia orgánica	Método Walkley y Black	UCh
Densidad real	Método del picnómetro	UCh
Densidad Aparente	Método del terrón parafinado	UCh
Porosidad	Método por diferencia porcentual	II
Capacidad de campo	Gravimetría	II
Conteo de bacterias	Método de cuenta en placa	II
Fósforo	Método de Olsen	UCh
Nitrógeno	Método Kjeldahl	UCh
Granulometría	Método de cribado por mallas	FI

II: Instituto de Ingeniería

FI: Facultad de Ingeniería

UCh: Universidad Autónoma de Chapingo

A continuación, se describirán las determinaciones realizadas por el autor.

### 5.1.1 Porosidad

Este parámetro se obtuvo por el método por diferencia porcentual, donde se realiza la diferencia relativa porcentual entre la densidad real y la densidad aparente (Gavande, 1991):

$$n = \frac{\rho_r - \rho_{ap}}{\rho_r}$$

Donde:

n: Porosidad

$\rho_r$ : Densidad real (g/cm<sup>3</sup>)

$\rho_{ap}$ : Densidad aparente (g/cm<sup>3</sup>)

### 5.1.2 pH

El pH es el grado de acidez o alcalinidad que tiene un suelo, y está definido como el logaritmo negativo de la actividad de los iones H<sup>+</sup> presentes en el mismo.

Esta propiedad se calculó como se indica en la NOM-021-RECNAT-2000 (DOF, 2002), donde se utiliza el método electrométrico para determinarla en una solución de agua pura, se basa en determinar la actividad de iones H mediante el uso de un electrodo. El método consiste en pesar 10 g de suelo en un frasco y adicionarle 20 ml de agua destilada, posteriormente, con una varilla de vidrio se agita manualmente la mezcla durante 30 minutos en intervalos de cinco minutos y se deja reposar por 15 minutos. Con el medidor calibrado, se agita nuevamente la mezcla, se introduce el electrodo del medidor y se registra el pH al momento en que la lectura se haya estabilizado. El valor de este deberá tener una cifra decimal.

### 5.1.3 Capacidad de campo

El método para obtener esta propiedad se realizó con base en la NOM-021-RECNAT-2000 (DOF, 2002) y consiste en tomar una muestra representativa del suelo, esta muestra se pone a secar y una vez seca se debe disgregar y tamizar; sin embargo, esto último no se

realizó debido a que para los experimentos dos y tres no se tamizó el suelo, con el objetivo de poder simular las condiciones originales. Posteriormente, se pesan 100 g de suelo en un vaso de precipitado, al cual se le irá agregando agua por medio de una probeta graduada hasta que el suelo se encuentre completamente saturado y se forme un espejo de agua en la superficie. Se toma nota de la cantidad de agua que se le adicionó y enseguida se pesan cinco g del suelo saturado, estos se meten a la estufa a  $105 \pm 5$  °C durante 24 horas, una vez transcurrido este tiempo se vuelve a pesar el suelo y se calcula la capacidad de campo de la siguiente manera:

$$CC = \frac{W_{sh} - W_{ss}}{W_{ss}} * 100$$

Donde:

CC: capacidad de campo

$W_{sh}$ : peso de suelo húmedo

$W_{ss}$ : peso de suelo seco

#### **5.1.4 Granulometría**

Este análisis se realizó mecánicamente utilizando un ro-tap y un juego de mallas, estas últimas eran las mallas #4, #10, #20, #30, #40, #60, #100 y #200. El suelo que se utilizó en el análisis granulométrico se obtuvo de los dos sitios con las concentraciones más altas de hidrocarburos; las profundidades en el sitio A fueron a partir de 0.5 m a 2.5 m y en el segundo sitio B fueron de 0.5 m a 3.5 m.

El primer paso fue la preparación de las muestras, para lo cual se dejó secar cada una de estas para posteriormente ser disgregadas con un mazo y así dejarla en su tamaño mínimo. El siguiente paso fue tomar el peso inicial de cada muestra para posteriormente realizar su tamizado en las mallas, estas fueron ordenadas en orden descendente de acuerdo con el tamaño de la apertura. Una vez ordenadas las mallas, la muestra se vacía en estas y se lleva a la criba vibradora (ro-tap), en la cual se dejó por 15 minutos. Pasado este tiempo, se pesan las fracciones de suelo retenido en cada malla y se calcula el porcentaje en peso de cada una. Estos valores se grafican en una gráfica de distribución granulométrica y a partir de

estos se obtienen los coeficientes de uniformidad ( $C_u$ ) y curvatura ( $C_c$ ), los cuales se calculan con las siguientes relaciones:

$$C_u = \frac{D_{60}}{D_{10}}$$

Donde:

$D_{60}$ : Tamaño tal que sea igual o menor que el 60% en peso de suelo.

$D_{10}$ : Tamaño tal que sea igual o mayor que el 10% en peso de suelo.

$$C_c = \frac{(D_{30})^2}{D_{60}(D_{10})}$$

Donde:

$D_{30}$ : Tamaño tal que sea igual o menor que el 30% en peso de suelo.

$D_{60}$ : Tamaño tal que sea igual o menor que el 60% en peso de suelo.

$D_{10}$ : Tamaño tal que sea igual o mayor que el 10% en peso de suelo.

Además, se obtienen los porcentajes de grava, arena y arcilla que componen el suelo. Se clasificó cada muestra de acuerdo con el Sistema Unificado de Clasificación de Suelos (SUCS).



Figura 5.2 Ro-Tap y juego de mallas utilizados para el análisis granulométrico

### 5.1.5 Conteo de bacterias

El conteo de bacterias aerobias se realizó con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994 (DOF, 1994).

Esta técnica no pretende poner en evidencia todos los microorganismos presentes, ya que la variedad de especies y tipos difieren en sus necesidades nutrimentales, temperatura requerida para su crecimiento, oxígeno disponible, por mencionar algunas, lo que hace que el número de colonias contadas representen una estimación de la cifra realmente presente (Corona, 2004).

Este método consiste en pesar un gramo de la muestra a analizar en un recipiente y adicionarlo a tubos de ensaye con 9 ml de solución salina (diluyente) al 0.85%, posteriormente se homogeneiza la solución por medio de un homogeneizador peristáltico.

Se deja que las partículas grandes sedimenten y posteriormente, se toma 1 ml de dicha solución y se lleva a otro tubo de ensaye con 9 ml de solución, este procedimiento se debe llevar a cabo hasta obtener el número de diluciones previamente decididas de acuerdo con el número de microorganismos esperados.

Enseguida, se toma 0.1 ml de las soluciones seleccionadas para cultivo y se adiciona al medio de cultivo, agar triptona-extracto de levadura (agar para cuenta estándar), se homogeneiza y posteriormente se llevan las cajas a incubación a la temperatura que se requiera según el microorganismo del que se trate, en nuestro caso serán mesofílicos aerobios, dicha temperatura se encuentra en la tabla siguiente:

Tabla 5.2 Fuente: NOM-092-SSA1-1994 (DOF, 1994)

Grupo Bacteriano	Temperatura	Tiempo de Incubación
Termofílicos aerobios	55 ± 2°C	48 ± 2 h
Mesofílicos aerobios	35 ± 2°C	48 ± 2 h
Psicrotróficos	20 ± 2°C	3 - 5 días
Psicrofílicos	5 ± 2°C	7 - 10 días

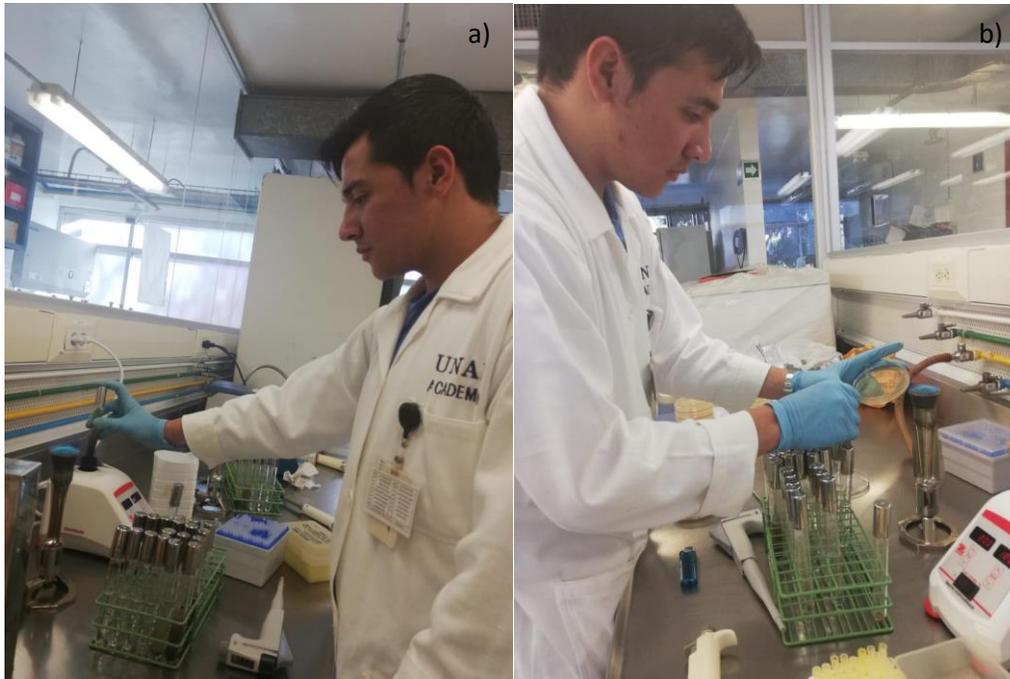


Figura 5.3 a) Tubo de ensayo en agitación con solución salina y suelo; b) Cultivo de la solución en cajas petri con agar.

## 5.2 Caracterización de los bioestimulantes

En el Departamento de Suelos de la Universidad Autónoma Chapingo se analizaron los bioestimulantes (harina de sangre y composta) para obtener algunas características de estos, siendo las más importantes su contenido de N y P. Además, se obtuvo para la harina de sangre otras características, estas fueron pH, conductividad eléctrica y contenido de materia orgánica; mientras que para la composta se obtuvieron su contenido de materia orgánica y su contenido de carbón orgánico.

## 5.3 Experimento 1

Se realizó una experimentación inicial de 30 días con el objetivo de determinar la cantidad de harina de sangre que se deberá utilizar por kilogramo de suelo donde la biorremediación resulte más efectiva, el suelo utilizado para este experimento contenía una concentración inicial de hidrocarburos fracción media de 11002.38 mg/kg.

Se colocaron seis charolas, dos con la misma cantidad de suelo y dos cantidades distintas de harina de sangre (50 g y 100 g), uno charola con suelo original que será utilizado como blanco y los otros tres fueron duplicados de cada uno de ellos.

El primer paso para la elaboración del experimento fue preparar el suelo, el cual se puso a secar, una vez que el suelo se encontró completamente seco se procedió a disgregarlo para finalmente tamizarlo a través de la malla número diez, esto debido a que diversos estudios de caracterización como son la determinación de HFM e HFP, así como el conteo de bacterias se realizan con suelo que pase a través de esta malla.

Una vez que se tuvo el suelo preparado, se procedió a preparar las charolas, las cuales contenían lo siguiente:

Tabla 5.3 Contenido de Charolas E-1

Cajón	Contenido
HS-01	50g HS+ 1kg suelo
HS-01d	50g HS+ 1kg suelo
HS-02	100g HS+ 1kg suelo
HS-02d	100g HS+ 1kg suelo
SO	1kg de suelo
SOd	1kg de suelo

Para este experimento se realizaron dos muestreos, el primero a los quince días de iniciado el experimento y el segundo a los treinta días, en los cuales se analizó la remoción de HFM, así como el crecimiento de bacterias aerobias. Durante el experimento, no se agregó agua y se aireó únicamente los días en que se tomó muestra.

## 5.4 Experimento 2

Para este experimento se utilizaron doce charolas, seis para la experimentación con harina de sangre y seis para la experimentación con composta. Para ambos bioestimulantes se utilizó un cajón solo con suelo como blanco, otro con suelo y una cantidad de bioestimulante, y un tercero con suelo y una cantidad diferente del bioestimulante, cada uno de estos con su respectivo duplicado. Las charolas con composta iniciaron una semana

después de las charolas con harina de sangre. La concentración inicial de HFM e HFP fue de 26220.44 mg/kg y 9258.61 mg/kg respectivamente.

