

**EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DE UNA CEPA BACTERIANA EN LA  
BIORREMEDIACIÓN DE UN SUELO ARENOSO CONTAMINADO CON DIESEL,  
A ESCALA DE LABORATORIO**

**LUIJESMARTH SILVIA PLATA QUINTERO**

**UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA SECCIONAL BUCARAMANGA  
ESCUELA DE INGENIERÍA  
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL  
BUCARAMANGA  
MAYO DE 2012**

**EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DE UNA CEPA BACTERIANA EN LA  
BIORREMEDIACIÓN DE UN SUELO ARENOSO CONTAMINADO CON DIESEL,  
A ESCALA DE LABORATORIO**

**LUIJESMARTH SILVIA PLATA QUINTERO**

**Proyecto de grado como requisito para optar  
al título de Ingeniera Ambiental**

**Directora:  
ANGÉLICA MUSKUS MORALES  
MSc. Ingeniera Sanitaria y Ambiental**

**UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA SECCIONAL BUCARAMANGA  
ESCUELA DE INGENIERÍA  
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL  
BUCARAMANGA  
MAYO DE 2012**

**Nota de aceptación**

---

---

---

---

---

---

---

---

Presidente del Jurado

---

Jurado

---

Jurado

Bucaramanga, Marzo 20 de 2012.

*Dedicado a Dios, a mis Padres y a Ed.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por brindarme la oportunidad de ser ingeniera, por darme la fortaleza y la sabiduría necesaria para alcanzar otro logro en mi vida.

A mis Padres porque gracias a ellos soy quien soy hoy.

A Bu por estar siempre ahí, en los momentos de flaqueza y en los momentos de alegría, brindándome su amor en cada palabra de aliento.

A la MSc. Angélica Muskus y a la Esp. Claudia Santoyo, mis guías en este largo camino, por su amistad, trabajo, conocimientos y apoyo incansable.

A Mafe por su amistad, sus sabios y asertivos consejos, y su ayuda en todo momento.

A Nicolás y Cesar mis monitores, que gracias a sus ideas locas, inteligencia y por supuesto su fuerza bruta, pude realizar todo el montaje y desmontaje de la investigación.

A todos los profesores de la UPB por sus enseñanzas profesionales y personales.

Y a todas las personas que de una u otra forma contribuyeron para que este proyecto llegara a feliz término.

Mil Gracias...

## CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN .....	15
1. OBJETIVOS.....	17
1.1 Objetivo General.....	17
1.2 Objetivos Específicos.....	17
2. MARCO TEÓRICO.....	18
2.1 SUELO.....	18
2.1.1 El Origen del Suelo.....	19
2.1.1.1 Meteorización Física o Mecánica.....	19
2.1.1.2 Meteorización Química.....	19
2.1.1.3 Meteorización por Agentes Biológicos.....	20
2.1.2 Factores de Formación del Suelo.....	20
2.1.3 Perfil del Suelo.....	21
2.2 PROPIEDADES FÍSICAS DEL SUELO.....	22
2.2.1 Color.....	23
2.2.2 Textura.....	23
2.2.3 Estructura.....	25
2.2.4 Consistencia.....	25
2.2.5 Porosidad.....	25
2.2.6 Conductividad Hidráulica.....	26
2.2.7 Densidad Real y Densidad Aparente.....	27
2.3 PROPIEDADES QUÍMICAS DEL SUELO.....	27
2.3.1 Acidez del suelo (pH).....	27
2.3.2 Intercambio Iónico.....	28
2.3.3 Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC).....	28
2.4 PROPIEDADES BIO-ORGÁNICAS DEL SUELO.....	28
2.4.1 Macrofauna y Mesofauna.....	29
2.4.2 Microorganismos.....	30
2.4.3 Materia Orgánica.....	31
2.5 CONTAMINACIÓN DEL SUELO.....	32
2.5.1 Principales Tipos de Contaminantes.....	32
2.5.2 Compuestos Orgánicos.....	33
2.5.2.1 Diesel.....	34
2.6 TRATAMIENTOS DE REMEDIACIÓN DE SUELOS.....	36
2.6.1 Tratamientos Físico – Químicos.....	37
2.6.4 Tratamiento Biológico - Biorremediación de Suelos.....	40
2.6.4.1 Bioaumentación.....	41
2.6.4.2 Bioestimulación.....	42
2.6.4.3 Atenuación Natural.....	42
2.6.4.4 Fitorremediación.....	42

2.6.4.5	Tratamiento sobre el Terreno .....	42
2.6.4.6	Compostaje.....	43
2.6.4.7	Bioventing (bioventilación) .....	43
2.7	FUNDAMENTO TÉCNICO DE LOS MÉTODOS IMPLEMENTADOS ..	47
2.7.1	Columnas de Suelo.....	47
3.	METODOLOGÍA .....	49
3.1	FASE I: DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES FÍSICO-QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS NECESARIAS PARA LA APLICACIÓN DEL PROCESO DE BIORREMEDIACIÓN, IMPLEMENTANDO UNA CEPA BACTERIANA EN LA ZONA NO SATURADA DE UN SUELO ARENOSO CONTAMINADO CON DIESEL, A ESCALA DE LABORATORIO.....	49
3.1.1	Condiciones Físico – Químicas.....	50
3.1.2	Condiciones microbiológicas .....	50
3.2	FASE II: DISEÑO DE LAS COLUMNAS.....	50
3.2.1	Determinación de los parámetros para la implementación del sistema de biorremediación, teniendo en cuenta las condiciones establecidas.....	50
3.2.1.1	Concentración de oxígeno .....	51
3.2.1.2	Consortio microbiano .....	51
3.2.1.3	Concentración inicial de Diesel.....	52
3.2.1.4	Profundidad de la Muestra de Suelo.....	52
3.2.1.5	Caudal de Agua Bombeado.....	52
3.2.2	Desarrollo del diseño de las columnas. ....	52
3.3	FASE III: MONTAJE EXPERIMENTAL DE LAS COLUMNAS QUE SIMULARÓN LAS CONDICIONES DEL SUELO CONTAMINADO.....	53
3.4	FASE IV: DESMONTAJE DE LAS COLUMNAS.....	55
3.5	FASE V: DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE REMOCIÓN DE DIESEL Y EL CRECIMIENTO MICROBIANO EN EL PROCESO DE BIORREMEDIACIÓN.....	55
4.	RESULTADOS Y ANÁLISIS .....	57
4.1	DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES FÍSICO-QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS NECESARIAS PARA LA APLICACIÓN DEL PROCESO DE BIORREMEDIACIÓN.....	57
4.1.1	Determinación de las Condiciones Físico - Químicas.....	57
4.1.1.1	Determinación de la Textura por el Método de Bouyoucous .....	57
4.1.1.2	Determinación de la Humedad.....	58
4.1.1.3	Determinación de la Densidad Real.....	59
4.1.1.4	Determinación del pH .....	60
4.1.1.5	Clasificación Granulométrica .....	61
4.1.2	Condiciones Microbiológicas .....	63
4.2	DISEÑO DE LAS COLUMNAS .....	63
4.2.1	Determinación de los parámetros para la implementación del sistema de biorremediación, teniendo en cuenta las condiciones establecidas.....	63
4.2.1.1	Concentración de oxígeno .....	63
4.2.1.2	Consortio Microbiano .....	64

4.2.1.3	Concentración Inicial de Diesel.....	64
4.2.1.4	Profundidad de la Muestra de Suelo.....	64
4.2.1.5	Caudal de Agua Bombeado.....	64
4.2.2	Desarrollo del Diseño de Las Columnas.....	64
4.3	MONTAJE EXPERIMENTAL DE LAS COLUMNAS QUE SIMULARON LAS CONDICIONES DEL SUELO CONTAMINADO.....	65
4.4	RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LA POROSIDAD EFECTIVA.....	66
4.5	VOLUMEN DE AGUA.....	69
4.6	RESULTADOS MEDICIÓN DE OXÍGENO DISUELTOS EN EL AGUA DE SALIDA.....	72
4.7	MEDICIÓN DE pH EN EL AGUA DE SALIDA.....	74
4.8	CRECIMIENTO MICROBIANO.....	74
4.8.1	Crecimiento Microbiano determinado en el Agua de Salida.....	75
4.8.2	Crecimiento Microbiano determinado en Suelo.....	78
4.9	DEGRADACIÓN DE DIESEL.....	80
4.9.1	Degradación de Diesel en Agua.....	80
4.9.2	Resultados Degradación de Diesel en Suelo.....	83
4.10	EFICIENCIA DE REMOCIÓN.....	86
4.11	ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE LA VARIACIÓN DE LAS DIFERENTES CONDICIONES EXPERIMENTALES APLICADAS.....	89
5	CONCLUSIONES.....	92
6	RECOMENDACIONES.....	94
7	BIBLIOGRAFÍA.....	95
	ANEXOS.....	98

## LISTA DE FIGURAS

pág.

Figura 1. Componentes del Suelo.....	18
Figura 2. Perfil edáfico del Suelo .....	22
Figura 3. Composición del Volumen del Suelo .....	23
Figura 4. Triángulo Textural para la clasificación del suelo según la USDA. ....	24
Figura 5. Clasificación de las Técnicas de Remediación .....	36
Figura 6. Sistema Representativo de Bioventing .....	44
Figura 7. Columna de suelo. ....	49
Figura 8. Montaje experimental de las columnas de suelo. ....	53
Figura 9. Sistema abierto de la columna de suelo. ....	54
Figura 10. Desmontaje de las Columnas de Suelo .....	55
Figura 11. Diseño Columna de Suelo .....	65
Figura 12. Montaje Final del Sistema de Biorremediación.....	66

## LISTA DE TABLAS

pág.

Tabla 1. Clasificación de los Separados del suelo según la USDA. ....	24
Tabla 2. Propiedades de la Materia Orgánica y sus Efectos en el Suelo.....	31
Tabla 3. Clasificación de los Contaminantes y su Impacto Ambiental .....	32
Tabla 4. Propiedades Físico-Químicas de los Combustibles Diesel .....	34
Tabla 5. Composición del Diesel.....	35
Tabla 6. Descripción de las Tratamientos Físico – Químicos .....	37
Tabla 7. Descripción de las Tratamientos Térmicos .....	39
Tabla 8. Descripción de las Tratamientos de Solidificación/Estabilización .....	39
Tabla 9. Relación Aire – Oxígeno Suministrado por Pozo de Aireación .....	45
Tabla 11. Métodos implementados en el análisis físico-químico del suelo .....	50
Tabla 12. Especificaciones Técnicas Bomba de Aire. ....	51
Tabla 13. Especificaciones Técnicas Equipo Multiparámetro. ....	51
Tabla 14. Especificaciones Técnicas Bomba Peristáltica .....	52
Tabla 15. Especificaciones Técnicas Equipo Multiparámetro. ....	54
Tabla 16. Especificaciones Medidor de Humedad de Suelos .....	55
Tabla 17. Métodos para análisis de muestras. ....	56
Tabla 18. Determinación de la Textura por el Método de Bouyoucos.....	57
Tabla 19. Resultados Composición Porcentual .....	58
Tabla 20. Determinación de la Humedad Gravimétrica para Suelo Sin Contaminar .....	58
Tabla 21. Determinación de la Densidad Real para Suelo Sin Contaminar .....	59
Tabla 22. Determinación de la Densidad Real para Suelo Contaminado .....	59
Tabla 23. Clasificación del Suelo según el pH en Agua y en KCl .....	60
Tabla 24. Determinación del pH para Suelo Sin Contaminar.....	60
Tabla 25. Determinación del pH para Suelo Contaminado .....	60
Tabla 26. Dimensiones Columna de Suelo.....	65
Tabla 27. Conductividad en el Caudal de Entrada y de Salida .....	67
Tabla 28. Tiempo Experimental en Términos de Volumen de Poro Intercambiable .....	69
Tabla 29. Crecimiento Microbiano en Agua .....	75
Tabla 30. Crecimiento Microbiano analizado en el Suelo .....	78
Tabla 31. Resultados Concentración de Diesel en Agua.....	80
Tabla 32. Resultados Concentración de Diesel en Suelo por Zonas .....	84
Tabla 33. Porcentaje de Remoción de Diesel en Suelo .....	87

## LISTA DE GRÁFICAS

pág.

Gráfica 1. Curva Granulométrica del Suelo en Estudio.....	61
Gráfica 2. Comportamiento Caudal de Agua: Condición 1 (Control).....	70
Gráfica 3. Comportamiento Caudal de Agua: Condición 2 (Bioventing) .....	70
Gráfica 4. Comportamiento Caudal de Agua: Condición 3 (Bioventing + Bioaumentación).....	71
Gráfica 5. Comportamiento Caudal de Agua: (Bioaumentación) .....	71
Gráfica 6. Comportamiento Oxígeno Disuelto: Condición 1 (Control).....	72
Gráfica 7. Comportamiento Oxígeno Disuelto: Condición 2 (Bioventing).....	73
Gráfica 8. Comportamiento Oxígeno Disuelto: Condición 3 (Bioventing + Bioaumentación).....	73
Gráfica 9. Comportamiento Oxígeno Disuelto: Condición 4 (Bioaumentación).....	74
Gráfica 10. Crecimiento Microbiano en Agua: Condición 1 (Control).....	76
Gráfica 11. Crecimiento Microbiano en Agua: Condición 2 (Bioventing).....	76
Gráfica 12. Crecimiento Microbiano en Agua: Condición 3 (Bioventing + Bioaumentación).....	77
Gráfica 13. Crecimiento Microbiano en Agua: Condición 4 (Bioaumentación).....	77
Gráfica 14. Crecimiento Microbiano analizado en el Suelo de la Condición 1 y Condición 2.....	79
Gráfica 15. Crecimiento Microbiano analizado en el Suelo de la Condición 3 y Condición 4.....	79
Gráfica 16. Concentración de Diesel en Agua: Condición 1 (Control) .....	81
Gráfica 17. Concentración de Diesel en Agua: Condición 2 (Bioventing) .....	81
Gráfica 18. Concentración de Diesel en Agua: Condición 3 (Bioventing + Bioaumentación).....	82
Gráfica 19. Concentración de Diesel en Agua: Condición 4 (Bioaumentación) ....	83
Gráfica 20. Concentración de Diesel en Suelo: Condición 1 (Control).....	84
Gráfica 21. Concentración de Diesel en Suelo: Condición 2 (Bioventing) .....	85
Gráfica 22. Concentración de Diesel en Suelo: Condición 3 (Bioventing + Bioaumentación).....	85
Gráfica 23. Concentración de Diesel en Suelo: Condición 4 (Bioaumentación) ...	86
Gráfica 24. Remoción de Diesel en Suelo: Condición 2 (Bioventing) .....	87
Gráfica 25. Remoción de Diesel en Suelo: (Bioaumentación) .....	88
Gráfica 26. Remoción de Diesel en Suelo: Condición 3 (Bioventing + Bioaumentación).....	88
Gráfica 27. Remoción de Diesel en Suelo: Condición 1 (Control).....	89

## LISTA DE ANEXOS

pág.

ANEXO A. Datos de Volumen Circulado por la Columna por Día.....	98
ANEXO B. Análisis Estadístico: Coeficiente de Variación para los datos del volumen de agua circulado por columna por día .....	101
ANEXO C. Datos de Oxígeno Disuelto por Columna.....	103
ANEXO D. Análisis Estadístico: Coeficiente de Variación para los datos de Oxígeno Disuelto. ....	104
ANEXO E. Datos Conteo Crecimiento Microbiano.....	106
ANEXO F. Análisis Estadístico para los datos del Crecimiento Microbiano.....	138
ANEXO G. Análisis Estadístico para los datos de Concentración de Diesel en Agua por Mes. ....	147
ANEXO H. Análisis Estadístico para los datos de Concentración de Diesel en Suelo por Zonas por Condición .....	151

## RESUMEN GENERAL DE TRABAJO DE GRADO

**TÍTULO:** Evaluación de la influencia de una cepa bacteriana en la biorremediación de un suelo arenoso contaminado con diesel, a escala de laboratorio.

**AUTOR(ES):** Lujesmarth Silvia Plata Quintero

**FACULTAD:** Facultad de Ingeniería Ambiental

**DIRECTOR(A):** Angélica Maria Muskus Morales

### RESUMEN

El objetivo de este proyecto consistió en evaluar la influencia de una cepa bacteriana en la biorremediación de un suelo arenoso contaminado con diesel, a escala de laboratorio, simulando la zona vadosa o zona no saturada del subsuelo. Para efectuarlo se estableció una metodología en la cual se determinaron previamente los parámetros de funcionamiento, tales como concentración de oxígeno, caudal del agua de infiltración, consorcio microbiano y profundidad de la muestra de suelo. Una vez logrado lo anterior, se desarrolló el diseño de las columnas en las que se produjo el tratamiento de remediación, fijando su tamaño, forma y material de construcción.

Posteriormente se realizó el montaje de las cuatro condiciones de tratamiento por triplicado que consistían en Condición 1 correspondiente al control o testigo; Condición 2 correspondiente a la aplicación de la técnica Bioventing, que radica en la aireación del suelo; Condición 3, correspondiente a la combinación de las técnicas Bioventing y Bioaumentación; y Condición 4, correspondiente a la aplicación de la técnica Bioaumentación, que hace referencia a la adición de la cepa evaluada.

Los resultados señalan que las eficiencias de remoción más altas se obtuvieron en la condición 2, resaltando la importancia de la aireación en la biorremediación del suelo arenoso contaminado con diesel ensayado en este proyecto, debido a que se produce una degradación por oxidación química y también por procesos biológicos.

Finalmente la cepa evaluada no efectúa una degradación del diesel si se encuentra en la zona vadosa del suelo, ni siquiera con la presencia de oxígeno, y por lo tanto se establece que la cepa bacteriana evaluada no produce una influencia significativa la biorremediación de un suelo arenoso contaminado con diesel.

**PALABRAS CLAVES:** Biorremediación, suelos contaminados, diesel, bioventing, bioaumentación.

## GENERAL SUMMARY OF WORK OR GRADE

**TITLE:** Evaluation of the influence of a bacterial strain in the bioremediation of a sandy soil contaminated with diesel, a laboratory scale.

**AUTOR(S):** Lujesmarth Silvia Plata Quintero

**FACULTY:** Environmental Engineering

**DIRECTOR:** Angélica Muskus Morales

### ABSTRACT

The objective of this project was to assess the influence of a bacterial strain in bioremediation of a sandy soil contaminated with diesel, at laboratory scale simulated vadose zone or unsaturated zone of the subsoil. To effect, a methodology was established in which the operating parameters was determinate, such as oxygen concentration, flow rate of water infiltration, microbial consortium and depth of the soil sample. Having achieved this, the design of columns in which there having place the remedial treatment was developed, setting its size, shape and material of construction.

After that the assembly of the four treatment conditions in triplicate, consisting Condition One for the control; Condition Two, corresponding to the application of the technique bioventing, which lies in the soil aeration; Condition Three, corresponding to the combination techniques of Bioaugmentation and bioventing; and Condition Four, corresponding to the application of the technique Bioaugmentation, which refers to the addition of the strain evaluated.

The results show, that the highest removal efficiencies were obtained in condition Two (Bioventing), and therefore that the addition of oxygen is important for the bioremediation of sandy soils contaminated with diesel, because it allows chemical oxidative and biological degradation processes, by microorganisms that grow faster in aerobic environments.

Finally, the strain does not perform an evaluated diesel degradation if found in the vadose zone soil, even in the presence of oxygen, and therefore provides that the bacterial strain evaluated does not produce an significant influence in the bioremediation of a sandy soil contaminated with diesel fuel oil.

**KEY WORDS:** bioremediation, contaminated soils, diesel fuel oil, bioventing bioaugmentation.

## INTRODUCCIÓN

A lo largo de muchos años la explotación petrolífera ha sido una actividad económica desarrollada por el hombre y para beneficio del hombre. En la mayoría de los países contribuye al aumento de su producto interno bruto (PIB), al tiempo que facilita el desarrollo de la vida de los seres humanos, ya que el petróleo y sus derivados son utilizados como materia prima o como combustible en un gran número de bienes y servicios.

Las actividades de explotación de yacimientos petroleros en Colombia, iniciaron en el año 1921 por parte de la empresa americana Troil Oil Company, posteriormente el Estado asumió los activos de esta compañía, dando origen a la Empresa Colombiana de Petróleos (ECOPETROL), hoy ECOPETROL S.A. desde el año 1951, la cual desde entonces controla la mayoría de las labores de exploración, extracción, refinado, transporte y producción de los derivados del petróleo en el país. [1]

En Colombia, los más importantes descubrimientos de petróleo realizados son: los de La Cira-Infantas, en Barrancabermeja en el año 1918, Chuchupa, en La Guajira desde el año 1974 (este es un yacimiento de gas localizado costa afuera), Caño Limón, en Arauca (el cual inicia producción en el año 1986 y fue descubierto con la OXY) y Cuisiana-Cupiagua, en Casanare (descubierto en el año 1991 con la BP), que abarcan un área de 1.036.400 Km<sup>2</sup>, distribuidos en 18 cuencas. El transporte de hidrocarburos se realiza a través de una red de tuberías de 4.184 kilómetros de oleoductos, para transporte de petróleo y 3.952 kilómetros de poliductos para transporte de productos refinados. Las tuberías pueden ser aéreas, sobre puentes colgantes y sobre la superficie, o bajo tierra (subterráneas), cuya profundidad generalmente es de 1,20 o 2,00 metros. Las estaciones de almacenamiento y bombeo son en total 67, distribuidas en 37 para oleoductos y 30 para poliductos. [1]

La exploración en busca del petróleo, sus procesos de almacenamiento, transporte y refinación, han generado grandes impactos negativos en los ecosistemas, de los cuales, el suelo es uno de los más afectados y menos remediados comparado con el agua y el aire. La contaminación es ocasionada por la intrusión del crudo y sus derivados al suelo, por diferentes fuentes tales como: posibles fugas en tuberías subterráneas o aéreas, averías en los pozos de extracción, actividades terroristas, fisuras en tanques de almacenamiento o accidentes en la extracción, manejo y transporte del mismo.

Cuando un suelo es contaminado con hidrocarburos, no sólo el ecosistema del lugar es alterado, sino también, el aledaño y el de los cuerpos de agua superficiales y subterráneas, provocando graves daños en la microbiota, fauna y flora característicos de cada uno, los cuales contribuyen en los ciclos del nitrógeno, azufre, fósforo, carbono y oxígeno, vitales para la humanidad. Teniendo

en cuenta lo anterior, se resalta la importancia en investigar técnicas de biorremediación para compensar todos los efectos perjudiciales causados al suelo, para posteriormente implementarlas en los sitios donde se encuentra la contaminación, y mitigar el impacto negativo causado mediante procedimientos aplicables a las situaciones encontradas.

Las condiciones experimentales de este proyecto simularon la zona vadosa o zona no saturada del suelo, debido al interés particular del ICP en buscar otras opciones de tratamiento que sean de fácil mantenimiento y operación, aplicable a grandes áreas y con bajos costos de implementación como es la técnica de biorremediación; de igual forma que no impliquen el descapote y movimiento de grandes volúmenes y extensiones de tierra, ni el levantamiento de estructuras, ni volteos periódicos del suelo o excavaciones muy profundas en el área afectada, puesto que, la gran mayoría de las investigaciones en biorremediación han sido de este tipo.

Una vez establecido que el suelo estaría empaquetado para simular la realidad del subsuelo sin disturbar, se combinaron las técnicas de aireación y bioaumentación, y su estudio por separado para observar el comportamiento de cada situación y determinar la técnica de biorremediación más óptima.

## **1. OBJETIVOS**

### **1.1 Objetivo General.**

- Evaluar la influencia de una cepa bacteriana en la biorremediación de un suelo arenoso contaminado con diesel, a escala de laboratorio.

### **1.2 Objetivos Específicos.**

- Determinar los parámetros para la implementación del sistema de biorremediación, teniendo en cuenta las condiciones establecidas.
- Realizar el montaje experimental de las columnas teniendo en cuenta las diferentes condiciones a ser evaluadas.
- Determinar el porcentaje de remoción de diesel y el crecimiento microbiano en el proceso de biorremediación durante un periodo de cuatro meses.
- Analizar los resultados obtenidos de la variación de las diferentes condiciones experimentales aplicadas.

## 2. MARCO TEÓRICO.

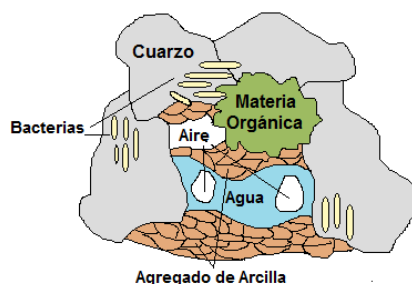
El hombre para lograr su desarrollo en el planeta, ha utilizado los recursos que le brinda la naturaleza, algunos son renovables y otros no. El petróleo se encuentra clasificado como un recurso no renovable y a partir de su descubrimiento se ha explotado a gran ritmo causando impactos positivos para la economía de los países, pero a su vez impactos negativos al ambiente y especialmente al ecosistema del lugar de donde es extraído. De igual forma los eventos de contaminación en su manejo, transporte y refinación ocasionan derrames de hidrocarburo en el suelo, afectando gravemente la microbiota y biota del lugar y en la mayoría de casos, las actividades humanas desarrolladas en él, como la agricultura, el pastoreo y el suministro de agua para consumo, que es extraída de los acuíferos que se encuentran bajo el subsuelo.

Debido a lo anterior, es importante comprender la estructura compleja del suelo y sus diferentes componentes físicos, químicos y biológicos, así como las técnicas de remediación que han sido implementadas en eventos de contaminación con hidrocarburos.

### 2.1 SUELO

El suelo es la interfase en la cual tienen encuentro todas las fuerzas que influyen sobre la superficie terrestre para formar un medio que aun no está consolidado pero que actúa como ambiente para el desarrollo de nuevos cambios, por medio de procesos de reciclaje del material parental, procesos químicos, físicos y microbiológicos, (Ver Figura 1). El suelo también ofrece hábitat y albergue a un significativo número de organismos y plantas que de igual forma contribuyen con el ciclo universal de flujo de materiales entre las cuatro principales geósferas (atmósfera, litósfera, hidrósfera y biósfera), debido a lo anterior algunos autores consideran al suelo como una geósfera independiente de las otras y a la cual denominan pedósfera, en la cual convergen todas las fuerzas de meteorización para dar paso a todos los procesos de evolución del planeta Tierra. [3]

Figura 1. Componentes del Suelo



Fuente: Atlas Ronald et al, Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental, 2003.

### **2.1.1 El Origen del Suelo**

La corteza terrestre es continuamente modificada debido a la influencia de agentes físicos, químicos y biológicos tales como el viento, el correr del agua, los cambios de temperatura y los organismos vivos, entre otros. La suma de todos estos procesos de interacción entre la atmósfera, la hidrósfera y la biósfera mediante los cuales tienen lugar estas alteraciones, se denomina *Meteorización*. [3]

Los materiales geológicos que conforman el suelo y subsuelo resultan de la meteorización que sucede por largos periodos de tiempo, que a su vez son transportados por los diferentes movimientos de la Tierra e influenciados por diferentes factores naturales. [4] La meteorización se divide en meteorización física, meteorización química y meteorización por agentes biológicos.

#### **2.1.1.1 Meteorización Física o Mecánica**

La meteorización física o mecánica es aquella que tiene lugar cuando el manto rocoso se desintegra y se fractura para formar partículas más pequeñas, sin tener en cuenta sus cambios químicos o mineralógicos. Las fracturas resultan cuando el agua que se deposita en una grieta se convierte en hielo, o de la expansión y contracción térmica producida por las fluctuaciones de las temperaturas estacionales. [3;4]

También ocurre por procesos de abrasión durante el transporte del agua, del hielo glacial o del viento, sin despreciar la gravedad que destruye las rocas y las hace caer. [4]

#### **2.1.1.2 Meteorización Química**

La meteorización química es el cambio de la composición de los minerales del suelo que son modificados de tipo a otro. También es el proceso fundamental de la pedogénesis o formación del suelo, depende principalmente de la temperatura, de la presencia de agua, y está precedida por la meteorización física, desde la desintegración del material sólido que produce la activación de la fase sólida del suelo hasta generar condiciones energéticas más favorables para que dichas alteraciones químicas tengan lugar. Los efectos de la meteorización química son los más importantes en el ciclo geológico ya que produce cambios químicos dramáticos en la roca madre y en la geomorfología de la corteza terrestre. [3;4]

La meteorización química tiene lugar bajo los siguientes principales procesos:

- *Oxidación*: la presencia de oxígeno, de agua y de gases disueltos en la zona vadosa del suelo, donde ocurren la mayoría de los procesos de formación del

suelo, facilitan la dominancia de las reacciones de oxidación que dejan sus marcas en los horizontes del suelo, otorgándoles ese color característico de cada uno. La oxidación de iones ferrosos a iones férricos confiere a los suelos ese color típico amarillo, marrón y rojo de las zonas cálidas como el mediterráneo. [3]

- *Hidratación e Hidrólisis*: ocurre cuando los compuestos del suelo reaccionan químicamente con el agua y nuevas especies químicas se forman. En la hidrólisis tiene lugar una reacción química entre el agua y la sustancia mineral del suelo que produce o consume un protón ( $H^+$ ) o un electrón ( $OH^-$ ); y en la hidratación el agua envuelve los cationes para formar un compuesto hidrato el cual es integrado a la estructura cristalina de la sustancia mineral que reacciona con el agua. Las características de la arcilla son conferidas por procesos de hidrólisis que cambian el aluminio o los silicatos de hierro en minerales arcillosos y/o en óxidos de hierro. [3]

### **2.1.1.3 Meteorización por Agentes Biológicos**

En la formación del suelo siempre está presente la influencia del factor biológico. Directa o indirectamente los organismos vivos cumplen un papel importante en la meteorización del suelo física o química, ya sea por la fuerza mecánica debido a la intrusión de las raíces o por el gran trabajo que realizan los diferentes grupos de invertebrados como los anélidos, nematodos, insectos y roedores, al descomponer y mezclar los cuerpos de rocas en la superficie del suelo. La meteorización biológica varía desde la simple disolución de reacciones hasta los complejos procesos bioquímicos por los cuales los elementos son extraídos y unidos a los compuestos por acción de las plantas o las bacterias. [3]

### **2.1.2 Factores de Formación del Suelo**

El suelo tiene características propias del lugar donde se encuentra ubicado geográficamente debido a la interacción de los siguientes factores que intervienen en la formación del suelo.

- *Material Parental*: el principal factor que controla la formación del suelo está relacionado con la susceptibilidad de meteorización física y química que tiene la roca pre-existente al suelo llamado material parental. Las propiedades físicas de la roca tales como tamaño del grano, porosidad, dureza, entre otros, determinan la capacidad de percolar del agua, a través de la capa rocosa para dar inicio a su desintegración o para descomponer los minerales que la constituyen. [3]
- *Clima*: la mayoría de los procesos de formación del suelo dependen de los factores climáticos; no solo controla los principales procesos en los ciclos vitales

sino que además afecta la adición de materia orgánica y la tasa de transformación de minerales en el suelo. La relación entre la precipitación y la evapotranspiración de la zona puede establecer una clasificación del tipo de suelo, ya que en lugares donde la precipitación excede la evapotranspiración (zonas húmedas) los compuestos solubles se filtran por los poros intersticiales de la subsuperficie, mientras que en el caso donde la evapotranspiración excede la precipitación (zonas áridas y semiáridas) las sales tienden a acumularse en el perfil del edáfico. [3;4]

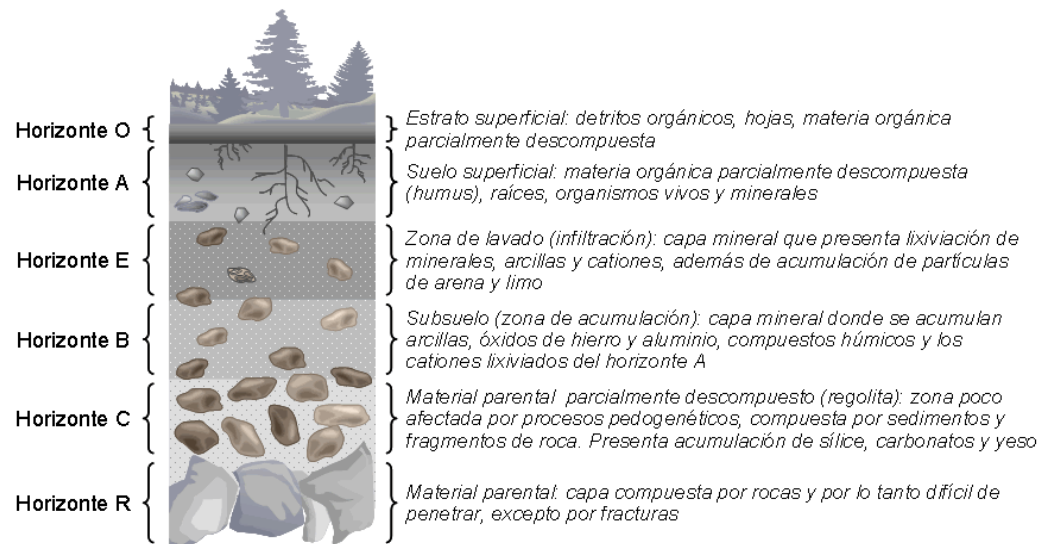
- *Biota*: está relacionada con la formación de la materia orgánica en el suelo y la componen en conjunto la microbiota, fauna y flora que habitan allí. Se clasifica en la microbiota que corresponde a los microorganismos microscópicos tales como las bacterias, los hongos, las algas, y los protozoarios; y la macrobiota que son los animales y plantas de mayor tamaño que el grupo anterior; la gran mayoría de estos organismos se encuentran en las capas superficiales del suelo, donde las condiciones de luz, humedad y ventilación facilitan su desarrollo. [5]
- *Tiempo*: los procesos de formación del suelo ocurren durante miles de millones de años, abarcando todo el período cuaternario. El tiempo durante el cual el material parental está expuesto a la meteorización, determina el tipo de suelo formado o en proceso de formación, ya que la apariencia de un suelo joven no es la misma a la de un suelo del mismo material que ha sido expuesto por miles de millones de años a los diferentes procesos pedogenéticos. [4;5]
- *Topografía*: afecta la formación del suelo debido a la erosión por las pendientes de las vertientes y a la retención de agua en los valles. Los suelos que se encuentran en pendientes son generalmente pobres en materia orgánica ya que el correr del agua arrastra sedimentos y la biota presente en él. Por el contrario los suelos de los valles y sabanas pueden retener el agua y propiciar mejores condiciones para favorecer la formación [4;5]

### **2.1.3 Perfil del Suelo**

La conjugación de los factores descritos anteriormente permite la formación del perfil del suelo (Figura 2), que corresponde a la organización de las diferentes capas paralelas a la superficie y diferenciadas entre sí, tanto en su composición química como en su color y textura; estas capas son llamadas horizontes del suelo y permiten determinar el tipo de suelo según dicha organización. Los procesos específicos que influyen en la distribución del perfil del suelo incluyen: la cantidad de materia orgánica, la meteorización de los minerales en arcillas, la acumulación de sales solubles, la formación de la estructura del suelo y la formación de capas permeablemente lentas. [3;4]

Los horizontes del suelo varían su distancia entre sí desde unos pocos centímetros hasta varios metros de diferencia y son clasificados según la posición en el perfil del suelo. El horizonte O se encuentra en la parte superior del perfil, contiene materia orgánica entre el 20% y el 30%, la cual es producida por la descomposición de los desechos de animales y plantas que realizan los microorganismos que habitan allí; este proceso es denominado como humificación y su resultado, el humus, otorga ese color oscuro característico de este horizonte. Algunos suelos no contienen este horizonte O por lo que en la parte superior se encuentra el horizonte A, que está por debajo del horizonte O, si está presente en el perfil. El horizonte A es un horizonte mineral con altos contenidos de materia orgánica y su color es más oscuro que los demás horizontes. Por debajo del horizonte A se encuentra el horizonte E, que es característico por la pérdida de arcilla, hierro o aluminio. Más abajo está el horizonte B que es la zona más activa en procesos de meteorización, usualmente es rico en arcillas y tiene una estructura bien definida compuesta por calcio y carbonatos. Seguido al horizonte B se presenta el horizonte C, que está constituido por material no consolidado que ha experimentado o no procesos de meteorización. Por último se encuentra el horizonte R que es roca sólida, el material parental que sustenta todo el suelo. [3;4]

Figura 2. Perfil edáfico del Suelo



Fuente: Instituto Nacional de Ecología de México, 2010. Tomado textualmente.

## 2.2 PROPIEDADES FÍSICAS DEL SUELO

El suelo está compuesto por tres fases: sólida, líquida y gaseosa; la fase sólida comprende las partículas orgánicas y minerales; la fase líquida constituida por el agua y los solutos disueltos en ella; y la fase gaseosa o también llamada

atmósfera del suelo, conformada por todos los compuestos en forma gaseosa (Figura 3). La interacción de las fases del suelo determinan la estructura y actividad física, química y biológica del suelo, por tanto al definirse la organización de la fase sólida queda definido también el espacio que ocupan la fase líquida y la fase gaseosa. [5]

Figura 3. Composición del Volumen del Suelo



Fuente: Mirsal Ibrahim, Soil Pollution, 2008.

