



**UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE MONAGAS
ESCUELA DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA DE PETRÓLEO
MATURÍN / MONAGAS / VENEZUELA**

**ESTUDIO DE LA BIORREMEDIACIÓN DE UN SUELO DE SABANA
CONTAMINADA CON PETRÓLEO CRUDO APLICANDO LIXIVIADO DE
COMPOST COMO BIOESTIMULADOR**

**REALIZADO POR:
ANA MARÍA SABÍN PALMARES
ENRIQUE JOSÉ GONZÁLEZ ROSAS**

**TRABAJO ESPECIAL DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO
PARCIAL PARA OPTAR AL TÍTULO DE:
INGENIERO DE PETRÓLEO**

MATURÍN, MAYO DE 2017



**UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE MONAGAS
ESCUELA DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA DE PETRÓLEO
MATURÍN / MONAGAS / VENEZUELA**

**ESTUDIO DE LA BIORREMEDIACION DE UN SUELO DE SABANA
CONTAMINADA CON PETROLEO CRUDO APLICANDO LIXIVIADO DE
COMPOST COMO BIOESTIMULADOR**

REALIZADO POR:

**ANA MARÍA SABÍN PALMARES
ENRIQUE JOSÉ GONZÁLEZ ROSAS**

REVISADO POR:



ING. TOMÁS MARÍN

MATURÍN, FEBRERO DE 2017



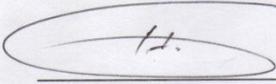
UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE MONAGAS
ESCUELA DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA DE PETRÓLEO
MATURÍN / MONAGAS / VENEZUELA

ESTUDIO DE LA BIORREMEDIACION DE UN SUELO DE SABANA
CONTAMINADA CON PETROLEO CRUDO APLICANDO LIXIVIADO DE
COMPOST COMO BIOESTIMULADOR

REALIZADO POR:
ANA MARÍA SABÍN PALMARES
ENRIQUE JOSÉ GONZÁLEZ ROSAS

APROBADO POR:


Ing. Msc. TOMAS MARÍN


Ing. Msc. JOSÉ GARCIA
Jurado Principal


Ing. CÉSAR RIVERO
Jurado Principal

MATURÍN, FEBRERO DE 2017

RESOLUCIÓN

DE ACUERDO AL ARTÍCULO 41 DEL REGLAMENTO DE TRABAJOS DE GRADO DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE:

“LOS TRABAJOS DE GRADO SON DE EXCLUSIVA PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE Y SOLO PODRÍAN SER UTILIZADOS A OTROS FINES CON EL CONSENTIMIENTO DEL CONSEJO DE NÚCLEO RESPECTIVO, QUIEN LO PARTICIPARÁ AL CONSEJO UNIVERSITARIO PARA SU APROBACIÓN”.

DEDICATORIA

Primeramente, a **Dios todopoderoso** y a la **virgen María** quienes me han guiado y protegido dándome salud, inteligencia, fortaleza y paciencia para alcanzar esta gran meta.

A mis abuelos **Juan Sabín** e **Inés Pereira** quienes están con nuestro Señor Jesucristo, pero desde el cielo guiaron cada uno de mis pasos en el transcurso de mi carrera.

A mi madre **Marbelys Palmares** por darme la vida y estar siempre a mi lado brindándome los consejos y el apoyo necesario para alcanzar este objetivo. Gracias madre, este logro es tuyo.

A mi padre **Juan Sabín** quien es un hombre responsable, trabajador y con sacrificio me ayudo a cumplir este sueño. Gracias por todo, no te falle.

A mis hermanos: **Juan Daniel, Mary cruz** y mis sobrinos: **Santiago, Sofía y Victoria** que este ejemplo los motive a seguir adelante con sus propios objetivos y les inspire a tener confianza en sí mismo porque con sacrificio y dedicación todo se puede.

A mi compañerito de vida **Roger Santoyo**, por creer en mi, por su apoyo y por estar a mi lado en todo momento.

A mi tía **Nellys** y mis **primos** por brindarme su apoyo cuando más lo necesite. Gracias, los quiero.

Ana María Sabín

DEDICATORIA

En primer lugar, agradezco a **Dios** todopoderoso, por su infinita misericordia, que a pesar de las adversidades, todo ha resultado beneficioso en este camino hacia la construcción del conocimiento. Dedico esta tesis a mis **padres**, mi **hermana** y a mi **abuela**, por todos los momentos de apoyo, amor, paciencia y comprensión. Agradezco a todos los que me apoyaron: a mí **tutor**, a mis **amigos** y **profesores** que me ayudaron a lograr esta meta.

Este proyecto no sería posible sin todas las personas que me dieron su apoyo incondicional. Fue para mí un placer conocer personas excepcionales, que dejan una huella importante en mi vida.

Enrique González

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** que siempre ha guiado mis pasos para lograr mis objetivos propuestos.

A mis **padres** porque gracias a su dedicación pude realizar este sueño.

A la **Universidad de Oriente** y todos los profesores por brindarme los conocimientos necesarios para prepararme como futura profesional.

A mi tutor el profesor **Tomas Marín** por las atenciones y el tiempo y dedicación brindado para hacer posible la elaboración de esta investigación.

Gracias a todos los que contribuyeron con mi formación personal y profesional.

Ana María Sabín

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a **Dios** todopoderoso, a mis padres, por ayudarme a cumplir esta meta, especialmente a mí padre, **Hermilo**, por sus asesorías en esta tesis, comprensión, paciencia y apoyo; a mi madre, **Elizabeth**, por sus consejos y su amor de madre incondicional; a mi **hermana** y mi **abuela** por siempre confiar en mí.

De igual forma, agradezco al profesor, **Tomás Marín**, por ser nuestro tutor y dedicar su tiempo en la realización de esta tesis. Igualmente, mis agradecimientos a la casa más alta, la **Universidad de Oriente**, por ser nuestra casa de estudio y a los profesores por ser parte de mi preparación profesional.

Enrique González

INDICE GENERAL

RESOLUCIÓN	iv
DEDICATORIA	v
INDICE GENERAL	ix
LISTA DE TABLAS	xii
LISTA DE GRÁFICA	xiii
RESUMEN	xiv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	2
EL PROBLEMA Y SUS GENERALIDADES	2
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.1.1 Objetivo General	4
1.1.2 Objetivos Específicos	4
1.2 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	4
CAPÍTULO II	6
MARCO TEÓRICO	6
2.1 ANTECEDENTES	6
2.1.1 Antecedentes Históricos	6
2.1.2 Antecedentes de la Investigación	7
2.2 BASES TEÓRICAS	9
2.2.1 Impactos ambientales de los hidrocarburos	9
2.2.2 Contaminación por hidrocarburos en suelos	10
2.2.3 Biorremediación	11
2.2.3.1 Principio básico de la biorremediación	11
2.2.3.2 Tipos de biorremediación	11
2.2.4 Proceso del compostaje	12
2.2.5 Fases del proceso de compostaje	13
2.2.5.1 Fase mesófila	13
2.2.5.2 Fase termófila	13
2.2.5.3 Fase de enfriamiento y maduración	14
2.2.6 Lixiviado de compost	14
2.2.7 Microorganismos del Compostaje	15
2.2.8 Suelos de Sabana	15
2.2.8.1 Clasificación de suelos de sabana	15
2.3 BASES LEGALES	16
2.3.1 Constitución de la República Bolivariana de Venezuela	16
2.3.2 Ley Orgánica del Ambiente (1976)	17
2.3.3 Ley Penal del Ambiente (2012)	17
2.4 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS	18
CAPÍTULO III	20

MARCO METODOLÓGICO	20
3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN	20
3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA	20
3.3 DEFINICIÓN DE VARIABLES	21
3.4 PROCEDIMIENTO METODOLÓGICO.....	21
3.4.1 Caracterización de una muestra compuesta de suelo de sabana del estado Monagas, antes y después de contaminar con crudo pesado y adicionando lixiviado de compost a la muestra contaminada.	22
3.4.1.1 Determinación de la textura de las muestras de suelo a través del método de Bouyoucos.	23
3.4.1.2 Determinación del equivalente de humedad (%H ₂ O eq) por el método de la cápsula metálica.....	25
3.4.1.3 Densidad aparente (D _a) por el método del Uhland.	26
3.4.1.4 Densidad real (D _r) por el método del picnómetro	27
3.4.1.5 Determinación de la porosidad mediante el método analítico.	28
3.4.1.6 Determinación del pH por el Método del Potenciómetro	28
3.4.1.7 Determinación de la Conductividad Eléctrica (CE) por el Método del Conductímetro	29
3.4.1.8 Determinación de la materia Orgánica por el Método del Colorímetro	29
3.4.1.9 Determinación del Aluminio Intercambiable (Al ³⁺), por El Método De Cloruro De Potasio (KCl).....	30
3.4.1.10 Determinación del Fósforo en el Suelo por el método de Bray I. ..	31
3.4.1.11 Determinación de la Capacidad de Cambio o Intercambio Iónico (CIC), por el método de acetato de amonio	32
3.4.2 Caracterización del lixiviado de compost a ser utilizado como bioestimulador.	33
3.4.3 Elaboración de ensayos para el estudio del efecto del lixiviado de compost en la reducción del contenido de aceites y grasas en las muestras de suelo contenidas con petróleo según la norma EPA 9071b.....	33
3.5 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN	35
CAPÍTULO IV	37
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	37
4.1 CARACTERIZACIÓN DE UNA MUESTRA COMPUESTA DE SUELO DE SABANA DEL ESTADO MONAGAS ANTES Y DESPUÉS DE CONTAMINAR CON CRUDO PESADO Y ADICIONANDO LIXIVIADO DE COMPOST A LA MUESTRA CONTAMINADA.	37
4.2 CARACTERIZACIÓN DEL LIXIVIADO DE COMPOST A SER UTILIZADO COMO BIOESTIMULADOR.	44
4.3 DESARROLLO DE ENSAYOS PARA EL ESTUDIO DEL EFECTO DEL LIXIVIADO DE COMPOST EN LA REDUCCIÓN DEL	

CONTENIDO DE ACEITES Y GRASAS EN LAS MUESTRAS DE SUELO CONTENIDAS CON PETRÓLEO SEGÚN LA NORMA EPA 9071B.	47
CAPÍTULO V	57
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	57
5.1 CONCLUSIONES.....	57
5.2 RECOMENDACIONES.....	58
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
APÉNDICES	65
APÉNDICE A	66
APÉNDICE B	87
APÉNDICE C	93
PORCENTAJES DE ACEITE Y GRASAS DE LAS MUESTRAS 1, 2, 3 Y 4 OBTENIDOS A TRAVÉS DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN SOHXLET	93
APÉNDICE D	96
HOJA DE METADATOS	101

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 4.1 Propiedades físicas de la muestra del suelo antes y después de contaminar con petróleo pesado y adicionando lixiviado de compost a la muestra contaminada.	37
Tabla 4.1.1 propiedades químicas de la muestra de suelo estudiada.	41
Tabla 4.3 Porcentaje de aceite y grasa (%AyG) de la muestra patrón.	48
Tabla 4.4 Porcentaje de aceite y grasa (%AyG) de la muestra 1.	48
Tabla 4.5 Análisis de mínima diferencia significativa bajo el método (LSD) de Fisher aplicado a la muestra patrón en comparación con la muestra de 15 ml.	49
Tabla 4.6 Porcentaje de aceite y grasa (%AyG) de la muestra 2.	50
Tabla 4.7 Análisis de mínima diferencia significativa a través del método (LSD) de Fisher aplicado a la muestra 2.	50
Tabla 4.8 Porcentaje de aceite y grasa (%AyG) de la muestra 3.	51
Tabla 4.9 Análisis de mínima diferencia significativa usando el método (LSD) de Fisher aplicado a la muestra 3.	52

LISTA DE GRÁFICA

Gráfica N° 1: Porcentajes de aceites y grasas (%AyG) de la muestra patrón y las muestras con contenido de lixiviado de compost como biorremediador a los 7, 14 y 21 días.	53
Gráfica N°2:Comportamiento de los porcentajes de aceites y grasas (%AyG) de la muestra patrón y las muestras con contenido de lixiviado de compost como biorremediador a los 7, 14 y 21 días.	54



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE MONAGAS
ESCUELA DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA DE PETRÓLEO
MATURÍN / MONAGAS / VENEZUELA

AUTORES:

Ana María Sabin Palmares

Enrique José González Rosas

Maturín, febrero de 2017

Asesor Académico:

Ing. Msc. Tomás Marín

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo principal el estudio de la biorremediación de un suelo de sabana contaminado con petróleo crudo pesado aplicando lixiviado de compost como bioestimulador. En primer lugar, se realizaron tres caracterizaciones del suelo: la primera antes de contaminar, la segunda, después de contaminado el suelo y finalmente aplicando lixiviado de compost al suelo contaminado con crudo. Igualmente, se determinaron las propiedades del lixiviado de compost. De igual manera, se les calculó el porcentaje de aceites y grasas siguiendo la norma EPA 9071b, una vez aplicado las concentraciones de lixiviado de compost (15 ml, 30 ml y 45ml) a las muestras contaminadas con crudo por un periodo de siete, catorce y veintidós días. Seguidamente, se aplicó un contraste múltiple de rango basado en la mínima diferencia significativa. A partir del desarrollo de la investigación se concluyó que los valores de porcentaje de aceites y grasas se redujeron significativamente en las primeras dos semanas, sin embargo en la tercera semana se obtuvo mayor reducción, obteniendo más eficacia a mayor concentración (45 ml).

Descriptor: biorremediación, sabana, crudo, lixiviado de compost, porcentaje de aceites y grasas, suelo contaminado.

INTRODUCCIÓN

La industria petrolera representa una de las principales actividades económicas a nivel mundial y su desarrollo constituye un soporte energético para los países industrializados y una fuente de ingresos fundamental para los países exportadores de petróleo como Venezuela. Su gran importancia económica le ha dado a la industria de los hidrocarburos de petróleo un alto nivel de desarrollo; sin embargo, asociado a los procesos de exploración, extracción, transporte y refinación se pueden producir daños ambientales ocasionados por derrames de petróleo.

Así, la biorremediación como una de las tecnologías de remediación de más uso en las últimas décadas, la cual se refiere al aprovechamiento de las capacidades de sistemas biológicos, principalmente microorganismos (bacterias, protozoarios y hongos), para eliminar, disminuir, transformar o estabilizar contaminantes orgánicos e inorgánicos depositados en los suelos, reduciendo así su impacto ambiental (Frick y col., 1999; Vidali, 2001; Margesin y Schinner, 2001).

La presente investigación tiene como finalidad el estudio de la biorremediación de un suelo de sabana contaminada con petróleo crudo aplicando lixiviado de compost que no es más que una mezcla de materia orgánica estabilizada que puede aportar a los suelos microorganismos beneficiosos que mejoren la actividad microbiana del mismo, además es una técnica económicamente viable para la solución de problemas ambientales

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA Y SUS GENERALIDADES

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La contaminación debida a la explotación petrolífera desencadena serios daños al medio ambiente, en la mayor parte de los casos la contaminación por el crudo se debe a defectos de diseño, mantenimiento y gestión. La contaminación ocasionada por la extracción del petróleo, son relativamente irremediables, dado que los procesos de descontaminación no alcanzan a cubrir todas las áreas afectadas y se realizan mucho tiempo después de que el crudo ha contaminado el suelo.

La contaminación por petróleo se produce por su liberación accidental o intencionada en el ambiente, provocando efectos adversos sobre el medio ambiente, en forma directa o indirecta, tal situación se presenta en los suelos de sabana de Venezuela. En el estado Monagas, los suelos también han sido afectados por las actividades relacionadas a la extracción de hidrocarburos debido a que esta zona posee importantes reservas de petróleo, en sus mesas y planicies. En donde, la explotación petrolera se ha efectuado por muchos años, originando la degeneración en gran parte de estos suelos por los efectos contaminantes producto de las actividades generadas.

Para Greco (1991) “el daño a los suelos sólo es una parte del daño causado por las perforaciones petroleras y que lamentablemente la sociedad actual depende del petróleo debido a la falta de otra fuente efectiva de energía” (P.2). Ante esta situación de biodegradación de los suelos en donde se realizan perforaciones petroleras y extracción de los mismos se hace necesario la incorporación de recursos y medios para de esta forma contribuir con la biorremediación de los suelos de sabana en

Venezuela. En la actualidad se cuenta con el lixiviado de compost, lo cual consiste básicamente una mezcla de materia orgánica estabilizada (compost) y agua. Buechel (2015) sobre el lixiviado de compost afirma que:

“El lixiviado de compost no es un concepto nuevo en la agricultura u horticultura, los beneficios del lixiviado de compost son muy similares a aquellas para el caso del compost, con la ventaja de que se puede rociar sobre los cultivos o usarse para remojar el suelo o los sustratos” (P.1).

El uso de lixiviado de compost es beneficioso para las actividades microbianas del suelo, lo cual estimula su biorremediación.

“El uso de lixiviado de compost presenta innumerables beneficios, dentro de los cuales se destacan: estimula la diversidad y actividad microbiana en el suelo, mejorando su estructura, la porosidad total, penetración del agua y crecimiento de las raíces de las plantas. Entre otros beneficios se destaca, la formación de humus, complejo más estable de la materia orgánica que se encuentra sólo en el suelo y que es el responsable de su fertilidad natural” (Gutiérrez et al., 2007).

Por lo antes expuesto, surge la siguiente interrogante: ¿De qué manera se pretende dar respuesta a las necesidades de recuperación de los suelos de sabana del estado Monagas, producto de la arremetida producida por la industria petrolera en los suelos de este estado venezolano? Considerando estos planteamientos, surge el propósito de la presente investigación, el cual está dirigido al estudio de la biorremediación de un suelo de sabana contaminada con petróleo crudo aplicando lixiviado de compost como bioestimulador para dar respuestas a las necesidades de la investigación y mejoras en los suelos para su uso y producción.

1.2 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION

1.2.1 Objetivo General

Estudiar la biorremediación de un suelo de sabana contaminada con petróleo crudo del Estado Monagas aplicando lixiviado de compost como bioestimulador.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar una muestra compuesta de suelo de sabana del estado Monagas, antes y después de contaminar con crudo pesado y adicionando lixiviado de compost a la muestra contaminada.
- Caracterizar el lixiviado de compost a ser utilizado como bioestimulador.
- Desarrollar ensayos para el estudio del efecto del lixiviado de compost en la reducción del contenido de aceites y grasas en las muestras de suelo contenidas con petróleo según la norma EPA 9071b.