Tabla 5.4 Contenido de Charolas Iniciales E-2

Clave	Contenido	Clave	Contenido
GBR-O	500 g Suelo	GBR-O2	500 g Suelo
GBR-Od	500 g Suelo	GBR-O2d	500 g Suelo
GBR-H1	500 g Suelo + 25 g Harina	GBR-C1	500 g Suelo + 10 g Composta
GBR-H1d	500 g Suelo + 25 g Harina	GBR-C1d	500 g Suelo + 10 g Composta
GBR-H2	500 g Suelo + 50 g Harina	GBR-C2	500 g Suelo + 20 g Composta
GBR-H2d	500 g Suelo + 50 g Harina	GBR-C2d	500 g Suelo + 20 g Composta

A partir del día en que se pusieron las charolas se hicieron muestreos semanales para realizar el conteo de bacterias aerobias de las mismas y cada 15 días para determinar la remoción de HFM e HFP. Se realizaron cuatro muestreos para el conteo de bacterias y tres para la determinación de la remoción de hidrocarburos. A diferencia del experimento 1, diario se airearon las 12 charolas y semanalmente se le agregó agua al suelo para ayudar al crecimiento de las bacterias; además, el suelo no se tamizó para simular las condiciones reales.



Figura 5.4 Charolas numerados del 1 al 12 utilizados en el experimento 2.

Posteriormente, debido a que la concentración de hidrocarburos ya no disminuía, se decidió agregar más nutrientes al suelo (harina y composta para las respectivas charolas) y se realizaron dos muestreos adicionales para determinar remoción de hidrocarburos. La cantidad de suelo restante y la cantidad agregada se muestran en la siguiente tabla:

Tablas 5.5 Contenido de charolas E-2 cuando se les agregó más bioestimulante.

Clave	Contenido	Clave	Contenido
GBR-O	250 g Suelo	GBR-O2	225 g Suelo
GBR-Od	240 g Suelo	GBR-O2d	240 g Suelo
GBR-H1	215 g Suelo + 10.75 g Harina	GBR-H1	225 g Suelo + 4.5 g Composta
GBR-H1d	210 g Suelo + 10.5 g Harina	GBR-H1d	185 g Suelo + 3.7 g Composta
GBR-H2	300 g Suelo + 30 g Harina	GBR-H2	225 g Suelo + 9 g Composta
GBR-H2d	250 g Suelo + 25 g Harina	GBR-H2d	205 g Suelo + 8.2 g Composta

Al final, se realizaron un total de cinco muestreos para determinar la remoción de hidrocarburos y solo los cuatro primeros para realizar el conteo de bacterias.

### 5.5 Experimento 3

Para este experimento se colocaron tres charolas donde a diferencia de los dos experimentos anteriores, la proporción de bioestimulantes agregados al suelo cumplió con la relación de C:N:P de 100:10:1. Para completar la cantidad de fósforo necesaria para cumplir con la proporción se utilizó un fertilizante comercial, el cual se compone por un 46% de este nutriente, y donde, además, se utilizó urea como un tercer bioestimulante para completar el déficit de nitrógeno.

Cada charola contenía suelo y una cantidad determinada de un bioestimulante diferente (harina de sangre, composta y urea), además de la cantidad de fertilizante necesaria para completar el fósforo (Tabla 5.6). La concentración inicial de HFM e HFP fue de 19593.62 mg/kg y 9258.61 mg/kg respectivamente. Además, para este experimento se analizó la remoción de HAP.

Tabla 5.6 Contenido de charolas E-3

Charola	Peso suelo [g]	Peso bioestimulante [g]	Peso fosfato [g]
<b>BRH</b>	1000	48.74	0.45
<b>BRC</b>	1000	12.68	0.45
<b>BRU</b>	900	3.94	0.41
<b>NOTA</b>			
BRH: Bioestimulante Harina de Sangre			
BRC: Bioestimulante Composta			
BRU: Bioestimulante Urea			
Relación C:N:P		100:10:1	



Figura 5.5 Charolas utilizados durante el experimento 3.

Para este experimento se realizaron un total de cuatro muestreos para hacer conteo de bacterias aerobias, así como para determinar remoción de hidrocarburos fracción media e hidrocarburos fracción pesada, estos muestreos se hicieron a los 15, 30, 60 y 75 días a partir del día en que se pusieron las charolas, el suelo se aireó diariamente del día uno al 30 y del día 60 al 75, entre los 30 y 60 días no hubo aireación con el objetivo de observar la influencia de la aireación en la técnica de biorremediación. Además, se le agregó agua semanalmente y se muestreó al inicio y al final del mismo para determinar la remoción de HAP.

## Capítulo 6. Resultados y Discusión

### 6.1 Caracterización del Suelo

Los resultados de la caracterización del suelo que se realizó durante la investigación se muestran en la tabla siguiente:

Tabla 6.1 Resultados de la caracterización del suelo.

Parámetro	Suelo
pH	8.03
Conductividad Eléctrica (dS/m)	1.19
Materia Orgánica (%)	5.87
Densidad Real (g/cm <sup>3</sup> )	2.39
Densidad Aparente (g/cm <sup>3</sup> )	1.40
Porosidad	0.41
Capacidad de Campo (%)	42.04 ±2.38
Bacterias Aerobias (UFC/g)	700
N (mg kg <sup>-1</sup> )	46.65
P (mg kg <sup>-1</sup> )	4.03

De acuerdo con la NOM-021-RECNAT-2000 (DOF, 2002), el suelo se clasifica por su pH como medianamente alcalino, por su conductividad eléctrica como muy ligeramente salino, de acuerdo con su densidad aparente se clasificaría como un suelo arenoso, con alto contenido de nitrógeno y con bajo contenido de fósforo.

Por otra parte, de acuerdo con los valores recomendados para que la biorremediación sea efectiva se tiene que para el pH estamos en el límite, ya que la USEPA (2014) recomienda que este se encuentre entre 6 y 8; en cuanto a microorganismos presentes en el suelo se tiene que no hay una cantidad inicial suficiente ya que la recomendada es de 1000 UFC/g, aunque se espera que con la adición de los bioestimulantes la población de bacterias aumente y alcance la recomendada.

De acuerdo con su capacidad de campo, el suelo deberá contener agua entre 13.20 ml/kg y 28.05 ml/kg para estar entre el rango óptimo y en cuanto al contenido de nutrientes, este se verá controlado por la adición de los bioestimulantes y variará dependiendo del experimento.

En cuanto a la carga contaminante, esta no excede el 8 % que según la USEPA (2014) puede limitar la transferencia de nutrientes, agua y oxígeno, limitando la biorremediación.

En cuanto a su granulometría se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 6.2 Resultados de granulometría de los dos perfiles

Perfil 1						
Profundidad (m)	Grava	Arena	Arcilla	Cu	Cc	Clasificación (SUCS)
0.5	39.22	57.94	2.84	19.95	0.94	Arena pobremente clasificada con grava
1.0	39.83	59.14	1.03	21.12	0.79	Arena pobremente clasificada con grava
1.5	26.86	68.05	5.09	13.82	1.21	Arena bien clasificada con arcilla limosa y grava
2.0	39.33	47.46	13.21	IND	IND	Arena Limosa Arcillosa con Grava
2.5	36.93	57.53	5.54	28.74	1.44	Arena bien clasificada con arcilla limosa y grava
Perfil 2						
Profundidad (m)	Grava	Arena	Arcilla	Cu	Cc	Clasificación (SUCS)
0.5	44.65	50.3	5.05	18	1.09	Arena bien clasificada con arcilla limosa y grava
1.0	34.22	60.6	5.18	19.76	0.84	Arena pobremente clasificada con grava
1.5	30.8	62.44	6.76	23.95	1.45	Arena bien clasificada con arcilla limosa y grava
2.0	12.64	71.3	16.05	IND	IND	Arena Limosa Arcillosa con Grava
2.5	29.89	56.56	13.55	IND	IND	Arena Limosa Arcillosa con Grava
3.0	0.41	81.55	18.05	IND	IND	Arena Limosa Arcillosa con Grava
3.5	4.33	67.6	28.07	IND	IND	Arena Limosa Arcillosa con Grava
IND: Indeterminado						

Como se observa en la tabla 6.2, en el perfil 1 predominan las arenas con grava y las arenas con arcilla limosa y grava, mientras que en el perfil 2 predominan las arenas limo arcillosas, donde el porcentaje de grava disminuye mientras el contenido de arcilla aumenta, lo cual está relacionado con el aumento de la profundidad.

En ambos perfiles predomina la cantidad de partículas en tamaño de arenas, lo que concuerda con el resultado obtenido de su densidad aparente, así como con el valor de su porosidad. Esto permitirá al suelo tener una mayor permeabilidad, lo que ayudará al paso de

agua, oxígeno y nutrientes, y favorecerá las condiciones necesarias para que se lleve a cabo la degradación de los hidrocarburos.

El suelo según la NOM-021-RECNAT-2000 (DOF, 2002), se clasifica por su contenido de materia orgánica como un suelo con alto contenido de materia orgánica, lo que de acuerdo con lo mencionado en el capítulo anterior puede ser contraproducente, ya que posiblemente habrá secuestro de los contaminantes lo que hará que su biodisponibilidad disminuya y a su vez haga más difícil que la degradación de los compuestos adsorbidos se lleve a cabo.

Se puede observar que las características del suelo son en gran medida muy buenas para que la técnica sea efectiva, y las que no lo son se verán mejoradas con la adición de los bioestimulantes.

## 6.2 Caracterización de la harina de sangre

De los análisis realizados a las muestras de harina de sangre se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 6.3 Resultados de la caracterización de la harina de sangre

Parámetro	Resultado
pH	7.92
Conductividad Eléctrica (dS/m)	6.37
N (%)	4.14
P(%)	0.035
Materia orgánica (%)	91

## 6.3 Caracterización de la composta

De los análisis realizados a las muestras de composta se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 6.4 Resultados de la caracterización de la composta

Parámetro	Resultado
Materia orgánica (%)	53.54
Carbón orgánico	31.06
N (mg/kg)	15.90
P (mg/kg)	0.09

## 6.4 Experimento 1

Como se mencionó en la metodología, en este experimento se usaron tres charolas, una de estas solo con suelo para que sirviera como blanco y las restantes con suelo y dos cantidades de harina de sangre, con el objetivo de determinar cuál de estas dos cantidades resultaba más efectiva para la remediación del suelo.

Durante este experimento se realizaron dos muestreos tanto para conteo de bacterias como para concentración de HFM, estos se realizaron a los 15 y 30 días de haber iniciado la experimentación. La concentración inicial de estos hidrocarburos fue de 11002.38 mg/kg.

Los resultados en cuanto a crecimiento de bacterias se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 6.5 Resultados conteo de bacterias de experimento 1

Charola	Inicial (UFC/g)	Día 15 (UFC/g)	Día 30 (UFC/g)
HS-01	700	9000	7000
HS-02	700	11000	7000
SO	700	1000	400

Se puede observar que para el primer muestreo los suelos a los que se le agregó harina de sangre la cantidad de bacterias presentes en el mismo incrementa más de diez veces; sin embargo, para el segundo muestreo esta cantidad no crece, por el contrario, esta disminuye, lo que se atribuye a que las condiciones para el crecimiento bacteriano y por tanto para que la biorremediación fuera efectiva, no fueron las óptimas ya que nunca se humedeció el suelo y la aireación fue poca.

El crecimiento inicial de los microorganismos se debe a que estos aprovecharon los nutrientes dados por el bioestimulante, pero por falta de las demás condiciones estos no pudieron crecer más y varios de estos perecieron.

Por otro lado, los resultados obtenidos en cuanto a la remoción de hidrocarburos fracción media fue bastante alentadora, los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 6.6 Resultados de concentración y remoción de HFM en experimento 1

Muestra	Concentración inicial (mg/kg)	Concentración al día 15 (mg/kg)	Concentración al día 30 (mg/kg)	Remoción al día 15 (%)	Remoción al día 30 (%)
HS-01	11002.38	5168.72	5684.27	53.02	48.34
HS-02	11002.38	3331.98	5470.61	69.72	50.28
SO	11002.38	9458.92	7707.25	14.03	29.95

Se puede observar que en las muestras con harina de sangre se presenta mayor remoción de HFM en el primer muestreo que en el segundo muestreo, esto se atribuyó a la heterogeneidad del suelo ya que este presenta varios fragmentos de coque los cuales pudieron ser tomados durante el muestreo y pudieron haber alterado los resultados.

A pesar de que las condiciones en las que se desarrolló el experimento no fueron las ideales para que la biorremediación fuera efectiva, los resultados con ambas cantidades de harina de sangre son bastante alentadores ya que se acercan bastante a límite establecido en la norma para uso de suelo industrial y comercial, el cual es de 5000 mg/kg.

