



UNIVERSIDAD ADOLFO IBÁÑEZ

TESIS DE MAGÍSTER

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE
BIORREMEDIACIÓN DE ACUÍFEROS
SUBTERRÁNEOS CONTAMINADOS CON BTEX
EN LA ZONA DE QUINTERO**

Autor:

CATALINA ANDREA GUZMÁN PAZ

Profesores guía:

BERNARDO GONZÁLEZ

CEDRIC LITTLE

Tesis realizada acorde a los requerimientos para el grado de Magíster en Ciencias de la Ingeniería – Energía y Medioambiente y para el título de Ingeniería Civil en Bioingeniería de la

Facultad de Ingeniería y Ciencias

Diciembre, 2022

Resumen

En este trabajo se estudió el potencial de biorremediación de una pluma presente en acuíferos a nivel freático dentro de la Bahía de Quintero, que se encuentran contaminados con hidrocarburos como lo son los BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xileno), que se acumulan en una fase libre no acuosa (FLNA). Ésta se disuelve en aguas subterráneas causando daños colaterales negativos para el medioambiente y la salud de las personas. Con el fin de estudiar el comportamiento de la pluma contaminada, se realizaron pruebas a nivel de laboratorio con muestras obtenidas del lugar. Se midió la absorbancia de estas y se realizó un ensayo de DQO para luego hacer una relación con COT. En primera instancia, se realizó un experimento donde se añadió nitrógeno y fósforo con el fin de fomentar una posible actividad bacteriana degradativa de la muestra y se realizaron dos condiciones extra donde se añadió tolueno y xileno en una, y ácido 4-hidroxibenzóico en otra, para analizar el comportamiento de la muestra frente a estos compuestos, sin embargo, no se detectó degradación de BTEX. Después, se realizó un segundo experimento donde se aumentaron 10 y 100 veces las cantidades de nitrógeno y fósforo, y se incorporó el consorcio microbiano Aquabact, complemento bioaumentador de la empresa Ecotecnos, además de una condición donde se agregaron también benceno, tolueno y xileno, en este caso sí pudo percibirse degradación de BTEX. Luego, se realizó una exploración bacteriana de las muestras incorporando diferentes compuestos como benceno, tolueno, xileno, fenol y ácido 4-hidroxibenzóico y succinato. Finalmente, a partir de los parámetros del sitio contaminado, se modeló un tratamiento de bioaumentación basado en los resultados obtenidos en los experimentos y se comparó con la situación actual mediante simulaciones computacionales, para esto fue utilizado el programa GMS de Aquaveo con las herramientas MODFLOW y RT3D, donde pudieron verse mejores resultados, en términos de disminución de BTEX, al realizar un proceso de bioaumentación y pozos de bombeo con inyección de nitrato. En base a lo anterior, se recomienda retirar toda la fase libre y posteriormente, realizar un tratamiento de bioaumentación.

Palabras clave: (Bio)degradación, BTEX, hidrocarburos, biorremediación, FLNA, GMS.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	4
II.	ESTADO DEL ARTE	6
	Movilidad de los HCs	6
	BTEX	7
	Tratamiento de HCs	8
	Biorremediación	9
	GNL Quintero.....	11
III.	HIPÓTESIS, OBJETIVO GENERAL Y OBJETIVOS ESPECÍFICOS DE TRABAJO	14
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS	15
	Muestras	15
	Medición de la concentración de HCs	15
	Medición COT	16
	Medición de la biodegradación de HCs	16
	Bioestimulación	17
	Bioaumentación	17
	Exploración bacteriana	18
	Escalamiento de resultados	19
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
	Muestras	21
	Concentración HCs	21
	COT	22
	Bioestimulación	23
	Bioaumentación	26
	Exploración bacteriana	30
	Escalamiento de resultados	35
VI.	CONCLUSIONES	43
VII.	BIBLIOGRAFÍA	44
	ANEXOS	50

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos cien años la contaminación del planeta por causas antropogénicas ha ido en aumento producto de las emisiones de las industrias, explotación de recursos, generación de residuos, entre otros. Dentro de las situaciones que causan un gran impacto ambiental, se encuentran los derrames o fugas de combustible de las industrias que utilizan petróleo y derivados en sus operaciones, que generan consecuencias como la disminución de la flora y fauna, contaminación de aire y suelos, deterioro de la calidad del paisaje, riesgo de intoxicación de la población, disminución de fuentes alimenticias, cambios en la composición del suelo, entre otros [1]. La principal composición del combustible corresponde a hidrocarburos (HC), que son compuestos orgánicos formados mayoritariamente por cadenas de átomos de carbono e hidrógeno y pueden encontrarse en estado sólido, líquido o gaseoso [2]. Estos contaminantes se pueden identificar en lugares que han sufrido derrames particulares o aquellos que presentan actividad petrolera. Por ejemplo, a nivel país ocurrieron un total de 120 derrames importantes de HC entre los años 2004 y 2019, sumando un total de 2.572.728 litros de mezclas oleosas y diésel. Estos sucesos se deben a que en Chile existen múltiples oleoductos, terminales marinos y empresas que se dedican a la refinación del petróleo, además de otras que lo utilizan en sus operaciones [3]. El Ministerio del Medio Ambiente define actividades potencialmente contaminantes como aquellas que en alguna fase de su proceso manejan o producen residuos peligrosos [4].

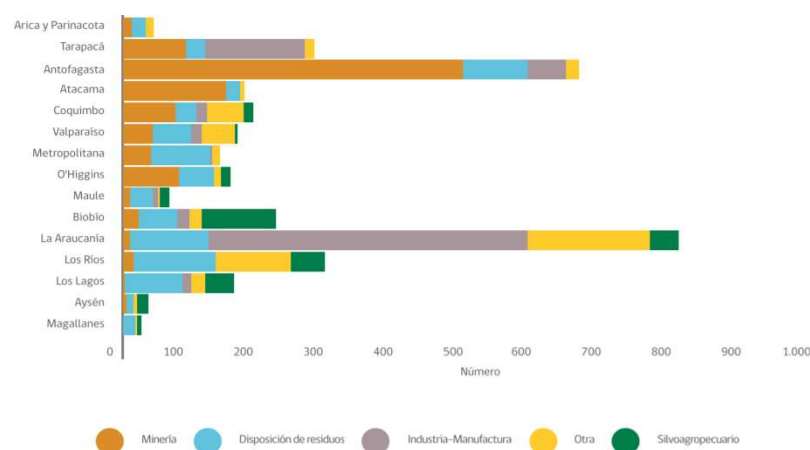


Figura 1: Sitios con potencial presencia de contaminantes por tipo de actividad productiva a nivel regional [3].

Como se ve en la Figura 1, la región Valparaíso se encuentra en el octavo puesto dentro de los sitios con potencial presencia de contaminantes producto de la actividad económica. Dentro de la zona, específicamente en la bahía Quintero-Ventanas en Puchuncaví se localiza el Parque Industrial, complejo que consta con más de 17 industrias que tienen instalaciones para sus actividades económicas entre las cuales destacan operaciones relacionadas a la fundición de cobre, fundición de metales pesados, refinería de petróleo, generación de energía, liberación de gases, actividades portuarias, entre otros. Si bien la zona es considerada un factor importante de desarrollo económico y generadora de empleos, la presencia de las empresas y sus diferentes procesos y producciones emiten altas cantidades de residuos y contaminantes [5].

II. ESTADO DEL ARTE

Movilidad de los HCs

Un factor importante dentro del efecto de los contaminantes es la movilidad de estos dentro del ambiente, ya que en un caso de derrame de combustible sobre la superficie, en primera instancia las sustancias entran en contacto con el suelo, luego por medio de los poros de éste, descienden hacia una zona denominada no saturada y finalmente los contaminantes llegan a un acuífero donde se acumulan en una Fase Líquida No Acuosa (FLNA) [6]. Como se ve en la Figura 2, ésta se encuentra sobre del nivel freático del suelo y corresponde a la fase móvil del hidrocarburo.

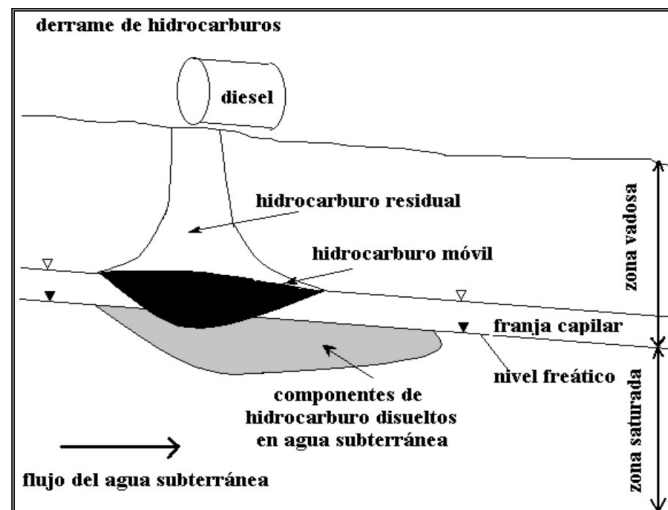


Figura 2: Distribución de HC producto de un derrame de petróleo [7].

La pluma de HCs permanece sobre la napa de agua y se disuelve ligeramente en aguas subterráneas debido a que estos compuestos son poco solubles y menos densos, y adicionalmente causan efectos en el suelo como, por ejemplo, reducción de cultivos y vegetación, variación en los microorganismos y microbiota, etc. Así también, una pequeña fracción se disuelve provocando contaminación de las aguas subterráneas que afectan a la flora y fauna y también tiene consecuencias secundarias, como lo es la exposición indirecta de las personas a los contaminantes, lo que podría producir entre otros problemas de salud irritación en la piel, náuseas, impacto en el sistema nervioso e incluso la muerte si se encuentran en altas concentraciones [8].

BTEX

Los HCs pueden clasificarse en alifáticos y aromáticos, los primeros presentan una cadena abierta y lineal de monómeros y se subdividen en alcanos, alquenos y alquinos, mientras que los segundos tienen una estructura cíclica y son característicos por poseer un fuerte olor [2], entre ellos, se encuentran el benceno, tolueno, etileno y xileno (BTEX), los cuales son tóxicos, altamente dañinos y poseen baja solubilidad [9]. Dentro de los efectos de los BTEX en la salud humana se encuentra la irritación de los canales del sistema respiratorio, alteración del sistema inmunológico, entre otros [10]; además disminuyen la calidad del aire al mezclarse con éste debido a que son altamente volátiles [11].

En la siguiente figura se puede ver una clasificación de los hidrocarburos que componen el petróleo según sus características:

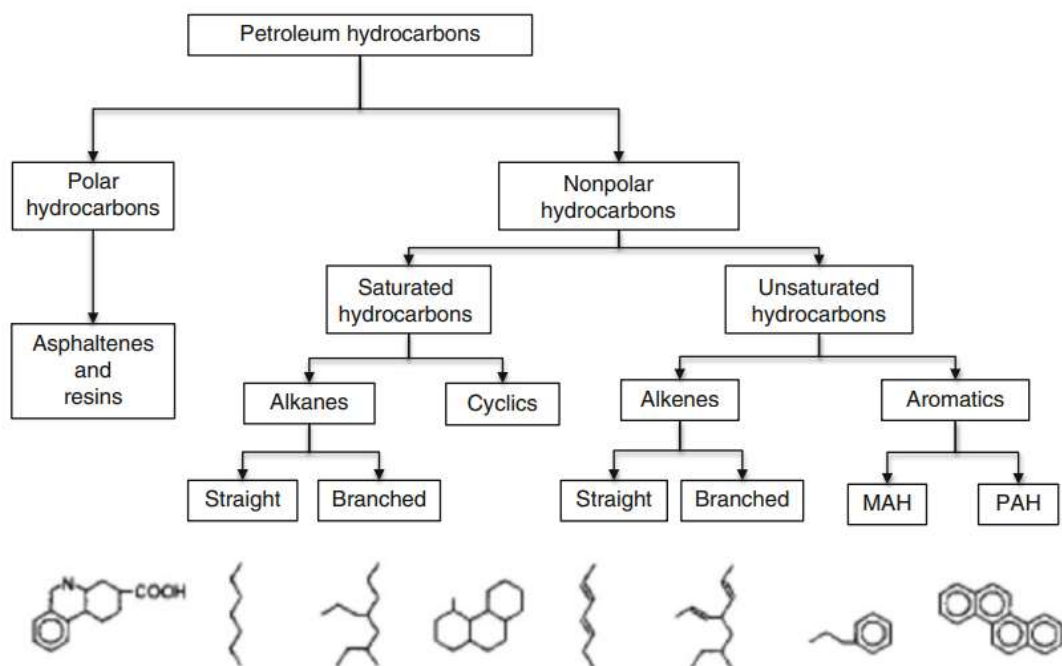


Figura 3: Grupos de hidrocarburos según su estructura química. MAH: HC monoaromáticos, PAH: HC aromáticos policíclicos [12].

Dentro de la distribución anterior, los BTEX se encuentran en los HC insaturados ya que contienen enlaces dobles o triples, lo que los hace más difícil de degradar que los saturados, dentro de los aromáticos se catalogan en los MAH debido a que contienen solo

un anillo aromático, por lo que son más fáciles de asimilar que los PAH que contienen más anillos, el porcentaje de los HC aromáticos va aumentando en el petróleo a medida que este pasa por procesos de destilación y refinamiento [13]. De hecho, entre el 25 y 30% de la gasolina está conformada por compuestos aromáticos, especialmente por BTEX [14]. Para ser purificado y obtener gasolina, el petróleo crudo pasa por un proceso de destilación para separar los HC según sus diferentes puntos de ebullición, primero pasa por una caldera donde se calienta en una mezcla de líquido y vapor a altas temperaturas, luego pasa por una torre de destilación donde aquellos compuestos con puntos de ebullición más bajos ascienden a la parte superior de la torre mientras que aquellos con puntos de ebullición más altos se van al fondo en estado líquido, entonces según el producto que desea obtenerse, se extrae material de diferentes alturas de la torre, cada uno de estos productos se llaman fracciones destiladas, las principales son: gas licuado del petróleo, petroquímicos, gasolina, queroseno, diésel, lubricantes, ceras, combustible para barcos o procesos industriales, asfalto y alquitrán [15]. Los compuestos BTEX tienen puntos de ebullición que van entre los 80 y 139°C [16], por lo que se encontrarían en la mitad superior de la torre de destilación..

Tratamiento de HCs

Actualmente existen varias maneras para tratar los HCs y según su mecanismo de acción se pueden separar en [9]:

- Procesos físicos, donde se interfiere la disposición de los contaminantes para contenerlos o separarlos por medio de técnicas fisicoquímicas, tales como volatilización, dispersión o dilución, de manera que no se eliminan por completo, pero sí se disminuye su concentración en el medio [9].
- Procesos químicos, que consiste en añadir compuestos químicos para reducir los contaminantes y hacer más fácil su degradación, extracción, o directamente incineración [9].
- Procesos biológicos, se basa en que microorganismos presentes degradan los HCs utilizándolos como fuente de energía mediante reacciones anaeróbicas o aeróbicas, siendo estas últimas más eficientes [9].

Biorremediación

La biorremediación se clasifica como un proceso biológico que consiste en el uso de microorganismos, o sus productos, para degradar, reducir, transformar o desintoxicar contaminantes; esto puede realizarse por completo o parcialmente para luego realizar otro tratamiento [17]. Esta técnica es más amigable ambientalmente ya que, a diferencia de los procesos físicos o químicos, se tratan los contaminantes de una manera más natural y sencilla, sin el uso de maquinaria pesada, o procedimientos tecnológicos [8].

Dependiendo del lugar donde se realice la biorremediación, ésta puede ser *ex situ*, donde los contaminantes se retiran de la fuente que los contiene, son retenidos y movilizados a algún lugar donde serán tratados, o *in situ*, donde no se interfiere en la disposición natural de los contaminantes y se aplica el tratamiento directamente a la fuente afectada. Cuando se busca degradar un contaminante por medio de métodos biológicos se puede, por una parte, bioaumentar la población microbiana mediante la introducción de consorcios para que la variedad de microorganismos lleve a una mejor degradación de los contaminantes y, por otra parte, puede realizarse bioestimulación de los microorganismos que ya están presentes naturalmente mediante la incorporación de nutrientes o compuestos en cantidades apropiadas para que se aumente la actividad microbiana de manera que se disponga de óptimas condiciones y se obtengan mejores eficiencias de remoción. Por último, puede no hacerse nada y esperar que los microorganismos nativos del ambiente degraden los contaminantes, sin ningún estímulo extra, mediante el proceso denominado autodepuración o atenuación natural [17].