### 2.2.1 Color

El color es el rasgo más evidente en un perfil de suelo y es un simple pero muy útil indicador de los procesos que ocurren en él. Se establece por la cantidad de iones y materia orgánica presentes. Los suelos de color amarillo y rojo generalmente contienen iones férricos, mientras que los de color gris tienen altos contenidos de óxidos de aluminio y silicatos. Los suelos negros deben su color a los altos contenidos de materia orgánica y a los ácidos húmicos. La distribución del color en el perfil del suelo refleja el grado de meteorización y la humedad contenida, por tanto la matriz de un suelo varía su color en un rango desde el blanco hasta el negro, de abajo hacia arriba respectivamente. El color del suelo, la textura, la cantidad de carbono y materia orgánica, el contenido de hierro y carbonatos y demás propiedades físicas y químicas, distinguen los diferentes horizontes del perfil del suelo lo que permite su clasificación de dentro del sistema llamado Taxonomía de suelos. [3;6]

### 2.2.2 Textura

Es la característica que hace referencia al tamaño y la organización de las partículas del suelo. Los separados del suelo son las partículas individuales que pueden describirse según el tamaño del grano como los componentes del suelo menores a 2 mm de diámetro, o simplemente los cantos rodados o las gravas si son mayores a ellos [3]. En la Tabla 1 se clasifican las partículas según la USDA (United States Department of Agriculture).

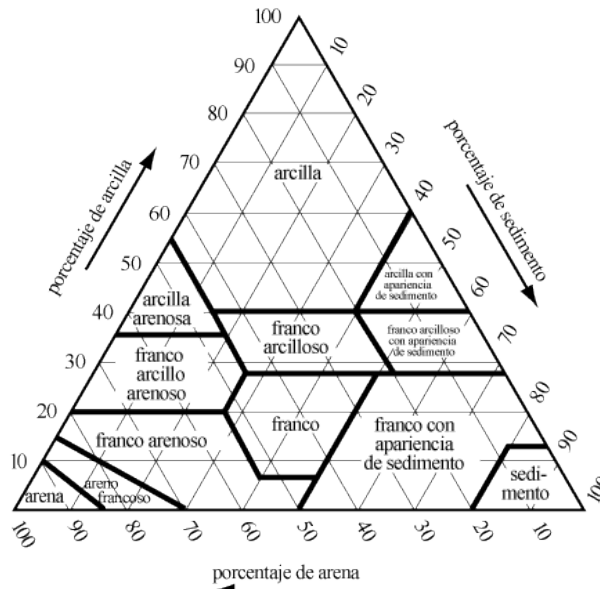
Tabla 1. Clasificación de los Separados del suelo según la USDA.

Separado	Diámetro de Partícula (mm)
Grava Gruesa y Piedras	>20
Grava	10 – 20
Grava Fina	3 – 5
Arena Muy Gruesa	2 – 1
Arena Gruesa	1 – 0.5
Arena Media	0.5 – 0.25
Arena Fina	0.25 – 0.1
Arena Muy Fina	0.1 – 0.05
Limo Grueso	0.05 – 0.02
Limo Medio	0.02 – 0.005
Limo Fino	0.005 – 0.002
Arcilla Gruesa	0.002 – 0.0002
Arcilla Fina	<0.0002

Fuente: United States Department of Agriculture (USDA), 1989.

Para la clasificación de los suelos según su textura, se implementa la relación entre las porciones de arena, limo (o sedimento) y arcilla que se encuentran en el suelo, posteriormente se llevan los valores al triángulo textural (Figura 4), donde la intersección de los tres porcentajes determina el tipo de suelo.

Figura 4. Triángulo Textural para la clasificación del suelo según la USDA.



Fuente: United States Department of Agriculture (USDA), 1989.

### **2.2.3 Estructura**

La estructura del suelo está definida como el espacio heterogéneo que ocupan los diferentes componentes del suelo. Hace referencia a los procesos de agregación y fragmentación de las partículas del suelo y su importancia radica en que pueden modificar parcial o totalmente su textura. La estructura influye en la cantidad de agua que ingresa al suelo (infiltración) y en la difusión de gases en la superficie del suelo. También dependen la porosidad y el movimiento de las sustancias. [3;11]

La agregación del suelo es el proceso donde las partículas primarias (arena, limo y arcilla) son unidas entre sí para formar partículas secundarias, debido a las fuerzas naturales y la actividad microbiana. Los agregados son terrones o racimos que con humus y arcilla mantienen las partículas ensambladas entre sí. [3;7]

La fragmentación es el proceso opuesto a la agregación, y hace referencia a la ruptura del suelo en pedazos incompletos, llamados fragmentos. Generalmente ocurre por la acción del agua y raras veces rompe los agregados hasta su condición inicial. Cuando se perciben agregados y fragmentos en un suelo, se puede establecer que ocurren procesos de agrupación y disgregación facilitando la determinación del grado de estabilidad del suelo. [7]

### **2.2.4 Consistencia**

Se refiere a la resistencia que ofrece el suelo contra las fuerzas que tienden a deformarlo. La consistencia se denomina en términos de la condición del suelo con diferentes cantidades de agua, los suelos húmedos son generalmente plásticos, lo que implica que tienen aproximadamente la mitad de la capacidad de campo y sus rangos de consistencia varían desde suelto (no coherente), hasta friable (fácil de pulverizar), hasta firmes (no deformables entre el dedo pulgar y el dedo índice). Los suelos secos se caracterizan por ser duros y quebradizos con un rango de consistencia que varía desde suelto, hasta blando, hasta duro, hasta extremadamente duro. Para determinar esta característica del suelo se han establecido los límites de Atterberg (límite de contracción, límite de plasticidad y límite líquido), los cuales tienen gran importancia en el estudio de los suelos. [3;8]

### **2.2.5 Porosidad**

La porosidad determina el porcentaje del volumen que ocupa el espacio del poro respecto al volumen total del suelo, es el volumen que hay disponible para ser ocupado por la fase líquida y gaseosa. Varía según el tamaño del grano y es de gran importancia porque afecta diversos procesos físicos tales como la erosión, la retención del agua, la evaporación, la infiltración del agua y la ventilación dentro del suelo, entre otros, por lo que se relaciona con la calidad del suelo. [3;9]

La porosidad depende de la textura, la cantidad de materia orgánica y de la estructura del suelo, por lo cual se determinan dos tipos de porosidad:

- *Microporosidad o Porosidad Textural*: se define como el volumen de los poros más finos del suelo, tienen como función retener y almacenar el agua.
- *Macroporosidad o Porosidad*: se define como el volumen de los poros grandes del suelo, tienen la función de circular el agua cuando está en exceso y del aire en el suelo. [5]

### 2.2.6 Conductividad Hidráulica

El agua se mueve por los espacios intersticiales del suelo en forma líquida o en forma de vapor, cuando se mueve es estado líquido pueden presentarse diversos estados de humedad que se define como la cantidad de agua en el suelo, generando flujo saturado o flujo no saturado. De acuerdo con el tipo de flujo en el suelo la velocidad de infiltración definida como la velocidad de entrada del agua en el suelo, y la permeabilidad medida con la conductividad hidráulica, pueden variar. [5]

La conductividad hidráulica define las posibilidades del agua para moverse dentro del suelo y se representa como **Ks**. Cuando el suelo está saturado la conductividad hidráulica es mayor debido a que los poros actúan como conductores por lo tanto es importante tener en cuenta el estado de saturación del suelo al momento de hacer la medición. [5]

Para determinar la conductividad hidráulica se utilizan los permeámetros, conformados por una columna de suelo y por la cual se hace pasar un determinado volumen de agua, tomando el tiempo que demora en salir. Los cálculos se realizan aplicando la Ecuación de Darcy: [5]

$$K_s = \frac{V \times L}{t \times A \times H}$$

Donde: Ks = Conductividad hidráulica (cm/h)

V: Volumen total de agua a través de la sección A (cm<sup>3</sup>)

t: Tiempo total (min)

A: Área transversal interna de la columna de suelo (cm)

L: Longitud de la columna de suelo (cm)

H: Longitud de la columna de agua (cm)

### 2.2.7 Densidad Real y Densidad Aparente

La densidad real y la densidad aparente son medidas utilizadas para estimar el tipo de minerales predominante en el suelo y el grado de compactación del suelo, respectivamente. [11]

La *densidad real* es la medición de la masa de la partícula por volumen de suelo, medido en  $\text{Mg/m}^3$  o  $\text{g/cm}^3$ , en este caso el volumen de los poros y el peso del agua no se tienen en cuenta. El valor de la densidad real de los minerales como el cuarzo, los feldespatos, arcillas, entre otros, varía en un rango de  $2.60 \text{ Mg/m}^3$  y  $2.75 \text{ Mg/m}^3$ . [11]

La densidad aparente es la medición de la masa por volumen de suelo, cuando el suelo está sin disturbar, ya que representa la cantidad de sólidos en un determinado volumen de suelo. Suelos con altas densidades ( $>2.0 \text{ Mg/m}^3$ ) probablemente tienen una lenta infiltración y permeabilidad, lo que ocasiona encharcamientos en la superficie limitando el crecimiento de las raíces de las plantas y el flujo de oxígeno. Los suelos orgánicos generalmente presentan una densidad aparente menor a  $1.0 \text{ Mg/m}^3$  mientras que los suelos minerales varían en un rango de  $0.3 \text{ Mg/m}^3$  a  $0.85 \text{ Mg/m}^3$ . [11]

## 2.3 PROPIEDADES QUÍMICAS DEL SUELO

Las propiedades químicas de un suelo pueden evaluar su estado de degradación y establecer su composición química. Las propiedades más destacadas son el pH, el intercambio iónico y la capacidad de intercambio catiónico, que son factores de gran importancia a la hora de hacer un plan nutricional para aumentar la fertilidad de un suelo y mejorar su potencial agrícola. [3]

### 2.3.1 Acidez del suelo (pH)

El pH del suelo está relacionado con la cantidad de materia orgánica, el contenido de arcilla en el suelo y la viabilidad de metales presentes, debido que afecta su solubilidad y por tanto el aluminio  $\text{Al}^{3+}$  cumple un papel importante en el control de las concentraciones de iones de hidrógeno al agua del suelo y por consiguiente el nivel de acidez en el suelo o pH. Este proceso se lleva a cabo mediante la siguiente reacción de hidrólisis:



La hidrólisis del aluminio acidifica los suelos lo cual es característico de los suelos húmedos ricos en arcilla. Por lo general, los suelos ácidos poseen altos contenidos de calcio y/o magnesio, lo cual aumenta la capacidad buffer de la solución del suelo, ya que precipitan en carbonatos. El sodio no precipita como los compuestos

anteriormente nombrados, razón por la cual los suelos alcalinos contienen altos niveles de sodio. La dependencia del pH a la presencia y naturaleza de los cationes lo hace transitorio y variable, se afecta con la viabilidad y saturación de bases iónicas como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ , y  $\text{K}^+$  (las bases del suelo). El aporte de estas bases al suelo por agentes atmosféricos, por las condiciones geológicas o por actividades agrícolas puede producir fluctuaciones en el pH, ya que está correlacionado e influye fuertemente en la disponibilidad de nutrientes en el suelo, la actividad microbiana, la toxicidad, la presencia de metales pesados y las comunidades florísticas. En suelos con pH ácido las bases son reemplazadas por iones  $\text{H}^+$  y en suelos con pH básico los iones  $\text{H}^+$  son reemplazados por las bases del suelo, afectando la disponibilidad de nutrientes para las plantas. [3;10]

### **2.3.2 Intercambio Iónico**

Es el proceso en el cual los cationes intercambiables que se encuentran entre las capas de los minerales arcillosos, aquellos que están en las superficies de las arcillas y las partículas orgánicas (humus), son reemplazados por otros cationes de tamaño similar pero de menor equivalencia. En el caso de los minerales de arcilla, los cationes ocupan una posición intermedia que permanecen cargados positivamente satisfaciendo su estructura cristalina. En el caso del humus las cargas superficiales son el resultado de varias reacciones tales como disociación reversible de los grupos superficiales o de los grupos funcionales de los compuestos orgánicos y desde que estas reacciones dependen del pH, las cargas pueden variar de acuerdo al pH existente. [3]

### **2.3.3 Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC)**

Es la medición de las cargas negativas de la superficie del suelo, equivalente a la capacidad que tiene para adsorber cationes, determinando los lugares disponibles para almacenarlos e impedir su arrastre. Las partículas de arcilla son las encargadas de atraer y retener los cationes que son los iones positivos de los nutrientes de gran importancia para las plantas, que en su mayoría son:  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{NH}_4$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Na}^+$  (las bases del suelo), de allí que su cálculo se realiza de la proporción intercambiable de estas bases. La CIC depende de los contenidos de materia orgánica y arcilla en el suelo, al igual que del pH. [3;5]

## **2.4 PROPIEDADES BIO-ORGÁNICAS DEL SUELO**

Las propiedades bio-orgánicas del suelo hacen referencia a las características del suelo relacionadas con los organismos vivos presentes en él (Ver Figura 7), tales como la entrada y almacenamiento del agua, la resistencia a la erosión, la disponibilidad de nutrientes para las plantas y la descomposición de la materia orgánica. De allí la importancia para la determinación de la calidad de un suelo. [5]

Los organismos del suelo, se clasifican según su tamaño en macrofauna (>1000  $\mu\text{m}$ ), mesofauna (200 – 1000  $\mu\text{m}$ ) y microorganismos (<200  $\mu\text{m}$ ). En el primer grupo se encuentran animales grandes que viven en el suelo tales como los conejos, zorros, topos, tejones, insectos y moluscos grandes; en el segundo grupo se encuentran los anélidos como las lombrices de tierra, los artrópodos como los insectos pequeños, los arácnidos, los miriápodos, los nematodos, los moluscos y algunos vertebrados pequeños; y en el tercer grupo se encuentran las bacterias (organismos unicelulares), los actinomicetos (organismos filamentosos unicelulares con características de los hongos y las bacterias), los hongos, las algas y los protozoarios. [4;5]

Los organismos del suelo se clasifican de acuerdo a la actividad biológica que desarrollan en el suelo, productores, consumidores y descomponedores. Los descomponedores son la base de la cadena alimenticia, porque degradan los desechos orgánicos produciendo los recursos primarios tales como el  $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{O}_2$ , entre otros, que son usados por los consumidores para sintetizar los complejos de los nutrientes que a su vez son consumidos por el grupo de los consumidores. Los tres grupos trabajan en conjunto e interactúan entre sí para cambiar continuamente el perfil del suelo. [3]

#### **2.4.1 Macrofauna y Mesofauna**

La macrofauna y mesofauna además de aportar materia orgánica al suelo y de poder convertirse en plagas, desempeñan un papel importante para mejorar la calidad del suelo tales como:

- Aumentan la disponibilidad de nutrientes. La lombriz de tierra aporta Potasio, Fósforo y Carbono; las hormigas Calcio y Magnesio; las termitas Calcio, Magnesio, Potasio, Sodio, Carbono y Fósforo.
- Los coleópteros, ciempiés, arañas, colémbolos y escorpiones que son predadores, mantienen el equilibrio de las poblaciones de otras especies.
- Los macroinvertebrados como las termitas o las hormigas crean galerías o huecos dentro del suelo mejorando su aireación y permeabilidad al afinar su textura en la elaboración de sus nidos. [5]

Los *artrópodos* en su mayoría, están involucrados en la descomposición de las plantas y mezclan los fragmentos vegetativos dentro del suelo. Se dividen en diferentes categorías que son ácaros, colémbolos, miriápodos, isópodos, escarabajos, larvas de insectos y termitas. En suelos ácidos los ácaros y los colémbolos son los más abundantes. Las hormigas y las termitas son los más abundantes en suelos tropicales, debido a que son excelentes mezcladores de las partículas del suelo. [3;11]

Los *anélidos* hacen referencia a los gusanos de tierra que tienen el cuerpo segmentado o anillado. La lombriz de tierra son los mayores representantes de los

anélidos en un sin número de suelos húmedos en todo el mundo, ellos emergen de noche y regresan bajo la superficie en la mañana. Las lombrices mejoran el drenaje del suelo a través de redes de túneles que excavan y adicionan grandes cantidades de materia orgánica por medio de sus excretas. [3]

#### **2.4.2 Microorganismos**

Los microorganismos son el grupo de organismos más importante para el suelo, debido a que un gran número de procesos bioquímicos para la degradación y biotransformación son realizados por ellos. Se ubican preferencialmente en la rizosfera que es la zona inmediata a las raíces de las plantas por sus altos contenidos de carbono. También participan de los ciclos biogeoquímicos como el del C, N, P y S. [4;5]

El suelo proporciona un hábitat favorable para el desarrollo de microcolonias de microorganismos entre los agregados formados. Es el hábitat que posee más microorganismos, comparado con el hábitat dulce y marino, aproximadamente entre  $10^6$  a  $10^9$  bacterias por gramo de suelo. [32]

Las *bacterias* son organismos unicelulares de tamaño entre 0.0001 y 0.02 mm, con una alta tasa de reproducción, por ende son los más pequeños y los más numerosos del suelo. Cumplen un papel importante en procesos de descomposición de la materia orgánica, en reciclaje de nutrientes y de energía, bajo diferentes condiciones. Entre los géneros más frecuentes de bacterias habitantes del suelo se encuentran *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Caulobacter*, *Cellumonas*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, y *Xanthomonas*. Los actinomicetes que componen entre el 10% y 33% de las bacterias del suelo y que pueden adaptarse a diferentes condiciones de salinidad o acidez, se encuentran los géneros *Streptomyces*, *Nocardia*, *Micromonospora*, *Actinomyces*, *Myxococcus*, *Chondrococcus*, *Archangium* y *Polyangium*. Las cianobacterias que son bacterias fotoautótrofas, aportan tanto nitrógeno como carbono orgánico al suelo, también forman costras en la superficie de suelos desnudos, brindándole estabilidad. Los géneros más comúnmente encontrados son *Anabaena*, *Calothrix*, *Chroococcus*, *Cylindrospermum*, *Lyngbya*, *Microcoleus*, *Nodularia*, *Azotobacter*, *Clostridium*, *Bradyrhizobium*, *Nostoc*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Plectonema*, *Schizothrix*, *Scytonema* y *Tolypothrix*. [3; 32]

Los *hongos* se caracterizan por tener estructuras filamentosas denominadas hifas las cuales crecen dentro de una cadena densa llamada micelio. También participan en la descomposición de la materia orgánica en aproximadamente 80% y de algunos compuestos resistentes a las bacterias como la lignina, la celulosa, la hemicelulosa, grasas y almidones. Desempeñan un papel primordial en la fijación de nitrógeno, ya que forman una asociación con las raíces de las plantas llamadas

micorrizas, aumentando la disponibilidad de nutrientes en el suelo. Entre los géneros más frecuentes de hongos son *Aspergillus*, *Geotrichum*, *Penicillium* y *Trichoderma*. [5; 32]

Las *algas* son organismos fotosintéticos confinados a lo largo de toda la superficie del suelo. Están presentes en los procesos de población del material parental, y por tanto dan inicio a la formación del suelo. Diferentes grupos de géneros de algas se pueden encontrar en el suelo, tales como clorófitos, rodófitos, euglenófitos y crisófitos. [3; 32]

Los *protozoarios* que se encuentran en las películas de agua alrededor del suelo, tales como los rizópodos, ciliados y flagelados, digieren las partículas de materia orgánica no solubles, convirtiéndolas en solubles. Controlan las poblaciones de bacterias, algas y hongos ya que son su fuente alimenticia. [3; 5]

### 2.4.3 Materia Orgánica

El humus es la característica que define el perfil de un suelo, el cual se concentra en los horizontes cercanos a la superficie, sus efectos se presentan en la Tabla 2. El humus es “una mezcla compleja y resistente de sustancias amorfas y coloidales de color marrón o marrón oscuro, modificada de los tejidos originales de las plantas o sintetizados por los diferentes organismos del suelo” (Brady 1974). Es el principal producto de la descomposición de los desechos orgánicos (litter), que en promedio contiene entre 4 – 6% de sustancias orgánicas y a su vez están compuestas en un 85% de materia muerta, 8.5% de raíces y raicillas vivas y 6.5% de organismos del suelo. [3]

Tabla 2. Propiedades de la Materia Orgánica y sus Efectos en el Suelo

Propiedad	Observaciones	Efectos en el suelo
Color	El típico color oscuro de muchos suelos es causado por la materia orgánica.	Puede facilitar el calentamiento.
Retención de Agua	La materia orgánica puede almacenar durante 20 minutos su peso en agua.	Ayuda a prevenir la desertificación y mejora la retención de humedad en suelos arenosos.
Combinación con minerales de arcilla	Formación de agregados.	Permite el intercambio gaseoso, estabiliza la estructura e incrementa la permeabilidad.
Quelación	Forma compuestos estables con $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Mn}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ .	Mejora la disponibilidad de micronutrientes para las plantas.
Solubilidad en Agua	La insolubilidad de la materia orgánica en agua se debe al contenido de arcillas y sales.	Reduce la pérdida de materia orgánica por lixiviación.
Acción Buffer	Ejerce acción buffer en rangos ácidos, neutros y alcalinos.	Ayuda a mantener estable el pH del suelo.

Tabla 2. (Continuación)

Intercambio Catiónico	La acidez total de la materia orgánica varía entre 300 a 1400 cmol/kg.	Incrementa la Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC).
Mineralización	Descompone los elementos de la materia orgánica.	Fuente de nutrientes para el crecimiento de las plantas.
Combinación con Xenobióticos	Afecta la persistencia y biodegradabilidad de los pesticidas.	Modifica las tasas de aplicación de los pesticidas para un control efectivo.

Fuente: Pierzynski Gary, Soils and Environmental Quality 2005.

## 2.5 CONTAMINACIÓN DEL SUELO

Se define como la pérdida de la calidad del suelo debido a su inadecuado uso por el ser humano; a su vez la calidad del suelo es “la capacidad o habilidad de un suelo para producir cultivos sanos y nutritivos de manera sostenible a largo plazo para mejorar la salud humana y animal sin afectar los recursos naturales o negativamente el ambiente” (Parr et al. 1992). El contaminante puede ser una sustancia presente en el suelo en concentraciones mayores que las normales, ocasionando efectos adversos en los seres humanos y demás seres vivos. [3; 11]

### 2.5.1 Principales Tipos de Contaminantes

Los contaminantes del suelo se pueden clasificar según la Tabla 3 y está dividida por proceso o contaminante. [11]

Tabla 3. Clasificación de los Contaminantes y su Impacto Ambiental

Contaminante o Proceso	Ejemplo	Afectación Ambiental
Nutrientes	Nitrógeno y Fósforo en fertilizantes comerciales, abono y biosólidos.	Eutroficación, contaminación del agua potable.
Pesticidas	Insecticidas, fungicidas, etc. herbicidas	Riesgo ecológico, salud humana, contaminación del agua potable.
Acidificación	Lluvia ácida, drenajes ácidos de mina.	Riesgo ecológico y degradación de estructuras.
Salinidad o Sodicidad	Irrigación de agua salina o sódica, intrusión de agua salada.	Pérdida de la productividad del suelo.
Elementos Traza	Metales pesados, elementos normalmente presentes en las plantas en bajas concentraciones.	Riesgo ecológico, salud humana.
Compuestos Orgánicos Peligrosos	Combustibles, solventes, compuestos orgánicos volátiles.	Riesgo ecológico, salud humana, contaminación del agua potable.

Fuente: Pierzynski Gary, Soils and Environmental Quality 2005.

Los *nutrientes* hacen referencia al impacto negativo del nitrógeno (N) y el fósforo (P) cuando están en altas concentraciones. La principal fuente es el uso de productos agrícolas como los fertilizantes. De igual forma los *pesticidas* utilizados para el control de plagas en las plantas, se deben a las prácticas de producción agrícola. [11]

La *acidificación* implica diversos procesos, algunos de ellos es la lluvia ácida que resulta de la conversión de los óxidos de nitrógeno y azufre en sus respectivos ácidos en la atmósfera. Los drenajes ácidos de mina son otra fuente de acidificación, debido a la oxidación de los minerales con sulfuros, principalmente la pirita ( $\text{FeS}_2$ ), el pH puede bajar hasta 2.0 lo cual produce impactos nocivos al suelo y su ecosistema. [11]

La *salinidad o sodicidad* reduce la producción de la planta debido al estrés causado por el incremento de la presión osmótica y los cambios en las propiedades físicas del suelo cuando las concentraciones de sales o de sodio (Na) son demasiado altas. [11]

Los *elementos traza* generalmente están presentes en los suelos y las plantas en concentraciones bajas, ya que son esenciales para el desarrollo de los seres vivos. Se convierten en contaminantes cuando las concentraciones son muy elevada que causan problemas en a la salud humana, de los animales y de las plantas. [11]

Los *compuestos orgánicos peligrosos* son numerosos y se utilizan en la mayoría de procesos industriales. Son tóxicos para los seres humanos y otros organismos vivos. Algunos de ellos son los combustibles, solventes, compuestos orgánicos volátiles y demás derivados del petróleo. [11]

### **2.5.2 Compuestos Orgánicos**

El crudo de petróleo es una mezcla compleja de cientos de miles cadenas de hidrocarburos, los cuales se dividen en hidrocarburos saturados, hidrocarburos aromáticos y compuestos orgánicos polares. Los hidrocarburos saturados se separan según las cadenas y ramificaciones de alcanos, tales como los cicloalcanos con diversas cadenas y anillos saturados. Los hidrocarburos aromáticos contienen uno o más anillos aromáticos variando desde los compuestos monoaromáticos como el benceno y tolueno, hasta los compuestos poliaromáticos (PAH's) como el pireno. La fracción polar está compuesta de heteroátomos de oxígeno nitrógeno y azufre. El petróleo refinado también está compuesto por un gran número de cadenas de hidrocarburos, como el keroseno, la gasolina, el diesel que están compuestos por más de 10.000 diferentes hidrocarburos. [12]

### 2.5.2.1 Diesel

El diesel es una mezcla compleja de hidrocarburos saturados o alifáticos (60% – 80%) y compuestos hidrocarburos aromáticos (20% – 40%), Ver Tabla 4 y Tabla 5. Frecuentemente es reportado como contaminante del suelo debido a sus múltiples usos tales como, combustible para máquinas, calderas, tanques militares y vehículos con motores diesel que están especialmente diseñados para trabajar solo con este tipo de hidrocarburo. Se obtiene de la destilación del petróleo crudo a temperaturas entre 200°C y 350°C y posee una densidad de 0.832 kg/l o 832 kg/m<sup>3</sup>; su poder calorífico es de 43.1 MJ/kg y su punto de ebullición varía entre 130°C y 370°C; su solubilidad en agua es de 0.0007 kg/m<sup>3</sup>, su calor de combustión es de 11200 BTU/lb, y sus costos de procesamiento son menores que los de la gasolina por sus características físico-químicas antes mencionadas. [13; 15]

Tabla 4. Propiedades Físico-Químicas de los Combustibles Diesel

Característica	Diesel No.1-D	Diesel No. 2 – D
<b>Color</b>	Incoloro a marrón	Incoloro a marrón
<b>Estado físico</b>	Líquido	Líquido
<b>Punto de fusión</b>	-34°C	18°C
<b>Punto de ebullición</b>	193 – 293°C	282 – 338°C
<b>Densidad a 15°C</b>	0.810 – 0.9360 g/ml	Ningún dato
<b>Densidad a 20°C</b>	Ningún dato	0.8700 – 0.9500 g/ml
<b>Solubilidad en agua</b>	5 mg/L	5 mg/L
<b>Solubilidad con solventes orgánicos</b>	Ningún dato	Ningún dato
<b>Coefficientes de partición:</b>		
Log K <sub>ow</sub>	3.3 – 7.06	3.3 – 7.06
Log K <sub>oc</sub>	3.0 – 6.7	3.0 – 6.7
<b>Presión de vapor a 21°C</b>	2.12 – 26.4 mmHg	2.12 – 26.4 mmHg
<b>Constante de Ley de Henry a 20°C</b>	5.9 x 10 <sup>-5</sup> – 7.4 atm-m <sup>3</sup> /mol	5.9 x 10 <sup>-5</sup> – 7.4 atm-m <sup>3</sup> /mol
<b>Temperatura de autoignición</b>	177 – 329 °C	254 – 285°C
<b>Punto de inflamación</b>	38°C	52°C
<b>Límite de inflamabilidad (% de volumen de aire)</b>	1.3 – 6%	1.3 – 6%

Fuente: USA Air Force, 1989.

Tabla 5. Composición del Diesel

Componente	Concentración (% Volumen)	Componente	Concentración (% Volumen)
<b>C<sub>10</sub> parafinas</b>	0.9	C <sub>15</sub> parafinas	7.4
<b>C<sub>10</sub> cicloparafinas</b>	0.6	C <sub>15</sub> cicloparafinas	5.5
<b>C<sub>10</sub> aromáticos</b>	0.4	C <sub>15</sub> aromáticos	3.2
<b>C<sub>11</sub> parafinas</b>	2.3	C <sub>16</sub> parafinas	5.8
<b>C<sub>11</sub> cicloparafinas</b>	1.7	C <sub>16</sub> cicloparafinas	4.4
<b>C<sub>11</sub> aromáticos</b>	1.0	C <sub>16</sub> aromáticos	2.5
<b>C<sub>12</sub> parafinas</b>	3.8	C <sub>17</sub> parafinas	5.5
<b>C<sub>12</sub> cicloparafinas</b>	2.8	C <sub>17</sub> cicloparafinas	4.1
<b>C<sub>12</sub> aromáticos</b>	1.6	C <sub>17</sub> aromáticos	2.4
<b>C<sub>13</sub> parafinas</b>	6.4	C <sub>18</sub> parafinas	4.3
<b>C<sub>13</sub> cicloparafinas</b>	4.8	C <sub>18</sub> cicloparafinas	3.2
<b>C<sub>13</sub> aromáticos</b>	2.8	C <sub>18</sub> aromáticos	1.8
<b>C<sub>14</sub> parafinas</b>	8.8	C <sub>19</sub> parafinas	0.7
<b>C<sub>14</sub> cicloparafinas</b>	6.6	C <sub>19</sub> cicloparafinas	0.6
<b>C<sub>14</sub> aromáticos</b>	3.8	C <sub>19</sub> aromáticos	0.3

Fuente: Riser-Roberts Eve, Remediation of Petroleum Contaminated Soils, 1998.

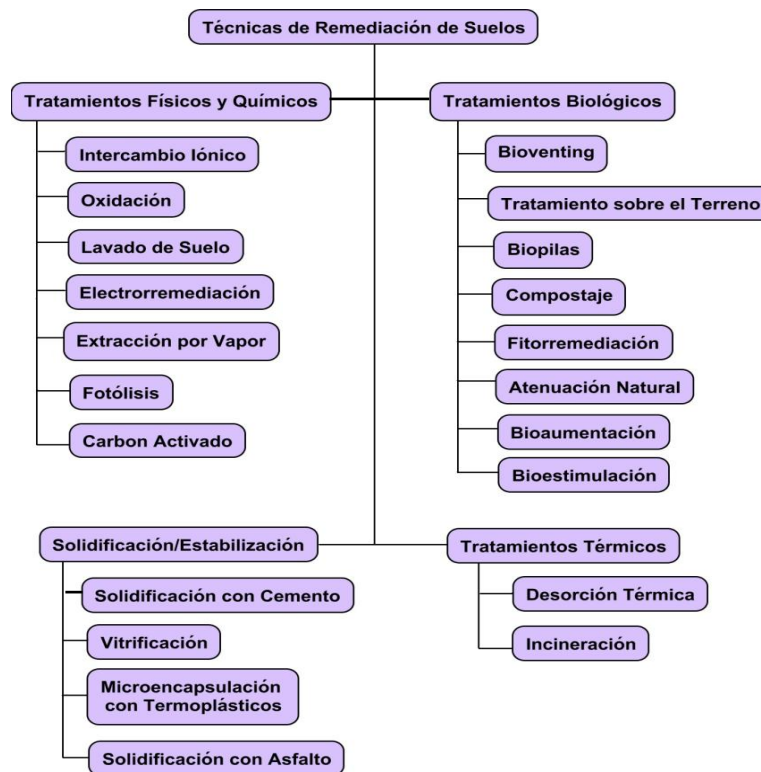
Comercialmente el diesel no es totalmente biodegradable, ya que depende de la estructura química de sus compuestos orgánicos y de la presencia de oxígeno. En la mayoría de los casos la fracción más liviana de los hidrocarburos que componen el diesel, se degrada a una mayor velocidad que la fracción más pesada, siendo mineralizada, lo que significa que se convierte completamente en dióxido de carbono y agua. La biodegradación intrínseca del diesel varía entre el 60% y el 73% o entre el 70% y el 90%; y puede ser mejorada por la estimulación con microorganismos nativos y la adición de nutrientes y oxígeno en el sistema contaminado, puesto que en ambientes aerobios, las modificaciones permiten que los productos de la metabolización oxigénica, sean compuestos menos volátiles, más solubles y más degradables. Los hidrocarburos aromáticos son menos biodegradables que los hidrocarburos saturados debido a que los primeros tienen una mayor complejidad en sus cadenas de carbono, un mayor peso molecular y por ende una menor solubilidad en agua y una mayor adhesión a los poros intersticiales del suelo. [13]

Las bacterias que han sido identificadas como degradadoras de diesel son: *Pseudomonas* spp., *Xanthomonas* spp., *Acinetobacter junii*, *Actinomyces* spp., *Bacillus cereus*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus fusiformis*, *Arthrobacter* spp., *Bacillus pumilus*, *Micrococcus* spp., *Pseudomonas jessenii*, *Pseudomonas resinovorans*, *Exiguobacterium* spp., *Delftia tsuruhatensis*, *Pseudomonas fluorescens*. [30; 31]

## 2.6 TRATAMIENTOS DE REMEDIACIÓN DE SUELOS

La remediación se refiere al proceso o método para tratar los contaminantes en el suelo y es el paso preliminar para realizar conservación del suelo, ya que primero se debe reducir y si es posible eliminar los contaminantes presentes en el suelo. La Figura 9 presenta la clasificación de las diferentes técnicas de remediación implementadas desde hace varios años con resultados exitosos. La mayoría de ellas tienen factores limitantes en su aplicación, son muy costosas o son parcialmente efectivas, pero lo importante es que le ofrecen al suelo un ambiente sostenible, a la vez que minimizan el riesgo de los contaminantes. La remediación debe efectuarse en los casos que la contaminación represente riesgo a la población o al ecosistema del lugar. Los tratamientos de remediación pueden realizarse *in situ*, en el lugar donde se encuentra la contaminación, o *ex situ*, transportando el suelo a otro lugar donde se facilite su descontaminación. [4; 11]

Figura 5. Clasificación de las Técnicas de Remediación



Fuente: Mirsal Ibrahim, Soil Pollution 2008.

La excavación es lo primero que debe hacerse para realizar tratamientos *ex situ*, fuera del sitio contaminado. El suelo excavado es transportado a otro lugar donde la remediación puede llevarse a cabo en tanques o reactores especialmente diseñados para ello. También puede ser dispuesto en rellenos sanitarios sin

ningún tratamiento, pero cuando es tratado, retorna al lugar procedente. Ciertos problemas asociados al tratamiento *ex situ* son: la liberación incontrolada de vapores a la atmósfera, los daños a estructuras cercanas y los costos de tratamiento son mayores que los métodos *in situ*. Una vez efectuada la excavación se procede a determinar cual tratamiento físico, químico o biológico es el más adecuado para el suelo a remediar. La remediación *in situ* se realiza generalmente cuando el volumen del suelo es significativo y su transporte se hace dispendioso y costoso. [3; 12]

Algunos métodos requieren instalaciones y especificaciones técnicas tales como tanques, reactores, lechos preparados o equipos como bombas de succión o pozos de inyección en el suelo. Dependiendo de la situación y los recursos se elige si se hace remediación *in situ* o *ex situ*. [3]

### 2.6.1 Tratamientos Físico – Químicos

El principio de los tratamientos físico – químicos es modificar el entorno químico de la matriz porosa, para prevenir que los contaminantes sean transferidos a otros componentes del suelo tales como los organismos, las plantas o el agua subterránea. [3] A continuación se describen en la Tabla 6.