## 6.5 Experimento 2

Este experimento fue el que mayor tiempo requirió para obtener resultados, esto debido a la gran cantidad de muestras que se tuvieron que analizar, ya que como se mencionó en el capítulo anterior la experimentación se hizo con harina de sangre y con composta.

A diferencia del experimento anterior todos los suelos se airearon diario, se les agregó agua semanalmente y en estos el suelo no fue tamizado para simular las condiciones reales.

### 6.5.1 Experimentación con harina de sangre

En cuanto a los suelos con este bioestimulante se pudo observar un ligero cambio de color, ya que este se volvió un poco más oscuro; además, conforme avanzaban las semanas y se le adicionaba agua, el suelo desprendía un olor bastante fuerte el cual no correspondía al de los hidrocarburos.

En cuanto al conteo de bacterias hay una gran diferencia de crecimiento de las mismas en los suelos con harina de sangre (GBR-H1, GBR-H2) en comparación con el suelo sin esta (GBR-O). Esto lo podemos apreciar en el gráfico siguiente:

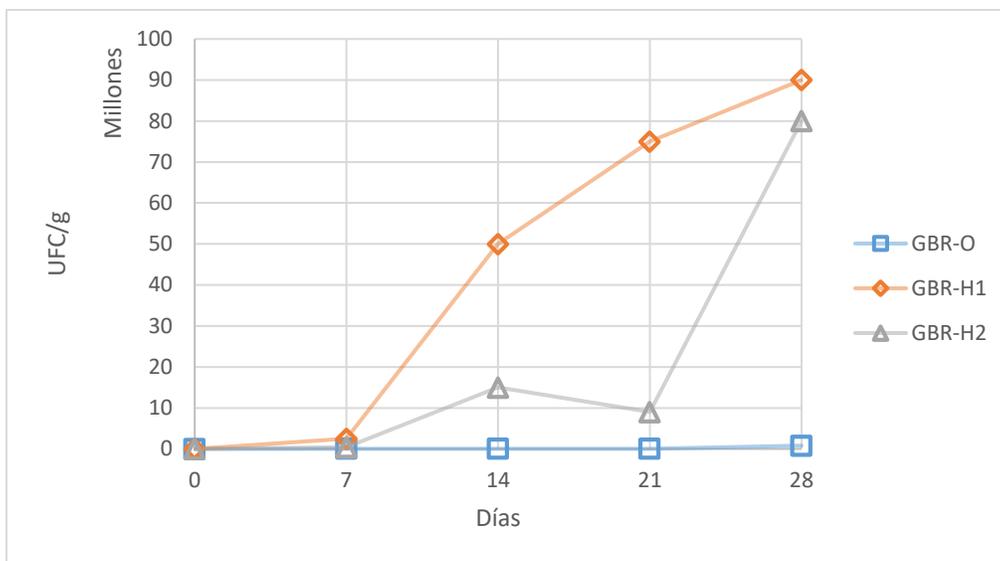


Figura 6.1 Crecimiento de bacterias en los suelos del experimento 2 con harina de sangre

La cantidad de bacterias en el suelo sin bioestimulante (GBR-O) incrementa de 700 UFC/g a 800,000 UFC/g, mientras que para el suelo con bioestimulante el crecimiento es hasta 100 veces mayor que el de las charolas sin bioestimulante ya que pasa de 700 UFC/g a 90,000,000 UFC/g en el suelo con 25 g de harina de sangre (GBR-H1), y a 80,000,000 UFC/g en el suelo con 50 g de harina de sangre (GBR-H2).

El gran crecimiento de bacterias en los suelos con harina de sangre en comparación con el crecimiento de bacterias en el experimento 1 se atribuye a que la humedad y la aireación que se le realizó a los suelos de este experimento, ayudaron a que los nutrientes se movilizaran y tuvieran más dispersión en el suelo, y así fueran mejor aprovechados por los microorganismos; además, tanto el oxígeno como el agua son dos elementos importantes para que estos hagan una degradación efectiva y la población de bacterias pueda crecer.

Los resultados de la remoción de HFM e HFP son variables, esto debido a la heterogeneidad del suelo. Las gráficas siguientes muestran cómo varían las concentraciones de estas fracciones de hidrocarburos durante este experimento.

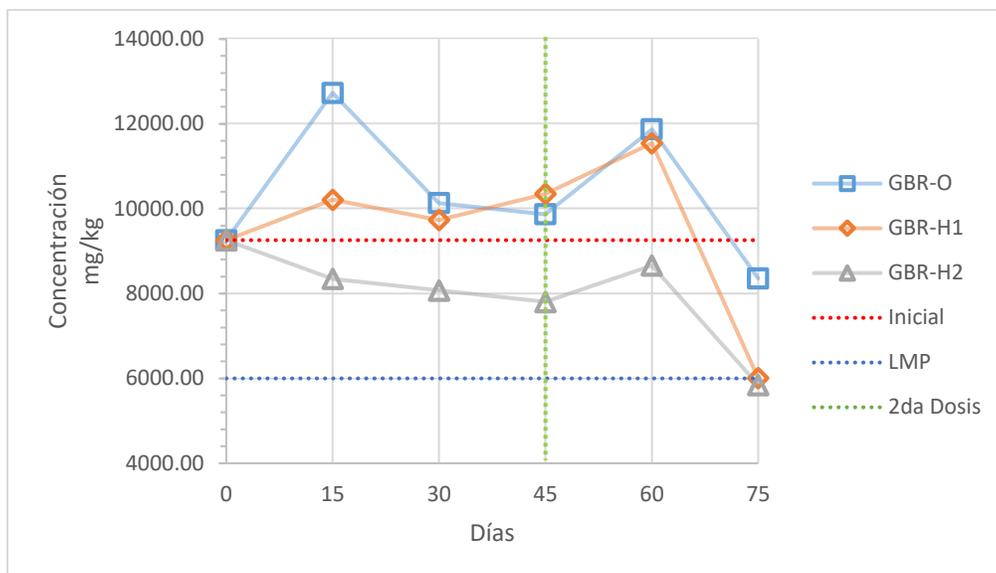


Figura 6.2 Concentraciones de HFP durante el experimento 2 con harina de sangre

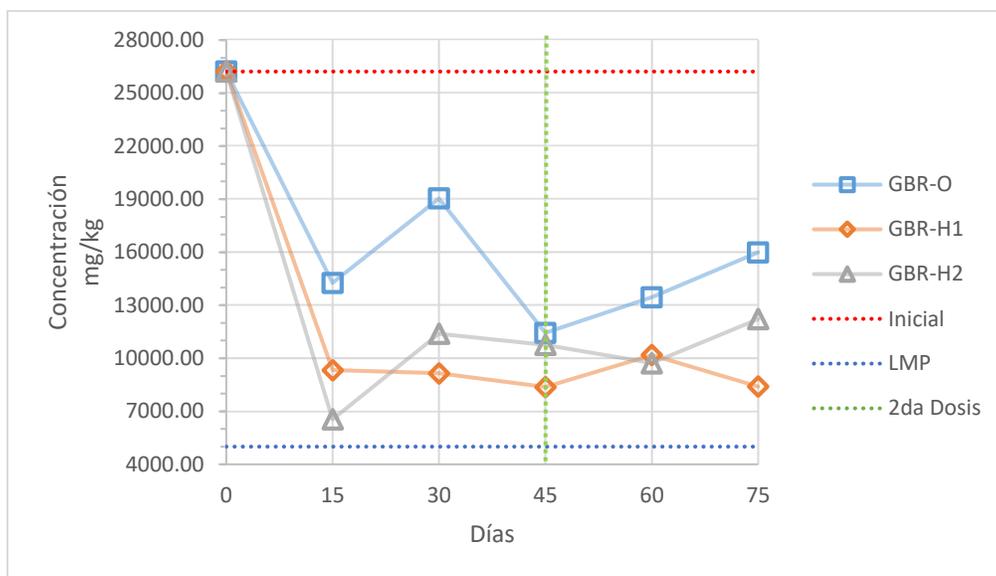


Figura 6.3 Concentraciones de HFM durante el experimento 2 con harina de sangre

En cuanto a HFP se puede observar que el suelo sin bioestimulante (GBR-O) y el suelo con menor cantidad de harina de sangre (GBR-H1) presentan concentraciones por arriba de la inicial en los muestreos realizados antes de la segunda adición de bioestimulantes, una vez que se realiza lo anterior el cuarto muestreo siguen presentando concentraciones por arriba de la inicial y es hasta último muestreo que se observa una remoción de esta fracción de hidrocarburos; sin embargo, este no llega a cumplir el límite máximo permisible que estipula en la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 (DOF, 2005), pero el valor para el suelo

GBR-H1 está prácticamente en este límite, siendo de 6,005 mg/kg y teniendo una remoción del 35%.

Por otro lado, el suelo con mayor cantidad de harina de sangre (GBR-H2) presenta una disminución en la concentración de esta fracción de hidrocarburos conforme los muestreos avanzan, después de la segunda adición de bioestimulantes, en el cuarto muestreo se presentó una concentración por arriba de las concentraciones de los primeros tres, pero para el quinto y último esta concentración ya se presentó por debajo de la concentración de los anteriores muestreos y de la concentración objetivo. Esta concentración es de 5,800 mg/kg y se removió el 37 % de la concentración inicial de hidrocarburos fracción pesada del suelo.

Para la concentración de HFM se puede observar un descenso significativo en el primer muestreo para los 3 suelos. El suelo GBR-O tiene picos de mayor y menor concentración durante los muestreos, y el valor en el último muestreo es de alrededor de 16,000 mg/kg lo que representa una remoción del 39%. El suelo GBR-H1 muestra una ligera reducción en la concentración de esta fracción de hidrocarburos del primer al tercer muestreo, es aquí donde se decide agregar más cantidad de bioestimulantes; sin embargo, esto último no es efectivo ya que para el cuarto muestreo la concentración presenta un valor por encima de los tres anteriores y para el último muestreo la concentración está prácticamente igual que en el tercer muestreo, siendo esta de 8,400 mg/kg y presentando una remoción final del 68%.

Finalmente, el suelo GBR-H2 presenta una mayor disminución en el primer muestreo, en comparación con los siguientes, para el segundo muestreo se presenta un pico de mayor concentración respecto al muestreo anterior y a partir de este, conforme pasan los muestreos tres y cuatro la concentración va disminuyendo; sin embargo, se vuelve a elevar la concentración de HFM para el quinto muestreo llegando a los 12,200 mg/kg, lo que representa una remoción total del 53%. Ninguno de estos tres suelos llega a la concentración objetivo.

Se puede observar que con ambas cantidades de harina de sangre el crecimiento de bacterias es bastante bueno y las remociones de ambas fracciones de hidrocarburos son muy similares, por lo que sin importar cuál de estas dos cantidades de bioestimulante agreguemos, la elevada concentración de nutrientes de este es suficiente en ambos casos

para que las bacterias puedan crecer y degradar los hidrocarburos. Es por esto que económicamente, es recomendable utilizar la menor cantidad de harina de sangre.