1.3 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

En la actualidad se realizan investigaciones sobre recuperación de suelos contaminados con crudos aplicando tecnologías limpias, una de las modalidades más utilizadas por estas, es la biorremediación vía landfarming o composting, esta tecnología se basa en la premisa de que un gran porcentaje de los componentes del hidrocarburo son biodegradables en la naturaleza, además de presentar varias ventajas potenciales sobre las tecnologías convencionales, como menor costo, son menos intrusivos en el sitio contaminado, más respetuosas del medio ambiente en términos de sus productos finales y requieren de un mínimo o ningún tratamiento posterior.

La biorremediación surge de la necesidad de reducir el impacto ambiental negativo de los derrames de hidrocarburos en los suelos los cuales son difíciles de degradar, de gran tamaño y de cadenas complejas, son persistentes en el ambiente degradando la calidad del suelo y el desarrollo normal de las plantas y los microorganismos, es por ello que estos hidrocarburos deben ser removidos o su concentración debe ser reducida del ambiente a través del uso de diversos microorganismos hasta obtener compuestos menos tóxicos.

La investigación considerara la tecnología de biorremediación aplicando lixiviado de compost como bioestimulador, contribuyendo así a la disminución de los impactos negativos a los recursos naturales, generados por la actividad petrolera. Cabe destacar que según la Constitución de la República Bolivariana de Venezuela, es un derecho de cada generación proteger y mantener el ambiente en beneficio de sí misma y el mundo futuro, según indica el artículo 127.

Este trabajo está orientado en dar respuestas a las necesidades de recuperación de los suelos de sabana del estado Monagas, proponiendo la tecnología de biorremediación usando como estrategia la bioestimulación, como una alternativa para solucionar los graves problemas ambientales, producto de la arremetida producida por la industria petrolera de este estado venezolano.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES

2.1.1 Antecedentes Históricos

A mediados del siglo XX se desarrollaron las primeras investigaciones encaminadas a estudiar el potencial de los microorganismos para biodegradar contaminantes (Salazar, M., 2014). Este “uso” intencionado recibió entonces el nombre de biorremediación ("bioremediation").

Dentro de las primeras técnicas para la remediación de los suelos se usó el "landfarming". Salazar (2014) cita a Smith et al., (2001), sobre esta técnica:

“Las primeras técnicas que se aplicaron fueron similares al "landfarming" actual y sus actores, lógicamente, compañías petrolíferas. Las primeras patentes, fundamentalmente para remediación de vertidos de gasolina, aparecen en los años 70. En los años 80 se generalizó el uso del aire y peróxidos para suministrar oxígeno a las zonas contaminadas mejorando la eficiencia de los procesos degradativos. Durante los años 90 el desarrollo de las técnicas de "air sparging" (burbujeo de oxígeno) hizo posible la biorremediación en zonas por debajo del nivel freático. Paralelamente, se desarrollaron métodos de ingeniería que mejoraron los rendimientos de las técnicas más populares para suelos contaminados ("landfarming", "composting", etc.)” (P. 5).

“El arte de compostaje es muy antiguo y sus principios básicos han sido apreciados y usados a lo largo de los siglos aunque con distinta intensidad según la situación económica y social de la época” (Mishra et al., 2003). “Consiste en el apilamiento de diferentes tipos de residuos urbanos, restos de cosecha, excrementos de animales entre otros, con el fin de obtener un producto aprovechable para el suelo” (Acuña, 2003). Según Smith et al. (2001) sobre los suelos afirma que:

Últimamente ha vuelto a recuperarse debido al crecimiento desmesurado de la generación de residuos, problemas de suelos pobres en materia orgánica, falta de espacio para ubicar vertederos y medidas ambientales más restrictivas que afectan tanto a la prohibición de que cierto tipo de residuos orgánicos vayan al vertedero como a la necesidad de reducir las emisiones de CO₂ “ (P. 205).

2.1.2 Antecedentes de la Investigación

Salazar M. y Díaz F. (2016), realizaron un trabajo de investigación para optar al título de ingeniero de petróleo presentado en la Universidad de Oriente titulado: “Evaluación de tratamientos de remediación de un suelo contaminado con petróleo pesado combinando lavado con extracto de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) y biopila aireada” con el objeto de estudiar el efecto combinado del lavado con una solución a base de cáscaras de naranja y del aireado socavado con biopila sobre una matriz contaminada con crudo pesado. A partir de los resultados la disminución total del crudo logró llegar hasta un 0,82% para tasar una supresión total de 46,32 ml (43,08 g), representando un 23,16% del crudo inicialmente inyectado y un 25,5% del crudo total extraído.

Arismendi J. y Guzmán D.(2015), desarrollaron un trabajo de investigación para optar al título de ingeniero de petróleo presentado en la Universidad de Oriente titulado: “Estudio del efecto del contenido de materia orgánica sobre la capacidad de biorremediación por atenuación natural de un suelo contaminado con petróleo”, con el objeto de estudiar el efecto del contenido de materia orgánica sobre la capacidad de biorremediación por atenuación natural, con base en el monitoreo del porcentaje de aceite y grasas del suelo. A partir de los resultados obtenidos se determinó que los incrementos en el contenido de materia orgánica tipo compost como tratamiento biorremediador no originaron reducciones estadísticamente significativas en el porcentaje de aceite y grasas, concluyendo que el proceso de biorremediación no fue exitoso para los ensayos realizados.

Buendia, H. (2012), en su tesis para optar al grado de Magister en geografía mención: Ordenamiento y Gestión ambiental, titulado: “Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante compost de aserrín y estiércoles” y presentado en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, realizó su investigación utilizando muestras de suelos contaminados por hidrocarburos tratados con compost de aserrín y estiércol, el cual demostró que los resultados obtenidos utilizando una dosificación combinada de estiércol y aserrín en promedio disminuyó un 22,5 %, empleando solo estiércol disminuyó solo 16,5 %, mientras que usando aserrín, solo un 9,6% por lo que concluyó en su investigación que el método más eficiente para la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos fue el que utiliza una combinación de compost de aserrín y estiércol, el cual aportó mejores resultados durante el tratamiento.

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1 Impactos ambientales de los hidrocarburos

En la actividad petrolera, las disposiciones y el manejo habitual de hidrocarburos y combustibles, en algunos casos conlleva a la contaminación del ambiente cuando tanques, oleoductos y diversas instalaciones sufren daños. Los fluidos migran hacia el suelo, subsuelo y hacia el agua subterránea o superficialmente hacia un bajo topográfico o curso de agua, sus componentes volátiles van hacia la atmósfera. No solo las contaminaciones se producen por roturas de los sistemas de almacenaje o de transporte, sino que el mal manejo del producto puede provocar impactos negativos en la ecología regional (Vasallo, J., y Herrera, D., 2002).

El petróleo en el suelo, que pasa a considerarse como un contaminante, se convierte en un riesgo para la salud humana y el ecosistema. En algunos casos, la contaminación no solo provoca problemas de toxicidad, sino que además puede ocasionar grandes riesgos de explosiones y/o incendios. La industria petrolera en su conjunto ha tenido un gran impacto negativo en materia ambiental. Debido a la amplia gama de productos derivados del petróleo que se manejan y que no ha sido posible evaluar cuantitativamente la contaminación involucrada desde la fase de explotación hasta la obtención de los petroquímicos básicos, ni del seguimiento a la infraestructura petrolera, esta se integra por:

- Pozos de explotación.
- Baterías de separación.
- Complejos procesadores de gas.
- Centrales de almacenamiento y bombeo.

- Redes de ductos y piletas para el confinamiento de desechos sólidos y líquidos procedentes de la perforación y mantenimiento de los pozos.
- Transporte y distribución en general.
- Estaciones de servicio de combustible.

Estas instalaciones poseen riesgos inherentes de fugas de petróleo, diesel y gasolina por roturas de los ductos, por filtración de aguas aceitosas, por daños en las estructuras de almacenamiento y transporte, por malas prácticas, entre otras, generando un riesgo a nivel de la contaminación ambiental e impactos negativos a los ecosistemas (Vasallo, J., y Herrera, D., 2002).

2.2.2 Contaminación por hidrocarburos en suelos

Los derrames de petróleo y sus derivados han provocado a nivel mundial una contaminación de suelos de proporciones todavía incalculables, no solo por la contaminación provocada al medio ambiente sino porque los hidrocarburos están constituidos por compuestos tóxicos para los seres vivos ya que estos son cancerígenos y mutagénicos.

La contaminación por hidrocarburos tiene un efecto perjudicial en el suelo, cambiando sus propiedades físicas, químicas y biológicas con efectos momentáneos o duraderos dependiendo de la concentración y del tiempo de contacto del suelo con el contaminante, lo que tardaría o impediría el crecimiento de la vegetación y por ende de la vida en el lugar afectado (Toledo, B., 2009).

2.2.3 Biorremediación

La biorremediación es una tecnología que utiliza el potencial metabólico de los microorganismos (fundamentalmente bacterias, pero también hongos y levaduras) para transformar contaminantes orgánicos en compuestos más simples poco o nada contaminantes, y, por tanto, se puede utilizar para limpiar terrenos o aguas contaminadas (Glazer y Nikaido, 1995).

2.2.3.1 Principio básico de la biorremediación

Básicamente la biorremediación consiste en la destrucción de la cadena hidrocarburada, convirtiendo esto en un agente no tóxico como dióxido de carbono, agua y biomasa. Este proceso ocurre bajo la siguiente formulación:

Hidrocarburo + microorganismos + nutrientes + O₂ => CO₂ + H₂O + biomasa.

2.2.3.2 Tipos de biorremediación

La biorremediación dependiendo las necesidades y características del problema se subdivide en varias metodologías (Velasco y Volke, 2002):

- **Bioaireación:** consiste en estimular la biodegradación natural de los contaminantes de forma pasiva estimulando la actividad microbiana a través de gases como el metano y oxígeno. Se utiliza principalmente para tratar suelos orgánicos semivolátiles o no volátiles.
- **Bioestimulación:** esta estrategia radica en adicionar soluciones acuosas que contengan nutrientes como el nitrógeno y fosforo para mejorar la biodegradación de contaminantes orgánicos o para la inmovilización de los

inorgánicos. se aplica en suelos contaminados con pesticidas y se han comprobado buenos resultados con desechos de municiones.

- **Bioaumentación:** esta técnica se aplica cuando los microorganismos de la micro flora son insuficientes para degradar los contaminantes y cuando se requiere el tratamiento inmediato del sitio contaminado, consiste en la adición de una alta concentración de microorganismos vivos capaces de degradar los contaminantes. Se ha usado para tratar suelos contaminados con insecticidas, herbicidas y con desechos con altas concentraciones de metales.
- **Biolabranza:** consiste en mezclar el suelo contaminado periódicamente con los nutrientes por medio del arado del mismo para favorecer la aireación, para optimizar la degradación las condiciones del suelo deben ser registradas constantemente. Se ha tratado con éxito los contaminantes como el diesel, los aceites, gasolina, algunos pesticidas.
- **Compostaje:** es un proceso biológico por medio del cual se trata los suelos contaminados mezclándolos con elementos orgánicos sólidos como paja, aserrín, estiércol y desechos agrícolas para regular la cantidad de nutrientes, aumentar la generación del calor y la aereación.

2.2.4 Proceso del compostaje

El compost se forma por la acción de millones de organismos y microorganismos denominados descomponedores. Estos degradan la materia orgánica hasta convertirla en un compuesto asimilable por las plantas. No todos operan de la misma forma ni en el mismo momento, sino que cada uno entra en juego en las distintas fases del proceso de compostaje, dependiendo del estado de los materiales orgánicos, de la humedad y de la temperatura (Márquez y Urquiaga, 2005).

2.2.5 Fases del proceso de compostaje

2.2.5.1 Fase mesófila

Salazar (2014) cita a Ryckeboer et al. (2003) sobre la fase del compostaje para la obtención del lixiviado.

“Investigaciones realizadas por Ryckeboer et al. (2003) señalan que la fase mesófila es la parte más dinámica del compostaje en la que se incrementa rápidamente la temperatura de 10 a 40°C. El pH experimenta amplias variaciones y se degradan los compuestos orgánicos más simples. Inicialmente los sustratos están a temperatura ambiente y comienzan a actuar bacterias y hongos mesófilos y termotolerantes que utilizan rápidamente sustancias carbonadas solubles y de fácil degradación, como azúcares y aminoácidos, ocasionando una disminución del pH, debido a la producción de ácidos orgánicos.”

Salazar (2014) cita a FAO (2012) sobre la fase del compostaje para la obtención del lixiviado en la fase termófila.

2.2.5.2 Fase termófila

“Dependiendo del material de partida y de las condiciones ambientales, el proceso puede durar entre una semana, en sistemas acelerados y uno o dos meses en sistemas de fermentación lenta. Como consecuencia de la intensa actividad de las bacterias y el aumento de la temperatura alcanzando en la pila de residuos, provoca la aparición de organismos termófilos bacterias y hongos. Estos organismos actúan a temperaturas entre 60 y 70 °C, produciendo una rápida degradación de la materia. La

temperatura alcanzada durante esta fase del proceso garantiza la higienización y eliminación de gérmenes patógenos, larvas y semillas. Pasado este tiempo disminuye la actividad biológica y se estabiliza el medio” (FAO, 2012).

2.2.5.3 Fase de enfriamiento y maduración

Salazar (2014) cita Bohorquez y Losada (2004) a sobre la fase del compostaje para la obtención del lixiviado.

“Bohorquez y Losada (2004) indican que cuando la temperatura es menor de 60 °C, reaparecen los hongos termófilos que reinvaden el mantillo y descomponen la celulosa. Al bajar de 40 °C los mesófilos también reinician su actividad y el pH del medio desciende ligeramente.

Cuando prácticamente la totalidad de la materia orgánica se ha transformado, la temperatura empieza a disminuir, el calor que se genera al interior de la pila es menor que el que se pierde. Como consecuencia de este descenso de temperatura bacterias y hongos, mesófilos acometen el compost y degradan la celulosa y la lignina restantes.”

2.2.6 Lixiviado de compost

Los lixiviados de compost se obtienen de la adición de agua al compost aeróbico maduro, de donde resulta un líquido oscuro e inodoro, que posee nutrientes solubles y microorganismos benéficos. Este tipo de producto se diferencia de los extractos de compost, que provienen de la mezcla fermentada que se obtiene de colocar en un saco el material y este a su vez en un recipiente de agua durante una a dos semanas; su primer beneficio es como fertilizante líquido. Asimismo, se distinguen del té de compost, que se obtiene al colocar material maduro de compost

en agua, a través de una oxigenación continua, para recoger un extracto alimentado con una fuente energética, que permite el crecimiento de microorganismos benéficos (Larco, E., 2004).

2.2.7 Microorganismos del Compostaje

Negro et al. (2000) indican que el compostaje, es un proceso dinámico en el que se producen una serie de cambios físicos y químicos debido a la sucesión de complejas poblaciones microbianas. Al comienzo del compostaje el material se encuentra a temperatura ambiente y la flora mesófila presente en los materiales orgánicos empieza a desarrollarse utilizando los hidratos de carbono y proteínas más fácilmente asimilables. La hidrólisis y asimilación de polímeros por los microorganismos es un proceso relativamente lento, por tanto, la generación de calor disminuye hasta alcanzar la temperatura ambiente, alrededor de los 40°C y los organismos mesófilos actinomicetos, hongos y bacterias mesófilas, reemprenden su actividad.

2.2.8 Suelos de Sabana

Marcano (2009) define los suelos de sabanas como praderas tropicales que generalmente presentan algunos árboles dispersos, de igual manera los clasifica como frecuentemente ácidos y rojizos.

2.2.8.1 Clasificación de suelos de sabana

Tamayo (1964) clasifica las diferentes tipos de sabanas de Venezuela como:

- **Sabana enarbolada:** son sabanas sin árboles y arbustos pero muchas herbáceas y gramíneas, lo que da características de “pastizal”.
- **Sabana arbolada:** posee hierbas y árboles dispersos de poco tamaño y tronco retorcido.
- **Sabana húmeda (morichales):** formadas por especies arbustivas y herbáceas donde predomina la palma de moriche, la cual crece a orillas de los ríos.
- **Sabana boscosa:** son aquellas que están constituidas por hierbas, arbustos y árboles con predominio de éste último.

2.3 BASES LEGALES

En Venezuela, el Derecho Ambiental tiene bases sólidas definidas dentro de la Constitución de la República Bolivariana de Venezuela (1999), en esta se establecen los derechos y deberes de los diferentes sectores de la sociedad en relación al uso, la conservación y la defensa de los recursos naturales y el ambiente incluyéndolos dentro del proceso de formulación de políticas que rigen el desarrollo de nuestro país.

2.3.1 Constitución de la República Bolivariana de Venezuela

La Constitución de la República Bolivariana de Venezuela desarrolla un Capítulo Especial a los Derechos Ambientales (CAPÍTULO IX), en el cual en su art. 127 establece lo siguiente:

“Es un derecho y un deber de cada generación proteger y mantener el ambiente en beneficio de sí misma y del mundo futuro. Toda persona tiene derecho individual y colectivamente a disfrutar de una vida y de un ambiente seguro, sano y ecológicamente equilibrado. El Estado protegerá el ambiente, la diversidad biológica, genética, los procesos ecológicos, los parques nacionales y monumentos naturales y

demás áreas de especial importancia ecológica. El genoma de los seres vivos no podrá ser patentado, y la ley que se refiera a los principios bioéticos regulará la materia”.

“Es una obligación fundamental del Estado, con la activa participación de la sociedad, que garantizará que la población se desenvuelva en un ambiente libre de contaminación, en donde el aire, el agua, los suelos, las costas, el clima, la capa de ozono, las especies vivas, sean especialmente protegidas de conformidad con la ley”.