Tabla 6. Descripción de las Tratamientos Físico – Químicos

Técnica	Principio de Funcionamiento
Oxidación	Es una técnica efectiva de remediación de suelos contaminados que abarca un amplio rango de sustancias que no son fáciles de degradar biológicamente. Lo anterior se logra gracias a los agentes oxidantes utilizados, entre los más comunes se encuentran el permanganato de potasio, el hidrógeno, el peróxido y el ozono, alcanzando remociones mayores del 90% en periodos cortos de tiempo. [3]
Electrorremediación	Generación de campos eléctricos por medio de corriente directamente en el suelo. Se ubican dos electrodos, un ánodo y un cátodo, que se encuentran en pozos subterráneos, para mejorar la conductividad eléctrica se utiliza un electrolito, de esta manera el contaminante es conducido hacia los pozos de los electrodos. La electrorremediación es efectiva en suelos con baja conductividad hidráulica, para controlar la dirección de los contaminantes hacia los pozos y poder tratar varios contaminantes a la vez. [17]
Intercambio Iónico, Quelación y Precipitación	Los suelos con altos valores de CIC presentan mayor posibilidad de intercambiar cargas que inmovilizan los contaminantes. La adición de resinas sintéticas, zeolitas o arcillas pueden incrementar la CIC, lo que estimula la unión de las cargas positivas de los contaminantes con las cargas negativas de los grupos funcionales de la materia orgánica. [3]

Tabla 6. (Continuación)

Fotólisis	Es la degradación de los contaminantes orgánicos por medio de radiación ultravioleta. Puede realizarse con luz ultravioleta artificial o simplemente exponiendo el suelo a la luz del sol, de esta manera se degradan los contaminantes poco profundos lo que se puede complementar con un tratamiento de biorremediación. [3]
Extracción por Vapor (SVE)	Hace referencia a la inyección de aire limpio en la zona vadosa del suelo para separar los vapores orgánicos de la solución del suelo. De esta manera los vapores se desprenden del agua del suelo para pasar al aire inyectado para que los vapores sean removidos mediante pozos de extracción al vacío, posteriormente los gases son tratados con carbón activado y liberados a la atmósfera. Cabe resaltar la importancia del grado de saturación del suelo para la eficiencia de esta técnica así como las propiedades de los contaminantes. [3;4]
Adsorción por Carbón Activado Granulado	Es una técnica utilizada efectivamente para remover compuestos orgánicos volátiles (VOC), hidrocarburos, explosivos y pesticidas. Depende de la capacidad de los contaminantes para adsorber el carbón activado de la superficie y puede ser utilizado para la fase líquida del suelo (tratamiento de agua subterránea) o la fase gaseosa (tratamiento de los gases que salen de la extracción por vapor); también se puede realizar el tratamiento <i>ex situ</i> , en tanques o en lechos preparados con carbón activado granular. [3]
Lavado de Suelo	El proceso de ésta técnica es lavar el suelo con una solución acuosa que tiene un catalizador o surfactante para acelerar o permitir el proceso de unión del agua con el contaminante. Si el tratamiento se realiza <i>ex situ</i> se debe realizar en un tanque con agitadores mecánicos, donde tiene lugar la separación de la fracción fina del suelo (arcillas y limos) de la fracción gruesa (arenas y gravas), la primera pasa a un posterior tratamiento y la segunda retorna al suelo. También se puede realizar el lavado de suelo <i>ex situ</i> con un sistema de bombeo y pozos de inyección por donde es introducida la solución y pozos de extracción para traer a la superficie la emulsión resultante del proceso. [3;12]

### 2.6.2 Tratamientos Térmicos

La adición de calor al suelo estimula la volatilización y destrucción de los contaminantes permitiendo el paso de los compuestos orgánicos a la fase de vapor donde se extraen con un sistema convencional de extracción al vacío [4]. Los tratamientos térmicos incluyen diversas tecnologías entre las cuales se destacan las siguientes en la Tabla 7:

Tabla 7. Descripción de las Tratamientos Térmicos

Técnica	Principio de Funcionamiento
Desorción Térmica	Es una técnica que no implica incineración y que mayormente se ha implementado para contaminantes de tipo orgánico como hidrocarburos de petróleo. Los suelos contaminados están sometidos a una atmósfera inerte donde la presión de los vapores de los compuestos orgánicos aumenta transfiriéndolos desde la fase sólida a la fase gaseosa, separándose los contaminantes de la matriz del suelo. De acuerdo a las temperaturas de tratamiento se clasifican como bajas temperaturas (100 – 350°C) y altas temperaturas (350 – 600°C), separando los contaminantes del suelo, y la destrucción térmica (600 – 1000°C), implicando la modificación térmica de los contaminantes permitiendo el proceso de remediación. [12; 15]
Incineración	Es una técnica que elimina en más del 99.99% los contaminantes del suelo en especial los hidrocarburos, pero su implementación es costosa. Las altas temperaturas exigen condiciones estrictas de operación, para 1200°C se requiere un tiempo de residencia del suelo de 2 s y para 1600°C un tiempo de residencia de 1.5 s, logrando altos porcentajes de remoción. [12; 16]

### 2.6.3 Solidificación/Estabilización

La base de estas técnicas es la inmovilización o estabilización de los contaminantes presentes en el suelo, previniendo que ingresen al ambiente, encapsulándolos y convirtiéndolos en una masa sólida inerte o menos soluble y tóxica [3]. Los tratamientos que se encuentran en esta categoría se describen en la Tabla 8.

Tabla 8. Descripción de las Tratamientos de Solidificación/Estabilización

Técnica	Principio de Funcionamiento
Encapsulación en Materiales Termoplásticos	El termoplástico es fundido y mezclado con el suelo contaminado en tanques diseñados para tal fin, como resultado se obtiene una suspensión homogénea que después se deja enfriar, solidificar y se dispone en un lugar seguro. [3]
Solidificación en Base Bituminosa	El contaminante es embebido en asfalto fundido, se deja enfriar y solidificar. El bitumen impide que los contaminantes tengan contacto con el ambiente debido a su inmovilización dentro de este material, su permeabilidad baja y es resistente a fluctuaciones drásticas de temperatura. [3]

Tabla 8. (Continuación)

Vitrificación	El suelo contaminado es encapsulado en una masa monolítica de vidrio y puede realizarse <i>in situ</i> o <i>ex situ</i> . El proceso consiste en la introducción de electrodos de grafito en el suelo, calentarlos mediante corriente eléctrica generando temperaturas entre 1600 – 1800°C, fundiendo el suelo y formando un bloque de un material semejante al vidrio. Una desventaja de ésta técnica es que la mayoría de los contaminantes orgánicos se oxidan durante el proceso, lo que hace necesario implementar un tratamiento de las emisiones atmosféricas. El volumen es reducido entre 25 – 35%. [3;11]
Solidificación con Cemento Portland	El suelo es fundido con una mezcla de cemento o puzolanas en presencia de aditivos alcalinos, impidiendo el contacto con el ambiente. Una desventaja de éstas técnicas de solidificación es el incremento de residuos en volumen pasando del 10% al 30%. [11]

#### 2.6.4 Tratamiento Biológico - Biorremediación de Suelos

La biorremediación es un tratamiento en el cual se aprovecha la capacidad de los organismos vivos para degradar los compuestos químicos orgánicos en sustancias menos tóxicas. Las plantas y los microorganismos especialmente las bacterias y hongos del suelo, metabolizan los compuestos orgánicos como fuente de alimento debido a que contienen carbono C, o también los co-metabolizan convirtiéndolos en otras sustancias que no necesariamente son fuente de energía, producto de su proceso bioquímico. Los microorganismos viven a determinadas condiciones de temperatura, pH, humedad, nutrientes, presencia o ausencia de oxígeno, entre otras, y por ende son diversos los factores que se deben controlar para que el tratamiento sea exitoso. Debido a lo anterior, se recomienda realizar la remediación *ex situ*, en biorreactores especialmente diseñados para mantener las condiciones óptimas de crecimiento de los microorganismos. Los biorreactores son recipientes herméticos en los cuales se deposita el suelo contaminado a las condiciones determinadas para la bacteria o el consorcio microbiano. La temperatura, el suministro de nutrientes, la aireación y la concentración del contaminante pueden fácilmente ser controladas hasta su finalización. [11]

Globalmente, la biorremediación es una alternativa muy común de remediación de sitios contaminados con hidrocarburos de petróleo. La Biorremediación ha sido definida como un proceso controlado o espontáneo, en el cual mediante procesos biológicos, especialmente microbianos, los componentes del contaminante son catalizados. [14]

La biorremediación también incluye un rango de técnicas y/o tecnologías de remediación del ambiente que fueron introducidas en los años 80's y 90's. Desde entonces sus aplicaciones han crecido rápidamente por el mundo entero. En décadas recientes, la biorremediación se ha convertido en uno de los enfoques

más comunes usados para remediar sitios contaminados con hidrocarburos de petróleo. Las tecnologías de biorremediación son atractivas porque ofrecen potencialmente un ahorro de costos significativo, en comparación con las tecnologías “convencionales” de recuperación, tales como la excavación y disposición en vertederos, excavación y tratamiento térmico, y bombeo y tratamiento. Los defensores han sostenido que las tecnologías de biorremediación son más seguras y menos perjudiciales que la mayoría de las tecnologías “convencionales”. [14]

Las técnicas de biorremediación aceleran la reducción o eliminación de contaminantes a través de la modificación del ambiente. Las tecnologías pasivas de biorremediación hacen uso del proceso natural de biodegradación en el suelo y agua subterránea. La biorremediación *ex situ* involucra excavación del suelo contaminado para tratarlo fuera del sitio, por otro lado la biorremediación *in situ* proporciona la remediación del suelo contaminado en el mismo lugar. [12]

Los enfoques de la biorremediación son incorporados también en procesos físicos y químicos junto con procesos biológicos. La bioestimulación y bioaumentación son tecnologías activas de biorremediación que pueden ser aplicadas bajo ambas condiciones, *ex situ* o *in situ*. Esto implica la adición de nutrientes esenciales para mejorar la existente población natural microbiana (bioestimulación) o la adición de un cultivo de bacterias específica para degradar hidrocarburos (bioaumentación). Sin embargo existen muchos factores específicos del sitio, que pueden afectar el proceso de biodegradación, tales como: la presencia de la población microbiana degradadora de hidrocarburos, la composición química de la fuente de carbono, la viabilidad del oxígeno u otros aceptores de electrones, los el suministro de nutrientes, la presencia de químicos tóxicos o inhibidores, y las características geológicas e hidrogeológicas del suelo. [14]

#### **2.6.4.1 Bioaumentación**

Es una alternativa de biorremediación de suelos, en la cual se adiciona un consorcio de bacterias específico en número y especie, para mejorar el proceso natural de degradación del medio contaminado. Durante los últimos años, los compuestos contaminantes como los insecticidas, los hidrocarburos y una gran variedad de químicos orgánicos tóxicos han sido remediados exitosamente usando la bioaumentación. [18]

La bioaumentación tiene ventajas sobre las otras técnicas de biorremediación tales como, su proceso inmediato de degradación cuando se agrega la población microbiana al suelo, mientras que la bioestimulación implica un retraso debido a la inyección de nutrientes y la adaptación de los microorganismos a ellos, la propagación de la población microbiana y también que los nutrientes no son específicos para estimular su crecimiento, retrasando el proceso de remediación del suelo. La bioaumentación actúa mejor usando microorganismos inoculados del

mismo ambiente, microorganismos nativos del suelo, debido a que tienen más posibilidades de sobrevivir y de propagarse cuando son reintroducidos en el sitio. [18]

#### **2.6.4.2 Bioestimulación**

Es la introducción de nutrientes y químicos que estimulan el crecimiento de los microorganismos nativos del suelo para mejorar el proceso biológico de remediación. En la bioestimulación se modifica el ambiente de las bacterias presentes en el suelo, adicionando compuestos que otorgan energía como el fósforo, nitrógeno o carbono para estimular la producción de enzimas que remueven los contaminantes. Una ventaja de éste método sobre la bioaumentación es que la degradación es realizada por todos los microorganismos nativos del suelo que están bajo las mismas condiciones y distribuidos por toda el área afectada. Una desventaja son las características físico-químicas del suelo y las condiciones climáticas del lugar, debido a que limitan la infiltración de los nutrientes. [19]

#### **2.6.4.3 Atenuación Natural**

Es el proceso de disminuir la contaminación, implementando mecanismos naturales sin realizar ninguna intervención o modificación de las condiciones propias del suelo. La atenuación natural depende de los procesos físicos, químicos y biológicos de degradación característicos del suelo contaminado, y las propiedades del contaminante, factores que deben ser continuamente monitoreados para determinar el nivel de remediación. Es un método muy lento lo que significa una desventaja sobre la biorremediación y por tanto en la mayoría de los casos se combinan las dos técnicas. [19]

#### **2.6.4.4 Fitorremediación**

Hace referencia a la implementación de plantas para remediación de suelos con compuestos contaminantes orgánicos e inorgánicos. La mayor parte del proceso tiene lugar en las raíces y su entorno (rizosfera), las cuales absorben los contaminantes y los transforman o los almacenan en sus partes. Es una técnica muy utilizada en los últimos años que ha tenido amplia aceptación entre los otros métodos de biorremediación para metales pesados e hidrocarburos de petróleo [3].

#### **2.6.4.5 Tratamiento sobre el Terreno**

Es la aplicación del suelo contaminado sobre el terreno donde se encuentra en proporciones controladas, mezclándolos con la capa superficial del suelo y estimulando los procesos naturales físicos, químicos y biológicos existentes en el suelo para la degradación e inmovilización de los constituyentes del suelo. Para estimular el crecimiento bacteriano y por ende la degradación de los

contaminantes, se deben realizar una serie de operaciones tales como, ajuste de pH, aireación, adición de nutrientes, control de la humedad y mezcla constante del suelo. Esta técnica tiene como fundamento las prácticas agrícolas y debido a ello en ocasiones se le denomina “cultivo agrícola”, pero el tratamiento sobre el terreno de los no es un cultivo en el sentido agrícola porque no se cultivan productos agrícolas en el suelo debido a que éstos pueden asimilar los constituyentes tóxicos. [17]

#### 2.6.4.6 Compostaje

Es el proceso en el cual se convierten los compuestos orgánicos contaminantes en materiales húmicos bajo ambientes aerobios o anaerobios. La degradación tiene lugar a determinadas condiciones de altas temperaturas, pH óptimo, pool de microorganismos apropiado, nutrientes necesarios y humedad. Es un tratamiento que debe realizarse *ex situ*, ya sea en hileras, pilas estáticas o reactores cerrados. [17]

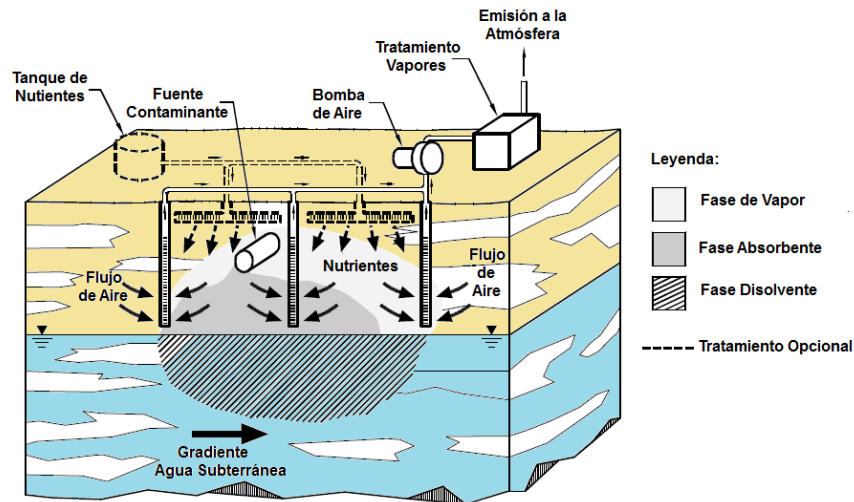
- **Hileras:** En esta técnica la mezcla del residuos y las sustancias orgánicas se apilan en largas filas y se da vuelta una o dos veces por semana, o incluso diariamente. El volteo airea la mezcla y libera el exceso de calor; también incrementa la liberación de los volátiles. [17]
- **Pilas estáticas:** Es similar a la técnica en hileras excepto que las pilas no se voltean. En su lugar, al construir las pilas encima de una red de tuberías perforadas, el aire es mecánicamente extraído o forzado, a través de las pilas, utilizando un sistema de aire al vacío o forzado. [17]
- **Reactor cerrado:** Al realizar el compostaje en un reactor cerrado, el proceso se puede optimizar para completarse en tan sólo tres días en comparación con los treinta días del proceso en hileras. También se facilita el control de las emisiones de los compuestos volátiles mediante sistemas de recolección del aire de la parte de arriba del compost o por un sistema de extracción en el compost. [17]

#### 2.6.4.7 Bioventing (bioventilación)

Es una técnica de remediación de suelos aplicada *in situ* que estimula las bacterias nativas que degradan los compuestos orgánicos contaminantes debido a la inyección de aire u oxígeno a través de la zona vadosa del suelo. El sistema está compuesto por pozos de inyección y de extracción de aire y si es necesario de un sistema de inyección de nutrientes (Figura 10). Entre sus ventajas se encuentran sus cortos periodos de tiempo de tratamiento, generalmente de seis meses a dos años, sus bajos costos de implementación, la facilidad del montaje del sistema, disturba mínimamente el lugar de operación y además se puede realizar en áreas inaccesibles como bajo las estructuras. Entre las desventajas del

bioventing están su inaplicabilidad en suelos con baja permeabilidad y altos contenidos de arcilla, también inicialmente las concentraciones de oxígeno pueden ser tóxicas para los microorganismos nativos. En general es una técnica que abarca un amplio rango de contaminantes y que es efectiva para aquellos que se no se volatilizan fácilmente y persisten en los poros del suelo. [20]

Figura 6. Sistema Representativo de Bioventing



Fuente: Environmental Protection Agency, 1994.

Para realizar la inyección de aire se deben tener en cuenta los siguientes factores: permeabilidad del suelo: alta; presencia de microorganismos: >1000 UFC/g de suelo seco; pH del suelo: 6 – 8; presencia de humedad; temperatura entre 10°C y 45°C apropiada para el crecimiento microbiano; presencia de nutrientes en relación carbono, nitrógeno, fósforo de 100:10:1 a 100:1:0.5 apropiados para la actividad bacteriana. [20]

La tasa de oxigenación es un parámetro importante al momento de diseñar el sistema de bioventing debido a la biodegradación aeróbica que utiliza el oxígeno como aceptor de electrones. Para el tratamiento de hidrocarburos se recomienda suministrar entre 3.0 y 3.5 libras de oxígeno por cada libra de hidrocarburo presente en el suelo. La cantidad mínima de aire usualmente es el volumen de aire que utilizan los microorganismos nativos para mejorar el proceso de degradación aeróbica [17]. La Tabla 9 presenta los flujos de aire equivalentes al oxígeno proporcionado.

Tabla 9. Relación Aire – Oxígeno Suministrado por Pozo de Aireación

Oxígeno Suministrado por Pozo de Aireación		
Tasa de Flujo de Aire	Oxígeno Provisto	
m <sup>3</sup> /min	lb/día	Kg/día
2.83 x 10 <sup>-2</sup>	23	10
1.42 x 10 <sup>-1</sup>	117	52
2.83 x 10 <sup>-1</sup>	233	106
5.66 x 10 <sup>-1</sup>	467	212
1.42	1170	529
2.83	2330	1060

Fuente: Environmental Protection Agency, 1994.

#### 2.6.4.8 Antecedentes en Estudios de Biorremediación en Biorreactores a Escala de Laboratorio

Bento F., et al (2004), realizaron una investigación en la cual comparaban la biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos por atenuación natural (habilidad natural del suelo para degradar el contaminante), bioestimulación (adición de nutrientes al suelo para mejorar la tasa de biodegradación natural) y bioaumentación (adición de un consorcio microbiano de especies seleccionadas aisladas del suelo contaminado mas nutrientes), durante 12 semanas. Las muestras de suelo se colocaron en un set de tazas de aluminio y fueron cubiertas con papel aluminio para mantener la temperatura apropiada. Se agregaron los nutrientes y las cepas bacterianas a cada taza y una de control con suelo esterilizado. La atenuación natural resultó el mejor tratamiento para el suelo de Hong – Kong, y la bioaumentación el mejor tratamiento para el suelo de California. La bioestimulación no resultó un tratamiento efectivo debido a las relaciones Carbono/Fósforo y Carbono/Nitrógeno del suelo eran más pequeñas que las requeridas por las bacterias. [21]

Ayotamuno M.J., et al (2007), realizaron una investigación en la cual se remediaban lodos con hidrocarburos que contaminaban el suelo, mediante tratamiento de bioaumentación, durante seis semanas. Se identificaron, aislaron e incubaron las cepas microbianas *Bacillus* y *Pseudomonas* las cuales se adicionaron a tres reactores, uno con *Bacillus*, el otro con *Pseudomonas*, y el tercero con un cultivo mixto de ambas cepas. Un cuarto reactor correspondía a suelo esterilizado identificado como control. Los resultados fueron: mayor degradación el reactor con cultivo mixto con un porcentaje de remoción del contenido de hidrocarburos de 84.5%. *Pseudomonas* parece ser la mejor cepa degradadora por presentar los mejores porcentajes de remoción. [22]

Pérez R., et al (2007), realizaron el aislamiento y selección de una cepa bacteriana degradadora de hidrocarburos a partir de suelos contaminados con petróleo. (Cuba) Mediante un aislamiento realizado por enriquecimiento secuencial utilizando petróleo como única fuente de carbono y energía para adaptarlas e

identificar cual era la más resistente. Todas las cepas mostraron crecimiento, siendo *Pseudomonas aeruginosa* la que mayor crecimiento mostró, es una bacteria capaz de utilizar una enorme variedad de compuestos orgánicos como sustratos para crecer, capacidad que le permite colonizar nichos y ambientes inhóspitos en los que son escasos los nutrientes y que otros organismos no pueden asimilar. [23]

Arrar J., et al (2007), estudiaron la biorremediación de suelos contaminados con diesel en un reactor de lecho fluidizado a presión, para la estimulación de microorganismos degradadores de petróleo. Los experimentos se llevaron a cabo usando diferentes tasas de aireación y/o flujo de aire a presión y consecuentemente se mezclaron varias tasas para investigar su influencia en los porcentajes de biodegradación y de remoción. El contenido de diesel decreció rápidamente en todos los experimentos en los primeros siete días, con diferentes porcentajes de remoción. La presencia de la presión a chorro, favoreció el intercambio de partículas, transferencia entre las diversas fases que están presentes y aceleró el proceso de remoción del diesel. También, la influencia de la aireación pareció insignificante comparado con la del chorro. La relación entre la remoción y la biodegradación varió del 69% al 99%, y del 54% al 84% respectivamente, durante los 15 días de tratamiento. La mejor biodegradación fue de 84% ocurrida en el caso de la expansión del lecho con una mínima fluidización, operando el chorro a una velocidad de 37 m/s. La biodegradación del diesel se rige por una cinética de primer orden. Los flujos de aire importantes mejoraron la eficiencia de la remoción de diesel. [13]

Gogoi B.K., et al (2002), realizaron estudios a escala laboratorio y a escala campo-piloto acerca de la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo en los campos de petróleo de Borhola, Assam, India. Los efectos de aireación, nutrientes (nitrógeno y fósforo) y la inoculación de un consorcio microbiano foráneo en el proceso de biorremediación fueron investigados. Los beneficios de estos parámetros en la tasa de biorremediación fueron analizados por igual a escala de laboratorio y a escala campo-piloto. Los estudios de campo revelaron que más del 75% de los hidrocarburos contaminantes fueron degradados en el plazo de un año, indicando la viabilidad del desarrollo de un protocolo de biorremediación. Un estudio complementario de simulación computarizada se llevó a cabo para mejorar la comprensión de los procesos básicos y la tasa de biorremediación. Las simulaciones indicaron que debido a las altas concentraciones iniciales de contaminante, el proceso de biorremediación fue restringido mayormente a los macroporos del sistema en el plazo de un año y no penetró lo suficiente en los agregados del suelo. [27]

Jung H., et al (2005), investigaron los efectos de la oxidación química en columnas experimentales de suelo en campo, contaminado con diesel de petróleo, evaluando la supervivencia de los microbios nativos tales como: microbios heterótrofos, microbios degradadores de fenantreno y microbios degradadores de

alcanos. El decrecimiento rápido de los hidrocarburos totales de petróleo (TPH) y aromáticos del diesel, fue observado en los primeros 60 minutos de la inyección de ozono; después de 60 minutos, los TPH y los aromáticos decrecieron asintóticamente con la ozonización. Los tres tipos de microbios nativos tratados fueron muy sensibles al ozono en la columna experimental de suelo, por lo tanto la población microbiana decreció exponencialmente con el periodo de ozonización. Los números de bacterias heterótrofas, bacterias degradadoras de alcanos y degradadoras de fenantreno fueron reducidos de  $10^8$  a  $10^4$ , de  $10^7$  a  $10^3$ , y  $10^6$  UFC por gramo de suelo, respectivamente, por debajo del límite de detección después de 900 minutos de ozonización. A excepción de la muestra de suelo para ozonización durante 900 minutos, la incubación de las muestras de suelo ozonizadas que no fueron limitadas por la difusión de oxígeno, mostró una mayor remoción de TPH. Las muestras de suelo que fueron ozonizadas durante 180 minutos, exhibieron la más baja concentración de TPH y la más alta tasa de recrecimiento de la población de los tres tipos de microorganismos tratados durante las 9 semanas de incubación. [29]

## **2.7 FUNDAMENTO TÉCNICO DE LOS MÉTODOS IMPLEMENTADOS**

En este capítulo se describe el fundamento teórico de los materiales y métodos implementados en la realización del proyecto, basados en los análisis estandarizados a nivel nacional e internacional.

### **2.7.1 Columnas de Suelo**

Las investigaciones y estudios de laboratorio donde son utilizados columnas de suelo saturadas e insaturadas, son fundamentales para entender las dinámica del movimiento de los contaminantes a través de la matriz del medio poroso. De igual forma son implementadas para la aplicación de modelos de evaluación de transporte y destino de pesticidas, explosivos, microbios, metales pesados y líquidos insolubles en agua. Las columnas de suelo han sido utilizadas para estudiar las propiedades hidrogeológicas por más de tres décadas, tales como la evapotranspiración, la química y movimiento de los solutos en los poros de agua, el análisis de la mecánica del flujo y la permeabilidad del medio poroso. También son conocidas como lisímetros pero sólo cuando están sometidas a condiciones insaturadas. Generalmente el termino insaturadas hace referencia a las columnas de suelo que contienen aire y agua (u otro líquido) entre sus poros, replicando las condiciones encontradas en el suelo entre la superficie de la tierra y la parte superior del nivel freático, conocida como la zona vadosa o zona insaturada. [28]

Otra condición de funcionamiento de las columnas de suelo, es el régimen saturado que no contienen aire ni fase gaseosa entre sus poros, únicamente líquido como agua o aceite. Son utilizadas generalmente, para reproducir las condiciones encontradas en los acuíferos. [28]

La forma de construcción también diferencia las columnas de suelo, entre las columnas empacadas que emplean suelo excavado o disturbado y las columnas monolíticas que utilizan suelo sin disturbar. Las columnas empacadas son mas homogéneas debido a la compactación que se realiza en el momento de llenado. [28]

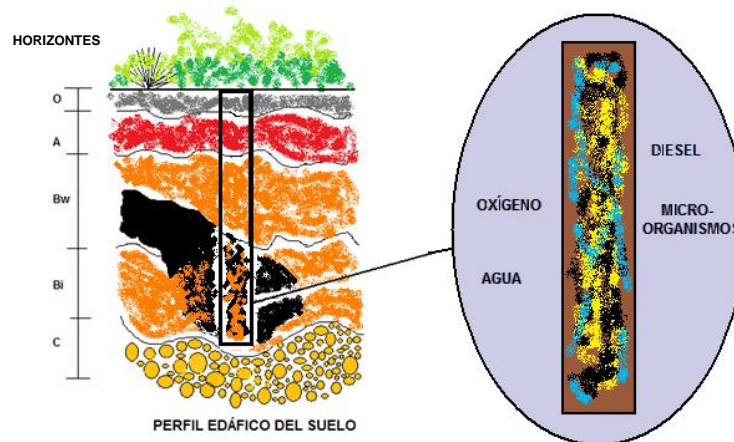
El objetivo, en la mayoría de los experimentos con columnas de suelo es reproducir o simular las condiciones ambientales que prevalecen, tales como el contenido de humedad, o la tasa de flujo del agua entre los poros del suelo. [28]

### 3. METODOLOGÍA

Dentro del marco del convenio entre la Universidad Pontificia Bolivariana y el Instituto Colombiano del Petróleo, se plantearon diferentes investigaciones para el desarrollo de tecnologías físico-químicas y biológicas para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Teniendo en cuenta lo anterior, se formuló la investigación que comprende en su primera etapa a la realización del presente proyecto, donde se simularon las condiciones de un suelo contaminado (Figura 11), al cual se le efectuó un tratamiento de biorremediación a escala de laboratorio, combinando la técnica de bioaumentación y bioventing, para determinar la relación entre el crecimiento microbiano y la degradación de los hidrocarburos totales de petróleo con la adición de oxígeno.

La metodología implementada en el desarrollo del proyecto está dividida en cuatro fases, las cuales se describen a continuación:

Figura 7. Columna de suelo.



Fuente: La Autora

#### **3.1 FASE I: DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES FÍSICO-QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS NECESARIAS PARA LA APLICACIÓN DEL PROCESO DE BIORREMEDIACIÓN, IMPLEMENTANDO UNA CEPA BACTERIANA EN LA ZONA NO SATURADA DE UN SUELO ARENOSO CONTAMINADO CON DIESEL, A ESCALA DE LABORATORIO.**

Para la simulación a escala de laboratorio de la biorremediación en un suelo arenoso contaminado con Diesel, se tuvieron en cuenta las condiciones físico-químicas y microbiológicas para el desarrollo del proyecto; por tanto, en esta primera fase se procedió a su determinación, por medio de revisión bibliográfica y ensayos previos.

### 3.1.1 Condiciones Físico – Químicas

La determinación de las condiciones de temperatura, pH, rayos ultravioleta, concentración de oxígeno y caudal de entrada de agua permitió establecer los parámetros de funcionamiento del sistema descritos en la siguiente fase. Debido a su importancia fueron determinadas mediante revisión bibliográfica y el análisis de las características físicas y químicas del suelo en el laboratorio, entre los cuales se destacan ensayos de granulometría, capacidad de intercambio catiónico, humedad, densidad real, pH, permeabilidad e infiltración. Los ensayos y análisis anteriormente nombrados se realizaron en el laboratorio de suelos adscrito a la Facultad de Ingeniería Ambiental de la Universidad Pontificia Bolivariana, y los cuales se describen en la Tabla 11.

Tabla 10. Métodos implementados en el análisis físico-químico del suelo

ANÁLISIS	MÉTODO
Textura	Método de Bouyoucos
Densidad Real	Volumen desplazado de agua por el suelo, fundamentado en el principio de Arquímedes
pH	Medición con Potenciómetro en solución con KCl y agua destilada.
Humedad Gravimétrica	Diferencia de pesos de suelo húmedo y seco.
Determinación de la Granulometría	Paso del suelo por una serie de tamices con diferentes aberturas y clasificación de los resultados en la escala granulométrica.

Fuente: Manual de Laboratorio de Análisis de Suelos, Universidad Pontificia Bolivariana, 2009.

### 3.1.2 Condiciones microbiológicas

Las condiciones microbiológicas propias de la cepa evaluada fueron determinadas por el ICP debido a su estudio en el uso de remediación de suelos contaminados con hidrocarburos en superficie y con volteos periódicos para su aireación.

## 3.2 FASE II: DISEÑO DE LAS COLUMNAS.

Esta fase comprendió dos grandes actividades, ya que para realizar el diseño de las columnas, previamente se establecieron los parámetros de funcionamiento. Las actividades fueron:

### 3.2.1 Determinación de los parámetros para la implementación del sistema de biorremediación, teniendo en cuenta las condiciones establecidas.

Los parámetros determinados previamente al diseño de las columnas fueron los siguientes:

### 3.2.1.1 Concentración de oxígeno

El oxígeno es vital para el crecimiento de los microorganismos existentes en el suelo, y el suministro del mismo es utilizado como técnica de biorremediación, porque incrementa la población microbiana oxigénica degradadora de Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH's por sus siglas en inglés), eliminando las trazas del contaminante con altas eficiencias de remoción. En esta etapa del proyecto, se adicionó oxígeno en forma de aire al suelo contaminado a un determinado caudal el cual se estableció en esta fase. De igual forma, se realizaron mediciones periódicas de la concentración de oxígeno disuelto en el caudal de agua de salida.

Para la adición de oxígeno se implementó una bomba de acuario con regulador de caudal y cuatro salidas de aire cuyas especificaciones se describen en la Tabla 12.

Tabla 11. Especificaciones Técnicas Bomba de Aire.

Marca	RESUN
Modelo	AC - 9904
Caudal por salida	Máximo 9 L/min – Mínimo 0.4 ml/min
Presión	12 psi

Fuente: Instrucciones Bomba de Aire.

Se realizaron mediciones de oxígeno disuelto y pH en el caudal de salida de cada columna, con una periodicidad de dos (2) días en la semana. Las mediciones de oxígeno disuelto fueron efectuadas con el equipo multiparámetro cuyas especificaciones se describen en la Tabla 13.

Tabla 12. Especificaciones Técnicas Equipo Multiparámetro.

Tipo	Hqd Portable Meter
Marca	Hach
Modelo	HQ40d
Serie No.	100800045-298
Sonda Oxígeno	LDO 10101
Sonda pH	PHC 30101

Fuente: Instrucciones Equipo Multiparámetro.

### 3.2.1.2 Consorcio microbiano

El consorcio microbiano que fue agregado a las columnas, fue establecido por el Instituto Colombiano del Petróleo.

### 3.2.1.3 Concentración inicial de Diesel

Se estableció la concentración inicial de diesel teniendo en cuenta los acontecimientos de contaminación de suelo con diesel de petróleo más frecuentes, ocurridas en las Áreas de Ecopetrol S.A., debido a lo anterior, se tiene una concentración estimada de diesel del orden de 2 al 6%.

### 3.2.1.4 Profundidad de la Muestra de Suelo

Los problemas de contaminación que se presentan en las Áreas de Ecopetrol S.A., suceden a niveles variables por debajo de la superficie del suelo, por tanto en ésta etapa de la investigación, se simuló la profundidad a la cual se encuentra la pluma contaminante en los eventos de contaminación mas frecuentes, reflejado en la altura de la columna, aproximadamente 50 cm de distancia, procurando reproducir la contaminación de suelos bajo la superficie con un mínimo intercambio de aireación con la superficie.

### 3.2.1.5 Caudal de Agua Bombeado

Con el fin de representar las condiciones de infiltración del agua al suelo por efecto del agua lluvia, se suministró agua a un caudal mínimo para evitar la interferencia con el tratamiento y el arrastre del contaminante, que por ser de carácter hidrófobo no se mezcla con el agua. La fuente hídrica utilizada para alimentar el sistema provenía del acueducto veredal, no del acueducto metropolitano, con el fin de impedir obstáculos en el proceso de biorremediación por parte de los químicos de potabilización (coagulantes y/o desinfectantes) presentes en dicha agua. La provisión del caudal se efectuó mediante una bomba peristáltica cuyas especificaciones técnicas se describen a en la Tabla 14.

Tabla 13. Especificaciones Técnicas Bomba Peristáltica

Descripción Componentes	Referencia
Cabezal para Bomba	MF 07519-25
Motor Standard Precision L/S	MF 77521-85
Cartuchos para Cabezal de Bomba	07519-85
Manguera Pharmed, 2.79 mm ID, 100Ft	95809-48

Fuente: Instrucciones Bomba Peristáltica

### 3.2.2 Desarrollo del diseño de las columnas.

Teniendo en cuenta los parámetros de funcionamiento previamente establecidos, se realizó el diseño de las columnas teniendo en cuenta la profundidad de la muestra determinada y tomando como referencia la Norma Técnica Alemana DIN

V 19736, la cual recomienda que: la relación altura, diámetro no debe ser menor a 3 para garantizar la representatividad del método de biorremediación; que la forma cilíndrica para los biorreactores de suelo es la más adecuada, ya que impide la formación de zonas muertas y la adhesión del hidrocarburo en los vértices de las uniones; que el material de las columnas de suelo, deber ser el acrílico, para que sea lo menos poroso y permita el comportamiento hidráulico del hidrocarburo sin adherirse a las paredes; y que la circulación del agua sea de forma ascendente, desde la base hacia la parte superior de la columna, de manera que permanezca saturado todo el sistema.

### 3.3 FASE III: MONTAJE EXPERIMENTAL DE LAS COLUMNAS QUE SIMULARÓN LAS CONDICIONES DEL SUELO CONTAMINADO.

Con las condiciones experimentales previamente establecidas, se procedió al montaje de las cuatro (4) columnas que simularon el suelo contaminado. Cada columna correspondió a una condición diferente, que permitió el análisis de las posibles alternativas presentadas en los procesos de biodegradación. El montaje se realizó por triplicado para obtener datos estadísticos confiables, en total fueron doce (12) columnas las componentes del sistema, (Figura 12).

Figura 8. Montaje experimental de las columnas de suelo.

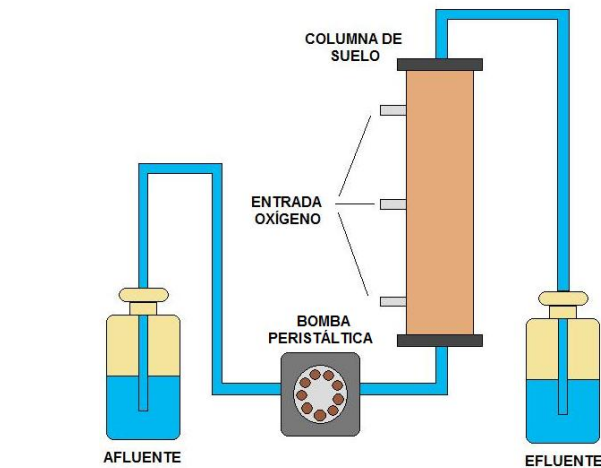


Fuente: La Autora

La primera condición correspondía al testigo o control, porque no tenía ningún tipo de tratamiento. En la segunda condición se realiza el tratamiento de bioventing, en la tercera condición se aplica la combinación de las técnicas bioventing y bioaumentación, finalmente en la cuarta condición se realiza solo tratamiento con bioaumentación. De esta forma se pudieron determinar las técnicas que presentaron mejor comportamiento para los suelos arenosos contaminados con diesel.