Como se mencionó, se puede acelerar la biodegradación mediante la bioestimulación, que consiste en suministrar nutrientes y/o aceptores de electrones al medio contaminado para mejorar la actividad bacteriana y degradación por parte de los microorganismos [18]. Por lo general suele inyectarse burbujas de aire con oxígeno, sin embargo, este elemento tiene la complicación de ser poco soluble en agua y taponar los acuíferos debido a las burbujas, por lo que se ha infiltrado nitrato y fosfato disueltos en aguas hacia dentro de las napas subterráneas contaminadas con BTEX para promover su degradación obteniendo resultados positivos [19]. Otra manera de incrementar la biodegradación es a través de la bioaumentación, donde se inocula el sistema contaminado con cepas de microorganismos de los cuales se sabe que son capaces de utilizar compuestos HC como fuente de carbono

para crecer, de manera que lo biodegradan, este proceso es más eficaz cuando se tienen condiciones favorables para los microorganismos como lo son la humedad, temperatura, nutrientes inorgánicos (principalmente nitrógeno y fósforo), pH, entre otros [20]. Ejemplos de cepas que han mostrado tener potencial para biodegradar BTEX son *Mycobacterium* sp. y *Pseudomonas* sp. [21], así como también se han visto resultados positivos al inocular con *Acinetobacter radiorresistens*, *Escherichia fergusonii*, *Klebsiella variicola* y *Micrococcus luteus* para tratar otros HC's del petróleo [22].

Dentro de los métodos patentados para remediar sitios contaminados con HC, existe un sistema de suministro de burbujas con oxidantes a acuíferos contaminados, las cuales promueven la biodegradación de los HC's lixiviados y la movilidad de aquellos que son volátiles a la zona no saturada para su posterior tratamiento [23]. En cuanto a otros métodos de biorremediación, también se ha visto el uso de inóculos microbianos *in situ* para tratar derrames de petróleo crudos, de manera que se instala en plataformas petroleras o en alta mar en el lugar contaminado. El consorcio está compuesto por varias cepas entre las que destacan *Alteromonas*, *Arthobacter*, *Pseudomonas*, esta técnica tiene la ventaja de que, si es llevada a cabo en el mar, los nutrientes del consorcio benefician a la fauna y microbiota marina [24].

A nivel país, en Chile, el manual de tecnologías de remediación de sitios contaminados plantea los siguientes tratamientos para compuestos BTEX para suelos o aguas subterráneas [25]:

- Atenuación natural, que consiste en dejar que se degraden los contaminantes de manera natural según los procesos físicos, biológicos y químicos que ocurren.
- Biodegradación asistida, que acelera los procesos biológicos que ocurren en el sitio contaminado, entregando un medio óptimo para los microorganismos presentes
- Fitorremediación, que utiliza especies vegetales para que ayuden a remover, degradar, movilizar o estabilizar los contaminantes.
- Descontaminación por pozos de recirculación, donde se produce el ascenso de los contaminantes que luego son captados por un filtro cuando se volatilizan.
- Remediación electrocinética, se trata del transporte de los contaminantes aplicando corrientes eléctricas.

En el sur del país en la ciudad de Puerto Montt en el proyecto “Rehabilitación de Terreno Ex Planta ESSO Puerto Montt para Usos Futuros” se ha implementado la técnica de biorremediación mediante pilas para tratar hidrocarburos, BTEX entre ellos [26]. Este tratamiento biológico consiste en formar pilas del suelo contaminado, *ex situ* generalmente, y se agregan nutrientes y aireación a un sistema que puede ser cerrado o abierto, donde las pilas pueden formarse de manera alargada o estática [27]. Se obtuvieron resultados positivos logrando concentraciones que no repercuten en la salud de las personas; sin embargo, este método implica mover los contaminantes para formar las pilas, lo cual resulta difícil en el caso de aguas subterráneas, además de necesitar implementar un sistema de aireación extra.

GNL Quintero

Como se mencionó anteriormente, la región de Valparaíso tiene una alta actividad industrial, y dentro de las empresas que cuentan con instalaciones en la zona de Quintero, Ventanas y Puchuncaví se encuentra GNL Quintero (GNLQ), que posee un terminal con un muelle de 1.900 metros de largo y 12,5 de alto, donde se recibe, descarga y acopia Gas Natural Licuado transportado por buques. La empresa cuenta con un plan de seguimiento ambiental que abarca la calidad del aire, ruido emitido, arqueología y medio marino, con el fin de cumplir sus estándares medioambientales para producir una energía más limpia y sostenible [28]. Producto del monitoreo del recinto perteneciente a GNLQ se encontró una pluma de FLNA contaminada con HCs, en su mayoría BTEX, la cual se atribuye a un posible derrame superficial de combustible producto de la ruptura de alguna tubería de otra compañía en las cercanías del predio de GNLQ, recibiendo éste el combustible subterráneamente en sus napas [29]. En las siguientes imágenes se muestra la zona de ubicación de la pluma dentro del terreno de GNLQ.

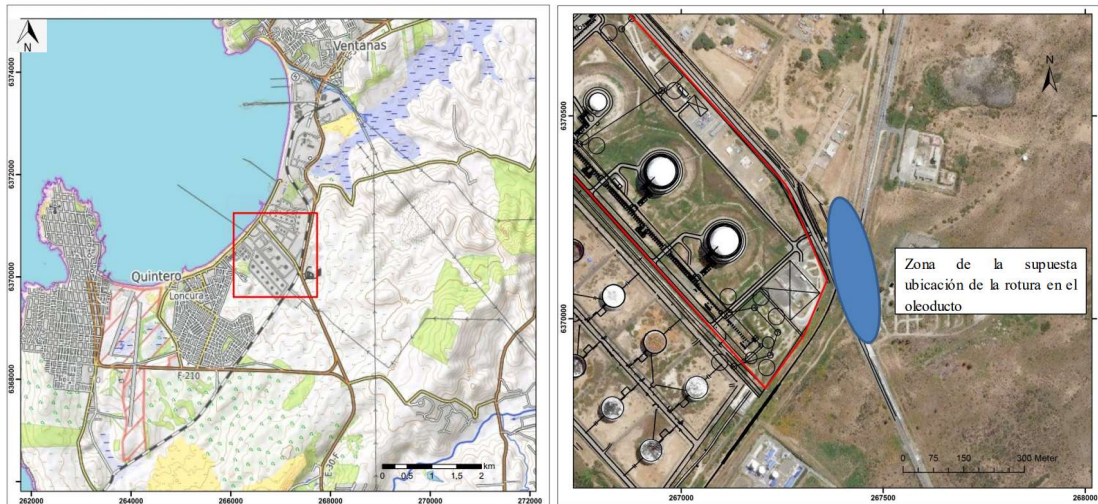


Figura 4: A: Zona de instalaciones GNLQ en la Bahía de Quintero, B: Supuesta ubicación de la pluma contaminada [29].

En la Figura 3 se observa en el extremo inferior derecho de las instalaciones de GNLQ en color azul la zona donde ocurrió el posible derrame y dónde se encuentra la pluma de FLNA compuesta por HCs, la cual abarca una superficie de 30.000 m² de área y tiene entre 1 y 2 m de espesor.

En cuanto a la composición del suelo del lugar afectado, el acuífero está formado principalmente por arena fina intercalado con sedimentos aluviales arcillosos y limo, a continuación, se muestra una tabla con las 8 secciones geológicas que constituyen el sitio elaborado a partir de información obtenida de pozos y cortes [29]:

Capa 1	Arena fina 1
Capa 2	Arena fina, limosa 1
Capa 3	Limo
Capa 4	Arena fina, limosa 2
Capa 5	Limo 2
Capa 6	Arcilla
Capa 7	Arena fina 2
Capa 8	Arena fina, limosa 3

Tabla 1: Composición vertical del suelo del lugar de estudio [29].

A partir de septiembre del año 2016, GNLQ implementó un sistema de remediación de HCs de las aguas subterráneas en la zona descrita anteriormente, mediante un sistema de bombeo, el cual habría disminuido en un 90% la transmisividad de la pluma de FLNA hasta el año 2019 según la información obtenida de los reportes; lo anterior con el fin de evitar la movilización del área contaminada a través de sistemas de pozos de extracción y separación de fases. Actualmente, se han extraído altos volúmenes de FLNA, sin embargo, aún queda una fracción de esta fase en cantidades bajas, tal que no se recomienda seguir succionando debido a la baja movilidad de los restos presentes, por lo que no se obtendrían buenas eficiencias e implicaría un alto costo asociado. Por lo anterior, se sugiere estudiar la factibilidad de remediar a través de un método de reducción natural de los contaminantes residuales [30].

III. HIPÓTESIS, OBJETIVO GENERAL Y OBJETIVOS ESPECÍFICOS DE TRABAJO

Hipótesis

- *Estudios de laboratorio y simulaciones computacionales permiten evaluar diferentes escenarios de biodegradación de BTEX en suelos de la costa de Ventanas, Puchuncaví.*

Objetivo General

- Diseño y validación de una metodología que permita biorremediar BTEX presentes en suelos de la costa de Ventanas, Puchuncaví.

Objetivos Específicos de Trabajo

1. Comprender de mejor manera el problema y posibles formas de abordarlo a partir del análisis bibliográfico del estado del arte y soluciones actuales.
2. Diseñar una propuesta teórica de un procedimiento a nivel de laboratorio para tratar por métodos biológicos los contaminantes BTEX de las muestras de la zona estudiada.
3. Obtener muestras reales de la zona de estudio y examinar su comportamiento y nivel de contaminación.
4. Determinar el potencial de biodegradación de las muestras de FLNA/BTEX a partir de pruebas en laboratorio.
5. Determinar los resultados del diseño planteado y optimizar eficiencias de biodegradación.
6. Escalar los resultados del método de biorremediación a niveles de la fuente contaminada mediante simulaciones computacionales.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

A continuación, se detalla la metodología que se siguió y métodos que se utilizaron en este trabajo. En primer lugar, se recibieron muestras de FLNA del sitio contaminado, las cuales fueron estudiadas en el laboratorio ya que la información acerca de sus características y comportamiento era muy escasa, para esto se midió la demanda química de oxígeno (DQO) y luego, se relacionó este valor con el carbono orgánico total (COT), para tener una cantidad estimada del carbono presente y nivel de contaminación, además de medir con espectrofotometría UV la absorbancia para cuantificar los HC. Posteriormente, se realizaron ensayos de bioestimulación y bioaumentación de las muestras, y se utilizó nuevamente espectrofotometría UV a una longitud de onda de 280 nm para cuantificar los HC a lo largo del tiempo. Después, se realizó una exploración de las muestras a nivel de carga bacteriana, plaqueando en diferentes medios de cultivo. Finalmente, se modeló la situación en base a los parámetros del sitio y se simuló un tratamiento de bioaumentación, para el cual se tomaron en cuenta los resultados obtenidos en el laboratorio, además se modeló la atenuación natural para poder comprar ambos escenarios.

Muestras

Las muestras de agua contaminada fueron proporcionadas por Ecotecnos S.A., empresa que cuenta con un contrato-acuerdo de Investigación y Desarrollo con la UAI, realiza estudios en el área ambiental y tiene servicios de consultorías y asesorías ingenieriles y ambientales. Además, forman parte del Registro de Consultores del Fondo de Investigación Pesquera y de Acuicultura (FIPA) y están autorizados por la Superintendencia del Medio Ambiente (SMA) de Chile como Entidad Técnica de Fiscalización Ambiental (ETFA) para medio marino [31].

Medición de la concentración de HCs

Para establecer la concentración de BTEX en las muestras y en los experimentos, puede utilizarse cromatografía de gases, método donde según las características de la muestra, sus componentes migran a diferentes velocidades en un medio estacionario que contiene una fase móvil, separándose a través del sistema. Este procedimiento es el más utilizado

para analizar HCs ya que tiene la ventaja de ser muy sensible a la detección, eficiente en la separación, versátil y requiere muestras de pequeño tamaño [32].

Otro método que resulta útil es la espectroscopia ultravioleta-visible, el cual se ha utilizado previamente para determinar HCs totales y aromáticos en aceites, alimentos y aguas, mostrando ser factible, el instrumento entrega valores de absorción a distintas longitudes de onda, los que se pueden relacionar con la cantidad de materia orgánica presente en la muestra [33].

Con el fin de medir la cantidad de materia orgánica de las muestras se realizó medición mediante el método de espectrofotometría UV a longitudes de onda de 240 y 280 nm para las muestras, de manera directa y en diluciones 1/10, 1/100 y 1/1000 para cada caso.

Medición COT

El carbono orgánico total (COT) es un parámetro útil para determinar la cantidad de contaminantes orgánicos en una muestra, que entrega un valor correspondiente a todos los carbonos orgánicos incluyendo HCs [34]. Es por esto por lo que para estimar la cantidad de materia orgánica de las muestras se evaluó el COT de las muestras, en primer lugar, se midió la demanda química de oxígeno (DQO) que también permite determinar aproximadamente la concentración de materia orgánica en una muestra, ya que entrega la cantidad de oxígeno que ésta requiere en base a aquellas sustancias que se oxidan [35]. En primer lugar, se obtuvo la DQO para las muestras utilizando el método de reflujo cerrado (5220 C) descrito en “Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater” [36]. Esto se realizó para diferentes diluciones y luego se relacionó con el COT a partir de la siguiente fórmula $DQO = 49,2 + 3,00 * TOC$ [37].

Medición de la biodegradación de HCs

Se utilizó un método de columnas que consistió en disponer en jeringas de 60 ml la muestra líquida proporcionada y otros compuestos según las condiciones que se buscaba analizar, las cuales se midieron a través de espectrofotometría UV-vis a 280 nm.

Bioestimulación

Considerando que las muestras extraídas son de una fuga de petróleo, se tomó el supuesto que existen bacterias capaces de degradar HC's y se agregaron 20 ml de la muestra líquida y 20 ml de medio mineral mínimo (MM). La composición del medio consistió en $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ 8,8 g/L, KH_2PO_4 3 g/L, NaCl 0,5 g/L, NH_4Cl 1 g/L y MgSO_4 1M 1,0 ml/L en 999 ml de agua destilada [38]. A lo anterior se añadieron diferentes compuestos según las tres condiciones señaladas a continuación, además de los dos grupos controles, uno en el que se agregó solo MM y otro en que sólo se completó el volumen con H_2O . A continuación, se presenta el diseño experimental utilizado, la muestra entregada se separó en dos partes, una de carácter aceitosa, desde ahora en adelante FA, que se sobrepuso sobre la otra que es más similar al agua, determinada FB, por lo que se decidió tratarlas por separado y aplicar las diferentes condiciones a cada una.

Sin intervención	Grupo control	Condición 1 C:N:P (133 : 6,65 : 1,33)	Condición 2 C:N:P (133 : 6,65 : 1,33) TX	Condición 3 C:N:P (133 : 6,65 : 1,33) 4HB
20 ml FA/FB 30 ml H_2O	20 ml FA/FB 20 ml MM 10 ml H_2O	20 ml FA/FB 20 ml MM 2 ml de 9,77 mM NH_3 2 ml de 0,19 mM K_2HPO_4 6 ml de H_2O	20 ml FA/FB 20 ml MM 2 ml de 9,77 mM NH_3 2 ml de 0,19 mM K_2HPO_4 2 ml de 8 mM C_7H_8 2 ml de 7 mM C_8H_{10} 2 ml de H_2O	20 ml FA/FB 20 ml MM 2 ml de 9,77 mM NH_3 2 ml de 0,19 mM K_2HPO_4 4 ml de 5 mM $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$ 2 ml de H_2O

Figura 5: Diseño experimental 1 de condiciones para FA y FB.

Para ambas muestras se enriqueció con una fuente de fósforo (K_2HPO_4) y nitrógeno (NH_3) para tener C:N:P en proporción 100:5:1 y se añadió MM para que los microorganismos presentes tuvieran todos los nutrientes. Además, en la condición 2 se agregó tolueno (C_7H_8) y xileno (C_8H_{10}) y en la condición 3, ácido 4-hidroxibenzóico ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$) para determinar si dichos microorganismos son capaces de degradar estos compuestos o crecer en ellos.

Bioaumentación

Con el fin de determinar si las muestras son capaces de degradar HC's aumentando la carga microbiana existente, se planteó un segundo experimento que resulta similar al primero pero en el cual se añade Aquabact, consorcio microbiano que ayuda a acelerar la

biodegradación de contaminantes presentes en el petróleo como BTEX, alcanos, aromáticos, entre otros HCs y que contiene una concentración de microorganismos de 10^8 aproximadamente, además de nutrientes inorgánicos [39]. Adicionalmente se agregó el compuesto benceno (C_6H_6) a la condición que tenía tolueno y xileno y se descartó la condición en la cual se agregaba ácido 4-hidroxibenzóico. Por último, también se aumentaron las concentraciones de las soluciones que aportan fósforo y nitrógeno en 10 y 100 veces respecto de lo que se tenía en un principio, con el fin de proporcionar más nutrientes a la solución. En este experimento se dispuso solo de muestras de carácter aceitoso, la mencionada FA anteriormente, quedando finalmente el siguiente diseño experimental, por duplicado:

Control	Condición 1 C:N:P (133 : 66,5 : 13,3) Aquabact	Condición 2 C:N:P (133 : 665 : 133) Aquabact	Condición 3 C:N:P (133 : 665 : 133) Aquabact + BTX
20 ml FA 35 ml H ₂ O	20 ml FA 5 ml MM 2 ml de 97,7 mM NH ₃ 2 ml de 1,9 mM K ₂ HPO ₄ 20 ml Aquabact 6 ml de H ₂ O	20 ml FA 5 ml MM 2 ml de 970 mM NH ₃ 2 ml de 19 mM K ₂ HPO ₄ 20 ml Aquabact 6 ml de H ₂ O	20 ml FA 5 ml MM 2 ml de 970 mM NH ₃ 2 ml de 19 mM K ₂ HPO ₄ 2 ml de 9 mM C ₆ H ₆ 2 ml de 8 mM C ₇ H ₈ 2 ml de 7 mM C ₈ H ₁₀ 20 ml Aquabact

Figura 6: Diseño experimental 2 de condiciones para FA.

