

Eficiencia de la biorremediación de suelos contaminados con Diesel B5 mediante Microorganismo Eficaces (EM)

Bioremediation efficiency of contaminated soils with B5 Diesel by special microorganisms

Recibido: mayo 15 de 2018 | Revisado: junio 18 de 2018 | Aceptado: julio 24 de 2018

FRANK LOROÑA CALDERÓN¹
WALTER GOMEZ LORA
EVILSON JACO RIVERA
CAROL REYNAGA LOAYZA
MILUSKA GUIÑO SINARAHUA
JHONNY GAMARRA TORRES
FIORELLA DÍAZ HUAMAN
NOEMI HUAMAN BUITRON
PAMELA RAFAEL GUTIERREZ
JESÚS MAYTE QUISPE
MONICA MORAN CARHUAPOMA
LUZ CLARA CARHUANCHO ALZAMORA

ABSTRACT

The present investigation has the objective of evaluating the efficiency of the bioremediation through the application of the effective microorganisms (EM) in the types of land uses contaminated with Diesel B5, of agricultural, coastal, urban and riverside origin. The methodology should consist, first, of activating the Microorganism EM for 9 days and then applying it to the contaminated soil. One liter per week of EM Microorganisms activated in the area for 28 days was applied per week in the four types of land uses. The results allowed to determine the efficiency of the bioremediation in the four types of land uses; Obtaining for the urban use floor an efficiency of 41.60% with a decrease of 51 221 mg / kg to 29 911 mg / kg of HTP; for soil for agricultural use, a bioremediation efficiency of 40.06% with a decrease from 35 674 mg / kg to 21 383 mg / kg of HTP; for the land for riverside use an efficiency of 35.05% with a decrease of 7 604 mg / kg to 4 939 mg / kg of HTP and finally the land for coastal use an efficiency of 15.29% with a decrease of 12 973 mg / kg to 10 989 mg / kg of HTP. Likewise, the correlation coefficients between the percentage of organic matter (M.O) and the apparent density (D.A) of the soil were determined with the results of the bioremediation efficiency, obtaining a value of 0.9984 and 0.9496, respectively; Observing a direct and indirect relationship between the variables.

Key words: Bioremediation, Effective Microorganisms (EM), Diesel B5, soil, organic matter, bulk density and Total Oil Hydrocarbons

RESUMEN

La presente investigación tiene el objetivo de evaluar la eficiencia de la biorremediación mediante la aplicación de los microorganismos eficaces (EM) en cuatro tipos de usos de suelo contaminados con Diésel B5, de origen agrícola, costero, urbano y ribereño. La metodología utilizada consistió, primero en activar los Microorganismo EM durante nueve días para luego aplicarlo al suelo contaminado. Se aplicó por aspersión un litro por semana de Microorganismos EM activados sobre el área afectada durante 28 días en los cuatro tipos de usos de suelo. Los resultados permitieron determinar la eficiencia de la biorremediación en los cuatro tipos de usos de suelo; obteniendo para el suelo de uso urbano una eficiencia del 41.60 % con una disminución de 51 221 mg/kg a 29 911 mg/kg de HTP; para el suelo de uso agrícola, una eficiencia de biorremediación del 40.06 % con una disminución de 35 674 mg/kg a 21 383 mg/kg de HTP; para el suelo de uso ribereño una eficiencia de 35.05 % con una disminución de 7 604 mg/kg a 4 939 mg/kg de HTP y finalmente el suelo de uso costero una eficiencia de 15.29 % con una disminución de 12 973 mg/kg a 10 989 mg/kg de HTP. Asimismo, se determinó los coeficientes de correlación entre el porcentaje de materia orgánica (M.O) y la densidad aparente (D.A) del suelo con los resultados de la eficiencia de biorremediación, obteniendo un valor de 0.9984 y 0.9496, respectivamente; observando una relación directa e indirecta entre las variables.

¹ Universidad Nacional Federico Villarreal.
florona@unfv.edu.pe

Palabras clave: Biorremediación, Microorganismos Eficaces (EM), Diésel B5, suelo, materia orgánica, densidad aparente e Hidrocarburos Totales de Petróleo

DOI: <http://dx.doi.org/10.24039/cv201862278>

En el Perú, el derrame de hidrocarburos y las actividades propias de la industria ha generado impactos ambientales negativos en el suelo o cuerpos de agua, sobre todo en la selva peruana ocasionando efectos nocivos en los ecosistemas. Desde el 2000 hasta el 2016, el Perú ha sufrido 60 derrames de petróleo crudo en el Oleoducto Norperuano (Honty, 2016) generando impactos negativos en el suelo con daños irreversibles o con dificultad para ser rehabilitados. Por otra parte, se sabe que la contaminación con hidrocarburos en diferentes ecosistemas se ha incrementado en los últimos años debido al aumento en la actividad de exploración y producción de la Industria Petrolera. En ese sentido, existe un interés por determinar las mejores técnicas disponibles para realizar el tratamiento de los suelos contaminados con hidrocarburos.

En la actualidad, existen numerosas y diferentes tecnologías de remediación de suelos contaminados (Volke, T & Velasco, A, 2002) y se pueden agrupar en 3 tipos: a) biológicos (biorremediación, bioestimulación, fitorremediación, biolabranza, etc.); b) fisicoquímicos (electrorremediación, lavado, solidificación/estabilización, etc.); y c) térmicos (incineración, vitrificación, desorción térmica, etc.). En la mayoría de los casos, la biorremediación es la mejor alternativa para el tratamiento de esta contaminación (Arroyo, 2001), es decir usan diferentes organismos (plantas, levaduras, hongos, bacterias, etc.) para neutralizar sustancias tóxicas, convirtiéndolas en inocuas para el medio ambiente y la salud humana (Guzmán, 2007), también pueden emplear organismos autóctonos del sitio contaminado o de otros sitios (exógenos), puede realizarse in situ o ex situ, en condiciones aerobias (en presencia de oxígeno) o anaerobias (sin oxígeno). Aunque no todos los compuestos orgánicos son susceptibles a la biodegradación, los procesos de biorremediación se han usado para tratar suelos, lodos y sedimentos contaminados con hidrocarburos del petróleo, solventes, explosivos, clorofenoles, pesticidas, conservadores de madera e hidrocarburos aromáticos policíclicos, en procesos aeróbicos y anaeróbi-

cos (Martínez, A., Pérez, E., Pinto, J., Gurrola, B. & Rodríguez, A. 2010).

Al respecto existen varias alternativas de biorremediación, dentro de ellas tenemos a los microorganismos eficaces (EM), que vienen a ser un inoculante microbiano, que reestablece el equilibrio microbiológico del suelo, mejorando sus condiciones fisicoquímicas (Aprolab, 2007). Fueron desarrolladas en la Universidad de Ryukyus, Okinawa, Japón, por el Dr. Teruo Higa en los años ochenta; básicamente constituyen una mezcla de microorganismos benéficos; es decir, que no dañan al hombre ni el ambiente que lo rodea (Kyan, Shintani, Kanda, Sakurai, Ohashi, Fujisawa, & Pongdit, 1999). El Dr. Higa encontró que se creaba un efecto potenciador al mezclar microorganismos con diversas características metabólicas (Cardona & García 2008).