El montaje experimental de cada columna correspondía a un sistema abierto en el cual no se recircula el agua adicionada. El suministro de oxígeno mediante la inyección de aire, se realizó continuamente por medio de los puertos ubicados equidistantemente en la columna, para evitar una menor interferencia con el flujo de agua, Ver Figura 13.

Figura 9. Sistema abierto de la columna de suelo.



Fuente: La Autora

El efluente de cada columna era llevado a la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales PTAR de la Universidad Pontificia Bolivariana cada periodo de tiempo que se recolectaba un volumen suficiente para ser transportado manualmente y así evitar taponamientos en las tuberías de alcantarillado.

Posterior a ello se determinó la porosidad efectiva por medio de la prueba de trazador, en la cual se realizaron mediciones cada 5 minutos de la conductividad eléctrica, en el caudal de entrada y en el caudal de salida, a un caudal de 12 ml/min hasta que la conductividad de entrada fue igual a la de la salida. La medición de la conductividad se efectuó con el equipo multiparámetro y la sonda de medición de conductividad cuyas especificaciones se describen a en la Tabla 15.

Tabla 14. Especificaciones Técnicas Equipo Multiparámetro.

Tipo	Hqd Portable Meter
Marca	Hach
Modelo	HQ40d
Serie No.	100800045-298
Sonda Conductividad	CDC 40101

Fuente: Instrucciones Equipo Multiparámetro.

### 3.4 FASE IV: DESMONTAJE DE LAS COLUMNAS

La fase experimental finalizó a los cuatro (4) meses de funcionamiento del sistema de biorremediación. Se realizó la toma de las últimas muestras de suelo de la parte alta, media y baja de cada columna, (Ver Figura 14), de manera que permitiera observar el comportamiento del crecimiento microbiano y de remoción del contaminante, a lo largo de todo el biorreactor. Para lograr homogeneidad en la toma de muestra, cada porción de suelo se depositó en un recipiente y se mezcló varias veces, posterior a ello, se leía la humedad con el medidor de humedad para suelos cuyas especificaciones se describen en la Tabla 16, y finalmente se almacenó en los frascos de muestra con su respectivo rótulo (Ver Figura 15). La toma de la muestra final de agua se realizó normalmente como los meses anteriores.

Figura 10. Desmontaje de las Columnas de Suelo



Fuente: La Autora

Tabla 15. Especificaciones Medidor de Humedad de Suelos

Tipo	Medidor de Humedad de Suelos
Marca	EXTECH Instruments
Modelo	MO750

Fuente: Instrucciones Medidor de Humedad de Suelos

Fuente: La Autora

### 3.5 FASE V: DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE REMOCIÓN DE DIESEL Y EL CRECIMIENTO MICROBIANO EN EL PROCESO DE BIORREMEDIACIÓN.

Mensualmente se realizó la toma de muestra para análisis de crecimiento microbiano y de concentración de diesel. Inicialmente se planteó el método de

cromatografía de gases para la determinación de la concentración de diesel pero debido a inconvenientes en la elaboración de los análisis, se realizó por el método de Grasas y Aceites que de forma indirecta predijo la cantidad de diesel presente en el suelo, debido a que son aceites inmiscibles en el agua y porque fue contaminado únicamente con diesel. De igual manera se tomaron datos de pH y oxígeno disuelto en el agua de salida dos veces por semana. Los métodos se describen en la Tabla 17.

Tabla 16. Métodos para análisis de muestras.

ANÁLISIS	MÉTODO
Crecimiento microbiano	Técnica de vertido en placa y determinación de las UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS.
Concentración de diesel en suelo y agua	Determinación de Grasas y Aceites Standart Methods 5520 D
pH	Medición con potenciómetro.
Oxigeno Disuelto	Medición con oxímetro.

Fuente: La Autora

## 4. RESULTADOS Y ANÁLISIS

El tratamiento de biorremediación realizado fue monitoreado periódicamente con la determinación de oxígeno disuelto y pH en el agua de salida, la cuantificación del crecimiento microbiano y la determinación de la concentración de diesel, para de esta forma evaluar la eficiencia del proceso efectuado en cada una de las cuatro condiciones diferentes.

### 4.1 DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES FÍSICO-QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS NECESARIAS PARA LA APLICACIÓN DEL PROCESO DE BIORREMEDIACIÓN.

La determinación de las condiciones físicas, químicas y microbiológicas a las cuales estuvo sometido el proceso de biorremediación se establecieron mediante los análisis de las características físico-químicas del suelo y cuyos resultados se describen a continuación.

#### 4.1.1 Determinación de las Condiciones Físico - Químicas

El suelo objeto de estudio fue definido como arenoso desde el planteamiento del proyecto debido a los requerimientos del ICP y a las condiciones de funcionamiento de las columnas que sugieren un medio poroso permeable para la facilidad del movimiento del contaminante y por ende su exitosa evaluación. Para comprobar las características propias de la arena se realizaron análisis en el laboratorio de suelos adscrito a la Facultad de Ingeniería Ambiental de la UPB del suelo sin contaminar y del suelo contaminado para observar los cambios en las propiedades físicas y químicas debido a la presencia del diesel. Los resultados se presentan a continuación.

##### 4.1.1.1 Determinación de la Textura por el Método de Bouyoucos

La determinación de la textura del suelo se realizó por el método de Bouyoucos solamente para el suelo sin contaminar, debido a que, según bibliografía revisada, el diesel no afecta la textura de los suelos arenosos, continúan con el mismo tamaño de los poros. Los resultados se presentan en la Tabla 18 y en la Tabla 19.

Tabla 17. Determinación de la Textura por el Método de Bouyoucos

No de Ensayo	Lectura a los 40 Segundos		Lectura a las 2 horas	
	Temperatura	Hidrómetro Corregida	Temperatura	Hidrómetro Corregida
1	22.5	1.10	22.5	1.10
2	22.6	1.14	22	0.92
3	22.7	1.17	22.5	1.10

Fuente: La Autora

Composición Porcentual:

$$\% \text{ Arena} = 100 - \frac{\text{Lectura hidr6metro a los 40"} \times 100}{\text{Peso Muestra}}$$

$$\% \text{ Arcilla} = \frac{\text{lectura hidr6metro a las 2 horas} \times 100}{\text{Peso Muestra}}$$

$$\% \text{ Limo} = 100 - (\% \text{ Arena} + \% \text{ Arcilla})$$

Tabla 18. Resultados Composici6n Porcentual

No. de Ensayo	% Arena	% Limo	% Arcilla
1	97.8	0	2.2
2	92.72	0.44	1.84
3	97.66	0.14	2.2
Promedio	97.73	0.19	2.08

Fuente: La Autora

De acuerdo a los datos obtenidos y tomando como referencia el tri6ngulo de las clases texturales (Ver Figura 18), se determina la textura del suelo como arena, comprobando la textura definida para el desarrollo del proyecto.

#### 4.1.1.2 Determinaci6n de la Humedad

La humedad presente en el suelo se determin6 para el suelo sin contaminar por el m6todo de p6rdida de peso y para el suelo contaminado, por medio del medidor de humedad para suelos. Se realiz6 por diferentes m6todos debido a que el diesel presente en el suelo contaminado, es altamente inflamable y en el m6todo por p6rdida de peso el suelo es sometido a una temperatura de 105°C, lo que ocasionar6a un grave percance si se realizar6 por la diferencia de pesos, Ver Tabla 20.

Tabla 19. Determinaci6n de la Humedad Gravim6trica para Suelo Sin Contaminar

Medidas Realizadas	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Peso del Plato (gr)	113.3	107.2	118.6
Peso del Plato + muestra h6meda (gr)	213.3	207.8	218.5
Peso de la muestra h6meda (gr)	100	100	100
Peso del plato + muestra seca (gr)	211.2	204.9	216.1
Peso de la muestra seca (gr)	97.9	97.7	97.5
% Humedad Gravim6trica	2.15	2.35	2.56
Promedio (%)	2.35		

$$\%HG = \frac{\text{peso muestra húmeda} - \text{peso muestra seca}}{\text{peso muestra seca}} \times 100$$

$$\text{Humedad Gravimétrica} = 2.35\%$$

La humedad del suelo contaminado fue de 11%, con el medidor de humedad para suelos, presentando un aumento significativo debido a la presencia del diesel. La humedad en el suelo sin contaminar es baja, de 2.35% y de igual forma la humedad del suelo contaminado, lo cual coincide con la textura del suelo debido a la poca capacidad de retención de agua de los suelos arenosos.

#### 4.1.1.3 Determinación de la Densidad Real

Los datos obtenidos en la determinación de la densidad real para el suelo sin contaminar se presentan en la Tabla 21 y en la Tabla 22 se presentan los resultados de la determinación de la densidad real para el suelo contaminado

Tabla 20. Determinación de la Densidad Real para Suelo Sin Contaminar

Medidas realizadas	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Peso de la muestra de suelo (g)	20	20	20
Volumen del líquido desplazado (ml)	8	9	8
Densidad real de cada muestra	2.5	2.2	2.5
Densidad promedio (g/ml)	2.41		

Tabla 21. Determinación de la Densidad Real para Suelo Contaminado

Medidas realizadas	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Peso de la muestra de suelo (g)	20	20	30
Volumen del líquido desplazado (ml)	9	9	14
Densidad real de cada muestra	2.2	2.2	2.1
Densidad promedio (g/ml)	2.20		

$$\text{Densidad} = \text{Masa/Volumen}$$

$$Dr = M / V$$

$$Dr = 2.41 \text{ gr/ml}$$

La densidad real coherente con las arenas es menor a 2.60 g/ml, debido a que no se tiene en cuenta el volumen de los poros ni el peso del agua. En el caso de la densidad aparente que representa la masa por volumen de suelo sin disturbar, las arenas poseen valores menores a 1.6 g/ml.

La densidad real del suelo contaminado es menor que la densidad real del suelo sin contaminar, debido a que la presencia del contaminante altera levemente la compactación del suelo y por ende su densidad. Sin embargo los valores tienen una diferencia de 0.21 g/ml, lo que no significa un cambio significativo.

#### 4.1.1.4 Determinación del pH

El pH es determinado en agua y en KCl para observar la variación con la adición de bases, una vez realizado el procedimiento se procede con la clasificación del suelo que se realiza tomando como referencia la Tabla 23.

Tabla 22. Clasificación del Suelo según el pH en Agua y en KCl

pH determinado en Agua		pH determinado en KCl	
Valor	Calificación	Valor	Calificación
< 3.5	Ultra Ácido	< 4	Extremadamente Ácido
3.5 – 4.4	Extremadamente Ácido	4.0 – 4.9	Fuertemente Ácido
4.5 – 5.0	Muy Fuertemente Ácido	5.0 – 5.9	Moderadamente Ácido
5.1 – 5.5	Fuertemente Ácido	6.0 – 6.9	Ligeramente Ácido
5.6 – 6.0	Moderadamente Ácido	7.0	Neutro
6.1 – 6.5	Ligeramente Ácido	7.1 – 8.0	Ligeramente Alcalino
6.6 – 7.3	Neutro	8.1 – 9.0	Moderadamente Alcalino
7.4 – 7.8	Ligeramente Alcalino	9.1 – 10.0	Fuertemente Alcalino
7.9 – 8.4	Moderadamente Alcalino	> 10.0	Extremadamente Alcalino
8.5 – 9.0	Fuertemente Alcalino		
> 9.0	Muy Fuertemente Alcalino		

Fuente: Soil Survey Division Staff (SSDS), 1993 y Fasbender, 1982.

El pH determinado para el suelo sin contaminar se presenta en la Tabla 24 y para el suelo contaminado en la Tabla 25.

Tabla 23. Determinación del pH para Suelo Sin Contaminar

Suelo Sin Contaminar				
	Valor de pH H <sub>2</sub> O	Valor de pH KCl 1 N	Δ pH	Promedio
Muestra 1	6.95	6.62	-0.33	-0.41
Muestra 2	7.06	6.51	-0.55	
Muestra 3	6.85	6.5	-0.35	

Tabla 24. Determinación del pH para Suelo Contaminado

Suelo Contaminado				
	Valor de pH H <sub>2</sub> O	Valor de pH KCl 1 N	Δ pH	Promedio
Muestra 1	7.26	6.28	-0.98	-1.05
Muestra 2	7.28	6.22	-1.06	
Muestra 3	7.32	6.22	-1.1	

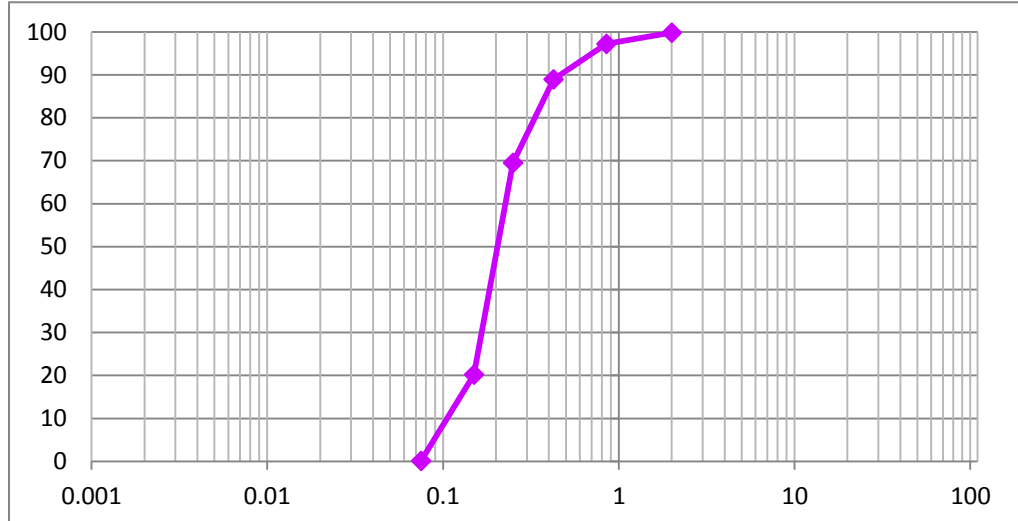
$$\Delta \text{pH} = \text{pH en KCl} - \text{pH en agua}$$
$$\Delta \text{pH} = -0.41$$

Tanto en el suelo contaminado como en el suelo sin contaminar, el resultado del  $\Delta$  pH es de signo negativo indicando que en el suelo predominan las cargas negativas y por ende es intercambiador catiónico, lo que significa que hay presencia de nutrientes y de las bases necesarias para el crecimiento de las plantas. Según la Tabla 23 el pH determinado en agua clasifica al suelo como neutro y el pH determinado en KCl lo clasifica como ligeramente ácido, coincidiendo con el  $\Delta$  pH y sugiriendo que el suelo tiene una adecuada disponibilidad de nutrientes. Aunque el pH es ideal para el crecimiento de plantas, se deben observar las otras características físicas correspondientes a la textura arenosa debido a que en este tipo de suelos no es posible crecer plantas porque sus otras características físicas lo impiden.

#### 4.1.1.5 Clasificación Granulométrica

Se realizó el cribado para clasificar las partículas del suelo mediante su paso por los diferentes tamices. Los resultados del porcentaje de las partículas expresadas en la curva granulométrica se presentan en la siguiente Gráfica 1:

Gráfica 1. Curva Granulométrica del Suelo en Estudio



Fuente: La Autora

La gráfica 1 representa un suelo mal gradado con predominancia de partículas gruesas debido al desplazamiento de la curva entre los diámetros pertenecientes a las arenas, clasificando el suelo granulométricamente como arenoso.

El Coeficiente de Uniformidad (Cu) expresa si el suelo se encuentra bien gradado o mal gradado y el Coeficiente de Curvatura (Cc) hace referencia a la uniformidad en el diámetro de las partículas. El suelo está bien gradado y es homogéneo en el tamaño de sus partículas cuando:

$$\begin{aligned} Cu &> 4 - 6 \\ 1 &< Cc < 3 \end{aligned}$$

Coeficiente de Uniformidad:

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

Donde:  $D_{60}$  = Diámetro de la partícula para el 60%  
 $D_{10}$  = Diámetro de la partícula para el 10%

$$Cu = \frac{0.23}{0.11} = 2.06$$

El coeficiente de uniformidad es menor a 4, lo cual indica que el suelo está mal gradado y que predomina un tamaño de partícula, en este caso el que corresponde a la arena, demostrando que el suelo es arenoso y confirmando los resultados de la determinación de textura por el método de Bouyoucouc citado anteriormente. El porcentaje de error del ensayo es menor a 0.2 y evidencia que las pérdidas no fueron significativas.

Coeficiente de Curvatura:

$$Cc = \frac{D_{30}^2}{D_{10} \times D_{60}}$$

Donde:  $D_{60}$  = Diámetro de la partícula para el 60%  
 $D_{10}$  = Diámetro de la partícula para el 10%  
 $D_{30}$  = Diámetro de la partícula para el 30%

$$Cc = \frac{(0.17)^2}{0.23 \times 0.11} = 1.12$$

El coeficiente de curvatura es de 1.12 y se encuentra entre 1 y 3, lo que indica que existe uniformidad en el diámetro de las partículas del suelo, característico de los suelos arenosos debido a la predominancia de un tamaño y por ende un diámetro de partícula.

#### 4.1.2 Condiciones Microbiológicas

Las condiciones microbiológicas propias de la cepa evaluada tales como, rango óptimo de temperatura, pH y concentración de oxígeno fueron suministradas por el ICP y debido a políticas de confidencialidad no se permite la divulgación de ésta información.

#### 4.2 DISEÑO DE LAS COLUMNAS

Previo al diseño de las columnas de suelo se debieron establecer los parámetros de funcionamiento, con el fin de acoplar todos los elementos del sistema de biorremediación.

##### 4.2.1 Determinación de los parámetros para la implementación del sistema de biorremediación, teniendo en cuenta las condiciones establecidas.

Los resultados de la determinación de los parámetros previamente al diseño de las columnas se describen a continuación:

##### 4.2.1.1 Concentración de oxígeno

En esta etapa del proyecto, se adicionó oxígeno en forma de aire al suelo contaminado, basándose en la técnica de biorremediación de suelos denominada Bioventing, a un caudal de 0.6 L/min de aire.

Teniendo en cuenta que el aire está compuesto por oxígeno en un 21,5% de su volumen se determinó el caudal equivalente en oxígeno:

$$\begin{array}{l} 0.6 \text{ L/min de Aire} \longrightarrow 100\% \\ X \longrightarrow 21,5\% \end{array}$$

$$X = 0.129 \text{ L/min de Oxígeno} = 186 \text{ L/día de Oxígeno} = 0.186 \text{ m}^3/\text{día}$$

Igualmente se calculó el caudal en términos de masa, teniendo en cuenta que la densidad del oxígeno atmosférico es de 1429 Kg/m<sup>3</sup>.

$$\text{Densidad} = \text{Masa} / \text{Volumen}$$

$$\text{Masa} = \text{Densidad} \times \text{Volumen}$$

$$\text{Masa} = 1429 \text{ Kg/m}^3 \times 0.186 \text{ m}^3/\text{día}$$

$$\text{Masa} = 266 \text{ Kg/día}$$

#### **4.2.1.2 Consorcio Microbiano**

El consorcio microbiano adicionado a las columnas denominado ECOMAXBACT, fue suministrado por el Instituto Colombiano del Petróleo (ICP) y ha sido establecido para descontaminación de suelos en superficie y con volteos periódicos. Debido a lo anterior se planteó este proyecto para evaluar el producto ECOMAXBACT pero sin disturbar el suelo. Su activación se realizó según las indicaciones suministradas por el ICP y se determinó la cantidad del consorcio que se adicionó al suelo, tomando en cuenta las instrucciones propias del producto, que debido a políticas de confidencialidad no se permite la divulgación de ésta información que acompaña el producto.

#### **4.2.1.3 Concentración Inicial de Diesel**

La concentración inicial de diesel establecida para contaminar el suelo arenoso fue del 5%, ya que según indicaciones del ICP, los eventos de contaminación más frecuentes oscilan en un intervalo del 2% al 6% en porcentaje de masa en suelo. Se eligió un valor cercano al límite superior para evitar quedar por debajo del límite inferior debido a posibles pérdidas por el llenado de las columnas.

#### **4.2.1.4 Profundidad de la Muestra de Suelo**

La profundidad de la muestra de suelo establecida fue de 50 cm desde la superficie en sentido vertical, basada en las mediciones de la pluma contaminante en los eventos de contaminación más frecuentes y acorde a la metodología implementada para su determinación.

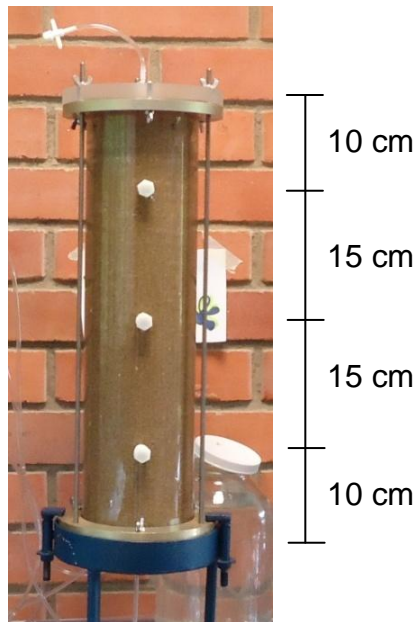
#### **4.2.1.5 Caudal de Agua Bombeado**

Para simular las condiciones de infiltración del agua al suelo por agua lluvia, se bombeó un caudal de agua de 0.1 ml/min a cada columna, el cual era aforado periódicamente.

#### **4.2.2 Desarrollo del Diseño de Las Columnas**

Tomando como referencia la Norma Técnica Alemana DIN V 19736 la columna se diseñó con una altura de 50.8 cm y un diámetro interno de 12.08 cm, obteniendo una relación de 4.2; el material en acrílico, la forma cilíndrica y con la circulación de agua de manera ascendente, Ver Figura 19.

Figura 11. Diseño Columna de Suelo



Fuente: La Autora

Cada columna posee tres puertos equidistantes entre sí para la adición de aire. De las 12 columnas a solamente 6 se les suministró aire debido a las diferentes condiciones bajo las cuales se realizó el proceso de biorremediación. Las dimensiones de cada columna se describen a en la Tabla 26.

Tabla 25. Dimensiones Columna de Suelo

Altura	50.8 cm	20"
Diámetro Interno	12.08 cm	4.75"
Diámetro Externo	13.33 cm	5.25"
Volumen	5822.22 cm <sup>3</sup>	6 L
Distancia entre los puertos	10, 15, 15 y 10 cm	4, 6, 6 y 4"

Fuente: La Autora

#### 4.3 MONTAJE EXPERIMENTAL DE LAS COLUMNAS QUE SIMULARON LAS CONDICIONES DEL SUELO CONTAMINADO.

Previo al montaje de cada columna de suelo, se realizó la activación de la cepa denominada comercialmente como ECOMAXBACT siguiendo la información propia del producto. Activada la cepa, se realizó la contaminación del suelo de forma artificial en el laboratorio. El diesel se agregó de manera homogénea mezclando continuamente y por aspersión al suelo en una proporción del 5% de masa del suelo, de igual forma se realizó la adición de la cepa en una proporción de 100 L/m<sup>3</sup>, según los parámetros establecidos en la fase anterior. El llenado de las todas las columnas se hizo mediante leve compactación del suelo y durante el mismo día para evitar diferencias en las condiciones de inicio.

Al finalizar el montaje de todos los elementos del sistema y las conexiones de agua y aire, cada columna se cubrió con papel craft para evitar la entrada de luz solar y la alteración de las condiciones de profundidad y ausencia de rayos ultravioletas (UV).

Posteriormente se dió inicio el proceso de biorremediación, dando arranque a las bombas de aire, con un caudal de 0.2 L/min por puerto y prendiendo la bomba peristáltica procediendo al aforo del caudal de entrada y de salida de agua correspondiente a 0.1 ml/min, Ver Figura 16.

Figura 12. Montaje Final del Sistema de Biorremediación



Fuente: La Autora

Cada mes se realizó la toma de muestras de agua para conteo del crecimiento microbiano en bolsas estériles y para la determinación de la concentración de diesel en frascos de vidrio color ámbar con su respectivo rótulo, almacenamiento a una temperatura de  $-4^{\circ}\text{C}$ , y entrega a los laboratorios del ICP.

#### **4.4 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LA POROSIDAD EFECTIVA**

La porosidad efectiva se determinó mediante una prueba de trazadores, utilizando solución salina al 1% como trazador. La conductividad eléctrica era monitoreada en el caudal de entrada y de salida cada cinco (5) minutos mediante el equipo multiparámetro descrito en la Tabla 15. Una vez fueron iguales en ambos puntos, se dio por terminado el sondeo. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 27.

Tabla 26. Conductividad en el Caudal de Entrada y de Salida

Hora (min)	Entrada	Salida	Lf/Lfo
0	1725	519	0.3000
5	1774	526	0.3040
10	1746	536	0.3098
15	1754	520	0.3006
20	1760	539	0.3116
25	1753	563	0.3254
30	1756	622	0.3595
35	1754	649	0.3751
40	1738	666	0.3850
45	1719	681	0.3936
50	1735	682	0.3942
55	1719	687	0.3971
60	1712	681	0.3936
65	1729	674	0.3896
70	1725	657	0.3798
75	1716	661	0.3821
80	1713	635	0.3671
85	1715	625	0.3613
90	1711	626	0.3618
95	1742	623	0.3601
100	1729	620	0.3584
105	1731	632	0.3653
110	1721	648	0.3746
115	1729	659	0.3809
149	1700	783	0.4526
154	1696	782	0.4520
175	1709	834	0.4821
180	1677	986	0.5699
185	1678	1188	0.6867
190	1658	1344	0.7769
195	1654	1404	0.8116
200	1644	1471	0.8503
205	1641	1512	0.8740
210	1659	1608	0.9295
215	1659	1640	0.9480
220	1646	1715	0.9913
225	1646	1782	1.0301

Fuente: La Autora

Con los datos obtenidos se procedió a la determinación de la porosidad efectiva, mediante el cálculo del tiempo medio descrito a continuación:

Promedio Conductividad de Entrada = 1730  $\mu\text{S/cm}$

Conductividad de Salida = 519  $\mu\text{S/cm}$

- Calculo del tiempo medio

$$t_{0.5} = \frac{(0.5 - L_f/L_{fo})_{n-1} (t_n - t_{n-1})}{(L_f/L_{fo})_n - (L_f/L_{fo})_{n-1}}$$

Donde  $L_{fo}$  = conductividad a la entrada ( $\mu\text{S/cm}$ )

$L_o$  = conductividad a la salida ( $\mu\text{S/cm}$ )

$t_{0.5}$  = tiempo en que  $L_f/L_{fo} = 0.5$  (min)

$t_n$  = tiempo en que  $L_f/L_{fo} > 0.5$  (min)

$t_{n-1}$  = tiempo en que  $L_f/L_{fo} < 0.5$  (min)

$$t_{0.5} = \frac{(0.5 - (1709 - 519)/(1730 - 519)) \times (180 - 175)}{(1677 - 519/1730 - 519) - (1709 - 519/1730 - 519)}$$

$$t_{0.5} = 167.015 \text{ min}$$

- Calculo de la Porosidad Efectiva

$$n_e = \frac{Q \times t_{0.5}}{V}$$

Donde  $n_e$  = porosidad efectiva

$Q$  = caudal (ml/min)

$V$  = volumen de la columna ( $\text{cm}^3$ )

$t_{0.5}$  = tiempo en que  $L_f/L_{fo} = 0.5$  (min)

$$n_e = \frac{12 \times 167.015}{5822}$$

$$n_e = 0.3442 = 34.42\%$$

- Calculo de la Velocidad de Efectiva ( $V_e$ )

$$V_f = Q/A$$

$$V_e = V_f / n_e$$

Donde  $V_f$  = velocidad de filtración (cm/min)  
 $Q$  = caudal de entrada del agua (ml/min)  
 $A$  = área trasversal de la columna (cm<sup>2</sup>)  
 $n_e$  = porosidad efectiva  
 $V_e$  = velocidad efectiva

$$Q = 0.1 \text{ ml/min} = 144 \text{ ml /día}$$

$$V_f = \frac{144}{\pi (6.04)^2} = 1.25 \text{ cm/día}$$

$$V_e = \frac{1.25}{0.34} = 3.67 \text{ cm/día}$$

Con la porosidad efectiva se determinó la velocidad efectiva dentro de la columna y con ella se estableció el tiempo que tarda una gota de agua en atravesar todo el medio poroso, el cual corresponde a 14 días.

Con el cálculo de los 14 días que corresponde a 1 volumen de poro intercambiable, se determinó el volumen de poro intercambiable equivalente al tiempo experimental, con lo cual se estableció la Tabla 28.

Tabla 27. Tiempo Experimental en Términos de Volumen de Poro Intercambiable

Mes 1	2.5 VPI
Mes 2	5.07 VPI
Mes 3	7.07 VPI
Mes 4	10 VPI

Fuente: La Autora

El volumen de poro intercambiable hace referencia al volumen de agua que se ha desplazado a través de todo el medio poroso desde la parte inferior hasta la parte superior de la columna, durante un intervalo de 14 días calculado según la velocidad de infiltración efectiva. Transcurridos los 14 días, el volumen de agua que había ingresado al inicio del proceso, aparecía a la salida de la columna. Con los datos anteriores se determinó el tiempo al cual se podía observar el tratamiento realizado de biorremediación.

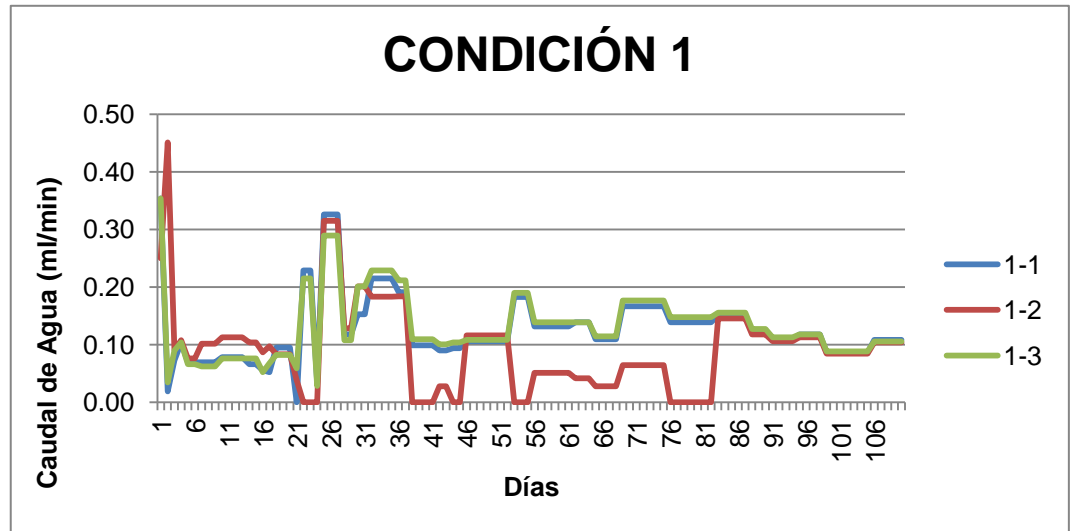
#### 4.5 VOLUMEN DE AGUA

Los datos obtenidos de la medición del volumen de agua de salida de cada columna se presentan en el Anexo A y su respectivo análisis estadístico en el Anexo B, cuyos resultados demuestran que el coeficiente de variación no se encuentra dentro del rango aceptable que precisa la homogeneidad de los datos y

por ende se descarta la hipótesis que plantea que el tratamiento realizado en cada una de las tres réplicas de cada condición, es el mismo.

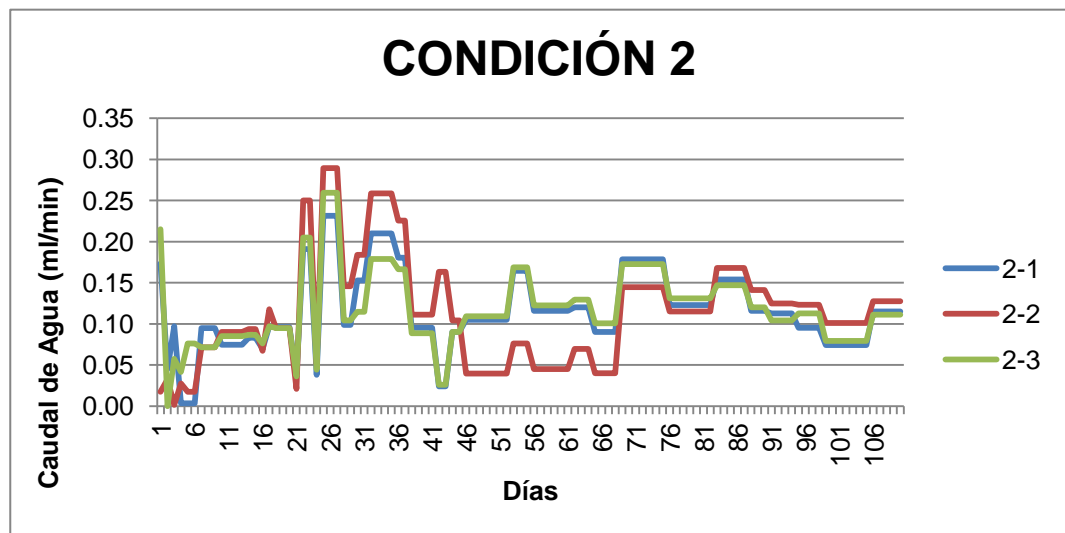
El comportamiento del caudal de agua por condición se presenta en las Gráficas 2, 3, 4 y 5 correspondientes a la Condición 1 (Control), Condición 2 (Bioventing), Condición 3 (Bioventing + Bioaumentación) y la Condición 4 (Bioaumentación) respectivamente.

Gráfica 2. Comportamiento Caudal de Agua: Condición 1 (Control)



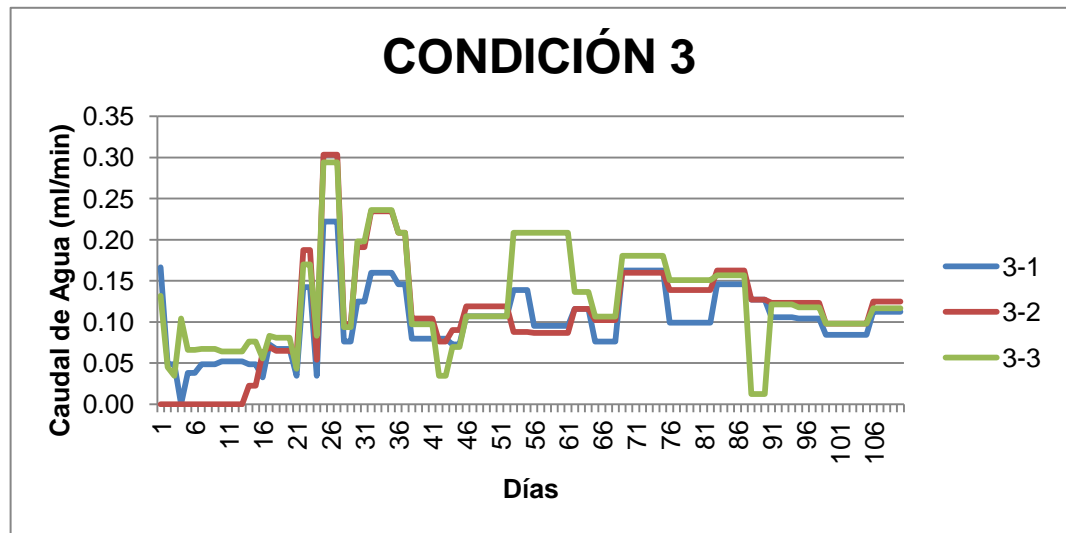
Fuente: La Autora

Gráfica 3. Comportamiento Caudal de Agua: Condición 2 (Bioventing)



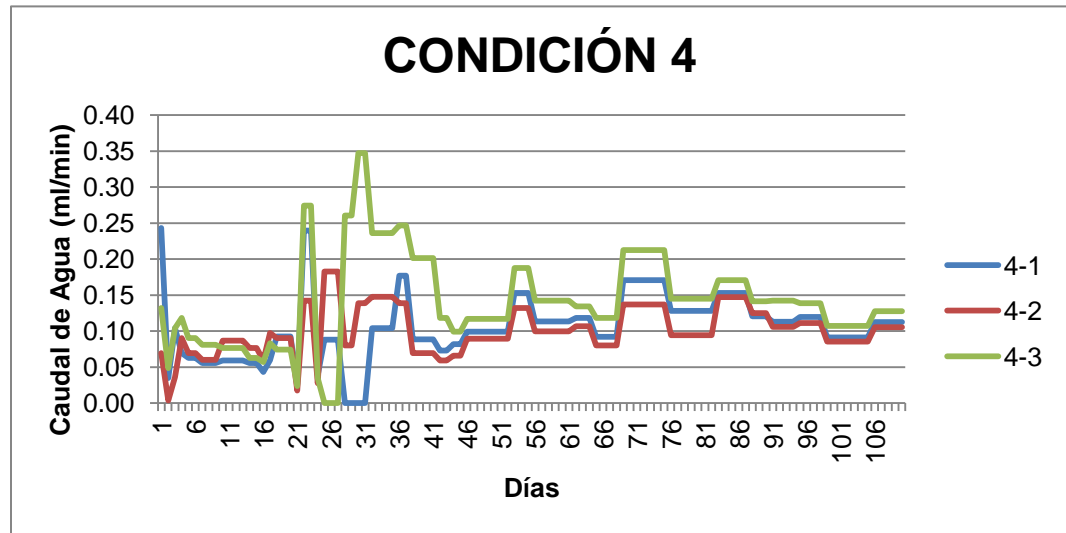
Fuente: La Autora

Gráfica 4. Comportamiento Caudal de Agua: Condición 3 (Bioventing + Bioaumentación)



Fuente: La Autora

Gráfica 5. Comportamiento Caudal de Agua: (Bioaumentación)



Fuente: La Autora

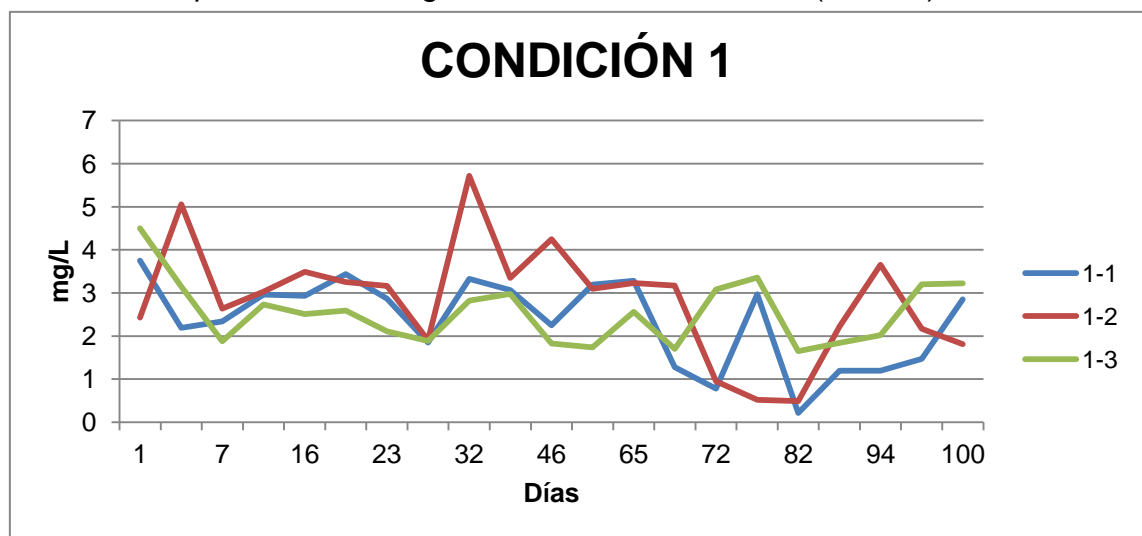
Todas las gráficas presentan en sus primeros días fluctuaciones de caudal, lo cual sugiere una fase de estabilización y adaptación de todo el sistema, mientras se ajustaban todos los elementos que lo componían. Aproximadamente en el día 40 se observa que se mantiene el caudal en un rango entre 0.1 y 0.15 ml/min, coincidiendo con el caudal establecido previamente.