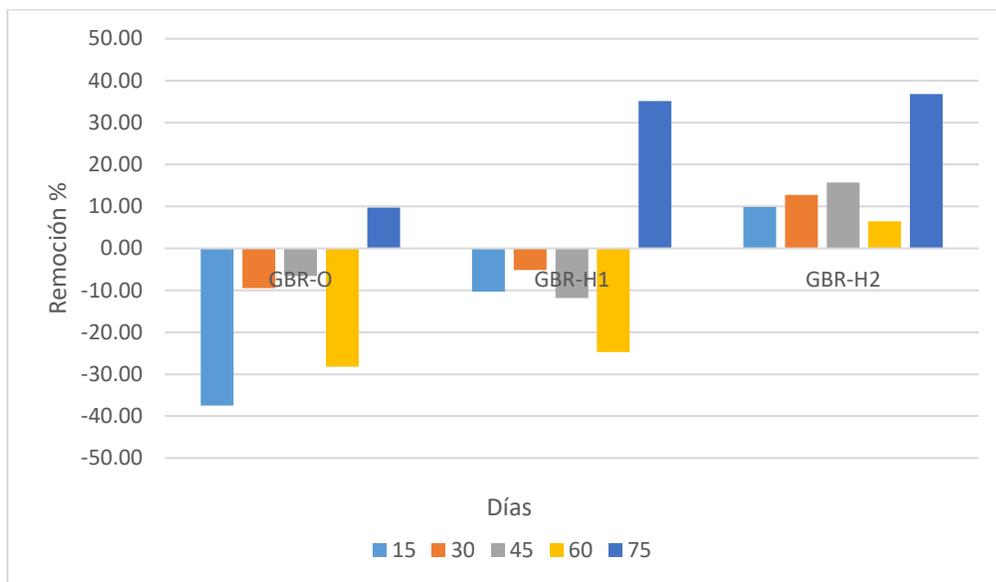


Figura 6.4 Remoción de HFP experimento 2 con harina de sangre

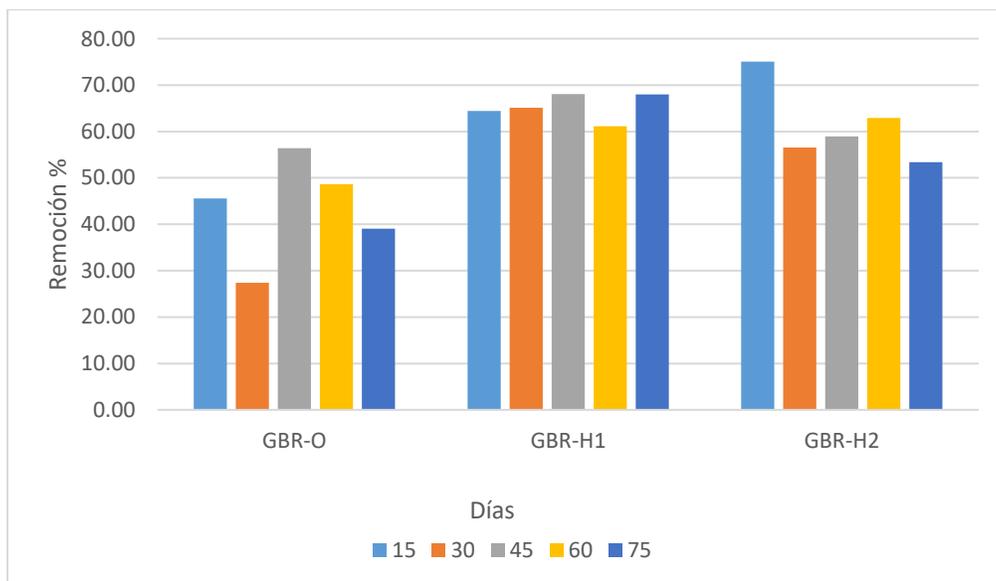


Figura 6.5 Remoción de HFM experimento 2 con harina de sangre

### 6.5.2 Experimentación con composta

Para los suelos con composta a diferencia de los suelos con harina de sangre, no presentan algún cambio en la tonalidad del suelo o su olor.

En cuanto al conteo de bacterias, se aprecia un crecimiento mayor en los suelos con composta (GBR-C1, GBR-C2) que en el suelo sin esta (GBR-O2). Esto se aprecia en la gráfica siguiente.

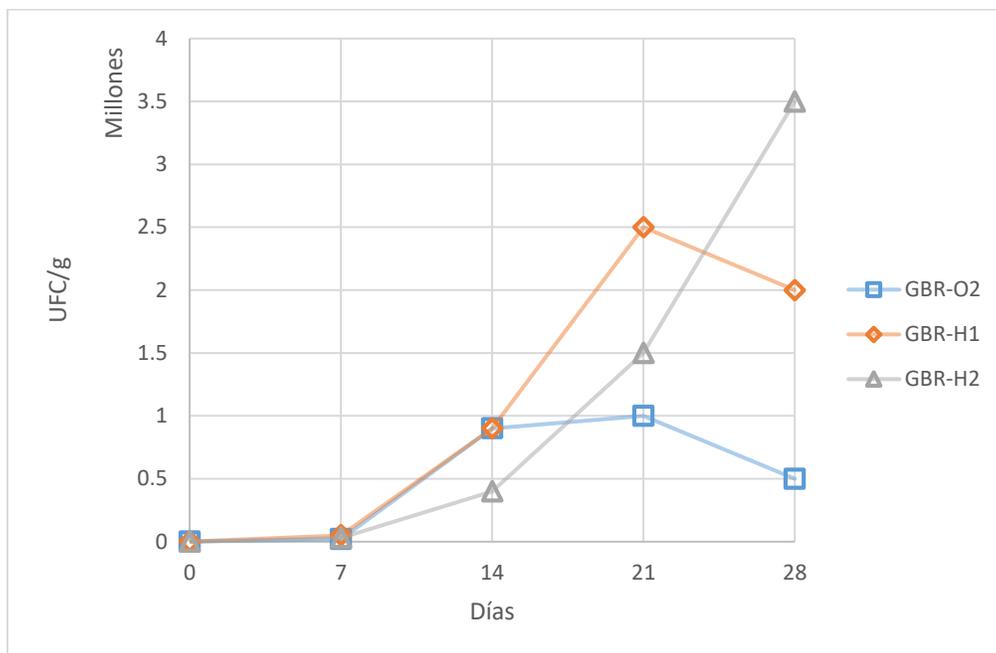


Figura 6.6 Crecimiento de bacterias en los suelos del experimento 2 con composta

Se tiene que el suelo sin composta (GBR-O2) pasa de las 700 UFC/g iniciales a 1,000,000 UFC/g al tercer muestreo; sin embargo, para el cuarto muestreo esta cantidad se reduce a la mitad, probablemente debido a la falta de nutrientes en el suelo.

Por otro lado, el suelo con menor cantidad de composta (GBR-C1) llega a tener 2,500,000 UFC/g para el tercer muestreo, pero al igual que el suelo 4 esta cantidad se reduce en el cuarto muestreo a 2,000,000 UFC/g, de igual manera se le atribuye a falta de nutrientes en el suelo.

El suelo con mayor cantidad de composta (GBR-C2) es el único de estos tres que presenta durante cada muestreo un incremento en la población de bacterias; en el cuarto muestreo presenta la mayor cantidad de bacterias presentes, esta cantidad es de 3,500,000 UFC/g.

A pesar de que los crecimientos bacterianos en los suelos con composta presentan un aumento significativo, si este se compara con los resultados de los suelos con harina de sangre el contraste entre los resultados es muy claro, ya que el valor mayor en el último

muestreo de los suelos con harina de sangre es de 90 millones de UFC/g, lo que representa más de 25 veces la cantidad de bacterias presentes en el suelo con composta que tiene mayor cantidad de bacterias.

Por lo tanto, se considera que, a menor cantidad de bacterias, la degradación de hidrocarburos debiera ser menor; sin embargo, los resultados al menos para HFM muestran otro comportamiento debido a que las bacterias podrían ser no degradadoras de hidrocarburos. Los resultados de ambas fracciones de hidrocarburos se pueden observar en las gráficas siguientes.

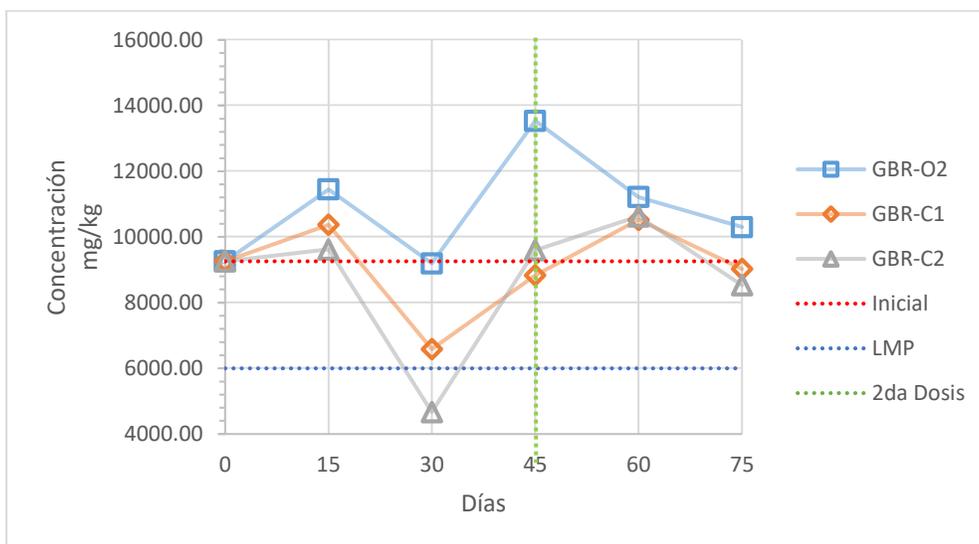


Figura 6.7 Concentración de HFP durante el experimento 2 con composta

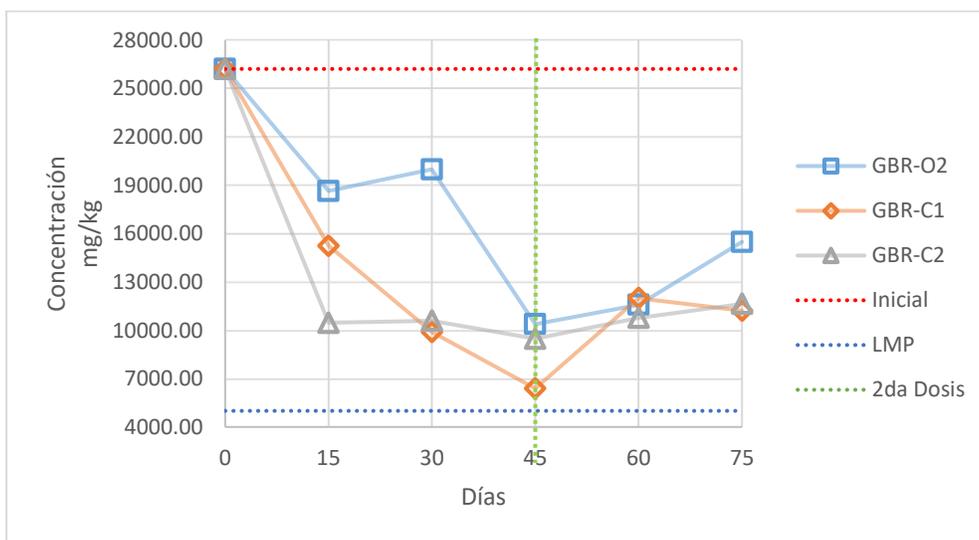


Figura 6.8 Concentración de HFM durante el experimento 2 con composta

Se puede observar que con respecto a los HFP la concentración se mantiene prácticamente constante entre la inicial y el último muestreo, siendo para el suelo GBR-O2 una concentración mayor a la inicial (10,300 mg/kg), los suelos GBR-C1 y GBR-C2 presentan una concentración al final del experimento de 9,000 mg/kg y 8,500 mg/kg respectivamente, lo que representa una remoción del 2.5% y 8% (Figura 6.9). El pico de menor concentración del segundo muestreo se toma como un error, no se sabe si a la hora del muestreo o de la extracción ya que el resultado de este es muy bajo en comparación con los muestreos siguientes.

Para HFM, el suelo GBR-O2, presenta picos de mayor y menor concentración, estos se atribuyen a la heterogeneidad del medio y a que este tiene fragmentos de coque, lo cual puede alterar el resultado; a pesar de esto, este suelo presenta una remoción del 41%. Para el suelo GBR-C1 hasta antes de agregar la segunda dosis de bioestimulante la concentración bajaba a cada muestreo, pero para el muestreo 4 después que se adicionó más composta la concentración vuelve a elevarse, y para el quinto se presenta un ligero descenso, este incremento en el muestreo cuatro se le atribuye al carbón orgánico presente en la composta ya que este genera picos al momento de analizar las muestras en el cromatógrafo, ya que lo que se está identificando son cadenas de carbono. La remoción al final del experimento para este suelo es del 57% (Figura 6.10).

Para el suelo GBR-C2 al que se le agrega mayor cantidad de composta, la concentración se incrementa después de la segunda adición de este bioestimulante, pero en menor proporción que el suelo GBR-C1, probablemente pueda deberse a que hay mayor degradación ya que este suelo presenta una mayor cantidad de bacterias en general, y probablemente también mayor cantidad de bacterias degradadoras que en el suelo GBR-C1 ya que también hay mayor cantidad de nutrientes. Al final de este experimento este suelo presentó una menor remoción que el suelo cinco, esta fue del 55%.

Al igual que con la harina de sangre las remociones de los suelos con ambas cantidades de composta son muy similares, a pesar de las diferentes cantidades de población de bacterias, por lo que también es económicamente recomendable utilizar la menor cantidad de composta.