Los principales microorganismos que los componen son las bacterias *Rhodospseudomonas spp*, que mediante la fotosíntesis sintetizan sustancias útiles de secreciones de raíces, materia orgánica y gases dañinos (Hughes, 2007); las bacterias ácido-lácticas (*Lactobacillus spp*), que fermentan los hidrocarburos produciendo una amplia variedad de sustancias con acción antimicrobiana (Muñoz, 2010); y las levaduras (*Saccharomyces spp*), facilitan la degradación de hidrocarburos por parte de otros grupos microbianos, jugando así un rol importante en estos procesos. Estos también pueden ser utilizados como inoculantes para incrementar la capacidad microbiana de suelos y plantas mediante el uso de Bokashi (biofertilizante sólido), EM-Compost, pulverizando EM directamente al suelo o aplicándolo en el agua de riego (OISCA-International, 2009); con la finalidad de degradar hidrocarburos en cadenas carbonosas más simples y la consecuente volatilización de estos, reduciendo los impactos negativos mencionados anteriormente.

Dichos microorganismos transforman y metabolizan aeróbicamente los hidrocarburos y otros compuestos orgánicos como el dióxido de carbono, agua y fuentes de alimento para

sustentar su crecimiento y reproducción, es decir, la biodegradación ocurre naturalmente. Es conocido que los microorganismos tienen la capacidad de adaptarse y eventualmente degradar cualquier compuesto orgánico natural sin asistencia del hombre; sin embargo, esta adaptación requiere la presencia de condiciones ambientales apropiadas tales como el pH, temperatura, el aceptor final de electrones (que en procesos aeróbicos es el oxígeno), concentraciones de contaminante no tóxicas para los microorganismos y adecuadas condiciones de humedad y conductividad del medio, entre las más importantes. La ausencia de alguna o varias de las anteriores condiciones puede limitar parcial o totalmente la actividad biológica y es cuando la mano del hombre juega un papel fundamental en la optimización del proceso, ya sea mejorando estas condiciones para aumentar la población de microorganismos (Bioaumentación) y/o manipulando genéticamente los microorganismos para la degradación específica de algunos compuestos químicos (Torres & Zuluaga, 2009).

En el presente trabajo de investigación se evaluó la eficiencia de la biorremediación de los microorganismos eficaces (EM) en cuatro tipos de usos de suelo contaminados por Diésel B5, el cual es un combustible derivado del petróleo usado generalmente en motores de vehículos para el transporte terrestre (automóviles, camiones, ómnibus, etc.), en plantas de generación eléctrica, en equipos para la industria general (minería, pesquería, construcción, etc.) y entre otros más (Petroperú, 2018). Para ello se construyó cuatro prototipos que permiten simular un derrame de hidrocarburo Diésel B5, el cual consistió en un contenedor de vidrio de iguales características donde se vertió suelo de origen urbano, agrícola, ribereño y costero en sus respectivos prototipos.

Esta investigación nos permitió observar el nivel de dispersión del contaminante en el suelo, además de realizar la medición del pH (de manera semanal), temperatura (cuatro veces al día), y determinar la eficiencia del bioremediación mediante bacterias EM, evaluando la concentración inicial y final del parámetro hidrocarburos totales (mg/kg MS) antes y después de la aplicación de los microorganismos eficaces (EM). Asimismo, con dichos resultados se determinó los coeficientes de correlación entre el porcentaje de materia orgánica y la densidad aparente del suelo con el porcentaje de eficiencia de biorremediación obtenido.

Método

En el presente apartado se describen los materiales utilizados, así como el desarrollo de la metodología aplicada por fases; desde el diseño del contenedor, vertimiento del Diésel B5, hasta la aplicación de las bacterias EM.

Materiales

Recolección de muestras

Las herramientas utilizadas para la recolección de las muestras de los cuatro tipos de usos de suelo seleccionados fueron: 16 unidades de costales de 50 kg, ocho picotas, cuatro palas rectas y cuatro unidades de wincha marca Stanley de 50 m.

Diseño del contenedor

Se diseñó un contenedor de vidrio con las medidas de 70 x 50 x 60 cm de largo, ancho y alto respectivamente, un grosor de 5 mm y un agujero de 3 cm de diámetro a una altura de 47 cm en uno de los lados menores del contenedor.

Tabla 1
Materiales para el diseño e instalación del prototipo

Materiales	Descripción
5 Láminas de vidrio	- 60 x 70 cm (2 unidades) - 60 x 50 cm (2 unidades) - 70 x 50 cm (1 unidad)
Tubo de PVC	Se usó 20 cm del tubo $\frac{3}{4}$ de agua para cada contenedor. Cantidad: 1
Botella	Capacidad: 700 ml Material: plástico Cantidad: 4.
Conectores	Diámetro: $\frac{3}{4}$ pulgadas Cantidad: 4
Pegamento	Cantidad: 4 frasco
Balde	Capacidad: 20 litros Cantidad: 1
Galoneras	Cantidad: 8 Capacidad: 8 galones (3.78 l. C/u)
Balanza	Capacidad de 6 kg. Resolución 0,1 g Cantidad: 4

Vertimiento del Diésel B5

Se realizó el vertimiento de un (1) galón de Diesel B5 por cada tipo de uso de suelo, es decir un total de cuatro (4) galones para los cuatro tipos de uso de suelo contaminados.

Preparación y Activación de EM

Insumos y materiales utilizados en la preparación y activación de los microorganismos EM, para su aplicación en las muestras de suelo.

Tabla 2

Insumos y materiales para la preparación y activación de EM

Materiales	Cantidad	Unidad
Microorganismos eficaces (EM-compost)	1	Litro
Melaza	1	Litro
Agua	18	Litro
Balde	20	Litro
Agitador	1	Und.
Jarra graduada	2	Litro
Galoneras	4	Unid.

Aplicación de Microorganismos EM

Materiales utilizados para la aspersión de

los microorganismos EM en los suelos contaminados.

Tabla 3
Materiales para la Aplicación de EM

Materiales	Cantidad	Unidad
Botella	4	Unid.
Aspersor	4	Unid.
Microorganismos EM activados	20	Litros

Instrumentos y materiales de Laboratorio

Materiales utilizados en el control y mo-

nitoreo de los parámetros evaluados (temperatura, pH, dispersión) en las muestras de suelo.

Tabla 4
Instrumentos y materiales de laboratorio

Materiales	Cantidad	Unidad	Material	Marca
Luna de reloj	4	Unid.	Vidrio	-
Tamizador	4	Unid.	-	-
Balanza analítica	1	Unid.	-	Balanza digital Cavory
Vaso precipitado	4	50 ml c/u	Vidrio	-
Agua destilada	400	Mililitros	-	-
Potenciómetro portátil	1	Unid.	-	pH meter Incertidumbre: +/- 0.1 pH +/- 1 °C
Probeta	100	Mililitros	Vidrio	-
Agitador magnético	1	Unid.	-	Boeco Serie MMS-300

Muestreo de suelo

Se realizó el muestreo del suelo contaminado con Diesel B5, mediante el método de cuadrícula para tener una muestra aleatoria representativa del suelo contaminado y posteriormente se realice el análisis de laboratorio respectivo.

Tabla 5
Materiales para el muestreo de suelo

Materiales	Cantidad	Unidad
Frasco ámbar	8	Unid.
Cadena de custodia	8	Unid.
Ice Pack	8	Unid.
Papel aluminio	8	Unid.
Guantes	8	Unid.
Caja Tecnopor	8	Unid.