#### 4.6 RESULTADOS MEDICIÓN DE OXÍGENO DISUELTO EN EL AGUA DE SALIDA

Los datos obtenidos de la medición de oxígeno disuelto en el agua de salida de las columnas se presentan en el Anexo C y su respectivo análisis estadístico en el Anexo D, con el cual se estableció la veracidad del tratamiento aplicado por condición tomando como referencia la concentración de oxígeno disuelto monitoreado tres (3) días por semana y cuyos resultados demuestran que el coeficiente de variación no se encuentra dentro del rango aceptable que precisa la homogeneidad de los datos y por ende se descarta la hipótesis que plantea que el tratamiento realizado en cada una de las tres réplicas de cada condición, es el mismo.

El comportamiento de la concentración de oxígeno disuelto en el agua de salida por condición, se presenta en las Gráficas 6, 7, 8 y 9 correspondientes a la Condición 1 (Control), Condición 2 (Bioventing), Condición 3 (Bioventing + Bioaugmentación) y Condición 4 (Bioaugmentación), respectivamente.

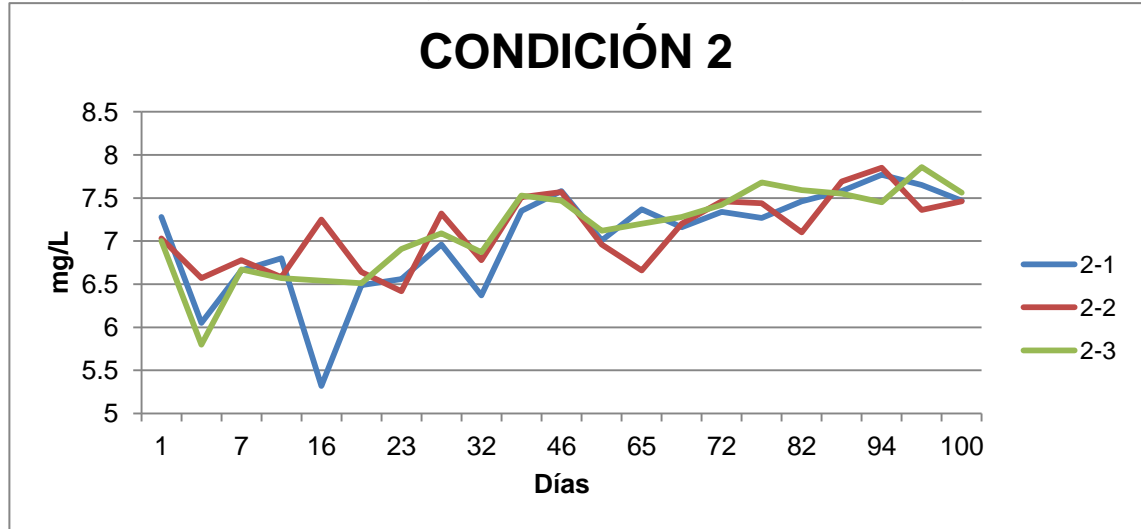
Gráfica 6. Comportamiento Oxígeno Disuelto: Condición 1 (Control)



Fuente: La Autora

En la gráfica se observa una variación de la concentración de oxígeno disuelto entre 0.22 y 5.5 mg/L, correspondiente al control o testigo, y el cual se debe posiblemente al aporte de oxígeno al suelo mediante el agua de infiltración que por su textura arenosa permite una alta permeabilidad y movimiento entre los poros intersticiales de la matriz.

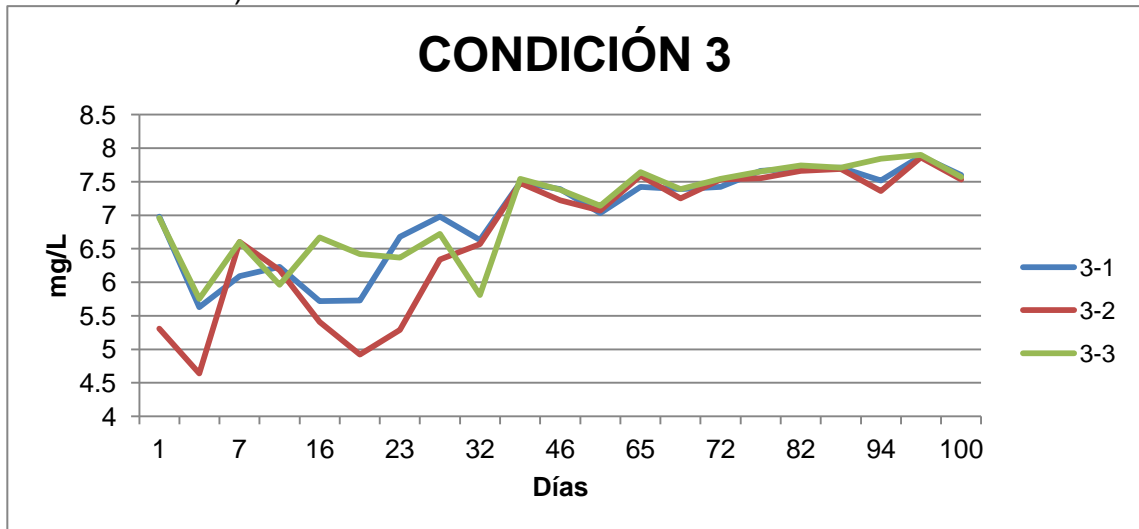
Gráfica 7. Comportamiento Oxígeno Disuelto: Condición 2 (Bioventing)



Fuente: La Autora

La condición 2 presentó en la fase de estabilización, fluctuaciones de caudal y por ende variaciones en la concentración de oxígeno al inicio del tratamiento debido al oxígeno aportado por el agua. Posterior a ello se observa, una variación de la concentración de oxígeno entre 7 y 7.5, la cual es alta debido a la aireación continua del suelo.

Gráfica 8. Comportamiento Oxígeno Disuelto: Condición 3 (Bioventing + Bioaugmentación)

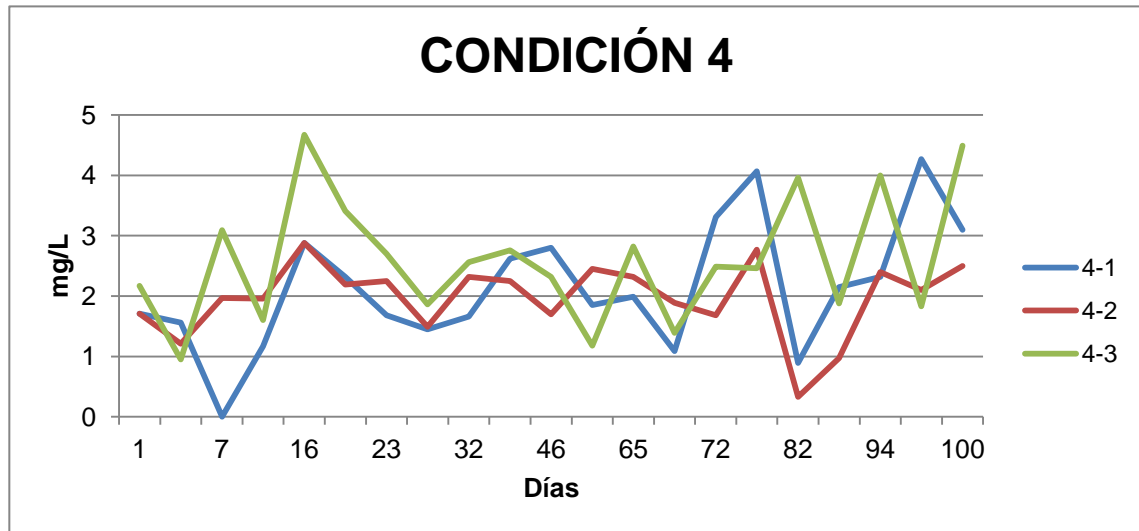


Fuente: La Autora

En la grafica anterior se puede observar que la condición 3 presenta igual que la condición 2, fluctuaciones de caudal en la fase de estabilización y por ende variaciones en la concentración de oxígeno al inicio del proceso de tratamiento.

Posterior a dicha fase, se establece en un rango entre 7 y 8 mg/L de oxígeno disuelto, lo cual indica concentraciones altas, al igual que la condición 2, debido a la aireación continua del suelo.

Gráfica 9. Comportamiento Oxígeno Disuelto: Condición 4 (Bioaumentación)



Fuente: La Autora

En la condición 4 se presentó igual que en las condiciones anteriores, fluctuaciones del caudal de entrada en la fase de estabilización al inicio del proceso. Posterior a ello se observa que la concentración de oxígeno varía en un rango entre 1 y 4.5 mg/L, indicando un ligero aporte de oxígeno por parte del agua de infiltración que se moviliza por toda la matriz del suelo a una velocidad alta debido a su textura arenosa.

#### 4.7 MEDICIÓN DE pH EN EL AGUA DE SALIDA

Los resultados de la medición del pH en el agua de salida realizada tres (3) veces por semana durante los cuatro (4) meses experimentales no pudieron ser analizados debido a una falla técnica en el equipo multiparámetro que fue identificada posterior a la finalización de la fase experimental.

#### 4.8 CRECIMIENTO MICROBIANO

El conteo microbiano realizado al efluente de las doce (12) columnas, se produjo cada mes durante los cuatro (4) meses de la fase experimental. En suelo solamente se efectuó un conteo inicial y uno final para cada columna debido a que no se podían perturbar las condiciones experimentales establecidas. Los datos obtenidos del crecimiento microbiano provenientes del agua de salida de cada columna se presentan en el Anexo E y su respectivo análisis estadístico en el Anexo F, con el cual se estableció la veracidad del tratamiento aplicado por

condición tomando como referencia el crecimiento microbiano muestreado mensualmente y cuyos resultados demuestran que el coeficiente de variación no se encuentra dentro del rango aceptable que precisa la homogeneidad de los datos y por ende se descarta la hipótesis que plantea que el tratamiento realizado en cada una de las tres réplicas de cada condición, es el mismo.

A continuación se presenta el comportamiento del crecimiento microbiano determinado en agua y en suelo para cada condición evaluada.

#### 4.8.1 Crecimiento Microbiano determinado en el Agua de Salida

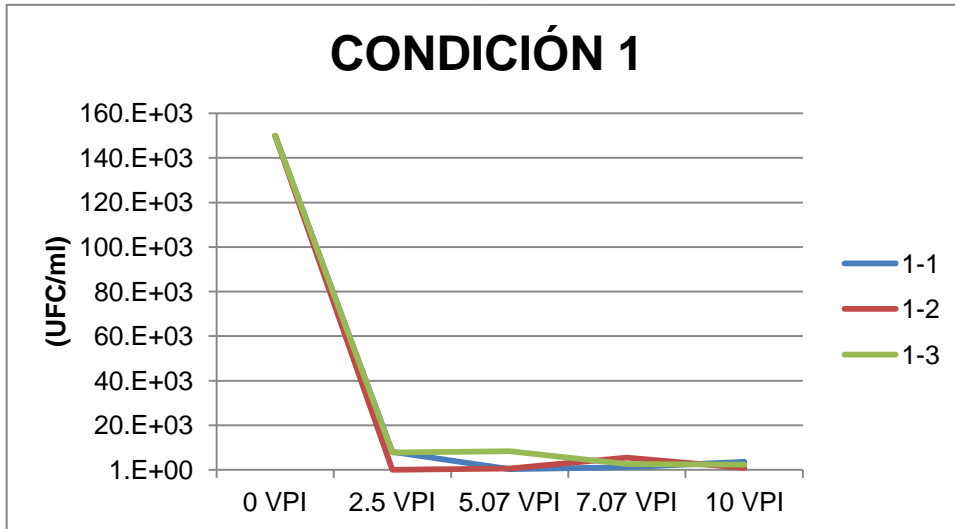
Los resultados del crecimiento microbiano en agua por condición, se presentan en la Tabla 29 y su comportamiento en las Gráficas 10, 11, 12 y 13 correspondientes a la Condición 1 (Control), Condición 2 (Bioventing), Condición 3 (Bioventing + Bioaumentación) y la Condición 4 (Bioaumentación), respectivamente.

Tabla 28. Crecimiento Microbiano en Agua

		0 VPI	2.5 VPI	5.07 VPI	7.07 VPI	10 VPI
	Columna	MES 0	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4
<b>CONDICIÓN 1</b>	<b>1-1</b>	15.E+04	80.E+02	04.E+02	11.E+02	36.E+02
	<b>1-2</b>	15.E+04	N.C	05.E+02	55.E+02	09.E+02
	<b>1-3</b>	15.E+04	77.E+02	84.E+02	26.E+02	23.E+02
<b>CONDICIÓN 2</b>	<b>2-1</b>	15.E+04	47.E+02	03.E+04	01.E+04	02.E+04
	<b>2-2</b>	15.E+04	N.C	01.E+04	23.E+02	24.E+02
	<b>2-3</b>	15.E+04	54.E+02	02.E+04	22.E+02	07.E+04
<b>CONDICIÓN 3</b>	<b>3-1</b>	02.E+06	07.E+04	09.E+04	25.E+04	04.E+04
	<b>3-2</b>	02.E+06	11.E+04	08.E+04	02.E+06	08.E+04
	<b>3-3</b>	02.E+06	07.E+04	80.E+02	02.E+04	38.E+02
<b>CONDICIÓN 4</b>	<b>4-1</b>	02.E+06	67.E+02	81.E+02	01.E+04	39.E+02
	<b>4-2</b>	02.E+06	57.E+02	79.E+02	19.E+02	20.E+02
	<b>4-3</b>	02.E+06	14.E+02	13.E+02	02.E+04	96.E+02

Fuente: La Autora.

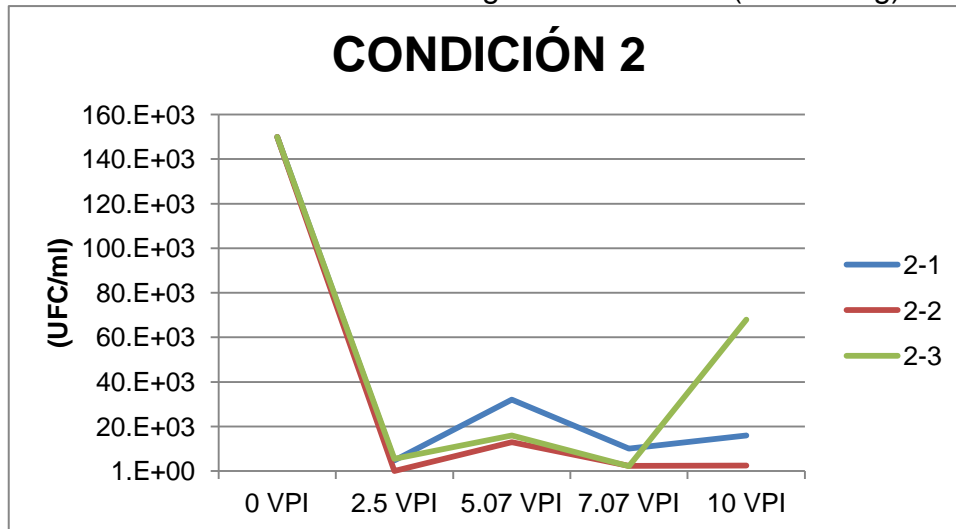
Gráfica 10. Crecimiento Microbiano en Agua: Condición 1 (Control)



Fuente: La Autora

La condición 1 presentó un descenso de la población microbiana inicial y a lo largo del tiempo, se observa que no logra recuperarse, lo cual evidencia la gran afectación sobre los microorganismos presentes en el suelo, debido a la presencia del diesel.

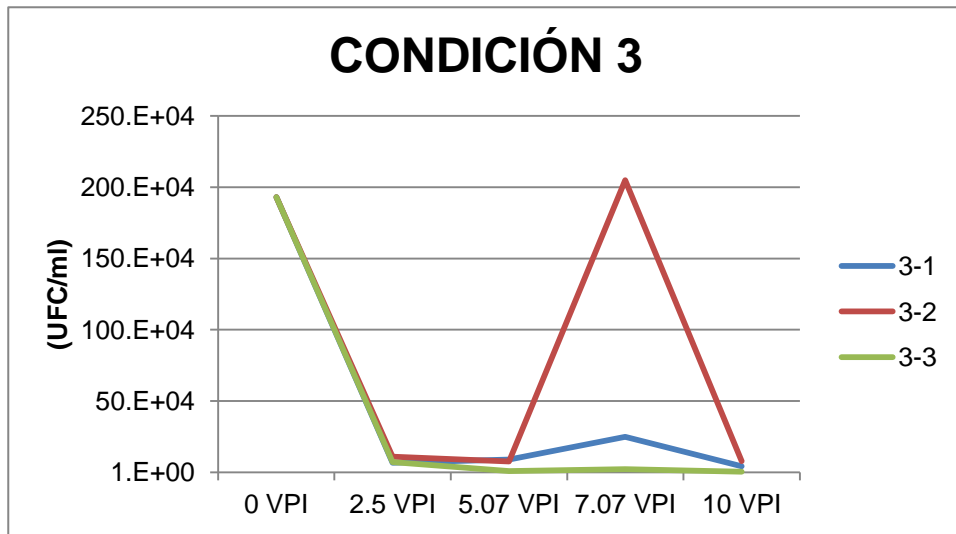
Gráfica 11. Crecimiento Microbiano en Agua: Condición 2 (Bioventing)



Fuente: La Autora

En la condición 2 se observa un descenso de la población inicial y posteriormente una recuperación gradual pero que se realizó de manera muy lenta. Lo anterior se debe, posiblemente a la presencia de oxígeno que estimula el crecimiento de las bacterias nativas de carácter aerobio que se adaptan a la presencia del diesel

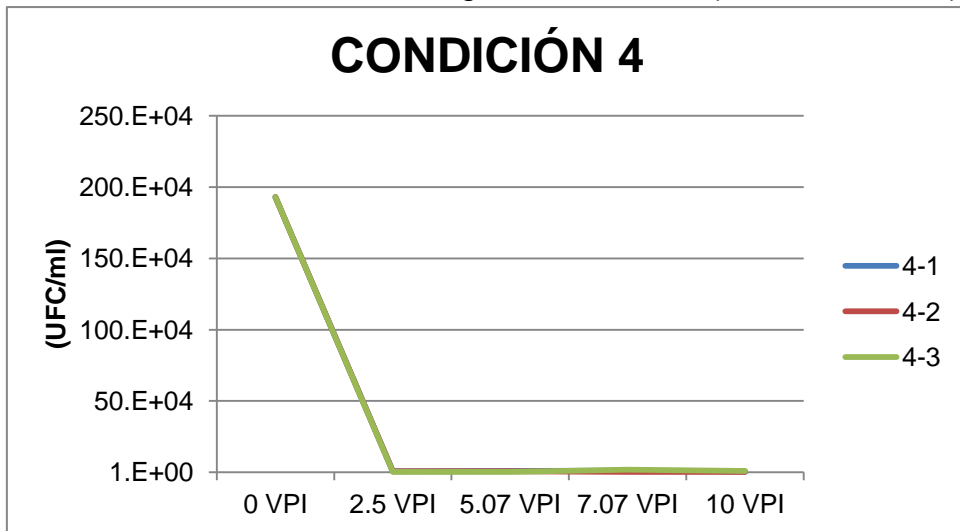
Gráfica 12. Crecimiento Microbiano en Agua: Condición 3 (Bioventing + Bioaumentación)



Fuente: La Autora

La condición 3 presenta un descenso de la población inicial de microorganismos y posteriormente se observa un crecimiento y un descenso nuevamente, evidenciando que no hubo una recuperación significativa a través del tiempo.

Gráfica 13. Crecimiento Microbiano en Agua: Condición 4 (Bioaumentación)



Fuente: La Autora

En la condición 4 se presentó una gran afectación de los microorganismos, tanto de los nativos como de la cepa agregada al suelo, debido a la mortandad observada en la gráfica, sin ninguna recuperación de la población microbiana.

#### 4.8.2 Crecimiento Microbiano determinado en Suelo

Los resultados obtenidos del análisis microbiano del suelo por columna al inicio y al final por las zonas establecidas de la columna, se presentan en la Tabla 30 y el comportamiento de las condiciones 1 y 2 en la Gráfica 14, y el de las condiciones 3 y 4 en la Gráfica 15.

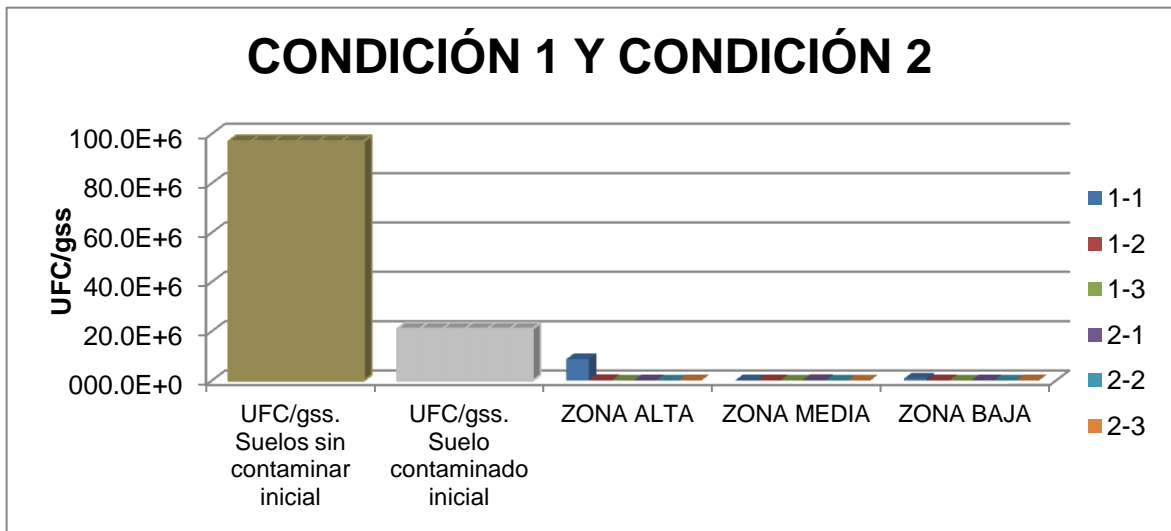
Tabla 29. Crecimiento Microbiano analizado en el Suelo

	Columna	Suelo Sin Contaminar Inicial	Suelo Contaminado Inicial	ALTO	MEDIO	BAJO
<b>CONDICIÓN 1</b>	1-1	97.E+06	21.E+06	09.E+06	07.E+04	79.E+04
	1-2	97.E+06	21.E+06	20.E+04	10.E+04	06.E+04
	1-3	97.E+06	21.E+06	03.E+04	05.E+04	40.E+02
<b>CONDICIÓN 2</b>	2-1	97.E+06	21.E+06	05.E+04	23.E+04	08.E+04
	2-2	97.E+06	21.E+06	04.E+04	01.E+04	05.E+04
	2-3	97.E+06	21.E+06	14.E+04	03.E+04	06.E+04
<b>CONDICIÓN 3</b>	3-1	97.E+06	02.E+06	13.E+04	15.E+04	09.E+04
	3-2	97.E+06	02.E+06	08.E+04	12.E+04	04.E+04
	3-3	97.E+06	02.E+06	17.E+04	14.E+04	07.E+04
<b>CONDICIÓN 4</b>	4-1	97.E+06	02.E+06	05.E+04	04.E+04	12.E+04
	4-2	97.E+06	02.E+06	04.E+04	04.E+04	04.E+04
	4-3	97.E+06	02.E+06	04.E+04	05.E+04	04.E+04

\*UFC/gss = Unidades Formadoras de Colonia/gramo de suelo seco

Fuente: La Autora

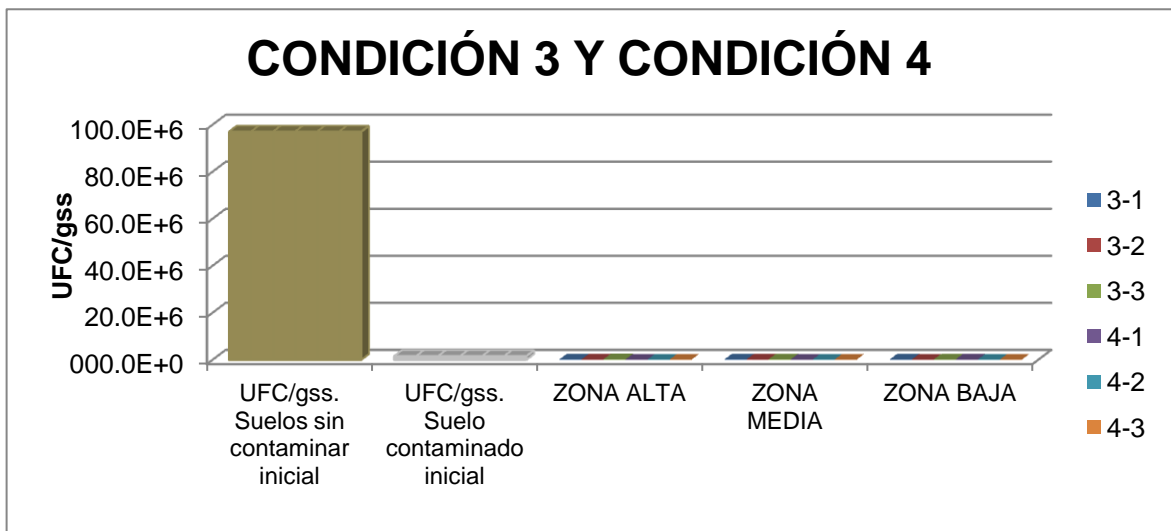
Gráfica 14. Crecimiento Microbiano analizado en el Suelo de la Condición 1 y Condición 2



Fuente: La Autora

En la gráfica 14 se observa una población microbiana significativa inicial en el suelo sin contaminar y un leve descenso en el suelo contaminado, debido a la presencia del diesel. También se evidencia que los microorganismos no presentaron una recuperación significativa a través del tiempo en ninguna de las tres zonas de la columna analizadas.

Gráfica 15. Crecimiento Microbiano analizado en el Suelo de la Condición 3 y Condición 4



Fuente: La Autora

La condición 3 y 4 se comportaron de manera similar que las condiciones 1 y 2 con la diferencia que la población microbiana del suelo contaminado al inicio

presentó una mayor mortandad, afectando tanto los microorganismos nativos del suelo como la cepa adicionada. Al final del proceso se observa que no hubo una recuperación significativa (Gráfica 15).

#### 4.9 DEGRADACIÓN DE DIESEL

Los datos obtenidos de la determinación de la concentración de diesel en el agua de salida de cada columna y en suelo al inicio y final del proceso de biorremediación se presentan a continuación, y a los cuales se les realizó un análisis estadístico cuyos resultados demuestran que el coeficiente de variación no se encuentra dentro del rango aceptable que precisa la homogeneidad de los datos y por ende se descarta la hipótesis que plantea que el tratamiento realizado en cada una de las tres réplicas de cada condición es el mismo, (Ver Anexos G y H).

##### 4.9.1 Degradación de Diesel en Agua

Los resultados de la concentración de diesel en agua por condición, se presentan en la Tabla 31 y su comportamiento en las Gráficas 16, 17, 18 y 19 correspondientes a la Condición 1 (Control), Condición 2 (Bioventing), Condición 3 (Bioventing + Bioaumentación) y Condición 4 (Bioaumentación), respectivamente, las cuales se puede observar la concentración en mg/L contra el volumen de poro intercambiable correspondiente a cada mes.

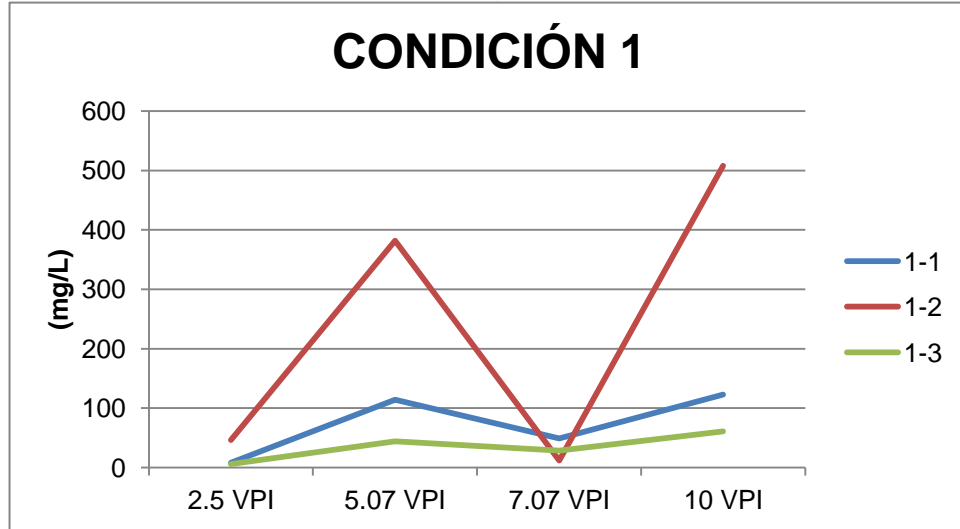
Tabla 30. Resultados Concentración de Diesel en Agua

	Columna	2.5 VPI	5.07 VPI	7.07 VPI	10 VPI
		Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4
<b>CONDICIÓN 1</b>	<b>1-1</b>	8.27	114	49.2	123
	<b>1-2</b>	46.2	382	11.7	508
	<b>1-3</b>	6	44.4	28.5	60.9
<b>CONDICIÓN 2</b>	<b>2-1</b>	117	79.6	103	18.6
	<b>2-2</b>	6.7	15.7	10.3	0
	<b>2-3</b>	7.1	17.5	11	3.39
<b>CONDICIÓN 3</b>	<b>3-1</b>	293	56.9	2406	12.3
	<b>3-2</b>	125	190	24	121
	<b>3-3</b>	45.1	104	36.1	19.8
<b>CONDICIÓN 4</b>	<b>4-1</b>	0	71.6	87.6	226
	<b>4-2</b>	0	36.1	41.4	558
	<b>4-3</b>	0	6.28	45.7	17.5

\*Concentración de Diesel en mg/L

Fuente: La Autora

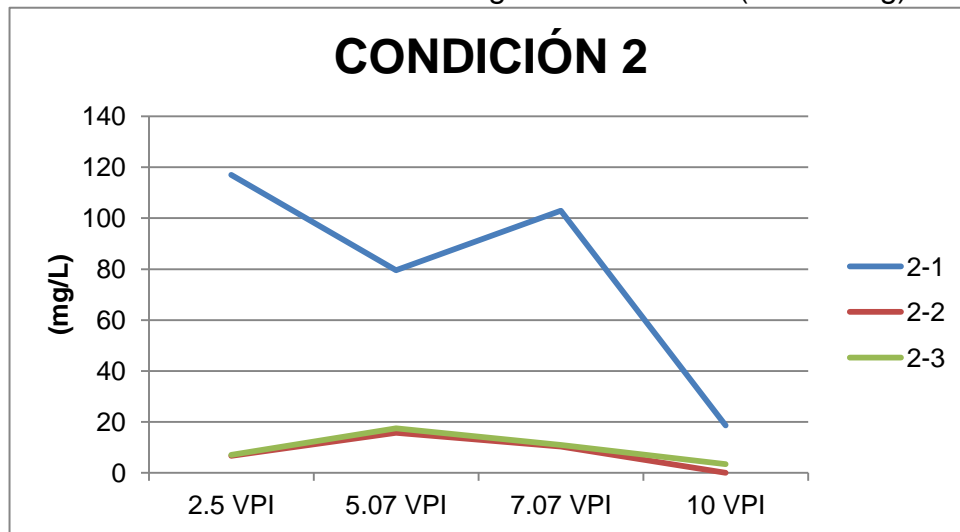
Gráfica 16. Concentración de Diesel en Agua: Condición 1 (Control)



Fuente: La Autora

La condición 1 presentó una fase de estabilización del flujo de agua, debido al aumento de la concentración desde el primer mes al segundo mes. Posteriormente en el tercer mes ocurrió una disminución y nuevamente en el cuarto mes aumentó la concentración de diesel, lo cual fue ocasionado posiblemente por fenómenos de arrastre y transporte del contaminante en el agua.

Gráfica 17. Concentración de Diesel en Agua: Condición 2 (Bioventing)

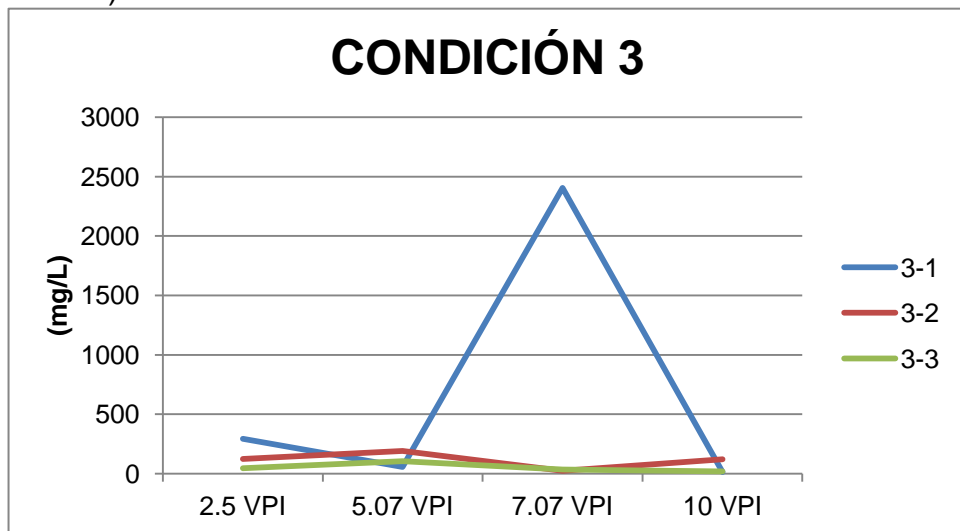


Fuente: La Autora

En la condición 2 se presentó igual que en la condición 1, una fase de estabilización del caudal de infiltración, debido al aumento de la concentración desde el primer mes hasta el segundo mes. Posteriormente descendió en el tercer y cuarto mes, obteniendo una degradación significativa de diesel por acción de las

bacterias nativas estimuladas por la inyección de oxígeno. Ésta fue la condición que presentó el mejor crecimiento microbiano y las concentraciones de diesel más bajas entre las demás condiciones, indicando que hubo degradación por procesos biológicos y por oxidación química debido a la presencia de oxígeno.