Cabe considerar que previo al montaje del experimento se neutralizó el pH de todas las soluciones a utilizar para evitar un posible desajuste de este factor, que pudiese afectar el crecimiento y/o efecto de las bacterias.

Exploración bacteriana

A fin de determinar visualmente la existencia de bacterias en las muestras de FA y en Aquabact, se realizaron diluciones de ambas en MM hasta 10^{-8} y se plaquearon las diluciones 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} y 10^{-8} en medio R2A, de manera que tuvieran un medio con nutrientes en el cual crecer. Luego se incubaron a 30°C y se tomó registro fotográfico a las 24 horas y a los 7 días.

Posteriormente, se aislaron bacterias encontradas en la dilución 10^{-2} (bacteria 1), 10^{-4} (bacteria 2) y otra de pequeño tamaño que se presentó en todas las diluciones plaqueadas

(bacteria 3). Éstas fueron plaqueadas en medio R2A y se incubó a 30°C durante 24 h, pasadas las cuales, se transfirieron a una placa nueva con medio R2A, dividiendo la placa en cuatro secciones y se agregó 10 µl de benceno, fenol, 4HB o succinato para ver el comportamiento de las bacterias frente a dichos compuestos. Después se incubó a 30°C y se tomó registro fotográfico a las 24 horas y 7 días.

Luego se repitió el procedimiento anterior, pero incorporando más compuestos, de tal manera que al plaquear se añaden 10 µl de benceno, tolueno, xileno, fenol, 4-HB, succinato o MM, además de un grupo control donde no se agrega nada.

Adicionalmente se prepararon soluciones de benceno, tolueno, xileno, fenol y 4-HB al 1 mM y succinato a 2 mM y se inoculó con 1 ml de cada una con bacterias 1, bacteria 2, bacteria 3 o Aquabact. Las primeras tres bacterias fueron tomadas con rastrillo mientras que en la cuarta se agregaron 10 µl del consorcio. Posteriormente se dejó incubar en agitación a 30°C por tres semanas para luego pasar a medio fresco y observar nuevamente luego de una semana.

Escalamiento de resultados

Para extrapolar los resultados obtenidos a las dimensiones de la zona contaminada de GNLQ y con el fin de proyectar cómo funcionaría el tratamiento de biorremediación propuesto, se escogió modelar la situación mediante un software computacional. Entre éstos, se encuentran MODFLOW y RT3D, el cual simula las condiciones de las aguas subterráneas y su interacción con las superficiales y permite predecir efectos futuros [40]. La herramienta de Aquaveo, GMS - Groundwater Modeling System, modela el flujo de aguas subterráneas y genera imágenes en 3D para facilitar la visualización de la situación, donde se representa virtualmente el transporte de los contaminantes [41]. En este caso con el programa GMS se utilizó la herramienta MODFLOW y luego RT3D. La situación se representó a lo largo de 11 tiempos desde los 300 días hasta los 3.650 (10 años), empleando la configuración “transient”, que es útil para modificar concentraciones de contaminantes y nutrientes en diferentes tiempos sin necesidad de dejarlos constantes, se comenzó con una concentración inicial de BTEX de 1.600 ppm, la cual se mantuvo hasta los 180 días (6 meses), y luego se bajó a una concentración de 0 ppm de BTEX (Anexos

1 y 2), esto con el propósito de simular extracción de la fase libre de contaminantes y que no estuviera esta concentración constante durante todo el tiempo.

Posteriormente, en primer lugar, se utilizó el paquete “No reaction (tracer transport)”, que simula la condición de atenuación natural del sitio sin incorporación de nutrientes ni microorganismos extras a los nativos, y luego en segundo lugar, para modelar un escenario similar al del experimento de bioaumentación realizado en laboratorio se configuró con el paquete “Kinetic-Limited Deg. of BTEX w/ MEA”, con el fin de escenificar degradación de compuestos BTEX con múltiples aceptores de electrones para la cual se consideraron las propiedades de Aquabact de Ecotecnos. Además para este caso se simuló un tratamiento de pozos de bombeo para administrar nitrógeno al sitio contaminado, para lo cual nuevamente utilizando “transient” se dispusieron 5 pozos para inyectar agua con nitrato y oxígeno en concentraciones de 665 y 133 ppm respectivamente, basado en el mejor resultado de las condiciones realizadas en laboratorio que fue la C2, donde se tenían 665 ppm de nitrógeno y 133 ppm de fósforo, sin embargo el programa no considera este último compuesto en su reacción por lo que se decidió reemplazar por oxígeno, la inyección fue llevada a cabo con un caudal de 5 m³/día cada 7 días durante 8 tiempos, los cuales comienzan en el día 200 de la simulación (Anexos 3 y 4), también se tienen 5 pozos donde se extrae agua sin alterar sus características, en los mismos tiempos que los mencionados anteriormente pero utilizando un caudal negativo de -5 m³/día (Anexos 5 y 6).

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Muestras

Se obtuvieron muestras de FLNA del sitio de estudio, éstas son de carácter líquido y debido a su composición química se separaron en dos fases: una fase aceitosa que se ubicó en la parte superior (FA) y otra más similar al agua que se situó por debajo (FB), ambas pueden observarse en la siguiente imagen:

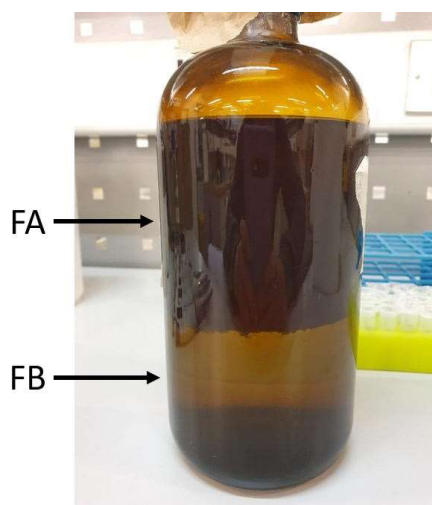


Figura 7: Muestras de la zona contaminada.

Concentración HCs

Del método de espectrofotometría UV en longitudes de onda de 240 y 280 nm para muestras directas y a diluciones 1/10, 1/100 y 1/1000 se obtuvieron los siguientes resultados; estas muestras fueron las utilizadas en el experimento 1:

FA	240 nm	280 nm
10^{-3}	0,069	0,018
10^{-2}	0,222	0,141
10^{-1}	0,429	0,252
FB	240 nm	280 nm
10^{-3}	0,064	0,025
10^{-2}	0,066	0,028
10^{-1}	0,225	0,085

Tabla 2: Absorbancias de las diferentes fases de la muestra 1 en sus respectivas diluciones.

Posteriormente se recibieron nuevas muestras del sitio contaminado con las cuales se realizó el experimento 2. A continuación, se muestran la absorbancia de estas medidas con un espectrofotómetro UV:

FA	240 nm	280 nm	300 nm
10^{-3}	0,139	0,038	0,005
10^{-2}	0,337	0,172	0,319
10^{-1}	1,137	1,028	1,093

Tabla 3: Absorbancias de la muestra 2 en sus respectivas diluciones.

COT

Se probaron las muestras directas y en diluciones 1/10, 1/50, 1/250, 1/500, 1/625, 1/1000 para FA y FB. Sin embargo, para FA los resultados de las primeras 3 concentraciones se encontraban fuera de rango.

FA	TOC [mg O ₂ /L]
1/200	156,93
1/500	98,27
1/625	135,60
1/1.000	140,93
FB	TOC [mg O ₂ /L]
1	132,90
1/10	79,6
1/50	58,3
1/500	44,9
1/1.000	28,9

Tabla 4: TOC en mg O₂/L de las diferentes fases de la muestra 1 en sus respectivas diluciones, ajustadas al factor de dilución.

Tomando en cuenta los valores anteriores y considerando que 1 mg/L equivale a 1 ppm, se realizó un promedio que indica que la concentración de TOC era de 132,9 ppm para FA y de 68,93 ppm para FB.

Luego para las siguientes muestras obtenidas se realizó el mismo proceso y se obtuvo lo siguiente:

FA	TOC [mg O ₂ /L]
1/1.000	66,65
1/1.666	62,18
1/2.500	79,98

Tabla 5: TOC en mg O₂/L de la muestra en sus respectivas diluciones ajustadas al factor de dilución.

Finalmente, al calcular el promedio de los valores anteriores se determinó que las nuevas muestras presentaban una concentración de TOC de 69,60 ppm.

Bioestimulación

En las siguientes imágenes se puede ver como se separa la FA de los demás componentes añadidos debido a su composición, por lo que se decidió llamar FA' a esta nueva fase encontrada y realizar mediciones de ésta y de FA por separado.



Figura 8: Montaje experimento 1 con FA y FA'.



Figura 9: Montaje experimento 1 con FB.

Se midió semanalmente durante cuatro semanas y luego se realizó una última medición a las 8 semanas desde que partió el experimento. A continuación, se presentan los gráficos de las mediciones a lo largo del tiempo para cada condición, graficando los valores obtenidos en la dilución 10^{-1} , debido a que las demás no respondían al factor de dilución. Pasados los tiempos mencionados los valores de las absorbancias no mostraron resultados lineales ni que fueran concluyentes.

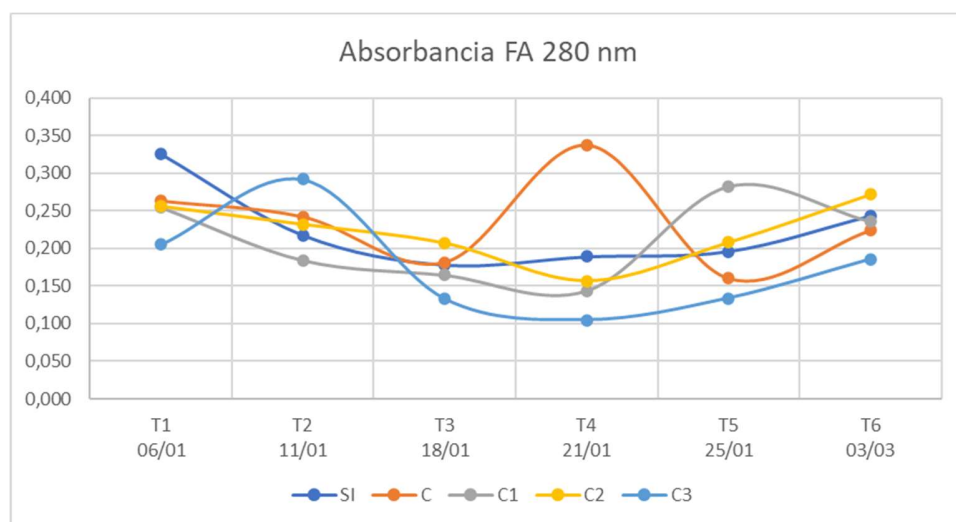


Figura 10: Gráfico de la absorbancia a longitud de onda 280 nm de FA a los diferentes tiempos de mediciones.

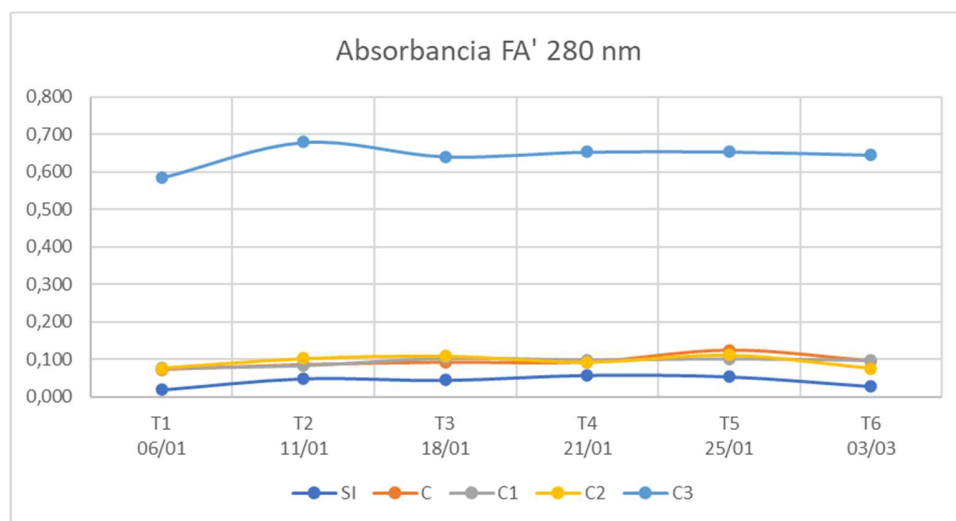


Figura 11: Gráfico de la absorbancia a longitud de onda 280 nm de FA' a los diferentes tiempos de mediciones.

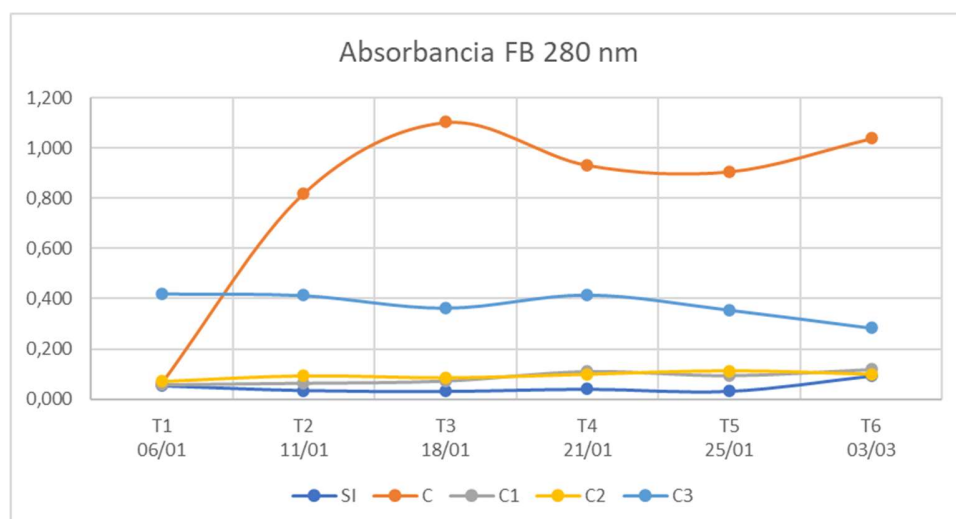


Figura 12: Gráfico de la absorbancia a longitud de onda 280 nm de FB a los diferentes tiempos de mediciones.

En primera instancia se puede determinar que la capacidad de biodegradación de la muestra fue muy baja y puede tender a nula cuando se aplicó bioestimulación, por lo que es necesario recurrir a otros métodos para la degradación de contaminantes HC. Sin embargo, los valores obtenidos, sobre todo en FA, resultaron poco concluyentes.

Bioaumentación

Se siguió el diseño experimental 2 y una vez montado quedó de la siguiente manera:



Figura 13: Montaje experimento 2 con FA y FA'.

Como puede verse se identificaron nuevamente dos fases, donde los componentes añadidos se separaron de la muestra, por lo que se volvió a tratar por separado FA y FA' y se realizaron las mediciones para cada una de las dos partes de cada condición de manera semanal durante 8 semanas.

A continuación, se muestran los valores de las absorbancias de las diluciones 10^{-1} en cada fase y condición:

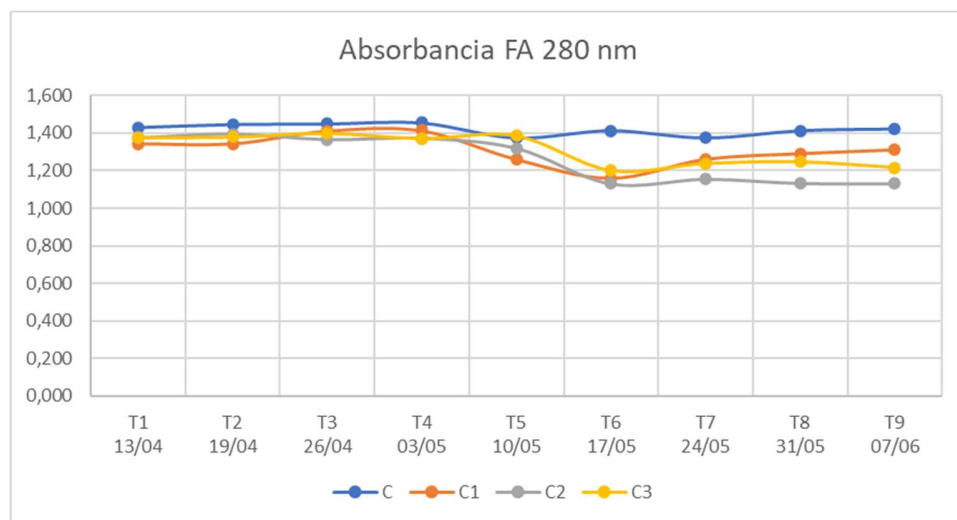


Figura 14: Gráfico de la absorbancia a longitud de onda 280 nm de FA a los diferentes tiempos de mediciones.