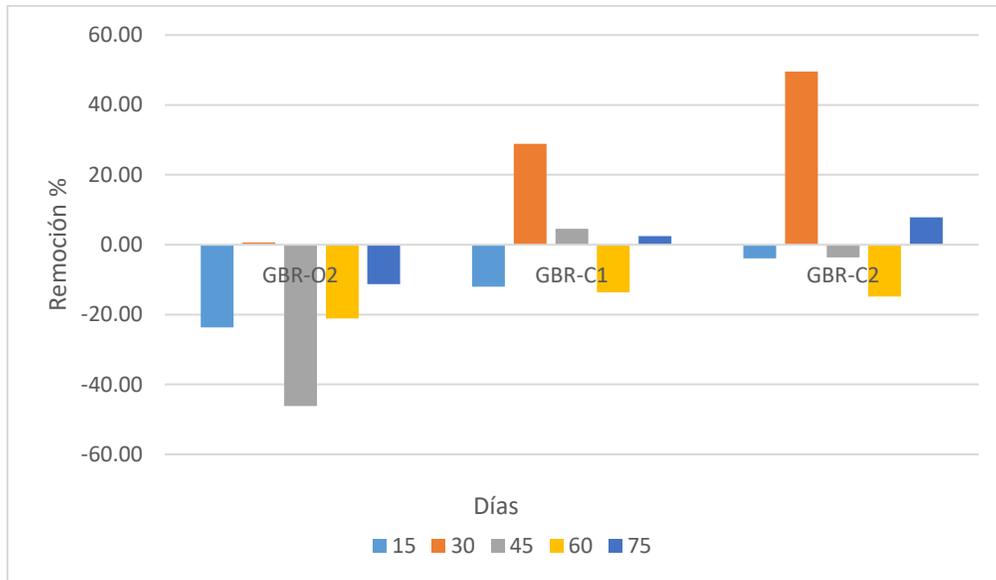


Figura 6.9 Remoción de HFP experimento 2 con composta

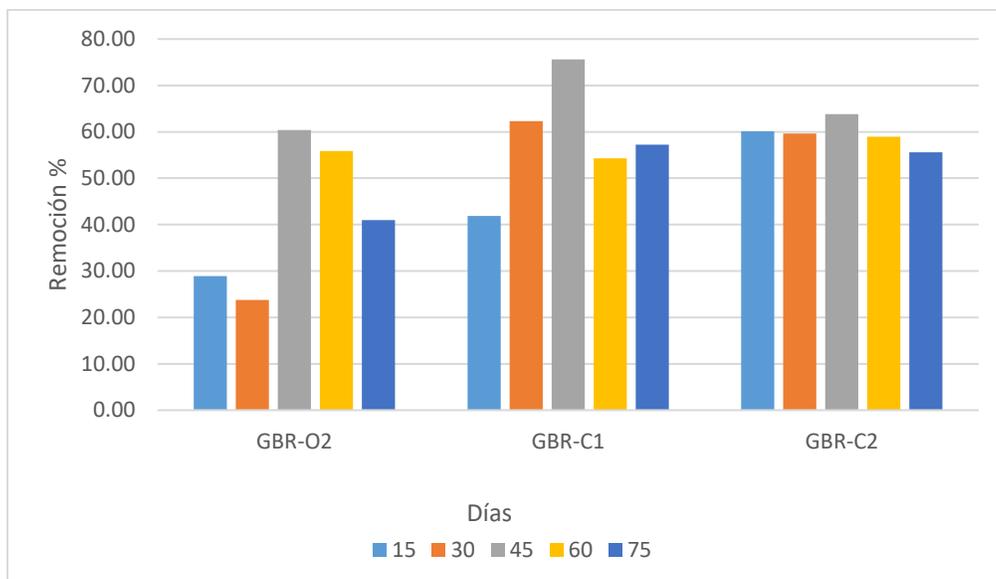


Figura 6.10 Remoción de HFM experimento 2 con composta

La concentración tanto de HFP como de HFM en suelos con composta como bioestimulante no llegan al límite máximo permisible después de los cinco muestreos, ya que sus concentraciones fueron para HFP 9,000 mg/kg y 8,500 mg/kg, mientras que para HFM estas fueron de 11,200 mg/kg y 11,600 mg/kg para el suelo GBR-C1 y GBR-C2 respectivamente.

Las variaciones en las concentraciones se atribuyen a la heterogeneidad del suelo, a pesar de esto, en los suelos GBR-H1, GBR-H2 y GBR-C2, los cuales son los suelos con bioestimulante, se puede observar una alta remoción en los primeros 15 días, y una concentración casi constante durante los días siguientes del tratamiento. Esto nos indica que la degradación de los hidrocarburos es mínima o casi nula después de los primeros 15 días de tratamiento, en un principio se pensó que esto se debía a falta de nutrientes y es por eso que se agregó más bioestimulante; sin embargo, después de agregarlo la concentración se mantuvo prácticamente igual, es por eso que la baja o nula degradación se atribuye a que debido a la alta cantidad de materia orgánica y la cantidad que se llega a tener de suelo en tamaño de arcillas, los hidrocarburos posiblemente se encuentran adsorbidos y por lo tanto no biodisponibles para que los microorganismos puedan realizar la degradación de estos.

Hay menor degradación en los suelos con composta en comparación con los suelos con harina de sangre, pero la diferencia no es muy significativa si se toman en cuenta los resultados de conteo de bacterias, esto puede deberse a que las bacterias que crecen en los suelos con harina de sangre sean en mayor proporción no degradadoras y en los suelos con composta es probable que en su mayoría crezcan bacterias degradadoras; esto debido a que la composta probablemente aporte bacterias degradadoras al suelo, lo que no ocurre con la harina de sangre.

Los resultados de pH obtenidos en este experimento se muestran en la tabla siguiente:

Tabla 6.7 Resultados pH experimento 2

<b>pH</b>	
<b>CHAROLA</b>	<b>pH (al momento de la medición)</b>
GBR-O	nd
GBR-H1	7.50
GBR-H2	nd
GBR-O2	7.17
GBR-C1	7.34
GBR-C2	7.31
nd: no determinado	

Se puede observar que en todos los suelos el pH tiende a ser neutro, incluso con un valor menor que el inicial (8.03) y mejor para que la biorremediación sea efectiva. Claramente, se

observa que la adición de harina de sangre y la composta no afecta el pH del suelo, ya que el pH de estos también tiende a ser neutro.

### 6.6 Experimento 3

Recordando, en este último experimento se utilizaron tres suelos, con un bioestimulante diferente cada uno, usando urea como tercer bioestimulante y en los tres suelos se tuvo una proporción de nutrientes C:N:P de 100:10:1. Además, en este experimento no se usó un suelo como blanco y se analizaron los HAP.

A diferencia del experimento anterior los muestreos para realizar conteo de bacterias y determinar concentración de hidrocarburos se realizaron a la par, los muestreos se realizaron a los 15, 30, 60 y 75 días.

En cuanto a conteo de bacterias al igual que en el experimento anterior, el suelo con harina de sangre tuvo un crecimiento mucho mayor que el de composta y en este caso, también que el suelo con urea. Los resultados se presentan en un grafica a escala logarítmica (Figura 6.11) para que se pueda apreciar la diferencia en la cantidad de bacterias entre los tres suelos.

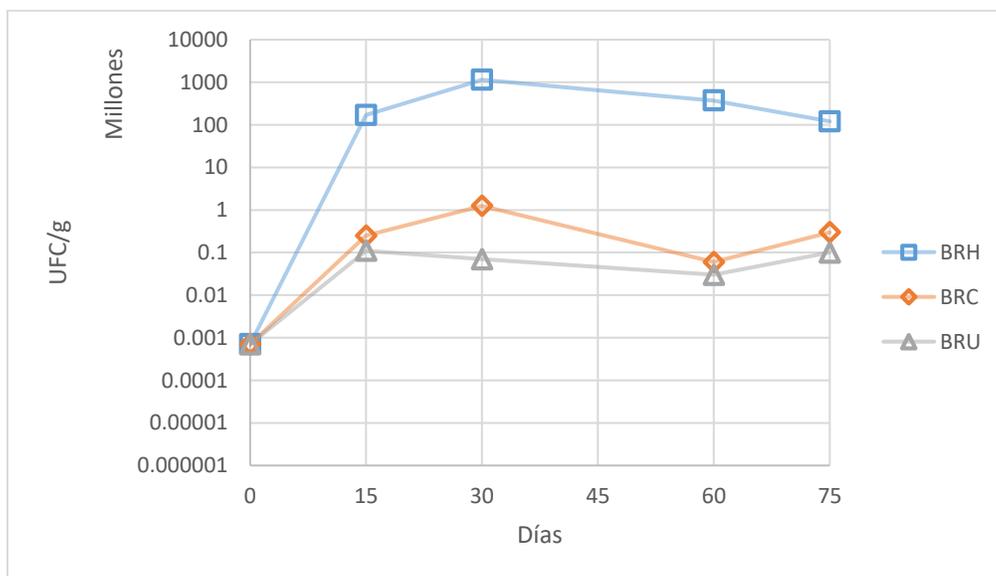


Figura 6.11 Crecimiento de bacterias en los suelos del experimento 3

Se puede observar que los 3 suelos tuvieron un descenso en la población de bacterias en el tercer muestreo, esto debido a que antes de este muestreo las charolas no se airearon

durante 30 días, por lo tanto, la falta de oxígeno provocó que el crecimiento se detuviera y la población disminuyera.

El suelo con harina de sangre (BRH) de este experimento, en comparación con los suelos con este mismo bioestimulante del experimento 2, presenta una mayor población de bacterias, aún después del descenso de la población por la falta de aireación, lo que se puede atribuir a que la proporción de los nutrientes está dando mayor resultado para el crecimiento de éstas.

Sin embargo, el suelo con composta (BRC) de este experimento presenta una población de bacterias menor en comparación con los suelos con este bioestimulante del experimento 2. Esto se puede deber a que la composta aporta bacterias al suelo y la cantidad de composta agregada en este experimento es casi dos y cuatro veces menor que la agregada a los suelos GBR-C1 y GBR-C2 del experimento 2 respectivamente, esto se debe a que se necesitó menos composta para cumplir la relación C:N:P 100:10:1. Por lo que la composta aporta una menor cantidad de bacterias al suelo.

Para el suelo con urea (BRU) no tenemos otros suelos con este bioestimulante con que comparar, pero comparando con los suelos que contienen los otros dos bioestimulantes en este mismo experimento el crecimiento de bacterias es muy bajo, llegando apenas a las 100,000 UFC/g, tres veces menos que el suelo con composta y hasta mil veces menos que la harina de sangre, por lo que se espera que la remoción de ambas fracciones de hidrocarburos en este suelo sea menor que en los suelos con harina de sangre y composta.

Para este experimento además de las dos fracciones analizadas en el experimento anterior, también se analizaron los HAP. Los resultados de los HFP e HFM se muestran en las siguientes gráficas.

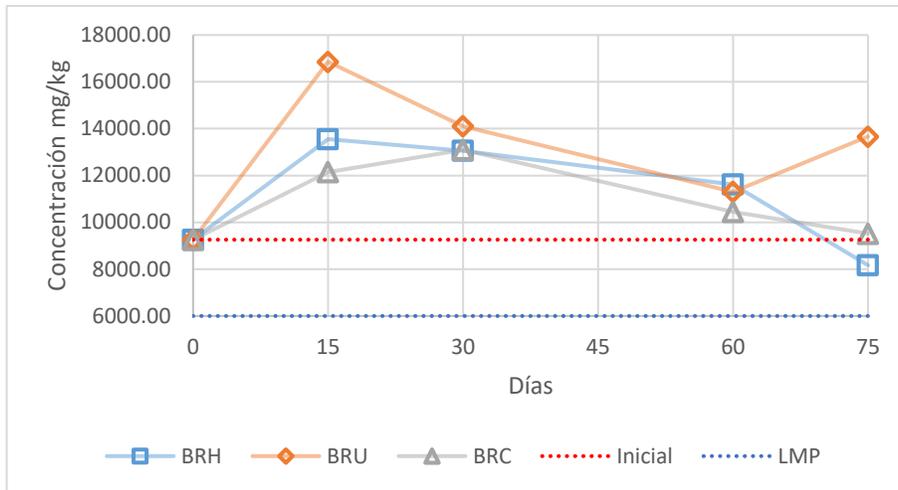


Figura 6.12 Concentración de HFP durante experimento 3

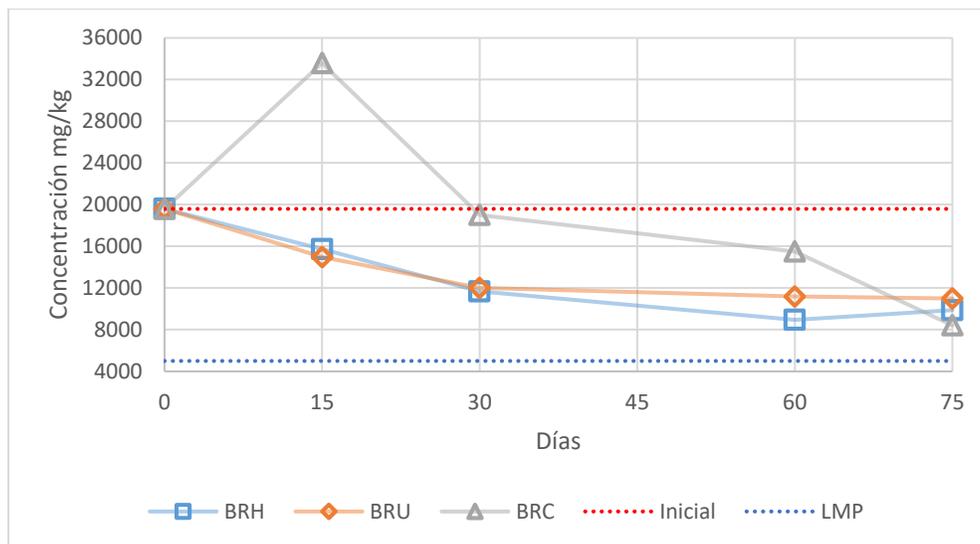


Figura 6.13 Concentración de HFM durante experimento 3

En cuanto a los HFP, tenemos que para los tres suelos hay un incremento en la concentración durante los primeros tres muestreos. Para el último muestreo el suelo BRU sigue mostrando una concentración por arriba de la inicial, el suelo BRC una concentración casi igual a la inicial y el suelo BRH una concentración por debajo de la inicial pero que no llega al límite máximo permisible.