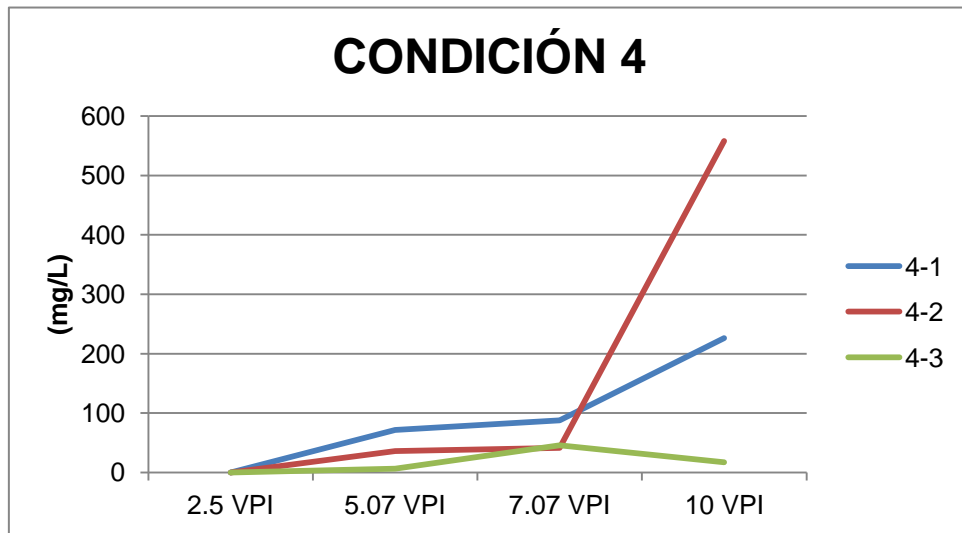
Gráfica 18. Concentración de Diesel en Agua: Condición 3 (Bioventing + Bioaumentación)



Fuente: La Autora

En la condición 3 se presentó igual que en la condición 1 y la condición 2, una fase de estabilización del flujo de agua, debido al aumento de la concentración de diesel, desde el primer mes hasta el segundo mes. Posteriormente, desciende en el tercer y cuarto mes, lo cual indica que se produjo una degradación por oxidación química debido a la presencia del oxígeno, obteniendo una disminución en la concentración de diesel con respecto al mes 1.

Gráfica 19. Concentración de Diesel en Agua: Condición 4 (Bioaumentación)



Fuente: La Autora

En la condición 4 se presentó igual que en la condición 1, condición 2 y condición 3, una fase de estabilización del flujo de agua, debido al aumento de la concentración de diesel, desde el primer mes hasta el segundo mes. Posteriormente ascendió, en el tercer y cuarto mes a una concentración de diesel significativamente mayor comparada con la inicial.

#### 4.9.2 Resultados Degradación de Diesel en Suelo

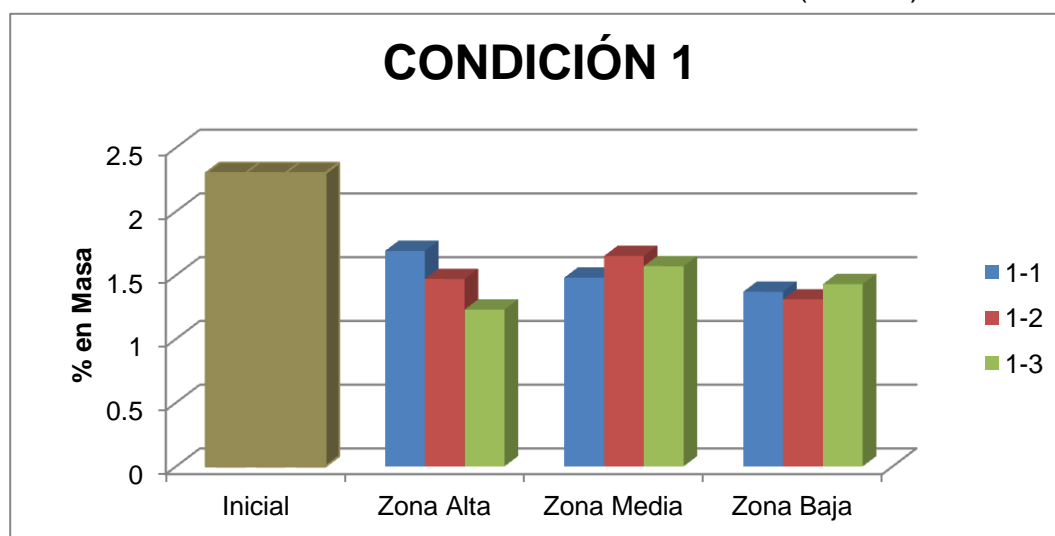
Los resultados obtenidos de la concentración de diesel determinado en las tres zonas de la columna establecidas (zona alta, zona media y zona baja), concernientes a cada una de las cuatro condiciones experimentales, se presentan en la Tabla 32 y su comportamiento se muestra en las Gráficas 20, 21, 22 y 23 correspondientes a la Condición 1 (Control), Condición 2 (Bioventing), Condición 3 (Bioventing + Bioaumentación) y la Condición 4 (Bioaumentación) respectivamente, en las cuales se puede observar la concentración en % en masa correspondiente a la muestra inicial y a cada zona de la columna.

Tabla 31. Resultados Concentración de Diesel en Suelo por Zonas

	Columna	Inicial	Final		
			Zona Alta	Zona Media	Zona Baja
<b>Condición 1</b>	1-1	2.3	1.69	1.48	1.37
	1-2	2.3	1.47	1.65	1.31
	1-3	2.3	1.23	1.57	1.43
<b>Condición 2</b>	2-1	2.3	0.37	1.36	1.34
	2-2	2.3	0.0677	0.656	1.17
	2-3	2.3	0.572	1.44	1.23
<b>Condición 3</b>	3-1	2.3	0.67	1.35	1.16
	3-2	2.3	0.564	1.13	0.94
	3-3	2.3	0.717	1.69	1.19
<b>Condición 4</b>	4-1	2.3	1.38	1.66	1.26
	4-2	2.3	1.26	1.68	1.18
	4-3	2.3	1.21	1.53	1.62

Fuente: La Autora

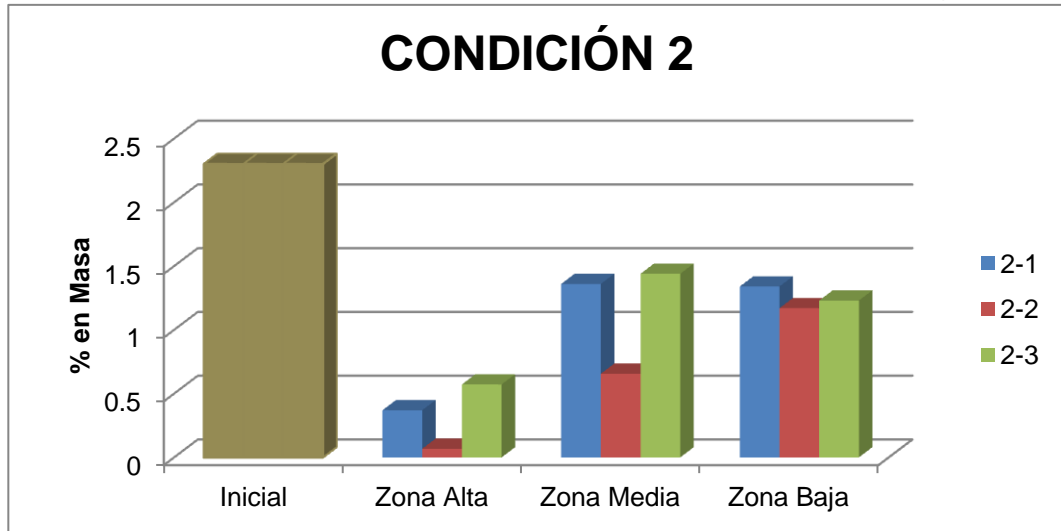
Gráfica 20. Concentración de Diesel en Suelo: Condición 1 (Control)



Fuente: La Autora

La condición 1 presentó un comportamiento similar en las tres zonas de la columna, obteniendo concentraciones cercanas a la concentración inicial. Lo anterior es coherente con los resultados esperados, debido a que a esta condición no se le realizó ningún tratamiento de biorremediación.

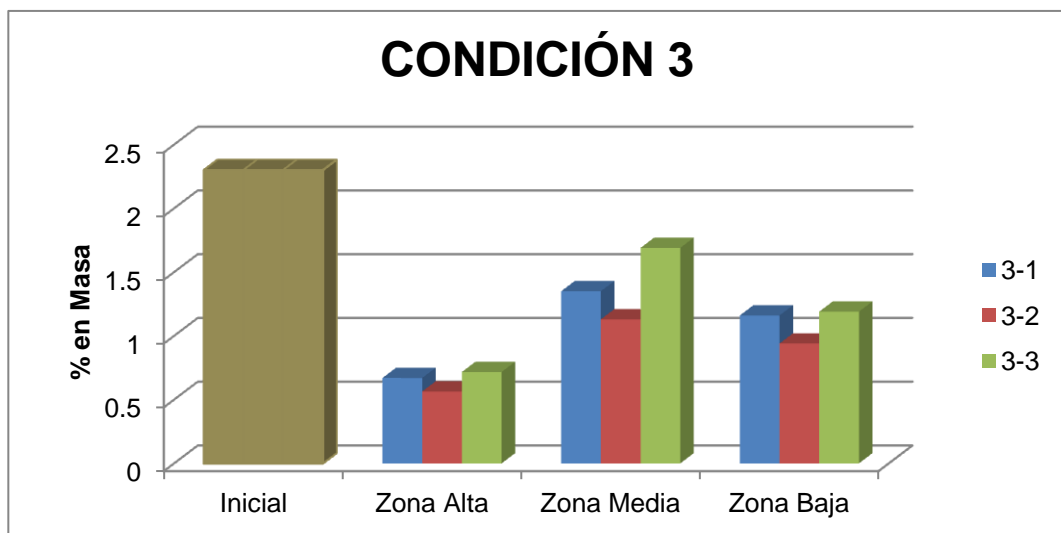
Gráfica 21. Concentración de Diesel en Suelo: Condición 2 (Bioventing)



Fuente: La Autora

En la condición 2 se observa un comportamiento de la zona alta de la columna diferenciado debido a que presenta la menor concentración de diesel de todas las tres zonas analizadas. Aunque la columna 2-2 presenta las concentraciones más bajas de diesel se percibe que la tendencia de las tres columnas es similar, obteniendo concentraciones no tan cercanas a la inicial.

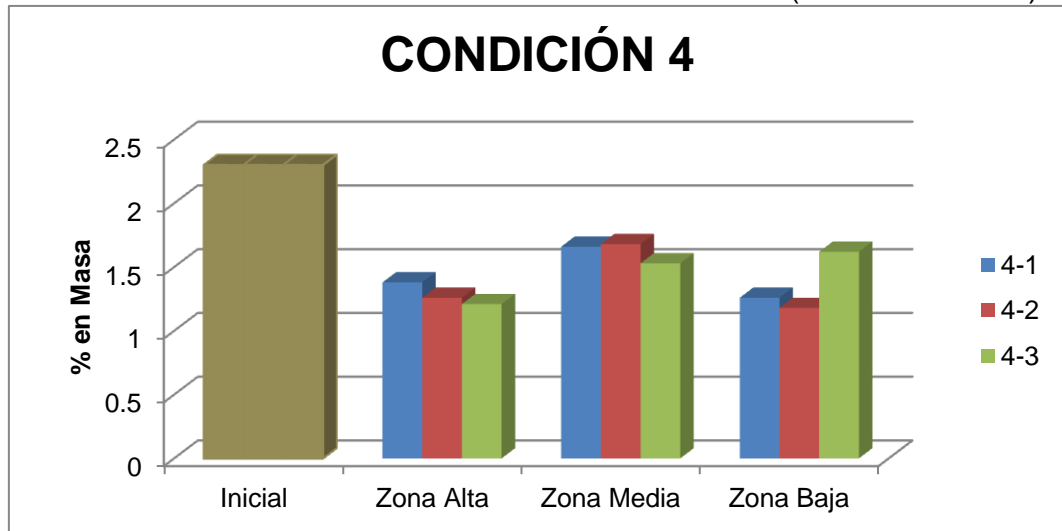
Gráfica 22. Concentración de Diesel en Suelo: Condición 3 (Bioventing + Bioaumentación)



Fuente: La Autora

La condición 3 presentó una concentración de diesel menor en la zona alta de la columna comparada con las otras dos zonas, las cuales se comportan de manera similar, con concentraciones cercanas a la inicial.

Gráfica 23. Concentración de Diesel en Suelo: Condición 4 (Bioaumentación)



Fuente: La Autora

La condición 4 presentó un comportamiento similar entre las tres zonas de la columna, con concentraciones parecidas a la inicial. Esta condición revela que la cepa agregada al suelo no realiza una degradación significativa del diesel.

#### 4.10 EFICIENCIA DE REMOCIÓN

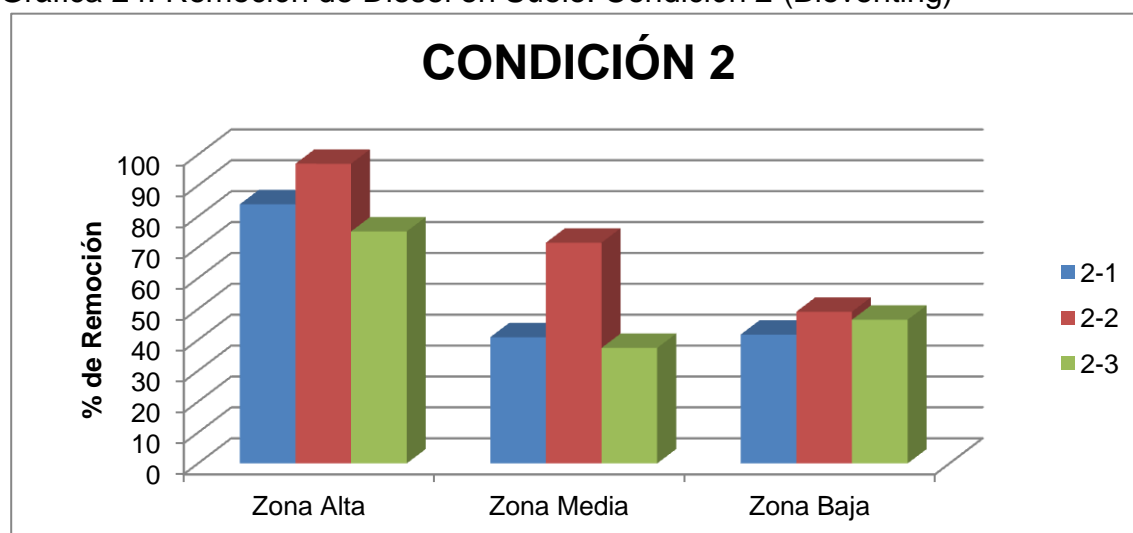
En la Tabla 33 se presentan los porcentajes de remoción en suelo determinado en las tres zonas de la columna establecidas (zona alta, zona media y zona baja), concernientes a cada una de las cuatro condiciones experimentales y cuya representación se encuentra en las Gráficas 24, 25, 26 y 27, correspondiente a la Condición 2, la Condición 4, la Condición 3 y la Condición 1, respectivamente.

Tabla 32. Porcentaje de Remoción de Diesel en Suelo

	Columna	Porcentaje de Remoción (%)		
		Zona Alta	Zona Media	Zona Baja
<b>CONDICIÓN 2</b>	<b>2-1</b>	83.91	40.87	41.74
	<b>2-2</b>	97.06	71.48	49.13
	<b>2-3</b>	75.13	37.39	46.52
<b>CONDICIÓN 4</b>	<b>4-1</b>	40.00	27.83	45.22
	<b>4-2</b>	45.22	26.96	48.70
	<b>4-3</b>	47.39	33.48	29.57
<b>CONDICIÓN 3</b>	<b>3-1</b>	70.87	41.30	49.57
	<b>3-2</b>	75.48	50.87	59.13
	<b>3-3</b>	68.83	26.52	48.26
<b>CONDICIÓN 1</b>	<b>1-1</b>	26.52	35.65	40.43
	<b>1-2</b>	36.09	28.26	43.04
	<b>1-3</b>	46.52	31.74	37.83

Fuente: La Autora

Gráfica 24. Remoción de Diesel en Suelo: Condición 2 (Bioventing)

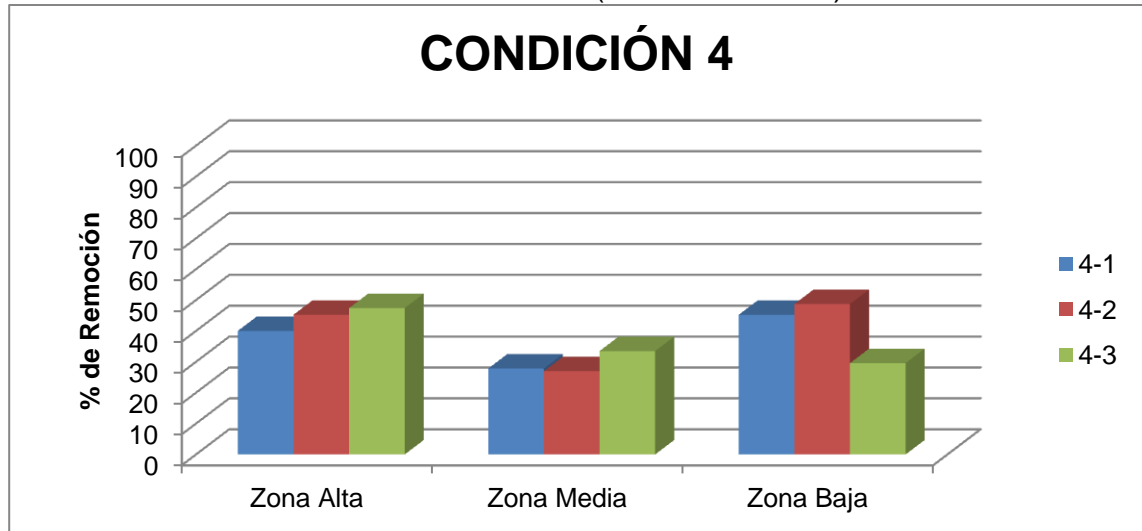


Fuente: La Autora

En la condición 2 las eficiencias de remoción de las tres zonas de la columna se comportaron de manera diferenciada. La zona alta alcanzó porcentajes muy altos, entre 75% y 97% de remoción, mientras que las otras dos zonas que son similares en sus valores, obtuvieron valores entre el 30% y 50% de remoción. Lo anterior se debe a que en la parte superior de la columna se acumula todo el oxígeno que ingresa por los puertos y que asciende por el medio poroso, además el volumen

de aireación del último puerto correspondiente a la zona alta, es menor que el volumen de suelo que aireaban los puertos inferiores.

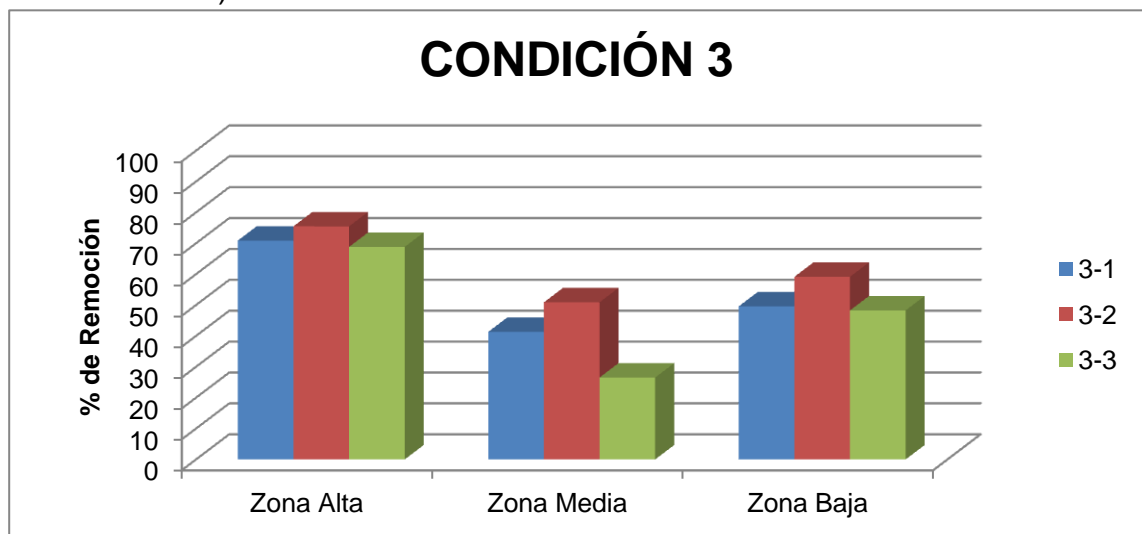
Gráfica 25. Remoción de Diesel en Suelo: (Bioaumentación)



Fuente: La Autora

La condición 4 presentó un comportamiento similar entre las tres zonas de la columna, con porcentajes de remoción entre el 20% y el 48% de remoción, siendo valores bajos de eficiencia del tratamiento.

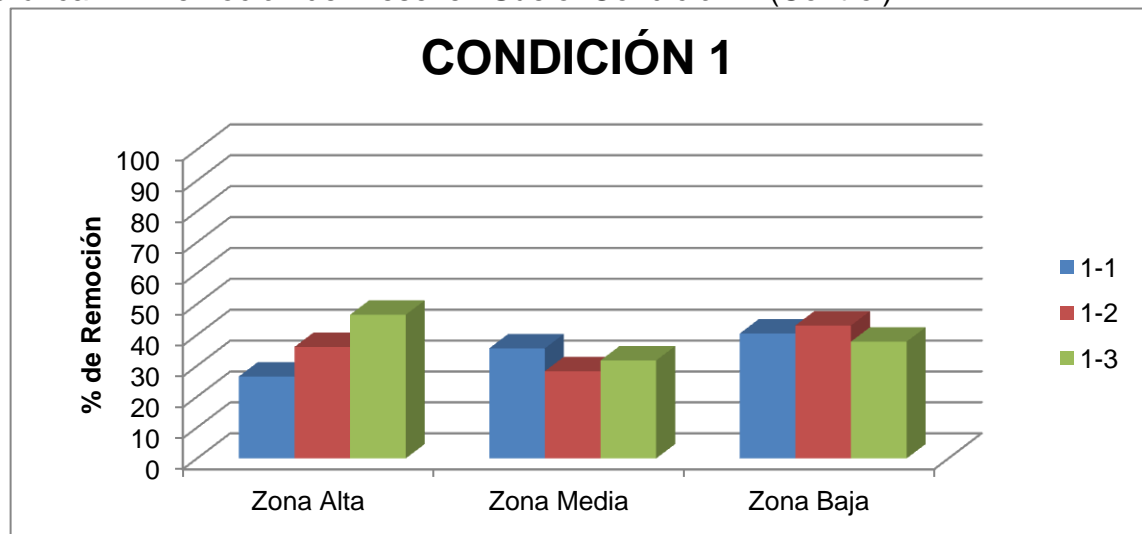
Gráfica 26. Remoción de Diesel en Suelo: Condición 3 (Bioventing + Bioaumentación)



Fuente: La Autora

La zona alta de la condición 3 se comportó de manera diferenciada obteniendo porcentajes de remoción más altos que las otras dos zonas de la columna, entre el 65% y 75% de remoción. Sin embargo el comportamiento de las otras dos zonas tampoco fue muy deficiente, alcanzando valores entre el 25% y el 60% de remoción. Lo anterior se debe a que en la parte superior de la columna se acumula todo el oxígeno que ingresa por los puertos y que asciende por el medio poroso, además el volumen de aireación del último puerto correspondiente a la zona alta, es menor que el volumen de suelo que aireaban los puertos inferiores.

Gráfica 27. Remoción de Diesel en Suelo: Condición 1 (Control)



Fuente: La Autora

Las eficiencias de remoción en la condición 1 se manifestaron de manera similar en las tres zonas de la columna, obteniendo porcentajes bajos, entre el 26% y 47% de remoción. Lo anterior debido a que ésta condición correspondía al control o testigo y no realizó ningún tratamiento al suelo contaminado.

#### 4.11 ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE LA VARIACIÓN DE LAS DIFERENTES CONDICIONES EXPERIMENTALES APLICADAS.

Teniendo en cuenta los resultados anteriores de los diferentes parámetros analizados, se considera que:

##### **Condición 2 (Bioventing).**

Los resultados de la concentración de oxígeno disuelto en la condición 2 fueron valores altos, entre 6.5 y 8 mg/L de O<sub>2</sub>. El crecimiento de la población microbiana nativa presentó una recuperación gradual después del impacto ocasionado por la

adición del diesel. La concentración de diesel determinada en agua disminuyó con respecto a la inicial y la concentración de diesel determinada en suelo también fue menor, incluso obtuvo los porcentajes de remoción más altos comparados con las demás condiciones evaluadas. Debido a lo anterior se puede establecer que en la condición 2, correspondiente a la adición de oxígeno para la estimulación del crecimiento de las bacterias aerobias que utilizan el diesel como fuente de carbono, se produjo una degradación por procesos biológicos, evidenciado en el crecimiento de los microorganismos y degradación por oxidación química, por la presencia del oxígeno a lo largo de toda la columna.

#### **Condición 4 (Bioaumentación).**

La condición 4 presentó concentraciones de oxígeno bajas, entre 1 y 4 mg/L de O<sub>2</sub>, una mortalidad alta de la población microbiana la cual nunca se recuperó, ni siquiera la cepa adicionada (ECOMAXBACT); una concentración de diesel determinada en el agua mayor que la inicial y por el contrario una concentración de diesel determinada en el suelo menor, con porcentajes de remoción entre 20% y 45%. Con los resultados anteriores se puede establecer que en la condición 4, correspondiente a adición de la cepa ECOMAXBACT, no se produjo una degradación por procesos biológicos, porque no hubo un crecimiento de microorganismos durante todo el tiempo experimental, sin embargo si ocurrió una leve degradación por oxidación química, la cual se evidencia en los valores de la concentración de oxígeno aportado por el agua de entrada. Contrastando los datos anteriores con el descenso en la concentración de diesel en el suelo y el aumento en la concentración de diesel determinada en el agua, se determina que fue ocasionado por fenómenos de transporte y arrastre del contaminante por acción del agua de infiltración, mas no por su degradación.

#### **Condición 3 (Bioventing + Bioaumentación).**

La condición 3 presentó unas concentraciones de oxígeno altas, al igual que la condición 2 con valores entre 6.5 y 8 mg/L de O<sub>2</sub>, una mortalidad de la población microbiana la cual no se recuperó significativamente ni siquiera la cepa adicionada, ECOMAXBACT. La concentración de diesel en el agua se mantuvo igual con respecto a la inicial y por el contrario la concentración de diesel determinada en el suelo disminuyó, obteniendo porcentajes de remoción entre 60% y 75%. Por los resultados anteriores se puede establecer que en la condición 3, correspondiente a la combinación de la inyección de oxígeno y la adición de la cepa ECOMAXBACT, no se produjo una degradación por procesos biológicos, pero si una leve degradación por oxidación química debido a la aireación a flujo constante del suelo. El descenso en la concentración de diesel en el suelo fue ocasionado por fenómenos de transporte y arrastre del contaminante por acción

del agua de infiltración, puesto que las concentraciones de diesel determinadas en el agua se mantuvieron iguales a la inicial.

### **Condición 1 (Control).**

Ésta condición presentó unas concentraciones de oxígeno bajas, entre 1 y 4 mg/L de O<sub>2</sub>, una mortalidad alta de la población microbiana sin recuperación a lo largo del tiempo experimental. La concentración de diesel determinada en el agua de salida, mostró un aumento gradual con respecto a la inicial y por el contrario la concentración de diesel determinada en el suelo, alcanzó porcentajes de remoción entre 26% y 40% en todas las tres zonas. Analizando los resultados anteriores, se puede establecer que en la condición 1 correspondiente al control o testigo, no se produjo ningún proceso de degradación biológica porque no hubo crecimiento de microorganismos, pero si hubo una escasa degradación por procesos de oxidación química puesto que hubo oxígeno aportado por el agua de entrada. Debido a lo anterior el descenso de la concentración inicial de diesel en el suelo, fue ocasionada por fenómenos de transporte y arrastre del contaminante por parte del agua de infiltración, mas no por procesos de degradación.

## 5 CONCLUSIONES

- Los parámetros de funcionamiento del sistema de biorremediación determinados fueron los siguientes, concentración de oxígeno: 186 L/día; consorcio microbiano: ECOMAXBACT; concentración inicial de diesel: 5%; profundidad de la muestra de suelo: 50 cm; caudal de agua bombeado: 0.1 ml/min.
- Con los análisis estadísticos realizados a los datos obtenidos en cada parámetro analizado y cuyos resultados descartan la hipótesis de la igualdad del tratamiento realizado entre las tres columnas de cada condición porque su coeficiente de variación señala que los datos no son homogéneos, se concluye que no es apropiado el montaje de réplicas para evaluar la biorremediación de suelos a escala de laboratorio, puesto que no es posible el control de todos los elementos del sistema para que se mantengan las mismas condiciones en cada una de ellas.
- Comparando las condiciones 1 y 4, se observa que su comportamiento fue muy similar, con concentraciones de oxígeno semejantes y un crecimiento microbiano nulo, por lo que se concluye que la adición de la cepa ECOMAXBACT a la zona no saturada del suelo sin suministro de oxígeno, no realizó una degradación significativa del diesel en el suelo estudiado.
- Se observó que las condiciones 2 y 3 presentan comportamientos similares, debido a que ambas fueron aireadas continuamente. Sin embargo la condición 3 que se esperaba arrojara los mejores resultados por tener la combinación de dos técnicas de biorremediación (bioventing y bioaumentación), fue la segunda mejor alternativa de tratamiento, obteniendo en la condición 2 la mejor alternativa de biorremediación del suelo analizado en este proyecto.
- Debido a las concentraciones de diesel altas o similares a la inicial, analizadas en el agua de salida y a las bajas concentraciones de diesel obtenidas en el suelo en las condiciones 1, 3 y 4, se concluye que se presentaron fenómenos de transporte y arrastre del diesel por acción del agua de infiltración correspondiendo con la alta solubilidad del contaminante que es de 5 mg/L.
- Los porcentajes de remoción en la zona alta de las columnas correspondientes a las condiciones con suministro continuo de aire (condición 2 y condición 3), resultaron ser los más altos entre las tres zonas analizadas, lo cual indica que el

oxígeno se almacenó principalmente en la parte superior de la columna, debido a su fácil desplazamiento y transporte desde los puertos inferiores hacia arriba, favorecido por la textura arenosa del suelo.

- Analizando los resultados obtenidos de los diferentes parámetros evaluados se puede establecer que la condición 2, correspondiente a la técnica bioventing, aireación a flujo constante de la zona vadosa del suelo para estimular el crecimiento de los microorganismos nativos que producen una degradación del contaminante por procesos biológicos y a la vez por oxidación química, es la alternativa más eficiente de biorremediación en este proyecto.
- La adición de oxígeno es importante para la biorremediación de suelos arenosos contaminados con diesel, ya que permite la degradación del contaminante por procesos de oxidación química y por procesos biológicos; debido a su textura arenosa, favorece una rápida distribución y desplazamiento del oxidante que a su vez, estimula el crecimiento de las bacterias aerobias, que utilizan como fuente de carbono el diesel.
- La cepa evaluada adicionada en la zona vadosa del suelo no efectuó una degradación significativa del diesel, ni siquiera con la inyección de oxígeno, por lo que se concluye, que el producto ECOMAXBACT es eficiente para los eventos de contaminación del suelo en superficie y con volteos periódicos, pero no para la zona no saturada del suelo.
- Debido a los resultados obtenidos en esta etapa de la investigación a escala de laboratorio, se concluye que la cepa bacteriana evaluada no produce una influencia significativa en la biorremediación de un suelo arenoso contaminado con diesel.

## 6 RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar análisis de Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH), en lugar del análisis de Grasas y Aceites para la determinación de la concentración de diesel, ya que es una medida indirecta y no predice la cantidad exacta del contaminante presente en la muestra.
- Se recomienda no realizar triplicados del tratamiento, puesto que es muy difícil controlar todos los parámetros en cada una de las columnas y los elementos que conforman todo el sistema.
- Se recomienda utilizar una manguera de silicona para manejar caudales menores a 0.1 ml/min debido a que la bomba peristáltica no presenta problemas con este tipo de material.
- Se recomienda continuar con la investigación, modificando la concentración inicial de diesel, el caudal de oxígeno y la textura del suelo.
- Se recomienda evaluar las interacciones entre los microorganismos nativos del suelo y la cepa evaluada, para observar si fue debido a la competencia entre ellas que no hubo un crecimiento significativo en las condiciones que se les adicionó el producto ECOMAXBACT, (3 y 4).

## 7 BIBLIOGRAFÍA

- [1] Historia del Petróleo en Colombia, Ecopetrol – El Petróleo y su Mundo disponible en línea en: <http://portal.ecopetrol.com.co/especiales/elpetroleoysumundo/petroleoencolombia2.htm>
- [2] LOPEZ DE MESA, Joaquín et al. “Biorremediación de Suelos Contaminados con Hidrocarburos Derivados del Petróleo”. Nova Publicación Científica Vol.4. No. 5 (2006): 82 – 90.
- [3] MIRSAL, Ibrahim A. Soil Pollution Origin, monitoring & Remediation Second Edition. Berlin: Springer-Verlag, 2008.
- [4] BOULDING, J. Russel & GINN Jon S. Soil, Vadose Zone, and Ground-Water Contamination. Boca Ratón: LEWIS PUBLISHERS, 2004.
- [5] JARAMILLO, Daniel F. Introducción a la Ciencia del Suelo. Medellín: Universidad Nacional de Colombia, 2002.
- [6] MOUAZEN, A.M. et al. “Potential of Visible and Near-Infrared Spectroscopy to Derive Colour Groups Utilising the Munsell Soil Colour Charts”. Biosystems Engineering No. 97 (2007): 131 – 143.
- [7] DÍAZ-ZORITA, M. et al. “Disruptive Methods for Assessing Soil Structure”. Soil & Tillage Research No. 64 (2002): 3 – 22.
- [8] VANWALLEGHEM, T. et al. “Spatial Variability of Soil Horizon Depth in Natural Loess-Derived Soils”. Geoderma No. 157 (2010): 37 – 45.
- [9] BOTTINELLI, N. et al. “Earthworms Accelerate Soil Porosity Turnover under Watering Conditions”. Geoderma No. 156 (2010): 43 – 47.
- [10] FERNÁNDEZ-CALVIÑO, David. et al. “Bacterial pH-Optima for Growth Track Soil pH, but are Higher than expected at Low pH”. Soil Biology & Biochemistry No. 43 (2011): 1569 – 1575.
- [11] PIERZYNSKI, Gary M. et al. Soils and Environmental Quality Third Edition. Boca Ratón: Taylor & Francis, 2005.
- [12] RISER-ROBERT, Eve. Remediation of Petroleum Contaminated Soils: Biological, Physical and Chemical Processes. Boca Ratón: Lewis Publishers, 1998.
- [13] ARRAR, Jazia. et al. “Treatment of Diesel Fuel Contaminated Soil in Jet-Fluidized Bed”. Biochemical Engineering Journal No. 37 (2007): 131 – 138.

- [14] VAN STEMPVOORT, Dale. "Potential for Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons in Groundwater under Cold Climate Conditions: A Review". Cold Regions Science and Technology 53 (2008): 16 – 41.
- [15] FALCIGLIA, P.P. et al. "Low Temperature Thermal Desorption of Diesel Polluted Soil: Influence of Temperature and Soil Texture on Contaminant Removal Kinetics". Journal of Hazardous Materials No. 185 (2011): 392 – 400.
- [16] HU, Xintao. et al. "Environmental life-cycle comparisons of two polychlorinated biphenyl remediation technologies: Incineration and base catalyzed decomposition". Journal of Hazardous Materials No. 191 (2011): 258 – 268.
- [17] LAGREGA, Michael D. Hazardous Waste Management Second Edition. Long Grove: WAVELAND PRESS, Inc., 2001.
- [18] ALISI, Chiara. et al. "Bioremediation of Diesel Oil in a co- contaminated Soil by Bioaugmentation with a Microbial Formula Tailored with Native Strains selected for Heavy Metals Resistance". Science of Total Environment No. 407 (2009): 3024 – 3032.
- [19] KOUZUMA A & WATANABE K. 6.04 Molecular Approaches for the Analysis of Natural Attenuation and Bioremediation. En: MOO-YOUNG, Murray. et al. Comprehensive Biotechnology Second Edition. Elsevier Science; 2011. 25 – 26.
- [20] ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY OF THE UNITED STATES OF AMERICA. Capítulo III Bioventing, 1994.
- [21] BENTO, Fátima. "Comparative Bioremediation of Soils Contaminated with Diesel Oil by Natural Attenuation, Biostimulation and Bioaugmentation". Bioresource Technology 96 (2005): 1049 – 1055.
- [22] AYOTAMUNO, M.J. et al. "Bio-remediation of a sludge containing hydrocarbons". Applied Energy No. 84 (2007): 936 – 943.
- [23] PÉREZ, Rosa. "Aislamiento y Selección de Una Cepa Bacteriana Degradadora de Hidrocarburos a partir de Suelos Contaminados con Petróleo". CENIC Ciencias Biológicas Vol. 39 No. 1 (2008): 44 – 51.
- [24] MADIGAN, Michael et al. Biología de lo Microorganismos, Brock Duodécima Edición. Madrid: PEARSON EDUCACIÓN, S.A., 2009.
- [25] MUSKUS, Angélica. Manual de Laboratorio de Análisis de Suelos; Facultad de Ingeniería Ambiental, Universidad Pontificia Bolivariana Seccional Bucaramanga.