2.3.2 Ley Orgánica del Ambiente (1976)

Esta ley fue creada en 1976, en Gaceta Oficial N° 31.004, tiene por objeto establecer los principios rectores con la finalidad de proteger el ambiente de una política de desarrollo integral de la nación para la conservación y mejoramiento del ambiente en beneficio de la calidad de vida, esta ley exige la inclusión del impacto ambiental en la planificación de proyectos, regulando las actividades que puedan generar un daño al medio, mediante el Ministerio del Poder Popular para el Ambiente (MPPA), que también ejerce el control de las actividades de energía, minería y producción de hidrocarburos.

2.3.3 Ley Penal del Ambiente (2012)

La Ley Penal del Ambiente (LPA) tiene como objetivo tipificar cuáles son considerados delitos ambientales y así mismo establece las medidas precautelativas, de restitución y de reparación a que haya lugar, además establece las sanciones penales correspondientes a tales delitos y también crea sistemas de medidas precautelativas de restitución y reparación para disminuir los daños ambientales.

2.4 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

Bacterias: las bacterias son organismos unicelulares muy pequeños y relativamente sencillos, cuyo material genético no está rodeado por una membrana nuclear especial, por ello se llama procariotas (Granados, R. y Villaverde, M., 2003).

Compostaje: es un proceso biológico por medio del cual se trata los suelos contaminados mezclándolos con elementos orgánicos sólidos como paja, aserrín, estiércol y desechos agrícolas para regular la cantidad de nutrientes, aumentar la generación del calor y la aereación. Este proceso se utiliza principalmente en el tratamiento de residuos sólidos municipales, domésticos, de agricultura y fangos de depuradoras.

Microorganismos: son organismos dotados de individualidad que presentan, a diferencia de las plantas y los animales, una organización biológica elemental. En su mayoría son unicelulares, aunque en algunos casos se trate de organismos cenóticos compuestos por células multinucleadas, o incluso multicelulares (Ganten, Deichmann y Thilo., 2004).

Petróleo: El petróleo es un líquido oleoso compuesto de carbono e hidrógeno y se encuentra en profundidades que varían entre los 600 y los 5.000 metros, pero también es un recurso natural no renovable, de éste se extraen diversos productos, tales como: propano, butano, gasolina, querosene, gasóleo, aceites lubricantes, asfaltos y carbón de coque (Terrones., 2012).

Sabana: llanura, en especial si es muy dilatada y no tiene vegetación arbórea. (RAE).

Suelo: El suelo está compuesto por minerales, materia orgánica, diminutos organismos vegetales y animales, aire y agua. Es una capa delgada que se ha formado

muy lentamente, a través de los siglos, con la desintegración de las rocas superficiales por la acción del agua, los cambios de temperatura y el viento. Las plantas y animales que crecen y mueren dentro y sobre el suelo son descompuestos por los microorganismos, transformados en materia orgánica y mezclados con el suelo. (FAO, 2016)

Toxicidad: es la actividad toxica, concreta y específica, vinculada a la estructura química de una sustancia exógena al organismo por su interacción con moléculas endógenas (Bello J. y López, A. 2001).

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

La investigación desarrollada es del tipo explicativa, ya que a través de ésta se pueden estudiar los resultados obtenidos en los procedimientos experimentales, donde se pretende caracterizar una muestra compuesta de suelo de sabana y determinar el lixiviado de compost a ser utilizado como bioestimulador, para de esta manera realizar ensayos sobre el estudio del efecto del lixiviado de compost en la reducción del contenido de aceites y grasas en la muestra de suelo según la norma EPA 9071 b. De acuerdo con lo anteriormente planteado, Fidias A. (2006) indica que:

La investigación explicativa se encarga de buscar el porqué de los hechos mediante el establecimiento de las relaciones causa-efecto. En este sentido, los estudios explicativos pueden ocuparse tanto de la determinación de las causas (investigación post facto), como de los efectos (investigación experimental), mediante la prueba de hipótesis. Sus resultados constituyen el nivel más profundo de conocimientos (p. 26).

3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

Arias (2006), define la población como: “El conjunto de elementos con características comunes que son objetos de análisis y para los cuales serán válidas las conclusiones de la investigación” (pág. 110). En esta investigación la población estará representada por un suelo de sabana del Estado Monagas contaminado con petróleo crudo aplicando lixiviado de compost como bioestimulador.

Arias (2006), define la muestra como: “La muestra es un subconjunto representativo y finito que se extrae de la población accesible” (pág. 83). Para la muestra de esta investigación se consideraran 4 unidades experimentales, la primera unidad estará constituida de una muestra original cuyo contenido será un kilogramo (500 gr) de arena contaminada con cien mililitros (50ml) de petróleo crudo pesado, para la segunda, tercera y cuarta muestra se maneja la misma concentración de la muestra original mencionada anteriormente pero con la adición de lixiviado de compost como método de biorremediación por bioestimulación tipo lixiviado de compost de 15 ml, 30 ml y 45 ml respectivamente.

3.3 DEFINICIÓN DE VARIABLES

Según Fidias A. (2006), define variable de la siguiente manera: “es una característica o cualidad; magnitud o cantidad, que puede sufrir cambios, y que es objeto de análisis, medición, manipulación o control en una investigación” (p57); en este trabajo de investigación la variable dependiente estará representada por el porcentaje de aceites y grasas (%AyG) presentes en el suelo de sabana contaminado con la muestra de crudo. Las variables independientes corresponden a las dosis de lixiviado de compost empleadas para biorremediar el suelo contaminado con petróleo crudo pesado (0, 15, 30 y 45 ml).

3.4 PROCEDIMIENTO METODOLÓGICO

A continuación se presenta la metodología mediante la cual se desarrolló el estudio de la biorremediación de un suelo de sabana contaminada con petróleo crudo aplicando lixiviado de compost como bioestimulador.

3.4.1 Caracterización de una muestra compuesta de suelo de sabana del estado Monagas, antes y después de contaminar con crudo pesado y adicionando lixiviado de compost a la muestra contaminada.

En esta primera etapa de la investigación se procedió a la selección del terreno para la toma de matriz del suelo a contaminar, ubicado en el sector Orocual, Estado Monagas en las siguientes coordenadas $8^{\circ}59'37.8''N$ / $62^{\circ}20'52.1''W$. Luego, se realizó la toma de muestra de suelo la cual fue de aproximadamente 1 kg cada una, para un total de 3kg, las cuales fueron tomadas con una pala a profundidad de 20 cm y colocadas en envases de vidrio previamente esterilizados. Posteriormente, las muestras fueron trasladadas al laboratorio de suelos de la Universidad de Oriente, núcleo de Monagas para su caracterización.

Para la caracterización de las propiedades físicas y químicas de las muestras compuestas de suelo de sabana antes y después de ser contaminada con la muestra de petróleo crudo el cual fue caracterizado inicialmente (ver apéndice A, A.11) y adicionando lixiviado de compost a la muestra contaminada. Las pruebas físicas consideraron:

- Textura por el método de Bouyoucos.
- Equivalente de humedad (%H₂O eq) por el método de la cápsula metálica.
- Densidad aparente (D_a) por el método del Umland.
- Densidad real (D_r) por el método del picnómetro.
- Porosidad por el método analítico.

De igual manera, las pruebas químicas efectuadas a la muestra de suelo de Sabana antes y después de ser contaminada con la muestra de petróleo y adicionando lixiviado de compost a la muestra contaminada apreciaron:

- pH por el método del potenciómetro
- Conductividad eléctrica por el método del conductímetro
- Materia Orgánica por el Método del Colorímetro
- Aluminio intercambiable (Al^{3+}) por el método de cloruro de potasio (KCl)
- Fósforo en el Suelo por el método de Bray I
- Capacidad de cambio o intercambio iónico (CIC), método acetato de amonio a pH 7.

Estas propiedades fueron determinadas a través del seguimiento de procedimientos del laboratorio de suelos y normativas EPA (Environmental Protection Agency, por sus siglas en inglés).

3.4.1.1 Determinación de la textura de las muestras de suelo a través del método de Bouyoucos.

- a) Pesar 50,00 gramos de suelo para texturas finas y 100,00 gramos para texturas gruesas y colocarlo en un vaso de Bouyoucos.
- b) Agregar 50,00ml de dispersante (polifosfato de sodio y carbonato de calcio)
- c) Agitar por 5,00 minutos en un agitador mecánico.
- d) Colocar la solución en el cilindro aforado de Bouyoucos el cual consta de dos aforos, aforo inferior para la pesada de 50,00 gramos de suelo y el superior para la pesada de 100,00 gramos, estos aforos se logran solo con el hidrómetro dentro de la solución para este ensayo..
- e) Agitar la solución con la virilla de Bouyoucos aproximadamente un minuto.

- f) Introducir el hidrómetro en la solución y tomar la lectura en g/L a los 40,00 segundos, posteriormente se introduce un termómetro y se toma la temperatura de la solución en grados centígrados.
- g) Dejar en reposo una hora y luego hacer una segunda medición igual a la anterior, sin agitar la solución.

Dado que el hidrómetro es fabricado en otro país (EE.UU), se debe corregir la lectura de este en función de la temperatura a través de las ecuaciones 3.1 y 3.2.

$$T_c = \frac{27,93 - Y}{2,07}$$

(3.1)

$$LH_c = T_c + LH \quad (3.2)$$

Dónde:

T_c: Temperatura corregida (°C)

Y: Temperatura del termómetro (°C)

LH_c: Lectura del hidrómetro corregida (g/L)

LH: Lectura del hidrómetro (g/L)

Por último, los porcentajes de a, A y L, fueron calculados con las ecuaciones 3.3, 3.4 y 3.5.

$$\%a = 100 - \left(\frac{LH_c \text{ 40 seg}}{\text{Peso de la muestra}} \right) \times 100 \quad (3.3)$$

$$\%A = \left(\frac{LH_{c1} \text{ hora}}{\text{Peso de la muestra}} \right) \times 100 \quad (3.4)$$

$$\%L = 100 - (\%a + \%A) \quad (3.5)$$

Los porcentajes de arena, arcilla y limo calculados, son llevados al triángulo de texturas (ver figura B.1, Apéndice B) el cual especifica la textura del suelo analizado.

3.4.1.2 Determinación del equivalente de humedad (%H₂O eq) por el método de la cápsula metálica

El procedimiento utilizado es el descrito a continuación:

- a) Agregar cierta cantidad de suelo seco y tamizado a 2,00 mm en una capsula metálica.
- b) Saturar el suelo dejándolo por 24 horas dentro de una capsula de porcelana a ½ de agua destilada.
- c) Retirar el suelo de la capsula y dejarlo drenar por 30 minutos.
- d) Centrifugar el suelo por 30 minutos a 3500 r.p.m.
- e) Secar el suelo en estufa a 105 grados centígrados por 24 horas una vez pesado : P1
- f) Retirar el suelo de la estufa y realizar la pesada correspondiente: p2
- g) Retirar el suelo de la capsula y pesarla: P3

Luego:

Peso de la capsula + suelo centrifugado: P1(g)

Peso de la capsula + suelo seco: P2(g)

Peso de la capsula: P3(g)

Mediante esta etapa se utilizó la ecuación 3.6 mostrada a continuación para determinar el equivalente de humedad:

$$\%H_2O \text{ eq} = \frac{\text{Agua contenida en el suelo}(P1-P2)}{PSS(P2-P3)} \times 100 \quad (3.6)$$

El agua contenida en el suelo se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Agua contenida en el suelo} = P_{\text{cilindroAE}} - P_{\text{cilindroDE}} \quad (3.7)$$

Donde:

$P_{\text{cilindroAE}}$: Peso del cilindro antes de estufa (g)

$P_{\text{cilindroDE}}$: Peso del cilindro después de estufa (g)

PSS: peso suelo seco (g)

3.4.1.3 Densidad aparente (D_a) por el método del Uhland.

El procedimiento utilizado es el que se describe a continuación

- a) En el muestreador tipo Uhland, dentro del cual se encajan anillos metálicos de un diámetro igual a 7,00 cm y una altura de 7,00 cm.
- b) El muestreador se introduce en el suelo ejerciendo una presión vertical, dejando caer el martillo de manera constante, luego se retira el aparato con el cilindro del suelo, tratando de enrasar con un cuchillo el exceso de material sobrante.
- c) El cilindro metálico con el suelo es trasladado al laboratorio en bolsas plásticas bien identificadas para determinarle el volumen y peso seco, obtenido en una estufa a 105°C durante 24 horas.

La densidad aparente se determinó mediante la ecuación 3.8 mostrada a continuación

$$D_a = \frac{\text{peso del suelo seco}(PSS)}{\pi \times r^2 \times A} \quad (3.8)$$

Dónde:

Da: densidad aparente del suelo (g/cm³)

PSS: peso suelo seco (g)

r: radio del cilindro metálico (cm)

A: altura del cilindro metálico (cm)

3.4.1.4 Densidad real (Dr) por el método del picnómetro

- a) Pesar el picnómetro lleno con agua destilada: P(g)
- b) Bota la mitad de agua del picnómetro.
- c) Pesar 5,0 g de suelo seco y tamizado 2,00 mm e introducir en el picnómetro.
- d) Hervir por tres minutos sobre una plancha de calefacción.
- e) Retirar y dejar enfriar a temperatura ambiente.
- f) Completar el llenado del picnómetro con agua destilada.
- g) Secar el picnómetro y pesarlo: P2(g)

La ecuación 3.9 fue utilizada para determinar la densidad real, esta se muestra a continuación.

$$Dr = \frac{\text{Masadesueloseco}(g)}{\text{Volumendepartículas}(cm^3)} \quad (3.9)$$

El volumen de las partículas se determinó a través de la siguiente ecuación:

$$V_{particulas} = \frac{P1+PSS-P2}{\text{Densidad del agua pura}} \quad (3.10)$$

3.4.1.5 Determinación de la porosidad mediante el método analítico.

La porosidad de las muestras de suelo estudiadas fue determinada empleando la ecuación 3.11 descrita a continuación.

Dónde:

%P: Porosidad.

Da: densidad aparente del suelo (g/ cm³).

Dr: densidad real del suelo (g/ cm³).

$$\%P = 100 - \left(\frac{Da}{Dr} \right) \times 100 \quad (3.11)$$

3.4.1.6 Determinación del pH por el Método del Potenciómetro

El procedimiento utilizado es el que se describe a continuación

- a) Seleccionar la relación suelo – agua en función de la textura del suelo a analizar, inclinándose en el % de arcilla y agregarla en un vaso para pH.
- b) Agitar durante 1,0 minuto (agitador de vidrio) la solución suelo-agua, dejar en reposo por 15,0 minutos
- c) Repetir el paso 2
- d) Calibrar el potenciómetro con soluciones buffer con rangos de pH 4,0 a 9,
- e) Introducir el electrodo del potenciómetro en la solución
- f) Observar y anotar el valor de pH mostrado en pantalla del PH-METER una vez estabilizada
- g) $pH = -\log_{10} [H^+]$

3.4.1.7 Determinación de la Conductividad Eléctrica (CE) por el Método del Conductímetro

El procedimiento utilizado es el que se describe a continuación:

- a) Seleccionar la relación suelo – agua en función de la textura del suelo a analizar, inclinándose en el % de distribución de las partículas
- b) Agitar durante 1,0 minuto la solución suelo-agua, dejar en reposo por 15,0 minutos
- c) Repetir el paso 2
- d) Calibrar el conductímetro con agua destilada (mínima cantidad de sales)
- e) Introducir el electrodo del conductímetro en la solución
- f) Observar y anotar el valor de CE mostrado en pantalla del conductímetro.

3.4.1.8 Determinación de la materia Orgánica por el Método del Colorímetro

El procedimiento utilizado es el que se describe a continuación:

- a) Pesar 1,00 a 0,50 gramos de suelo según el contenido de materia orgánica que contenga el suelo aplicando la visión ocular y agregarlo en un elermeyer de 500 ml.
- b) Agregar 10 ml de dicromato de potasio 1N Y 10 ml de ácido sulfúrico 95% de pureza, agitarlo y dejarlo enfriar a temperatura ambiente.
- c) Agregar 180ml de agua destilada, colocar 50ml de la solución en un tubo de ensayo y centrifugar a 3500 rpm por 5,00 minutos (usar cilindros graduados).
- d) Colocar 5,00ml de la solución en el tubo de muestra del spectronic.

- e) Obtener el porcentaje de transmitancia (% T) a una longitud de onda de 600u.
- f) Para calibrar el equipo se prepara una solución o blanco mezclando todos los reactivos antes mencionados menos el suelo.

La ecuación 3.10 fue empleada para determinar el porcentaje de materia orgánica de la muestra de suelo.

$$(\%MO) = \frac{34,3469 - (17,1795 * \text{Log } \%T)}{\text{peso de la muestra}} \quad (3.12)$$

3.4.1.9 Determinación del Aluminio Intercambiable (Al^{3+}), por El Método De Cloruro De Potasio (KCl)

El procedimiento utilizado es el que se describe a continuación:

- a) Se pesa 5,0 gramos de suelo seco y tamizado a 2,00 mm y colocarlo en un tubo de 100,0ml de la centrifugadora.
- b) Agregar 50,0 ml de solución KCL 1N y agitarlo por 30,0 minutos en un agitador mecánico.
- c) Centrifugar a 3500 rpm durante 5,0 minutos y filtrar en un elermeyer de 150,0 ml.
- d) Agregar 3,0 gotas de fenolftaleína 1% P/v, luego titular con solución de NaOH 0,01 N (aparición de color rosado).
- e) Adicionar 10,0 ml de la solución fluoruro de sodio NaF al 2% p/V y titular con solución de HCL 0,01 N (inoloro)

La ecuación 3.12 fue utilizada para determinar el contenido de aluminio intercambiable de la muestra de suelo.

$$\frac{mqAl^{+3}}{100 \text{ g de suelo}} = V.HCL \times N.HCL \times 20,0$$

(3.12)

3.4.1.10 Determinación del Fósforo en el Suelo por el método de Bray I.

El procedimiento utilizado es el siguiente:

- a) Se pesan 2,0 gramos de suelo seco y tamizado a 2,00 mm y colocarlo en un tubo de 100,0ml de la centrifugadora.
- b) Agregar 20,0 ml de solución extractora NH_4F y HCl 1N y agitarlo por 5,0 minutos en un agitador mecánico, centrifugar a 3500 rpm durante 5,0 minutos y filtrar en embudo de filtración.
- c) Extraer 5,0ml del filtrado y adicionarlo en el balón de 25,0ml, adicionar 4,0ml de solución reveladora de color más ácido ascórbico y completar al menisco con 16,0ml de agua destilada.
- d) Dejar en reposo por 1,0 hora.
- e) Determinar el porcentaje de transmitancia (%T) a una longitud de onda de 660nm, pero antes calibrar el spectronic con un blanco preparado mezclando todos los reactivos usados en el ensayo menos el suelo y el ácido ascórbico.

$$PPM \text{ de fósforo en el suelo} = PPM \text{ de fósforo en la gráfica} \times \frac{20 \times 25}{2 \times 5} \quad (3.13)$$

Para obtener el valor de fósforo en la gráfica, primero se corta la curva con el porcentaje de transmitancia calculado y segundo se proyecta el punto de corte hasta el valor de la concentración de fósforo deseada.