Metodología

Primera fase

Instalación del contenedor

El Diseño del prototipo (Figura 1) consistió en elaborar un contenedor de 70 x 50 x 60 cm de largo, ancho y alto respectivamente, en el cual se pueda realizar el vertimiento de suelo sin contaminación, donde posteriormente se verterá el combustible Diesel B5, y evaluar la eficiencia de tratamiento de los microorganismos EM en diferentes tipos de usos de suelo como urbano, agrícola, ribereño y costero, el diseño se muestra a continuación:

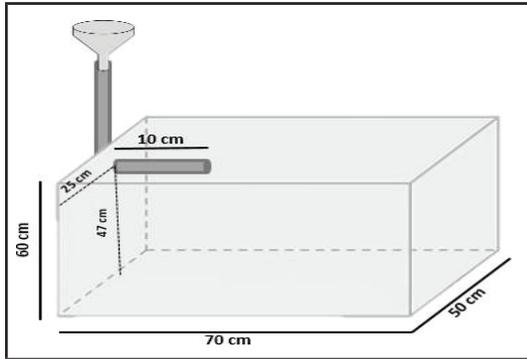


Figura 1. Diseño del prototipo de origen de contaminante

Una vez que se elaboró el vidrio se procedió a verter el suelo sin contaminación como se muestra en la Figura 4, con el propósito de que al momento de verter el combustible Diesel B5 este cubra gran parte de la superficie del suelo.

Obtención de la muestra de suelo no contaminada

La obtención de las muestras de suelo no contaminada se obtuvo en lugares que no presentaban evidencia de haber sido impactado por derrames de combustibles u otra sustancia



Figura 3. Calicata realizada para la obtención de suelo. Suelo agrícola

En la Tabla 6 se muestra las coordenadas UTM WGS 84 Zona 18L de los puntos de calicata, para los cuatro tipos de usos de suelo (Guía del Ministerio de Ambiente MINAM, 2014).

Llenado del contenedor

Antes de colocar la muestra de suelo en el contenedor, se quitará algunas malezas o rocas



Figura 2. Contenedor en proceso de instalación

peligrosa, la ubicación de los puntos de recojo del suelo se muestran a continuación:

Tabla 6

Puntos de toma de suelos no contaminados

Tipo de uso de Suelo	Coordenadas UTM WGS 84 Zona 18L	
	Este (m)	Norte (m)
Agrícola	321 856	8 604 968
Ribereño	314 662	8 679 437
Costero	265 081	8 686 361
Urbano	275 389	8 681 244



Figura 4. Llenado del suelo en el contenedor

de gran dimensión y se pesará la tierra. La cantidad tipo de suelo es variada, por su densidad.

Segunda fase

Activación de los Microorganismos EM

Los grupos microbianos EM están concentrados en estado latente (inactivo) en un medio de

cultivo, para su conservación a largo plazo, por lo tanto, antes de usarlo, hay que activarlo, quiere decir obtener “productos secundarios” de los microorganismos EM. El cual puede obtener mayor población de microorganismos benéficos y también puede minimizar el costo (Emprotec, 2012).

Para su elaboración se vertió un litro de melaza, un litro de microorganismos EM y 18 Litros de agua en un recipiente de 20 litros de capacidad máxima. Posteriormente, se realizó la mezcla siguiendo las medidas de seguridad correctas (guantes, bata, mascarilla, lentes de protección, etc.), empleando una vara de 1.5 metros de largo para mezclar la solución.

Para finalizar se vació la mezcla en bidones de cuatro litros con tapa hermética y se

dejó fermentar a una temperatura ente 25°C y 40°C, según el manual técnico, también se monitoreó el pH de la mezcla hasta que alcance un valor de cuatro o menos, lo que indicará que los microorganismos están en etapa de crecimiento utilizando como sustrato activador a la melaza.

Antes de aplicar la solución de microorganismos EM se midió el pH (Figura 7) para verificar si ya se encontraba activado, dándonos un valor de 2,77de pH aproximadamente. Con el resultado del pH verificamos que las bacterias se encuentran activadas para realizar la aspersión en el suelo contaminado y realizar la biorremediación. (Microorganismos Eficaces TM, 2018)



Figura 5. Activación de Microorganismo EM



Figura 6. Bidones como Microorganismo EM en proceso de activación



Figura 7. Medida de pH. Se obtuvo 2,77 en el quinto día a su preparación

Tercera fase

Vertimiento de Diésel B5

Previo al vertimiento, se utilizaron los equipos de protección personal como son los guantes, mascarillas y guardapolvo, para evitar

cualquier contacto directo con el combustible o inhalar vapores. Posterior a ello, se procedió a verter el combustible por el ducto de la tubería del prototipo, el volumen vertido fue de un (1) galón de combustible Diésel B5. En las siguientes fotografías se aprecia el vertimiento del combustible en los diferentes tipos de usos de suelo:



Figura 8. Vertimiento del Diesel B5 en el suelo de origen agrícola



Figura 9. Vertimiento del Diesel B5 en el suelo de origen costero



Figura 10. Vertimiento del Diesel B5 en el suelo de origen urbano



Figura 11. Vertimiento del Diesel en el suelo de origen ribereño

Dispersión de combustible Diésel B5 en el suelo

Inmediatamente después del vertimiento del combustible, se observó el comportamiento del contaminante Diésel B5, a través

de la dispersión, en el suelo impactado. Seguidamente, se comenzó a realizar las mediciones de dispersión, para cada lado del prototipo (A, B, C, D), tomando en cuenta el punto más bajo, con respecto a cada lado correspondiente.



Figura 12. Dispersión del Diésel B5. Los cuatro primeros días, suelo agrícola



Figura 13. Dispersión del Diésel B5. Los 4 primeros días, suelo urbano



Figura 14. Dispersión del Diésel B5. Los 4 primeros días, suelo ribereño



Figura 15. Dispersión del Diésel B5. Los 4 primeros días, suelo costero

Cuarta fase

Muestreo de suelo

Los muestreos de suelo se realizaron por el método del cuarteo según indica la Guía para el Muestreo de Suelos Contaminados del Ministerio del Ambiente (Minam, 2014), para el cual se tomó porciones de suelo en seis puntos del prototipo (Figura 16) de aproximadamente 6 cm de profundidad y ¼ de kg por cada uno, teniendo en cuenta la profundidad de penetración del combustible, luego se procedió a mezclar y cuartear para obtener una muestra representativa del suelo contaminado (Figura 18). Las porciones de muestra resultantes del cuarteo fueron destinadas al laboratorio con el fin de determinar la cantidad de Hidrocarburos Totales de Petróleo y el pH como se muestra.

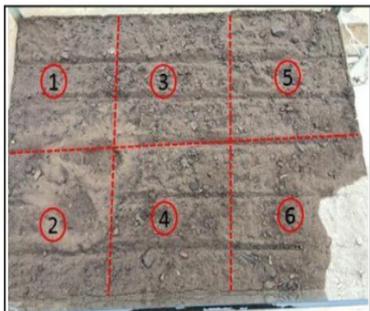


Figura 16. Puntos de muestreo de suelo



Figura 17. Obtención de la muestra



Figura 18. Traslado para su posterior análisis

Tabla 7

Fechas del muestreo de suelo

Parámetro	Hidrocarburo	Total de Petróleo
Fechas de medición	Muestra inicial 13/10/18	Muestra final 10/11/2018

La determinación del pH se realizó con una frecuencia de una vez por semana antes de la aplicación de cada las dosis de EM al suelo contaminado, teniendo como resultado final cinco mediciones durante los 28 días de tratamiento.