No se tiene una idea clara de por qué la concentración incrementa en los primeros días y posteriormente comienza a disminuir, la heterogeneidad del suelo es una opción; sin embargo en este caso la tendencia es muy clara a incrementar la concentración y disminuir

posteriormente, y en el experimento 2 las concentraciones de cada muestreo no tienen una tendencia clara, solamente mostraron picos de mayor y mayor concentración a lo largo del experimento, por lo que no se puede asegurar que esta sea la causa de este comportamiento de los resultados.

En comparación con el experimento anterior el suelo con harina de sangre (BRH) de este experimento presenta una menor remoción de esta fracción de hidrocarburos (12%) y el suelo con composta (BRC) no presenta remoción en comparación con el experimento anterior donde si hubo remoción, pero esta fue mínima (2.5% - 8%). Sin embargo, tanto en este experimento como en el experimento 2 la harina de sangre resulto ser más efectiva para la remoción de HFP (Figura 6.14).

Debido a que el suelo con harina de sangre (BRH) mostró una población de bacterias más de 10 veces mayor en algún momento de esta experimentación que en el experimento 2, y casi el doble al final de la experimentación, se esperaba que la remoción en este experimento fuera mejor, pero esto no fue así.

Los resultados del suelo con urea (BRU) fueron de cierta manera lo esperado en cuanto a remoción de HFP ya que al no crecer la población de bacterias tanto como con los otros bioestimulantes, no se esperaba una buena remoción. Sin embargo, los resultados para los HFM en el suelo con este bioestimulante fueron bastante buenos, ya que a pesar de que la urea presenta hasta mil veces menor población de bacterias que la harina de sangre, la remoción de HFM fue muy parecida, de 44% y 49% respectivamente. Mientras que el suelo con composta fue el que mejor remoción presento, siendo esta del 57% (Figura 6.15).

En los resultados de los HFM, se observa que el suelo con harina de sangre (BRH) y el suelo con urea (BRU) presentan un descenso en la concentración en cada muestreo, hasta que en los muestreos tres y cuatro el descenso es poco en el suelo con urea, y del tercer al cuarto muestreo la concentración tiene un ligero incremento en el suelo con harina de sangre.

En el suelo con composta (BRC) la concentración de HFM incrementa en el primer muestreo, este puede deberse a la composición de este bioestimulante, ya que como se dijo anteriormente los primeros análisis de la composta generan picos en el cromatógrafo. A partir del segundo muestreo la concentración disminuye conforme los muestreos avanzan,

llegando a ser el bioestimulante más efectivo de los tres para la remoción de esta fracción de hidrocarburos.

Las concentraciones al final de este experimento son, de HFP 8,200 mg/kg, 9,500 mg/kg y 13,700 mg/kg; de HFM 9,900 mg/kg, 8,400 mg/kg y 11,000 mg/kg para los suelos con harina de sangre, composta y urea respectivamente.

A diferencia de los resultados de HFP, la composta es más efectiva para la remoción de HFM, a pesar de que durante todo el experimento presenta una cantidad notablemente menor de bacterias en el suelo.

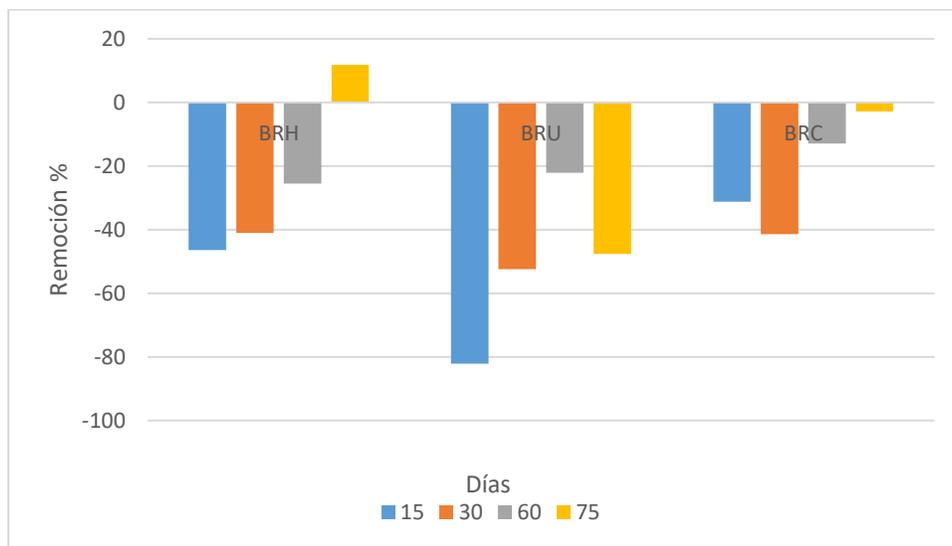


Figura 6.14 Remoción de HFP experimento 3

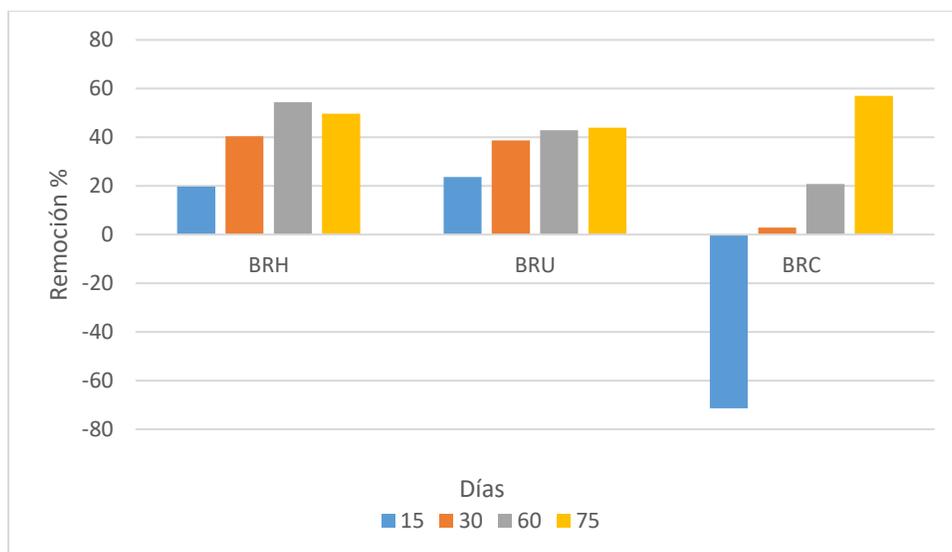


Figura 6.15 Remoción de HFM experimento 3

En cuanto a HAP, se analizaron los seis que establece la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 (DOF, 2005). Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 6.8 Concentración de HAP al final del experimento 3

HAP	Inicial mg/kg	BRH-1 mg/kg	BRC mg/kg	LMP mg/kg)
Benzo(a)antraceno	126.81	226	368	10
Benzo(a)pireno	111.64	248	413	10
Benzo(b)fluoranteno	183.63	346	561	10
Benzo(k)fluoranteno	211.53	92	167	80
Dibenzo(a,h)antraceno	34.07	78	124	10
Indeno(1,2,3-cd)pireno	106.51	210	336	10

Como se puede observar, los resultados de estos hidrocarburos son malos ya que no presentan una disminución en la concentración, por el contrario, presentan un aumento de la misma, este aumento se atribuye a la heterogeneidad del suelo y el que no haya remoción se debe a que posiblemente se encuentren adsorbidos o bien las bacterias presentes degraden únicamente a los HFM e HFP que son más fáciles de degradar que los HAP.

Amellal et al. (2001) mencionan que mientras que el contenido de materia orgánica del suelo aumenta, el secuestro de los HAP en esta probablemente inhibe el crecimiento de los microorganismos degradantes de estos (Yang et al., 2011). Es por eso que se llega a la conclusión que esto mismo pudo ocurrir en el experimento 3, donde el secuestro de los HAP en la materia orgánica inhibió el crecimiento de los microorganismos degradantes de estos.

En comparación con el experimento anterior en este experimento las concentraciones de HFM e HFP presentan un porcentaje de remoción muy parecido, tomando en cuenta que para este experimento no se adicionó más bioestimulante y hubo un gran periodo en que no se realizó la aireación de los suelos. La remoción final de cada fracción de hidrocarburos de los suelos de los experimentos 2 y 3 se muestran en la tabla siguiente:

Tabla 6.9 Porcentaje de remoción final de los suelos de los experimentos 2 y 3

Experimento	Charola	% Removido HFM	% Removido HFP
2	GBR-O	39.0	9.7
2	GBR-H1	68.0	35.1
2	GBR-H2	53.4	36.8
2	GBR-O2	40.9	-11.3
2	GBR-C1	57.2	2.5
2	GBR-C2	55.6	7.8
3	BRH	49.7	11.8
3	BRU	43.9	-47.6
3	BRC	57.0	-2.8

Comparando la remoción final de cada suelo se puede observar que en ambos experimentos los suelos con harina de sangre (GBR-H1, GBR-H2, BRH) presentaron mejor remoción de HFP que los demás suelos. Para los HFM el suelo GBR-H1 es el que presenta mejor remoción, mientras que los otros dos suelos con harina de sangre presentan menores remociones que los suelos con composta (GBR-C1, GBR-C2, BRC) por lo que en general la composta parece ser más efectiva para remover esta fracción de hidrocarburos.

Tanto en el experimento 2 como en el experimento 3 los suelos con composta presentan una remoción muy parecida de HFM con respecto a los suelos con harina de sangre, a pesar de que en ambos experimentos la cantidad de bacterias presentes en los suelos con composta es menor que la de los suelos con harina de sangre.

El suelo con urea fue el menos efectivo para remover tanto HFM como HFP en comparación con los suelos con los otros dos bioestimulantes. Siendo, además, el bioestimulante con el que se presentó menor crecimiento de bacterias en el suelo.

Sayara et al. (2011) y Namkoong et al. (2002), mencionan que después de 30 días utilizando la composta como bioestimulante la remoción de HAP fue de 89% y de hidrocarburos totales del petróleo 98% respectivamente; sin embargo, en los experimentos del presente trabajo a pesar de que la biorremediación se deja 75 días en los experimentos 2 y 3, la remoción de los HAP es nula y en cuanto a los HFM e HFP no alcanzan ese porcentaje de remoción. Posiblemente debido a que el suelo de este estudio contiene mayor cantidad de materia orgánica que los suelos utilizados por estos autores, por las diferencias

en las proporciones de suelo-composta utilizadas en este trabajo y por las diferentes características de la composta utilizada por cada autor.