En el gráfico anterior se puede ver el comportamiento a lo largo del tiempo de las cuatro condiciones, el grupo control; donde no se añade ningún compuesto extra, C1; que tiene una relación de carbono, nitrógeno y fósforo (C:N:P) de 133:66,5:13,3, C2 y C3; cuya proporción para ambos de C:N:P es de 133:665:133, estas últimas tres condiciones fueron bioaumentadas con Aquabact. Pudo observarse que para C1 y C2 se mantuvieron los primeros cuatro tiempos que corresponden a las 3 semanas desde montado el experimento, luego las cuales se vio una disminución de la absorbancia en los tiempos 5 y 6. Pasados éstos, la curva subió levemente y después se estabilizó pero con valores más bajos en C2, mientras que C3 mostró resultados constantes hasta el quinto tiempo, luego del cual presentó una baja en el tiempo 6, el que posteriormente subió ligeramente y se mantuvo. Por último, el grupo control se mostró estable a lo largo del tiempo con ciertas variaciones entre los valores.

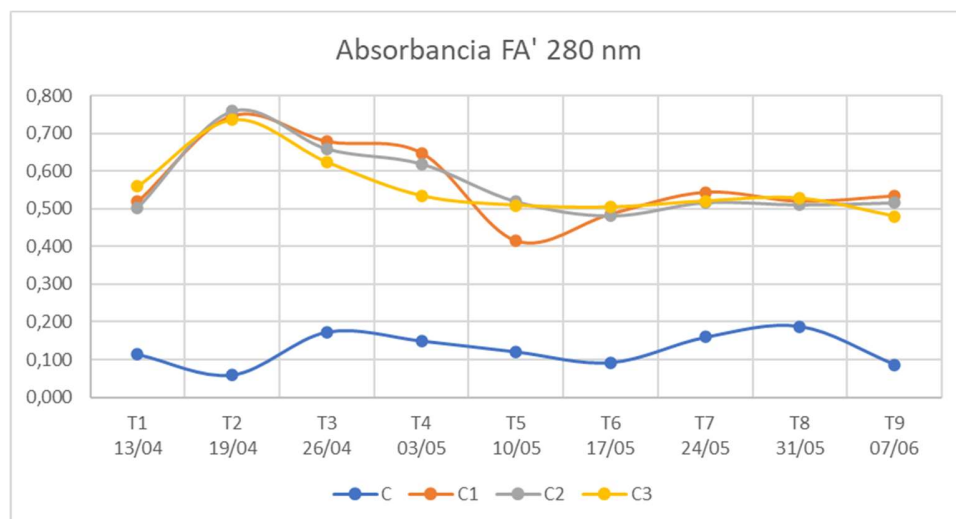


Figura 15: Gráfico de la absorbancia a longitud de onda 280 nm de FA' a los diferentes tiempos de mediciones.

En el gráfico anterior se registró una baja del grupo control pasado el primer tiempo, pero luego se recuperó en valor y comenzó a caer levemente para luego volver a subir en el T7, mientras que C1, C2 y C3 presentó una subida en el T2 que luego comenzó a bajar y estabilizarse, considerando cierta fluctuación en el T5. Esto pudo deberse al tiempo de adaptación de las bacterias presentes Aquabact al medio en el cual se incorporaron, y los nutrientes y/o compuestos extra que éste presentó.

Al observar las condiciones se pudo identificar cierto tipo de burbujas a las que se les podría atribuir actividad bacteriana. Éstas partieron creciendo desde donde termina FA' y comienza FA, posicionándose dentro de esta última. A continuación, se muestra una foto de referencia y una tabla que indica la cantidad de burbujas observadas presentes según cada condición.

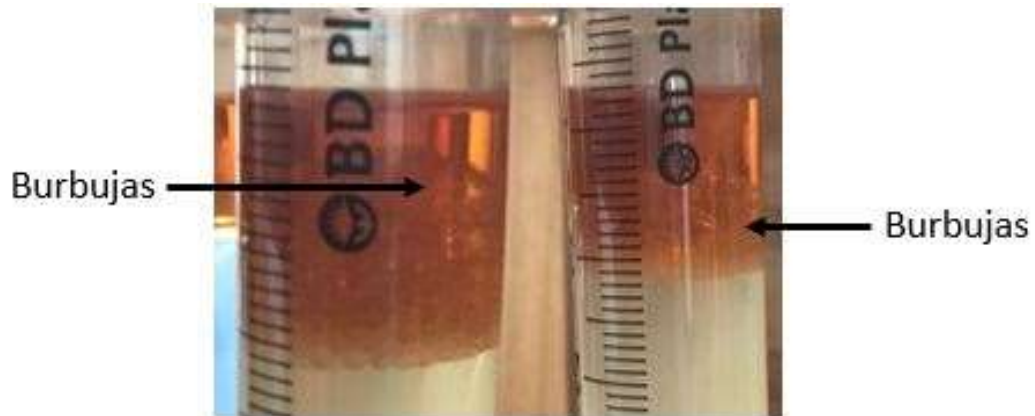


Figura 16: Burbujas identificadas en la C1.

Control	Condición 1	Condición 2	Condición 3
-	++	++	+++

Tabla 6: Cuantificación visual de cantidad de burbujas según cada condición.

-: no presenta, ++: presenta bastante, +++: presenta mucho.

Por una parte, al finalizar el experimento en el grupo control no se observó burbujas y se vio igual al momento del montaje en cuanto a textura y color, mientras que C1 y C2 presentaron burbujas en la mayoría del espacio que ocupaba FA y de una consistencia bastante densa, al igual que para C3, pero aquí las burbujas abarcaron prácticamente todo el espacio ocupado por FA, y son sutilmente más turbias que en las otras dos condiciones. También se pudo ver que el volumen final varió entre las condiciones. A continuación, se muestra el volumen total final, el que representa FA y el que representa FA', realizando un promedio entre los duplicados. Cabe considerar que todas las condiciones partieron con un volumen FA de 20 ml y FA' de 35 ml, sumando un volumen total de 55 ml.

Volumen	Control	Condición 1	Condición 2	Condición 3
FA	9 ml	11 ml	10,5 ml	10,5 ml
FA'	27,5 ml	24,5 ml	23 ml	22,75 ml
Total	36,5 ml	35,5 ml	33,5 ml	33,25 ml

Tabla 7: Volumen final de las condiciones en ml.

Se tuvo que el grupo control es el que presentó mayor volumen total, seguido por la condición 1 y luego 2 y 3. Esto puede deberse a que existen compuestos volátiles en las columnas.

Tratándose de muestras que corresponden a derivados del petróleo, la atenuación natural pasa a ser un proceso que suelen ser lento y necesita largos tiempos para poder llevarse a cabo [42], lo que explicaría porque en C1, así como en el experimento donde no se incorpora Aquabact, no se observa degradación de los contaminantes. Además, aquellos hidrocarburos que presentan un menor peso molecular son más solubles en agua que los que tienen un mayor peso molecular, lo que trae como consecuencia que la biodisponibilidad de este tipo de contaminantes sea menor que la de aquellos que tienen un menor peso molecular y hace más difícil la asimilación por parte de las bacterias [43]. Llevándolo al caso del derrame ocurrido en Quintero, si bien las bacterias pueden adaptarse a lo largo del tiempo, como se mencionó anteriormente este proceso puede ser bastante lento y existen factores que afectan la biodegradación por atenuación natural, como lo son el pH, temperatura, cantidad de nutrientes, humedad, entre otros, que tienen efectos sobre la comunidad y acción microbiana y que si no son óptimos se dificulta el proceso [44]. Otro factor que puede explicar lo ocurrido es la composición del suelo del terreno, ya que se ha visto en estudios que materiales que tienen un tamaño de partículas más grande como la arena, presentan una menor biodiversidad que aquellos que tienen menor tamaño de partículas como lo es la arcilla [45], y si bien el suelo del lugar de estudio está compuesto por este material en una de sus capas, en las demás predomina la arena. Por último, hay que considerar que el sector donde ocurrió el derrame corresponde a zona costera, lugares donde el agua de mar se evapora y aumenta la salinidad de los suelos, lo que puede jugar en contra y ralentizar la biodegradación si las concentraciones de sal son muy altas [46].

Exploración bacteriana

A continuación, se muestran los registros fotográficos, obtenidos del plaqueo de las diferentes diluciones de Aquabact y FA a las 24 horas y 7 días:

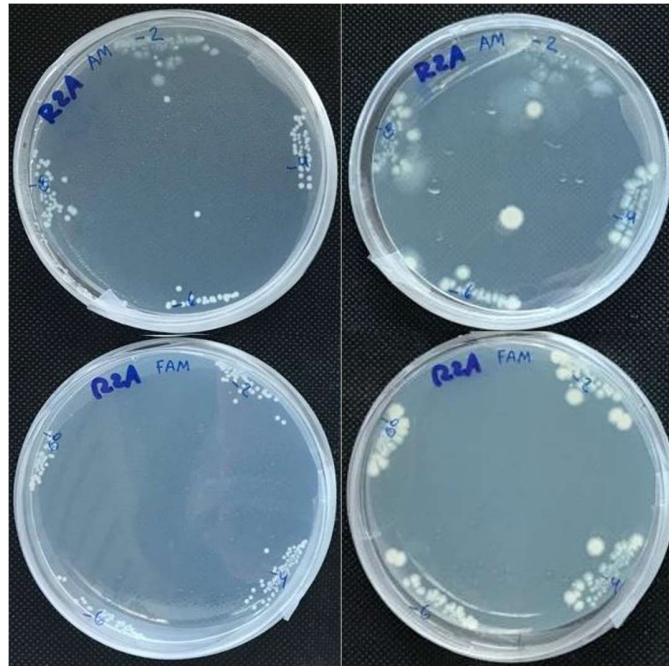


Figura 17: Diluciones de FA y Aquabact en MM a las 24 horas de incubación (izquierda) y a los 7 días (derecha). **AM:** diluciones de Aquabact en MM, **FAM:** diluciones de FA en MM.

De la placa que contiene diluciones de FA se decidió aislar cepas de la dilución 10^{-2} (bacteria 1), 10^{-4} (bacteria 2) y una de tamaño pequeño (bacteria 3) que se presentó en varias diluciones.

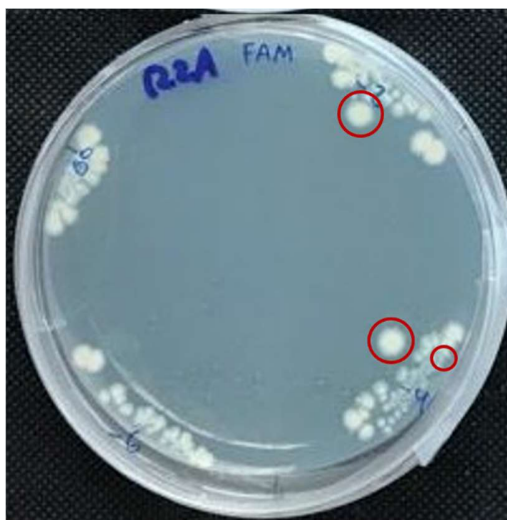


Figura 18: Cepas aisladas de las diluciones de FA en MM.

Se traspasaron dichas cepas a placas nuevas de medio R2A donde se incubaron por 24 horas, pasadas las cuales se plaqueó cada una de estas 3 en nuevas placas R2A, pero esta vez se agregaron 10 µl de los compuestos benceno, fenol, 4-HB y succinato, con el fin de ver el crecimiento de las bacterias de la muestra frente a estos compuestos. A continuación, se muestran fotos a las 24 horas y a los 7 días.

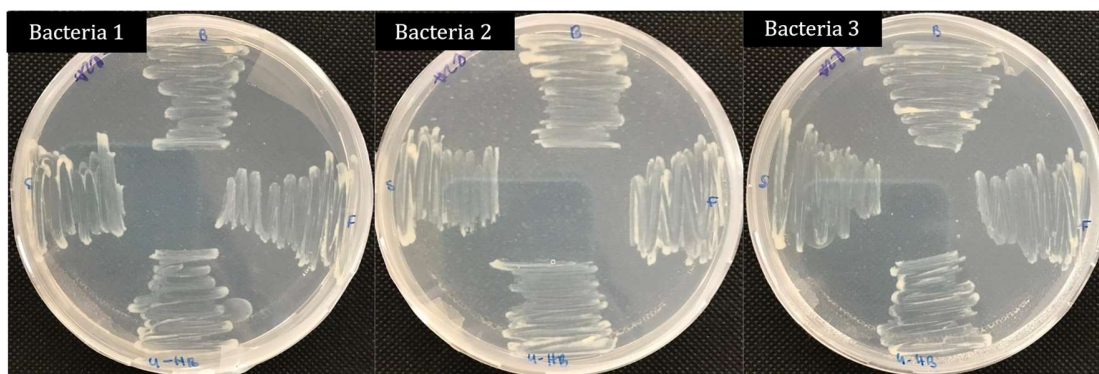


Figura 19: Bacterias aisladas con los compuestos añadidos a las 24 horas de incubación.

B: benceno, **F:** fenol, **4-HB:** ácido 4-hidroxibenzóico, **S:** succinato.

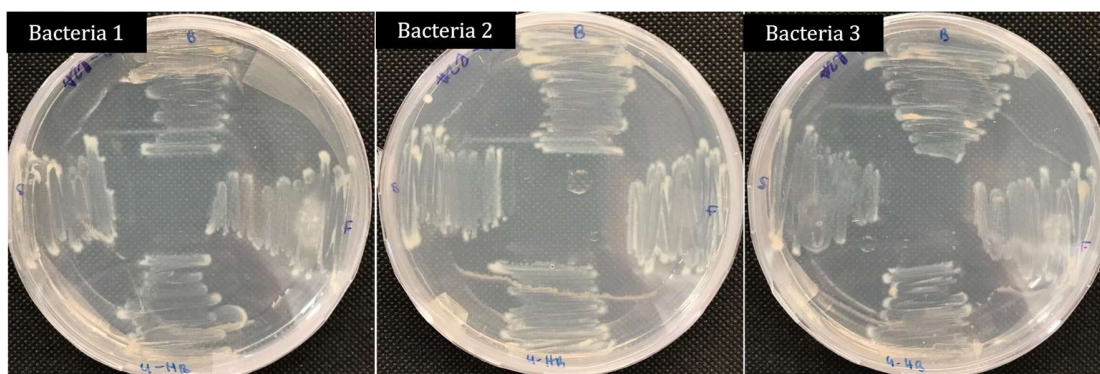


Figura 20: Bacterias aisladas con los compuestos añadidos a los 7 días de incubación.

B: benceno, **F:** fenol, **4-HB:** ácido 4-hidroxibenzóico, **S:** succinato.

Luego se realizó el mismo procedimiento, pero esta vez añadiendo los compuestos benceno, tolueno, xileno, fenol, 4-HB y succinato, además de un grupo control donde no se añadió nada y un control positivo donde solo se agregó MM. A continuación, se muestran las fotos a las 24 horas y a los 7 días de incubación:

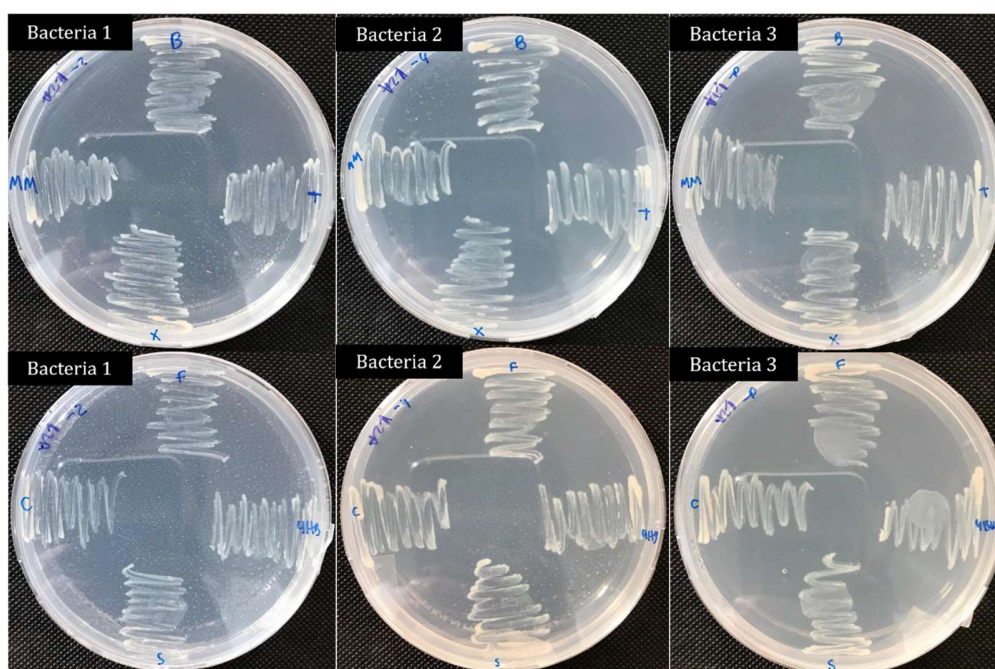


Figura 21: Bacterias aisladas con los compuestos añadidos a las 24 horas de incubación.