El muestreo de suelo inicial se realizó antes de aplicar la dosis correspondiente de lo microorganismos EM . Por otro lado, la muestra final corresponde a una muestra al término del plazo de tratamiento determinado para el presente trabajo, la secuencia de la toma de muestreo de suelo se muestra a continuación:

Aplicación de los microorganismos EM

El procedimiento utilizado fue la aspersión de manera homogénea (Figura 20). La frecuencia de aplicación fue de una (1) vez por semana durante cuatro (4) semanas de tratamiento, siendo en total cuatro (4) dosis de microorganismo EM. La dosis de microorga-

nismos EM aplicada al suelo contaminado se determinó utilizando la siguiente ecuación:

- Donde:
- = Peso del suelo contaminado
- Volumen EM activado
- = Peso tierra total removida



Figura 19. Envase con 1 litro de microorganismos EM para la aspersión en el área afectada de suelo



Figura 20. Aspersión de los microorganismos EM en el área afectada, suelo urbano



Figura 21. Aspersión de los microorganismos EM en el área afectada, suelo costero



Figura 22. Aspersión de los microorganismos EM en el área afectada, suelo agrícola



Figura 23. Aspersión de los microorganismos EM en el área afectada, suelo ribereño



Figura 24. Medición del parámetro pH de suelo contaminado

Control de temperatura del suelo

Para medir las temperaturas, se dispuso de un termómetro de alcohol para suelo. La medición de temperaturas se dio después del ver-

timiento. Se registró las temperaturas a lo largo de cada día, en intervalos de cuatro horas, siendo las horas predilectas 6:30 a.m. – 10:30 a.m.- 2:30 p.m. – 6:30 p.m. – 10:30 p.m. No se consideró las horas nocturnas.

Determinación del pH del suelo

En el laboratorio se tamizó la muestra para separar pequeñas rocas u otros componentes, y se pesó 10 gramos de suelo tamizado para mezclarlo con 25 ml de agua destilada en un vaso precipitado. Para liberar iones del suelo, la mezcla se lleva a un agitador magnético por 20 minutos, cumplido el tiempo se deja reposar la mezcla por cinco minutos para separar la parte líquida de la sólida, para luego ser atraída en un vaso precipitado pequeño, y proceder a medir el pH.

Antes de utilizar el potenciómetro se acondicionó con agua destilada, eliminando cual-

quier otra sustancia del sensor que influya en la medición. Como se muestra en la Figura 24. Finalmente se colocó el sensor del potenciómetro dentro de la solución acuosa y se esperó unos minutos hasta que arroje un valor constante.

Resultados

Hidrocarburos totales de petróleo (HTP)

En la Tabla 8 se muestran los resultados obtenidos de análisis del parámetro Hidrocarburo Total de Petróleo (HTP) durante el inicio y final del proceso de remediación ambiental del suelo contaminando con Diesel B5.

Tabla 8

Resultado del parámetro Hidrocarburo Total de Petróleo (HTP) concentración al inicio y fin de la biorremediación.

Uso de Suelo	Textura	HTP (mg/kg)		Eficiencia del tratamiento (%)	ECA Suelo Fracción de hidrocarburo F3 (C28-C40) ⁽¹⁾		
		Muestra inicial	Muestra final		Suelo Agrícola	Suelo Residencial/Parques	Suelo Comercial/Industrial/Extractivo
Urbano	Arcilla limosa	51 221	29 911	41.60%			
Agrícola	Franco limoso	35 674	21 383	40.06%			
Ribereño	Franco arcillo limoso	7 604	4 939	35.05%	3000	3000	6000
Costero	Franco arenoso	12973	10 989	15.29%			

Fuente: Informe de ensayo N° 125888-2018 y 126410-2018; Informe de ensayo N° 125904-2018 y 126894-2018; Informe de ensayo N° 125902-2018 y 126461-2018 ; Informe de ensayo N° 126024-2018 y 126436-2018 , realizado en un Laboratorio debidamente acreditados por Instituto Nacional de Calidad en el Perú (INACAL) con registro N° LE-047. (1) Estándar de Calidad Ambiental para Suelo aprobado mediante Decreto Supremo N° 011-2017-MINAM.

En la Tabla 8 se observa la concentración de Hidrocarburos Totales de Petróleo (HTP) presente en las muestras de suelo, tanto en la muestra de inicial y después de la biorremediación. Respecto al resultado se observa que el suelo urbano tiene una concentración de

HTP de 51 221 mg/kg antes de aplicar los microorganismos EM, respecto al suelo ribereño evidenció menor concentración de TPH con un valor de 7604 mg/kg. Posteriormente, se explicará cómo se determinó la eficiencia encontrada en la biorremediación.

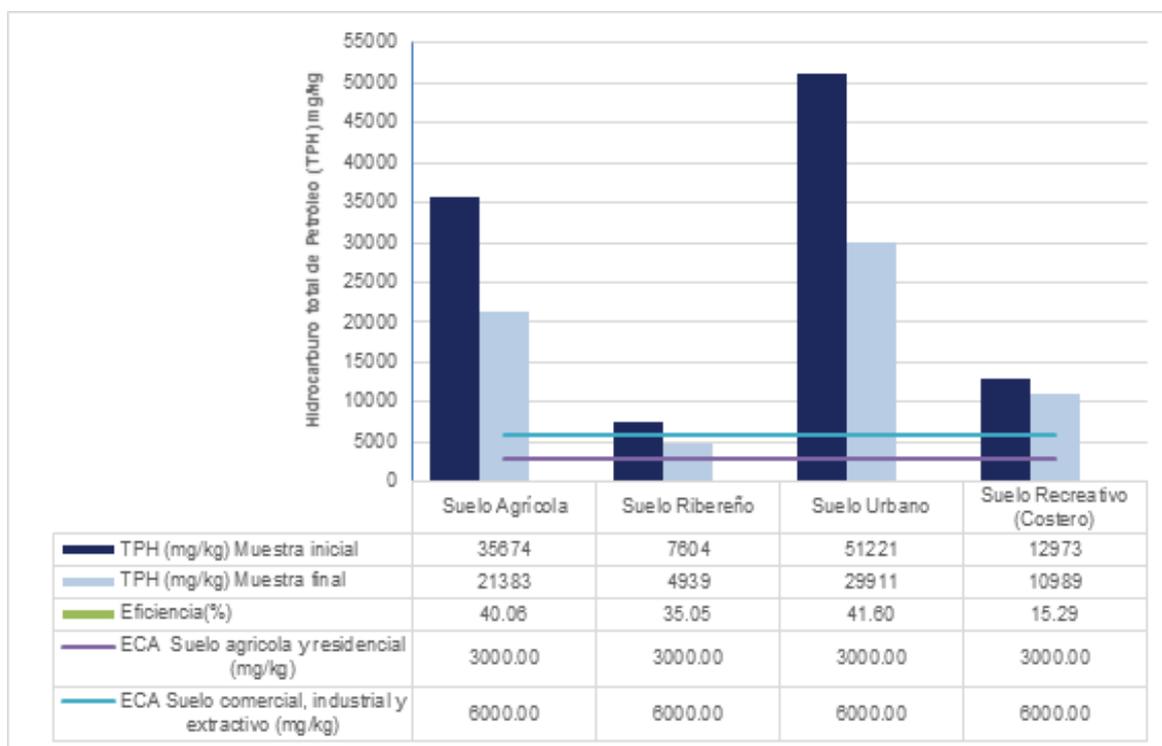


Figura 25. Concentración de HTP (mg/Kg), inicial y final, en los diferentes tipos de usos de suelo.

En la Figura 25 se muestra los resultados de los Hidrocarburos de Petróleo Totales (HTP) en los distintos tipos de usos de suelo estudiados adaptada a la información que brinda el informe de análisis del Laboratorio.