Por otro lado, Wang et al. (2017) señalan que a los 150 días el suelo con harina de sangre y aireación semanal muestra una remoción de HAP de 26%, y en el presente trabajo la remoción es nula. La diferencia en estos resultados puede ser debido a las diferencias entre los experimentos llevados a cabo por estos autores y los realizados en este trabajo, ya que la proporción de nutrientes C:N:P fue diferente (100:15:1 y 100:10:1 respectivamente); los periodos de aireación fueron distintos, ya que estos autores realizaron aireación semanal; el tiempo de tratamiento del suelo utilizado por estos autores fue el doble que el de los suelos tratados en el presente trabajo (150 y 75 días respectivamente); y los contaminantes tratados además de los HAP fueron distintos (DDT e HFP-HFM respectivamente).

No se tiene un marco de referencia con qué comparar los resultados de HFM e HFP de los experimentos del presente trabajo con la harina de sangre, donde la remoción de los mismos fue bastante alentadora; sin embargo, los HAP son más difíciles de degradar que los HFM e HFP, lo que puede explicar porque hubo una buena remoción de HFP e HFM en comparación con los HAP.

Con base en todo lo anterior, se puede decir que la composta es el bioestimulante que funciona mejor para degradar HFM, mientras que la harina de sangre es la que mejor funciona para degradar los HFP. Sin embargo, la elección de qué bioestimulante se deberá usar para una posible prueba piloto y posteriormente su aplicación en campo no solo dependerá de que tan efectivos fueron para la remoción de estos contaminantes, sino también se deberá tomar en cuenta el factor económico.

La ventaja de la composta sobre la harina de sangre, es que se encuentra cercana al sitio y la empresa cuenta con la infraestructura necesaria para transportar la cantidad que se necesite para la biorremediación, por lo que económicamente la composta sería una mejor opción que la harina de sangre, y probablemente con un mayor tiempo de tratamiento, con aireación diaria y la proporción de C:N:P de 100:10:1 ambos bioestimulantes puedan alcanzar los LMP que estipula la NOM-138.

## **CAPITULO 7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **7.1 CONCLUSIONES**

- La aireación es un factor de influencia muy importante para que las bacterias puedan crecer y realizar la biodegradación, ya que como se vio en el experimento uno donde no se realizó aireación diaria la población de bacterias incrementó en un inicio y posteriormente disminuyó. En el experimento tres cuando se deja de airear, la cantidad de bacterias disminuye considerablemente en los tres suelos.
- En el experimento dos, tanto las concentraciones de harina de sangre y composta presentan una remoción mayor al 50 % de HFM. En el experimento tres donde se controló la proporción de nutrientes (C:N:P 100:10:1) la remoción fue muy parecida por lo que se podría decir ésta no mejora la efectividad de la biorremediación; sin embargo, el periodo donde no hubo aireación en el experimento tres pudo evitar que este presentara mejores resultados que el experimento dos.
- Tanto la harina de sangre como la composta hacen que la remediación sea más efectiva.
- La harina de sangre es más efectiva que la composta para degradar HFP.
- La urea es el bioestimulante menos recomendable para ser utilizado debido a que fue con el que se obtuvo la menor remoción de HFM y para HFP.
- La composta es ligeramente más efectiva que la harina de sangre para remover HFM.
- Económicamente la composta es más factible para ser utilizada a escala piloto y en campo, ya que hay composta cercana al sitio problema, y se cuenta con la infraestructura necesaria para facilitar el transporte de la misma.
- El alto contenido de materia orgánica en el suelo limita la actividad microbiana ya que posiblemente adsorba el contaminante lo que hace que sea menos biodisponible para ser degradado.

- La heterogeneidad y los contenidos de coque y carbón no permiten tener una perspectiva confiable de la remoción real ya que interfieren al analizar ambas fracciones de hidrocarburos (HFP e HFM).
- A pesar de que se intentó mantener las condiciones óptimas para que la biorremediación fuera efectiva, factores como el clima alteraron la humedad del suelo, que es un factor muy importante.
- Los bioestimulantes no afectan el pH del suelo, ya que este se mantiene neutro y por lo tanto óptimo para que la biorremediación sea efectiva.

## **7.2 RECOMENDACIONES**

- Realizar más experimentos monitoreando el porcentaje de humedad en el suelo.
- Aumentar el tiempo de tratamiento en los experimentos para determinar si la degradación de los hidrocarburos es continua o después de cierto tiempo se mantiene sin cambios.
- Probar la posible utilidad de surfactantes para desorber los contaminantes del suelo y aumentar su biodisponibilidad y, por lo tanto, que aumente la degradación de los mismos.
- Probar la combinación de la biorremediación con otras técnicas de remediación que ayuden a eliminar los compuestos más difíciles de degradar.
- Realizar una prueba piloto con la composta para revisar su funcionamiento a una escala mayor.
- Determinar qué tipo de bacterias están creciendo en el suelo, y cuántas de estas son degradadoras, mediante pruebas de biología molecular.

## **Bibliografía**

- Al-Hawash, A.B., Dragh, M.A., Li, S., Alhujaily, A., Abbood, H.A., Zhang X., y Ma F. (2018). Principles of microbial degradation of petroleum hydrocarbons in the environment. The Egyptian Journal of Aquatic Research 44: 71-76.
- Borda, J. Á. (2006). Crónica del petróleo en México de 1863 a nuestros días. CDMX: Petróleos Mexicanos.
- Cavazos-Arroyo, J., Pérez-Armendáriz, B., y Mauricio-Gutiérrez, A. (2014). Afectaciones y consecuencias de los derrames de hidrocarburos en suelos agrícolas de Acatzingo, Puebla, México. Agricultura, Sociedad Y Desarrollo, 11(4), 539–550
- Corona, R.L. (2004). Atenuación natural en suelos contaminados con hidrocarburos (Tesis de Maestría). UNAM, México.
- Deyta, T.A. (1999). Caracterización de dos suelos contaminados con gasolina y evaluación de su capacidad degradadora de hidrocarburos monoaromáticos (Tesis de Maestría). UNAM, México.
- DOF (Diario Oficial de la Federación) (1994). NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- DOF (Diario Oficial de la Federación) (2002). NOM-021-RECNAT-2000. Norma Oficial Mexicana que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis.
- DOF (Diario Oficial de la Federación) (2003). Ley general para la prevención y gestión integral de los residuos.
- DOF (Diario Oficial de la Federación) (2005). NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012. Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación.
- DOF (Diario Oficial de la Federación) (2007). NOM-147-SEMARNAT/SSA1- 2004. Norma Oficial Mexicana que establece criterios para determinar las concentraciones de

remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio.

-Gavande S. A. (1991). Física de suelos, principios y aplicaciones. México: Limusa.

-INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía) (2003). Carta Geológica-Minera del INEGI Nueva Rosita G14-A13.

-INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía) (2004). Guía para la Interpretación de Cartografía Edafología. Recuperada de

<http://www.inegi.org.mx/inegi/SPC/doc/INTERNET/EdafI.pdf>

-Iturbe, R. (2014). Suelos y acuíferos contaminados. Evaluación y limpieza. Trillas, México

-Iturbe, R., Flores, C., Castro, A. y Torres, L.G. (2007). Sub-soil contamination due to oilspills in six oil-pipeline pumping station in northern Mexico. *Chemosphere*, 68,893–906.

-Namkoong, W., Hwang, E.Y., Park, J.S. y Choi, J.Y. (2002). Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting. *Environmental Pollution*. 119, 23–31.

-Roldán, M.G. (2001). Biopilas como alternativa de tratamiento para la rehabilitación de suelos contaminados con hidrocarburos (Tesis de Maestría). UNAM, México.

-Sauri M.R. y Castillo E.R. (2002) Utilización de la composta en procesos para la remoción de contaminantes. *Ingeniería Revista Académica* 6(003): 55–60.

-Sayara, T., Borràs, E., Caminal, G., Sarrà, M. y Sánchez, A. (2011). Bioremediation of PAHs-contaminated soil through composting: influence of bioaugmentation and biostimulation on contaminant biodegradation. *International Biodeterioration & Biodegradation* 65, 859–865.

-SEMARNAT (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales). (01 de diciembre de 2013). Antecedentes. México. Recuperado de

<http://www.semarnat.gob.mx/conocenos/antecedentes>

- SEMARNAT (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales). (2019) Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. Edición 2018. México. Recuperado de <https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe18/index.html>

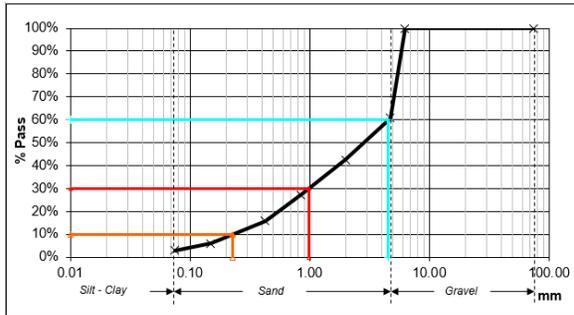
- Speight, J. G., y Arjoon, K. K. (2012). Bioremediation of petroleum and petroleum products. Salem, Massachusetts: Scrivener Wiley.
- Industria Petrolera. (marzo de 2012). Actualidad, desarrollo y proyectos. México. SUPCORP. Recuperado de <http://www.industriapetroleramexicana.com/editorial>
- USEPA. (1998). An Analysis of Composting as an Environmental Remediation Technology.
- USEPA. (2006). Anaerobic Bioremediation Using Blood Meal for Treatment of Toxaphene in Soil and Sediment.
- USEPA. (2014). Best Practice Note: Landfarming.
- Wade, L. G., Enriquez Brito, P. A. y García Hernández, A. E. (2017a). Química orgánica. (Novena ed., Vol. 1) Ciudad de México: Pearson Educación de México.
- Wade, L. G., Enriquez Brito, P. A. y García Hernández, A. E. (2017b). Química orgánica (Novena ed., Vol. 2). Ciudad de México: Pearson Educación de México.
- Wang, H., Wang, X., Liu, C., Wang, Y., Rong, L., Sun, L., Luo, Q. y Wu, H (2017). In-Situ Bioremediation of DDTs and PAH Contaminated Aging Farmland Soil Using Blood Meal. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 26(6), 623-635.
- Yang, Y., Tao, S., Zhang, N., Zhang, D.Y. y Li, X.Q., (2010). The effect of soil organic matter on the fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil: a microcosm study. *Environmental Pollution* 158 (5), 1768-1774.
- Yang, Y., Zhang, N., Xue, M., Lu, S.T., Tao, S. (2011). Effects of soil organic matter on the development of the microbial polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) degradation potentials. *Environmental Pollution* 159 (2), 591-595.