B: benceno, **T:** tolueno, **X:** xileno, **MM:** medio mineral mínimo, **F:** fenol, **4-HB:** ácido 4-hidroxibenzóico, **S:** succinato, **C:** control.

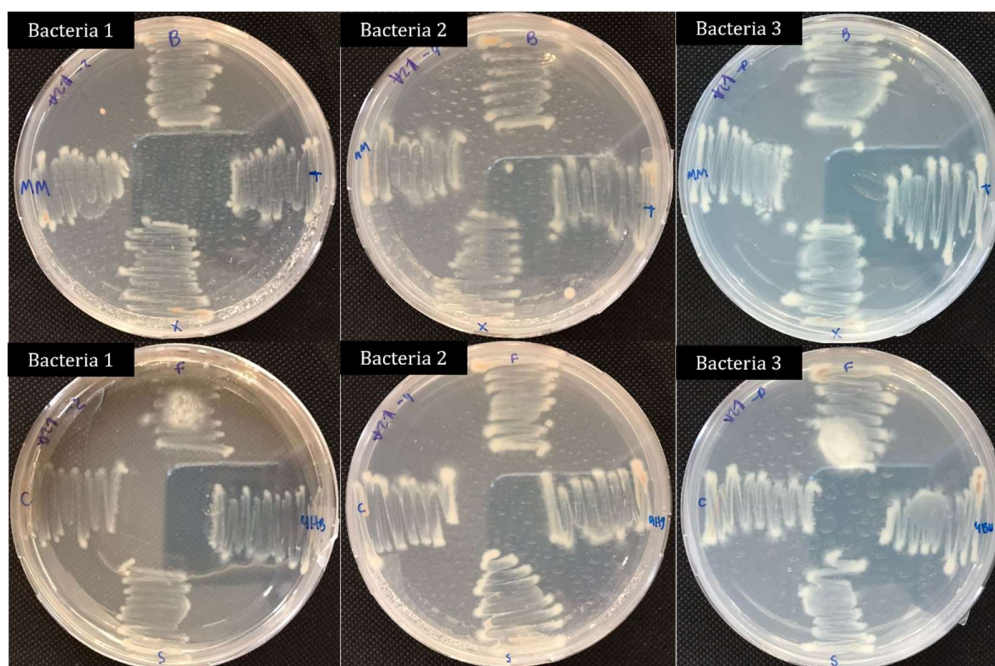


Figura 22: Bacterias aisladas con los compuestos añadidos a los 7 días de incubación.

B: benceno, **T:** tolueno, **X:** xileno, **MM:** medio mineral mínimo, **F:** fenol, **4-HB:** ácido 4-hidroxibenzóico, **S:** succinato, **C:** control.

Como puede observarse luego de los 7 días de incubación, la bacteria 1 mostró mayor densidad en el lugar donde se agregó fenol, mientras que en la bacteria 2 no se vio mayor diferencia entre los compuestos añadidos. Por último, la bacteria 3 se vio notoriamente más densa en el caso cuando se agregó fenol y levemente donde se incorporó 4HB. Se ha descrito que existen bacterias que fueron aisladas de muestras provenientes de suelos y aguas contaminadas con petróleo y que son capaces de crecer en fenol [47], esto podría explicar el crecimiento de las bacterias en presencia de fenol y la posibilidad de que existan bacterias con estas características en las muestras obtenidas. Una vez que se incubó durante 3 semanas los tubos con las diferentes soluciones de benceno, tolueno, xileno, fenol, 4-HB y succinato con inóculo de las bacterias 1, 2, 3 o Aquabact, se pasó a medio fresco y se incubó por una semana más, se obtuvo lo siguiente:

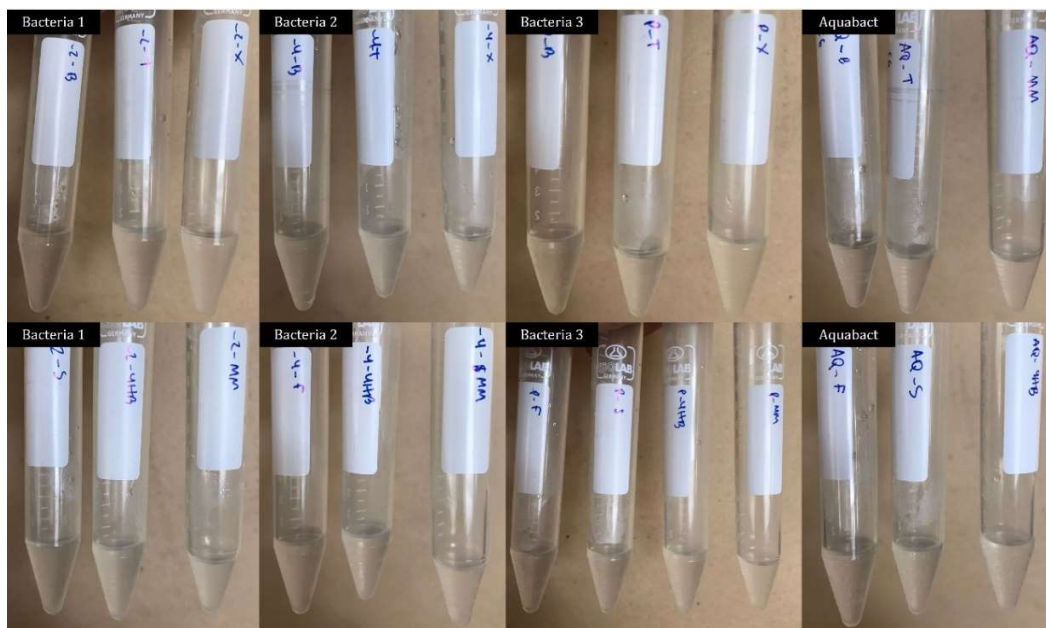


Figura 23: Medios de cultivo frescos inoculados con diferentes bacterias a los 7 días de incubación.

B: benceno, **T:** tolueno, **X:** xileno, **MM:** medio mineral mínimo, **F:** fenol, **4-HB:** ácido 4-hidroxibenzóico, **S:** succinato.

A simple vista no pudo observarse una diferencia significativa entre los distintos medios e inóculos de cada caso. Esto pudo deberse a la falta de nutrientes ya que al realizar la exploración de las bacterias frente a los compuestos en placas con agar R2A si se vio más crecimiento en el lugar donde se añadieron algunos compuestos. Si bien este agar es considerado bajo en nutrientes con respecto a otros, esta característica es favorable para el desarrollo y mantenimiento de los microorganismos que pudieran inhibirse cuando se tiene exceso de nutrientes y adicionalmente se ha visto que este tipo de agar resulta beneficioso para el uso de muestras provenientes de suelos y aguas debido a que favorece la recuperación de las bacterias [48]. Para este caso, aunque el agar R2A no tiene altas concentraciones de nutrientes, siguen siendo más que al no añadir ningún tipo extra y utilizar como medio una solución solo con los compuestos a estudiar.

Escalamiento de resultados

Como se mencionó, fue utilizada la aplicación Aquaveo GMS con las herramientas MODFLOW y RT3D, primero con el paquete “No reaction (tracer transport)” para el caso base que considera sólo disminución por advección, difusión y dispersión, y posteriormente, “Kinetic-Limited Deg. of BTEX w/ MEA” para degradación de BTEX con múltiples aceptores de electrones con la configuración ya descrita, tomando como referencia los resultados obtenidos en el laboratorio. A continuación, se puede ver la modelación desde diferentes perspectivas:



Figura 24: Modelación de la zona contaminada.

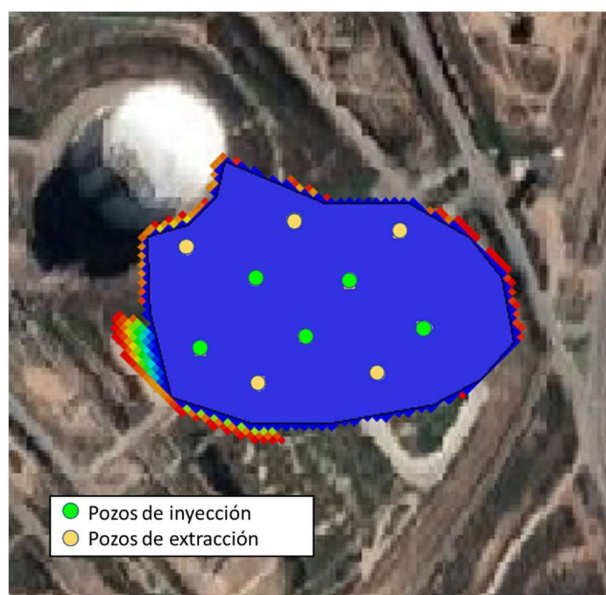


Figura 25: Aumento de la modelación. Puntos verdes indican lugar de pozos de inyección y puntos amarillos lugar de pozos de extracción.

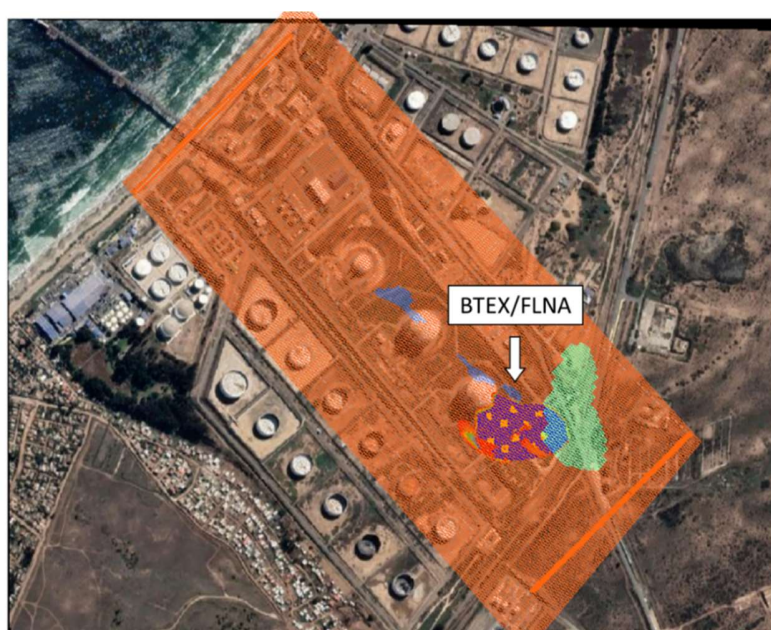


Figura 26: Vista planta de la modelación.

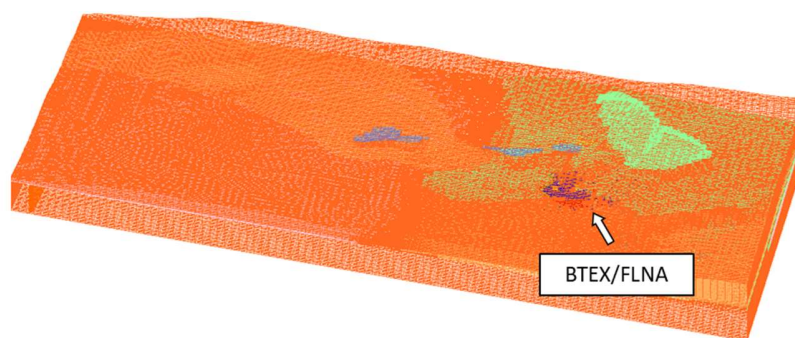


Figura 27: Vista oblicua de la modelación.



Figura 28: Vista lateral de la modelación.

Para simular la presencia de una fase libre sobre el agua y su disolución, se determinó una concentración constante de BTEX de 1.600 ppm hasta el día 180, la cual luego pasa a ser 0, sin embargo, la cantidad residual que queda se sigue disolviendo continuamente en las diferentes capas de la zona contaminada. En las siguientes figuras puede observarse la situación inicial y la final de la modelación para el caso con y sin tratamiento, en los Anexos 7 y 8 pueden verse todos los tiempos:

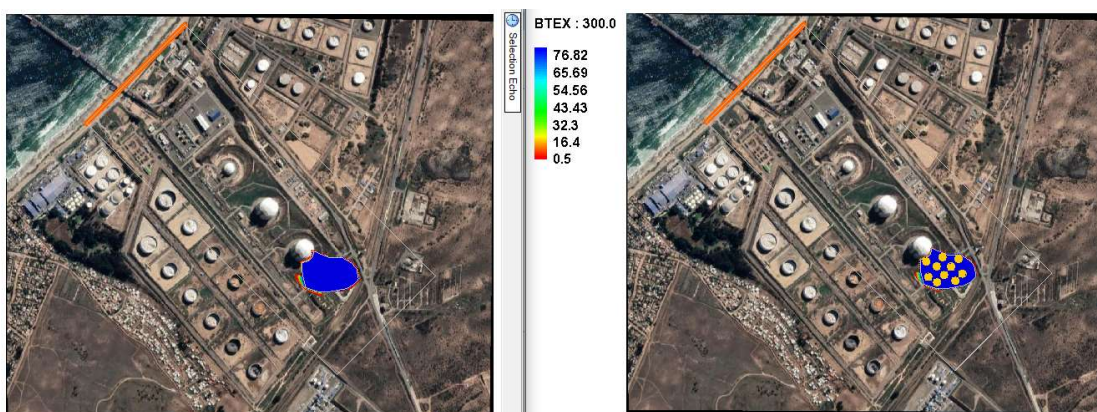


Figura 29: Capa 6 de la modelación sin tratamiento (izquierda) y con tratamiento (derecha) a los 300 días. Se destacan los BTEX en mg/l con su respectiva escala de colores.

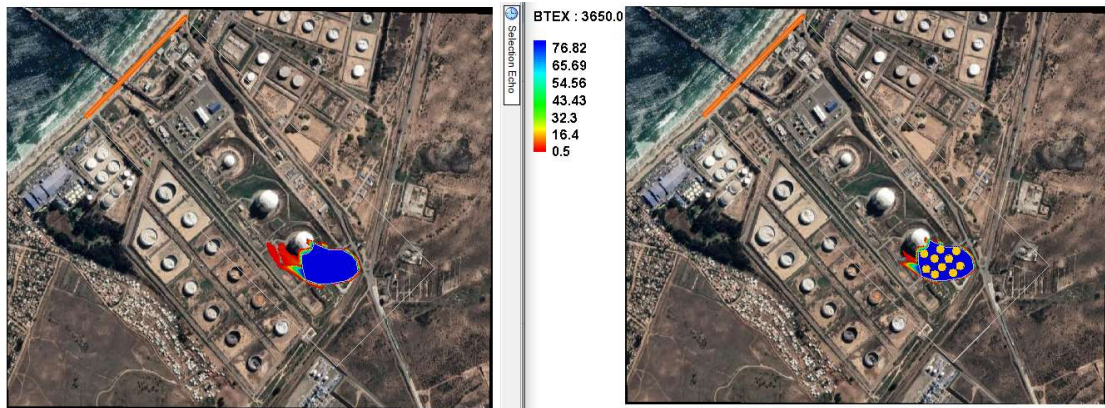


Figura 30: Capa 6 de la modelación sin tratamiento (izquierda) y con tratamiento (derecha) a los 3.650 días. Se destacan los BTEX en mg/l con su respectiva escala de colores.