3.4.1.11 Determinación de la Capacidad de Cambio o Intercambio Iónico (CIC), por el método de acetato de amonio

El procedimiento utilizado se especifica a continuación:

- a) Se pesan 5 gramos de suelo y colocarlo a un tubo de centrifugación de 100,0ml.
- b) Reemplazo de cationes intercambiables por amonio: Se agregan 30 ml de acetato de amonio agitando durante 30 minutos, se centrifuga 5 minutos a 3500 r.p.m. para que el líquido quede claro. Se decanta lo más completo que sea posible a un matraz aforado de 250 ml. Este procedimiento se repite dos veces más, y se completa el volumen del matraz con acetato de amonio. Esta solución contiene los cationes intercambiables del suelo, reemplazados por el amonio. Las concentraciones de los distintos cationes se determinan por los métodos descritos abajo o por absorción atómica.
- c) Eliminar los polímeros: Se agregan 30 ml de alcohol, se centrifuga 5 minutos a 3500 r.p.m. y se conserva el decantado para la recuperación del alcohol, este procedimiento se repite dos veces más.
- d) Sustitución o reemplazo del amonio por sodio en el suelo: Se agregan 50,0ml de cloruro de sodio al 10,0 %, agitar por 30,0 minutos, centrifugar por 5,0 minutos y filtrar el decantado. En este procedimiento el amonio que estaba en el coloide del suelo pasa a la solución.
- e) Estabilizar reacción: Adicionar 10,0 ml de formol a PH 7,0.
- f) Valorar el amonio (Determinar las cargas negativas del suelo): Adicionar tres gotas de indicador y Titular con una solución de hidróxido de sodio al 0,01 N.

$$\text{CIC (meq / 100 gs de suelo)} = V.\text{NaOH} \times N.\text{NaOH} \times 20,0 \quad (3.14)$$

3.4.2 Caracterización del lixiviado de compost a ser utilizado como bioestimulador.

En esta etapa, primero se realizó la obtención del lixiviado de compost, esta se llevó a cabo utilizando un barril (1,35 m de altura y 60 cm de diámetro), en el cual se introdujeron 1 (kilo) de desechos orgánicos y restos vegetales de cada producto tales como naranja, mandarina, cambur, plátano, tomate, papa, y pepino. De igual forma, se le adicionó estiércol (1 kilo) y hojas secas (2 kilos). El lixiviado se obtuvo a través de la percolación de estos productos adicionándole pequeñas concentraciones de agua (10 ml) por día en un periodo de seis meses.

El lixiviado obtenido fue sometido a pruebas físicas (temperatura, color, olor) y las pruebas químicas (pH, conductividad eléctrica, materia orgánica, aluminio intercambiable, fosforo, y capacidad de intercambio catiónico). Dichas propiedades fueron determinadas a través del seguimiento de procedimientos del laboratorio de suelos y normativas EPA (Environmental Protection Agency, por sus siglas en inglés).

Para la comprobación de la presencia de actividad microbiana, se realizó una prueba de respirometría, en la cual se pudo comprobar la existencia de la misma (ver apéndice A, A.12).

3.4.3 Elaboración de ensayos para el estudio del efecto del lixiviado de compost en la reducción del contenido de aceites y grasas en las muestras de suelo contenidas con petróleo según la norma EPA 9071b.

Mediante esta etapa de la investigación se desarrollaron ensayos para el estudio del efecto del lixiviado de compost en la reducción del contenido de aceites y grasas en las muestras de suelo contaminado con petróleo crudo de acuerdo a la norma EPA

9071 b: “Extracción de aceite y grasa para muestras de fango, sedimentos y muestras sólidas”.

El porcentaje de aceite y grasas, que representa los compuestos orgánicos conformados primordialmente por ácidos grasos de origen animal y vegetal, así como de hidrocarburos del petróleo contenido en el suelo de sabana se determinó a muestras de (500 g) de suelo contaminado con (50) ml de petróleo crudo pesado. Se aplicaron diferentes volúmenes (15 ml, 30 ml y 45 ml) de lixiviado de compost como método de biorremediación por bioestimulación, determinando la capacidad que tiene este para reducir los hidrocarburos presentes en el suelo. Para evaluar el efecto del lixiviado de compost se utilizó el porcentaje de aceite y grasa de las muestras de suelo contaminado y tratado con este utilizando el soxhlet durante 3 semanas a intervalos de una (1) semana para cada muestra. Este equipo es empleado para la extracción de compuestos, a través de un disolvente afín, en el caso particular de la investigación, se usó el hexano. Al terminar el proceso de extracción, las muestras fueron filtradas y evaporadas para de esta manera adquirir, por gravimetría, la cantidad de aceites y grasas. La extracción con el equipo soxhlet se fundamenta de forma general, en las etapas siguientes:

1. Colocación del solvente en un balón.
2. Ebullición del solvente que se evapora hasta un condensador a reflujo.
3. El condensado cae sobre un recipiente que contiene un cartucho poroso con la muestra en su interior.
4. Ascenso del nivel del solvente cubriendo el cartucho hasta un punto en que se produce el reflujo que devuelve el solvente con el material extraído al balón.
5. Se vuelve a producir este proceso la cantidad de veces necesaria para que la muestra quede agotada. Lo que se extrae se va concentrando en el balón del solvente. El procedimiento empleado se especifica a continuación:

- a. Se pesaron 10 gramos de cada muestra de suelo.
- b. Se colocaron tres (3) papeles de filtro con las muestras de suelo en tres (3) balones de destilación del equipo soxhlet, los cuales estaban en condiciones óptimas, es decir limpios y secos.
- c. Se adicionaron 85 ml de hexano en cada balón, calentándolos a una temperatura constante de 69°C.
- d. Mediante el proceso de extracción se obtuvo: el contenido de aceite y grasas de las muestras junto con solvente.
- e. Lo obtenido fue sometido a un proceso de destilación simple, donde se recuperó el hexano quedando únicamente el contenido de aceite y grasas de las muestras en el balón de destilación. El porcentaje de aceites y grasas se determinó a través de la siguiente ecuación 3.15.

$$\%AyG = \frac{Masadeaceite}{Masadesueloinicial} \times 100 \quad (3.15)$$

$$masa\ de\ aceite = suelo\ inicial - (suelo\ destilado + masa\ de\ agua) \quad (3.16)$$

Finalmente, se efectuó un análisis de los resultados obtenidos con respecto al porcentaje de aceite y grasas mediante el programa estadístico STATGRAPHICS Centurión, mediante un análisis de mínima diferencia significativa de Fisher.

3.5 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

Para el desarrollo de esta investigación se usaron técnicas de recolección de información como la observación directa, recopilación de diferentes documentos, manuales y tesis de grado con material relacionado con el objetivo de la investigación y la revisión bibliográfica de publicaciones, tesis, páginas web, entre otros; con la

finalidad de obtener la información necesaria que sirva de base para sustentar el marco de referencia de la investigación.

Por otra parte, los instrumentos usados para la recolección de información son los siguientes: equipos de laboratorio, computadoras, papel y lápiz, con el fin de realizar un mejor desarrollo de los objetivos de la investigación.

3.7 RECURSOS

Recursos Humanos: para la elaboración de la presente investigación se contó con el apoyo de los técnicos encargados de los laboratorios, y con la colaboración de los profesores de la Escuela de Ingeniería de Petróleo de la Universidad de Oriente, Núcleo de Monagas.

Recursos materiales y bibliográficos: para este trabajo se tenía la muestra de suelo de sabana, lixiviado de compost, equipos de computación, impresoras, fotocopadoras, escáner, papelería en general, además de materiales bibliográficos como tesis relacionadas con el tema y textos que sean de utilidad para sustentar el presente trabajo de investigación.

Recursos financieros: los gastos económicos para el desarrollo de este trabajo de investigación se hicieron por los autores del mismo.

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 CARACTERIZACIÓN DE UNA MUESTRA COMPUESTA DE SUELO DE SABANA DEL ESTADO MONAGAS ANTES Y DESPUÉS DE CONTAMINAR CON CRUDO PESADO Y ADICIONANDO LIXIVIADO DE COMPOST A LA MUESTRA CONTAMINADA.

El crudo empleado para contaminar el suelo fue caracterizado inicialmente (ver apéndice A, A.11). En la tabla N° 4.1, se resume los resultados obtenidos durante las pruebas realizadas para la caracterización de las propiedades físicas de la muestra de suelo antes y después de ser contaminada con petróleo pesado. El cuadro reúne las siguientes propiedades: densidad aparente, densidad real, porcentaje de humedad, saturación de aluminio, arcilla, clase textural, y porosidad.

Tabla 4.1 Propiedades físicas de la muestra del suelo antes y después de contaminar con petróleo pesado y adicionando lixiviado de compost a la muestra contaminada.

Parámetros	Unidades	No contaminado	Contaminado	Con lixiviado
Da	g/cm ³	1,6	1,26	1,12
Dr	g/cm ³	2,66	2,40	2,30
Eq. H ₂ O	%	17	6,35	9,76
Arena	%	80,52	89,52	89,52
Arcilla	%	11,5	3	8
Limo	%	7,98	7,48	2,48
Clase textural	Adimensional	Fa	a	a
Porosidad	%	39,85	47,50	51,30

La textura de un suelo es la cantidad relativa de arenas, limos y arcillas expresadas en porcentaje (%) de la fracción mineral del suelo una vez tamizado por un tamiz de 2 mm de diámetro de malla. Se define como arena al particulado con tamaños comprendidos entre 0,05 mm y 2 mm de diámetro; limos al particulado entre 2 μm y 50 μm y arcillas al particulado con diámetro inferior a 2 μm .

En la tabla 4.1 se observa el porcentaje de arena de la muestra de suelo antes de la contaminación (80,52 %) lo que indica un incremento de la muestra de suelo después de la contaminación y al adicionar el lixiviado de compost a la muestra contaminada a 89,52% respectivamente; en relación a los porcentajes de arcilla y limo obtenidos, se clasifica a la muestra sin contaminar como franco arenosa según el triángulo de texturas (ver Apéndice B), se observa además, que la textura de la muestra de suelo contaminada y al adicionar el lixiviado de compost a la muestra contaminada si resultó afectada variando a arenosa. Rojas (2009), indica que un suelo de características arenosas presenta una baja disponibilidad de agua para las plantas y de agua transportable, es de fácil labranza y presenta una erosión eólica alta (Ver Apéndice B).

La arcilla disminuye una vez contaminado el suelo debido a que el crudo es un líquido graso o aceitoso que trata de unirse como agente extractante. Al agregar el lixiviado, la arcilla aumenta ligeramente a 8% a pesar de que los dos líquidos son inmiscibles, ya que partes de las arcillas no se contaminaron totalmente y se hincharon en presencia del agua debido a sus propiedades adherentes.

El equivalente de humedad es el grado de humedad determinado en laboratorio, de una muestra que se ha sometido a una fuerza centrífuga mil veces superior a la de la gravedad (presión de 10 atmósferas aproximadamente) durante un tiempo de unos cuarenta minutos. La humedad equivalente es un valor muy próximo al de la capacidad de campo, y sustituye su determinación. La humedad del suelo puede

limitar de forma severa la biodegradación, fundamentalmente en suelos superficiales afectados por oscilaciones importantes en el contenido de agua. El nivel óptimo de humedad depende de las propiedades de cada suelo, el tipo de contaminación y si la biodegradación es aeróbica o anaeróbica.

Un déficit de agua puede disminuir el transporte de nutrientes y de contaminantes, así como también la migración bacteriana a través del suelo. El exceso de agua en un suelo desplaza el aire residente en los poros del suelo, generándose con mayor facilidad condiciones anaeróbicas, al agotarse el oxígeno disuelto en agua (Viñas, 2005, p. 153). Viñas (2005), citando a Dibble y Bartha (1979), menciona que estos autores describieron un rango de humedad óptimo del 30-90% de la capacidad de campo para la biodegradación aeróbica de fluidos contaminados con crudo de petróleo. El mismo autor, esta vez citando a Lajoie y Strom (1994) y a Pramer y Bartha (1972), refiere que estos autores recomendaron llevar a cabo procesos de biorremediación a una humedad entre el 50 y 70%.

En general, en suelos de granulometría fina (elevado porcentaje de arcillas y limos) suele utilizarse una proporción cercana al 40%, mientras que para suelos arenosos suele utilizarse una humedad cercana al 60%. Teniendo lo anterior en consideración, es posible afirmar que, dado que los valores de humedad equivalente obtenidos no superaron siquiera el 17 %, las muestras de suelo estudiadas presentan una humedad muy por debajo de cualquiera de los rangos establecidos por los autores mencionados. Lo que deriva en un déficit en el transporte tanto de nutrientes como de contaminantes, así como también una disminución de la migración bacteriana a través del suelo. Bajo estas condiciones la degradación natural propia del suelo se ve desfavorecida.

La densidad aparente de un suelo es la relación que existe entre la masa seca del suelo y la unidad de volumen aparente del mismo. En suelos de textura gruesa como

el caracterizado (franco arenoso), pueden considerarse en valores altos de densidad aparente, superiores a $1,6 \text{ g/cm}^3$, en la muestra de suelo sin contaminar se registró una densidad aparente de $1,6 \text{ g/cm}^3$ lo que corresponde a un valor alto en función a lo antes mencionado. Posterior a la contaminación con petróleo pesado, este valor se redujo a $1,26 \text{ g/cm}^3$ ya que en la medida en que el contenido de materia orgánica aumentó por la adición del hidrocarburo, disminuyó la densidad aparente, de hecho, “los valores más bajos (menores de 1 g/cm^3), se obtienen en suelos orgánicos”, Rojas (2005).

De tal manera que la muestra contaminada con petróleo adicionando lixiviado de compost reportó un valor de $1,12 \text{ g/cm}^3$ esta disminución se debe al contenido de materia orgánica que presenta el lixiviado de compost. La tabla interpretativa de valores de densidad aparente se presenta en el Apéndice B.

La densidad real de un suelo es el peso por unidad de volumen de la composición sólida del mismo, sin contener el espacio poroso. La densidad real reportada en la muestra de suelo sin contaminar fue de $2,66 \text{ g/cm}^3$, este resultado se corresponde con los valores de densidad real típicos ($2,60 - 2,75 \text{ g/cm}^3$) indicados por Rojas (2005). El mismo autor señala que los materiales predominantes en la mayoría de los suelos (cuarzo, feldespato y sílice) tienen valores próximos a los mencionados. Valores inferiores, como el observado en la muestra de suelo contaminado y en la muestra de suelo contaminado adicionando lixiviado de compost ($2,40$ y $2,30 \text{ g/cm}^3$), indican la presencia de porcentajes elevados de materia orgánica que por su escasa densidad influye en ese valor.

En general, según FAO (2015), el volumen del suelo está constituido por 50% materiales sólidos y 50% de espacio poroso. En el cuadro N° 4.1 se observan valores de porosidad que varían entre 39,84; 47,50 y 51,30 % para las muestras de suelo sin contaminar, suelo contaminado y adicionando lixiviado de compost a la muestra

contaminada respectivamente. Por otra parte, en los suelos de textura arenosa, los poros individuales son más grandes.

La tabla 4.1.1 muestra los resultados del análisis químico realizado a la muestra de suelo antes y después de contaminar con petróleo pesado y adicionando lixiviado de compost a la muestra contaminada. En la misma se pueden observar las siguientes propiedades: pH, conductividad eléctrica, materia orgánica, aluminio intercambiable, fósforo y capacidad de intercambio catiónico.

Tabla 4.1.1 propiedades químicas de la muestra de suelo estudiada.

Parámetros	Unidades	No contaminado	Contaminado	Con lixiviado
pH	Adimens	5,98	6	6,30
CE	μS/cm	254	204	709
MO	%	1,82	1,87	2,48
Al ³⁺	Meq/100g	0,94	0,12	0,1
P	mg/kg	5	5,5	31,5
CIC	Meq/100g	8,34	8,06	10,14

En esta tabla, se puede observar que el pH de la muestra de suelo sin contaminar es de 5,98; lo que constituye un pH medianamente ácido en base a la clasificación descrita en el Apéndice B. La contaminación con petróleo originó un aumento en el pH de la muestra de suelo estudiada, reportándose un valor de 6 y al adicionarle el lixiviado de compost al suelo contaminado el pH aumento a 6,30. Estos resultados son favorables a la posible acción biorremediadora del lixiviado de

compost ya que según Adams, (1999), en la mayoría de los suelos, un pH de 6 a 8 es adecuado para la aplicación del proceso de biorremediación.

La muestra de suelo estudiada reportó una conductividad eléctrica (C.E.) de 254 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y 204 $\mu\text{S}/\text{cm}$ después de la contaminación respectivamente, la reducción de C.E. se debe al carácter resistivo del petróleo. Rojas (2005) señala que el agua pura posee una conductividad eléctrica de 0,05 $\mu\text{S}/\text{cm}$ aproximadamente, lo que indica que la muestra de suelo estudiada posee una mayor capacidad para conducir la corriente eléctrica como resultado de la presencia de sales. El mismo autor indica que todos los suelos fértiles contienen en mayor o menor grado, cantidades de sales solubles; y entre mayor sea la cantidad de sales disueltas, mayor será la conductividad, además se observa que al adicionar el lixiviado de compost a la muestra contaminada se reportó una conductividad eléctrica de 709 $\mu\text{S}/\text{cm}$ por lo que se puede observar que esta tiene una mayor capacidad para conducir la corriente eléctrica.