Eficiencia y materia orgánica

A continuación, se describe la eficiencia de la biorremediación de los microorganismos EM en los distintos tipos de usos de suelo analizados, de acuerdo al porcentaje materia orgánica estimado por tipo de usos de suelo.

Tabla 9

Resultados de la eficiencia de la biorremediación y valores de la Materia orgánica (M.O.) presente en cada tipo de usos de suelo

Uso de suelo	M.O. (%)	Eficiencia (%)
Urbano	2.09%	41.60%
Agrícola	2.12%	40.06%
Ribereño	1.76%	35.05%
Costero	0.69%	15.29%

Fuente: Sistema Unificado de Clasificación de Suelos – SUCS.

Al respecto, se determinó una correlación lineal entre la eficiencia (E%) de biorremediación de los microorganismos eficaces (EM) y la materia orgánica, dicha ecuación es la que se muestra a continuación.

$$E(\%) = 18.058 * M.O(\%) + 0.0293$$

Donde:

E (%): Eficiencia de biorremediación

M.O (%): Porcentaje de Materia orgánica aprox

Este indica que, a mayor cantidad de materia orgánica, mayor eficiencia habrá en la remoción biológica de Hidrocarburos Totales de Petróleo, como se muestra a continuación:

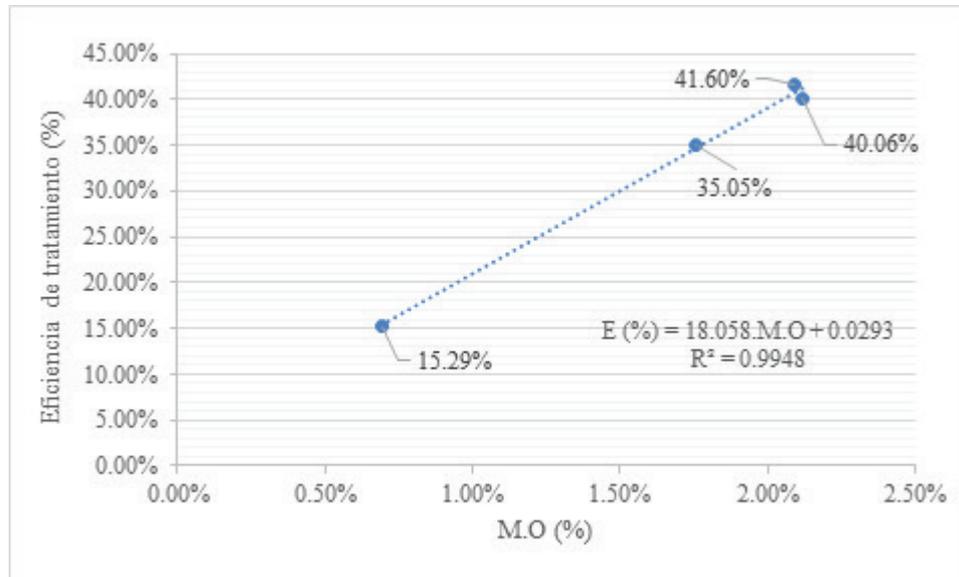


Figura 26. Correlación entre la eficiencia de la biorremediación (%) y la Materia orgánica (%) por tipo de uso de suelo.

De la correlación lineal observada entre la eficiencia de la biorremediación y el porcentaje de materia orgánica presente en cada tipo de suelo, se observa una correlación de 0.9984 un coeficiente de correlación próximo al uno, que asegura una correlación matemática muy próxima a un comportamiento real de dicha relación.

Eficiencia y densidad aparente

La densidad aparente es la relación entre la

masa del suelo secado en horno y el volumen global, que incluye el volumen de las partículas y el espacio poroso entre las partículas. Es dependiente de las densidades de las partículas del suelo (arena, limo, arcilla y materia orgánica) y de su tipo de empaquetamiento. Esta propiedad varía con la condición estructural del suelo, pudiendo ser alterada por cultivación; pisoteo de animales; maquinaria agrícola; y clima, por ejemplo, por impacto de las gotas de lluvia.

Tabla 10

Clases texturales del suelo (USDA) y su densidad aparente ideal (g/cm³)

Clase textural	D.A. (g/cm ³)	Clase textural	D.A. (g/cm ³)
Arenosa	1.60 – 1.70	Franco arcillo arenosa	1.45 – 1.55
Areno francosa	1.55 – 1.70	Franco arcillosa	1.40 – 1.50
Franco arenoso	1.50 – 1.60	Franco arcillo limosa	1.45 – 1.55
Franco	1.45 – 1.55	Arcillo arenosa	1.35 – 1.45
Franco limoso	1.45 – 1.55	Arcilla limosa	1.40 – 1.50
Limoso	1.40 – 1.50	Arcilla	1.25 – 1.45

Fuente: Adaptado de USDA, “General Guide for Estimating Moist Bulk Density”

En este apartado se muestra los resultados de la eficiencia de remoción de HTP para los

cuatro tipos de usos de suelo y la comparación con sus respectivas densidades aparentes.

Tabla 11

Resultados de la eficiencia de la biorremediación y la densidad aparente (g/cm³) en los distintos tipos de usos de suelo analizados.

Usos de suelo	Clase textural	Densidad aparente (g)	Eficiencia (%)
Urbano	Franco Limoso	1.48	41.60%
Agrícola	Franco Arcillosa	1.45	40.06%
Ribereño	Franco Arcillo Limosa	1.50	35.05%
Costero	Franco Arenosa	1.55	15.29%

Para indicar la eficiencia (E%) de biorremediación de los microorganismos eficaces (EM) se utilizó la siguiente ecuación:

$$E (\%) = -2.477 * D.A \left(\frac{g}{cm^3} \right) + 4.0455$$

Donde:

E (%): Eficiencia

D.A: Densidad aparente

Se puede apreciar que la eficiencia de remoción del hidrocarburo es menor con el aumento de la densidad aparente del suelo en los diferentes tipos de usos de suelo.

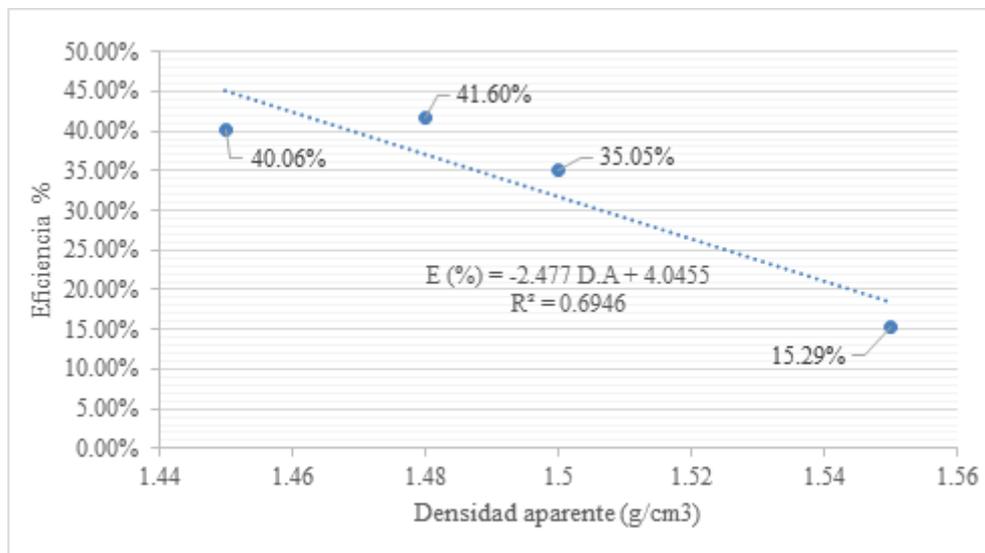


Figura 27. Eficiencia (%) Vs Densidad aparente (g/cm³)
Elaboración propia

Correlación fuerte de la eficiencia de remoción de Hidrocarburo y la Densidad Aparente, detallada en la línea de tendencia de orden lineal que es próxima al coeficiente de determinación con valor a la unidad.