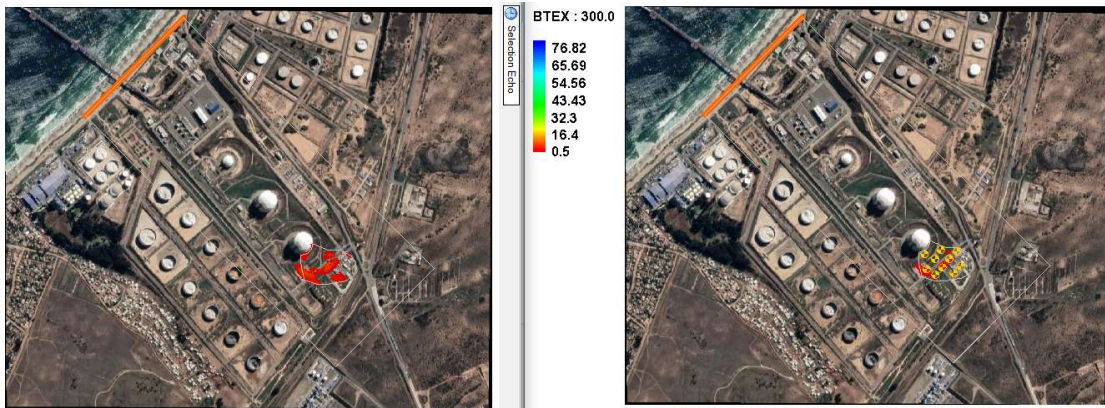


Figura 31: Capa 7 de la modelación sin tratamiento (izquierda) y con tratamiento (derecha) a los 300 días. Se destacan los BTEX en mg/l con su respectiva escala de colores.



Figura 32: Capa 7 de la modelación sin tratamiento (izquierda) y con tratamiento (derecha) a los 3.650 días. Se destacan los BTEX en mg/l con su respectiva escala de colores.

Puede verse en las figuras una menor concentración y propagación de BTEX en la modelación con tratamiento, según la escala de colores que representa concentración de BTEX en mg/l. A continuación, se muestra la masa de BTEX en toneladas detectadas para ambas condiciones modeladas a lo largo de diferentes tiempos, esta medida considera la cantidad que pudiera entrar por sus bordes:

Tiempo (d)	BTEX sin tratamiento (ton)	BTEX con tratamiento (ton)
300	4,924	4,846
665	5,106	4,980
1.030	5,271	5,104
1.395	5,424	5,214
1.760	5,568	5,314
2.125	5,705	5,406
2.490	5,836	5,491
2.855	5,963	5,571
3.220	6,086	5,646
3.585	6,207	5,719
3.650	6,228	5,732

Tabla 8: Masa de BTEX presentes en toneladas para ambas condiciones modeladas en los diferentes tiempos en días.

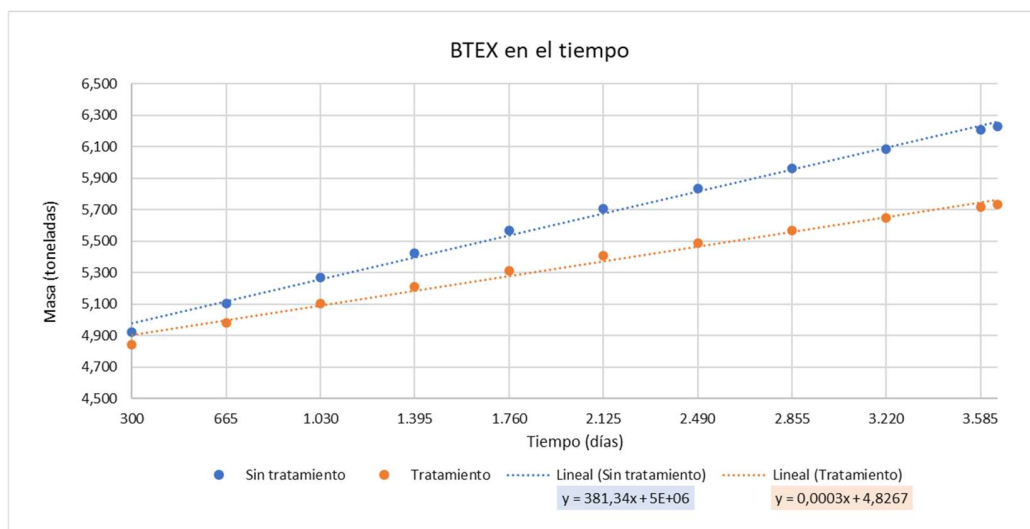


Figura 33: Gráfico de la masa de BTEX en toneladas a lo largo del tiempo.

A continuación, se muestra la masa de nitrato en toneladas detectada para ambas condiciones modeladas a lo largo de diferentes tiempos transcurridos:

Tiempo (d)	Nitrato con tratamiento (ton)
300	9,108
665	9,091
1.030	9,078
1.395	9,065
1.760	9,053
2.125	9,042
2.490	9,032
2.855	9,022
3.220	9,013
3.585	9,003
3.650	9,002

Tabla 9: Masa de nitrato presente en toneladas para la condición modelada con tratamiento en los diferentes tiempos en días.

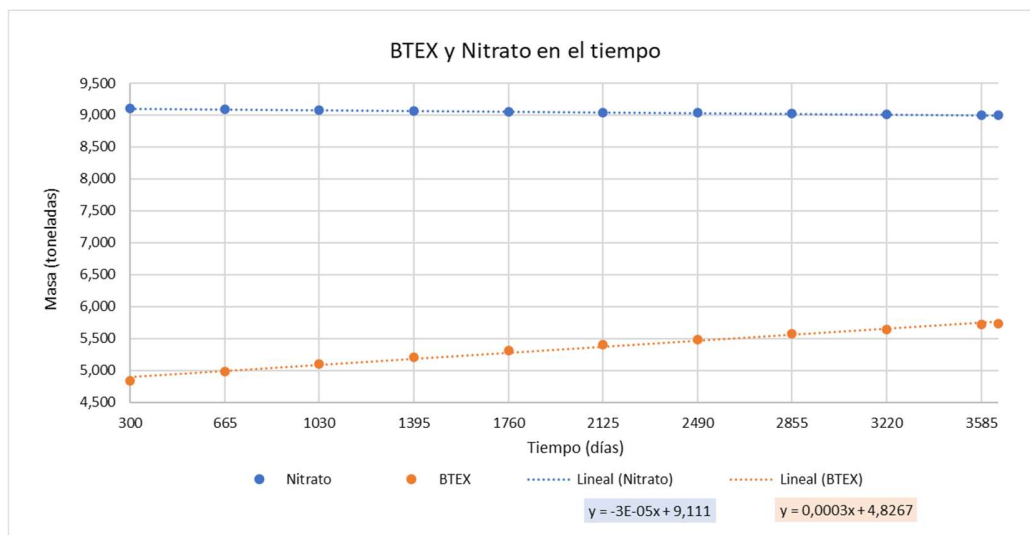


Figura 34: Gráfico de la masa de BTEX y nitrato en toneladas a lo largo del tiempo.

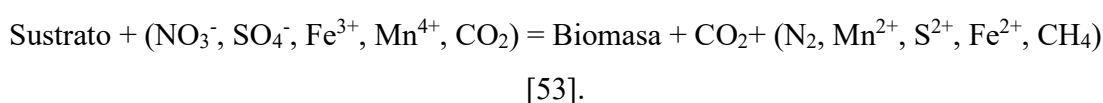
En la tabla de masa de BTEX puede observarse menor cantidad de estos compuestos al realizar bioaumentación y adición de nitrato en contraste con la atenuación natural, y luego

en el gráfico de estos resultados se tiene una mayor pendiente para la situación sin tratamiento, lo que indica que aquí la cantidad de BTEX aumenta más radicalmente a medida que pasa el tiempo al compararse con el caso donde se aplica tratamiento. Lo anterior tiene sentido ya que se han visto en experimentos de biorremediación de hidrocarburos mejores resultados de biodegradación al implementar bioaumentación, en comparación con atenuación natural y bioestimulación [49]. Sin embargo, parte de los resultados difieren con la literatura, teniéndose en tratamientos de biorremediación donde agregar nitrato a aguas subterráneas contaminadas produce como efecto una disminución de los compuestos tolueno, etilbenceno y xilenos a lo largo del tiempo, pero existen casos donde el benceno no muestra gran variación, lo que finalmente se traduce a una reducción de la totalidad de BTEX [50]. Por otra parte, en cuanto a las cantidades de nitrato, puede observarse en la tabla una disminución de nitrato a medida que pasa el tiempo, al aplicar tratamiento, no se muestra la masa de nitrato sin tratamiento ya que el paquete “No reaction (tracer transport)” no lo considera en sus mediciones, y sólo considera cambios en la concentración por advección, difusión, y dispersión. Estos resultados son consistentes con la literatura ya que experimentos muestran un descenso del nitrato al biorremediar, debido a un mayor consumo de este en aquellas zonas donde existe una mayor cantidad de bacterias capaces de reducirlo [50]. También, una disminución en la cantidad del nitrato a lo largo del tiempo puede ser explicado por otros factores, como la oxidación de otros compuestos además de la que ocurre con los BTEX [51].

A nivel de los microorganismos, las células son capaces de utilizar la fuente de nitrógeno que se agrega como aceptor de electrones para la producción de ciertas enzimas y aminoácidos que participan en el proceso de reproducción celular y degradación de contaminantes, mientras que como fuente de carbono se aprovechan los mismos hidrocarburos [52]. En caso de tenerse una reacción aerobia, es decir donde el oxígeno se utiliza como aceptor de electrones, la ecuación de la reacción sería:



mientras que de ser anaerobia otros compuestos como nitrato, sulfato, hierro, u otro, actúan como los aceptores de electrones, donde se tiene la siguiente ecuación:



En este caso al incorporarse nitrato como nutriente en los reactivos, se podría obtener un producto derivado. También puede estar ocurriendo una reacción química del nitrato a otros compuestos derivados como el nitrógeno o el nitrito, se ha visto en la literatura que este último aumenta a medida que disminuye el nitrato cuando ocurre degradación de BTEX utilizándose como aceptor de electrones y reduciéndose, sin embargo también se ha observado que el nitrito puede inhibir en cierta medida a los microorganismos que realizan la biodegradación y producir tasas de degradación más lentas para el caso del benceno [54].

Según los resultados de la modelación, se tiene una menor cantidad de BTEX al extraer fase libre y luego aplicar el tratamiento que consiste en bioaumentar la zona con Aquabact y disponer de pozos de inyección con nitrato y oxígeno disueltos en agua para agregar nutrientes y pozos de extracción. Resulta difícil que la masa de BTEX disminuya en el tiempo en primer lugar, porque estos se están constantemente diluyendo y siguen contaminando, y en segundo lugar, porque para que esto suceda se necesitarían grandes cantidades de nitrato, lo cual no es factible y aplicable a la realidad.

VI. CONCLUSIONES

En cuanto al primer experimento, donde se evalúa bioestimulación en la muestra sin Aquabact, se observó que la degradación de HC es muy baja tendiendo a nula, por lo que es necesario utilizar otro método para la remediación de los contaminantes.

En tanto para el segundo experimento, en el cual se incorpora Aquabact para analizar bioaumentación, al calcular el cambio de valores de absorbancia para cada condición se obtuvo que el grupo control disminuye un 1%, C1 un 2%, C2 un 18% y C3 un 12%, por lo que se obtienen mejores resultados al agregar como nutrientes 665 ppm de nitrógeno y 133 ppm de fósforo y que Aquabact resulta más efectivo para la biodegradación de los contaminantes que se encuentran en la muestra y BTX.

Por otra parte, pudo percibirse visualmente actividad bacteriana en las muestras, las cuales son capaces de crecer en medio R2A.

Por último, en base a la modelación de la situación, se tuvieron menores cantidades de BTEX al remover la fase libre del sitio contaminado y luego un tratamiento de bioaumentación con Aquabact y pozos de bombeo que consideren inyección de nitrato.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- [1] HIDALGO, José. Efectos de los derrames de petróleo sobre los hábitats marinos. 2009. *Ciencia Ahora*, vol. 24, p. 22 – 30.
- [2] CASTRO, Gustavo. Informe final diseño monitoreo frente derrames de hidrocarburos. 2007. Disponible en: https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/INFORME_FINAL_ASESORIA_SAG_HCS2.pdf
- [3] Ministerio del Medio Ambiente, Gobierno de Chile. Tercer Informe del Estado del Medio Ambiente. 2020. Disponible en: https://sinia.mma.gob.cl/wp-content/uploads/2021/10/IEMA-2020_consolidado_final-comprimido.pdf
- [4] Ministerio del Medio Ambiente, Gobierno de Chile. Cuarto Reporte del Estado del Medio Ambiente. 2018. Disponible en: https://sinia.mma.gob.cl/wp-content/uploads/2019/02/Cuarto-REMA-comprimido_compressed_compressed.pdf
- [5] Instituto Nacional de Derechos Humanos. Informe Misión de Observación Zona de Quintero y Puchuncaví. 2018. Disponible en: <http://bibliotecadigital.indh.cl/handle/123456789/1168>
- [6] BAHAR, Tidjani; GOLFIER, Fabrice; OLTÉAN, Constantin; LEFEVRE, Eric; LORGEUX, Catherine. Comparison of theory and experiment for NAPL dissolution in porous media. 2018. *Journal of Contaminant Hydrology*, vol. 211, p. 49-64.
- [7] LITTLE, Cedric. Modelación de la biodegradación de hidrocarburos en suelos vadosos y saturados. 1999. Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias de la Ingeniería. Pontificia Universidad Católica de Chile Escuela de Ingeniería.
- [8] PONCE, Daniela. Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. 2014. Proyecto de título presentado en conformidad a los requisitos para obtener el título de Ingeniero Civil. Universidad del Bío-Bío.
- [9] MANCILLA, Blanca. Desarrollo de una pluma de contaminación por hidrocarburos en el acuífero subterráneo subyacente a una presa de captación de aguas de yacimiento. 1999. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- [10] MÖGEL, Iljana; BAUMANN, Sven; BÖHME, Alexander; KOHAJDA, Tibor; VON BERGEN, Martin; SIMON, Jan-Christoph; LEHMANN, Irina. The aromatic volatile organic compounds toluene, benzene and styrene induce COX-2 and prostaglandins in

- human lung epithelial cells via oxidative stress and p38 MAPK activation. 2011. *Toxicology*, vol. 289, no 1, p. 28-37.
- [11] KHAN, Azmatullah; SZULEJKO, Jan; KIM Ki-Hyun; BROWN, Richard. Airborne volatile aromatic hydrocarbons at an urban monitoring station in Korea from 2013 to 2015. 2018. *Journal of Environmental Management*, vol. 209, p. 525-538.
- [12] COULON, Frédéric; WU, Guozhong. Determination of petroleum hydrocarbon compounds from soils and sediments using ultrasonic extraction. 2014. *Hydrocarbon and lipid microbiology protocols*. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 31-46.
- [13] COMERMA, Eric. Modelado numérico de la deriva y envejecimiento de los hidrocarburos vertidos al mar: aplicación operativa en la lucha contra las mareas negras. Memoria redactada para optar al grado de Doctor en Ciencias del Mar. 2004. Departamento de Ingeniería Hidráulica, Marítima y Ambiental. Universidad Politécnica de Cataluña.
- [14] RODRÍGUEZ, Esleider. Caracterización de compuestos orgánicos volátiles, provenientes de seis estaciones de servicio de combustibles de la ciudad de Barranquilla, Colombia. 2018. Trabajo de grado presentado para obtener el título de Ingeniero Ambiental. Departamento de Civil y Ambiental. Universidad de la Costa.
- [15] Uret. Distillation of Crude Oil & Oil Products. 2018. Disponible en: <https://uret.com.tr/en/distillation-of-crude-oil-oil-products/>
- [16] PÉREZ, Nerea. Métodos semiautomáticos para la medida de benceno, tolueno y xilenos (BTX) en aire. 2012. Memoria de trabajo fin de grado. Departamento de Química Analítica. Universidad de A Coruña.
- [17] AZUBUIKE, Christopher; CHIKERE, Chioma; OKPOKWASILI, Gideon. Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. 2016. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 32, no 11, p. 1-18.
- [18] GÓMEZ, Wilmar; GAVIRIA, Jair; CARDONA, Santiago. Evaluación de la bioestimulación frente a la atenuación natural y la bioaumentación en un suelo contaminado con una mezcla de gasolina-diesel. 2009. *Dyna*, vol. 76, no 160, p. 83-93.
- [19] PONSIN, Violaine; COULOMB, Bruno; GUELORGET, Yves; MAIER, Joachim; HÖHENER, Patrick. In situ biostimulation of petroleum hydrocarbon degradation by

nitrate and phosphate injection using a dipole well configuration. 2014. *Journal of contaminant hydrology*, vol. 171, p. 22-31.

[20] PÉREZ, Josefina; VIGUERAS, Sergio; GÓMEZ, Octavio; CALVA, Graciano. Degradación microbiana con BFNA de hidrocarburos aromáticos por bioaumentación en Biopilas. 2015. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, vol. 46, no 4, p. 416-423.

[21] XIN, Bao-Ping; WU, Chih-Hung; WU, Cheng-Han; LIN, Chi-Wen. Bioaugmented remediation of high concentration BTEX-contaminated groundwater by permeable reactive barrier with immobilized bead. 2013. *Journal of hazardous materials*, vol. 244, p. 765-772.