Previo a la contaminación, la muestra de suelo presentó un porcentaje de materia orgánica de 1,82 %, considerándose un contenido bajo en función a la tabla relativa a la interpretación de materia orgánica disponible en el Apéndice B. Posterior a la contaminación con petróleo, la materia orgánica aumentó hasta 1,87% lo que es considerado un contenido bajo. El aumento registrado es causado por la presencia del hidrocarburo en el suelo pero no significa que este incremento sea beneficioso ya que esta materia orgánica es material petrogénico y no biogénico y al adicionarle lixiviado de compost a la muestra contaminada se reportó un aumento de 2,48%, considerándose un contenido normal en función a la tabla relativa a la interpretación de materia orgánica disponible en el Apéndice B. Buechel (2016) señala que el lixiviado de compost es básicamente una mezcla de materia orgánica estabilizada (compost) y agua.

El fósforo asimilable (P) obtenido en la muestra de suelo sin contaminar fue de 5 mg/kg y contaminado de 5,5 mg/kg respectivamente; ambos valores corresponden a un contenido muy bajo (ver Apéndice B). Siendo el fósforo uno de los macronutrientes esenciales y dado que, según Adams, (1999), “se necesita mantener las condiciones de nutrimentos aproximadamente entre el rango de 100 ppm de Nitrógeno; > 10 ppm de fósforo y > 1 ppm de Potasio”, estos resultados no son propicios al proceso biorremediador, sin embargo al adicionar el lixiviado de compost al suelo contaminado el fosforo obtenido mejora significativamente a 31,5 mg/kg lo que representa un valor muy alto en función a la tabla relativa a la interpretación del fosforo asimilable disponible en el Apéndice B, lo que indica que se potenció el desarrollo colonial de microorganismo debido a la cantidad de nutrimentos adicionales a los propios del suelo que esta representa.

Adams (1999) ha reportado que la disponibilidad de elementos nocivos para las plantas, como el aluminio y los metales pesados aumentan conforme disminuye el pH del suelo y viceversa, ya que la variación de pH modifica los patrones de solubilidad de los minerales. Como consecuencia del aumento del pH de la muestra de suelo contaminada, la disponibilidad de aluminio disminuyó ligeramente, pasando de 0,94 (meq/100g) en la muestra de suelo sin contaminar a 0,12 (meq/100g) en la muestra de suelo contaminada y 0,14 (meq/100g) al adicionarle el lixiviado de compost.

Se define la capacidad de intercambio iónico (CIC), como los procesos reversibles por los cuales las partículas sólidas del suelo adsorben iones de la fase acuosa liberando al mismo tiempo otros iones en cantidades equivalentes, estableciéndose el equilibrio entre ambas fases (Rojas, 2005). Mediante este ensayo, se obtuvieron valores de 8,34; 8,06 y 10,14 meq/100g antes y después de la contaminación y al adicionarle lixiviado de compost al suelo contaminado respectivamente; estos valores son representativos de un suelo de textura franco

arenosa, como la muestra de suelo estudiada (los valores típicos varían de 5 a 15 meq/100g).

Estos resultados se consideran bajos en función a la tabla interpretativa de CIC mostrada en el Apéndice B.

4.2 CARACTERIZACIÓN DEL LIXIVIADO DE COMPOST A SER UTILIZADO COMO BIOESTIMULADOR.

Las propiedades físicas y químicas de los lixiviados van a depender de los componentes que permitieron la obtención del mismo a través de la percolación y estos varían según su formulación. Fijar una composición propia de los lixiviados puede ser complejo. Así lo expresa Maldonado (2003): “Las características de los lixiviados dependen principalmente de los residuos de los que provienen. Es por ello que resulta muy complejo establecer una composición específica de los lixiviados” (Maldonado, 2003). Sin embargo, sus propiedades o composición puede ser medida a través de ciertos parámetros: “A pesar de esto la composición puede ser medida por parámetros físicos, químicos inorgánicos, químicos orgánicos y toxicidad” (Maldonado, 2003).

En función a las pruebas realizadas para la caracterización de la muestra de lixiviado de compost estudiada, se obtuvieron los resultados mostrados en la Tabla 4.2 los cuales indican sus propiedades físicas y químicas.

Parámetros	Unidades	Lixiviado
Temperatura	°C	29
Color	Adimens	Marrón Oscuro
Olor	Adimens	Estiércol Simple
pH	Adimens	6,30
CE	μS/cm	709
MO	%	2,48
Al ⁺³	Meq/100g	0,16
P	mg/kg	40
CIC	Meq/100g	2

Tabla 4.2 Resultados obtenidos de los parámetros utilizados (color, olor, pH, CE, MO, Al⁺³, P, CIC) en la caracterización del lixiviado del compost.

Como se observa en la tabla 4.2 la temperatura del lixiviado de compost resultó 29°C, la cual corresponde a la fase de enfriamiento y maduración del compost cuando prácticamente la totalidad de la materia orgánica se transforma y la temperatura empieza a disminuir. La temperatura puede influenciar la actividad microbiana del compost. Salazar et al (2009) cita a Fernández Polanco et al (1994) con respecto a este tema: “la temperatura puede alterar la comunidad microbiana, en cuanto a su composición y funcionamiento, afectando la diversidad de la especie y por lo tanto la estabilidad del sistema de tratamiento” (P.6). Salazar et al (2009) también cita a Richard Matthews et al (2009) sobre la temperatura en el caso de los lixiviados “en el caso en que la temperatura disminuye se ha demostrado que el crecimiento microbiano se reduce” (P.6).

El pH del lixiviado fue 6,30 lo que constituye un pH ligeramente ácido. Según Maldonado (2003) los lixiviados a los pocos días de ser obtenido a través del proceso de percolación tienden a ser ácidos, no obstante no ocurre para los lixiviados obtenidos en varios años, llamados lixiviados maduros. “Así estos tienden a ser ácidos con un pH que va de 6 a 7. Por el contrario los lixiviados maduros, después de transcurrido varios años, el pH se incrementa a un intervalo de 7 a 8” (Maldonado, 2003).

El lixiviado obtenido en el proceso de percolación poseía mal olor y color marrón oscuro. Maldonado (2003), describe los parámetros del lixiviado: “los lixiviados de composta, presentan por lo general un desagradable olor y un color café oscuro”.

El lixiviado obtenido obtuvo un valor de materia orgánica de 2,48 el cual se clasifica como normal según Rojas (2005) en la tabla B.7 del apéndice B. Jiménez (2006) explica que en los lixiviados es predominante la materia orgánica disuelta. Jiménez (2006) también señala que: “Para el caso de un lixiviado joven, los consecuentemente altos contenidos de materia orgánica parecieran idealmente apropiados para la aplicación de los procesos anaerobios de tratamiento” (pag. 5).

Los lixiviados son fuente de nutrientes considerables esenciales para el desarrollo de las plantas “los lixiviados pueden actuar como un abono o fertilizante orgánico ya que además de optimizar la estructura del suelo y preservar los microorganismos que viven en él, aportan un conjunto de sustancias nutritivas para el desarrollo de los vegetales” (Maldonado, 2003).

La capacidad de intercambio catiónico (CIC) fue de 2 Meq/100g. Este resultado se considera bajo en función a la tabla interpretativa de CIC mostrada en el Apéndice B. CIC es importante para las plantas ya que interviene en el proceso de crecimiento de

las mismas. Dorronsoró (2016) explica sus funciones en las plantas: “controla la disponibilidad de nutrientes para las plantas: K^+ , Mg^{++} , Ca^{++} , entre otros, Interviene en los procesos de floculación (dispersión de arcilla), Determina el papel del suelo como depurador natural al permitir la retención de elementos contaminantes incorporados al suelo”.

Las plantas requieren de ciertos elementos fundamentales para el desarrollo de la misma. “Las plantas requieren 16 elementos esenciales para su desarrollo y reproducción, sin embargo unos se requieren en cantidades considerables (macro nutrientes)” (Maldonado, 2003). Dentro de los macros nutrientes se encuentra el fósforo. En el lixiviado de compost analizado se obtuvo 40 mg/kg de fósforo. Según Maldonado (2003) describe al fósforo como elemento indispensable para el desarrollo de las plantas: “elemento primordial en la nutrición de las plantas, pues se encuentra dentro de sus núcleos celulares y es importante para la formación de granos y semillas. Es utilizado en forma de fosfatos solubles, principalmente liberados en la descomposición de la materia orgánica (Maldonado, 2003).

El aluminio es un elemento tóxico para las plantas y su valor obtenido con el método de KCL 1N fue de 0,16 Meq/100g, el cual es un valor bajo, esto debido al alto nivel de pH. Adams (1999) señala lo siguiente: “la disponibilidad de elementos nocivos para las plantas, como el aluminio y los metales pesados aumentan conforme disminuye el pH”.

4.3 DESARROLLO DE ENSAYOS PARA EL ESTUDIO DEL EFECTO DEL LIXIVIADO DE COMPOST EN LA REDUCCIÓN DEL CONTENIDO DE ACEITES Y GRASAS EN LAS MUESTRAS DE SUELO CONTENIDAS CON PETRÓLEO SEGÚN LA NORMA EPA 9071B.

Las tablas 4.3 muestra los porcentajes de aceite y grasas de la muestra patrón (contaminada con petróleo crudo).

Tabla 4.3 Porcentaje de aceite y grasa (%AyG) de la muestra patrón.

Muestra patrón	
Fecha	%AyG
24-10-2016	5,65
31-10-2016	5,34
07-11-2016	5,21

El porcentaje de aceite y grasa (%AyG) de la muestra patrón fue de 5,65%, 5,34% y 5,21%

Tabla 4.4 Porcentaje de aceite y grasa (%AyG) de la muestra 1

Muestra 1 (15ml)	
Fecha	%AyG promedio
07-11-2016	4,92
14-11-2016	4,13
21-11-2016	3,75

Durante la biodegradación aeróbica, los microorganismos descomponen los contaminantes orgánicos en productos inocuos, principalmente dióxido de carbono y agua pero una vez degradados los contaminantes, la población de microorganismos disminuye porque ha agotado su fuente de alimentos. La tendencia a esperar es una

degradación continua aunque lenta, por lo que a partir del análisis estadístico resumido en la tabla 4.4, se observa que existen diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 4.5 Análisis de mínima diferencia significativa bajo el método (LSD) de Fisher aplicado a la muestra patrón en comparación con la muestra de 15 ml.

Muestras	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Muestra 1 (15ml)	3	4,26667	X
Muestra patrón	3	5,4	X

La tabla 4.5 muestra que existe una mínima diferencia significativa entre la muestra 1 (15 ml de lixiviado de compost) y la muestra patrón realizado durante el ensayo. La mínima diferencia fue de 1,13333. El análisis estadístico mostrado en la tabla 4.5 indica que estos valores representan diferencias estadísticamente significativas entre la suma de rangos obtenidos.

En la biodegradación aeróbica, los microorganismos descomponen los contaminantes orgánicos en productos no nocivos, especialmente en dióxido de carbono y agua.

Tabla 4.6 Porcentaje de aceite y grasa (%AyG) de la muestra 2

Muestra 2 (30ml)	
Fecha	%AyG promedio
09-11-2016	3,30
16-11-2016	2,77
23-11-2016	1,75

La tabla 4.6 muestra los porcentajes de aceite y grasa de la muestra 2 (30 ml de lixiviado de compost), obtenidos durante la investigación. Por otro lado, la tabla 4.7 resume los resultados alcanzados una vez realizado el análisis de mínima diferencia significativa.

Tabla 4.7 Análisis de mínima diferencia significativa a través del método (LSD) de Fisher aplicado a la muestra 2.

Muestras	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Muestra 2 (30ml)	3	2,60667	X
Muestra patrón	3	5,4	X

Una vez que los microorganismos descomponen los contaminantes orgánicos, la población de estos disminuye debido a que se ha agotado su fuente de alimentos, por lo que se espera una degradación continua pero lenta.

En la tabla 4.7, se observa que durante el desarrollo de los ensayos se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los porcentajes de aceite y grasa, por tal razón los resultados obtenidos, no se encuentran en un mismo grupo

homogéneo. Por consiguiente, las variaciones obtenidas en el porcentaje de aceite y grasas son relevantes a nivel estadístico. La mínima diferencia significativa fue de 2,79333.

Las tablas 4.8 y 4.9 muestran los porcentajes de aceite y grasa y el análisis estadístico de mínima diferencia significativa aplicado a la muestra tres 45 (ml de lixiviado de compost) obtenido durante el ensayo.

Tabla 4.8 Porcentaje de aceite y grasa (%AyG) de la muestra 3

Muestra 3 (45ml)	
Fecha	%AyG promedio
07-11-2016	1,66
16-06-2016	0,70
23-06-2016	0,48

Escalona y Medina (2016) establecieron un valor de porcentajes de aceites y grasas promedio de 0.90 para suelos de sabana sin contaminar específicamente los suelos aledaños a los laboratorios de procesamiento y de yacimiento de la Universidad de Oriente, núcleo de Monagas. En comparación con el porcentaje de aceites y grasas promedio de los suelos de sabana antes mencionados, los porcentajes de aceites y grasas de la muestra 3 (45ml) disminuyen en 0,70% y 0,48%.

Tabla 4.9 Análisis de mínima diferencia significativa usando el método (LSD) de Fisher aplicado a la muestra 3

Muestras	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Muestra 3 (45ml)	3	0,946667	X
Muestra patrón	3	5,4	X

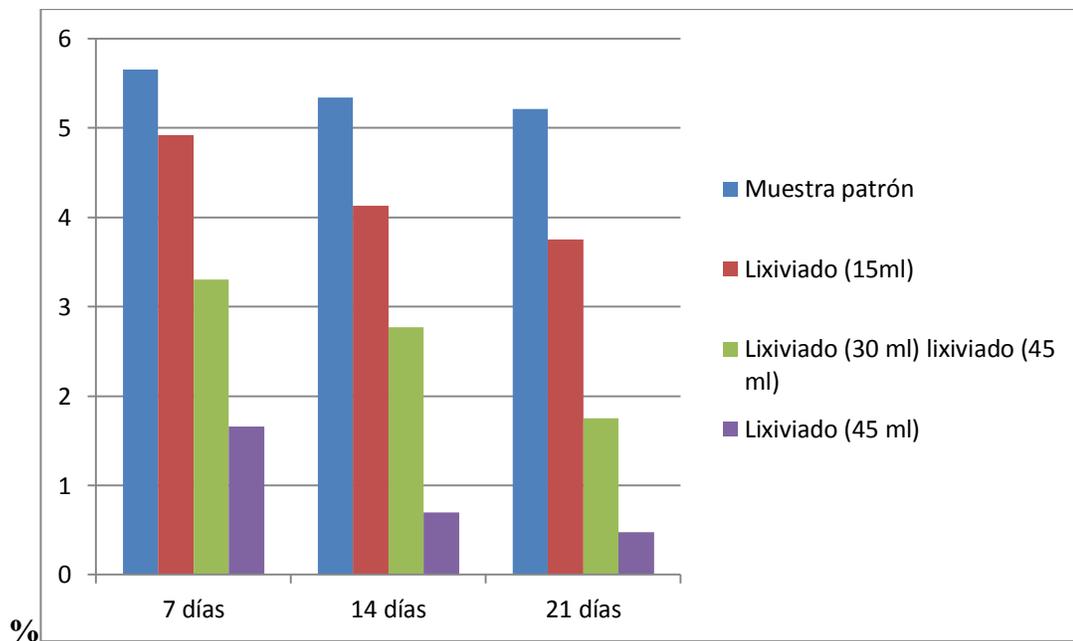
En el análisis de mínima diferencia significativa (Tabla 4.9), se determinó que, al igual que en los ensayos anteriores con menor cantidad de materia orgánica, existieron diferencias estadísticamente significativas entre los resultados de %AyG, obtenidos durante del monitoreo del ensayo. La mínima diferencia significativa fue de 4,45333.

A partir de los resultados obtenidos se pudo determinar que la variación del %AyG para cada muestra durante la duración del ensayo fue significativa, debido a que los valores resultantes como media para cada una de las muestras, superó la mínima diferencia significativa, establecida durante el análisis estadístico (Tabla 4.10). Se observó una amplitud comprendida entre 0,946667% y 5.4% evidenciando el rápido proceso de degradación.

La adición de nutrientes provenientes del lixiviado de compost favoreció la reproducción de los microorganismos autóctonos, que son los encargados de transformar mediante el proceso metabólico aeróbico los compuestos orgánicos hasta dióxido de carbono, agua y fuentes de alimento para mantener su desarrollo. Por lo que las muestras 1, 2 y 3 (15, 30 y 45 ml de lixiviado de compost respectivamente) propiciaron una alteración efectiva de la acción microbiana sobre la biorremediación del suelo contaminado con petróleo crudo bajo las condiciones establecidas en la investigación.

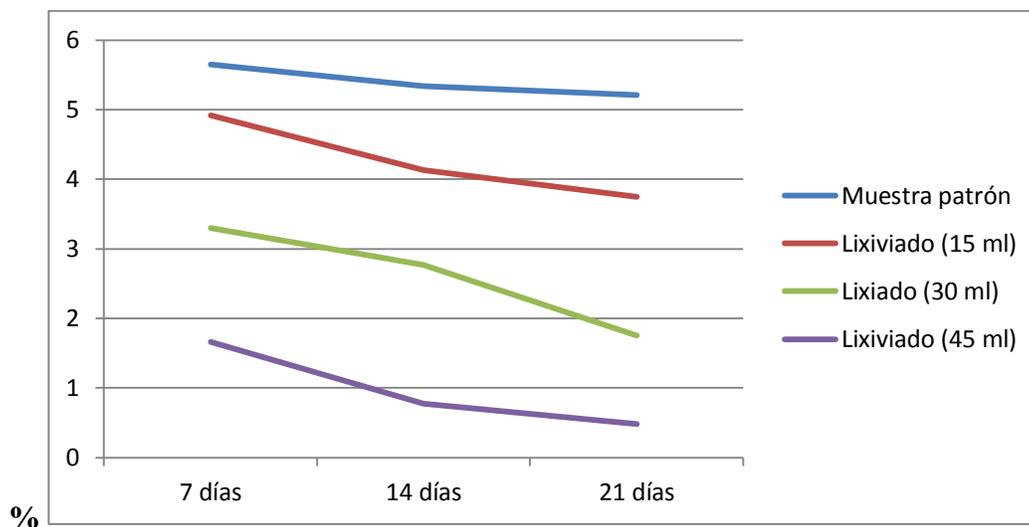
El rápido y relevante estadísticamente proceso de degradación observado se vio favorecido por el pH del suelo, que en el caso particular de la investigación fue de 6,30. El pH del suelo sin contaminar fue de 5,98, este valor es favorable a la posible acción biorremediadora del lixiviado de compost ya que según Adams, (1999), en la mayoría de los suelos, un pH de 6 a 8 es adecuado para la aplicación del proceso de biorremediación.