Temperatura media diaria

Se registraron las temperaturas durante

un intervalo de cuatro semanas, de las cuales se tomó las medias diarias a las profundidades de 5cm, 10cm y 15cm. Los datos obtenidos coinciden con las medias diarias durante el periodo de estudio en los tipos de usos de suelo, los resultados obtenidos se muestran a continuación:

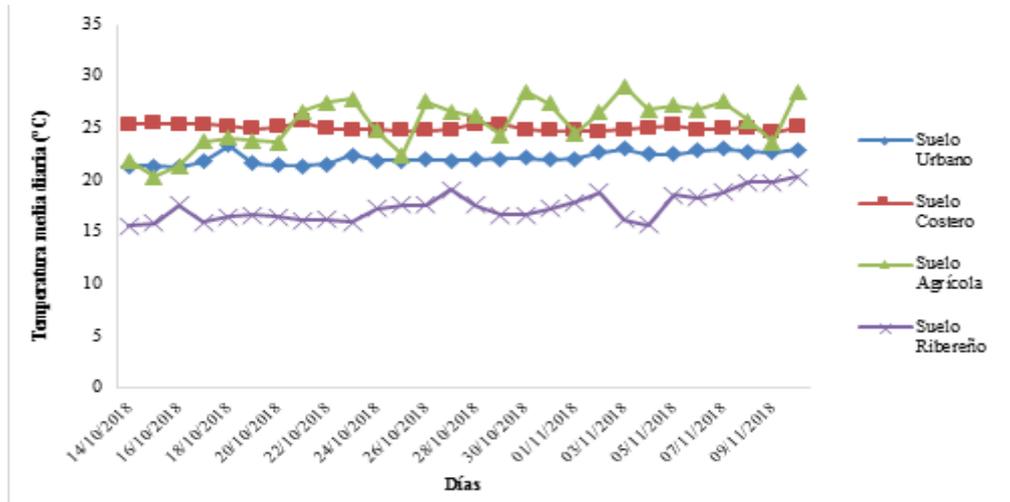


Figura 28. Temperatura media diaria durante el tratamiento por tipo de suelo

Potencial de hidrógeno (pH)

Se observa que en el suelo de uso ribereño a medida que pasaban las semanas el pH disminuyó a diferencia que los otros tipos de

usos de suelos. Los otros tipos de usos de suelos tuvieron un pH que se mantenía en el valor de 6,78 en la primera semana y de pH 7, 15 en la última semana. Los resultados se muestran a continuación:

Tabla 14

Resultados del pH y la temperatura media semanal (°C) tomados en los días 14, 21, 28 de octubre y 4 de noviembre del 2018, en los distintos tipos de usos de suelo.

Tipos de usos de suelo	14-oct		21-oct		28-oct		04-nov	
	pH	°T	pH	°T	pH	°T	pH	°T
Costero	6.83	25.27	6.16	24.96	7.27	24.95	7.15	24.97
Agrícola	6.78	22.69	7.14	26.19	7.36	26.63	7.55	26.28
Urbano	7.06	21.74	8.49	21.81	8.56	22.20	8.57	22.68
Ribereño	7.07	16.40	7.02	17.13	6.58	17.30	6.18	18.25

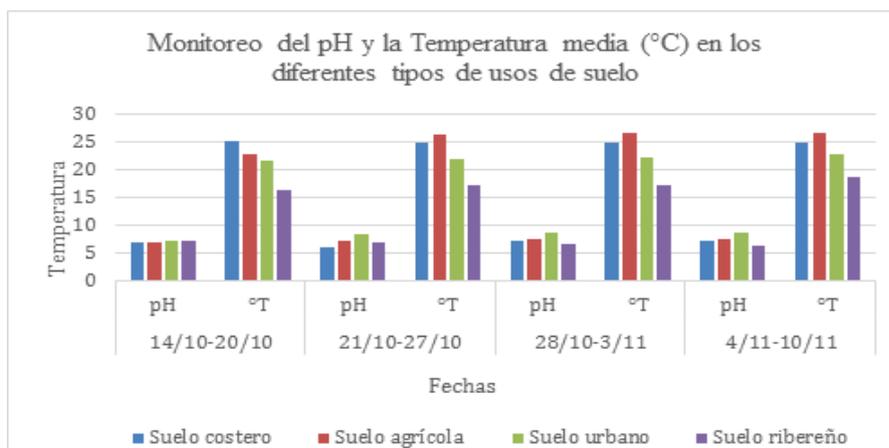


Figura 29. Monitoreo del pH y la temperatura media (°C) en los diferentes tipos de usos de suelo

Elaboración propia

La Figura 29 muestra los resultados del monitoreo del pH y la temperatura media semanal (°C) tomados en los días 14, 21, 28 de octubre y 4 de noviembre del 2018, en los distintos tipos de usos de suelo.

En las Figuras 30, 31 y 32 se observan que



Figura 30. Suelo agrícola, el día 28 del monitoreo. Donde se observa como quedó luego de los 28 días de biotratamiento



Figura 31. Suelo agrícola, el día 28 del monitoreo en el cual se observa como quedó luego de los 28 días de biotratamiento



Figura 32. Suelo ribereño, el día 28 del monitoreo. Donde se observa como quedó luego de los 28 días de biotratamiento

Discusión

Los resultados indican que la eficiencia de remoción de Diésel B5 es mayor en el suelo de uso urbano (41.06%), seguido por el agrícola (40.06%), ribereño (35.05%) y por último, el suelo costero (15.3%), cabe resaltar que los cuatro tipos de usos de suelos contaminados fueron sometidos a 28 días de biotratamiento con microorganismos eficaces (EM), concordando con los resultados de Cardona, S. et al (2009) que obtuvo una eficiencia de reducción en la concentración de los Hidrocarburos Totales de Petróleo (HTP) del 64.92 % en un periodo de 90 días para un tratamiento por bioaumentación en un suelo contaminado con una mezcla de gasolina – Diésel y Colca (2017), que aplicó en 30 días Microorganismos EM en suelo con aguas residuales oleosas en Huarochiri – Jicamarca, agregando 50% de hidrocarburos, 5 ml de EM, 1 g de nutrientes y 10 ml de sales al suelo redujo el contenido de HTP en un 51.15 %.

las muestras, de acuerdo al tipo de usos de suelo, han cambiado la coloración oscura que tenían al inicio del tratamiento. En los 28 días de biotratamiento vuelven a tener la misma textura que tenían antes del vertimiento de Diésel B5.

De lo expuesto se puede inferir que la eficiencia obtenida en los tres primeros tipos de usos de suelo es acorde a lo antes expuesto, sin agregar ninguna sustancia que fortalezca la acción de los microorganismos se obtuvo porcentajes considerables; sin embargo, no lograron alcanzar los valores objetivos establecidos en los Estándares de Calidad Ambiental para suelo aprobado mediante Decreto Supremo N° 011-2017-MINAM. Además, Colca (2017) menciona que el tiempo de tratamiento es fundamental ya que la adaptación de estos microorganismos es distinta según el medio al que ingresen y la concentración del hidrocarburo que se tenga, por lo tanto, será necesario un mayor tiempo para obtener mejores resultados.