- [26] PEPPER, I.L. & GERBA C.P. Environmental Microbiology, a Laboratory Manual Second Edition. San Diego: Elsevier Inc., 2005.
- [27] GOGOI, B.K. et al. "A Case Study of Bioremediation of Petroleum-Hydrocarbon Contaminated Soil at a Crude Oil Spill Site". Advances in Environmental Research No. 7 (2003): 767 – 782.
- [28] LEWIS, Jeffrey et al. "Optimizing the Experimental Design of Soil Columns in Saturated and Unsaturated Transport Experiments". Journal of Contaminant Hydrology. No. 115 (2010): 1 – 13.
- [29] JUNG, Haeryong et al. "Effects of in-situ Ozonation on Indigenous Microorganisms in Diesel Contaminated Soil: Survival and Regrowth". Chemosphere No. 61 (2005): 923 – 932.
- [30] MENEZES, Fátima; DE OLIVEIRA, Flávio; OKEKE, Benedict; FRANKENBERGER, William. "Diversity of Biosurfactant Producing Microorganisms Isolated from Soils Contaminated with Diesel Oil". Microbiological Research Vol. 160 No. 3 (2005): 249 – 255.
- [31] ALISI, Chiara; MUSELLA, Rosario; TASSO, Flavia; UBALDI, Carla; MANZO, Sonia; CREMISINI, Carlo; SPROCATI, Anna. "Bioremediation of Diesel Oil in a Co-Contaminated Soil by Bioaugmentation with a Microbial Formula Tailored with Native Strains selected for Heavy Metals Resistance". Science of The Total Environment Vol. 407 No. 8 (2009): 3024 – 3032.
- [32] BOWLES, Joseph. Manual de Laboratorio de Suelos en Ingeniería Civil. Bogotá: McGRAW-HILL LATINOAMERICANA S.A., 1978.
- [33] DUFFUS, John. Toxicología Ambiental. Barcelona: Omega, 1983.
- [34] MONTGOMERY, Douglas. Diseño y Análisis de Experimentos. México: LIMUSA S.A., 2007.
- [35] INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS. Normas Colombianas para la presentación de tesis, trabajos de grado y otros trabajos de investigación. Sexta actualización. Bogotá: ICONTEC, 2008. NTC 1486.

## ANEXOS

### ANEXO A. Datos de Volumen Circulado por la Columna por Día.

Día	1-1	1-2	1-3	2-1	2-2	2-3	3-1	3-2	3-3	4-1	4-2	4-3
1	510	360	510	250	25	310	240	0	190	350	100	190
2	27	650	50	65	47	0	70	0	65	50	5	70
3	105	130	130	140	2	83	70	0	50	150	52	150
4	150	155	150	5	40	60	0	0	150	100	130	170
5	100	110	95	5	25	110	55	0	95	90	100	130
6	100	110	95	5	25	110	55	0	95	90	100	130
7	100	147	90	137	103	103	70	0	97	80	87	117
8	100	147	90	137	103	103	70	0	97	80	87	117
9	100	147	90	137	103	103	70	0	97	80	87	117
10	113	163	110	108	130	123	75	0	93	85	125	110
11	113	163	110	108	130	123	75	0	93	85	125	110
12	113	163	110	108	130	123	75	0	93	85	125	110
13	113	163	110	108	130	123	75	0	93	85	125	110
14	95	150	110	120	135	125	70	32.5	110	80	110	90
15	95	150	110	120	135	125	70	32.5	110	80	110	90
16	80	125	75	100	97	110	47	90	80	62	85	82
17	75	140	98	140	170	140	105	100	120	86	140	120
18	137	120	118	138	137	137	97	93	117	133	130	107
19	137	120	118	138	137	137	97	93	117	133	130	107
20	137	120	118	138	137	137	97	93	117	133	130	107
21	0	55	85	52	30	52	50	87	62	37	25	34
22	330	0	310	275	360	295	205	270	245	345	205	395
23	330	0	310	275	360	295	205	270	245	345	205	395
24	48	0	41	55	73	64	50	78	120	55	40	50
25	470	453	417	333	417	373	320	437	423	127	263	0
26	470	453	417	333	417	373	320	437	423	127	263	0
27	470	453	417	333	417	373	320	437	423	127	263	0
28	170	185	155	142.5	210	150	110	140	135	0	115	375
29	170	185	155	143	210	150	110	140	135	0	115	375
30	220	290	290	220	265	165	180	275	285	0	200	500
31	220	290	290	220	265	165	180	275	285	0	200	500
32	310	264	330	303	373	258	230	338	340	150	213	340
33	310	264	330	303	373	258	230	338	340	150	213	340
34	310	264	330	303	373	258	230	338	340	150	213	340
35	310	264	330	303	373	258	230	338	340	150	213	340

36	275	265	305	260	325	240	210	300	300	255	200	355
37	275	265	305	260	325	240	210	300	300	255	200	355
38	143	0	158	138	160	128	115	150	140	128	100	290
39	143	0	158	138	160	128	115	150	140	128	100	290
40	143	0	158	138	160	128	115	150	140	128	100	290
41	143	0	158	138	160	128	115	150	140	128	100	290
42	130	40	145	35	235	37.5	115	110	50	105	85	170
43	130	40	145	35	235	37.5	115	110	50	105	85	170
44	135	0	150	130	150	130	105	130	100	118	95	143
45	135	0	150	130	150	130	105	130	100	118	95	143
46	153	167	156	151	57	157	154	171	154	143	129	169
47	153	167	156	151	57	157	154	171	154	143	129	169
48	153	167	156	151	57	157	154	171	154	143	129	169
49	153	167	156	151	57	157	154	171	154	143	129	169
50	153	167	156	151	57	157	154	171	154	143	129	169
51	153	167	156	151	57	157	154	171	154	143	129	169
52	153	167	156	151	57	157	154	171	154	143	129	169
53	263	0	273	237	110	243	200	127	300	220	190	270
54	263	0	273	237	110	243	200	127	300	220	190	270
55	263	0	273	237	110	243	200	127	300	220	190	270
56	190	73	200	167	65	177	138	125	300	163	143	205
57	190	73	200	167	65	177	138	125	300	163	143	205
58	190	73	200	167	65	177	138	125	300	163	143	205
59	190	73	200	167	65	177	138	125	300	163	143	205
60	190	73	200	167	65	177	138	125	300	163	143	205
61	190	73	200	167	65	177	138	125	300	163	143	205
62	200	60	200	173	100	187	167	167	197	170	153	193
63	200	60	200	173	100	187	167	167	197	170	153	193
64	200	60	200	173	100	187	167	167	197	170	153	193
65	158	40	165	130	58	145	110	148	154	133	115	170
66	158	40	165	130	58	145	110	148	154	133	115	170
67	158	40	165	130	58	145	110	148	154	133	115	170
68	158	40	165	130	58	145	110	148	154	133	115	170
69	240	93	254	257	209	249	234	230	260	246	197	306
70	240	93	254	257	209	249	234	230	260	246	197	306
71	240	93	254	257	209	249	234	230	260	246	197	306
72	240	93	254	257	209	249	234	230	260	246	197	306
73	240	93	254	257	209	249	234	230	260	246	197	306
74	240	93	254	257	209	249	234	230	260	246	197	306
75	240	93	254	257	209	249	234	230	260	246	197	306

76	200	0	213	177	166	189	143	200	217	184	136	209
77	200	0	213	177	166	189	143	200	217	184	136	209
78	200	0	213	177	166	189	143	200	217	184	136	209
79	200	0	213	177	166	189	143	200	217	184	136	209
80	200	0	213	177	166	189	143	200	217	184	136	209
81	200	0	213	177	166	189	143	200	217	184	136	209
82	200	0	213	177	166	189	143	200	217	184	136	209
83	218	210	224	222	242	212	210	234	226	220	212	246
84	218	210	224	222	242	212	210	234	226	220	212	246
85	218	210	224	222	242	212	210	234	226	220	212	246
86	218	210	224	222	242	212	210	234	226	220	212	246
87	218	210	224	222	242	212	210	234	226	220	212	246
88	177	170	183	167	203	173	183	183	18	173	180	203.3
89	177	170	183	167	203	173	183	183	18	173	180	203.3
90	177	170	183	167	203	173	183	183	18	173	180	203
91	155	153	163	163	180	150	153	178	175	163	153	205
92	155	153	163	163	180	150	153	178	175	163	153	205
93	155	153	163	163	180	150	153	178	175	163	153	205
94	155	153	163	163	180	150	153	178	175	163	153	205
95	170	163	170	138	178	163	150	178	170	173	160	200
96	170	163	170	138	178	163	150	178	170	173	160	200
97	170	163	170	138	178	163	150	178	170	173	160	200
98	170	163	170	138	178	163	150	178	170	173	160	200
99	124	121	127	107	146	114	121	141	141	131	123	154
100	124	121	127	107	146	114	121	141	141	131	123	154
101	124	121	127	107	146	114	121	141	141	131	123	154
102	124	121	127	107	146	114	121	141	141	131	123	154
103	124	121	127	107	146	114	121	141	141	131	123	154
104	124	121	127	107	146	114	121	141	141	131	123	154
105	124	121	127	107	146	114	121	141	141	131	123	154
106	156	150	152	166	184	160	162	180	168	162	152	184
107	156	150	152	166	184	160	162	180	168	162	152	184
108	156	150	152	166	184	160	162	180	168	162	152	184
109	156	150	152	166	184	160	162	180	168	162	152	184
110	156	150	152	166	184	160	162	180	168	162	152	184

**ANEXO B. Análisis Estadístico: Coeficiente de Variación para los datos del volumen de agua circulado por columna por día**

**- Condición 1 (Control)**

	<b>1-1</b>	<b>1-2</b>	<b>1-3</b>
Media	183.3182	132.5455	189.2182
Error típico	8.026138	10.3458	7.728059
Mediana	157.5	127.5	165
Moda	200	0	200
Desviación estándar	84.17885	108.5076	81.05257
Varianza de la muestra	7086.079	11773.9	6569.519
Curtosis	4.043725	5.020413	2.216596
Coeficiente de asimetría	1.57655	1.622803	1.246935
Rango	510	650	469
Mínimo	0	0	41
Máximo	510	650	510
Suma	20165	14580	20814
Cuenta	110	110	110
Nivel de confianza (95.0%)	15.90754	20.50503	15.31676
Coeficiente de Variación (%)	45.91953	81.86446	42.83551

**- Condición 2**

	<b>2-1</b>	<b>2-2</b>	<b>2-3</b>
Media	167.6091	163.4	163.4
Error típico	6.583556	8.915605	8.915605
Mediana	162.5	160	160
Moda	166.6667	57.14286	57.14286
Desviación estándar	69.04892	93.50766	93.50766
Varianza de la muestra	4767.753	8743.682	8743.682
Curtosis	0.323353	0.6588	0.6588
Coeficiente de asimetría	0.279117	0.860186	0.860186
Rango	328.3333	414.6667	414.6667
Mínimo	5	2	2
Máximo	333.3333	416.6667	416.6667
Suma	18437	17974	17974
Cuenta	110	110	110
Nivel de confianza (95.0%)	13.04839	17.67044	17.67044
Coeficiente de Variación (%)	41.1964	57.22623	57.22623

**- Condición 3**

	<b>3-1</b>	<b>3-2</b>	<b>3-3</b>
Media	149.3364	162.4545	185.4182
Error típico	5.722937	8.881473	8.351965
Mediana	146.4286	169.0476	168
Moda	70	0	300
Desviación estándar	60.02267	93.14968	87.59615
Varianza de la muestra	3602.721	8676.862	7673.086
Curtosis	0.431522	1.057518	0.067623
Coefficiente de asimetría	0.427619	0.400105	0.544742
Rango	320	436.6667	405.3333
Mínimo	0	0	18
Máximo	320	436.6667	423.3333
Suma	16427	17870	20396
Cuenta	110	110	110
Nivel de confianza (95.0%)	11.34268	17.60279	16.55332
Coefficiente de Variación (%)	40.19294	57.33892	47.24248

**- Condición 4**

	<b>4-1</b>	<b>4-2</b>	<b>4-3</b>
Media	152.0455	145.7909	203.1909
Error típico	6.16598	4.496723	8.847006
Mediana	150	135.7143	196.6667
Moda	220	100	205
Desviación estándar	64.66934	47.16203	92.78818
Varianza de la muestra	4182.124	2224.257	8609.647
Curtosis	1.413948	0.46981	1.072135
Coefficiente de asimetría	0.349562	0.059577	0.624012
Rango	350	258.3333	500
Mínimo	0	5	0
Máximo	350	263.3333	500
Suma	16725	16037	22351
Cuenta	110	110	110
Nivel de confianza (95.0%)	12.22077	8.912358	17.53448
Coefficiente de Variación (%)	42.5329	32.34909	45.66552

### ANEXO C. Datos de Oxígeno Disuelto por Columna.

Día	Condición 1			Condición 2			Condición 3			Condición 4		
	1-1	1-2	1-3	2-1	2-2	2-3	3-1	3-2	3-3	4-1	4-2	4-3
1	3.75	2.43	4.5	7.28	7.03	7	6.98	5.31	6.96	1.71	1.71	2.17
4	2.19	5.06	3.15	6.05	6.57	5.8	5.63	4.64	5.75	1.56	1.21	0.95
7	2.34	2.64	1.88	6.66	6.78	0	6.09	6.6	6.6	0	1.97	3.09
14	2.96	3.03	2.73	6.8	6.58	6.57	6.23	6.18	5.96	1.17	1.96	1.6
16	2.93	3.49	2.51	5.32	7.25	6.54	5.72	5.41	6.67	2.88	2.88	4.67
21	3.44	3.25	2.59	6.49	6.64	6.51	5.73	4.92	6.42	2.32	2.19	3.41
23	2.87	3.16	2.11	6.56	6.42	6.91	6.68	5.29	6.37	1.68	2.25	2.7
30	1.85	1.9	1.89	6.96	7.32	7.09	6.98	6.34	6.72	1.45	1.49	1.86
32	3.33	5.72	2.82	6.37	6.78	6.87	6.63	6.57	5.81	1.66	2.32	2.56
38	3.07	3.35	2.98	7.35	7.51	7.53	7.49	7.48	7.54	2.62	2.25	2.76
46	2.25	4.25	1.83	7.58	7.57	7.47	7.39	7.22	7.38	2.8	1.7	2.32
51	3.19	3.1	1.74	7.01	6.96	7.12	7.03	7.07	7.14	1.85	2.45	1.18
65	3.28	3.23	2.56	7.37	3.66	7.2	7.42	7.59	7.64	1.99	2.32	2.82
68	1.28	3.17	1.7	7.16	7.2	7.28	7.39	7.25	7.39	1.09	1.89	1.39
72	0.78	0.95	3.08	7.34	7.46	7.42	7.42	7.53	7.54	3.31	1.68	2.49
79	2.97	0.52	3.36	7.27	7.44	7.68	7.66	7.55	7.65	4.07	2.77	2.46
82	0.22	0.49	1.65	7.46	7.1	7.59	7.7	7.66	7.74	0.89	0.33	3.96
89	1.2	2.22	1.84	7.58	7.69	7.55	7.71	7.69	7.71	2.15	0.97	1.88
94	1.2	3.65	2.02	7.77	7.85	1.45	7.52	7.36	1.84	2.32	2.4	4
96	1.47	2.17	3.2	7.65	7.36	7.86	7.88	7.86	7.9	4.27	2.1	1.83
100	2.85	1.81	3.22	7.47	7.46	7.56	7.6	7.53	7.57	3.1	2.5	4.49

**ANEXO D. Análisis Estadístico: Coeficiente de Variación para los datos de Oxígeno Disuelto.**

**- Condición 1 (Control)**

	<b>1-1</b>	<b>1-2</b>	<b>1-3</b>
Media	2.353333333	2.837619048	2.540952381
Error típico	0.216367559	0.287218106	0.160599924
Mediana	2.85	3.1	2.56
Moda	1.2	#N/A	#N/A
Desviación estándar	0.991520718	1.316198711	0.735961309
Varianza de la muestra	0.983113333	1.732379048	0.541639048
Curtosis	-0.67823439	0.370110208	0.719278946
Coeficiente de asimetría	-0.631103018	0.103831588	0.812065375
Rango	3.53	5.23	2.85
Mínimo	0.22	0.49	1.65
Máximo	3.75	5.72	4.5
Suma	49.42	59.59	53.36
Cuenta	21	21	21
Nivel de confianza (95.0%)	0.451334818	0.599126469	0.33500557
Coeficiente de Variación (%)	42.13260839	46.38391162	28.96399453

**- Condición 2 (Bioventing)**

	<b>2-1</b>	<b>2-2</b>	<b>2-3</b>
Media	7.02380952	6.98238095	6.52380952
Error típico	0.13267841	0.1878486	0.43678341
Mediana	7.27	7.2	7.12
Moda	7.58	6.78	#N/A
Desviación estándar	0.60800885	0.86083044	2.00159306
Varianza de la muestra	0.36967476	0.74102905	4.00637476
Curtosis	1.64711963	11.6473258	6.95340705
Coeficiente de asimetría	-1.26415231	-3.05368223	-2.73855705
Rango	2.45	4.19	7.86
Mínimo	5.32	3.66	0
Máximo	7.77	7.85	7.86
Suma	147.5	146.63	137
Cuenta	21	21	21
Nivel de confianza (95.0%)	0.27676231	0.39184532	0.91111423
Coeficiente de Variación (%)	8.65639719	12.3286089	30.6813534

**- Condición 3 (Bioventing + Bioaugmentación)**

	<b>3-1</b>	<b>3-2</b>	<b>3-3</b>
Media	6.99428571	6.71666667	6.77619048
Error típico	0.15827278	0.22525576	0.2871622
Mediana	7.39	7.22	7.14
Moda	6.98	7.53	7.54
Desviación estándar	0.72529698	1.03225158	1.31594254
Varianza de la muestra	0.52605571	1.06554333	1.73170476
Curtosis	-0.72591676	-0.76605347	10.0481682
Coficiente de asimetría	-0.78489965	-0.8177071	-2.82721502
Rango	2.25	3.22	6.06
Mínimo	5.63	4.64	1.84
Máximo	7.88	7.86	7.9
Suma	146.88	141.05	142.3
Cuenta	21	21	21
Nivel de confianza (95.0%)	0.33015123	0.46987529	0.59900986
Coficiente de Variación (%)	10.3698507	15.3685099	19.4200937

**- Condición 4 (Bioaugmentación)**

	<b>4-1</b>	<b>4-2</b>	<b>4-3</b>
Media	2.13761905	1.96857143	2.59952381
Error típico	0.22658007	0.13237804	0.22785383
Mediana	1.99	2.1	2.49
Moda	2.32	2.25	#N/A
Desviación estándar	1.0383203	0.60663239	1.04415744
Varianza de la muestra	1.07810905	0.36800286	1.09026476
Curtosis	0.19720612	1.4387202	-0.41330997
Coficiente de asimetría	0.27870006	-1.05061323	0.49072771
Rango	4.27	2.55	3.72
Mínimo	0	0.33	0.95
Máximo	4.27	2.88	4.67
Suma	44.89	41.34	54.59
Cuenta	21	21	21
Nivel de confianza (95.0%)	0.47263773	0.27613575	0.47529477
Coficiente de Variación (%)	48.5736831	30.8158689	40.1672582

## ANEXO E. Datos Conteo Crecimiento Microbiano.

### - Datos Conteo Crecimiento Microbiano Inicial en Suelo y Agua

CONTEO INICIAL EN SUELO Y AGUA							
						Fecha: 25 de junio de 2011	
Muestra 1. Suelo sin contaminar							
Muestra 2. Suelo contaminado							
Muestra 3. Suelo contaminado inoculado							
Técnica: Método de placa fundida, 35°C a 48 horas.							
	DUPLICADO	DILUCIÓN			RESULTADOS UFC/g	OBSERVACIONES	UFC/ g.s.s
		-4	-5	-6			
<b>MUESTRA 1</b>	1	>300	>300	85	97.E+06		97.E+06
	2	N.C	>300	112		Crecimiento extendido	
	3	>300	>300	93		Humedad del suelo 0,1%	
	DUPLICADO	DILUCIÓN			RESULTADOS UFC/g	OBSERVACIONES	UFC/ g.s.s
		-3	-4	-5			
<b>MUESTRA 2</b>	1	>300	>300	213	21.E+06	Humedad del suelo 0,5%	21.E+06
	2	>300	>300	298			
	3	>300	>300	195			
	DUPLICADO	DILUCIÓN			RESULTADOS UFC/g	OBSERVACIONES	UFC/ g.s.s
		-3	-4	-5			
<b>MUESTRA 3</b>	1	>300	163	< 30	170E+04		151E+04
	2	NC	176	0		Crecimiento extendido	
	3	>300	NC	0		Humedad del suelo 11%	
	DUPLICADO	DILUCIÓN			RESULTADOS UFC/g	OBSERVACIONES	
		-3	-4	-5			
<b>MUESTRA DE AGUA COLUMNA 1-1</b>	1	138	< 30	< 30	15.E+04		
	2	146	< 30	< 30			
	3	152	< 30	< 30			
	DUPLICADO	DILUCIÓN			RESULTADOS UFC/g	OBSERVACIONES	
		-3	-4	-5			
<b>MUESTRA DE AGUA COLUMNA 4-3</b>	1	>300	203	< 30	193.E+04		
	2	N.C	N.C	< 30		Crecimiento extendido	
	3	N.C	182	< 30		Crecimiento extendido	
*UFC/g s.s. = (NC * 1/FD * 1/ V) / (P * FH).							

- Datos Conteo Crecimiento Microbiano en Agua

Mes 1

CONDICIÓN 1 (CONTROL)							
FECHA: Agosto 2 DE 2011							
TÉCNICA: SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas							
			Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
			1	2	3		
COLUMNA 1-1	Dilución	-1	N.C	N.C	N.C	80E+02	
		-2	70	85	84		Predominio de crecimiento extendido de hongo algodonoso blanco
		-3	N.C	N.C	N.C		Predominio de crecimiento extendido de hongo algodonoso blanco
			Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
			1	2	3		
COLUMNA 1-2	Dilución	-1	N.C	N.C	N.C	< 30	Crecimiento de hongo algodonoso blanco y colonia bacteriana de pigmentación roja. Se observa crecimiento en grupo de colonias blancas de ordenamiento regular.
		-2	N.C	N.C	N.C		Presencia de hongo algodonoso. No crecimiento de colonias bacterianas significativa.
		-3	< 30	< 30	< 30		No crecimiento de colonias bacterianas.
			Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
			1	2	3		
COLUMNA 1-3	Dilución	-1	> 300	> 300	> 300	77E+02	
		-2	77	68	86		
		-3	< 30	< 30	< 30		

\*N.C No se realizó el conteo.

CONDICIÓN 2 (BIOVENTING)							
FECHA: Agosto 2 DE 2011							
TÉCNICA: SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas							
			Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
			1	2	3		
COLUMNA 2-1	Dilución	-1	N.C	N.C	N.C	47E+02	Se observa desarrollo de hongo algodonoso blanco. Crecimiento bacteriano extendido. Desarrollo de colonia bacteriana roja.
		-2	52	42	47		
		-3	< 30	< 30	< 30		
			Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
			1	2	3		
COLUMNA 2-2	Dilución	-1	N.C	N.C	N.C		Crecimiento extensivo. Desarrollo de hongo algodonoso blanco.
		-2	N.C	N.C	N.C		Crecimiento extensivo. Desarrollo de hongo algodonoso blanco.
		-3	N.C	N.C	N.C		Crecimiento extensivo. Desarrollo de hongo algodonoso blanco.
			Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
			1	2	3		
COLUMNA 2-3	Dilución	-1	N.C	97	118	54E+02	
		-2	54	61	47		
		-3	< 30	< 30	< 30		

\*N.C No se realizó el conteo.

<b>CONDICIÓN 3 (BIOVENTING + BIOAUMENTACIÓN)</b>							
<b>FECHA:</b> Agosto 2 DE 2011							
<b>TÉCNICA:</b> SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas							
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 3-1</b>	Dilución	-1	> 300	> 300	> 300	68.E+03	
		-2	> 300	> 300	> 300		
		-3	67	59	77		
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 3-2</b>	Dilución	-1	> 300	> 300	> 300	11E+04	
		-2	> 300	> 300	> 300		
		-3	91	124	112		
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 3-3</b>	Dilución	-1	> 300	> 300	> 300	73.E+03	
		-2	> 300	> 300	> 300		
		-3	64	79	75		

\*N.C No se realizó el conteo.

<b>CONDICIÓN 4 (BIOAUMENTACIÓN)</b>							
<b>FECHA:</b> Agosto 2 DE 2011							
<b>TÉCNICA:</b> SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas							
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 4-1</b>	Dilución	-1	> 300	> 300	> 300	67E+02	
		-2	60	66	74		
		-3	< 30	< 30	< 30		
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 4-2</b>	Dilución	-1	> 300	> 300	> 300	57E+02	
		-2	58	62	52		
		-3	< 30	< 30	< 30		
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 4-3</b>	Dilución	-1	N.C	115	163	14E+02	En la primera muestra sembrada se observó crecimiento extendido.
		-2	< 30	< 30	< 30		
		-3	< 30	< 30	< 30		

\*N.C No se realizó el conteo.

**Mes 2**

<b>CONDICIÓN 1 (CONTROL)</b>							
<b>FECHA:</b> Agosto 2 DE 2011							
<b>TÉCNICA:</b> SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas							
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 1-1</b>	Dilución	-1	32	N.C	38	3.50E+02	No se realizó conteo en la muestra sembrada número 2 porque se observó crecimiento extendido y presencia de hongo algodonoso blanco.
		-2	< 30	< 30	< 30		
		-3	N.C	N.C	N.C		No se presentó crecimiento microbiológico.
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 1-2</b>	Dilución	-1	49	N.C	57	5.30E+02	No se realizó conteo en la muestra sembrada número 2 porque se observó crecimiento extendido.
		-2	N.C	N.C	N.C		No se presentó crecimiento microbiológico.
		-3	N.C	N.C	N.C		No se presentó crecimiento microbiológico.
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 1-3</b>	Dilución	-1	> 300	> 300	> 300	84E+02	
		-2	74	92	87		
		-3	< 30	< 30	< 30		

\*N.C No se realizó el conteo.

CONDICIÓN 2 (BIOVENTING)							
FECHA: Septiembre 9 de 2011							
TÉCNICA: SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas							
			Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
			1	2	3		
COLUMNA 2-1	Dilución	-1	N.C	N.C	N.C	32.E+03	Se presentó crecimiento extendido.
		-2	> 300	> 300	> 300		
		-3	27	32	37		
			Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
			1	2	3		
COLUMNA 2-2	Dilución	-1	> 300	> 300	> 300	13.E+03	
		-2	151	135	106		
		-3	< 30	< 30	< 30		
			Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
			1	2	3		
COLUMNA 2-3	Dilución	-1	> 300	> 300	> 300	16.E+03	
		-2	121	202	156		
		-3	< 30	< 30	< 30		

\*N.C No se realizó el conteo.

<b>CONDICIÓN 3 (BIOVENTING + BIOAUMENTACIÓN)</b>							
<b>FECHA:</b> Septiembre 9 de 2011							
<b>TÉCNICA:</b> SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas							
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 3-1</b>	Dilución	-2	N.C	N.C	N.C	89.E+03	Crecimiento extendido
		-3	81	93	97		
		-4	< 30	< 30	< 30		
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 3-2</b>	Dilución	-2	178	155	137	76.E+03	
		-3	67	85	N.C		En la muestra sembrada número tres se observó crecimiento extendido.
		-4	< 30	< 30	< 30		
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 3-3</b>	Dilución	-2	80	N.C	84	8.E+03	En la muestra sembrada número tres se presentó crecimiento extendido.
		-3	< 30	< 30	< 30		
		-4	N.C	N.C	N.C		No se presentó crecimiento microbiológico.

\*N.C No se realizó el conteo.

CONDICIÓN 4 (BIOAUMENTACIÓN)							
FECHA: Septiembre 9 de 2011							
TÉCNICA: SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas							
			Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
			1	2	3		
COLUMNA 4-1	Dilución	-1	N.C	N.C	N.C	81.E+02	Crecimiento extendido. En la muestra sembrada número 3 se observó desarrollo de hongo algodonoso blanco.
		-2	75	99	70		
		-3	< 30	< 30	< 30		
			Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
			1	2	3		
COLUMNA 4-2	Dilución	-1	N.C	N.C	N.C	79.E+02	Crecimiento extendido
		-2	75	73	90		
		-3	< 30	< 30	< 30		
			Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
			1	2	3		
COLUMNA 4-3	Dilución	-1	129	N.C	136	1.E+03	Crecimiento extendido en la muestra sembrada número 2.
		-2	< 30	< 30	< 30		
		-3	< 30	< 30	< 30		

\*N.C No se realizó el conteo.

**Mes 3**

<b>CONDICIÓN 1 (CONTROL)</b>							
<b>FECHA:</b> Octubre 5 de 2011							
<b>TÉCNICA:</b> SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas							
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 1-1</b>	Dilución	-1	95	143	92	11.E+02	
		-2	< 30	< 30	< 30		
		-3	N.C	N.C	N.C		No se evidencia crecimiento microbiológico
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 1-2</b>	Dilución	-1	> 300	> 300	> 300	55.E+02	
		-2	48	58	60		
		-3	< 30	< 30	< 30		
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 1-3</b>	Dilución	-1	252	253	276	26.E+02	
		-2	< 30	< 30	< 30		
		-3	N.C	N.C	N.C		No se evidencia crecimiento microbiológico

\*N.C No se realizó el conteo.

<b>CONDICIÓN 2 (BIOVENTING)</b>							
<b>FECHA:</b> Octubre 5 de 2011							
<b>TÉCNICA:</b> SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas							
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 2-1</b>	Dilución	-1	> 300	> 300	> 300	10.E+03	
		-2	113	114	77		
		-3	< 30	< 30	< 30		
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 2-2</b>	Dilución	-1	237	228	212	23.E+02	
		-2	75	63	109		
		-3	< 30	< 30	< 30		
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 2-3</b>	Dilución	-1	219	207	235	22.E+02	Se presentó desarrollo de colonia de coloración roja.
		-2	N.C	N.C	N.C		Crecimiento extendido.
		-3	< 30	< 30	< 30		Se presentó desarrollo de colonia de coloración roja.

\*N.C No se realizó el conteo.

<b>CONDICIÓN 3 (BIOVENTING + BIOAUMENTACIÓN)</b>							
<b>FECHA:</b> Octubre 5 de 2011							
<b>TÉCNICA:</b> SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas							
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 3-1</b>	Dilución	-2	> 300	> 300	> 300	25.E+04	Se observó crecimiento de colonia de color verdoso.
		-3	278	260	210		
		-4	< 30	< 30	< 30		
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 3-2</b>	Dilución	-2	> 300	> 300	> 300	205.E+04	Se observó crecimiento de colonia de color verdoso.
		-3	> 300	N.C	> 300		Crecimiento extendido en la muestra sembrada número 2.
		-4	210	196	208		
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 3-3</b>	Dilución	-2	239	212	220	22.E+03	
		-3	< 30	< 30	< 30		
		-4	< 30	< 30	< 30		

\*N.C No se realizó el conteo.

<b>CONDICIÓN 4 (BIOAUMENTACIÓN)</b>							
<b>FECHA:</b> Octubre 5 de 2011							
<b>TÉCNICA:</b> SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas							
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 4-1</b>	Dilución	-1	> 300	> 300	> 300	11.E+03	
		-2	105	118	N.C		La muestra sembrada número 3 no se pudo cuantificar debido a que se presentó crecimiento extensivo.
		-3	< 30	< 30	< 30		
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 4-2</b>	Dilución	-1	N.C	174	205	19.E+02	La muestra sembrada número 1 no se pudo cuantificar debido a que se presentó crecimiento extensivo.
		-2	< 30	< 30	< 30		
		-3	< 30	< 30	< 30		
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 4-3</b>	Dilución	-1	> 300	> 300	> 300	19.E+03	
		-2	176	183	209		
		-3	< 30	< 30	< 30		

\*N.C No se realizó el conteo.

**Mes 4**

<b>CONDICIÓN 1 (CONTROL)</b>							
<b>FECHA:</b> Noviembre 17 de 2011							
<b>TÉCNICA:</b> SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas							
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 1-1</b>	Dilución	-1	163	N.C	N.C	36.E+02	Crecimiento de colonias bacteriana en las tres muestras sembradas. En las muestras dos y tres se presentó crecimiento extendido.
		-2	N.C	40	32		En la muestra 1 sembrada se presentó desarrollo de hongo algodonoso blanco con crecimiento extensivo en la placa.
		-3	N.C	N.C	N.C		No se observó crecimiento microbiológico.
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 1-2</b>	Dilución	-1	79	87	92	9.E+02	
		-2	< 30	< 30	< 30		
		-3	< 30	< 30	< 30		
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 1-3</b>	Dilución	-1	N.C	232	224	23.E+02	En la muestra sembrada número 1 se presentó crecimiento extensivo.
		-2	< 30	< 30	< 30		
		-3	N.C	N.C	N.C		No se observó crecimiento microbiológico.

\*N.C No se realizó el conteo.

CONDICIÓN 2 (BIOVENTING)							
FECHA: Noviembre 17 de 2011							
TÉCNICA: SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas							
			Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
			1	2	3		
COLUMNA 2-1	Dilución	-1	N.C	N.C	N.C	16.E+03	Se presentó crecimiento extensivo.
		-2	N.C	153	171		En la muestra sembrada número uno se presentó crecimiento extensivo.
		-3	< 30	< 30	< 30		
			Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
			1	2	3		
COLUMNA 2-2	Dilución	-1	248	239	221	24.E+02	
		-2	< 30	< 30	< 30		
		-3	N.C	N.C	N.C		No se presentó crecimiento microbiológico.
			Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
			1	2	3		
COLUMNA 2-3	Dilución	-1	> 300	> 300	> 300	68.E+03	
		-2	> 300	> 300	> 300		
		-3	N.C	64	71		En la muestra sembrada número 1 se presentó crecimiento extendido y presencia de colonia bacteriana roja.

\*N.C No se realizó el conteo.

<b>CONDICIÓN 3 (BIOVENTING + BIOAUMENTACIÓN)</b>							
<b>FECHA:</b> Noviembre 17 de 2011							
<b>TÉCNICA:</b> SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas							
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 3-1</b>	Dilución	-2	> 300	> 300	> 300	43.E+03	
		-3	37	48	N.C		En la muestra número 3 se observó crecimiento extendido
		-4	N.C	N.C	N.C		No se observó crecimiento microbiológico.
		-5	N.C	N.C	N.C		No se observó crecimiento microbiológico.
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 3-2</b>	Dilución	-2	> 300	> 300	> 300	78.E+03	
		-3	89	67	78		
		-4	N.C	N.C	N.C		No se observó crecimiento microbiológico.
		-5	N.C	N.C	N.C		No se observó crecimiento microbiológico.
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 3-3</b>	Dilución	-2	36	45	32	38.E+02	
		-3	N.C	N.C	N.C		No se observó crecimiento microbiológico.
		-4	N.C	N.C	N.C		No se observó crecimiento microbiológico.
		-5	N.C	N.C	N.C		No se observó crecimiento microbiológico.

\*N.C No se realizó el conteo.

<b>CONDICIÓN 4 (BIOAUMENTACIÓN)</b>							
<b>FECHA:</b> Noviembre 17 de 2011							
<b>TÉCNICA:</b> SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas							
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 4-1</b>	Dilución	-1	> 300	> 300	> 300	39.E+02	
		-2	41	38	37		
		-3	N.C	N.C	N.C		No se observó crecimiento microbiológico.
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 4-2</b>	Dilución	-1	177	215	198	20.E+02	
		-2	< 30	< 30	< 30		
		-3	N.C	N.C	N.C		No se observó crecimiento microbiológico.
			<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
			1	2	3		
<b>COLUMNA 4-3</b>	Dilución	-1	> 300	> 300	> 300	96.E+02	
		-2	84	108	96		
		-3	< 30	< 30	< 30		

\*N.C No se realizó el conteo.