De igual manera, el contenido de fósforo de la muestra de suelo sin contaminar fue de 5 mg/kg al considerarse muy bajo, no resulta propicio para la actividad microbiana y metabólica de los microorganismos, sin embargo al adicionarle el lixiviado de compost al suelo contaminado con crudo se observó un incremento del contenido de fósforo reportándose un valor de 31 mg/kg lo que benefició a su vez la eficiencia y el buen desarrollo de la biorremediación.



Gráfica N° 1: Porcentajes de aceites y grasas (%AyG) de la muestra patrón y las muestras con contenido de lixiviado de compost como biorremediador a los 7, 14 y 21 días.

En la gráfica N° 1, se muestra el comportamiento de los porcentajes de aceites y grasas en la muestra patrón y las muestras que contienen las concentraciones de lixiviados (15 ml, 30 ml y 45 ml) a los 7 días, 14 días y 21 días. En los primeros siete y catorce días los efectos del lixiviado en las muestras experimentaron un decrecimiento con respecto a la muestra patrón. De igual manera, el comportamiento decreciente de los porcentajes de aceites y grasas fue mayor 21 días después de aplicado el producto.



Gráfica N°2: Comportamiento de los porcentajes de aceites y grasas (%AyG) de la muestra patrón y las muestras con contenido de lixiviado de compost como biorremediador a los 7, 14 y 21 días.

En la gráfica N° 2 se observa el comportamiento de los porcentajes de aceites y grasas (%AyG) de la muestra patrón y las muestras con contenido de lixiviado de compost como biorremediador a los 7, 14 y 21 días. En la muestra patrón se observa un comportamiento constante ya que existe poca variación en los valores obtenidos. Por otro lado, en las muestras que contienen lixiviado de compost (15 ml, 30 ml y 45 ml) se evidencia un comportamiento decreciente en los porcentajes de aceites y grasas, siendo la última muestra de 45 ml la que obtuvo mayor reducción.

En anteriores trabajos de investigación relacionados con el tema, como el llevado a cabo por Salazar M. y Díaz F.(2016), se observó que en las muestras estudiadas en el primer mes bajo los efectos de la biopila, experimentaron un decrecimiento leve en su contenido oleaginoso de un volumen porcentual de 2,95 hasta 1,24 en las 4 primeras semanas, en el segundo mes de la aplicación la concentración de crudo disminuyó hasta 1,06% una recuperación considerada como aceptable si se analiza desde una perspectiva porcentual. Para el final del tercer mes la disminución total del crudo logro llegar hasta un 0,82%. Comparando los resultados obtenidos en la investigación citada de Salazar M. y Díaz F. (2016) se observa que en la presente investigación, en la primera semana de aplicación del lixiviado de compost con un volumen de 45 ml se mostró una disminución en el porcentaje de aceites y grasas promedio de hasta 1,66% , en la segunda semana de aplicación la concentración de crudo promedio se redujo hasta 0,70% y en la tercera semana de aplicación del lixiviado el porcentaje de aceites y grasas promedio disminuyó hasta 0,48%, una recuperación aceptable desde el punto de vista porcentual, por lo que se concluye que el lixiviado de compost cumplió una efectiva acción biorremediadora sobre el suelo contaminado con petróleo pesado.

Los resultados obtenidos en la aplicación de lixiviado de compost sobre el suelo contaminado han evidenciado que son favorables a la biorremediación del suelo, cumpliendo así con las leyes y decretos relacionados con la protección del ambiente tal es el caso del artículo 127 de la constitución de la República Bolivariana de Venezuela (1999), Ley Orgánica del Ambiente (1976) y la Ley Penal de Ambiente (2012).

Por otra parte, las tecnologías para el tratamiento de suelos que contienen hidrocarburos son diversas y varían desde las físico-químicas hasta las biológicas, siendo el objetivo principal cumplir con los criterios de limpieza y exigencias de la normativa ambiental propias del país donde se generen. En Venezuela, según el Decreto 2.635 (1998), mediante el cual se dictan las normas para el control de la recuperación de materiales peligrosos y el manejo de desechos peligrosos, según el

artículo 53, se establece que la práctica de biotratamientos se llevara a cabo cumpliendo lo siguiente: que el contenido de hidrocarburos biodegradables en el desecho este entre el 1% y 10%. En función a lo antes dicho, las muestra patrón con porcentajes de aceites y grasas de 5,65%, 5,34% y 5,21% respectivamente, se encuentra entre el límite permisible para este parámetro, es decir que está dentro de los estándares permitidos por la normativa ambiental venezolana en relación a la práctica de biotratamiento en suelos.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- Los porcentajes de arena, arcilla y limo clasifican a la muestra estudiada como franco arenosa, lo que indica que esta textura resultó afectada por la contaminación.
- La adición de lixiviado de compost potenció un aumento en el pH de la muestra de suelo contaminada con petróleo pesado de medianamente ácido (5,98) a ligeramente ácido (6,30).
- El lixiviado de compost aplicado al suelo contaminado mejoró significativamente las propiedades físicas y químicas del suelo.
- En la primera y segunda semana de aplicación del lixiviado de compost se reportó una disminución del porcentaje de aceites y grasas de 0,31 % y 0,68% en comparación con la tercera semana, donde la reducción fue mayor (0,91%), por consiguiente, los resultados obtenidos fueron favorables a la biorremediación de suelos.
- La humedad y el contenido de fósforo de la muestra de suelo sin contaminar (17% y 5 mg/kg), no favorecieron la actividad microbiana y metabólica de los microorganismos actuantes en el proceso de la bioestimulación,
- En la aplicación de lixiviado de compost al suelo contaminado con crudo a una concentración de 15 ml se obtuvo una reducción significativa en los porcentajes de aceites y grasas, al igual que la de 30 ml. Siendo la última muestra (45 ml) en la que se obtuvo mayor reducción en los porcentajes de aceites y grasas.
- Los incrementos de las concentraciones de lixiviado de compost realizados, favorecieron al proceso de biorremediación, a mayor concentración, mayor es la reducción del porcentaje de aceites y grasas.

5.2 RECOMENDACIONES

- Estudiar el efecto de mayores concentraciones de lixiviado del compost sobre la capacidad de biorremediación por bioestimulación de un suelo contaminado con petróleo.
- Estudiar el efecto del lixiviado de compost sobre la capacidad de biorremediación por bioestimulación de un suelo contaminado con petróleo durante intervalos de tiempo mayores.
- Evaluar el efecto de distintos tipos de petróleo sobre la capacidad de biorremediación por bioestimulación de un suelo contaminado.
- Estudiar la acción biorremediadora del lixiviado de compost utilizando otros métodos como “bioventing” o “biosparging” sobre suelos contaminados con hidrocarburos.
- Usar solventes no reciclados en las pruebas de soxhlet de las normas EPA 9071b para obtener mayor arrastre de petróleo crudo.
- Continuar con los estudios de microorganismos asociados a los lixiviados de compost que degraden el crudo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACUÑA, O. (2003). *El uso de biofertilizantes en la agricultura*. Capítulo 4. En Meléndez, G. y Soto, G. (Eds.). *Taller de Abonos Orgánicos*. Centro de investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica. San Pedro de Montes de Oca. San José, Costa Rica. pp: 67-75.
- ALEF, K. (1995) *Soil Respiration. Methods in applied soil. Microbiology and Biochemistry*. Academic Press.
- ARIAS, F. (1999). *El proyecto de investigación* Editorial: Episteme. Caracas, Venezuela.
- BELLO J. Y LÓPEZ A. (2001). *Fundamentos de Ciencia Toxicológica*. Ediciones Díaz de Santos, S.A. Madrid, España.
- BUECHEL, T. (2016). *Promix. Centro de producción*. [Página web] Recuperado de: www.pthorticulture.com/es/.../uso-del-lixiviado-de-compost-en-sustratos/.
- BUENDIA, H. (2012). “Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante compost de aserrín y estiércoles”. Trabajo de maestría. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- DECRETO N° 2.635 (1998). Normas para el Control de la Recuperación de Materiales Peligrosos y el Manejo de los Desechos Peligrosos. Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela N° 5.212 (Extraordinario). Febrero 12, 1998.

- DORRONSORO, C. (2016). *Propiedades fisicoquímicas*. [Página web] Recuperado de: <http://www.edafologia.net/introeda/tema05/ccc.htm>
- ESCALONA, R. Y MEDINA, S. (2016) *Evaluación del grado de contaminación del suelo aledaño a los laboratorios de procesamiento y yacimientos de la UDO, Monagas, año 2015* (tesis de pregrado). Universidad de Oriente, Maturín, Venezuela
- FAO. ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA (2012). Taller Técnicas de compostaje. Organización de Naciones Unidas. Roma, Italia. 42p.
- FAO. ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA (2016). Recuperado de: <http://www.fao.org/soils-portal/about/definiciones/es/>
- FRICK, C.M., R.E et al, (1999). *Assessment of phytoremediation as an in situ technique for cleaning oil-contaminated sites*. PTAC Petroleum Technology Alliance. Calgary, Canadá. pp: 88
- GANTEN, DEICHMANN Y THILO (2004). *Vida, Naturaleza y Ciencia*. Editorial Santillana. Madrid, España.
- GLAZER, A.N. Y NIKAIDO, H. (1995). *Microbial Biotechnology: Fundamentals of Applied Microbiology*. W.H. Freeman and Company. Nueva York, Estados Unidos de América.
- GRANADOS, R. Y VILLAVERDE, M., (2003). *Microbiología*, Tomo I. (primera edición, tercera reimpresión), Ediciones Paranifo, S.A. Madrid, España.

GRECO, S. (1991). *Guía de recomendaciones para proteger el medio ambiente durante el desarrollo de la exploración y explotación de hidrocarburos*. Instituto Argentino del Petróleo, Buenos Aires. Recuperado de: <http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/ContamPetr.htm>.

GUTIÉRREZ, E., JUÁREZ, A. MONDRAGÓN, J. Y ROJAS, L. (2007) *Dinámica poblacional de la lombriz Eiseniafoetida en estiércol composteado y fresco de bovino y ovino*. REDVET. Madrid, España.

JIMÉNEZ, M. (2006) *Lixiviados*. [Página web] Recuperado de: www.compostadores.com/descubre-el-compostaje/.../181-lixiviados.html. Managua, Nicaragua.

LARCO, E. (2004). Preparación de lixiviados de compost y lombricompost. [Página web] Recuperado de: <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A1897e/A1897e.pdf>

MALDONADO, R. (2003). *Capítulo 6. Producto de la composta*. Universidad de las Américas de Puebla [Página web]. Recuperado de: http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/laec/maldonado_z_r/capitulo6.pdf. Puebla, México.

MARCANO, J. (2009). *Los biomas del mundo*. [Página web] Recuperado de: <http://www.jmarcano.com/nociones/bioma/sabana.html>

MÁRQUEZ, A. Y URQUIAGA, R. (2005). *Manual del Buen compostador*. Guía Básica para hacer compost. 5 p. Madrid, España: GRAMA (Grupo de Acción para el medio Ambiente)

- MISHRA, R., ROY, R. Y HIRAOKA, H. (2003). *On-farm Composting Methods*.
FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, Italia.
- NEGRO, M ., Villa, F., aibar J., Alarcon, R., ciria P., Cristobal m., Benito a., Garcia
Martin, A., GarciaMuriegas, G., Solano, M., Torner, c. y Zaragoza, C.
2000. *Producción y gestion del compost*. Diputación General de Aragón. DGA.
Departamento de Agricultura y Medio Ambiente. Centro de Tecnología
Agraria. Aragón, España. Pp: 5-15.
- PUERTAS, R. (2011) *Proceso de compostaje* Curso muros verdes y jardines
verticales, jardín botánico de Medellín Joaquín Antonio Uribe. Medellín,
Colombia. 6p.
- RAE (Real Academia Española) (2016). Madrid, España. Recuperado
de:<http://dle.rae.es/?w=sabanas>
- ROJAS, J. (2005). “*Guía de apoyo sobre las prácticas de las propiedades físicas y
químicas del suelo*”. Universidad de Oriente, Núcleo de Monagas.
- REICH, T. (2015). *Daño del suelo provocado por la perforación petrolera*.
Recuperado de: <http://documents.mx/documents/dano-del-suelo-provocado-por-la-perforacion-petrolera.html>
- SALAZAR, M. (2014). *Evaluación de parámetros físicos, químicos y
microbiológicos en el proceso de compostaje y composts finales, elaborados
con diferentes estiércoles*. (Tesis de pregrado). Universidad de Oriente,
Maturín, Venezuela.Pp:5-6-7-8-10-11-12.

- SALAZAR, L. Y SAAVEDRA, I. (2009). *Tratamientos de lixiviados, casos prácticos en diferentes temperaturas*. Universidad del Norte. Barranquilla, Colombia.
- SMITH, A., BROWN, K., OGILVE, S., RUSHTON, K. Y BATES J. (2001). *Wastemanagement options and Climate change. Final report to the European Comissions, DG Environment*. Francia, Unjón Europea. P. 205.
- TAMAYO, F. (1964). *Ensayo de clasificación de sabanas de Venezuela*. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
- TERRONES, E (2012). *Los derrames de petróleo en diversos países del mundo*. Recuperado de: <http://www.generacion.com/noticia/147800/de>
- TOLEDO, B., (2009). *Aplicación de procesos biológicos como medida remediación para recuperar suelos limo-arcillosos contaminados con gasolina*. Escuela Superior Politécnica del litoral. Guayaquil, Ecuador.
- TORRES, K Y ZULUAGA, T (2009). *Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos*. Trabajo de grado para optar el título de Ingeniería Química. Recuperado de: http://www.bdigital.unal.edu.co/815/1/32242005_2009.pdf.
- VASALLO, J., Y HERRERA, D. (2002). *Seminario de hidrocarburos*. Escuela Superior de Salud y Ambiente. Universidad Nacional del Comahue. Neuquén Argentina.
- VELASCO J. Y VOLKE, T. *Tecnologías de remediación para suelos contaminados* (2002). [Página web]. Recuperado de: www.inecc.gob.mx/descargas/publicaciones/372.pdf

ZAMORA, A., RAMOS J., Y ARIAS, M. (2012). *Efecto de la contaminación por hidrocarburos sobre algunas propiedades químicas y microbiológicas de un suelo de sabana*. Instituto de Zoología y Ecología Tropical, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela.
Recuperadode:http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S131633612012000100002

APÉNDICES

APÉNDICE A
NORMAS Y PROCEDIMIENTOS UTILIZADOS DURANTE LA
INVESTIGACIÓN

A.1 Densidad Real (Dr) por el Método del Picnómetro

Materiales:

- Picnómetro
- Plancha De Calefacción
- Balanza Analítica

Procedimiento:

1. Pesar el picnómetro lleno con agua destilada: P(g)
2. Bota la mitad de agua del picnómetro.
3. Pesar 5,0 g de suelo seco y tamizado 2,00 mm e introducir en el picnómetro.
4. Hervir por tres minutos sobre una plancha de calefacción.
5. Retirar y dejar enfriar a temperatura ambiente.
6. Completar el llenado del picnómetro con agua destilada.
7. Secar el picnómetro y pesarlo: P2(g)

Cálculo:

$$Dr = \frac{\text{Masa de suelo seco(g)}}{\text{Volumen de partículas } \left(\frac{\text{g}}{\text{cm}^3}\right)}$$

El volumen de las partículas se determinó mediante la ecuación siguiente:

$$V_{particulas} = \frac{P1 + PSS - P2}{\text{Densidad del agua pura}}$$

A.2 Densidad Aparente (Da), Método Del Umland

Equipos y Materiales:

- Martillo tipo Uhland
- Cilindro metálico tipo Uhland
- Balanza
- Estufa
- Palín
- Cuchillo

Procedimiento: se toma el muestreador tipo Uhland, dentro del cual se encajan anillos metálicos de un diámetro igual a 7,00 cm y una altura de 7,00 cm. El muestreador se introduce en el suelo ejerciendo una presión vertical, dejando caer el martillo de manera constante, luego se retira el aparato con el cilindro del suelo, tratando de enrasar con un cuchillo el exceso de material sobrante. El cilindro metálico con el suelo es trasladado al laboratorio en bolsas plásticas bien identificadas para determinarle el volumen y peso seco, obtenido en una estufa a 105°C durante 24 horas.

$$Da = \frac{\text{Peso del suelo seco}}{\text{Volumen del Cilindro}}$$

$$Da = PCDE - PC / Vc = PSS / 3,14 * r^2 * A$$

Dónde:

Da: densidad aparente del suelo (g/cm³)

PDCDE: Peso del cilindro después de estufa (g)

PC: Peso del cilindro (g)

Vc. Volumen del cilindro (cm³)

PSS: peso suelo seco (g)

R: radio del cilindro metálico (cm) y L: altura del cilindro metálico (cm)

A.3 Equivalente De Humedad por el Método De La Cápsula Metálica

Materiales:

- Capsula metálica
- Centrifugadora
- Estufa

Procedimiento:

1. Agregar cierta cantidad de suelo seco y tamizado a 2,00mm en una capsula metálica.
2. Saturar el suelo dejándolo por 24 horas dentro de una capsula de porcelana a ½ de agua destilada.
3. Retirar el suelo de la capsula y dejarlo drenar por 30 minutos.
4. Centrifugar el suelo por 30 minutos a 3500 r.p.m.
5. Secar el suelo en estufa a 105 grados centígrados por 24 horas una vez pesado : P1
6. Retirar el suelo de la estufa y realizar la pesada correspondiente: p2
7. Retirar el suelo de la capsula y pesarla: P3

$$\%H_2O \text{ eq} = \frac{\text{Agua contenida en el suelo}}{\text{PSS}} \times 100$$

$$\%H = \text{PDCADE} - \text{PDCDE} / \text{PSS} * 100$$

Donde:

- PDCADE: Peso del cilindro antes de estufa (g)
- PDCDE: Peso del cilindro después de estufa (g)
- PSS: peso suelo seco (g)

A.4 pH por el Método del Potenciómetro

Materiales y Procedimiento:

1. Seleccionar la relación suelo – agua en función de la textura del suelo a analizar, inclinándose en el % de arcilla y agregarla en un vaso para pH
2. Agitar durante 1,0 minuto (agitador de vidrio) la solución suelo-agua, dejar en reposo por 15,0 minutos
3. Repetir el paso 2
4. Calibrar el potenciómetro con soluciones buffer con rangos de pH 4,0 a 9,0
5. Introducir el electrodo del potenciómetro en la solución
6. Observar y anotar el valor de pH mostrado en pantalla del PH-METER una vez estabilizada
7. $\text{pH.} = -\log_{10} [\text{H}^+]$

A.5 Conductividad Eléctrica (CE) por el Método del Conductímetro

Materiales y Procedimiento:

1. Seleccionar la relación suelo – agua en función de la textura del suelo a analizar, inclinándose en el % de distribución de las partículas
2. Agitar durante 1,0 minuto la solución suelo-agua, dejar en reposo por 15,0 minutos
3. Repetir el paso 2
4. Calibrar el conductímetro con agua destilada (mínima cantidad de sales)
5. Introducir el electrodo del conductímetro en la solución
6. Observar y anotar el valor de CE mostrado en pantalla del conductímetro

A.6 Materia Orgánica por el Método del Colorímetro

Materiales y Procedimiento:

1. Pesar 1,00 a 0,50 gramos de suelo según el contenido de materia orgánica que contenga el suelo aplicando la visión ocular y agregarlo en un elermeyer de 500 ml.
2. Agregar 10 ml de dicromato de potasio 1N Y 10 ml de ácido sulfúrico 95% de pureza, agitarlo y dejarlo enfriar a temperatura ambiente.
3. Agregar 180ml de agua destilada, colocar 50ml de la solución en un tubo de ensayo y centrifugar a 3500 rpm por 5,00 minutos (usar cilindros graduados).
4. Colocar 5,00ml de la solución en el tubo de muestra del spectronic.
5. Obtener el porcentaje de tramitancia (%T) a una longitud de anda de 600u.
6. Para calibrar el equipo se prepara una solución o blanco mezclando todos los reactivos antes mencionados menos el suelo.