Comparando lo mencionado anteriormente se puede inferir que el suelo de uso costero por tener propiedades fisicoquímicas específicas requerirá un periodo de tiempo más largo de tratamiento ya que se obtuvo

un porcentaje de remoción menor del 30%. Respecto a la relación entre el contenido de materia orgánica en los suelos de estudio y eficiencia de remoción de HTP se encontró un mayor contenido de materia orgánica en el suelo de uso urbano (2.25%) seguido de los suelos agrícola (2.07%), ribereño (1.76%) y costero (0.93%), siguiendo la misma tendencia de la eficiencia de remoción de HTP en los respectivos suelos, esto indica que al contener mayor cantidad de materia orgánica el suelo obtendrá mayor eficiencia en el proceso de biorremediación.

Respaldao lo mencionado, según Piedrabuena, P (2003), es una combinación de microorganismos beneficiosos de cuatro géneros principales: Bacterias fototróficas, levaduras, bacterias productoras de ácido láctico y hongos de fermentación. Estos microorganismos efectivos cuando entran en contacto con materia orgánica secretan sustancias beneficiosas como vitaminas, ácidos orgánicos, minerales quelatados y fundamentalmente sustancias antioxidantes.

Además, mediante su acción cambian la micro y macroflora de los suelos y mejoran el equilibrio natural, de manera que los suelos causantes de enfermedades se conviertan en suelos supresores de enfermedades. Asimismo, el autor indica que la aplicación de los microorganismos eficaces (EM) en el suelo retiene más agua, este cambio implica una mejora de los cultivos que incrementan su resistencia al estrés hídrico en épocas de sequía o en suelos más arenosos, esta mejora viene dada tanto por el incremento de materia orgánica en el suelo, reduciendo la porosidad, como consecuencia de la actividad microbiana, como por el equilibrio iónico que aporta los EM al suelo, favoreciendo así la interacción de las cargas superficiales de la estructura física del suelo con las cargas iónicas del agua. De esta manera se logró ratificar la importancia que tiene la materia orgánica reforzando la acción de los microorganismos eficaces, sirviendo a estos como principal fuente de alimento para su desarrollo y establecimiento.

Según la FAO (2009), el valor de la Densidad Aparente (D.A). estima el grado de compactación de un suelo. Si este presenta valores muy altos de densidad aparente es indicador de un ambiente pobre para el crecimiento de raíces, con muy poca aireación y con escasa capacidad de infiltración del agua por el fuerte grado de compactación que tiene. En la presente investigación lo antes señalado se encontraría acorde a los resultados obtenidos donde el suelo de uso urbano con una textura franco limoso de una D.A de 1.48 g/cm³ presentó una eficiencia de 41.60%; el suelo agrícola con una textura Franco Arcillosa, de una D.A 1.45 g/cm³ presentó una eficiencia de 40.06%; el suelo ribereño con una textura Franco Arcillo Limosa, de una D.A 1.50 g/cm³ presentó una eficiencia de 35.05%; y por último el suelo costero con una textura franco arenosa, de una D.A 1.55 g/cm³ presentó una eficiencia del 15.29 %.

A partir de lo mencionado anteriormente, se colige que la eficiencia y la densidad aparente (D.A) tienen una relación inversa. El suelo de uso costero presenta la menor eficiencia por su alto grado de compactación y por su baja porosidad, no permitiendo el desplazamiento, aireación y libre desarrollo de los microorganismos (EM) por lo tanto la eficiencia de la biorremediación es menor que en los tipos de usos de suelo que tienen un menor grado de compactación.

Durante el periodo de biorremediación de los tipos de usos de suelo contaminados, la oscilación de temperatura fue entre 15°C y 28°C, presentando menores temperaturas el suelo de uso ribereño (15°C – 19°C) y mayores en el suelo de uso agrícola (20 – 28°C), según estudios, la temperatura afecta significativamente la actividad metabólica de los microorganismos y la tasa de biodegradación siendo un factor condicionante en las interacciones biológicas y de supervivencia para que se desarrollen con eficacia, además que el medio debe mantenerse en condiciones mesófilas de a 20 a 30°C con un pH de 6.5 a 8.5, para el caso los microorganismos EM se acepta la

temperatura entre 25°C - 40 °C (Bohórquez, & Corredor, 2015) (Romero & Vargas, 2017) (Torres & Zuluaga, 2009) .

De acuerdo a lo expuesto, se confirma que la temperatura registrada durante el periodo de biorremediación ha sido óptima para el desarrollo y crecimiento de los microorganismos EM. Reforzando lo antes mencionado se hace referencia al estudio realizado por Rodríguez (2009), quien también aplica microorganismos eficaces (EM) en suelos con derrame de Diésel D2, conocido como ACMP (aceite combustible para motor), en la quebrada de Camaná y logra un porcentaje de 97.02% de remoción en 4 meses de tratamiento, el autor señala una relación importante en cuanto a la temperatura, cuando esta sea mayor, se propiciará un ambiente favorable para la actividad bacteriana y se agilizará el proceso de consumo de materia orgánica, en este caso del hidrocarburo. Por lo tanto, se puede admitir que aplicar este tratamiento biológico en lugares más calurosos favorecerá en el proceso natural de los microorganismos EM y se verá reflejado en el porcentaje de eficiencia de tratamiento.

Los valores de pH alcanzados durante el proceso de biorremediación estuvieron dentro un rango de 6 a 8, siendo este un dato óptimo debido a que estos resultados favorecen a la proliferación y crecimiento de bacterias, especialmente aquellas de naturaleza ácido-láctica, según el artículo "Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta" elaborado por Constanza, Antolinez, Bohórquez y Corredor desarrollado en el 2015, sostiene que la presencia de materia orgánica y la temperatura son fundamentales para el metabolismo de las bacterias, siendo este último aspecto un factor condicionante en las interacciones biológicas, haciendo que se desarrollen con eficacia en un rango de 20 a 30 °C y en un pH de 6,5 a 8,5, aunque según Gurdián , M. & Johanning, T. (2002) no se consideran buenos parámetros para definir el desarrollo biológico en tipos de suelos con baja tasa de microorganismos particulares del mismo. Dible, J.&Bartha, R.,

(1979) explican que en general el máximo crecimiento de la mayor parte de los microorganismos es dentro de un intervalo de pH entre 6 y 8, en consecuencia, cuando mayor sea la diversidad de microorganismos existentes, potencialmente mayor será el rango de tolerancia al pH.

En cuanto a los parámetros físicos concordamos con Gurdián & Johanning (2002), quienes evaluaron el uso de microorganismos EM en desechos de lodos provenientes del refinamiento de petróleo, mencionan que aquellos mejoran física, química y biológicamente el ambiente de los suelos, suprimiendo los contaminantes, reduciendo los malos olores y la textura que pasó de ser aceitosa a una consistencia más natural.

Para una mejor comparación es recomendable agregar una muestra testigo o en blanco con el propósito de cuantificar cuánto de Diésel B5 puede volatilizarse de forma natural. Agregando a ello, sería adecuado extender el tiempo del experimento para obtener mejores resultados al igual que considerar la toma y análisis periódico de las muestras para conocer la velocidad de acción de estos microorganismos. Y por los antecedentes podemos recomendar el empleo de algún tipo de vegetación, como un tercer ejemplar para comparar la remoción que tendrían en forma conjunta y separada. Se debe tener en cuenta el control de la humedad ya que al tener un aumento de temperatura el sustrato irá perdiendo humedad y con ello disminuirá la eficacia de la biorremediación (Uribe & Estrada & Hernández & Bedoya, 2001), si los valores de humedad iniciales no son aceptables se recomienda utilizar materiales fibrosos para la aireación.

Asimismo, para tener un análisis más detallado en la eficiencia de la biorremediación para la eliminación del parámetro Hidrocarburo Total de Petróleo, se recomienda el estudio de los tipos de bacterias autóctonas presentes en el suelo en estudio debido a que la eficiencia de remoción va ligada directamente a la capacidad de los organismos de degradar el conta-

minante y a la vez el tiempo en que lo pueden remediar. La mezcla de microorganismos EM se debe llevar a cabo usando agua libre de cloro para evitar la destrucción de las células microbianas atacando a la pared celular de los microorganismos evitando las funciones vitales de la célula generándose así la muerte y reducción de los microorganismos EM.

Referencias

- Aprolab. (1 de julio de 2007). EM. Recuperado el 8 de diciembre de 2018, de EM: http://www.em-la.com/archivos-de-usuario/base_datos/manual_para_elaboracion_de_compost.pdf
- Arroyo, M. (2001). Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos.
- Benavides, L. Q. (2006). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. Nova.
- Binda, J., Guerra, R., Ocaña, J., Torres, G., & Trigoso, J. (2007) *Análisis estratégico de la industria del biodiesel en el Perú*. (tesis para obtener el grado de magister) Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima, Perú. Recuperado de http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/123456789/1627/BINDA_GUERRA_OCA_%C3%91A_TORRES_TRIGOSO_INDUSTRIA_BIODIESEL.pdf?sequence=1.
- Bohórquez, J., & Corredor, A. (2015). Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta. Bogotá, Colombia. ResearchGate.
- Cardona G., J. & García G., L. (2008). Evaluación del efecto de los microorganismos eficaces (EM) sobre la calidad de un agua residual doméstica. *Pontificia Universidad Javeriana*. Facultad de Ciencias, Bogotá D.C.
- Cardona, S. & Gaviria, J. & Gómez, W. (2009). Evaluación de la bioestimulación frente a la atenuación natural y la bioaumentación en un suelocontaminado con una mezcla de gasolina – diésel. *Dyna*, 76 (160), 83-93.
- Colca, J. (2017). *Eficiencia en el cultivo de microorganismos eficaces para reducir hidrocarburos totales de petróleo contenidos en fuentes de grifo, Huarochirí*. Perú: Universidad Cesar Vallejo.
- Dible J., T. & Bartha, R. (1979). Effect of environment parameters on the biodegradation of oil sludge. *Applied environmental microbiology*.
- Fundación para el Desarrollo Económico y Restauración Ambiental. (s.f.). *Suelo Arenoso*. El Salvador.
- Glave, M. (2017). *Proyecto Ley N° 1797, Ley de Uso y Gestión del Suelo Urbano*. Lima: CR.
- Granados D, M. H. (2006). *Ecología de las Zonas Ribereñas*. Chapingo, 55.
- Guardián P, M. & Johanning V., T. (2002). *Biodegradación de desechos del refinamiento del Petróleo a Base de Microorganismos Eficaces (EM)*. Tesis, Universidad Earth, Costa Rica.
- Guzman, M. (2007). La contaminación de suelos y aguas, su prevención con nuevas sustancias naturales.
- Hernández, E., Rubiños, J. E., & Alvarado, J. (2004). *Restauración de suelos contaminados con hidrocarburos: conceptos básicos*. Estado de México: Departamento de Difusión.
- Honty, G. (10 de 03 de 2016). *Perú: 60 derrames en 15 años*. ALAI.

- Hughes, K. A. (2007). Tolerance of Antarctic soil fungi to hydrocarbons.
- Kyan, T.; Shintani, M.; Kanda, S.; Sakurai, M.; Ohashi, H.; Fujisawa, A. & Pongdit, S. (1999). Kyusei nature farming and technology of effective microorganisms. Tahiland-Japan: APNAN-INFRC.
- Martinez, A., PerezLopez, E., Pinto Espinoza, J., Gurrola Nevarez, B. A., & Osorio Rodriguez, A. L. (20 de noviembre de 2010). *Biorremediación de Suelo Contaminado con Hidrocarburos empleando Lodos Residuales como fuente alterna de nutrientes*. Obtenido de UAEM Redalyc: <http://www.redalyc.org/html/370/37020226009/>
- McGill, W. R. (1981). Biochemistry ecology and microbiology of petroleum components soil. *Soil Biochemistry*, 229-296.
- Microorganismos Eficaces™. (19 de octubre de 2018). Portal Oficial de la tecnología EM en América Latina. Obtenido de Activación del EM: http://www.em-la.com/activacion_del_emy1*.php?idioma=1
- MINAM. (2014). Guía para muestreo de suelos. Lima
- Miranda, M., Delgadillo, J., Alarcón, A., & Ferrera, R. (2007). Degradación de Fenantreno por microorganismos en la rizosfera del pasto Alemán. Terra
- Muñoz, F. A. (2010). *Aislamiento de Bacterias Lactobacillus.p. y Levaduras a partir de productos lácteos artesanales y evaluación de la capacidad Antagónica In Vitro*. Bogotá.
- Organization for Industrial, Spiritual and Cultural Advancement - International. (2009). *Proyecto de Reducción de Pobreza y Mejora de las Proyecto de Reducción de Pobreza y Mejora de las de Menores Recursos*. Uruguay: OISCA & BID.
- Ortiz, E., Núñez, R., Fonseca, E., Oramas, J., Almazán, V., Cabranes, Y., Borges, G. (2005). *Biorremediaciones de suelos contaminados con hidrocarburos*. Habana: CEBIMAR.
- PETROPERU. (2018). Obtenido de <https://www.petroperu.com.pe/productos/combustibles/diesel-ultra/Repsol>. (2016). *Ficha de Datos de Seguridad Diesel B5 (DB5-S50)*. Lima.
- Rodríguez, J., (2009), Mitigación y biorremediación de suelos contaminados por el derrame de combustible diésel 2 en la Quebrada del Toro, Camaná. Perú: Revista UAP.
- Romero, T. & Vargas, D., (2007). *Uso de microorganismos eficientes para tratar aguas contaminadas*. Universidad Tecnológica La Habana.
- Sierra, Y. (febrero de 2018). *Perú: Nuevo derrame de petróleo en Lote 192*. Obtenido de Mongabay Web site: <https://es.mongabay.com/2018/02/peru-derrame-de-petroleo-en-lote-192/>
- Toabolombo, R. (2012). *Evaluación de microorganismos eficientes autóctonos aplicados en el cultivo de cebolla blanca (Allium fistulosum)*. Ecuador: Universidad Técnica de Ambato.
- Torres Delgado, Z. M. (2009). *Biorremediación de Suelos Contaminados por Hidrocarburos*. Medellín.
- Torres, K. & Zuluaga, T. (2009). *Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos*. Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Uribe, J. & Estrada, M. & Hernandez, L. & Bedoya, D. (2001). Evaluación de los

Microorganismos eficaces (E.M) en producción de abono orgánico a partir del estiércol de aves de jaula. *Grupo de investigación de producción avícola*, 170-171.

Volke, T & Velasco, A. (2002). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados*. México: INE-SEMARNAT.