**- Datos Conteo Microbiano Final en Suelo por Condición**

CONDICIÓN 1 (CONTROL)								
FECHA: Noviembre 17 de 2011								
TÉCNICA: SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas								
COLUMNA 1-1				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
	ZONA ALTA	Dilución	-3	N.C	N.C	N.C	87E+05	Se presentó crecimiento extendido.
			-4	N.C	N.C	N.C		Se presentó crecimiento extendido.
			-5	91	82	89		
				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
	ZONA MEDIA	Dilución	-3	69	76	56	67.E+03	
			-4	< 30	< 30	< 30		
			-5	< 30	< 30	< 30		
			Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES	
			1	2	3			
ZONA BAJA	Dilución	-3	N.C	104	N.C	79.E+04	En las muestras sembradas 1 y 3 se presentó crecimiento extendido.	
		-4	75	83	N.C		En la muestra 3 se presentó crecimiento extendido.	
		-5	< 30	< 30	< 30			

COLUMNA 1-2				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
	ZONA ALTA	Dilución	-2	N.C	N.C	N.C	20.E+04	Se presentó crecimiento extendido.
			-3	N.C	198	205		En la muestra sembrada número 1 se presentó crecimiento extendido
			-4	< 30	< 30	< 30		
				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
	ZONA MEDIA	Dilución	-2	N.C	N.C	N.C	11.E+04	Se presentó crecimiento extendido. Se presentó desarrollo de hongo algodonoso de coloración blanca.
			-3	99	N.C	110		Se presentó crecimiento extendido en la muestra sembrada número dos.
			-4	< 30	< 30	< 30		
			Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES	
			1	2	3			
ZONA BAJA	Dilución	-2	N.C	N.C	N.C	58.E+03	Se presentó crecimiento extendido.	
		-3	68	49	56			
		-4	< 30	< 30	< 30			

<b>COLUMNA 1-3</b>				<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
				1	2	3		
	<b>ZONA ALTA</b>	Dilución	-2	N.C	N.C	N.C	33.E+03	Se presentó crecimiento extendido.
			-3	35	33	31		
			-4	< 30	< 30	< 30		
				<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
				1	2	3		
	<b>ZONA MEDIA</b>	Dilución	-2	340	N.C	N.C	46.E+03	En las muestras sembradas número dos y tres se presentó crecimiento extendido y desarrollo de hongo algodonoso de coloración blanca.
			-3	52	48	37		
			-4	< 30	< 30	< 30		
				<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
				1	2	3		
	<b>ZONA BAJA</b>	Dilución	-2	47	33	38	39.E+02	
			-3	< 30	< 30	< 30		
			-4	< 30	< 30	< 30		

CONDICIÓN 2 (BIOVENTING)								
FECHA: Noviembre 17 de 2011								
TÉCNICA: SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas								
COLUMNA 2-1				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
	ZONA ALTA	Dilución	-2	> 300	> 300	> 300	63.E+03	
			-3	73	61	56		
				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
	ZONA MEDIA	Dilución	-2	> 300	> 300	> 300	250.E+03	
			-3	268	N.C	233		En la muestra sembrada número dos se presentó crecimiento extendido
				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
	ZONA BAJA	Dilución	-2	N.C	N.C	N.C	81.E+03	Se presentó crecimiento extendido
			-3	82	86	76		

COLUMNA 2-2				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
	ZONA ALTA	Dilución	-2	N.C	N.C	N.C	49.E+03	Se presentó crecimiento extendido
			-3	42	51	55		
				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
	ZONA MEDIA	Dilución	-2	102	93	98	98.E+02	
			-3	< 30	< 30	< 30		
				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
ZONA BAJA	Dilución	-2	N.C	N.C	N.C	68.E+03	Se presentó crecimiento extendido y desarrollo de hongo algodonoso de color blanco.	
		-3	N.C	64	72		En la muestra sembrada número uno se presentó crecimiento extendido.	

COLUMNA 2-3				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
	ZONA ALTA	Dilución	-2	> 300	> 300	> 300	154.E+03	
			-3	137	156	169		
				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
	ZONA MEDIA	Dilución	-2	N.C	N.C	N.C	34.E+02	Se presentó crecimiento extendido y desarrollo de hongo algodonoso de coloración blanca.
			-3	34	31	36		
				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
ZONA BAJA	Dilución	-2	168	190	156	40.E+03		
		-3	56	72	57			

\*N.C. No se realizó el conteo.

CONDICIÓN 3 (BIOVENTING + BIOAUMENTACIÓN)								
FECHA: Noviembre 17 de 2011								
TÉCNICA: SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas								
COLUMNA 3-1				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
	ZONA ALTA	Dilución	-2	> 300	> 300	> 300	15.E+04	
			-3	149	142	151		
				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
	ZONA MEDIA	Dilución	-2	> 300	> 300	> 300	16.E+04	
			-3	172	149	154		
				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
	ZONA BAJA	Dilución	-2	N.C	N.C	N.C	90.E+03	Se presentó crecimiento extendido.
			-3	75	87	109		

COLUMNA 3-2				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
	ZONA ALTA	Dilución	-2	> 300	> 300	> 300	91.E+03	
			-3	95	89	88		
				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
	ZONA MEDIA	Dilución	-2	164	113	128	14.E+04	
			-3	N.C	N.C	N.C		Se presentó crecimiento extendido.
				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
ZONA BAJA	Dilución	-2	N.C	N.C	N.C	37.E+03	Se presentó crecimiento extendido.	
		-3	33	37	42			

COLUMNA 3-3				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
	ZONA ALTA	Dilución	-2	> 300	> 300	> 300	18.E+04	
			-3	167	189	193		
				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
	ZONA MEDIA	Dilución	-2	> 300	> 300	> 300	15.E+04	
			-3	164	155	126		
				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
ZONA BAJA	Dilución	-2	N.C	N.C	N.C	65.E+03	Se presentó crecimiento extendido.	
		-3	65	71	58			

\*N.C. No se realizó el conteo.

CONDICIÓN 4 (BIOAUMENTACIÓN)								
FECHA: Noviembre 17 de 2011								
TÉCNICA: SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas								
COLUMNA 4-1				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
	ZONA ALTA	Dilución	-2	N.C	N.C	N.C	52.E+03	Se presentó crecimiento extendido.
			-3	53	47	56		
				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
	ZONA MEDIA	Dilución	-2	41	39	45	42.E+02	
			-3	< 30	< 30	< 30		
				Número de muestras sembradas			RESULTADOS UFC	OBSERVACIONES
				1	2	3		
	ZONA BAJA	Dilución	-2	115	108	126	12.E+03	
			-3	N.C	N.C	N.C		Se presentó crecimiento extendido. Desarrollo de hongo algodonoso de coloración blanca.

<b>COLUMNA 4-2</b>				<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
				1	2	3		
	<b>ZONA ALTA</b>	Dilución	-2	35	47	39	40.E+02	
			-3	< 30	< 30	< 30		
				<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
				1	2	3		
	<b>ZONA MEDIA</b>	Dilución	-2	37	44	48	43.E+02	Se presentó desarrollo de hongo algodonoso de coloración blanca.
			-3	< 30	< 30	< 30		
				<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
				1	2	3		
	<b>ZONA BAJA</b>	Dilución	-2	38	31	42	37.E+02	
			-3	< 30	< 30	< 30		

<b>COLUMNA 4-3</b>				<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
				1	2	3		
	<b>ZONA ALTA</b>	Dilución	-2	47	40	45	44.E+02	
			-3	< 30	< 30	< 30		
				<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
				1	2	3		
	<b>ZONA MEDIA</b>	Dilución	-2	58	47	53	53.E+02	
			-3	< 30	< 30	< 30		
				<b>Número de muestras sembradas</b>			<b>RESULTADOS UFC</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
				1	2	3		
<b>ZONA BAJA</b>	Dilución	-2	N.C	N.C	N.C	42.E+03	Se presentó crecimiento extendido.	
		-3	44	42	39			
*N.C. No se realizó el conteo.								

**- Datos Crecimiento Microbiano Final en Suelo con Corrección de Humedad**

<b>CONDICIÓN 1 (CONTROL)</b>				
<b>FECHA:</b> Noviembre 17 de 2011				
<b>TÉCNICA:</b> SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas				
<b>COLUMNA 1-1</b>		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA ALTA</b>	9.E+06	0,3	<b>9.E+06</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA MEDIA</b>	67.E+03	0,3	<b>67.E+03</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA BAJA</b>	79.E+04	0,3	<b>79.E+04</b>
<b>COLUMNA 1-2</b>		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA ALTA</b>	20.E+04	0,3	<b>20.E+04</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA MEDIA</b>	11.E+04	0,3	<b>10.E+04</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA BAJA</b>	58.E+03	1,6	<b>57.E+03</b>
<b>COLUMNA 1-3</b>		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA ALTA</b>	33.E+03	0,3	<b>33.E+03</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA MEDIA</b>	46.E+03	0,3	<b>46.E+03</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA BAJA</b>	39.E+02	0,3	<b>4.E+03</b>

<b>CONDICIÓN 2 (BIOVENTING)</b>				
<b>FECHA:</b> Noviembre 17 de 2011				
<b>TÉCNICA:</b> SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas				
<b>COLUMNA 2-1</b>		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA ALTA</b>	63.E+03	13.6	<b>54.E+03</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA MEDIA</b>	25.E+04	8.5	<b>23.E+04</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA BAJA</b>	81.E+03	1.5	<b>80.E+03</b>
<b>COLUMNA 2-2</b>		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA ALTA</b>	49.E+03	10	<b>44.E+03</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA MEDIA</b>	10.E+03	2.7	<b>10.E+03</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA BAJA</b>	45.E+03	0.2	<b>45.E+03</b>
<b>COLUMNA 2-3</b>		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA ALTA</b>	15.E+04	7.5	<b>14.E+04</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA MEDIA</b>	34.E+03	1.6	<b>33.E+03</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA BAJA</b>	62.E+03	0.2	<b>62.E+03</b>

<b>CONDICIÓN 3 (BIOVENTING + BIOAUMENTACIÓN)</b>				
<b>FECHA:</b> Noviembre 17 de 2011				
<b>TÉCNICA:</b> SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas				
<b>COLUMNA 3-1</b>		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA ALTA</b>	15.E+04	8.5	<b>13.E+04</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA MEDIA</b>	16.E+04	2.5	<b>15.E+04</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA BAJA</b>	90.E+03	0.2	<b>90.E+03</b>
<b>COLUMNA 3-2</b>		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA ALTA</b>	91.E+03	11.6	<b>80.E+03</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA MEDIA</b>	14.E+04	7.5	<b>12.E+04</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA BAJA</b>	37.E+03	0.2	<b>37.E+03</b>
<b>COLUMNA 3-3</b>		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA ALTA</b>	18.E+04	9.3	<b>17.E+04</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA MEDIA</b>	15.E+04	3.5	<b>14.E+04</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA BAJA</b>	65.E+03	0.3	<b>65.E+03</b>

<b>CONDICIÓN 4 (BIOAUMENTACIÓN)</b>				
<b>FECHA:</b> Noviembre 17 de 2011				
<b>TÉCNICA:</b> SIEMBRA POR VERTIDO EN PLACA. 37°C, 48 horas				
<b>COLUMNA 4-1</b>		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA ALTA</b>	52.E+03	0.6	<b>52.E+03</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA MEDIA</b>	42.E+03	0.1	<b>42.E+03</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA BAJA</b>	12.E+04	0.3	<b>12.E+04</b>
<b>COLUMNA 4-2</b>		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA ALTA</b>	40.E+03	3.8	<b>38.E+03</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA MEDIA</b>	43.E+03	0.1	<b>43.E+03</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA BAJA</b>	37.E+03	0.4	<b>37.E+03</b>
<b>COLUMNA 4-3</b>		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA ALTA</b>	44.E+03	7.5	<b>41.E+03</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA MEDIA</b>	53.E+03	0.2	<b>53.E+03</b>
		<b>RESULTADOS UFC/g</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>RESULTADOS UFC/gss</b>
	<b>ZONA BAJA</b>	42.E+03	0.1	<b>42.E+03</b>

## ANEXO F. Análisis Estadístico para los datos del Crecimiento Microbiano

### - Conteo Inicial en Suelo y Agua

Muestra 1. Suelo sin contaminar						
Muestra 2. Suelo contaminado						
Muestra 3. Suelo contaminado inoculado						
	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de variación (%)
<b>Muestra 1</b>	85.E+06	112E+06	93.E+06	97.E+06	13868429.4	14.3466511
<b>Muestra 2</b>	21.E+06	30.E+06	20E+06	24.E+06	5501211.99	23.3762549
<b>Muestra 3</b>	163.E+04	176.E+04		170.E+04	91923.8816	5.42323785

	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de variación
<b>Agua Contaminada</b>	138E+03	146E+03	152E+03	15.E+04	7023.76917	4.83286869
<b>Agua Contaminada Inoculada</b>	203.E+04	182.E+04		193.E+04	148492.424	7.71389216

- Mes 1

<b>CONDICIÓN 1 (CONTROL)</b>						
	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coeficiente de variación</b>
<b>COLUMNA 1-1</b>	70E+02	85E+02	84E+02	80E+02	838.6497084	10.52698379
<b>COLUMNA 1-2</b>	N.C	N.C	N.C	< 30	N.C	
<b>COLUMNA 1-3</b>	77E+02	68E+02	86E+02	77E+02	900	11.68831169

<b>CONDICIÓN 2 (BIOVENTING)</b>						
	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coeficiente de variación</b>
<b>COLUMNA 2-1</b>	52.E+02	42.E+02	47.E+02	47E+02	500	10.63829787
<b>COLUMNA 2-2</b>	N.C	N.C	N.C			
<b>COLUMNA 2-3</b>	54.E+02	61.E+02	47.E+02	54E+02	700	12.96296296

<b>CONDICIÓN 3 (BIOVENTING + BIOAUMENTACIÓN)</b>						
	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coeficiente de variación</b>
<b>COLUMNA 3-1</b>	67.E+03	59.E+03	77.E+03	68.E+03	9018.499506	13.32783178
<b>COLUMNA 3-2</b>	91.E+03	124.E+03	112.E+03	11E+04	16703.29309	15.3241221
<b>COLUMNA 3-3</b>	64.E+03	79.E+03	75.E+03	73E+03	7767.453465	10.68915614

<b>CONDICIÓN 4 (BIOAUMENTACIÓN)</b>						
	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coeficiente de Variación</b>
<b>COLUMNA 4-1</b>	60.E+02	66.E+02	74.E+02	67E+02	702.3769169	10.53565375
<b>COLUMNA 4-2</b>	58.E+02	62.E+02	52.E+02	57.E+02	503.3222957	8.77887725
<b>COLUMNA 4-3</b>	N.C	1.15E+03	1.63E+03	14E+02	339.411255	24.4180759

- Mes 2

<b>CONDICIÓN 1 (CONTROL)</b>						
	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coficiente de variación</b>
<b>COLUMNA 1-1</b>	3.20E+02	N.C	3.80E+02	04E+02	42.4264069	12.1218305
<b>COLUMNA 1-2</b>	4.90E+02	N.C	5.70E+02	05E+02	28.2842712	5.33665495
<b>COLUMNA 1-3</b>	74.E+02	92.E+02	87.E+02	84.E+02	929.157324	11.0176758

<b>CONDICIÓN 2 (BIOVENTING)</b>						
	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coficiente de variación</b>
<b>COLUMNA 2-1</b>	27.E+03	32.E+03	37.E+03	32.E+03	5000	15.625
<b>COLUMNA 2-2</b>	15.E+03	14.E+03	11.E+03	13.E+03	2281.08161	17.4572573
<b>COLUMNA 2-3</b>	12.E+03	20.E+03	16.E+03	16.E+03	4062.42949	25.4431909

<b>CONDICIÓN 3 (BIOVENTING + BIOAUMENTACIÓN)</b>						
	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coficiente de variación</b>
<b>COLUMNA 3-1</b>	81.E+03	93.E+03	9.20E+04	89.E+03	6658.32812	7.50939261
<b>COLUMNA 3-2</b>	67.E+03	85.E+03		76.E+03	12727.9221	16.7472659
<b>COLUMNA 3-3</b>	8.00E+03	8.40E+03		8.E+03	282.842712	3.44930137

<b>CONDICIÓN 4 (BIOAUMENTACIÓN)</b>						
	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coficiente de variación</b>
<b>COLUMNA 4-1</b>	75.E+02	99.E+02	70.E+02	81.E+02	1550.26879	19.0606819
<b>COLUMNA 4-2</b>	75.E+02	73.E+02	90.E+02	74.E+02	929.157324	12.5561801
<b>COLUMNA 4-3</b>	13.E+02	13.E+02		13.E+02	14.1421356	1.08785659

- Mes 3

<b>CONDICIÓN 1 (CONTROL)</b>						
	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
<b>COLUMNA 1-1</b>	10.E+02	14.E+02	9.E+02	11E+02	21.2132034	1.92847304
<b>COLUMNA 1-2</b>	48.E+02	58.E+02	60.E+02	55E+02	642.910051	11.6188563
<b>COLUMNA 1-3</b>	25.E+02	25.E+02	28.E+02	26E+02	138.564065	5.3293871

<b>CONDICIÓN 2 (BIOVENTING)</b>						
	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
<b>COLUMNA 2-1</b>	1.E+04	1.E+04	77.E+02	01E+04	70.7106781	0.62300157
<b>COLUMNA 2-2</b>	24.E+02	23.E+02	21.E+02	23E+02	126.622799	5.61105463
<b>COLUMNA 2-3</b>	22.E+02	21.E+02	24.E+02	22E+02	140.475383	6.37558472

<b>CONDICIÓN 3 (BIOVENTING + BIOAUMENTACIÓN)</b>						
	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
<b>COLUMNA 3-1</b>	278.E+03	260.E+03	2.10E+05	25.E+04	35232.5607	14.1307062
<b>COLUMNA 3-2</b>	210.E+04	196.E+04	208.E+04	205.E+04	75718.7779	3.69961456
<b>COLUMNA 3-3</b>	2.39E+04	2.12E+04	2.20E+04	22.E+03	1386.84294	6.20049003

<b>CONDICIÓN 4 (BIOAUMENTACIÓN)</b>						
	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
<b>COLUMNA 4-1</b>	11.E+03	12.E+03		11.E+03	919.238816	8.24429431
<b>COLUMNA 4-2</b>	17.E+02	21.E+02		19.E+02	219.203102	11.567446
<b>COLUMNA 4-3</b>	2.E+04	2.E+04	2.09E+04	18.E+03	1738.77351	9.68676052

- Mes 4

<b>CONDICIÓN 1 (CONTROL)</b>						
	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
<b>COLUMNA 1-1</b>	N.C	40E+02	32E+02	36E+02	565.685425	15.713484
<b>COLUMNA 1-2</b>	08E+02	09E+02	09E+02	09E+02	65.5743852	7.62492852
<b>COLUMNA 1-3</b>	N.C	23E+02	22E+02	23E+02	56.5685425	2.48107643

<b>CONDICIÓN 2 (BIOVENTING)</b>						
	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
<b>COLUMNA 2-1</b>	N.C	15.E+03	17.E+03	16.E+03	1272.79221	7.85674201
<b>COLUMNA 2-2</b>	25E+02	24E+02	22E+02	24E+02	137.477271	5.82530809
<b>COLUMNA 2-3</b>	N.C	64.E+03	71.E+03	68.E+03	4949.74747	7.33295921

<b>CONDICIÓN 3 (BIOVENTING + BIOAUMENTACIÓN)</b>						
	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
<b>COLUMNA 3-1</b>	37.E+03	48.E+03	N.C	43.E+03	7778.17459	18.3015873
<b>COLUMNA 3-2</b>	89.E+03	67.E+03	78.E+03	78.E+03	11000	14.1025641
<b>COLUMNA 3-3</b>	36E+02	45E+02	32E+02	38E+02	665.832812	17.6769773

<b>CONDICIÓN 4 (BIOAUMENTACIÓN)</b>						
	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coefficiente de variación</b>
<b>COLUMNA 4-1</b>	41.E+02	38.E+02	37.E+02	39E+02	208.1666	5.38361896
<b>COLUMNA 4-2</b>	18.E+02	22.E+02	20.E+02	20E+02	190.350554	9.67884172
<b>COLUMNA 4-3</b>	84.E+02	11.E+03	96.E+02	96E+02	1200	12.5

**- Conteo Final en Suelo por Zonas de la Columna**

<b>CONDICIÓN 1</b>						
<b>COLUMNA 1-1</b>						
<b>NIVEL DE LA COLUMNA</b>	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coficiente de variación</b>
ALTO	91E+05	82E+05	89E+05	87E+05	472581.563	5.41123927
MEDIO	07E+04	08E+04	06E+04	67.E+03	10148.8916	15.1475994
BAJO	75E+04	83E+04		79.E+04	56568.5425	7.160575

<b>COLUMNA 1-2</b>						
<b>NIVEL DE LA COLUMNA</b>	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coficiente de variación</b>
ALTO	20.E+04	21.E+04		20.E+04	4949.74747	2.45645036
MEDIO	10E+04	11E+04		10.E+04	7778.17459	7.44322928
BAJO	68.E+03	49.E+03	56.E+03	58.E+03	9609.02354	16.6630466

<b>COLUMNA 1-3</b>						
<b>NIVEL DE LA COLUMNA</b>	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coficiente de variación</b>
ALTO	35.E+03	33.E+03	31.E+03	33.E+03	2000	6.06060606
MEDIO	52.E+03	48.E+03	37.E+03	46.E+03	7767.45347	17.0090222
BAJO	47E+02	33E+02	38E+02	39.E+02	709.459888	18.0371158

<b>CONDICIÓN 2</b>						
<b>COLUMNA 2-1</b>						
<b>NIVEL DE LA COLUMNA</b>	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coficiente de variación</b>
ALTO	73.E+03	61.E+03	56.E+03	63.E+03	8736.89495	13.7950973
MEDIO	27E+04	23E+04		251.E+03	24748.7373	9.87973547
BAJO	82.E+03	86.E+03	76.E+03	81.E+03	5033.22296	6.18838888

<b>COLUMNA 2-2</b>						
<b>NIVEL DE LA COLUMNA</b>	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coficiente de variación</b>
ALTO	42.E+03	51.E+03	53.E+03	49.E+03	6363.96103	13.0766323
MEDIO	10.E+03	93E+02	98E+02	98.E+02	450.924975	4.61697927
BAJO	64.E+03	72.E+03		68.E+03	5656.85425	8.31890331

<b>COLUMNA 2-3</b>						
<b>NIVEL DE LA COLUMNA</b>	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coficiente de variación</b>
ALTO	137.E+03	156.E+03	169.E+03	154.E+03	16093.4769	10.4503097
MEDIO	34.E+03	31.E+03	36.E+03	34.E+03	2516.61148	7.4750836
BAJO	17.E+03	19.E+03	16.E+03	17.E+03	1724.33562	10.0642157

<b>CONDICIÓN 3</b>						
<b>COLUMNA 3-1</b>						
<b>NIVEL DE LA COLUMNA</b>	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coficiente de variación</b>
ALTO	149.E+03	142.E+03	151.E+03	147.E+03	4725.81563	3.20756717
MEDIO	17E+04	15E+04	15E+04	158.E+03	12096.8315	7.64010413
BAJO	75.E+03	87.E+03	109.E+03	90.E+03	17243.3562	19.0885862

<b>COLUMNA 3-2</b>						
<b>NIVEL DE LA COLUMNA</b>	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coficiente de variación</b>
ALTO	95.E+03	89.E+03	88.E+03	91.E+03	4242.64069	4.67938311
MEDIO	16.E+03	11.E+03	13.E+03	14.E+03	2621.06848	19.4153221
BAJO	33.E+03	37.E+03	42.E+03	37.E+03	4509.24975	12.0783476

COLUMNA 3-3						
NIVEL DE LA COLUMNA	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de variación
ALTO	167.E+03	189.E+03	193.E+03	18.E+04	14000	7.65027322
MEDIO	164.E+03	155.E+03	126.E+03	15.E+04	19857.828	13.3872998
BAJO	65.E+03	71.E+03	58.E+03	65.E+03	6506.4071	10.0614543

CONDICIÓN 4						
COLUMNA 4-1						
NIVEL DE LA COLUMNA	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de variación
ALTO	53.E+03	47.E+03	56.E+03	52.E+03	4582.57569	8.81264557
MEDIO	41E+02	39E+02	45E+02	42E+02	305.505046	7.33212111
BAJO	12.E+03	11.E+03	13.E+03	12.E+03	907.377173	7.79980378

COLUMNA 4-2						
NIVEL DE LA COLUMNA	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de variación
ALTO	35.E+02	47.E+02	39.E+02	40.E+02	848.528137	21.0378877
MEDIO	37.E+02	44.E+02	48.E+02	43.E+02	556.776436	12.9482892
BAJO	38.E+02	31.E+02	42.E+02	37.E+02	556.776436	15.0480118

COLUMNA 4-3						
NIVEL DE LA COLUMNA	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de variación
ALTO	47.E+02	40.E+02	45.E+02	44.E+02	360.555128	8.19443472
MEDIO	58.E+02	47.E+02	53.E+02	53.E+02	550.757055	10.4574124
BAJO	44.E+03	42.E+03	39.E+03	42.E+03	2516.61148	6.03986755

**- Coeficiente de Variación entre Zonas**

<b>CONDICIÓN 1 (CONTROL)</b>						
	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coeficiente de variación</b>
<b>ZONA ALTA</b>	87E+05	20.E+04	33.E+03	30E+05	4975211.426	166.4352327
<b>ZONA MEDIA</b>	67.E+03	10.E+04	46.E+03	72.E+03	29784.56598	41.14521777
<b>ZONA BAJA</b>	79.E+04	58.E+03	39.E+02	28.E+04	439146.9357	154.7018327

<b>CONDICIÓN 2 (BIOVENTING)</b>						
	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coeficiente de variación</b>
<b>ZONA ALTA</b>	63.E+03	5.E+04	154.E+03	89.E+03	57011.69471	64.2989038
<b>ZONA MEDIA</b>	250.E+03	98.E+02	3.E+03	88.E+03	140563.4851	160.2167383
<b>ZONA BAJA</b>	8.E+04	45.E+03	39.E+02	4.E+04	38561.0819	89.0327699

<b>CONDICIÓN 3 (BIOVENTING + BIOAUMENTACIÓN)</b>						
	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coeficiente de variación</b>
<b>ZONA ALTA</b>	15.E+04	91.E+03	18.E+04	14.E+04	45280.60659	32.2664655
<b>ZONA MEDIA</b>	16.E+04	14.E+02	15.E+04	10.E+04	88821.84416	85.57017742
<b>ZONA BAJA</b>	90.E+03	37.E+03	65.E+03	64.E+03	26514.14717	41.42835495

<b>CONDICIÓN 4 (BIOAUMENTACIÓN)</b>						
	<b>Medición 1</b>	<b>Medición 2</b>	<b>Medición 3</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación Estándar</b>	<b>Coeficiente de Variación</b>
<b>ZONA ALTA</b>	52.E+03	40.E+02	44.E+02	20.E+03	27598.06757	137.0764945
<b>ZONA MEDIA</b>	42.E+02	43.E+02	53.E+02	46.E+02	608.276253	13.2233968
<b>ZONA BAJA</b>	12.E+03	4.E+03	42.E+03	19.E+03	20148.53179	104.7583975

**ANEXO G. Análisis Estadístico para los datos de Concentración de Diesel en Agua por Mes.**

**- Condición 1 (Control)**

<b>Mes 1</b>		<b>Mes 2</b>		<b>Mes 3</b>		<b>Mes 4</b>	
Media	20.156667	Media	180.13333	Media	29.8	Media	230.63333
Error típico	13.038144	Error típico	102.91364	Error típico	10.844814	Error típico	139.83717
Mediana	8.27	Mediana	114	Mediana	28.5	Mediana	123
Desviación estándar	22.582729	Desviación estándar	178.25166	Desviación estándar	18.78377	Desviación estándar	242.20509
Varianza de la muestra	509.97963	Varianza de la muestra	31773.653	Varianza de la muestra	352.83	Varianza de la muestra	58663.303
Coefficiente de asimetría	1.7123831	Coefficiente de asimetría	1.4397375	Coefficiente de asimetría	0.3099473	Coefficiente de asimetría	1.604837
Rango	40.2	Rango	337.6	Rango	37.5	Rango	447.1
Mínimo	6	Mínimo	44.4	Mínimo	11.7	Mínimo	60.9
Máximo	46.2	Máximo	382	Máximo	49.2	Máximo	508
Suma	60.47	Suma	540.4	Suma	89.4	Suma	691.9
Cuenta	3	Cuenta	3	Cuenta	3	Cuenta	3
Nivel de confianza (95.0%)	56.098608	Nivel de confianza (95.0%)	442.80166	Nivel de confianza (95.0%)	46.66147	Nivel de confianza (95.0%)	601.67079
Coefficiente de variación (%)	112.03603	Coefficiente de variación (%)	98.955398	Coefficiente de variación (%)	63.032784	Coefficiente de variación (%)	105.01738

**- Condición 2 (Bioventing)**

Mes 1		Mes 2		Mes 3		Mes 4	
Media	43.6	Media	37.6	Media	41.433333	Media	7.33
Error típico	36.700182	Error típico	21.006428	Error típico	30.783997	Error típico	5.7193444
Mediana	7.1	Mediana	17.5	Mediana	11	Mediana	3.39
Desviación estándar	63.566579	Desviación estándar	36.3842	Desviación estándar	53.319446	Desviación estándar	9.906195
Varianza de la muestra	4040.71	Varianza de la muestra	1323.81	Varianza de la muestra	2842.9633	Varianza de la muestra	98.1327
Coficiente de asimetría	1.7319737	Coficiente de asimetría	1.727283	Coficiente de asimetría	1.731715	Coficiente de asimetría	1.5066626
Rango	110.3	Rango	63.9	Rango	92.7	Rango	18.6
Mínimo	6.7	Mínimo	15.7	Mínimo	10.3	Mínimo	0
Máximo	117	Máximo	79.6	Máximo	103	Máximo	18.6
Suma	130.8	Suma	112.8	Suma	124.3	Suma	21.99
Cuenta	3	Cuenta	3	Cuenta	3	Cuenta	3
Nivel de confianza (95.0%)	157.90814	Nivel de confianza (95.0%)	90.383363	Nivel de confianza (95.0%)	132.45285	Nivel de confianza (95.0%)	24.608353
Coficiente de variación (%)	145.79491	Coficiente de variación (%)	96.766489	Coficiente de variación (%)	128.68732	Coficiente de variación (%)	135.14591

**- Condición 3 (Bioventing + Bioaumentación)**

Mes 1		Mes 2		Mes 3		Mes 4	
Media	154.36667	Media	116.96667	Media	822.03333	Media	51.033333
Error típico	73.053413	Error típico	38.965811	Error típico	791.99104	Error típico	35.050265
Mediana	125	Mediana	104	Mediana	36.1	Mediana	19.8
Desviación estándar	126.53222	Desviación estándar	67.490765	Desviación estándar	1371.7687	Desviación estándar	60.708841
Varianza de la muestra	16010.403	Varianza de la muestra	4555.0033	Varianza de la muestra	1881749.4	Varianza de la muestra	3685.5633
Coficiente de asimetría	0.9881415	Coficiente de asimetría	0.83265	Coficiente de asimetría	1.7318992	Coficiente de asimetría	1.7023588
Rango	247.9	Rango	133.1	Rango	2382	Rango	108.7
Mínimo	45.1	Mínimo	56.9	Mínimo	24	Mínimo	12.3
Máximo	293	Máximo	190	Máximo	2406	Máximo	121
Suma	463.1	Suma	350.9	Suma	2466.1	Suma	153.1
Cuenta	3	Cuenta	3	Cuenta	3	Cuenta	3
Nivel de confianza (95.0%)	314.32347	Nivel de confianza (95.0%)	167.65635	Nivel de confianza (95.0%)	3407.6624	Nivel de confianza (95.0%)	150.80912
Coficiente de variación (%)	81.968617	Coficiente de variación (%)	57.700853	Coficiente de variación (%)	166.87507	Coficiente de variación (%)	118.95919

**- Condición 4 (Bioaumentación)**

Mes 1		Mes 2		Mes 3		Mes 4	
Media	0	Media	37.993333	Media	58.233333	Media	267.16667
Error típico	0	Error típico	18.880008	Error típico	14.735709	Error típico	157.38073
Mediana	0	Mediana	36.1	Mediana	45.7	Mediana	226
Moda	0	Moda	#N/A	Moda	#N/A	Moda	#N/A
Desviación estándar	0	Desviación estándar	32.701134	Desviación estándar	25.522996	Desviación estándar	272.59142
Varianza de la muestra	0	Varianza de la muestra	1069.3641	Varianza de la muestra	651.42333	Varianza de la muestra	74306.083
Curtosis	#¡DIV/0!	Curtosis	#¡DIV/0!	Curtosis	#¡DIV/0!	Curtosis	#¡DIV/0!
Coefficiente de asimetría	#¡DIV/0!	Coefficiente de asimetría	0.259668	Coefficiente de asimetría	1.6769068	Coefficiente de asimetría	0.6640892
Rango	0	Rango	65.32	Rango	46.2	Rango	540.5
Mínimo	0	Mínimo	6.28	Mínimo	41.4	Mínimo	17.5
Máximo	0	Máximo	71.6	Máximo	87.6	Máximo	558
Suma	0	Suma	113.98	Suma	174.7	Suma	801.5
Cuenta	3	Cuenta	3	Cuenta	3	Cuenta	3
Nivel de confianza (95.0%)	0	Nivel de confianza (95.0%)	81.234119	Nivel de confianza (95.0%)	63.402637	Nivel de confianza (95.0%)	677.15463
Coefficiente de variación (%)	#¡DIV/0!	Coefficiente de variación (%)	86.070715	Coefficiente de variación (%)	43.828843	Coefficiente de variación (%)	102.03048

**ANEXO H. Análisis Estadístico para los datos de Concentración de Diesel en Suelo por Zonas por Condición**

Condición 1					
Alta		Media		Baja	
Media	1.4633333	Media	1.5666667	Media	1.37
Error típico	0.1328324	Error típico	0.0491031	Error típico	0.034641
Mediana	1.47	Mediana	1.57	Mediana	1.37
Desviación estándar	0.2300725	Desviación estándar	0.085049	Desviación estándar	0.06
Varianza de la muestra	0.0529333	Varianza de la muestra	0.0072333	Varianza de la muestra	0.0036
Coefficiente de asimetría	-0.130284	Coefficiente de asimetría	-0.176098	Coefficiente de asimetría	-1.65E-14
Rango	0.46	Rango	0.17	Rango	0.12
Mínimo	1.23	Mínimo	1.48	Mínimo	1.31
Máximo	1.69	Máximo	1.65	Máximo	1.43
Suma	4.39	Suma	4.7	Suma	4.11
Cuenta	3	Cuenta	3	Cuenta	3
Nivel de confianza (95.0%)	0.5715317	Nivel de confianza (95.0%)	0.2112734	Nivel de confianza (95.0%)	0.1490483
Coefficiente de variación (%)	15.722491	Coefficiente de variación (%)	5.4286599	Coefficiente de variación (%)	4.379562

Condición 2					
Alta		Media		Baja	
Media	0.3365667	Media	1.152	Media	1.2466667
Error típico	0.1465355	Error típico	0.2490729	Error típico	0.0497773
Mediana	0.37	Mediana	1.36	Mediana	1.23
Desviación estándar	0.2538069	Desviación estándar	0.431407	Desviación estándar	0.0862168
Varianza de la muestra	0.064418	Varianza de la muestra	0.186112	Varianza de la muestra	0.0074333
Coefficiente de asimetría	-0.582488	Coefficiente de asimetría	-1.665285	Coefficiente de asimetría	0.8373928
Rango	0.5043	Rango	0.784	Rango	0.17
Mínimo	0.0677	Mínimo	0.656	Mínimo	1.17
Máximo	0.572	Máximo	1.44	Máximo	1.34
Suma	1.0097	Suma	3.456	Suma	3.74
Cuenta	3	Cuenta	3	Cuenta	3
Nivel de confianza (95.0%)	0.6304914	Nivel de confianza (95.0%)	1.0716744	Nivel de confianza (95.0%)	0.2141744
Coefficiente de variación (%)	75.4106	Coefficiente de variación (%)	37.448524	Coefficiente de variación (%)	6.9157846

Condición 3					
Alta		Media		Baja	
Media	0.6503333	Media	1.39	Media	1.0966667
Error típico	0.0452487	Error típico	0.1628906	Error típico	0.0788106
Mediana	0.67	Mediana	1.35	Mediana	1.16
Desviación estándar	0.078373	Desviación estándar	0.2821347	Desviación estándar	0.136504
Varianza de la muestra	0.0061423	Varianza de la muestra	0.0796	Varianza de la muestra	0.0186333
Coefficiente de asimetría	-1.058109	Coefficiente de asimetría	0.6251691	Coefficiente de asimetría	-1.638409
Rango	0.153	Rango	0.56	Rango	0.25
Mínimo	0.564	Mínimo	1.13	Mínimo	0.94
Máximo	0.717	Máximo	1.69	Máximo	1.19
Suma	1.951	Suma	4.17	Suma	3.29
Cuenta	3	Cuenta	3	Cuenta	3
Nivel de confianza (95.0%)	0.1946894	Nivel de confianza (95.0%)	0.7008615	Nivel de confianza (95.0%)	0.3390947
Coefficiente de variación (%)	12.051211	Coefficiente de variación (%)	20.297462	Coefficiente de variación (%)	12.44717

Condición 4					
Alta		Media		Baja	
Media	1.2833333	Media	1.6233333	Media	1.3533333
Error típico	0.0504425	Error típico	0.0470225	Error típico	0.1353186
Mediana	1.26	Mediana	1.66	Mediana	1.26
Desviación estándar	0.0873689	Desviación estándar	0.0814453	Desviación estándar	0.2343786
Varianza de la muestra	0.0076333	Varianza de la muestra	0.0066333	Varianza de la muestra	0.0549333
Coefficiente de asimetría	1.1160821	Coefficiente de asimetría	-1.615291	Coefficiente de asimetría	1.5078085
Rango	0.17	Rango	0.15	Rango	0.44
Mínimo	1.21	Mínimo	1.53	Mínimo	1.18
Máximo	1.38	Máximo	1.68	Máximo	1.62
Suma	3.85	Suma	4.87	Suma	4.06
Cuenta	3	Cuenta	3	Cuenta	3
Nivel de confianza (95.0%)	0.2170365	Nivel de confianza (95.0%)	0.2023213	Nivel de confianza (95.0%)	0.5822287
Coefficiente de variación (%)	6.8079701	Coefficiente de variación (%)	5.0171629	Coefficiente de variación (%)	17.318617