Cálculos:

- Porcentaje de materia orgánica (%MO) = $34,3469 - (17,1795 * \text{Log } \%T)$ / peso de la muestra.
- Porcentaje de carbono orgánico (% CO) = $15,34 - (7,69 \text{ Log } \%T)$ / peso de la muestra.

A.7 Aluminio Intercambiable (Al^{3+}), Por El Método De Cloruro De Potasio (KCl)

Materiales y Procedimiento:

1. Se pesa 5,0 gramos de suelo seco y tamizado a 2,00 mm y colocarlo en un tubo de 100,0ml de la centrifugadora.
2. Agregar 50,0 ml de solución KCL 1N y agitarlo por 30,0 minutos en un agitador mecánico
3. Centrifugar a 3500 rpm durante 5,0 minutos y filtrar en un elermeyer de 150,0 ml
4. Agregar 3,0 gotas de fenolftaleína 1% P/v, luego titular con solución de NaOH 0,01 N (aparición de color rosado)
5. Adicionar 10,0 ml de la solución fluoruro de sodio NaF al 2% p/V y titular con solución de HCL 0,01 N (inoloro)

$$\text{meq totales}/100 \text{ gs de suelo} = V.\text{NaOH} \times N.\text{NaOH} \times 20,0$$

$$\text{meq Al}^{3+}/100 \text{ gs de suelo} = V.\text{HCL} \times N.\text{HCL} \times 20,0$$

A.8 Fósforo en el Suelo, Método de Bray I

Materiales:

Balanza analítica, tubo de centrifugación de 100,0ml, centrifugadora, embudos de filtración, papel de filtro, pipetas de 4,0 y 5,0ml, balón aforado de 25,0ml, spectronic y curva de calibración de fósforo.

Soluciones:

- Solución acida de de NH_4F y HCl al 1N
- Solución reveladora de color (ácido sulfúrico, molibdato de amonio y tartrato de potasio)
- Ácido ascórbico
- Agua destilada

Procedimiento:

- 1- Se pesan 2,0 gramos de suelo seco y tamizado a 2,00 mm y colocarlo en un tubo de 100,0ml de la centrifugadora.
- 2- Agregar 20,0 ml de solución extractora NH_4F y HCl 1N y agitarlo por 5,0 minutos en un agitador mecánico, centrifugar a 3500 rpm durante 5,0 minutos y filtrar en embudo de filtración
- 3- Extraer 5,0ml del filtrado y adicionarlo en el balón de 25,0ml, adicionar 4,0ml de solución reveladora de color más ácido ascórbico y completar al menisco con 16,0ml de agua destilada
- 4- Dejar en reposo por 1,0 hora.
- 5- Determinar el porcentaje de transmitancia (%T) a una longitud de onda de 660nm, pero antes calibrar el spectronic con un blanco preparado mezclando todos los reactivos usados en el ensayo menos el suelo y el ácido ascórbico.

Cálculo:

PPM de fósforo en el suelo = PPM de fósforo en la gráfica * $20 \cdot 25 / 2 \cdot 5$

Nota: Para obtener el valor de fósforo en la gráfica, primero se corta la curva con el porcentaje de transmitancia calculado y segundo se proyecta el punto de corte hasta el valor de la concentración de fósforo deseada.

A.9 Capacidad de Cambio o Intercambio Iónico (CIC), Método teórico

Materiales:

Tubo de centrifugación de 100,0ml, balanza analítica, centrifugadora, cilindros graduados de 10 y 100ml, matraz aforado de 250 ml y papel de filtro.

Soluciones:

- Solución de Acetato de amonio 1 N, el pH debe ser aproximadamente de 8,3
- Etanol al 95 por ciento y formol pH 7,0
- Solución de cloruro de sodio NaCL AL 10% P/v
- Formol a pH 7,0
- Fenolftaleina al 1,0%
- Solución de hidróxido de sodio 0,01 N
- Bureta, Beaker, Cilindro graduado y Tubo de centrifugación
- Agua destilada

Procedimiento:

Se pesan 5 gramos de suelo y colocarlo a un tubo de centrifugación de 100,0ml.

1- Reemplazo de cationes intercambiables por amonio:

Se agregan 30 ml de acetato de amonio agitando durante 30 minutos, se

centrifuga 5 minutos a 3500 r.p.m. para que el líquido quede claro. Se decanta lo más completo que sea posible a un matraz aforado de 250 ml. Este procedimiento se repite dos veces más, y se completa el volumen del matraz con acetato de amonio. Esta solución contiene los cationes intercambiables del suelo, reemplazados por el amonio. Las concentraciones de los distintos cationes se determinan por los métodos descriptos abajo o por absorción atómica.

2- Eliminar los polímeros:

Se agregan 30 ml de alcohol, se centrifuga 5 minutos a 3500 r.p.m. y se conserva el decantado para la recuperación del alcohol, este procedimiento se repite dos veces más.

3- Sustitución o reemplazo del amonio por sodio en el suelo:

Se agregan 50,0ml de cloruro de sodio al 10,0 %, agitar por 30,0 minutos, centrifugar por 5,0 minutos y filtrar el decantado. En este procedimiento el amonio que estaba en el coloide del suelo pasa a la solución.

4- Estabilizar reacción:

Adicionar 10,0 ml de formol a PH 7,0

5- Valorar el amonio (Determinar las cargas negativas del suelo):

Adicionar tres gotas de indicador y Titular con una solución de hidróxido de sodio al 0,01 N.

Cálculos y resultados:

$$\text{CIC (meq / 100 gs de suelo)} = V.\text{NaOH} \times N.\text{NaOH} \times 20,0$$

A.10 Textura (T), Método De Bouyoucos

Materiales y Procedimiento (método de bouyoucos):

1. Pesar 50,00 gramos de suelo para texturas finas y 100,00 gramos para texturas gruesas y colocarlo en un vaso de Bouyoucos.
2. Agregar 50,00ml de dispersante (polifosfato de sodio y carbonato de calcio)
3. Agitar por 5,00 minutos en un agitador mecánico.
4. Colocar la solución en el cilindro aforado de Bouyoucos el cual consta de dos aforos, aforo inferior para la pesada de 50,00 gramos de suelo y el superior para la pesada de 100,00 gramos, estos aforos se logran solo con el hidrómetro dentro de la solución para este ensayo..
5. Agitar la solución con la virilla de Bouyoucos aproximadamente un minuto.
6. Introducir el hidrómetro en la solución y tomar la lectura en g/L a los 40,00 segundos, posteriormente se introduce un termómetro y se toma la temperatura de la solución en grados centígrados.
7. Dejar en reposo una hora y luego hacer una segunda medición igual a la anterior, sin agitar la solución.

Cálculos:

Nota: debido a que el hidrómetro es fabricado en otro país (EE.UU), se tiene que corregir la lectura de este en función de la temperatura.

Temperatura corregida (T_c) = $27,93 - Y / 2,07(\cdot c)$

Lectura del hidrómetro corregida (LH_c) = $T_c + LH(g/L)$

Porcentaje de arena (%a) = $100 - (LH_c \text{ a los } 40 \text{ Sg}) / \text{peso de la muestra} * 100$

Porcentaje de arcilla (%A) = $LH_c \text{ a una hora} / \text{peso de la muestra} * 100$

Porcentaje de limo (%L) = $100 - (\% a + \% A)$

Dónde:

- **T_c**: Temperatura corregida
- **Y**: Temperatura del termómetro
- **LH_c**: Lectura del hidrómetro corregida
- **LH**: Lectura del hidrómetro

Los porcentajes de a, A y L, calculados son llevados al triángulo de texturas, el cuál especificara la textura del suelo analizado.

A.11 Caracterización del crudo

Para esta etapa de la investigación, la muestra de petróleo fue sometida a una serie de pruebas en los laboratorios de la Universidad de Oriente, Núcleo de Monagas. Fue determinada la densidad de la muestra de petróleo a través del método del picnómetro mediante la Norma ASTM D-891, en el apéndice A.11.1 se describe el procedimiento experimental para esta prueba.

La determinación de la gravedad API del crudo estudiado estuvo regida por la norma ASTM D-287:2000. Esta norma está basada en la utilización de un hidrómetro en el cual se observa de manera directa la gravedad API.

Hidrómetro: 14,8

Propiedades	Unidad	Crudo
Color y Apariencia	adimensional	Sustancia negra y viscosa
Gravedad °API (60°)	adimensional	14,8
Densidad	g/ml	0,9975
Viscosidad dinámica (25°C)	cP	168,59

A.11.1 Norma ASTM- D 891 Método del picnómetro

Procedimiento experimental:

1. Se anota el valor del volumen del picnómetro que tiene registrado en la pared del frasco.
2. Se pesa el picnómetro vacío, seco y limpio en la balanza analítica.
3. Se llena el picnómetro con las diferentes muestras de crudos y se coloca su tapón, el cual está provisto de un termómetro que facilita la medición de la temperatura.
4. Se coloca el tapón, hasta que parte del líquido se derrama, se secan bien las paredes externas del picnómetro, esto para evitar que el líquido que queda en las paredes externas provoque errores en la medición.
5. Se pesa el picnómetro lleno en la balanza analítica.
6. Se determina la densidad de la muestra a temperatura ambiente utilizando la siguiente ecuación:

$$\rho_{\text{crudo}}(\text{g/ml}) = \frac{\text{masa del picnómetro lleno (g)} - \text{masa del picnómetro vacío (g)}}{\text{volumen del picnómetro (ml)}}$$

A.10.2 Norma ASTM D 2196-10 Prueba del viscosímetro de Brookfield para la determinación de la viscosidad del crudo.

Procedimiento experimental:

1. Se selecciona una mecha de 0,3 a 100 rpm de acuerdo a la °API de la muestra.
2. Se llena un beaker de 500 ml con la muestra de crudo utilizada.
3. Luego se introduce el rotor del viscosímetro en el beaker lleno de crudo hasta la marca indicada, teniendo precaución de no tocar las paredes, ni el fondo del mismo.
4. Se enciende el viscosímetro y se deja rotar hasta que se estabilice la mecha y arroje un resultado.
5. Se anota el valor de la viscosidad que se observa en la pantalla del viscosímetro.
6. Se calcula la viscosidad cinemática de la siguiente ecuación:

$$v \text{ (cSt)} = \frac{\mu_{\text{dinámica}} \text{ (cPs)}}{\rho \text{ (g/ml)}}$$

A.11.3 Norma ASTM D 287. Determinación de la gravedad API mediante un Hidrómetro

Procedimiento Experimental:

1. Se coloca en un cilindro seco, limpio y a temperatura ambiente, 500 ml de muestra.
2. Se sumerge el hidrómetro en la muestra dejándolo descender suavemente, cuando este en reposo se deja que flote libremente, sin tocar las paredes del cilindro, dejando el vástago del hidrómetro seco para evitar lecturas erróneas.
3. Se lee la gravedad API, anotando la lectura en el cual el nivel del líquido interceptó la escala del hidrómetro.

4. Se saca el hidrómetro, dejando el bulbo del mismo dentro de la muestra y se lee la temperatura a la cual se encontraba el crudo.
5. Se corrige la gravedad API a condiciones normales (60°F y 14,7 lpc).

La corrección de la Gravedad API fue realizada mediante las ecuaciones obtenidas a partir de las tablas estándares de la ASTM (TABLE 2 (ASTM TABLE 5) “REDUCTION OF OBSERVED API GRAVITY TO API AT 60 °F”).

A.12 Medición de la respirometría

Metodología

Respiración basal: el método se fundamenta en la determinación del CO₂ liberado durante la incubación del suelo en un sistema cerrado. El CO₂ se captura en una trampa de KOH, la cual se titula posteriormente con HCL (Alef, 1995).

Se colocan 10g de suelo fresco a 50% de su capacidad de campo, en un frasco de 50 ml, se suspende un vial dentro del frasco que contenga 15ml de KOH 0,1 N, se tapa herméticamente y se deja incubado a temperatura ambiente durante 48 horas. Se prepara un blanco sin suelo. Concluida la incubación se recupera el recipiente que contiene el hidróxido y el CO₂ liberado y capturado, se traspara a una fiola y se agregan 2 gotas de Fenolftaleina, como indicador, y se titula con HCL 0,1 N, hasta el viraje de color rosado a incoloro.

$$\text{MgCO}_2 = (\text{B}-\text{V}) \times \text{N} \times \text{Z}$$

Donde:

B= Volumen del HCL gastado en la neutralización del blanco

V= Volumen de HCL gastado en la titulación del KOH

N= Normalidad del ácido

Z= peso equivalente del CO₂ = PM/2= 22

MUESTRA DE CALCULOS

A.1 Densidad real (Dr) mediante el método del picnómetro.

$$Dr = \frac{\text{Masa de suelo seco}(g)}{\text{Volumen de partículas}(cm^3)}$$

El volumen de las partículas se determinó a través de la siguiente ecuación:

$$V_{particulas} = \frac{P1 + PSS - P2}{\text{Densidad del agua pura}}$$

Muestra (Suelo contaminado)

$$V_{particulas} = \frac{47,8900 g + 5,0g - 50,81g}{1(g/cm^3)}$$

$$V_{particulas} = 2,0803g/cm^3$$

$$Dr = \frac{5(g)}{2,0803(cm^3)} = 2,4035cm^3$$

$$Dr = 2,4035cm^3$$

A.2 Determinación de la densidad aparente (Da) mediante el método de Uhland.

$$Da = \frac{\text{peso del suelo seco (PSS)}}{V_{\text{cilindro}}}$$

ó

$$Da = \frac{\text{peso del suelo seco (PSS)}}{\pi \times r^2 \times A}$$

Donde:

- Da: densidad aparente del suelo (g/cm^3)
- V cilindro: Volumen del cilindro (cm)
- PSS: peso suelo seco (g)
- r: radio del cilindro metálico (cm)
- A: altura del cilindro metálico (cm)

Muestra (Suelo contaminado)

$$Da = \frac{473 \text{ g}}{\pi \times 3,65^2 \times 9}$$

$$Da = 1,26 \text{ g/cm}^3$$

- **Equivalente de humedad (%H₂O eq) por el método de la cápsula metálica.**

$$\%H_2O \text{ eq} = \frac{\text{Agua contenida en el suelo (P1-P2)}}{PSS(P2-P3)} \times 100$$

El agua contenida en el suelo se determinó mediante la siguiente ecuación:

Agua contenida en el suelo = $P_{cilindroAE} - P_{cilindroDE}$

Donde:

PDCADE: Peso del cilindro antes de estufa (g)

PDCDE: Peso del cilindro después de estufa (g)

PSS: peso suelo seco (g)

Muestra (Suelo contaminado)

Agua contenida en el suelo = $102,9490g - 101,5301g$

Agua contenida en el suelo = $1,4189g$

$$\%H_2O_{eq} = \frac{1,4189g}{22,3383g} \times 100$$

$$\%H_2O_{eq} = 6,35$$

- **Materia Orgánica por el Método del Colorímetro**

$$(\%MO) = \frac{34,3469 - (17,1795 * \text{Log } \%T)}{\text{peso de la muestra}}$$

$$(\%MO) = \frac{34,3469 - (17,1795 * \text{Log } \%77,7)}{1ml}$$

$$(\%MO) = 1,87$$

- **Aluminio Intercambiable (Al^{3+}), por El Método De Cloruro De Potasio (KCl).**

$$\frac{meqAl^{3+}}{100 \text{ gdesuelo}} = V.HCL \times N.HCL \times 20,0$$

$$Al^{3+} = 0,6 \times 0,01 \times 20,0$$

$$Al^{3+} = 0.12 \text{ meq} / 100 \text{ gsuelo}$$

- **Fósforo en el Suelo por el método de Bray I**

$$\text{PPM de fósforo en el suelo} = \text{PPM de fósforo en la gráfica} \times \frac{20 \times 25}{2 \times 5}$$

$$\text{PPM de fósforo en el suelo} = 0,11 \times \frac{20 \times 25}{2 \times 5}$$

$$\text{PPM de fósforo en el suelo} = 5.5$$

- **Capacidad de Cambio o Intercambio Iónico (CIC), por el método de acetato de amonio.**

$$\text{CIC (meq / 100 gs de suelo)} = V.NaOH \times N.NaOH \times 20,0$$

$$\text{CIC (meq / 100 gs de suelo)} = 0.65 \times 0,62 \times 20,0$$

$$\text{CIC (meq / 100 gs de suelo)} = 8,06$$

- **Porcentaje de aceites y grasas**

$$\%AyG = \frac{Masadeaceite}{Masadesueloinicial} \times 100$$

$$\text{Masa de aceite} = \text{Suelo}_{inicial} - (\text{Suelo}_{destilado} + \text{Masa}_{agua})$$