[22] NWANKWEGU, Amechi; LEI, Zhang; XIE, Deti; ONWOSIC, Chukwudi; MUHAMMAD, Wada; ODOH, Chuks; SAM, Kabari; IDENYI, John. Bioaugmentation as a green technology for hydrocarbon pollution remediation. 2022. *Problems and prospects. Journal of Environmental Management*, vol. 304, p. 114313.

[23] KERFOOT, William. *Gas-gas-water treatment system for groundwater and soil remediation*. 2006. U.S. Patent No 7,022,241.

[24] Mahalakshmi N.A. SRINIVASAN. *Onsite installation or manufactured product of eco-friendly bacterial compositions, methods and systems for bioremediation in a short duration in different environments*. 2021. WO2021113850A2.

[25] Fundación Chile. Manual de Tecnologías de Remediación de Sitios Contaminados. 2015. Disponible en: https://fch.cl/wp-content/uploads/2019/10/manual-de-tecnologias-de-remediacion-de-sitios-contaminados_baja-1.pdf

[26] Las Salinas. Biorremediación de terrenos en Chile: el caso de Puerto Montt. 2019. Disponible en: <https://lassalinas.cl/biorremediacion-de-terrenos-en-chile-el-caso-de-puerto-montt/>

[27] VELASCO, Juan; VOLKE, Tania. El composteo: una alternativa tecnológica para la biorremediación de suelos en México. 2003. *Gaceta Ecológica*, no 66, p. 41-53.

[28] GNL Quintero. Plan de contingencia para el control de derrames de hidrocarburos, sus derivados y otras sustancias nocivas líquidas susceptibles de contaminar. 2019. Disponible en: <https://snifa.sma.gob.cl/SeguimientoAmbiental/Ficha/81487>

[29] GNL Quintero, Chile. Modelación del flujo del agua subterránea y del transporte de hidrocarburos disueltos en el acuífero en GNLQ. 2020. Artículo no publicado.

- [30] Fundación Chile Informe de Séptimo Monitoreo Fase 2 y Progreso de la Implementación de Plan de Extracción de FLNA. 2020. Artículo no publicado.
- [31] Ecotecnos S.A. Quienes Somos. 2020. Disponible en: <https://ecotecnos.cl/quienes-somos/>
- [32] MONTOYA, Sergio; PÁEZ, Carlos. Documentación de la técnica de cromatografía de gases en el análisis de hidrocarburos alifáticos en aguas residuales. 2012. Tesis Doctoral. Facultad de Tecnologías . Universidad Tecnológica de Pereira.
- [33] ARGUIJO, Nadia; GUERRERO, Armando; DOMÍNGUEZ, Verónica; CARRILLO, Eugenio; ZAVALA, Joeal. Modelos de calibración para la cuantificación espectrofotométrica de hidrocarburos totales del petróleo en suelo. 2019. *Revista internacional de contaminación ambiental*, vol. 35, no 2, p. 469-479.
- [34] MRAYYAN, Bassam; BATTIKHI, Mohammed N. Biodegradation of total organic carbons (TOC) in Jordanian petroleum sludge. 2005. *Journal of hazardous materials*, vol. 120, no 1-3, p. 127-134
- [35] ABOUZARI, Milad; PAHLAVANI, Parham; IZADITAME, Fatemeh; BIGDELI, Behnaz. Estimating the chemical oxygen demand of petrochemical wastewater treatment plants using linear and nonlinear statistical models—A case study. 2021. *Chemosphere*, vol. 270, p. 129465.
- [36] Standard Methods Committee of the American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation. 52220 Chemical Oxygen Demand. 2017. *Standard Methods for the Examination Water and Wastewater*.
- [37] DUBBER, Donata; GRAY, Nicholas. Replacement of chemical oxygen demand (COD) with total organic carbon (TOC) for monitoring wastewater treatment performance to minimize disposal of toxic analytical waste. 2010. *Journal of Environmental Science and Health Part A*, vol. 45, no 12, p. 1595-1600
- [38] DELLAFIORI, María Ignacia. Análisis del potencial para aplicar biorremediación en muestras de suelo contaminados con hidrocarburos y metales pesados, mediante determinaciones microbiológicas y moleculares. 2018. Tesis para optar al título de Ingeniero Civil en Energía y Medio Ambiente y al grado de Magíster en Ciencias de la Ingeniería en Bioingeniería. FIC. Universidad Adolfo Ibáñez.

- [39] Ecotecnos S.A. Ficha Aquabact. Sin fecha. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/505294363/Ficha-Aquabact-liviana>
- [40] HUGHES, Joseph; LANGEVIN, Christian; BANTA, Edward. Documentation for the MODFLOW 6 framework. 2017. *Modeling Techniques*, chapter 57 of Section A, Groundwater.
- [41] Aquaveo. GMS - Groundwater Modeling System. Sin fecha. Disponible en: <https://www.aquaveo.com/software/gms-groundwater-modeling-system-introduction>
- [42] REYES, María Andrea; PUENTES, Edinson; CASANOVA, Eder; LÓPEZ, Freddy; PANQUEVA, Jorge; CASTILLO, Genis. Inmovilización de bacterias potencialmente degradadoras de petróleo crudo en matrices orgánicas naturales y sintéticas. 2018. *Revista internacional de contaminación ambiental*, vol. 34, no 4, p. 597-609
- [43] SMITH, Euan; THAVAMANI, Palanisami; RAMADASS, Kamaditah; NAIDU, Ravi; SRIVASTAVA, Prashant; MEGHARAJ, Mallavarapu. 2015. Remediation trials for hydrocarbon-contaminated soils in arid environments: evaluation of bioslurry and biopiling techniques. *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 101, p. 56-65.
- [44] MAROTO, María Esther.; ROGEL, Juan Manuel. Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos. 2004. *Protección Ambiental de suelos*, p. 297-305.
- [45] FIGUEROA, Carolina. Evaluación de la capacidad degradadora de hidrocarburos (HC) de petróleo de hongos y bacterias aislados del borde costero de la Región del Bío-Bío para la aplicación en suelos contaminados. 2017. Tesis para optar al grado de Ingeniero en Recursos Naturales. Facultad de Ciencias. Universidad del Bío-Bío.
- [46] ABOU-KHALIL, Charbel; PRINCE, Victoria; PRINCE, Roger; GREER, Charles; LEED, Kenneth; ZHANG, Baiyu; BOUFADEL, Michel. Occurrence and biodegradation of hydrocarbons at high salinities. 2021. *Science of The Total Environment*, vol. 762, p. 143165.
- [47] LI, Hao; MENG, Fanping; DUAN, Weiyan; LIN, Yufei; ZHENG, Yang. Biodegradation of phenol in saline or hypersaline environments by bacteria: A review. 2019. *Ecotoxicology and environmental safety*, vol. 184, p. 109658.

- [48] LATORRE, Nelsy. Evaluación de medios de cultivo altos y bajos en nutrientes para la recuperación de heterótrofos edáficos en la ecorregión cafetera de los andes. 2007. Tesis para optar al título de Microbiólogo Industrial. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana.
- [49] BENTO, Fatima; CAMARGO, Flavio; BENEDICT, Okeke; FRANKENBERGERB, William. 2005. Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. *Bioresource technology*, vol. 96, no 9, p. 1049-1055.
- [50] DA SILVA, Marcio; CORSEUIL, Henry. Groundwater microbial analysis to assess enhanced BTEX biodegradation by nitrate injection at a gasohol-contaminated site. 2012. *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 67, p. 21-27.
- [51] SCHREIBER, Madeline; BAHR, Jean. Nitrate-enhanced bioremediation of BTEX-contaminated groundwater: parameter estimation from natural-gradient tracer experiments. 2002. *Journal of Contaminant Hydrology*, vol. 55, no 1-2, p. 29-56.
- [52] CASAS, Andrea; LONDOÑO, Maria Fernanda. Efecto de la adición de sales inorgánicas simples como el nitrato de amonio y fosfato di básico de potasio en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con petróleo. 2004. Proyecto de Grado. Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria. Universidad de La Salle.
- [53] GÓMEZ, Sara; GUTIÉRREZ, Diana; HERNÁNDEZ, Ana; HERNÁNDEZ, Cindy; LOSADA, Mariana; MANTILLA, Paula. Factores bióticos y abióticos que condicionan la biorremediación por *Pseudomonas* en suelos contaminados por hidrocarburos. 2008. *Nova*, vol. 6, no 9, p. 76-84.
- [54] DOU, Junfeng; LIU, Xiang; HU, Zhifeng; DENG, Dong. Anaerobic BTEX biodegradation linked to nitrate and sulfate reduction. 2008. *Journal of Hazardous Materials*, vol. 151, no 2-3, p. 720-729.

ANEXOS

Anexo 1: Configuración en GMS de “Attribute Table” de la zona contaminada con BTEX.

Name	Type	BTEX (mg/l)	Oxygen (mg/l)	Nitrate (mg/l)	Fe ⁺² (mg/l)	Sulfate (mg/l)	Methane (mg/l)
Zona contaminada	spec. conc.	<transient>	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0

Anexo 2: Concentración de BTEX utilizada en “<transient>” a lo largo del tiempo para la zona contaminada.

Time (d)	BTEX (mg/l)
[1 – 180]	1.600
[181 – 3.650]	0

Anexo 3: Configuración en GMS de “Attribute Table” de los pozos de inyección.

Name	Type	Flow rate (m ³ /d)	BTEX (mg/l)	Oxygen (mg/l)	Nitrate (mg/l)	Fe ⁺² (mg/l)	Sulfate (mg/l)	Methane (mg/l)
Punto 1	well	<transient>	0	133	665	0	0	0
Punto 2	well	<transient>	0	133	665	0	0	0
Punto 3	well	<transient>	0	133	665	0	0	0
Punto 4	well	<transient>	0	133	665	0	0	0
Punto 5	well	<transient>	0	133	665	0	0	0

Anexo 4: Caudal utilizado en “<transient>” para los pozos de inyección.

Time (d)	Flow rate (m ³ /d)
201	5
202	0
203	0
204	0
205	0
206	0
207	0
208	5
209	0
210	0
211	0
212	0
213	0
214	0
215	5
216	0
217	0
218	0
219	0
220	0
221	0
222	5
223	0
224	0
225	0
226	0
227	0
228	0
229	5
230	0
231	0
232	0
233	0
234	0
235	0
236	5
237	0
238	0
239	0
240	0

241	0
242	0
243	5
244	0
245	0
246	0
247	0
248	0
249	0
250	5

Anexo 5: Configuración en GMS de “Attribute Table” de los pozos de extracción.

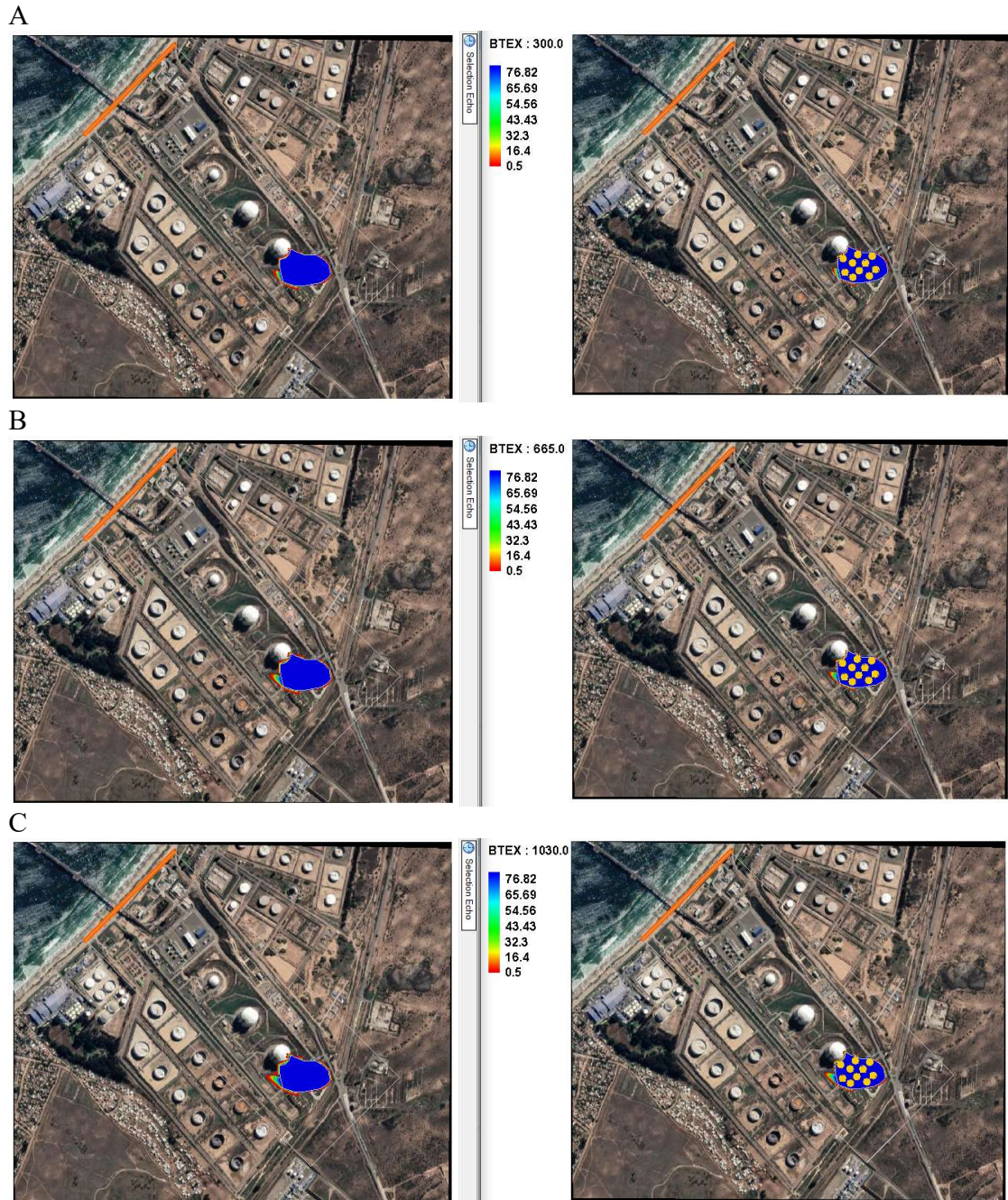
Name	Type	Flow rate (m ³ /d)	BTEX (mg/l)	Oxygen (mg/l)	Nitrate (mg/l)	Fe ⁺² (mg/l)	Sulfate (mg/l)	Methane (mg/l)
Punto 6	well	<transient>	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0
Punto 7	well	<transient>	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0
Punto 8	well	<transient>	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0
Punto 9	well	<transient>	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0
Punto 10	well	<transient>	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0	-1.0

Anexo 6: Caudal utilizado en “<transient>” para los pozos de extracción.

Time (d)	Flow rate (m ³ /d)
201	- 5
202	0
203	0
204	0
205	0
206	0
207	0
208	- 5
209	0
210	0
211	0
212	0
213	0
214	0
215	- 5
216	0
217	0
218	0
219	0
220	0
221	0
222	- 5
223	0
224	0
225	0
226	0
227	0
228	0
229	- 5
230	0
231	0
232	0
233	0
234	0
235	0
236	- 5
237	0
238	0
239	0
240	0

241	0
242	0
243	- 5
244	0
245	0
246	0
247	0
248	0
249	0
250	- 5

Anexo 7: Resultados visuales de la capa 6 de la modelación donde puede observarse la concentración en mg/l de BTEX con su respectiva escala en colores para la situación sin tratamiento (izquierda) y con tratamiento (derecha), a lo largo de diferentes tiempos. A: 300, B: 665, C: 1.030, D: 1.395, E: 1.760, F: 2.125, G: 2.490, H: 2.855, I: 3.220, J: 3.585, K: 3.650 (días).