# ANEXOS

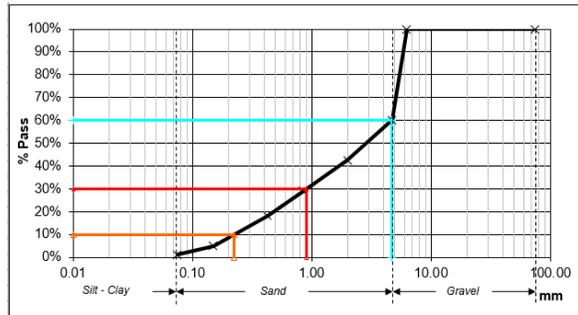
## ANEXO 1

### Anexo 1. Gráficas de dispersión granulométrica perfil 1

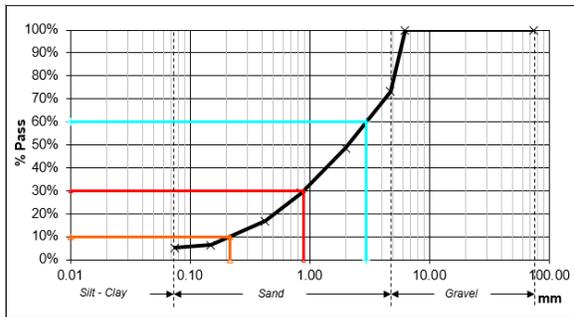
P1 0.5 m



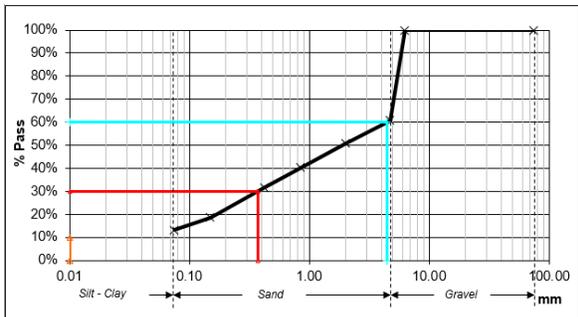
P1 1 m



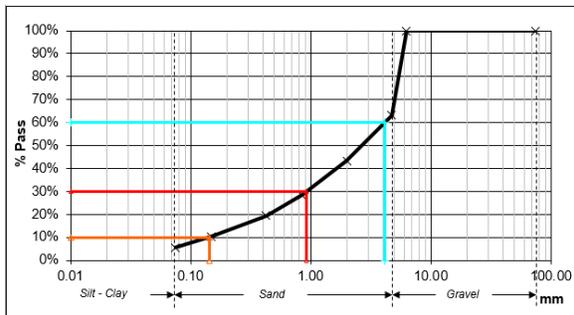
P1 1.5 m



P1 2 m



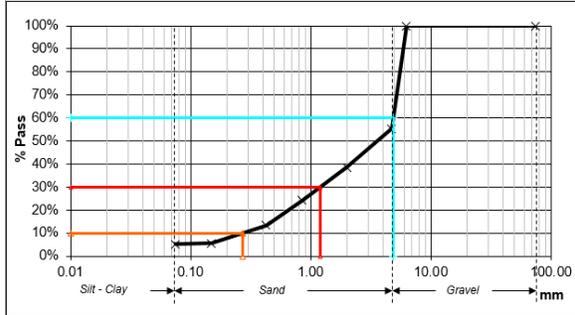
P1 2.5 m



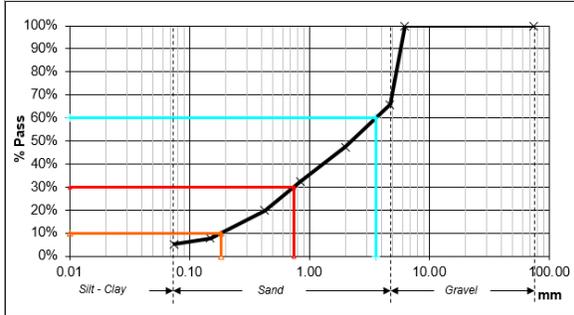
## ANEXO 2

### Anexo 2. Gráficas de dispersión granulométrica perfil 2

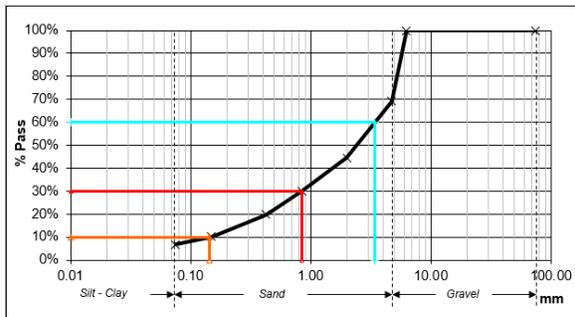
P2 0.5 m



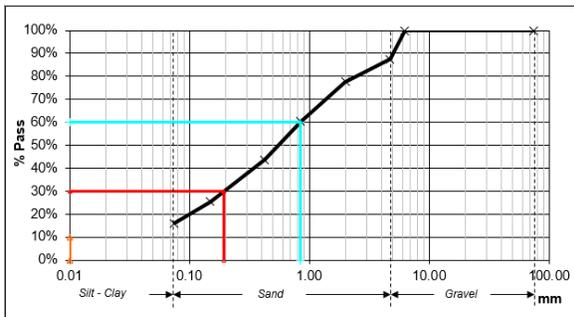
P2 1 m



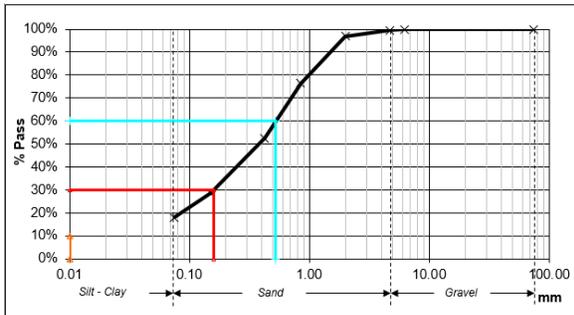
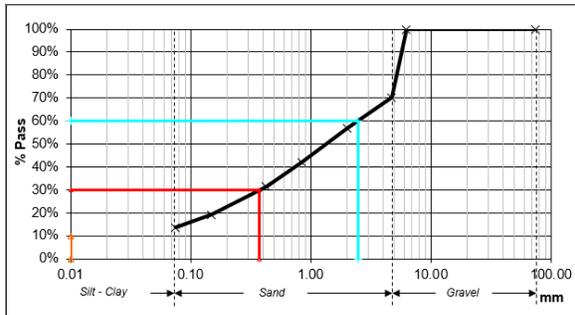
P2 1.5 m



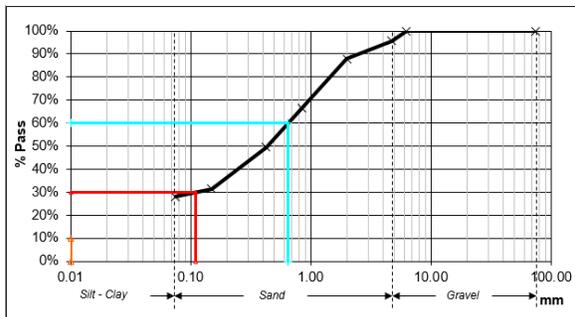
P2 2 m



P2 2.5 m P2 3 m



P2 3.5 m



### ANEXO 3

#### Anexo 3. Resultados conteo de bacterias experimento 1

Muestra	Primer Muestreo UFC/g	Segundo Muestreo UFC/g
HS-01	10000	7000
HS-01d	8000	7000
HS-02	12000	7000
HS-02d	10000	7000
SO	600	320
SOd	1900	350

### ANEXO 4

#### Anexo 4. Resultados concentración y remoción de hidrocarburos experimento 1

Muestra	inicial	FM primer muestreo mg/Kg	FM segundo muestreo mg/Kg	Remoción 1er muestreo %	Remoción 2do muestreo %
HS-01	11002.38	5892.09	5303.34	46.45	51.80
HS-01d	11002.38	4445.35	6065.2	59.60	44.87
HS-02	11002.38	3534.28	5457.56	67.88	50.40
HS-02d	11002.38	3129.69	5483.66	71.55	50.16
SO	11002.38	9591.21	8291.01	12.83	24.64
SOd	11002.38	9326.63	7123.48	15.23	35.26

## ANEXO 5

### Anexo 5. Resultados conteo de bacterias experimento 2

Muestra	7 días UFC/g	14 días UFC/g	21 días UFC/g	28 días UFC/g
GBR-O	62000	56000	44000	870000
GBR-Od	66000	30000	68000	700000
GBR-H1	2600000	4800000	9100000	7000000
GBR-H1d	2300000	5700000	6300000	11200000
GBR-H2	700000	2540000	1510000	8700000
GBR-H2d	49000	1640000	250000	7400000
GBR-O2	12000	1040000	580000	220000
GBR-O2d	28400	860000	1490000	670000
GBR-C1	50400	510000	1200000	1330000
GBR-C1d	41100	1380000	3600000	3300000
GBR-C2	28600	400000	1540000	3200000
GBR-C2d	32000	470000	1460000	3900000

## ANEXO 6

### Anexo 6. Resultados concentración y remoción de HFP experimento 2

Muestras	Concentración HFP (mg/kg)					Remoción HFP (%)				
	Día 15	Día 30	Día 45	Día 60	Día 75	Día 15	Día 30	Día 45	Día 60	Día 75
GBR-O	12534.86	10358.99	9383.03	11216.82	7776.37	-35.39	-11.88	-1.34	-21.15	16.01
GBR-Od	12925.3	9909.38	10356.71	12525.2	8938.01	-39.60	-7.03	-11.86	-35.28	3.46
GBR-H1	9849.49	9940.22	11033.41	12031.41	4999.72	-6.38	-7.36	-19.17	-29.95	46.00
GBR-H1d	10574.92	9529.56	9667.99	11058.46	7012.26	-14.22	-2.93	-4.42	-19.44	24.26
GBR-H2	8328.59	8208.48	7664.98	8670.95	6271.12	10.04	11.34	17.21	6.35	32.27
GBR-H2d	8367.85	7941.529	7944.65	8653.29	5424.23	9.62	14.23	14.19	6.54	41.41
GBR-O2	11707.03	9514.6	15669.13	10132	10439.66	-26.44	-2.76	-69.24	-9.43	-12.76
GBR-O2d	11191.88	8880.2	11400.97	12301.4	10164.03	-20.88	4.09	-23.14	-32.86	-9.78
GBR-C1	10350	10531.56	9083.19	11058.92	9070.86	-11.79	-13.75	1.89	-19.44	2.03
GBR-C1d	10394.06	2638.64	8584.19	9992.69	8985.6	-12.30	71.50	7.28	-7.93	2.95
GBR-C2	9609.75	1951.98	9301.07	9602.76	9037.46	-3.79	78.92	-0.46	-3.72	2.39
GBR-C2d	9631.63	7386.93	9896.45	11656	8026.49	-4.03	20.22	-6.89	-25.89	13.31

## ANEXO 7

### Anexo 7. Resultados concentración y remoción de HFM experimento 2

Muestras	Concentración HFM (mg/kg)					Remoción HFM (%)				
	Día 15	Día 30	Día 45	Día 60	Día 75	Día 15	Día 30	Día 45	Día 60	Día 75
GBR-O	13962.73	19362.58	9867.76	12700.6	16006.68	46.75	26.15	62.37	51.56	38.95
GBR-Od	14564.75	18720.89	13009.21	14208.8	15970.3	44.45	28.60	50.39	45.81	39.09
GBR-H1	8806.77	8743.47	7808.38	10534.16	9076.46	66.41	66.65	70.22	59.82	65.38
GBR-H1d	9843.64	9550.48	8943.23	9841.62	7722.12	62.46	63.58	65.89	62.47	70.55
GBR-H2	5991.43	10609.69	10488.64	9578	11477.83	77.15	59.54	60.00	63.47	56.23
GBR-H2d	7095.7	12170.22	11037.49	9877.15	12952.05	72.94	53.58	57.91	62.33	50.60
GBR-O2	16243	18618.72	9915.63	11322.21	15539.11	38.05	28.99	62.18	56.82	40.74
GBR-O2d	21040.52	21354.65	10844.84	11838.6	15431.93	19.76	18.56	58.64	54.85	41.15
GBR-C1	15682.8	11273.21	6952.29	10974.5	9103.96	40.19	57.01	73.49	58.15	65.28
GBR-C1d	14800.48	8509.51	5825.66	13013.53	13330.8	43.55	67.55	77.78	50.37	49.16
GBR-C2	11677.57	10429.41	9460.41	11929.15	10608	55.46	60.22	63.92	54.50	59.54
GBR-C2d	9249.01	10753.16	9500.48	9618.42	12678.45	64.73	58.99	63.77	63.32	51.65

## ANEXO 8

### Anexo 8. Resultados conteo de bacterias experimento 3

Muestra	Primer conteo UFC/g	Segundo conteo UFC/g	Tercer conteo UFC/g	Cuarto conteo UFC/g
BRH	1.80E+08	9.60E+08	4.40E+08	1.30E+08
BRHd	1.60E+08	1.32E+09	3.00E+08	1.10E+08
BRC	3.60E+05	1.37E+06	ND	2.60E+05
BRCd	1.10E+05	1.10E+06	5.70E+04	2.90E+05
BRU	1.07E+05	5.10E+04	2.00E+04	7.20E+04
BRUd	ND	8.80E+04	4.00E+04	1.23E+05
ND: No determinado				

## ANEXO 9

Anexo 9. Resultados concentración y remoción de HFP experimento 3

Charola	Concentración HFP (mg/kg)				Remoción HFP (%)			
	Día 15	Día 30	Día 60	Día 75	Día 15	Día 30	Día 60	Día 75
BRH	13552.98	13060.6	11617.73	8167.8	-46.4	-41.1	-25.5	11.8
BRU	16858.03	14107.98	11304.03	13664.9	-82.1	-52.4	-22.1	-47.6
BRC	12145.18	13097.67	10452.03	9517.6	-31.2	-41.5	-12.9	-2.8

## ANEXO 10

Anexo 10. Resultados concentración y remoción de HFM experimento 3

Charola	Concentración HFM (mg/kg)				Remoción HFM (%)			
	Día 15	Día 30	Día 60	Día 75	Día 15	Día 30	Día 60	Día 75
BRH	15736.26	11677.72	8945.44	9864.47	19.68	40.40	54.34	49.65
BRU	14965.32	12001.88	11182.54	10992.99	23.62	38.74	42.92	43.89
BRC	33579.44	19019.04	15509.65	8418	-71.37	2.93	20.84	57.03