Muestra suelo contaminado

Repetición 1

$$\text{Masa de aceite} = 10 - (9,4319 + 0,00283)$$

$$\text{Masadeaceite} = 0,5653 \text{ g}$$

$$\% \text{AyG} = \frac{0,5653}{10} \times 100$$

$$\% \text{AyG} = 5,653 \text{ g}$$

Repetición 2

$$\text{Masa de aceite} = 10 - (9,4624 + 0,00283)$$

$$\text{Masadeaceite} = 0,5348 \text{ g}$$

$$\% \text{AyG} = \frac{0,5348}{10} \times 100$$

$$\% \text{AyG} = 5,3480 \text{ g}$$

Repetición 3

$$\text{Masa de aceite} = 10 - (9,4762 + 0,00283)$$

$$\text{Masa de aceite} = 0,5210 \text{ g}$$

$$\% \text{AyG} = \frac{0,5210}{10} \times 100$$

$$\% \text{AyG} = 5,2100 \text{ g}$$

$$\%AyG \text{ promedio} = \frac{5,65+5,35+5,21}{3}$$

$$\%AyG \text{ promedio} = 5,40$$

- **Caracterización del crudo**

$$\rho = \left(\frac{26,4013 \text{ g} - 16,4266 \text{ g}}{10 \text{ ml}} \right)$$

Dónde:

ρ = densidad de la muestra (g/ml)

m_{pleno} = peso del picnómetro lleno (g)

$m_{\text{pvacío}}$ = peso del picnómetro vacío (g)

V_{pic} = volumen del picnómetro (ml)

$$\rho = 0,9975(\text{g} / \text{ml})$$

- **Medición de la respirometría**

Muestra de suelo contaminado con crudo

$$\text{MgCO}_2 = (11-8) \times 0,1 \times 22$$

$$\text{MgCO}_2 = 6,6$$

Muestra de suelo contaminado con crudo y lixiviado

$$\text{MgCO}_2 = (11-8) \times 0,1 \times 22$$

$$\text{MgCO}_2 = 6,6$$

Muestra de suelo con lixiviado

$$\text{MgCO}_2 = (11-9) \times 0,1 \times 22$$

$$\text{MgCO}_2 = 4,4$$

APÉNDICE B
DATOS USADOS COMO REFERENCIAS DURANTE LA INVESTIGACIÓN

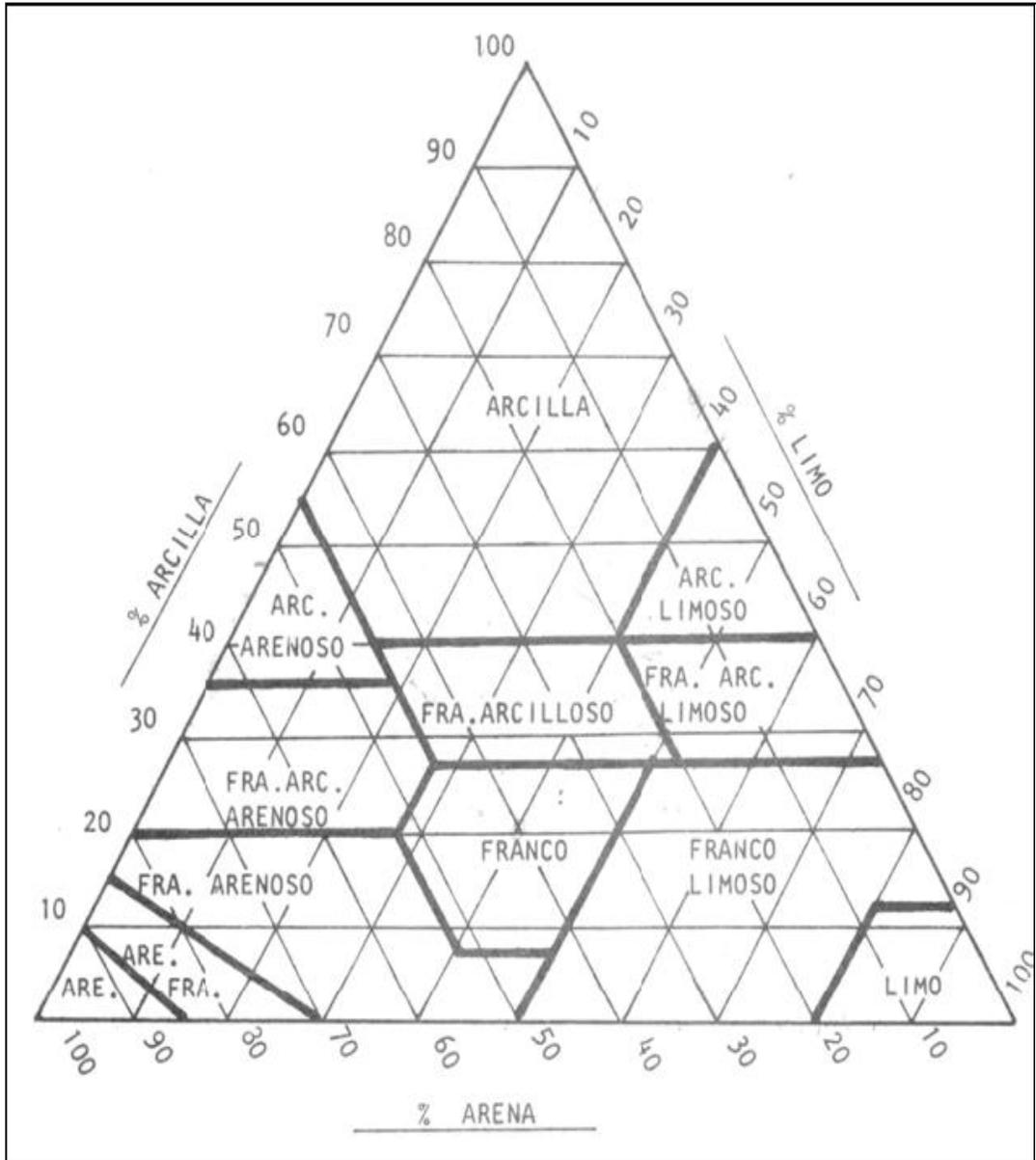


Figura B.1 Triángulo de texturas

Fuente: Rojas, 2005

Tabla B.2 Valores para evaluar la densidad aparente

Densidad aparente (g/cm ³)		
Arcillo/franco-arcillosos	> 1,3	Altos
Franco/franco-limoso	> 1,4	Altos
Franco-arenoso	> 1,6	Altos

Fuente: Rojas 2009

Tabla B.3 Clasificación del suelo según su grado de acidez

Valor del pH	Evaluación
< 4.5	Extremadamente ácido
4.5 - 5.0	Muy fuertemente ácido
5.1 - 5.5	Fuertemente ácido
5.6 - 6.0	Medianamente ácido
6.1 - 6.5	Ligeramente ácido
6.6 - 7.3	Neutro
7.4 - 7.8	Medianamente básico
7.9 - 8.4	Moderadamente básico
8.5 - 9.0	Ligeramente alcalino
9.1 - 10.0	Alcalino
> 10.0	Fuertemente alcalino

Fuente: Rojas, 2005

Tabla B.4Valores de conductividad de algunas muestras típicas

Muestra	Conductividad a 25°C
Agua Ultra-pura	0.05 $\mu\text{S}/\text{cm}$
Agua de alimentación a calderas	1 a 5 $\mu\text{S}/\text{cm}$
Agua potable	50 a 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$
Solución de Suelo	0.5 - 2.5 mS/cm
Agua de mar	53.0 mS/cm
5 % NaOH	223.0 mS/cm

Fuente: Rojas, 2005

Tabla B.5Clasificación de suelos Vs salinidad

Parámetros	Salino	Normal	Sódico	Salino-Sódico
pH	< 8.5	< 8.5	> 8.5	> 8.5
C.E. (dS/m)	> 4	< 4	< 4	> 4

Fuente: Rojas, 2005

Tabla B.6 Clasificación de la Salinidad de suelos

Tipo de Suelo	Salinidad	C.E. (dS/m)	Efectos
Normales	Muy ligera	0-2	Casi nulos
	Ligera	2-4	Puede afectar a cultivos sensibles
Salinos	Media	4-8	La mayoría de los cultivos son afectados
	Fuerte	8-16	Solo pueden prosperar cultivos tolerantes
	Muy Fuerte	> 16	Solo se desarrollan cultivos muy tolerantes

Fuente: Rojas, 2005

Tabla B.7 Interpretación de Materia Orgánica oxidable

Materia Orgánica (%)
< 0,9 Muy bajo
1,0 – 1,9 Bajo
2,0 – 2,5 Normal
2,6 – 3,5 Alto
> 3,6 Muy alto

Fuente: Rojas, 2005

Tabla B.8 Interpretación del Fósforo asimilable

P (mg/kg)
0 – 6 Muy bajo
6 – 12 Bajo
12 – 18 Normal
18 – 30 Alto
> 30 Muy alto

Fuente: Rojas, 2005

Tabla B.9 Valores medios de CIC según la textura del suelo

Tipos de suelo	Rango
Suelos arenosos	1-5 meq / 100 g
Suelos francos	5-15 meq / 100 g
Suelos arcillosos	15-30 meq / 100 g
Turba de sphagnum	100 meq / 100 g
Valor extremo inferior	< 5 meq / 100 g
Valor extremo superior	> 30 meq / 100 g
Humus	150-500 meq / 100g

Fuente: Rojas, 2005

Tabla B.10 Interpretación de la C.I.C.

C.I.C (meq/100 g)
< 6 Muy bajo
6 – 12 Bajo
12 – 25 Medio
25 – 40 Alto
> 40 Muy alto

Fuente: Rojas, 2005

APÉNDICE C

**PORCENTAJES DE ACEITE Y GRASAS DE LAS MUESTRAS 1, 2, 3 Y 4
OBTENIDOS A TRAVÉS DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN SOHXLET**

Tabla C.1 Porcentajes de aceite y grasa de la muestra patrón

Muestra Patrón		
Fecha	%AyG Repeticiones	%AyG Promedio
31-10-2016	5,65	5,40
	5,34	
	5,21	

Tabla C.2 Porcentajes de aceite y grasa de la muestra 1

Muestra 1 (15 ml)		
Fecha	%AyG Repeticiones	%AyG Promedio
07-11-2016	4,64	4,92
	5,02	
	5,09	
14-11-2016	4,22	4,13
	3,78	
	4,40	
21-11-2016	3,49	3,75
	3,84	
	3,91	

Tabla C.3 Porcentajes de aceite y grasa de la muestra 2

Muestra 2 (30 ml)		
Fecha	%AyG Repeticiones	%AyG Promedio
07-11-2016	2,76	3,3
	3,28	
	3,86	
14-11-2016	2,55	2,77
	2,98	
	2,77	
21-11-2016	1,26	1,75
	1,73	
	2,27	

Tabla C.4 Porcentajes de aceite y grasa de la muestra 3

Muestra 3 (45 ml)		
Fecha	%AyG Repeticiones	%AyG Promedio
07-11-2016	0,92	1,66
	1,34	
	2,72	
14-11-2016	0,41	0,70
	0,70	
	0,99	
30-11-2016	0,22	0,48
	0,60	
	0,63	

APÉNDICE D
MEMORIA FOTOGRAFICA



Figura D.1 Tamizado de muestra de suelo antes de contaminar.



Figura D.2 Spectronic, para cálculo de concentraciones de absorbancia y transmitancia.



Figura D.3 Reactivos utilizados durante la titulación



Figura D.4 Agitador de muestras



Figura D.5 Contaminando el suelo con crudo.



Figura D.6 Tamizado de muestras de suelo después de contaminar y adicionando lixiviado de compost.



Figura D.7 Determinación del pH por el Método del Potenciómetro



Figura D.8 Determinación de la conductividad Eléctrica (CE) por el Método del Conductímetro.

HOJA DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso - 1/6

Título	ESTUDIO DE LA BIORREMEDIACIÓN DE UN SUELO DE SABANA CONTAMINADA CON PETRÓLEO CRUDO APLICANDO LIXIVIADO DE COMPOST COMO BIOESTIMULADOR
---------------	--

El Título es requerido. El subtítulo o título alternativo es opcional.

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Sabín Palmares, Ana María	CVLAC	C.I.19.446.475
	e-mail	Anasabin31@hotmail.com
González Rosas, Enrique José	CVLAC	C.I.20.325.756
	e-mail	Enriquejgr1@gmail.com

Se requiere por lo menos los apellidos y nombres de un autor. El formato para escribir los apellidos y nombres es: "Apellido1 InicialApellido2., Nombre1 InicialNombre2". Si el autor está registrado en el sistema CVLAC, se anota el código respectivo (para ciudadanos venezolanos dicho código coincide con el número de la Cedula de Identidad). El campo e-mail es completamente opcional y depende de la voluntad de los autores.

Palabras o frases claves:

Biorremediación
Sabana
Crudo
Lixiviado de compost

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso - 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Sub-área
Tecnología y Ciencias Aplicadas	Ingeniería de petróleo

Debe indicarse por lo menos una línea o área de investigación y por cada área por lo menos un subárea. El representante de la subcomisión solicitará esta información a los miembros del jurado.

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo principal el estudio de la biorremediación de un suelo de sabana contaminado con petróleo crudo pesado aplicando lixiviado de compost como bioestimulador. En primer lugar, se realizaron tres caracterizaciones del suelo: la primera antes de contaminar, la segunda, después de contaminado el suelo y finalmente aplicando lixiviado de compost al suelo contaminado con crudo. Igualmente, se determinaron las propiedades del lixiviado de compost. De igual manera, se les calculó el porcentaje de aceites y grasas siguiendo la norma EPA 9071b, una vez aplicado las concentraciones de lixiviado de compost (15 ml, 30 ml y 45ml) a las muestras contaminadas con crudo por un periodo de siete, catorce y veintiún días. Seguidamente, se aplicó un contraste múltiple de rango basado en la mínima diferencia significativa. A partir del desarrollo de la investigación se concluyó que los valores de porcentaje de aceites y grasas se redujeron significativamente en las primeras dos semanas, sin embargo en la tercera semana se obtuvo mayor reducción, obteniendo más eficacia a mayor concentración (45 ml).

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso - 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Prof. Tomas Marín	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input checked="" type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	C.I: 11538773
	e-mail	tdmarin@udo.edu.ve
	e-mail	
Prof. José Garcia	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	C.I: 9895535
	e-mail	josgar01@gmail.com
	e-mail	
Prof. Cesar Rivero	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	C.I.: 5553689
	e-mail	crivero@udo.edu.ve
	e-mail	

Se requiere por lo menos los apellidos y nombres del tutor y los otros dos (2) jurados. El formato para escribir los apellidos y nombres es: "Apellido1 InicialApellido2., Nombre1 InicialNombre2". Si el autor esta registrado en el sistema CVLAC, se anota el código respectivo (para ciudadanos venezolanos dicho código coincide con el numero de la Cedula de Identidad). El campo e-mail es completamente opcional y depende de la voluntad de los autores. La codificación del Rol es: CA = Coautor, AS = Asesor, TU = Tutor, JU = Jurado.

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2017	05	05

Fecha en formato ISO (AAAA-MM-DD). Ej: 2005-03-18. El dato fecha es requerido.

Lenguaje: spa

Requerido. Lenguaje del texto discutido y aprobado, codificado usando ISO 639-2. El código para español o castellano es spa. El código para ingles en. Si el lenguaje se especifica, se asume que es el inglés (en).

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso - 4/6

Archivo(s):

Nombre de archivo
Enrique.Gonzalez_Ana.Sabin.docx

Caracteres permitidos en los nombres de los archivos: **A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U
V W X Y Z a b c d e f g h i j k l m n o p q r s t u v w x y z 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 _ - .**

Alcance:

Espacial: _____ (opcional)

Temporal: _____ (opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo:

INGENIERO DE PETRÓLEO

Dato requerido. Ejemplo: Licenciado en Matemáticas, Magister Scientiarum en Biología Pesquera, Profesor Asociado, Administrativo III, etc.

Nivel Asociado con el trabajo: ***INGENIERÍA***

Dato requerido. Ej: Licenciatura, Magister, Doctorado, Post-doctorado, etc.

Área de Estudio:

TECNOLOGÍA Y CIENCIAS APLICADAS

Tecnología y ciencias aplicadas

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

Universidad de Oriente Núcleo Monagas

Si como producto de convenciones, otras instituciones además de la Universidad de Oriente, avalan el título o grado obtenido, el nombre de estas instituciones debe incluirse aquí.

Hoja de metadatos para tesis y trabajos de Ascenso- 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CU N° 0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

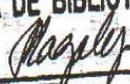
Leído el oficio SIBI - 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

Comunicación que hago, a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,


JUAN A. BOLANOS CUAQUE
Secretario



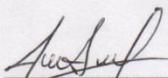
UNIVERSIDAD DE ORIENTE
SISTEMA DE BIBLIOTECA
RECIBIDO POR 
FECHA 5/8/09 HORA 5:30

C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YOC/maruja

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicado CU-034-2009): “Los Trabajos de Grado son de exclusiva propiedad de la Universidad, y solo podrán ser utilizados a otros fines, con el consentimiento del Consejo de Núcleo Respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario, para su autorización.”



Ana María Sabín

Autor



Enrique González

Autor



Prof. Tomas Marín

Tutor