D



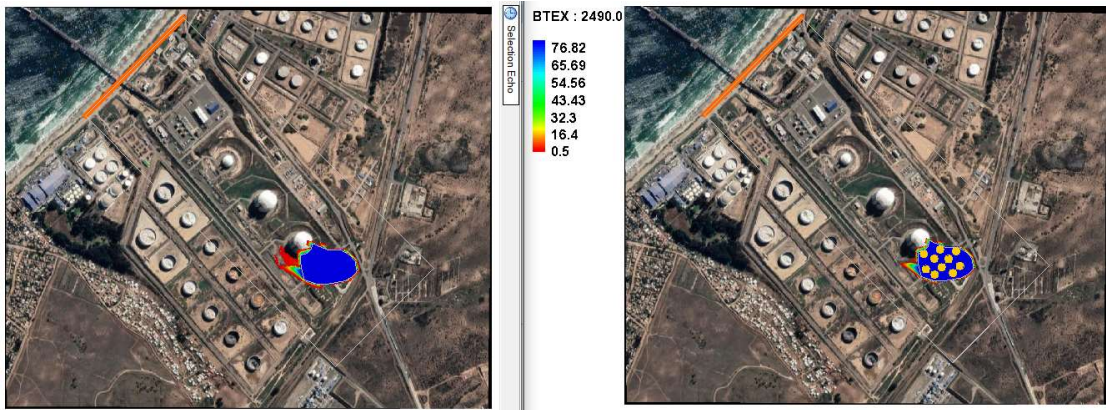
E



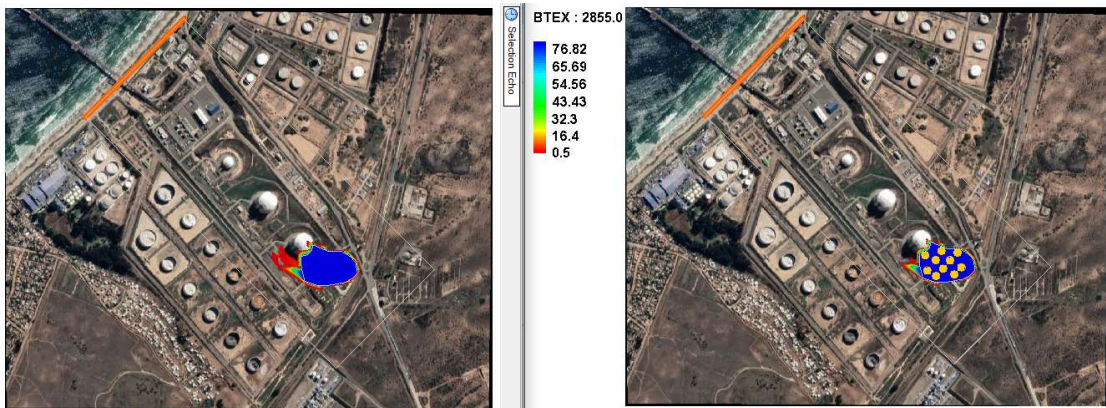
F



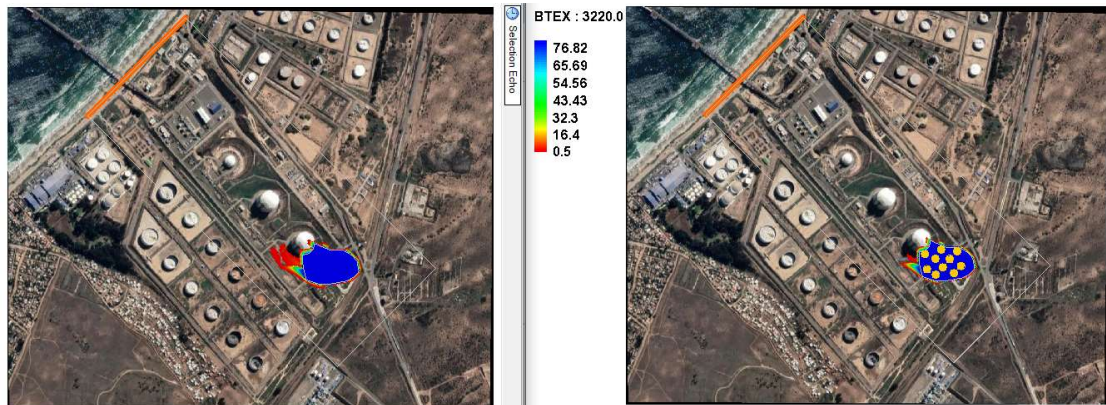
G



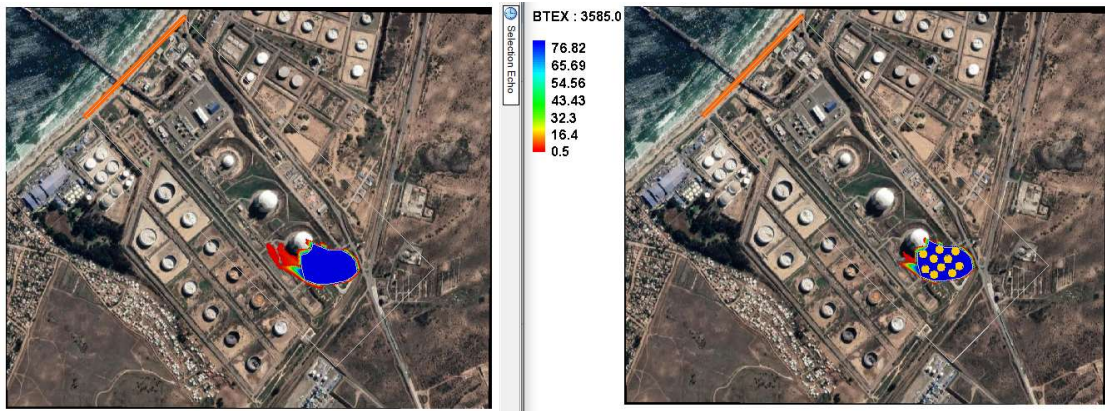
H



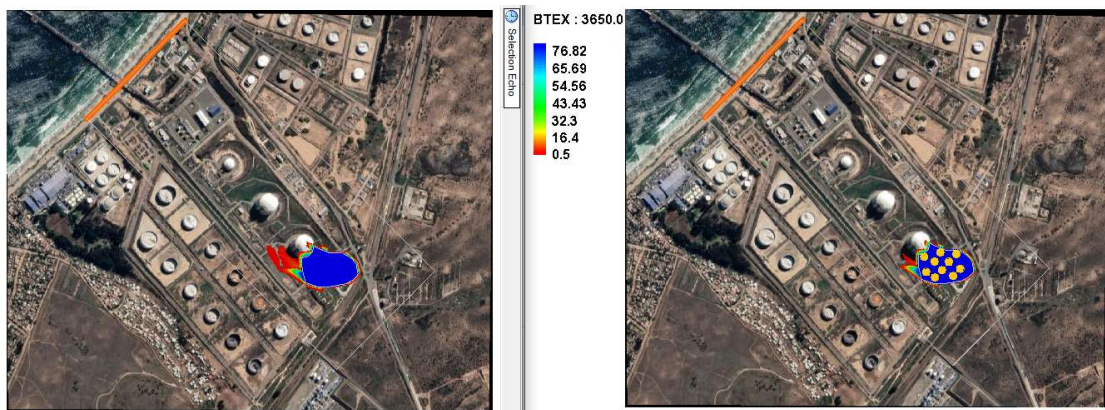
I



J

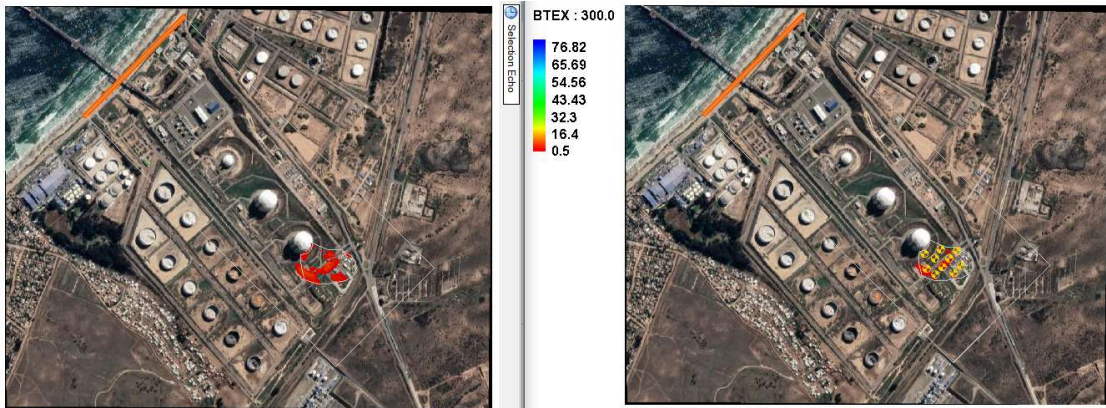


K



Anexo 8: Resultados visuales de la capa 7 de la modelación donde puede observarse la concentración en mg/l de BTEX con su respectiva escala en colores para la situación sin tratamiento (izquierda) y con tratamiento (derecha), a lo largo de diferentes tiempos. A: 300, B: 665, C: 1.030, D: 1.395, E: 1.760, F: 2.125, G: 2.490, H: 2.855, I: 3.220, J: 3.585, K: 3.650 (días).

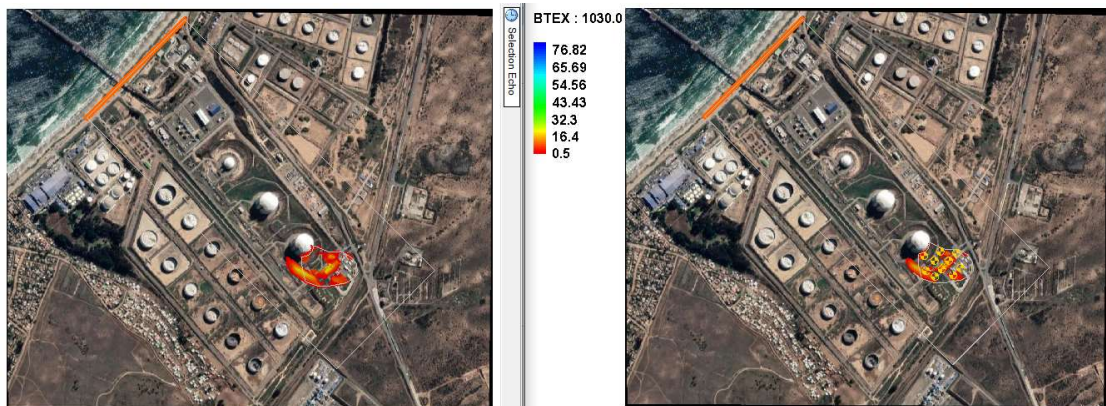
A:



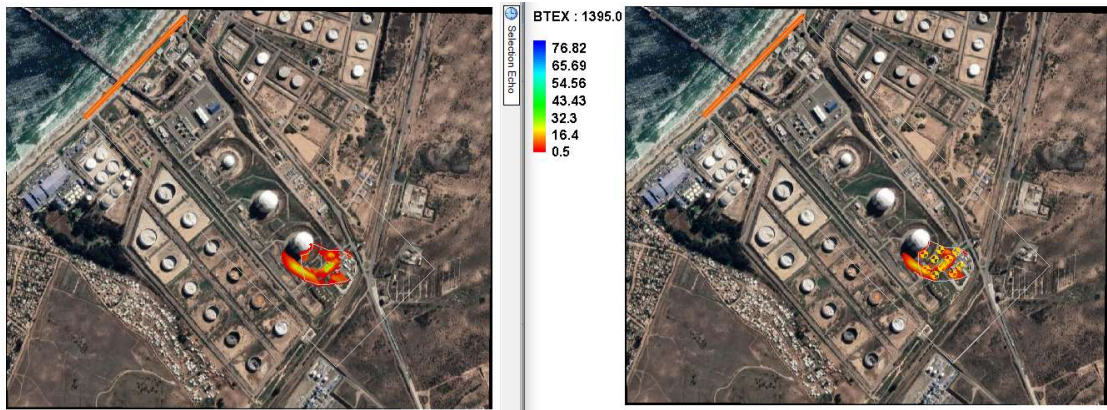
B:



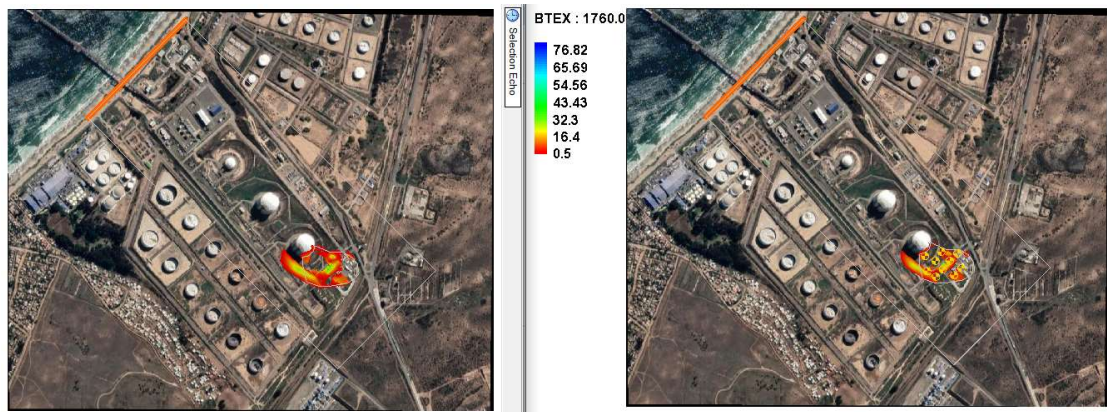
C:



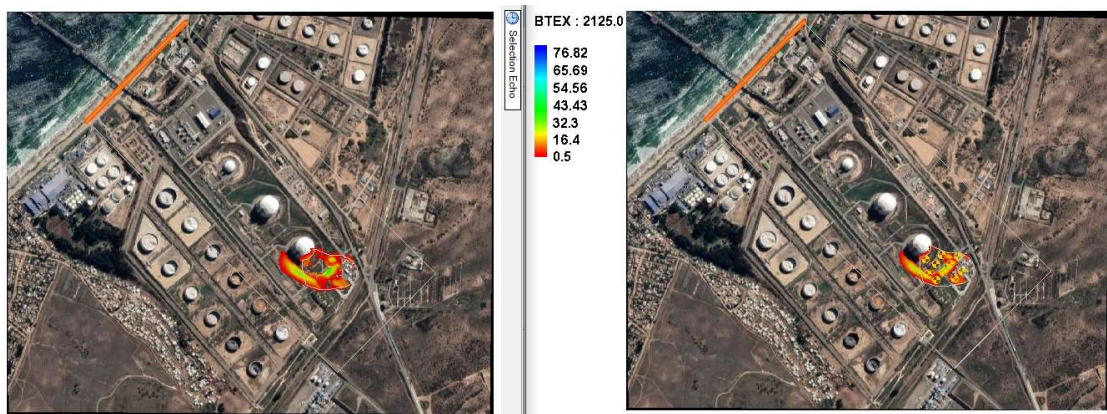
D:



E:



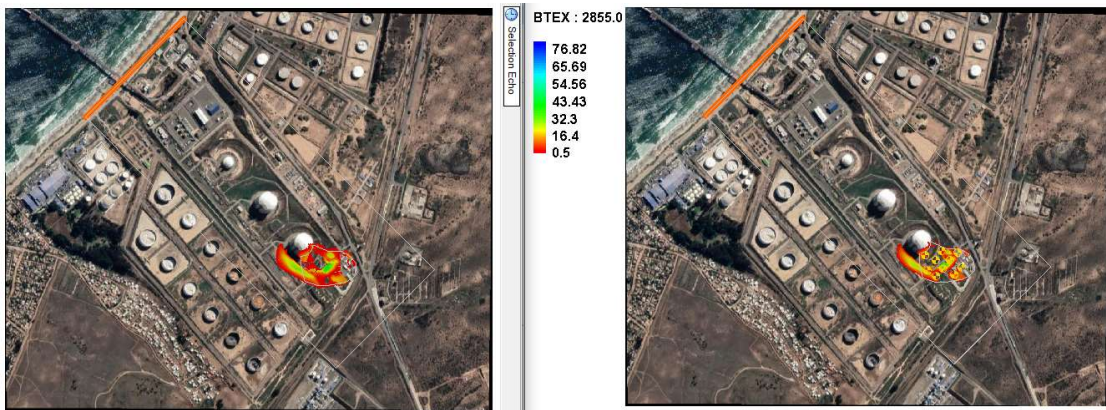
F:



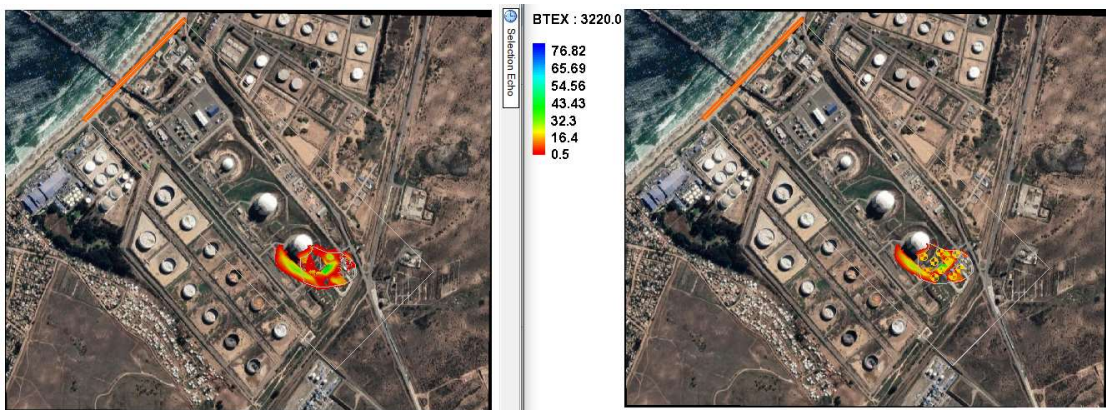
G:



H:



I:



J:



K:

