



UNIVERSIDAD DE OVIEDO

**Escuela de
Ingeniería de Minas, Energía y Materiales de Oviedo
Máster en Ingeniería de Minas**



Trabajo Fin de Máster

**Revalorización de residuos como enmiendas orgánicas
para la recuperación de suelos contaminados**

Autor: Karolly K. Silvino de Souza

Tutores: José Luis Rodríguez Gallego y Diego Baragaño Coto

Oviedo, julio de 2023

Índice de contenidos

1.	Resumen	1
2.	Introducción	2
2.1	Problemática de la contaminación de suelos	2
2.2.1	El suelo como receptor de la contaminación	2
2.1.2	Suelos contaminados.....	6
2.2	Gestión de suelos contaminados.....	12
2.2.1	Legislación vigente en España	12
2.2.2	Etapas del proceso de investigación y recuperación	15
2.3	Técnicas de remediación	17
2.3.1	Métodos de confinamiento y aislamiento	18
2.3.2	Métodos físico-químicos	18
2.3.3	Métodos térmicos	20
2.3.4	Métodos biológicos (soluciones basadas en la naturaleza)	21
3.	Objetivos.....	29
4.	Metodología	30
4.1	Enmiendas orgánicas empleadas	30
4.2	Métodos analíticos	33
4.3	Diseño de experimentos.....	37
4.3.1	Landfarming.....	37
4.3.2	Inmovilización de contaminantes.....	40
5.	Resultados y discusión.....	42
5.1	Landfarming.....	42
5.1.1	pH, conductividad eléctrica y potencial redox	42
5.1.2	Fitotoxicidad	46

5.1.3 Análisis elemental CHNS.....	48
5.1.4 Fraccionamiento de carbono.....	51
5.1.5 Análisis TPH.....	54
5.2 Inmovilización de contaminantes.....	58
5.2.1 pH, conductividad eléctrica y potencial redox	58
5.2.2 Actividad enzimática.....	64
5.2.3 Fraccionamiento de carbono.....	72
5.2.4 Extracción con agua destilada	75
5.2.5 Extracción TCLP.....	84
6. Conclusiones y perspectivas de futuro	93
6.1 Landfarming.....	93
6.2 Inmovilización de contaminantes.....	95
6.3 Perspectivas de futuro.....	97
7. Bibliografía	102
Anexos	105
Anexo I. Datos del crecimiento de vegetación en las macetas con suelo A y O	105
Anexo II. Protocolo de los análisis químicos	107

Índice de tablas

Tabla 1. Origen de los metales pesados en el suelo.....	7
Tabla 2. Comportamiento y persistencia en el subsuelo de los principales productos comercializados del petróleo	11
Tabla 3. Actividades potencialmente contaminantes según el R.D. 9/2005.....	13
Tabla 4. Nomenclatura y dosis de enmiendas orgánicas empleadas en los experimentos.	32
Tabla 5. Cantidades de suelo, enmiendas orgánicas y diésel en cada muestra de landfarming	38
Tabla 6. Cantidades de suelo y enmiendas orgánicas presentes en cada maceta.....	40
Tabla 7. Clasificación del suelo en función de su pH.....	42
Tabla 8. Fitotoxicidad según el Índice de Germinación de Zucconi	46
Tabla 9. Índice de Germinación (%) de Zucconi para las muestras del landfarming	46
Tabla 10. Composición elemental CHNS de las enmiendas orgánicas.....	48
Tabla 11. Composición elemental CHNS de las muestras del landfarming en microcosmos	48
Tabla 12. Relación C/N en las enmiendas orgánicas	49
Tabla 13. Relación C/N en las muestras de landfarming en microcosmos	49
Tabla 14. Fracciones de TOC en el suelo D en el tiempo final (180 días).....	52
Tabla 15. TPH inicial aportado a las muestras de landfarming por cada tratamiento.....	54
Tabla 16. Concentración inicial de TPH en cada microcosmos de landfarming.....	54
Tabla 17. Evolución de las concentraciones de TPH en los microcosmos de landfarming para los tiempos inicial (T0), intermedio (T90) y final (T180), los datos presentan un error menor del 5%	55

Tabla 18. Porcentajes de degradación de TPH según el tratamiento	56
Tabla 19. Actividades enzimáticas de las muestras con suelo A.....	64
Tabla 20. Actividades enzimáticas de las muestras con suelo O.....	68
Tabla 21. Fracciones de TOC en el suelo A en el tiempo final (180 días)	72
Tabla 22. Fracciones de TOC en el suelo O en el tiempo final (180 días).....	73
Tabla 23. Extracción con agua destilada del suelo inicial A	75
Tabla 24. Resultados de la extracción con agua destilada del suelo A	75
Tabla 25. Extracción con agua destilada del suelo O	80
Tabla 26. Resultados de la extracción con agua destilada del suelo O	81
Tabla 27. Comparación de concentraciones de elementos en el suelo A con los límites permitidos para el análisis TCLP por la EPA (EPA, 1992)	84
Tabla 28. Resultados del análisis TCLP del suelo A.....	84
Tabla 29. Comparación de concentraciones de elementos en el suelo O con los límites permitidos para el análisis TCLP por la EPA (EPA, 1992)	89
Tabla 30. Resultados del análisis TCLP del suelo O	89
Tabla 31. Datos necesarios para determinar el índice de crecimiento en las macetas con suelo A	105
Tabla 32. Datos necesarios para determinar el índice de crecimiento en las macetas con suelo O	106

Índice de figuras

Figura 1. Ilustración del concepto de suelo con la inclusión de las zonas saturadas y no saturada	4
Figura 2. Principales grupos y componentes del crudo	10
Figura 3. Ilustración explicativa de un sistema “dual phase extraction”	19
Figura 4. Esquema generalizado del tratamiento de suelos por extracción con disolventes	20
Figura 5. Descripción ilustrativa de un proceso de desorción térmica de suelos contaminados	21
Figura 6. Ejemplo de combinación de las técnicas de inmovilización y fitoestabilización...	24
Figura 7. Esquema del landfarming	26
Figura 8. Ejemplo real de aplicación de técnica landfarming.....	26
Figura 9. Elementos constructivos de una biopila.....	28
Figura 10. Ejemplo real de biopilas (barrio de Carabanchel, Madrid)	28
Figura 11. Microcosmos con las muestras de suelo, diésel y enmiendas orgánicas para simular técnica landfarming	37
Figura 12. Microcosmos de landfarming en su tiempo inicial	39
Figura 13. Muestras iniciales de las macetas con suelos A y O con sus respectivos tratamientos	41
Figura 14. Representación de los valores de pH en los microcosmos con suelo D.....	43
Figura 15. Variación de la conductividad eléctrica en las muestras con suelo D.....	44
Figura 16. Variación del potencial redox en las muestras con suelo D.....	45

Figura 17. Comparación gráfica del Índice de Germinación (%) de Zucconi para las muestras del landfarming.....	47
Figura 18. Representación del índice C/N en las muestras de landfarming	50
Figura 19. Porcentajes de C lábil, extraíble y recalcitrante en el suelo D	52
Figura 20. Representación gráfica de la evolución de la concentración de TPH en cada muestra de landfarming	55
Figura 21. Representación de los valores de pH en las muestras con suelo A	58
Figura 22. Representación de los valores de pH en las muestras con suelo O	59
Figura 23. Variación de la conductividad eléctrica en las muestras con suelo A.....	60
Figura 24. Variación de la conductividad eléctrica en las muestras con suelo O	61
Figura 25. Variación del potencial redox en las muestras con suelo A	62
Figura 26. Variación del potencial redox en las muestras con suelo O.....	63
Figura 27. Actividad DHA de las muestras con suelo A	65
Figura 28. Actividad GLU de las muestras con suelo A.....	66
Figura 29. Actividad PHOS de las muestras con suelo A	67
Figura 30. Actividad URE de las muestras con suelo A.....	68
Figura 31. Actividad DHA de las muestras con suelo O.....	69
Figura 32. Actividad GLU de las muestras con suelo O	70
Figura 33. Actividad PHOS de las muestras con suelo O	71
Figura 34. Actividad URE de las muestras con suelo O	71
Figura 35. Porcentajes de C lábil, extraíble y recalcitrante en el suelo A	73
Figura 36. Porcentajes de C lábil, extraíble y recalcitrante en el suelo O	74

Figura 37. Ni (mg/kg) en extracción con agua destilada del suelo A	76
Figura 38. Cu (mg/kg) en extracción con agua destilada del suelo A.....	77
Figura 39. Zn (mg/kg) en extracción con agua destilada del suelo A.....	77
Figura 40. As (mg/kg) en extracción con agua destilada del suelo A.....	78
Figura 41. Cd (mg/kg) en extracción con agua destilada del suelo A.....	79
Figura 42. Hg (µg/kg) en extracción con agua destilada del suelo A	79
Figura 43. Pb (mg/kg) en extracción con agua destilada del suelo A.....	80
Figura 44. Ni (mg/kg) en extracción con agua destilada del suelo O	81
Figura 45. Cu (mg/kg) en extracción con agua destilada del suelo O	82
Figura 46. Zn (mg/kg) en extracción con agua destilada del suelo O.....	83
Figura 47. As (mg/kg) en extracción con agua destilada del suelo O.....	83
Figura 48. Ni (mg/kg) en análisis TCLP del suelo A.....	85
Figura 49. As (mg/kg) en análisis TCLP del suelo A.....	86
Figura 50. Zn (mg/kg) en análisis TCLP del suelo A	86
Figura 51. Cu (mg/kg) en análisis TCLP del suelo A	87
Figura 52. Cd (mg/kg) en análisis TCLP del suelo A	87
Figura 53. Pb (mg/kg) en análisis TCLP del suelo A	88
Figura 54. Ni (mg/kg) en análisis TCLP del suelo O.....	90
Figura 55. Zn (mg/kg) en análisis TCLP del suelo O	90
Figura 56. Cu (mg/kg) en análisis TCLP del suelo O	91
Figura 57. As (mg/kg) en análisis TCLP del suelo O	92
Figura 58. Índice de crecimiento en las muestras con suelo A	98

Figura 59. Vista general de las macetas con suelo A.....	99
Figura 60. Macetas con suelo A tratado con compost lodos (A2) y vermicompost (A3)	99
Figura 61. Índice de crecimiento en las muestras con suelo O	100
Figura 62. Vista general de las macetas con suelo O	101
Figura 63. Macetas con suelo O sin tratamiento (O0), con compost vegetal (O1) y con compost lodos (O2)	101
Figura 64. 1º y 2º etapa del protocolo del fraccionamiento de carbono.....	110
Figura 65. 3º y 4º etapa del protocolo del fraccionamiento de carbono.....	111
Figura 66. 5º y 6º etapa del protocolo del fraccionamiento de carbono.....	111

1. Resumen

Durante siglos la constante industrialización y el desarrollo de otras actividades antropogénicas, como la agricultura o el transporte, han resultado en la contaminación de suelos y subsuelos, poniendo en riesgo la salud humana y medioambiental. En los años noventa, la comunidad internacional comienza a concienciarse de la importancia de proteger y recuperar estos recursos, siendo este hecho un paso imprescindible para alcanzar un desarrollo sostenible. Desde entonces, la Unión Europea junto a otros países han buscado estrategias para la remediación de estos medios y establecieron distintas leyes para combatir la degradación química o contaminación de terrenos.

En la actualidad, una de las alternativas de mayor interés para la recuperación de emplazamientos contaminados consiste en el empleo de las denominadas “soluciones basadas en la naturaleza”, tales como la fitorremediación o la biorremediación, entre otras. Siguiendo esta línea, en este Trabajo Fin de Máster se realizan paralelamente dos ensayos para estudiar la aplicación de seis enmiendas orgánicas (compost vegetal, compost de lodos, vermicompost, biochar, vermichar e hidrochar) en la remediación de suelos. Por un lado, se analiza el desempeño de esas enmiendas en la recuperación mediante la técnica de “landfarming” de un suelo artificialmente contaminado por diésel. Por otro, se emplean esos tratamientos para investigar la inmovilización de metales y metaloides en dos suelos contaminados, uno de origen minero y otro de origen industrial.

Para una mejor comprensión de la problemática de suelos contaminados, en el Capítulo 2, se explica el origen de esa contaminación y sus consecuencias. Además, se incluye información sobre la gestión actual de esta problemática en España y las distintas técnicas que pueden emplearse para la remediación de terrenos afectados por estos contaminantes. Posteriormente, se detallan los objetivos perseguidos en este TFM (Capítulo 3) y la metodología seguida (Capítulo 4). En este último, se describen las enmiendas orgánicas y métodos analíticos empleados, así como el diseño de los dos experimentos citados. Finalmente, en los Capítulos 5 y 6 respectivamente, se exponen los resultados obtenidos y las conclusiones finales, así como las posibles líneas de investigación futuras.

2. Introducción

Dada la temática del proyecto, en esta introducción se proporciona una panorámica general del problema de la contaminación del suelo y de su remediación. Se hace especial hincapié en las técnicas denominadas “Soluciones basadas en la naturaleza”, puesto que son el objeto principal de este trabajo.

2.1 Problemática de la contaminación de suelos

2.2.1 El suelo como receptor de la contaminación

En la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo (CNUMAD), conocida popularmente como Cumbre para la Tierra, de Río de Janeiro de 1992 se puso de manifiesto la necesidad de proteger los suelos y sus potenciales usos para poder alcanzar un desarrollo sostenible, puesto que el suelo es un receptor extremadamente sensible y vulnerable a la contaminación antropogénica. En España, el Real Decreto 9/2005¹ y la Ley 22/2011 de Residuos y Suelos Contaminados², recientemente actualizada en la Ley 09/2022³, fomentan el estudio y recuperación de suelos contaminados, estableciendo los estándares y criterios para la identificación de estos. En un ámbito más amplio, a nivel europeo se están investigando estrategias para la preservación de los suelos y existe una estrategia específicamente dirigida a este fin⁴.

Definición de suelo

El suelo puede definirse geológicamente como un medio poroso heterogéneo y de gran complejidad química y biológica compuesto por una fase sólida, una fase líquida,

¹ <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2005-895>

² <https://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-2011-13046>

³ <https://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-2022-12644>

⁴ https://ec.europa.eu/info/law/better-regulation/have-your-say/initiatives/12634-Suelos-sanos-nueva-estrategia-de-la-UE-para-la-proteccion-del-suelo_es

constituida por agua y sustancias disueltas, y una fase gaseosa, la cual puede contener aire junto a varios otros gases. La fase sólida del suelo combina materia orgánica, microorganismos, fragmentos de minerales erosionados y minerales neoformados. Por ello, esta matriz sólida puede presentar una gran variedad en su composición química y mineralógica.

Los suelos se forman mediante procesos lentos y complejos en los que influyen significativamente parámetros como el clima, la topografía o los organismos presentes. Tras su formación, los suelos se depositan en niveles o estratos, clasificados según su composición, comportamiento geoquímico y sus propiedades. Entre las características más relevantes del suelo pueden citarse el pH, el contenido en materia orgánica y la concentración de óxidos e hidróxidos de Fe y Mn.

Para el estudio y tratamiento de suelos contaminados es necesario aplicar matices a la definición y concepto de “suelo”. El suelo (Figura 1) debe entenderse, en este caso, como todo el subsuelo o incluirse en el término “terreno”, el cual contiene:

- El suelo anteriormente descrito.
- La zona no saturada: en la cual no todos los poros del terreno están rellenos de agua y en la que a veces no solo hay suelo natural sino también rellenos antrópicos.
- La zona saturada: en la cual todos los poros están rellenos de agua, de manera que incluimos en el concepto a las aguas subterráneas.

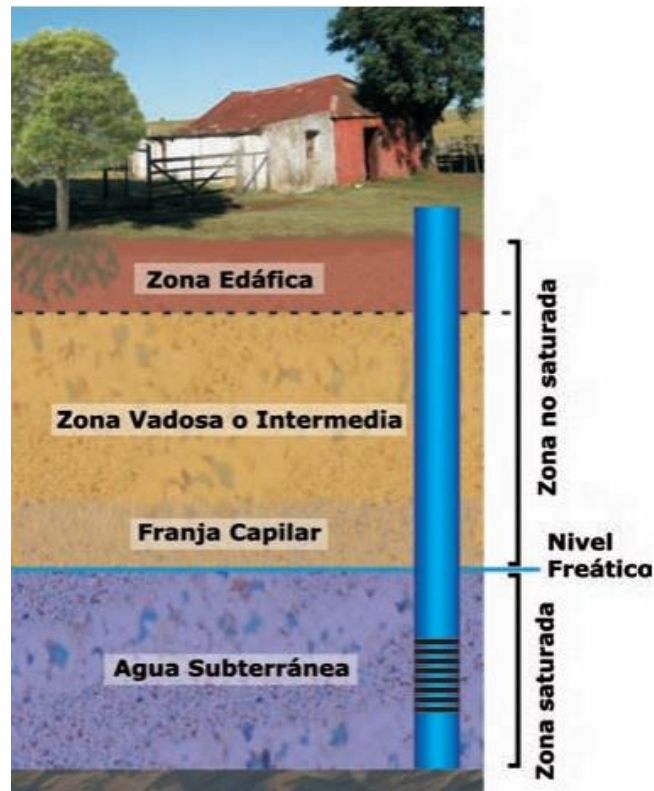


Figura 1. Ilustración del concepto de suelo con la inclusión de las zonas saturadas y no saturada

[Fuente: https://aquabook.aqua.gob.ar/files/upload/contenidos/10_2/Manual-de-agua-subterranea-Uruguay.pdf]

Por otro lado, el suelo o terreno debe poder ser empleado en actividades humanas. Así, en el Real Decreto 9/2005, se reestablece el concepto de “suelo” como: *“capa superior de la corteza terrestre, situada entre el lecho rocoso y la superficie, compuesto por partículas minerales, materia orgánica, agua, aire y organismos vivos y que constituye la interfaz entre la tierra, el aire y el agua, lo que le confiere capacidad de desempeñar tanto funciones naturales como de uso.”*

Degradación de suelos

Los suelos tienen una capacidad limitada de absorber los impactos derivados de su uso, así, debido a la lentitud del proceso de formación y de los procesos de recuperación de suelos degradados, son un recurso no renovable a corto ni medio plazo. Los suelos pueden experimentar, incluso simultáneamente, diversos tipos de degradación, entre otras:

- **Degradación por erosión hídrica o eólica** (genera desertización).
- **Degradación por exceso de sales** (salinización).
- **Degradación química** (acidificación).
- **Degradación química** (contaminación).

En este trabajo se contemplan únicamente las consecuencias derivadas de la degradación química o contaminación antropogénica.

2.1.2 Suelos contaminados

Definición de suelos contaminados

Debido a la práctica inexistencia de legislación ambiental sobre suelos hasta finales del siglo XX, se han generado numerosos emplazamientos altamente perjudiciales para la salud humana y el medioambiente en los países industrializados, pues los residuos y demás productos químicos eran abandonados sin precauciones o incluso enterrados directamente. Paralelamente a estas negligencias, los suelos se vieron afectados a lo largo de décadas por el transporte, uso y almacenamiento de combustibles, así como por la contaminación difusa.

En la Ley de Residuos 10/98 (actualmente Ley 7/2022, de 8 de abril, de Residuos y Suelos Contaminados Para una Economía Circular) se especificó por primera vez una normativa para suelos contaminados, definiendo estos como: *“Aquellos cuyas características físicas, químicas o biológicas hayan sido alteradas por la presencia de compuestos peligrosos que tengan como origen las actividades humanas y tal que su presencia comporte riesgos”*. Para comprender mejor este concepto, es necesario definir, a su vez, los siguientes términos:

- **Peligro:** capacidad intrínseca de una sustancia de ocasionar daños a la salud humana o al medio ambiente.
- **Riesgo:** probabilidad de que se produzca un efecto específico en un período de tiempo determinado o en circunstancias determinadas.

Teniendo en cuenta lo explicado, puede entenderse como terreno, emplazamiento o suelo contaminado aquel cuyas características fueron alteradas negativamente por la presencia de componentes:

- De carácter peligroso.
- De carácter antropogénico, independiente de la naturaleza del contaminante.
- En concentración tal que suponga un riesgo para la salud humana o el medio ambiente.

- De acuerdo con los criterios o estándares que se determinan por la administración competente.

Principales contaminantes del suelo

A continuación, se detallan los contaminantes más habituales en los terrenos, así como las actividades que los generan.

→ *Metales y metaloides pesados*

Los principales elementos contaminantes de suelos son: As, Se, Cd, Sb, Cu, Hg, Tl, Cr, Ni, Pb y Zn, debido a que:

- Son relativamente poco abundantes en la corteza terrestre.
- Son tóxicos en ciertas dosis para los seres humanos.
- Su ciclo biogeoquímico se ve modificado en el caso de que sobreabunden en un suelo.

Es importante señalar que la toxicidad de los metales o metaloides depende de la especiación de estos, es decir, de la forma química en la que se encuentren. El origen de los metales y metaloides pesados presentes en los terrenos contaminados puede ser tanto natural como antropogénico, como se detalla en la Tabla 1:

Tabla 1. Origen de los metales pesados en el suelo

Fuentes naturales	→Meteorización de rocas →Incendios →Cenizas volantes
Fuentes antropogénicas	→Actividades agrícolas →Actividades mineras →Procesos industriales →Transporte →Sistemas de calefacción y ventilación →Utilización de materiales de construcción, obra civil, etc.

Los focos de contaminación debidos a fuentes antropogénicas se deben principalmente a las siguientes actividades:

- **Agricultura:** debido al uso de pesticidas, plaguicidas y otros productos que contienen contaminantes de tipo orgánico y en ocasiones, elementos como el Hg y el As.
- **Minería:** las explotaciones a cielo abierto ocasionan el depósito de grandes cantidades de polvo en los suelos cercanos, mientras que las escombreras de minas son fuentes potenciales de contaminación debido a la lixiviación o la resuspensión de partículas finas.
- **Procesos industriales:** siendo el sector metalúrgico, las cementeras y las centrales térmicas las principales emisoras de partículas que se incorporan a los suelos.
- **Transporte:** los motores diésel emiten Ba y algunos motores de gasolina emiten Pb.
- **Sistemas de calefacción:** la combustión del carbón puede generar elementos químicos como Fe, Mn o Cr; a su vez, el fuelóleo y otros derivados del petróleo emiten V y Ni.
- **Materiales de construcción:** los cuales pueden incorporarse al suelo, por ejemplo, a través de los rellenos y cimentaciones.

➔ *Contaminantes orgánicos*

Los principales contaminantes orgánicos son los **hidrocarburos**, los cuales se expondrán de forma detallada en el siguiente apartado. Fuera de ellos, los contaminantes orgánicos presentan una gran diversidad de compuestos y estructuras, siendo muchos de ellos altamente tóxicos. En la contaminación de suelos tienen especial relevancia, por citar algunos ejemplos:

- **Plaguicidas** (insecticidas, fungicidas, herbicidas, etc.).
- **PCBs** (bifenilos policlorados, su uso está prohibido por su toxicidad).
- **Dioxinas y dibenzofuranos policlorados** (originados en la combustión de productos orgánicos clorados, principalmente en las incinerados de residuos).
- **Detergentes y disolventes.**

- **Otros compuestos** (fenoles en la industria química, nitroaromáticos en la industria de los explosivos o ftalados en la del plástico).

Pese a su gran variedad, estos contaminantes se caracterizan por:

- La elevada frecuencia con la que aparecen y la gran variedad que existe.
- Capacidad para producir efectos adversos aún en bajas concentraciones.
- Largos periodos de estabilidad y permanencia en el medio ambiente.
- Capacidad de ser bioacumulados en la cadena trófica.

Los principales focos de contaminantes orgánicos son los sectores que se listan a continuación:

- **Extracción y procesamiento de minerales y combustibles:** los efluentes generados en estas industrias contienen sustancias orgánicas procedentes tanto de las materias primas como disolventes, floculantes, etc.
- **Producción industrial de materiales y productos químicos:** la industria química puede considerarse la principal fuente de contaminantes orgánicos.
- **Sector de la obra civil y edificación:** debido al uso de materiales potencialmente contaminantes y/o por el movimiento de tierras en zonas contaminadas.
- **Sector municipal:** fundamentalmente debido a vertidos urbanos, procedentes de actividades domésticas, y al alcantarillado, en el cual se acumulan residuos de instalaciones industriales conectadas a las redes de saneamiento municipal.
- **Sector agrícola:** por un lado, el empleo de pesticidas y fertilizantes; por otro, liberación de contaminantes y exceso de nutrientes que pueden provocar eutrofización de acuíferos a través de residuos animales, granjas y silos.

➔ *Contaminantes orgánicos: Hidrocarburos*

Debido a la gran cantidad de suelos contaminados por hidrocarburos, estos son los contaminantes orgánicos principales, como ya se adelantó. Las actividades causantes de este tipo de contaminación son:

- **Exploración y producción de hidrocarburos** (pozos de petróleo).

- **Transporte** (por oleoductos, por ejemplo).
- **Almacenamiento** (tanques).

La contaminación se debe fundamentalmente a derrames accidentales tanto superficiales como en el subsuelo resultantes de:

- Escapes y vertidos desde tanques y conducciones aéreas y subterráneas.
- Derrames durante operaciones de carga y descarga.
- Rupturas de oleoductos y grandes conducciones.
- Vertidos catastróficos, como accidentes en plataformas o vertidos de petroleros.

De manera simplificada, los hidrocarburos pueden clasificarse en alifáticos y aromáticos (Figura 2). Los hidrocarburos aromáticos, especialmente los policíclicos y los BTEX (benceno y sus derivados), son los más relacionados con la contaminación de terrenos.

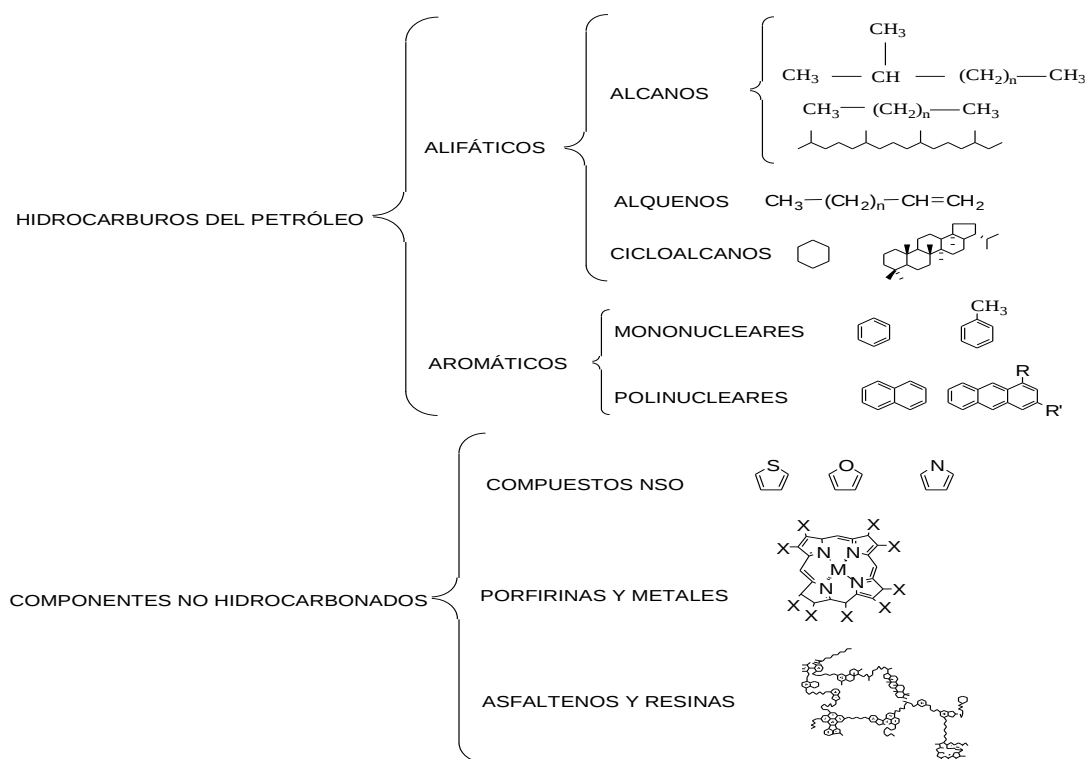


Figura 2. Principales grupos y componentes del crudo

En la Tabla 2 se detalla el comportamiento de las principales mezclas de hidrocarburos comercializadas:

Tabla 2. Comportamiento y persistencia en el subsuelo de los principales productos comercializados del petróleo

Producto	Familias de compuestos mayoritarios	Comportamiento más destacado	Persistencia en el medio
Gasolina	Alifáticos ramificados BTEX y otros aromáticos ligeros. Oxigenantes (MTBE, ETBE).	Volatilización en los primeros momentos. Gran solubilidad de MTBE y ETBE, también de BTEX. Escasa sorción en los suelos.	Moderadamente biodegradable. Problemas si MTBE, ETBE y en menor medida BTEX alcanzan el agua subterránea.
Queroseno	Alifáticos lineales, pocos aromáticos.	Volátil, escasa sorción.	Muy biodegradable
Diésel	Alifáticos lineales y ramificados. Algunos aromáticos.	Poco volátil, poco soluble, forma capas importantes de producto libre sobrenadante. Sorción en suelos.	Biodegradable
Fuel oil Lubricantes	Alifáticos y aromáticos. A veces HAPs en gran concentración.	Gran sorción en suelos y matriz de acuíferos.	Más biodegradables las fracciones ligeras, las más pesadas prácticamente recalcitrantes. Toxicidad alta de los HAPs.

2.2 Gestión de suelos contaminados

En esta sección se explica cómo es llevada a cabo la gestión de los suelos contaminados en España desde dos perspectivas. Por un lado, describiendo cuál es la legislación existente en el país; por otro, detallando qué labores se llevan a cabo para la investigación y recuperación de dichos medios afectados.

2.2.1 Legislación vigente en España

Legalmente, la gestión de emplazamientos contaminados en España se rige por las siguientes leyes:

- Ley 7/2022, de 8 de abril, de residuos y suelos contaminados para una economía circular.
- Real Decreto 9/2005, de 14 de enero, por el que se establece la relación de actividades potencialmente contaminantes del suelo y los criterios y estándares para la declaración de suelos contaminados. Este R.D. determina:
 - La relación de actividades potencialmente contaminantes del suelo.
 - Los criterios y estándares para valorar la contaminación del suelo.
 - El procedimiento para declarar suelos contaminados.

Actividades potencialmente contaminantes

Según la legislación, las actividades potencialmente contaminantes son aquellas actividades industriales o comerciales susceptibles de contaminar el medio por depositar en él sustancias peligrosas o por generar residuos.

A grandes rasgos, cualquier actividad que conlleve el manejo de más de 10 toneladas anuales de sustancias peligrosas y/o el almacenamiento de combustibles en un volumen superior a 50 m³ o para un consumo de 300 m³ anuales puede clasificarse como potencialmente contaminante. Ejemplos de actividades listadas en el R.D. se reflejan en la Tabla 3:

Tabla 3. Actividades potencialmente contaminantes según el R.D. 9/2005

Sectores listados en el Anexo I del R.D. 9/2005:
→ Minería
→ Industria manufacturera
→ Industria química, carboquímica y petroquímica
→ Industria cerámica
→ Construcción ferroviaria, naval, automovilística y aeronáutica
→ Servicios de distribución eléctrica, gas y combustibles
→ Servicios de mantenimiento de vehículos
→ Comercio al por mayor de productos y sustancias peligrosas, metales y minerales
→ Transporte y actividades logísticas

Criterios de contaminación del suelo

En el Real Decreto 9/2005 se establece que: *“Un suelo será declarado como contaminado cuando se determinen riesgos inaceptables para la protección de la salud humana o, en su caso, de los ecosistemas”*. Es decir, la clasificación de un suelo como afectado se realizará en base a un análisis de riesgos, con fundamento en la probabilidad de que un impacto dañino tenga lugar debido a la exposición del medio a agentes contaminantes y a la gravedad del impacto.

Previamente a conocer cuándo es necesario realizar un análisis de riesgo, es conveniente comprender qué son los Niveles Genéricos de Referencia (NGR) recogidos en el Anexo V del Real Decreto, los cuales se refieren a contaminantes presentes en el suelo:

- **Estándares para protección de la salud humana (NGR-h):** incluye, en el Anexo V, una gama de contaminantes orgánicos prioritarios, diferenciándolos entre uso industrial, urbano y otros.
- **Estándares para protección de los ecosistemas (NGR-e):** incluye, en el Anexo VI, una selección de contaminantes orgánicos prioritarios. En este caso se realiza una distinción según el tipo de receptor: organismos del suelo, acuáticos y vertebrados terrestres.

Una vez aclarada la idea de NGR, un análisis de riesgos debe ser efectuado si:

- Para la protección de la salud humana, si existen evidencias analíticas de que se sobrepasan los NGR-h o de que se superan los NGR-h calculados para sustancias no incluidas en el Anexo V.
- Para protección de ecosistemas, si se sobrepasan los NGR-e incluidos en el Anexo VI o para sustancias no incluidas en dicho anexo. También si así lo indican los ensayos normalizados de ecotoxicidad en suelos o lixiviados.
- Siempre que se detecte la existencia de una concentración de hidrocarburos totales del petróleo que supere los 50 mg/kg.

Finalmente, si no existen análisis de riesgos disponibles, pueden emplearse los siguientes criterios para establecer directamente que un suelo está contaminado:

- **Para salud humana:** concentraciones de contaminantes mayores de 100 veces los estándares previstos.
- **Para ecosistemas:** si la ecotoxicidad del suelo indica concentraciones letales o efectivas medias $CL_{50} < 10$ mg suelo contaminado/g suelo o bien ecotoxicidad del lixiviado $CL_{50} < 10$ mg/l. Siendo CL_{50} la concentración que causa la muerte de la mitad de la población expuesta a un tóxico.

2.2.2 Etapas del proceso de investigación y recuperación

En esta sección se describen someramente las labores técnicas que deben llevarse a cabo paralelamente al proceso administrativo mediante el cual se clasifican los terrenos o medios como contaminados. Primeramente, se listan los objetivos que persiguen estos trabajos. Seguidamente, se explican los pasos o etapas de las que consta.

Objetivos de todo el proceso

- Construir un modelo conceptual del medio mediante la localización de contaminantes, así como su evolución.
- Realizar un análisis de riesgo para evaluar el impacto de la contaminación.
- Valorar estrategias para gestionar el riesgo.
- Diseñar e implementar técnicas de recuperación efectivas y económicas.
- Establecer un sistema de monitorización.

Hitos

Los objetivos listados se alcanzan a través de las siguientes fases:

a) Revisión de los informes de situación o estudios preliminares

En esta etapa se recopila información acerca de las actividades actuales e históricas del emplazamiento de estudio, de la peligrosidad de las materias consumidas, de los productos y subproductos fabricados, etc.

b) Investigación detallada

Tras esta etapa inicial, se procede a realizar una caracterización más detallada del medio para:

- Detectar la existencia de contaminación
- Analizar los contaminantes y su concentración, dispersión y grado de afectación al medio

Si bien cuánto más profunda sea esta investigación más costosa resultará, un mayor nivel de conocimiento permitirá elegir de forma más precisa la técnica de remediación adecuada y con ello abaratar el proceso en conjunto. Este estudio consta de las siguientes etapas:

- **Obtención de información inicial:** con planos topográficos históricos y actuales; fotografías aéreas y terrestres; información hidrogeológica y edafológica; etc.
- **Visita al emplazamiento:** para realizar entrevistas e inspecciones visuales; conocer los usos del suelo en el emplazamiento y en su entorno; etc.
- **Utilización de técnicas de medidas in situ:** que permiten obtener datos fiables e inmediatos que facilitan descartar zonas no contaminadas y elaborar el plan de muestreo.
- **Muestreo:** es una etapa fundamental que debe llevarse a cabo de tal forma que la muestra sea representativa de las propiedades del medio.
- **Análítica, representación e interpretación:** realizada en laboratorios acreditados.
- **Análisis de riesgos:** para identificar y evaluar los riesgos que suponen los contaminantes para los seres humanos y el medioambiente siempre que la concentración de los contaminantes supere los NGR descritos anteriormente.

c) **Propuestas y ejecución de la remediación con la estimación de costes y de tiempo**

Una vez caracterizado el medio afectado y realizado el análisis de riesgos, debe trazarse un plan de actuación mediante la elección de la técnica o técnicas combinadas más adecuadas para cada caso de estudio. Las técnicas de actuación pueden agruparse de la siguiente forma:

- **Eliminación de los contaminantes:** o reducción de su concentración al menos hasta el nivel indicado por el análisis de riesgos.
- **Aislamiento de la contaminación:** no se trata el medio en sí, sino que se realiza una contención de los compuestos dañinos.

- **Traslado de la contaminación a un vertedero:** esta opción tampoco implica un tratamiento del suelo, pues traslada este a espacios destinados a este tipo de almacenamiento.

Resumidamente, esta etapa consta de los siguientes pasos:

- Definición de los objetivos de la actuación de acuerdo con administración, propietarios del terreno, etc.
- Toma de decisiones preliminar respecto a: excavar el medio o no, trabajar on-site o trasladar, etc.
- Selección inicial de tecnologías. Revisar y preseleccionar las tecnologías según las características del emplazamiento, el tipo y situación del contaminante/s, etc.
- Plantear varias alternativas de actuación, teniendo en cuenta plazos y costes.
- Analizar las alternativas, considerando aspectos técnicos, institucionales, de protección de la salud pública y del medio ambiente, económicos y sociológicos.
- Selección definitiva.
- Ejecución.

d) Monitorización a largo plazo

Una vez que las concentraciones de contaminantes cumplen con lo especificado en la normativa, se dan por finalizados las labores y tratamientos. No obstante, en algunas ocasiones, y sobre todo en el caso de aguas subterráneas para consumo humano, es habitual que establezca un control de seguimiento para certificar que la situación del medio es estable.

2.3 Técnicas de remediación

Las técnicas de remediación de suelos contaminados pueden agruparse en cuatro categorías, las cuales engloban métodos de eliminación y contención de contaminantes que comparten el mismo fundamento tecnológico y metodológico. Estas categorías son:

- **Métodos de confinamiento y aislamiento.**

- **Métodos físico-químicos.**
- **Métodos térmicos.**
- **Métodos biológicos (soluciones basadas en la naturaleza).**

En los siguientes apartados se describen someramente el principio de funcionamiento de cada uno de los grupos citados. Con una mayor profundidad se exponen los métodos que emplean soluciones basadas en la naturaleza, pues estos son el pilar de investigación de este documento.

2.3.1 Métodos de confinamiento y aislamiento

Estos métodos no tienen como objetivo el tratamiento en sí de los terrenos contaminados sino la contención de los compuestos indeseados mediante técnicas de confinamiento y aislamiento para evitar su dispersión. Estas tecnologías son las más sencillas y menos costosas de las categorías citadas.

- **Confinamiento:** métodos cuya función es aislar los contaminantes, contener el escape de gases y lixiviados, y evitar el contacto entre aguas superficiales y subterráneas.
- **Estabilización o solidificación:** consiste en la incorporación de los contaminantes a materias sólidas de baja permeabilidad para reducir su movilidad. Debido a la incertidumbre de la eficacia a largo plazo de la inmovilización, no es habitual que se emplee en el tratamiento de suelos.

2.3.2 Métodos físico-químicos

Como su nombre indica, los métodos físico-químicos emplean fenómenos físicos y/o químicos para eliminar, extraer o transformar los contaminantes presentes en el terreno. Ejemplos de técnicas pertenecientes a esta categoría (Figuras 3 y 4) son:

- **Técnicas de stripping (extracción en fase gaseosa):** técnicas desarrolladas para eliminar contaminantes orgánicos volátiles, como los vertidos de gasolina o similares.

- **Bombeo y tratamiento:** tecnología muy empleada para la descontaminación de aguas subterráneas. Puede emplearse tanto para eliminar el contaminante como para impedir la dispersión de este mediante la depresión del nivel freático.
- **“Dual-phase extraction” o “slurping”:** estos métodos también reciben el nombre de “bioslurping” o “multiphase extraction”. Emplean un sistema de alto vacío para extraer un producto libre, agua contaminada y/o vapores.
- **Lavado de suelos:** se aplica cuando productos orgánicos pesados o metales pesados se depositan en la zona no saturada del terreno.
- **“Soil flushing”:** o lavado de suelos in situ, consiste en inyectar/infiltrar agua con aditivos para desorber o solubilizar hidrocarburos.
- **Extracción con disolventes:** se trata de una variante del lavado de suelos en la cual se remobilizan los contaminantes que son recuperados en solución.
- **Oxidación química in situ:** en esta técnica se usan oxidantes para transformar los contaminantes en agua y dióxido de carbono y con ello descontaminar suelos en aguas subterráneas.

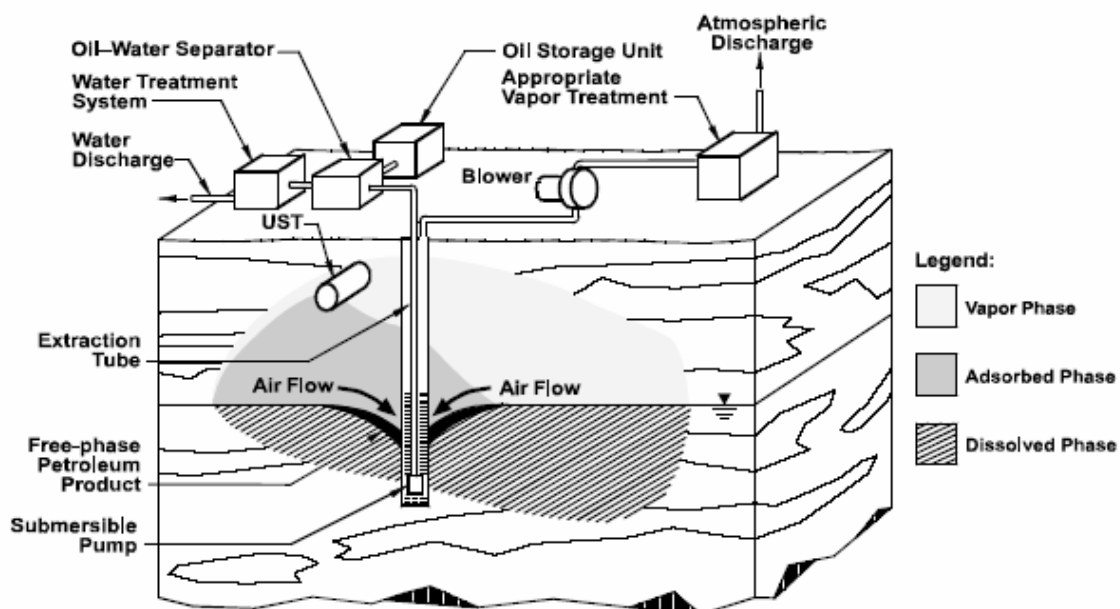


Figura 3. Ilustración explicativa de un sistema “dual phase extraction”

[Fuente: https://www.epa.gov/sites/default/files/2014-03/documents/tum_ch1.pdf]

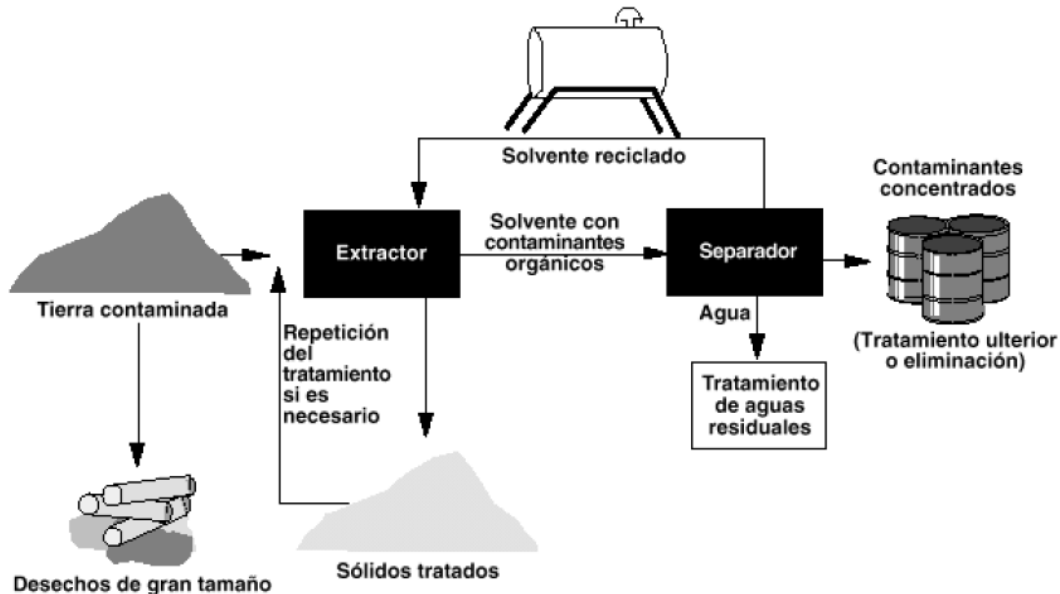


Figura 4. Esquema generalizado del tratamiento de suelos por extracción con disolventes

[Fuente: <http://recuperandoelsuelo.blogspot.com/2017/06/introduccion-la-fao-organizacion-de-las.html>]

2.3.3 Métodos térmicos

El principio de funcionamiento de los métodos térmicos es calentar a elevadas temperaturas el medio contaminado para destruir, extraer o inmovilizar los compuestos dañinos. Algunos ejemplos son:

- **Desorción térmica:** mediante un horno similar al de una cementera se aplica calor al medio contaminado para volatilizar los contaminantes (Figura 5), siendo estos recogidos y tratados posteriormente por combustión o condensación, entre otras posibilidades.
- **Incineración:** técnica altamente efectiva en la cual compuestos orgánicos peligrosos son transformados en agua y dióxido de carbono en hornos. Es una tecnología cara y de limitada capacidad, por lo que no es habitual emplearla en el tratamiento de suelos.

- **Vitrificación:** esta tecnología se desarrolló en la industria nuclear. Consiste en la fusión del medio a temperaturas del orden de 1.600 °C seguido de un rápido enfriamiento, consiguiendo que el suelo se transforme en compuesto vidrioso e impermeable.

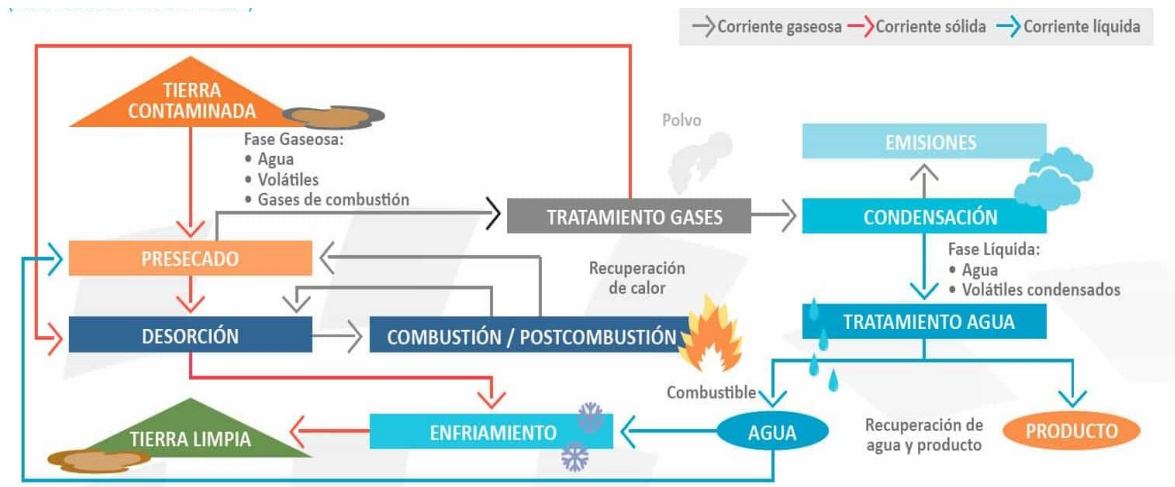


Figura 5. Descripción ilustrativa de un proceso de desorción térmica de suelos contaminados

[Fuente: <https://www.emgrisa.es/pe/servicios/desorcion-termica/>]

2.3.4 Métodos biológicos (soluciones basadas en la naturaleza)

Los métodos biológicos, también conocidos como biorremediación o soluciones basadas en la naturaleza, se basan en el empleo de microorganismos y plantas capaces de degradar o inmovilizar contaminantes. Estos métodos pueden aplicarse en suelos, aguas superficiales y subterráneas o incluso residuos. Además, presentan las siguientes ventajas:

- ❖ No transfieren contaminantes entre los distintos medios naturales.
- ❖ No requieren componentes estructurales complejos ni grandes excavaciones.
- ❖ Son económicos.
- ❖ Son sostenibles y aceptados socialmente.

Sin embargo, la biorremediación, como todos los métodos, está limitada y tiene ciertos inconvenientes:

- ❖ Una biodegradación parcial puede generar productos intermedios más dañinos que los contaminantes iniciales.
- ❖ Algunos componentes son resistentes a la biodegradación.
- ❖ La biorremediación es un proceso lento y requiere un seguimiento y control laborioso.

Desde un punto de vista metodológico, la biorremediación puede agruparse en tres tipos:

- **Atenuación natural:** o bien biorremediación intrínseca, es aquella realizada por los microorganismos autóctonos del medio contaminado conjuntamente con procesos físico-químicos, como la volatilización o la oxidación química. En condiciones aerobias, estos transforman las sustancias indeseadas en agua, dióxido de carbono y masa celular microbiana. En condiciones anaeróbicas, también es necesario la existencia de electrones disponibles, como pueden ser nitratos o sulfatos, para que la atenuación natural ocurra. Es posible fomentar la atenuación natural mediante la aportación o incremento de los elementos citados.
- **Bioestimulación:** consiste en modificar las condiciones naturales del medio mediante el aporte de nutrientes, aireación y otros procesos similares para que los microorganismos autóctonos puedan degradar los contaminantes presentes.
- **Bioaumentación:** esta técnica consiste en emplear microorganismos modificados genéticamente para el tratamiento de los medios afectados. En la actualidad, su aplicación solo es posible a pequeña escala y en ambientes controlados, como laboratorios o biorreactores, para contaminantes específicos.

Bajo un punto de vista tecnológico, las técnicas de biorremediación pueden dividirse en dos categorías:

- **Biorremediación “in situ”:** es decir, tratamiento de aguas o suelos contaminados sin moverlos de su ubicación.
- **Biorremediación “ex situ”:** excavación y traslado de los medios contaminados para su posterior tratamiento.

Una vez aclaradas estas clasificaciones, como métodos biológicos pueden citarse:

- **Biorremediación in situ de aguas subterráneas:** esta técnica fomenta el aumento de los microorganismos autóctonos en la zona no saturada del medio para que estos degraden los contaminantes presentes en el agua y adsorbidos en la matriz del acuífero.
- **“Bioventing” y “air sparging”:** con el “bioventing” se pretende fomentar la biodegradación natural “in situ” de contaminantes orgánicos mediante la aportación de oxígeno en el terreno para los microorganismos existentes. Por su parte, el “air sparging” consiste en la inyección de aire directamente en la zona no saturada para vaporizar los contaminantes presentes en el agua o en los capilares de los poros del medio.
- **“Bioslurry”:** tratamiento del medio contaminado en un biorreactor. Esta técnica es similar al lavado de suelos.
- **Compostaje:** mediante este proceso biológico aerobio los hidrocarburos son parcialmente biodegradados y convertidos en materia orgánica de tipo humus.
- **Landfarming y biopilas:** estos métodos buscan fomentar la biodegradación a través del control de la humedad, la temperatura, nutrientes y oxígeno presentes en el medio. Son técnicas que se aplican en la superficie del terreno y son relativamente sencillas de aplicar y mantener, si bien pueden ocupar mucha superficie y necesitar periodos largos para la recuperación de terrenos. Dada su importancia en este proyecto, se explican con más detalle a continuación.
- **Fitorremediación:** esta técnica, normalmente estudiada como un grupo de tecnologías al margen de la biorremediación, consiste en el empleo de determinadas especies vegetales que son capaces de extraer y asimilar o descomponer químicamente ciertos contaminantes orgánicos y metales pesados (fitoextracción) o bien inmovilizarlos (fitoestabilización). Actualmente, existen numerosas líneas de investigación para desarrollar la fitominería, es decir, métodos para recuperar metales pesados absorbidos por plantas.

- **Inmovilización de contaminantes:** cada vez es más habitual combinar las técnicas de biorremediación y fitorremediación con la aplicación de enmiendas orgánicas e inorgánicas con la finalidad de evitar la lixiviación y con el ello, el paso a los seres vivos de sustancias contaminantes. Como se ha señalado previamente, gran parte de la línea de investigación de este Trabajo Fin de Máster se fundamenta en esta metodología. Por este motivo, estas técnicas cuentan con su propio apartado descriptivo.

➔ **Inmovilización de contaminantes**

Como se adelantaba, las técnicas de inmovilización y/o estabilización química de metales y metaloides presentes en el suelo son cada vez más usadas. Su principio básico es el empleo de diversas enmiendas que son capaces de “acondicionar” los terrenos contaminados e inmovilizar los contaminantes. Esta inmovilización de metales y metaloides ocurre debido a procesos de adsorción, formación de complejos químicos y precipitación que provocan la transformación de los elementos en biodisponibles o viceversa (Figura 6).

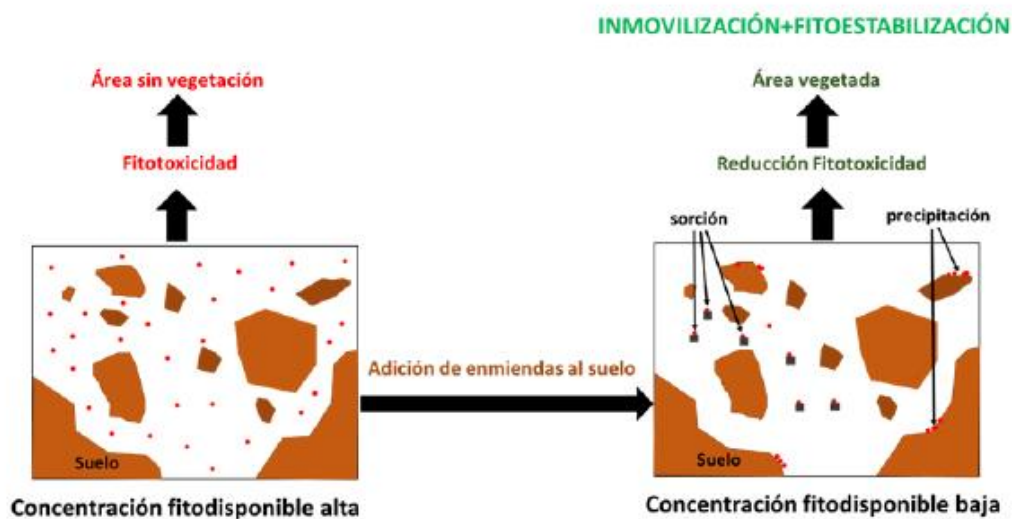


Figura 6. Ejemplo de combinación de las técnicas de inmovilización y fitoestabilización

Las enmiendas empleadas deben ser abundantes, fáciles de obtener y no producir riesgos para el medio ambiente o las personas. Algunos ejemplos de enmiendas empleadas son:

fosfatos, materiales calizos, óxidos metálicos, nanomateriales, y numerosas enmiendas orgánicas.

Este último ejemplo, el de las enmiendas orgánicas, fomenta la economía circular dado que se emplean productos derivados de la transformación de residuos orgánicos, como el biochar o el compost. En contrapartida, en ciertas ocasiones pueden generar efectos no esperados y perjudiciales, como la liberación de metaloides como el arsénico. Consecuentemente, es fundamental realizar ensayos e investigaciones como los aquí propuestos para analizar el potencial de las enmiendas orgánicas, así como los posibles efectos colaterales que puedan causar.

→ Landfarming

Al igual que en el caso de la inmovilización de contaminantes, este documento también se centra en el landfarming a pequeña escala, realizado en microcosmos que simulan las parcelas que pueden emplearse a escala real.

El landfarming se emplea en la recuperación de terrenos o emplazamientos afectados por vertidos accidentales. Consiste en la excavación del suelo contaminado y su depósito y extensión en lechos poco profundos de aproximadamente 50 cm, sobre una plataforma impermeable que cuenta con sistemas que imposibilitan que los contaminantes lixivien (Figura 7). En algunas ocasiones, el landfarming se puede realizar in situ. De forma periódica, se ara el suelo para oxigenarlo, se riega y se añaden nutrientes, ya sea con abonos o fertilizantes. Para cada uno de estos parámetros existen ratios optimizados. Un ejemplo de aplicación real de landfarming se muestra en la Figura 8.

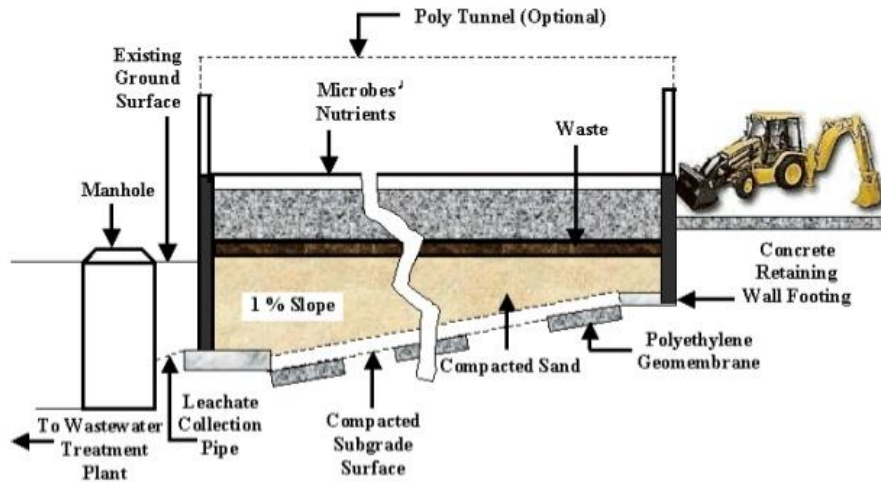


Figura 7. Esquema del landfarming



Figura 8. Ejemplo real de aplicación de técnica landfarming

[Fuente: <https://psasas.com/servicios/biorremediacion-de-aguas-y-suelos-contaminados/>]

Este método es barato y efectivo para tratar una gran variedad de hidrocarburos, como gasoil, queroseno o residuos derivados del coque de petróleo. Cabe señalar que la eficacia de esta técnica disminuye conforme aumenta el peso molecular de los contaminantes o en el tratamiento de compuestos clorados o nitrogenados.

A continuación, se citan las principales ventajas e inconvenientes del landfarming:

Ventajas:

- ❖ Escaso riesgo de contaminación tanto superficial como subterránea debida a la migración de hidrocarburos (cuando se realiza en condiciones controladas).
- ❖ Mínimo impacto medioambiental.
- ❖ No origina residuos posteriores (salvo algunos lixiviados recirculables al sistema).
- ❖ Bajo coste energético.

Limitaciones:

- ❖ Se requiere un gran espacio disponible.
- ❖ Es complicado conocer las condiciones para una idónea biodegradación, lo cual puede incrementar los tiempos de tratamiento.
- ❖ En algunos casos, la reducción de los contaminantes volátiles se debe más a la volatilización que a la biodegradación y deben ser pretratados para evitar causar contaminación atmosférica.
- ❖ Posibilidad de problemas por generación de polvo.
- ❖ Los hidrocarburos deben encontrarse en el suelo en concentraciones menores de 50.000 ppm.

→ Biopilas

Esta técnica es una variante del landfarming. El método de biopilas es la formación de pilas de suelo contaminado que pueden ser aireadas de forma activa, volteando las pilas, o de forma pasiva, con tubos de aireación (Figura 9). No requieren laboreo como en el caso del landfarming y el espesor de las pilas es mayor, permitiendo tratar un mayor volumen de medio. No obstante, las biopilas tienen un mayor coste de operación. En la Figura 10 se muestra un ejemplo de aplicación de biopilas.

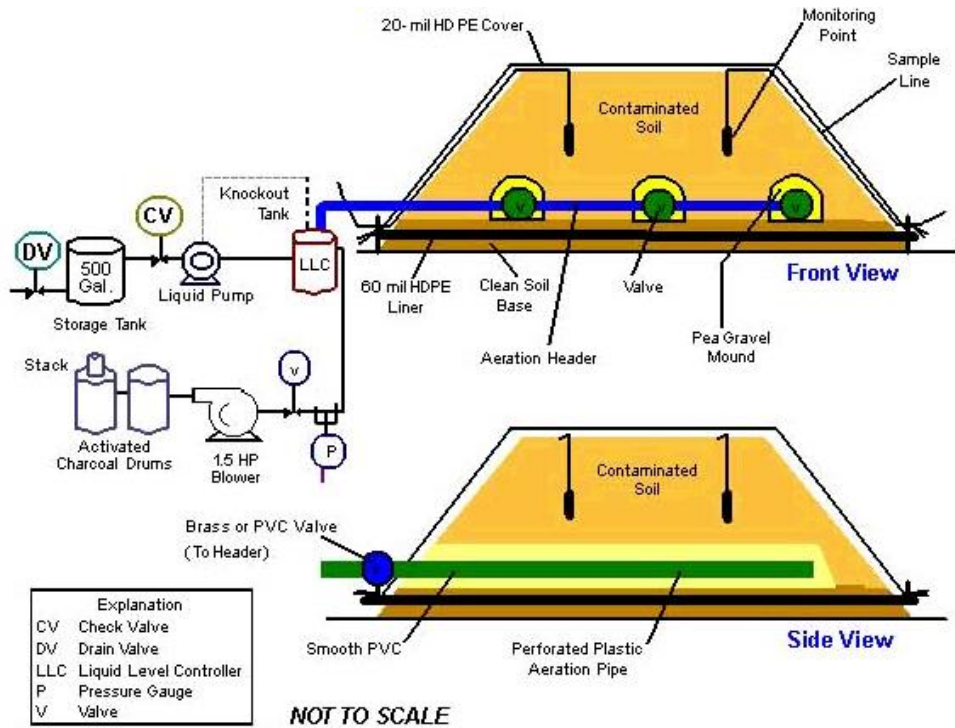


Figura 9. Elementos constructivos de una biopila



Figura 10. Ejemplo real de biopilas (barrio de Carabanchel, Madrid)

3. Objetivos

El objetivo de este Trabajo Fin de Máster es evaluar la aplicación de seis tratamientos o enmiendas orgánicas en la recuperación de tres suelos distintos mediante dos métodos: el landfarming y la inmovilización de contaminantes. Concretamente:

- **En el landfarming:** se simula en microcosmos la remediación de un suelo contaminado por hidrocarburos, con el objeto de determinar qué tratamiento proporciona la mejor degradación de estos contaminantes.
- **En la inmovilización de contaminantes:** se persigue conocer cuál de las enmiendas orgánicas empleadas permite inmovilizar de manera más efectiva los agentes contaminantes (metales y metaloides) presentes en los suelos tratados, siendo estos de origen industrial y minero, respectivamente.

En ambos ensayos se busca, además de lo explicado, estudiar si se produce un saneamiento del suelo. Esto se hará mediante el análisis de distintos parámetros edafológicos, como el pH, la conductividad eléctrica, la actividad enzimática, etc.

De igual forma, con este TFM se pretende fomentar la economía circular ya que se proponen soluciones para la remediación de suelos contaminados mediante el empleo de enmiendas orgánicas procedentes de distintos residuos. Así, se consigue mitigar el grave problema de la contaminación de terrenos a la par que se les da una utilidad a los residuos y se reducen las emisiones de CO₂ asociadas al capturar el carbono procedente de los residuos en el suelo, el cual actúa como sumidero de carbono.

4. Metodología

En este capítulo se explican las metodologías seguidas en cada uno de los experimentos: la biorremediación en microcosmos de landfarming y la inmovilización de contaminantes. Previamente, se proporciona información acerca de los distintos tratamientos empleados y de los análisis y mediciones que se llevaron a cabo.

4.1 Enmiendas orgánicas empleadas

En los dos experimentos descritos en este trabajo se han utilizado las siguientes enmiendas orgánicas:

→Compost vegetal

El compost vegetal (tratamiento 1) es un fertilizante fabricado mediante la descomposición en condiciones aeróbicas de materia orgánica, fundamentalmente recortes de césped, hojas, ramas, etc. Se emplea para mejorar la estructura del suelo y aportar nutrientes al medio. El compost vegetal empleado se adquirió de Cogersa S.A.U.

→Compost de lodos

Esta enmienda (cuya nomenclatura es el número 2) también se obtuvo a través de la gestora de residuos Cogersa S.A.U. y está elaborada con lodos de depuradora y restos de poda. Para su producción, se forman pilas en las que se mezclan el lodo con los restos de poda y se voltean semanalmente durante varios meses, hasta que el compost esté maduro.

→Vermicompost

El vermicompost (tratamiento 3), también conocido como compost de lombrices o humus de lombriz, es un tipo específico de compost que se produce utilizando lombrices para descomponer materiales orgánicos. El vermicompostaje es una técnica que aprovecha la capacidad de las lombrices para procesar rápidamente los desechos orgánicos y transformarlos en un producto final altamente nutritivo y beneficioso para el suelo. El vermicompost usado en este TFM procede de la compañía Vermichar Lombricompost S.L.

→Biochar

El biochar (tratamiento 4) es carbón vegetal finamente granulado y se caracteriza por ser muy resistente a la degradación y por su elevado contenido de carbono orgánico. Se obtiene mediante la pirólisis de plantas y de otros residuos, siendo la materia prima y las condiciones del proceso de pirólisis los factores que determinan las características del biochar. El biochar empleado en este estudio, al igual que el vermicompost, se adquirió de la empresa Vermichar Lombricompost S.L.

→Vermichar

Esta enmienda (tratamiento 5) consiste en la combinación del vermicompost con aditivos minerales y biochar. También se adquirió en Vermichar Lombricompost S.L.

→Hidrochar

El hidrochar (tratamientos 6 y 6B) es un material sólido y carbonoso que se obtiene a través de un proceso llamado hidrotermólisis o hidrotermalización de biomasa. La hidrotermólisis es un método de conversión de biomasa que implica la descomposición térmica de la materia orgánica en presencia de agua a alta temperatura y presión.

El hidrochar tiene propiedades similares al carbón, como una alta concentración de carbono fijo y bajo contenido de volátiles. Es un material estable y resistente a la degradación biológica. Dependiendo de los procesos de producción y las condiciones de hidrotermólisis, el hidrochar puede tener diferentes características y composiciones químicas.

Dado que aún existen pocos artículos en los que se contemple el uso del hidrochar en la remediación de suelos contaminados, en este TFM se emplearon dos dosis distintas de este tratamiento. Estas dosis fueron del 0,5% y del 2,5%, respectivamente. El hidrochar usado fue preparado en el Instituto de Ciencia y Tecnología del Carbono (INCAR) a partir de lodos de depuradora.

En la Tabla 4 se reflejan las nomenclaturas y porcentajes de las enmiendas orgánicas empleadas en este Trabajo Fin de Máster:

Tabla 4. Nomenclatura y dosis de enmiendas orgánicas empleadas en los experimentos

Tratamiento	Nomenclatura	Dosis
Control	0	--
CompostVegetal	1	15%
Compost lodos	2	15%
Vermicompost	3	15%
Biochar	4	5%
Vermichar	5	10%
Hidrochar	6	0,5%
Hidrochar	6B	2,5%

Las dosis escogidas están basadas en trabajos previos desarrollados en el grupo de investigación (Baragaño et al., 2020b; Baragaño et al., 2021a; Baragaño et al., 2021b), en el contenido total de carbono orgánico de cada enmienda (ver Resultados y discusiones), en su coste, y en la literatura especializada.

4.2 Métodos analíticos

En este apartado se listan y se explican brevemente los distintos análisis y mediciones que se han llevado a cabo para estudiar los resultados obtenidos al finalizar la investigación. En la sección correspondiente al diseño de los experimentos se aclara qué métodos analíticos se usaron en cada uno de ellos. Asimismo, el protocolo de cada análisis puede encontrarse en el Anexo II.

→pH

El pH del suelo es un indicador de la acidez o alcalinidad del suelo. Es un parámetro fundamental para la caracterización del medio y permite establecer, entre otros, la disponibilidad de nutrientes minerales para las plantas.

→Conductividad eléctrica (CE)

La conductividad eléctrica (CE) de un suelo indica la capacidad de este para conducir la corriente eléctrica debido a la presencia de sales solubles presentes en el medio. Es decir, la CE es una forma de conocer la salinidad del suelo. Cuanto mayor sea el valor de CE, mayor será la salinidad.

→Potencial redox

El potencial redox de un suelo expresa su capacidad reductora u oxidante. Este potencial condiciona los procesos de formación de suelos, la meteorización de los minerales y rocas, y la actividad microbiana y fertilidad del medio, pues determina la biodisponibilidad de los elementos necesarios para el desarrollo de la vegetación (Ibáñez, 2008).

→Análisis TPH

El análisis TPH (Hidrocarburos Totales de Petróleo) es una técnica analítica utilizada para determinar la cantidad total de hidrocarburos (en ppm o mg/kg) presentes en una muestra, que puede incluir compuestos derivados del petróleo como el petróleo crudo, los combustibles y los aceites lubricantes. Se utiliza comúnmente en estudios ambientales y en la evaluación de la contaminación del suelo y el agua por hidrocarburos.

→Análisis CHNS

El análisis elemental CHNS es una técnica empleada para determinar la composición de una muestra en términos de porcentajes de carbono (C), hidrógeno (H), nitrógeno (N) y azufre (S).

→Índice de Germinación (IG)

El ensayo de fitotoxicidad o Índice de Germinación de Zucconi es una técnica para evaluar la fitotoxicidad de suelos y materiales orgánicos, entendiéndose como fitotoxicidad la capacidad de una sustancia de alterar o impedir el crecimiento y desarrollo de las plantas (Tortosa, 2013).

Este ensayo consiste en emplear un extracto acuoso de las muestras estudiadas para cuantificar la germinación y el crecimiento de la radícula, “órgano de que se forma la raíz de la planta”⁵, de semillas de plantas como el berro de agua (*Lepidium Sativum*). Se comparan los valores obtenidos con los resultados para una muestra o control con agua destilada, obteniéndose así los valores relativos de germinación y elongación de las raíces y, finalmente, el Índice de Germinación (IG).

→Actividad enzimática

En el suelo, las reacciones llevadas a cabo por microorganismos desempeñan un papel fundamental en los ciclos del carbono, del nitrógeno y del azufre. Además, la acción de los microorganismos influye en la degradación de contaminantes orgánicos, en la inmovilización de metales pesados, en la formación del suelo y en el crecimiento de la vegetación (Ferreiro, 2006).

La gran mayoría de estos procesos que ocurren en el suelo son catalizados por enzimas (Kandeler et al., 1996). Por ello, la medida de distintas actividades enzimáticas puede emplearse como un indicador directo de la actividad microbiana del suelo y, por ende, de la calidad de este medio (Taylor et al., 2002). Con el fin de evaluar la actividad microbiana de

⁵ <https://dle.rae.es/rad%C3%ADcula>

las muestras analizadas, se han medido las actividades de las siguientes enzimas: deshidrogenasa (DHA), β -glucosidasa (GLU), fosfatasa (PHOS) y ureasa (URE).

→Extracción con agua destilada

El análisis secuencial de Tessier, también conocido como fraccionamiento secuencial de Tessier, es una técnica utilizada para determinar la distribución de metales pesados y otros elementos traza en muestras de suelo o sedimento. Este método se basa en la extracción secuencial de los elementos en diferentes fracciones químicas y empleando distintos agentes extractores, como el ácido acético o el cloruro de hidroxilamina (González et al., 2009). Por tanto, cada fracción se relaciona con un grado de movilidad de los contaminantes en los suelos, siendo la primera fracción la correspondiente a la más móvil y biodisponible.

Existen numerosas variantes de este método (Gil-Díaz et al., 2021). En este TFM se realizó una extracción con agua destilada (primera extracción del proceso) para estudiar la biodisponibilidad de diferentes contaminantes, entre ellos: Ni, Cu, Zn, As, Cd, etc. Esta información puede ser esencial para evaluar el riesgo ambiental y para tomar decisiones adecuadas sobre el manejo y la remediación de suelos contaminados.

→Extracción TCLP

El análisis químico TCLP (Toxicity Characteristic Leaching Procedure) es un método utilizado para evaluar la toxicidad y el potencial de lixiviación de sustancias químicas y metales pesados (como Cr, Ni, Cu, As, etc.) presentes en residuos sólidos. El objetivo principal de esta extracción es determinar si un residuo o medio cumple con los criterios de toxicidad establecidos por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) para su disposición en un vertedero (Rihm et al., 1998).

En el TCLP se somete la muestra a un líquido extractor ácido capaz de disolver las sustancias químicas presentes en ella y con ello simular las condiciones de una lixiviación. La realización del TCLP permite, por tanto, identificar si un suelo supone una amenaza para la salud humana y el medio ambiente debido a su potencial para lixiviar sustancias tóxicas y metales pesados.

→Fraccionamiento de carbono orgánico

El carbono orgánico es un componente esencial para la fertilidad y la salud del suelo, ya que influye en la estructura de este, la retención de nutrientes y la actividad biológica. El análisis de fraccionamiento de carbono es una técnica utilizada para evaluar la distribución y composición de las fracciones de carbono orgánico según su estabilidad y biodisponibilidad.

4.3 Diseño de experimentos

En esta sección se señalan los pasos seguidos para realizar los experimentos. En ambos ensayos el tiempo de experimentación fue de 6 meses aproximadamente.

4.3.1 Landfarming

Como se adelantó en el capítulo de objetivos, este ensayo consiste en la biorremediación de un suelo contaminado por diésel, el cual se designa con la letra “D” de aquí en adelante. Para simular esta contaminación, se añadió artificialmente una dosis de 20.000 ppm de diésel a un suelo no contaminado recogido en una propiedad privada en el entorno de Mieres. Posteriormente, se mezclaron en microcosmos (bandejas de vidrio borosilicatado) el suelo artificialmente contaminado con las correspondientes dosis de enmienda (Figura 11). El peso de muestra establecido en cada bandeja fue de 2 kg y en total se prepararon 8 microcosmos, uno para cada tratamiento.



Figura 11. Microcosmos con las muestras de suelo, diésel y enmiendas orgánicas para simular técnica landfarming

Detalladamente, el modo de proceder fue el siguiente:

- 1) Calcular y pesar el suelo necesario para cada tratamiento y colocar en su respectiva bandeja.
- 2) Calcular y añadir la cantidad necesaria de diésel, 20 g diésel / kg suelo, a cada bandeja y homogeneizar el suelo.
- 3) Humedecer ligeramente con agua el suelo.
- 4) Añadir la enmienda a cada tratamiento y homogeneizar nuevamente.
- 5) Remover, airear y humedecer semanalmente cada bandeja hasta final del experimento.
- 6) Realizar análisis químicos y mediciones a partir de varios muestreos.

Las cantidades de suelo, diésel y enmienda orgánica de cada muestra se recoge en la Tabla 5:

Tabla 5. Cantidades de suelo, enmiendas orgánicas y diésel en cada muestra de landfarming

Biorremediación en microcosmos (D)			
Tratamiento	(g)	Suelo (g)	Diésel (g)
Control	0	2000	40
Compost vegetal	300	1700	34
Compost lodos	300	1700	34
Vermicompost	300	1700	34
Biochar	100	1900	38
Vermichar	200	1800	36
Hidrochar	10	1990	39,8
Hidrochar	50	1950	39
Total (g)		14740	294,8

La preparación de las muestras y el inicio del experimento se remonta a finales de julio del año 2022 (Figura 12) y se dio por finalizado en enero de 2023, momento a partir del cual comenzó el análisis de las muestras. Para evaluar los resultados de la biorremediación en microcosmos, los siguientes análisis químicos y mediciones fueron realizados: pH,

conductividad eléctrica, potencial redox, análisis TPH, análisis elemental CHNS, índice de germinación y fraccionamiento de carbono.



Figura 12. Microcosmos de landfarming en su tiempo inicial

4.3.2 Inmovilización de contaminantes

Este segundo estudio se trata de la incubación de dos suelos, uno industrial y otro minero, para la inmovilización de contaminantes. El suelo industrial, cuya nomenclatura es “A”, proviene de una zona contaminada en el entorno de la ciudad de Avilés, mientras que el suelo minero, designado como “O”, fue recolectado en las inmediaciones de una antigua explotación minera. Para ello se dispusieron muestras de 1 kg de suelo con las enmiendas correspondientes en macetas (Figura 13). Así, en total se prepararon 3 macetas para cada tratamiento, a excepción del caso de muestra con un 2.5% de hidrochar en el que solo fue posible preparar 1 maceta debido a la escasez de suministro de esta enmienda.

Este es el procedimiento seguido para el ensayo de incubación de suelos:

- 1) Calcular la cantidad de suelo y tratamiento para cada caso.
- 2) Mezclar ambos y humedecer la mezcla.
- 3) Colocar las muestras en las macetas.
- 4) Humedecer semanalmente hasta final de la incubación.
- 5) Realizar análisis químicos y mediciones.

Las dosis de las enmiendas en cada maceta se reflejan en la Tabla 6:

Tabla 6. Cantidades de suelo y enmiendas orgánicas presentes en cada maceta

Incubación en macetas					
Tratamiento	(g)	Suelo (g)	Tratamiento (*3) (g)	Suelo (*3) (g)	Tratamiento (A+O) (g)
Control	0	1000	0	3000	0
Compost vegetal	150	850	450	2550	900
Compost lodos	150	850	450	2550	900
Vermicompost	150	850	450	2550	900
Biochar	50	950	150	2850	300
Vermichar	100	900	300	2700	600
Hidrochar	5	995	15	2985	30
Hidrochar	25	975	75	2985	100

Al igual que en el caso de la biorremediación, la inmovilización de contaminantes se desarrolló entre los meses de junio de 2022 y enero de 2023. Al finalizar ese periodo, se tomaron muestras para medir y analizar: el pH, la conductividad eléctrica, el potencial redox, las actividades enzimáticas, la extracción con agua destilada, la extracción TCLP y el fraccionamiento de carbono.



Figura 13. Muestras iniciales de las macetas con suelos A y O con sus respectivos tratamientos

5. Resultados y discusión

En este capítulo se exponen todos los resultados obtenidos en los diferentes análisis que se listaron en la metodología. Conjuntamente, se discute qué implicaciones tienen los resultados en cada uno de los dos experimentos de este Trabajo Fin de Máster.

5.1 Landfarming

Los análisis de las muestras pertenecientes al ensayo de landfarming se realizaron por triplicado y transcurridos 6 meses desde el inicio del experimento, a excepción del análisis elemental CHNS, la evaluación del índice de germinación y la medición del TPH. En concreto el análisis CHNS se efectuó con una sola medición, mientras que para el índice de germinación se usaron muestras por duplicado. A su vez, el análisis TPH, cuyo resultado es el más significativo para este experimento, se realizó en tres ocasiones: al iniciarse el ensayo, a los tres meses del comienzo y al cabo de seis meses.

5.1.1 pH, conductividad eléctrica y potencial redox

→pH

El pH es uno de los parámetros más relevantes en la caracterización de suelos. Puede ser considerado un indicador de los procesos químicos que ocurren en el terreno, así como de la disponibilidad de nutrientes y/o de elementos tóxicos (Hazelton, 2007). En la Tabla 7 se recoge una clasificación inicial del suelo atendiendo a los valores de pH medidos (adaptado de Bruce y Rayment, 1982):

Tabla 7. Clasificación del suelo en función de su pH

pH	Clasificación
>9,0	Extremadamente alcalinos
8,5-9,0	Fuertemente alcalinos
7,9-8,4	Moderadamente alcalinos
7,4-7,8	Ligeramente alcalinos
6,6-7,3	Neutro
6,1-6,5	Ligeramente ácidos
5,6-6,0	Moderadamente ácidos
5,1-5,5	Fuertemente ácidos
<5,0	Extremadamente ácidos

Los valores de pH en el suelo inicial del experimento de biorremediación (muestra D) y en las demás muestras fueron los siguientes (Figura 14):

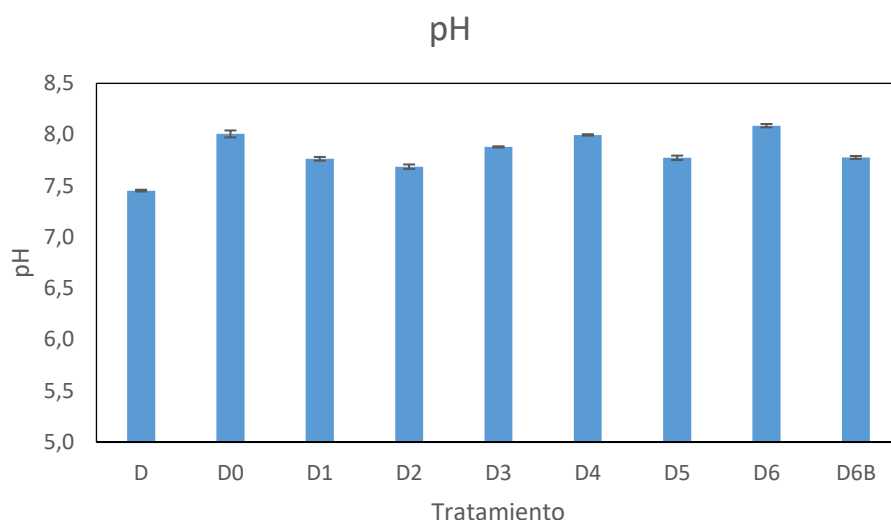


Figura 14. Representación de los valores de pH en los microcosmos con suelo D⁶

Como puede apreciarse, no se han producido alteraciones significativas del pH en los tratamientos y todas las muestras varían entre ligeramente alcalinas (D, D1, D2, D3, D5 y D6B) y moderadamente alcalinas (D0, D4 y D6), por tanto, se trata de un parámetro que no ha sufrido modificaciones relevantes ni ha influido en el proceso de biodegradación.

⁶ En la gráfica se representan barras de error porque el resultado final es la media de tres mediciones. Lo mismo ocurre en adelante con todos los resultados que presenten este formato gráfico

→Conductividad eléctrica

La conductividad eléctrica del suelo es una medida de su capacidad para conducir la electricidad. Está influenciada por varios factores, como la composición mineral del suelo, la humedad, el contenido de sales y la temperatura.

La humedad es uno de los factores más importantes en la conductividad eléctrica del suelo, puesto que el agua actúa como un conductor, permitiendo el flujo de corriente. Otro factor decisivo es la presencia de sales disueltas, las cuales aumentan la conductividad eléctrica del suelo. Esto se debe a que los iones en solución pueden moverse libremente y transportar cargas eléctricas.

Las conductividades eléctricas medidas en los microcosmos de landfarming transcurridos los seis meses de experimento fueron las siguientes (Figura 15):

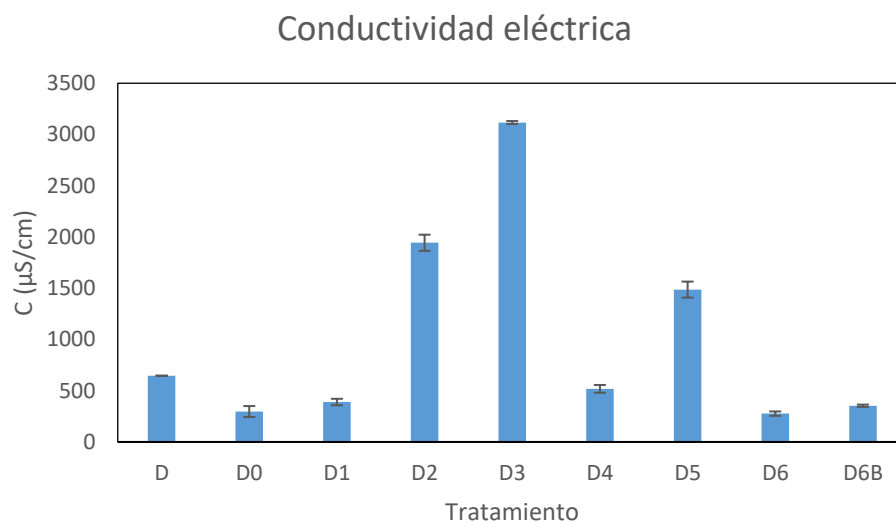


Figura 15. Variación de la conductividad eléctrica en las muestras con suelo D

Como puede observarse, existe un amplio rango de conductividades en las muestras. Mientras el hidrochar (D6 y D6B) y el compost vegetal (D1) presentan una CE de aproximadamente 300 $\mu\text{S/cm}$, la muestra con vermicompost (D3) alcanza un valor de 3117 $\mu\text{S/cm}$ y la de compost de lodos (D2), 1944 $\mu\text{S/cm}$. Se desconoce la razón exacta de las variaciones observadas. Una posible explicación podría ser la variación en la humedad de las muestras, ya que, aunque todas han sido humedecidas de forma homogénea, la capacidad de retención de agua de los productos tipo compost es mayor.

→Potencial redox

El potencial redox en el suelo se refiere a la medida del estado de oxidación o reducción de los compuestos químicos presentes en el mismo. El potencial redox del suelo está influenciado por varios factores, incluyendo la presencia de oxígeno, la materia orgánica, los microorganismos y las condiciones de drenaje. Además, puede influir en la disponibilidad de nutrientes para las plantas, la transformación de contaminantes, la actividad microbiana y la producción de gases como el dióxido de carbono y el metano. En las muestras del landfarming se midieron los valores de potencial redox presentados en la Figura 16:

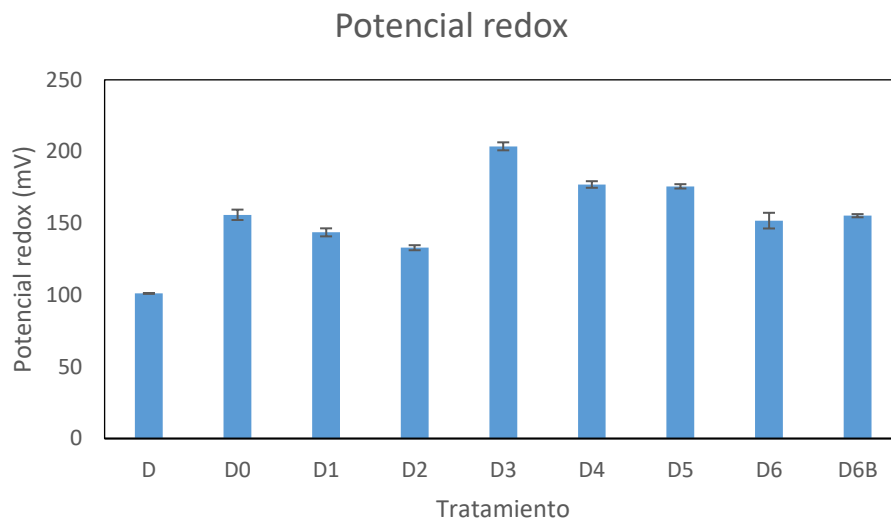


Figura 16. Variación del potencial redox en las muestras con suelo D

Se observa que todas las muestras presentan valores redox similares y más elevados que el suelo inicial sin contaminar (muestra D), seguramente debido a la mayor aireación que se ha producido al mezclarse el suelo con los aditivos.

5.1.2 Fitotoxicidad

En este trabajo se ha evaluado la fitotoxicidad de las muestras contaminadas con diésel mediante una variación de la prueba de germinación de Zucconi, cuyo protocolo se describe en el Anexo II. De acuerdo con este test, el Índice de Germinación (IG) se relaciona con la fitotoxicidad de la siguiente forma (Zucconi et al., 1985; Tabla 8):

Tabla 8. Fitotoxicidad según el Índice de Germinación de Zucconi

IG (%)	Fitotoxicidad
>80%	nula
50%-80%	moderada
<50%	elevada

Los índices de germinación de las muestras analizadas se recogen en la Tabla 9. De acuerdo con el test de Zucconi, todas las muestras presentaron fitotoxicidad, pues su índice de germinación es inferior al 80%.

Tabla 9. Índice de Germinación (%) de Zucconi para las muestras del landfarming

Muestra	IG (%)
D	66
D0	41
D1	20
D2	14
D3	37
D4	24
D5	44
D6	63
D6B	42

Se observa que salvo el suelo inicial (muestra D) y el suelo al que se le aplicó un 0,5% de hidrochar (muestra D6), todas las muestras poseen un elevado nivel de fitotoxicidad. Pese a estar englobadas en la misma categoría según el IG, los distintos valores de este índice sugieren que existen diferentes niveles de fitotoxicidad en los tratamientos. Para evaluar dichas diferencias, se proporciona un diagrama de barras (Figura 17).

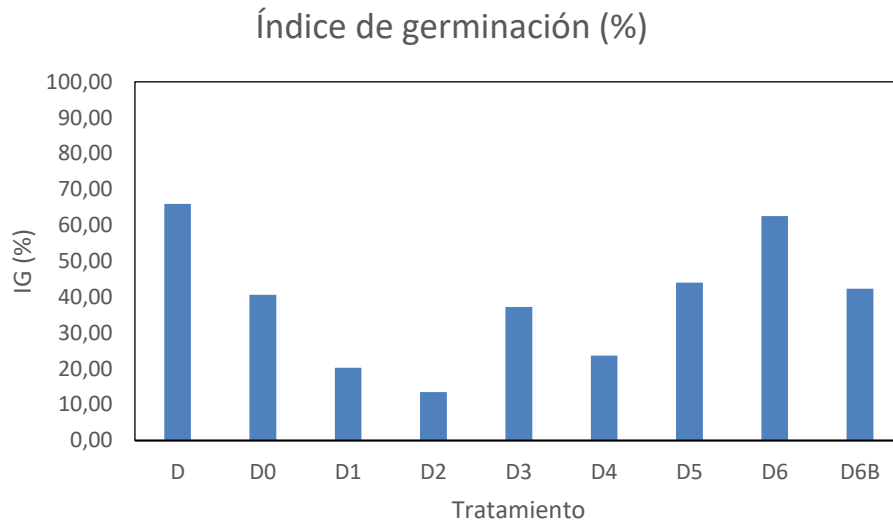


Figura 17. Comparación gráfica del Índice de Germinación (%) de Zucconi para las muestras del landfarming

Como era esperable, el IG del suelo inicial D, previo a la contaminación con diésel, es superior al de las demás muestras.

Observando la gráfica, puede deducirse que las muestras D3 (vermicompost), D5 (vermichar) y D6B (2,5% hidrochar) no han disminuido significativamente el índice de germinación del suelo, pues son muy similares al presentado por la muestra D0, a la que no se le ha aplicado ningún tratamiento.

Por otro lado, se destaca un decrecimiento del índice de germinación en las muestras D1 (compost vegetal), D2 (compost de lodos) y D4 (biochar). Contrariamente, la muestra D6 tiene un IG del 63%, el cual es casi tan elevado como el del suelo inicial, del 66%. Es decir, este tratamiento consigue recuperar el índice de germinación previo a la contaminación. Una vez más, el hidrochar presenta un curioso comportamiento, pues parece proporcionar mejores resultados a bajas dosis.

5.1.3 Análisis elemental CHNS

Las enmiendas orgánicas y las muestras de este ensayo se han sometido al análisis elemental CHNS, el cual permite conocer, como se explicó previamente, el contenido en carbono, hidrógeno, nitrógeno y azufre presente en el suelo. Las composiciones resultantes se recogen en las Tablas 10 y 11:

Tabla 10. Composición elemental CHNS de las enmiendas orgánicas

Tratamientos	C (%)	H (%)	N (%)	S (%)
Compost vegetal (1)	39,44	6,15	0,77	0,42
Compost de lodos (2)	22,97	4,39	2,45	0,87
Vermicompost (3)	13,42	6,94	0,94	1,98
Biochar (4)	36,76	1,99	0,06	0,52
Vermichar (5)	18,45	6,59	0,68	1,00
Hidrochar (6)	49,78	6,10	2,73	0,20

Tabla 11. Composición elemental CHNS de las muestras del landfarming en microcosmos

Muestras	C (%)	H (%)	N (%)	S (%)
D	4,05	0,53	ND	0,06
D0	4,74	0,68	0,03	0,03
D1	6,34	0,84	ND	0,05
D2	6,42	0,93	0,10	0,12
D3	5,99	0,82	0,06	0,25
D4	5,43	0,66	ND	0,07
D5	5,44	0,76	0,10	0,20
D6	4,75	0,71	0,03	0,04
D6B	5,03	0,70	0,04	0,04

El dato más relevante que puede obtenerse mediante este análisis es la relación C/N. Esta relación es un índice del grado de mineralización de la materia orgánica del suelo y varios estudios indican que se correlaciona con la calidad de este (Soto-Mora et al., 2016). De acuerdo con (Yagüe, 1994), si la relación carbono/nitrógeno es muy alta (>40-50) o muy baja (<10) la materia orgánica se descompone muy lentamente y la proliferación de microorganismos es baja. El índice C/N se considera óptimo si está comprendido entre 15 y 20, aunque en biorremediación se suele considerar aceptable entre 10 y 50. A continuación,

se analiza la relación C/N de las enmiendas orgánicas empleadas (Tabla 12) y en las muestras de suelo inicial sin contaminar y suelo contaminado con diésel (Tabla 13).

Tabla 12. Relación C/N en las enmiendas orgánicas

Tratamientos	C/N
Compost vegetal (1)	51
Compost de lodos (2)	9
Vermicompost (3)	14
Biochar (4)	613
Vermichar (5)	27
Hidrochar (6)	18

De los tratamientos, el compost de lodos (2), el vermicompost (3) y el hidrochar (6) son los que presentan un índice C/N más cercano al idóneo. En los casos del compost vegetal (1) y del biochar (4) existe un exceso de carbono con relación al nitrógeno. En todo caso la información más relevante es la que se muestra en la Tabla 13, ya que recoge la relación C/N para la combinación del suelo con las enmiendas.

Tabla 13. Relación C/N en las muestras de landfarming en microcosmos

Muestras	C/N
D	405
D0	190
D1	634
D2	62
D3	100
D4	543
D5	54
D6	190
D6B	137

El suelo inicial D presenta un importante déficit de nitrógeno. Con la aplicación de los tratamientos orgánicos se observa que en la mayoría de los casos se ha mejorado la relación C/N. En concreto, las muestras con compost de lodos (D2) y con vermichar (D5) presentan una notable mejoría de este índice. Por el contrario, el compost vegetal (D1) y el biochar (D4) presentan peores resultados que la muestra control sin tratamiento (D0). Este hecho parece relacionarse con el exceso de carbono mencionado.

En el diagrama de barras recogido en la Figura 18, puede compararse gráficamente los distintos valores del índice carbono/nitrógeno del suelo inicial y de las muestras analizadas.

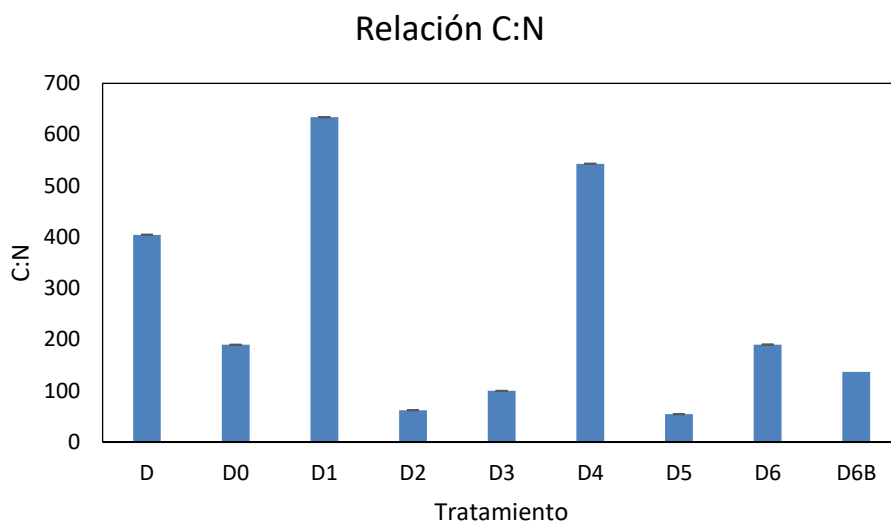


Figura 18. Representación del índice C/N en las muestras de landfarming

5.1.4 Fraccionamiento de carbono

El término **TOC (Total Organic Carbon)** hace referencia a la cantidad total de carbono orgánico presente en el suelo, el cual se encuentra en diferentes formas o fracciones. El TOC es una medida importante en la evaluación de la calidad y fertilidad del terreno, puesto que influye en numerosos procesos y propiedades, a saber: la retención de agua, la capacidad de intercambio catiónico, la estructura del suelo, la actividad biológica, y el almacenamiento de carbono (Schumacher, 2002). El TOC de cada muestra analizada se obtuvo como la suma de las tres fracciones de carbono medidas en este caso: carbono lábil, carbono extraíble y carbono recalcitrante.

El **carbono lábil** en el suelo es la fracción de carbono orgánico más fácilmente accesible y disponible para los microorganismos, dado que es más soluble y que se descompone más rápido que otras formas de carbono. La presencia de carbono lábil es esencial para mantener la actividad biológica del medio y promover la descomposición de la materia orgánica (Aguilar et al., 2015).

El **carbono extraíble** es la fracción que incluye compuestos orgánicos que son solubles con ciertos solventes o que pueden liberarse del suelo mediante procesos de extracción. Esta fracción engloba los ácidos húmicos (formados por moléculas grandes) y fúlvicos (compuestos por moléculas más pequeñas), es decir, compuestos orgánicos complejos que se derivan de la descomposición de la materia orgánica del suelo (Caron et al., 2015).

El **carbono recalcitrante**, a su vez, es una fracción altamente resistente a la descomposición y la cual tiene una vida útil prolongada en el suelo. A diferencia del carbono lábil o extraíble, la fracción recalcitrante se encuentra en formas más estables y no está fácilmente disponible para la descomposición microbiana. El carbono recalcitrante desempeña un papel crucial en el almacenamiento a largo plazo de carbono en el suelo y ayuda a mitigar el cambio climático, pues actúa como un sumidero de dióxido de carbono (Gay, 2015).

El fraccionamiento de carbono de la muestra de suelo limpio D y de las muestras impregnadas con diésel arrojó los siguientes resultados (Tabla 14):

Tabla 14. Fracciones de TOC en el suelo D en el tiempo final (180 días)

Muestras	C lábil (mg/kg)	C extraíble (mg/kg)	C recalcitrante (mg/kg)	TOC (mg/kg)
D	673,01	1135,66	20710,00	22518,67
D0	898,42	949,50	29190,00	31037,92
D1	1118,94	1797,60	42480,00	45396,55
D2	1448,42	1835,40	37540,00	40823,82
D3	1186,59	1751,53	38000,00	40938,13
D4	951,52	1068,46	33910,00	35929,98
D5	946,83	1149,90	35180,00	37276,73
D6	961,80	941,52	31240,00	33143,31
D6B	1073,23	1583,83	29530,00	32187,07

En comparación con el control (D0), todos los tratamientos aplicados parecen incrementar el TOC del suelo. Los mayores incrementos se produjeron en las muestras con compost: compost vegetal (D1), compost de lodos (D2) y vermicompost (D3). Por otro lado, el hidrochar en ambas dosis (D6 y D6B) fue el que menos carbono orgánico aportó.

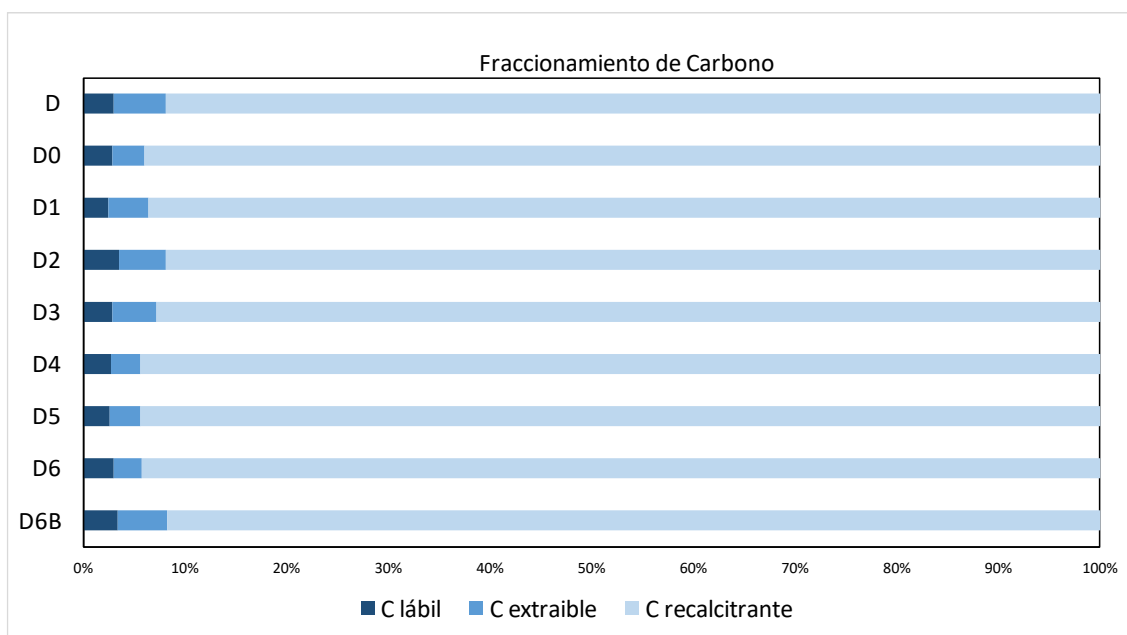


Figura 19. Porcentajes de C lábil, extraíble y recalcitrante en el suelo D

Es importante resaltar que no solo importa analizar el contenido total de carbono orgánico, sino en qué fracciones se distribuye. En la Figura 19 se reflejan los porcentajes de fracciones de carbono lábil, extraíble y recalcitrante de cada tratamiento.

Los porcentajes de carbono lábil son muy similares en todas las muestras, si bien es ligeramente superior en las que contienen compost de lodos (D2) e hidrochar (D6, D6B), lo cual es importante puesto que puede favorecer la proliferación de microorganismos. Por otro lado, el carbono extraíble se encuentra más presente en el suelo con 2,5% de hidrochar (D6B), con compost de lodos (D2) y con vermicompost (D3). Finalmente, el carbono recalcitrante, es decir, la fracción menos disponible a corto plazo, es mayoritario en el suelo con compost vegetal (D1), biochar (D4), vermicompost (D5) y 0,5% de hidrochar (D6).

5.1.5 Análisis TPH

Como se especificó en la metodología, el suelo inicial del ensayo de landfarming se contaminó artificialmente con diésel de forma que su concentración de TPH (hidrocarburos totales de petróleo) fuese de 20000 ppm. No obstante, para conocer la concentración exacta inicial de TPH en cada bandeja fue necesario calcular la cantidad de hidrocarburos aportada por las enmiendas orgánicas.

El análisis TPH realizado a las distintas enmiendas indicó que cada tratamiento aportaba a las muestras las siguientes cantidades de hidrocarburos (Tabla 15):

Tabla 15. TPH inicial aportado a las muestras de landfarming por cada tratamiento

Tratamiento	Masa (g)	TPH (ppm)	TPH (g)
Compost vegetal (1)	300	910,85	0,273
Compost lodos (2)	300	4739,00	1,422
Vermicompost (3)	300	257,06	0,077
Biochar (4)	100	698,75	0,070
Vermichar (5)	200	165,39	0,033
Hidrochar al 0,5% (6)	10	45100	0,451
Hidrochar al 2,5% (6B)	50	45100	2,255

Una vez obtenido los valores citados, se sumaron a los gramos de diésel añadidos al suelo. Finalmente, se determinó la concentración de TPH presente en cada muestra dividiendo el total de hidrocarburos entre los 2 kg de muestra totales. Así, la concentración inicial real de TPH en cada bandeja de landfarming se recoge en la Tabla 16:

Tabla 16. Concentración inicial de TPH en cada microcosmos de landfarming

Muestra	Diésel (g)	TPH tratamiento (g)	TPH (g)	TPH (ppm)
D0	40	0	40,000	20000,00
D1	34	0,273	34,273	17136,63
D2	34	1,422	35,422	17710,85
D3	34	0,077	34,077	17038,56
D4	38	0,070	38,070	19034,94
D5	36	0,033	36,033	18016,54
D6	39,8	0,451	40,251	20125,50
D6B	39	2,255	41,255	20627,50

Para comprobar la evolución de la degradación de hidrocarburos en las muestras dependiendo del tratamiento aplicado, siendo este uno de los objetivos fundamentales de este trabajo, se realizó un análisis TPH a cada bandeja a los tres meses (T90) de iniciarse el ensayo y otro a los seis meses (T180), cuando este se dio por finalizado. Los datos que se obtuvieron se exponen a continuación (Tabla 17):

Tabla 17. Evolución de las concentraciones de TPH en los microcosmos de landfarming para los tiempos inicial (T0), intermedio (T90) y final (T180), los datos presentan un error menor del 5%

Tratamiento	Código	TPH (ppm)		
		T0	T90	T180
Control	D0	20000,00	12482,46	10320,14
Compost vegetal	D1	17136,63	9681,8	5957,21
Compost lodos	D2	17710,85	10692,14	6467,57
Vermicompost	D3	17038,56	11328,83	7845,57
Biochar	D4	19034,94	13906,92	9741,10
Vermichar	D5	18016,54	12023,23	7667,73
Hidrochar (0,5%)	D6	20125,50	13932,91	7658,44
Hidrochar (2,5%)	D6B	20627,50	13819,48	11942,95

En el siguiente diagrama de barras (Figura 20) puede apreciarse de forma gráfica la evolución de la concentración en cada muestra:

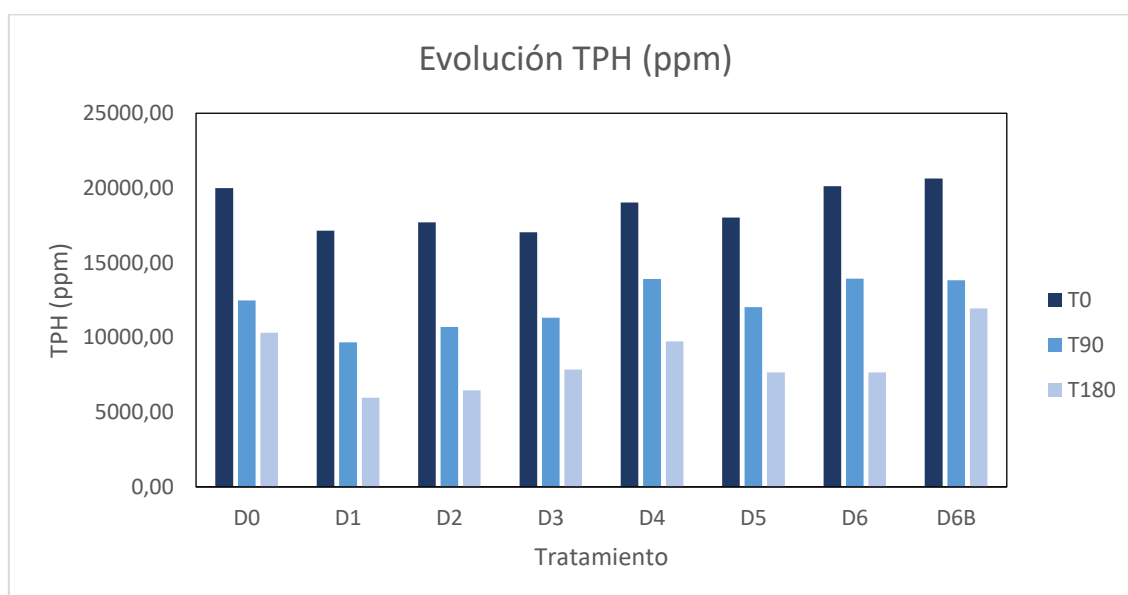


Figura 20. Representación gráfica de la evolución de la concentración de TPH en cada muestra de landfarming

Dado que cada tratamiento partía de concentraciones iniciales distintas de TPH, resulta más sencillo y fiable comparar los porcentajes de degradación finales que se consiguieron con cada enmienda orgánica para decidir cuál de ellas proporcionó el mejor resultado. Los porcentajes de degradación de hidrocarburos según el tratamiento aplicado y el tiempo de medición fueron los indicados en la Tabla 18:

Tabla 18. Porcentajes de degradación de TPH según el tratamiento

Tratamiento	Código	Porcentaje de degradación (%)		
		T0	T90	T180
Control	D0	0	37,59	48,40
Compost vegetal	D1	0	43,50	65,24
Compost lodos	D2	0	39,63	63,48
Vermicompost	D3	0	33,51	53,95
Biochar	D4	0	26,94	48,83
Vermichar	D5	0	33,27	57,44
Hidrochar (0,5%)	D6	0	30,77	61,95
Hidrochar (2,5%)	D6B	0	33,00	42,10

Para el tiempo final, se constata que la degradación en los tratamientos con biochar (48,83% de degradación) y con 2,5% de hidrochar (42,10%) apenas difieren de la que se produjo en el control (48,40%). Por ello, a priori, su uso no parece estar justificado.

Resultados más positivos presentaron el vermicompost y el vermichar, con porcentajes de degradación del 53,95% y del 57,44%, respectivamente. Sin embargo, las mejores respuestas se obtuvieron con el compost vegetal (65,24%), el compost lodos (63,48%) y, curiosamente, con hidrochar a baja dosis (61,95%).

Resulta muy llamativo el comportamiento del hidrochar. Con una dosis del 2,5%, se obtuvo el peor escenario de degradación. Mientras que con una dosis del 0,5%, el resultado es de los mejores. Para explicar este fenómeno sería necesario realizar una investigación más profunda, pues de las enmiendas empleadas, el hidrochar es el más novedoso y desconocido. En todo caso, se ha observado que en el tiempo 90 la degradación con esa dosis de hidrochar era muy baja, peor incluso que el control, por lo que se entiende que

probablemente se ha tratado, para ese ensayo en concreto, de algún tipo de resultado anómalo fruto quizá de un error analítico o de procedimiento en el tiempo 180.

5.2 Inmovilización de contaminantes

Para evaluar los cambios en los suelos del ensayo de inmovilización de metales y metaloides se ha procedido de forma similar que en el caso del landfarming, es decir, las muestras se analizaron por triplicado y al darse por finalizado el experimento al cabo de 180 días del comienzo de este. En este caso, los análisis más importantes para estudiar la inmovilización de contaminantes son la extracción con agua destilada y la extracción TCLP, aunque también se mostrará lo ocurrido con otros parámetros de interés. En todo caso se mostrarán los resultados por separado de cada uno de los dos suelos.

5.2.1 pH, conductividad eléctrica y potencial redox

→pH

Suelo A

Los valores medios de pH medidos en las macetas con suelo industrial de Avilés fueron los de la Figura 21:

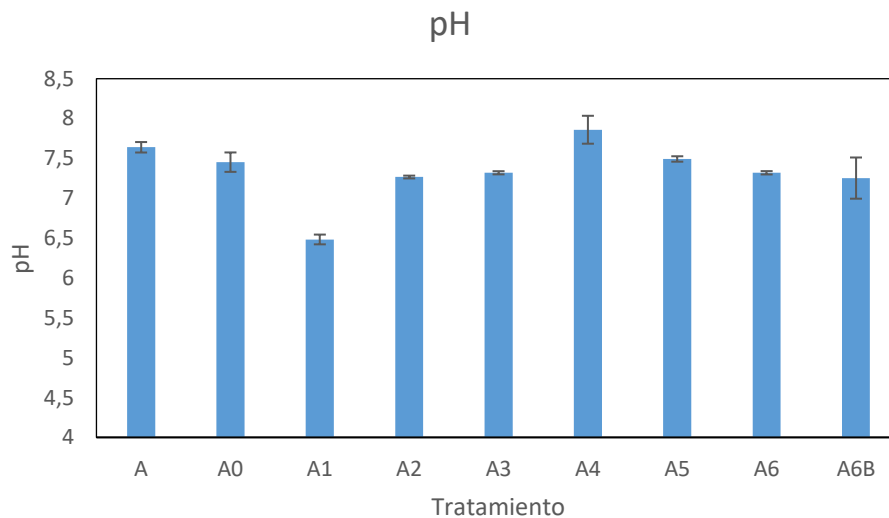


Figura 21. Representación de los valores de pH en las muestras con suelo A

No se han detectado, en general, grandes variaciones en el pH de las muestras, a excepción del caso de la muestra A1. Esta muestra corresponde al tratamiento con compost vegetal y

se produjo una acidificación en el suelo. Esta acidificación puede estar motivada por la liberación de ácidos húmicos y fúlvicos.

En los demás casos, se constató que las muestras eran ligeramente alcalinas (A, A0, A4 y A5) y neutras (A2, A3, A6, A6B). De lo anterior se concluye que, mayoritariamente, las enmiendas produjeron una ligera acidificación del suelo, el cual pasó de ligeramente alcalino a neutro. Las excepciones se dieron en las muestras A4 y A5, con biochar y vermichar respectivamente, en las que no se modificó el carácter del suelo.

Suelo O

En la Figura 22 se recogen los valores medios de pH medidos en las muestras con suelo minero:

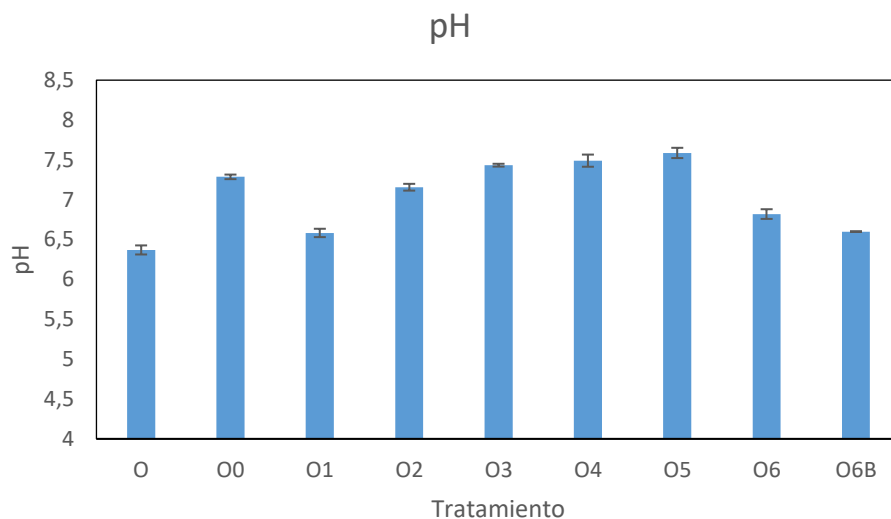


Figura 22. Representación de los valores de pH en las muestras con suelo O

De acuerdo con los valores de pH, las muestras O0, O1, O2, O6 y O6B corresponden a suelos neutros. Es decir, ninguna de las enmiendas orgánicas empleadas en esas muestras alteró el pH inicial del suelo de forma significativa. Por otro lado, el vermicompost (O3), el biochar (O4) y el vermichar (O5) incrementaron de forma sutil la alcalinidad del suelo, pues esas muestras pueden clasificarse como ligeramente alcalinas.

→Conductividad eléctrica

Al igual que en el ensayo de biorremediación, se ha medido la conductividad eléctrica de todas las macetas que conforman el experimento de inmovilización de contaminantes.

Suelo A

Las conductividades eléctricas de las muestras con suelo de Avilés se muestran en la Figura 23:

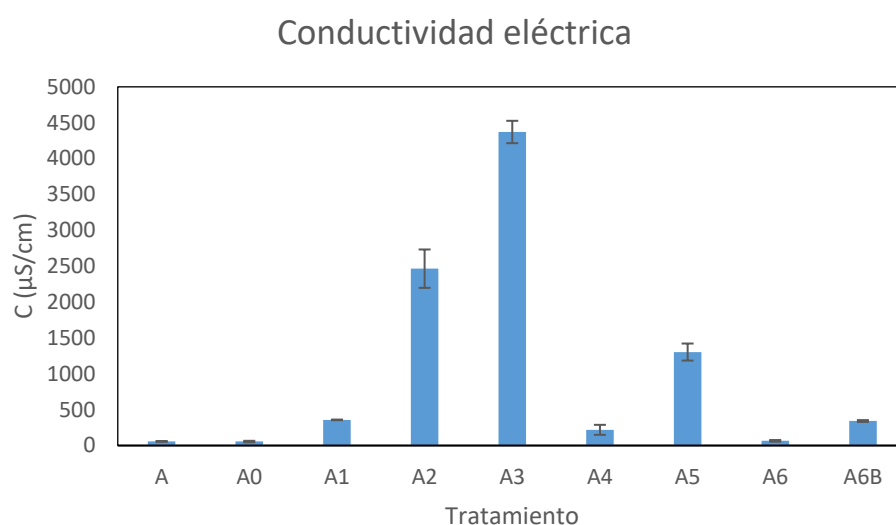


Figura 23. Variación de la conductividad eléctrica en las muestras con suelo A

También en este caso las conductividades medidas tienen valores muy dispares. Curiosamente, las muestras con compost de lodos (A2), vermicompost (A3) y vermichar (A5) vuelven a presentar las conductividades más elevadas y con un comportamiento muy similar al hallado en la biorremediación.

Suelo O

En las macetas con suelo proveniente de minería, las conductividades eléctricas medidas se recogen en la Figura 24. De forma genérica, se aprecian valores más altos de conductividades que en los casos anteriores, suelos A y D. Una vez más, se observa el mismo comportamiento de las enmiendas vermicompost (O3) y compost de lodos (O2). La

diferencia radica en el caso del vermichar (O5), pues en este caso la tercera conductividad eléctrica más elevada la tiene la muestra con 0,5% de hidrochar (O6).

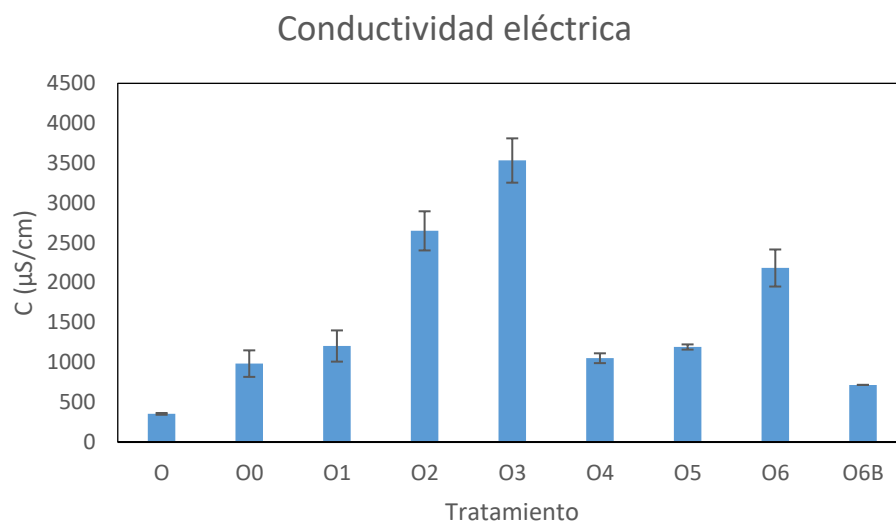


Figura 24. Variación de la conductividad eléctrica en las muestras con suelo O

→Potencial redox

A continuación, se analiza el carácter oxidante o reductor de las muestras del experimento de inmovilización de metales y metaloides.

Suelo A

La Figura 25 refleja los potenciales redox de las macetas con suelo de Avilés con y sin tratamientos aplicados:

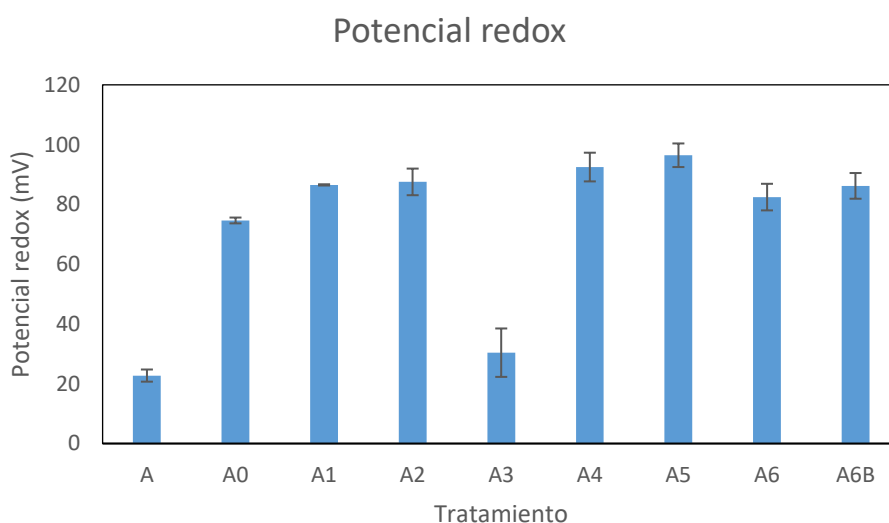


Figura 25. Variación del potencial redox en las muestras con suelo A

Todas las muestras presentan valores redox muy similares, a excepción del suelo inicial (muestra A) y el suelo con vermicompost (muestras A3), que parecen tener un carácter más reductor.

Suelo O

Los valores del potencial redox de las muestras del ensayo con suelo minero O se observan en la Figura 26. En este caso, se concluye que los tratamientos aplicados apenas modifican el potencial redox de las muestras, pues no se detectaron grandes variaciones en las medidas del potencial redox.

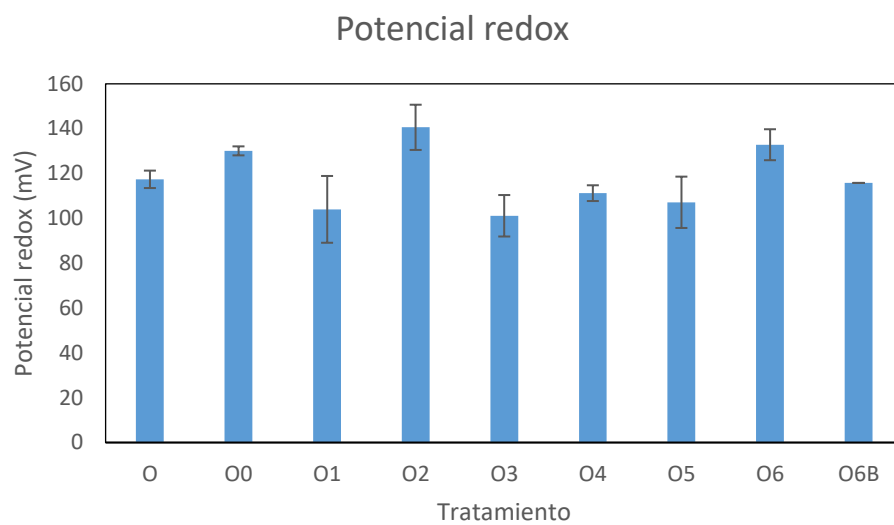


Figura 26. Variación del potencial redox en las muestras con suelo O

5.2.2 Actividad enzimática

Otro de los análisis llevados a cabo en el experimento de inmovilización de contaminantes fue la medida de las actividades de distintas enzimas, entre ellas: la deshidrogenasa, la β -glucosidasa, la fosfatasa y la ureasa.

Suelo A

Las actividades de las distintas enzimas medidas en el caso de las macetas del suelo industrial de Avilés se recogen en la Tabla 19:

Tabla 19. Actividades enzimáticas de las muestras con suelo A

Muestra	DHA (INTF/g·min)	GLU (PNP/g·min)	PHOS (PNP/g·min)	URE (CH ₄ Cl/g·min)
A0	0,00	1,52	14,18	6,29
A1	2,59	3,38	1,88	4,69
A2	3,82	4,93	44,09	14,82
A3	4,35	0,00	20,57	5,09
A4	0,00	0,00	32,32	5,24
A5	1,86	1,62	26,28	4,72
A6	0,00	0,00	0,00	5,44
A6B	1,60	32,54	100,10	7,70

En la tabla:

DHA: es la actividad de la deshidrogenasa en nmol de INTF/g·min

GLU: es la actividad de la β -glucosidasa en nmol de PNP/ g·min

PHOS: es la actividad de la fosfatasa en nmol de PNP/ g·min

URE: es la actividad de la ureasa en nmol de CH₄Cl/ g·min

A continuación, se analiza la evolución de las actividades de cada una de las enzimas estudiadas de acuerdo con los tratamientos aplicados al suelo.

Deshidrogenasa (DHA)

La actividad de la deshidrogenasa se considera uno de los indicadores más importantes de la actividad microbiana del suelo (Cooper y Warman, 1997). La actividad de esta enzima es un parámetro equivalente a la respiración del suelo (von Mersi y Schinner, 1991).

La medida de la actividad deshidrogenasa de las muestras de suelo se realizó mediante la evaluación de la concentración del producto INTF (iodonitrotetrazolio formazan) generado al metabolizar el sustrato INT (cloruro de yodonitrotetrazolio). Los resultados obtenidos se reflejan en el siguiente gráfico (Figura 27):

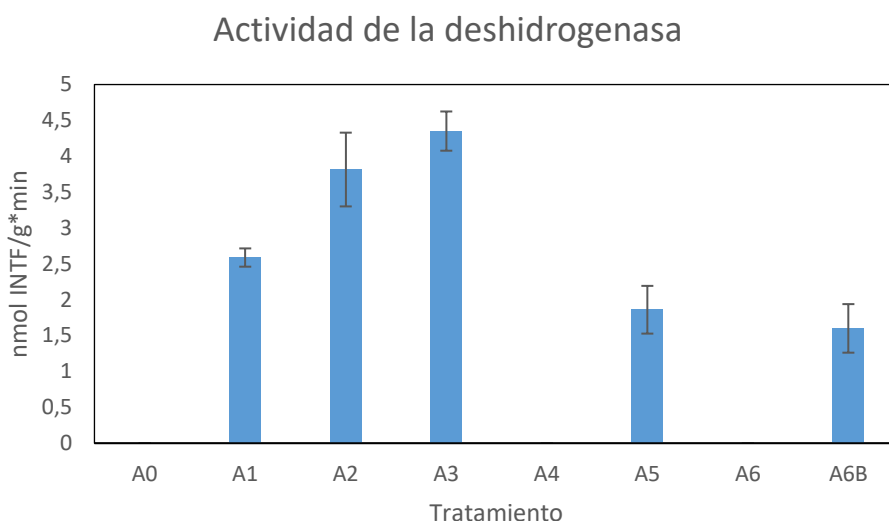


Figura 27. Actividad DHA de las muestras con suelo A

Como puede apreciarse, la aplicación de los tratamientos de compost de lodos (A2) y vermicompost (A3) presentan una actividad enzimática de la deshidrogenasa muy superior a la del control, la cual ni siquiera fue medible. También se constatan una mejoría, si bien más modesta, en las muestras A1 (compost vegetal), A5 (vermicar) y A6B (2,5% de hidrochar). Por otro lado, no se detectó actividad DHA en las muestras A4 (biochar) y A6 (0,5% hidrochar).

β-Glucosidasa (GLU)

La β-glucosidasa es una enzima que cataliza la hidrólisis de enlaces glucosídicos, liberando glucosa de compuestos orgánicos complejos (Caravaca et al., 2002). La medición de la actividad de esta enzima proporciona información sobre la tasa de descomposición de la

materia orgánica y la disponibilidad de glucosa como fuente de carbono orgánico para los microorganismos.

El PNP (p-nitrofenol) es el producto de la reacción que se utiliza para determinar la actividad de la fosfatasa en una muestra. Las concentraciones halladas de PNP en las muestras con suelo de Avilés se reflejan en la Figura 28:

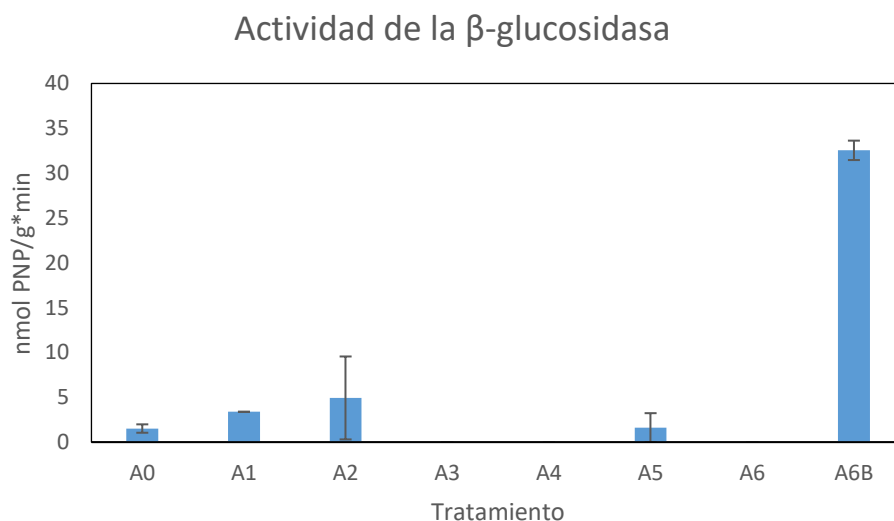


Figura 28. Actividad GLU de las muestras con suelo A

En las muestras control (A0) y con vermichar (A5) se tienen indicios muy bajos de disponibilidad de glucosa. Presentan un ligero incremento respecto a ellas las muestras con compost vegetal (A1) y compost de lodos (A2). Sin embargo, el único tratamiento en el que se aprecia un aumento considerable de la actividad de la β -glucosidasa es la aplicación de un 2,5% de hidrochar, muestra A6B.

Fosfatasa (PHOS)

El fósforo es un macronutriente esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Sin embargo, gran parte del fósforo en el suelo está en formas orgánicas o poco disponibles para la vegetación. La actividad de la fosfatasa indica la capacidad del suelo para descomponer y liberar el fósforo de los compuestos orgánicos e inorgánicos, convirtiéndolo

en una forma soluble y disponible para las plantas (Speir y Ross, 1978). Por lo tanto, la medición de la actividad de la fosfatasa proporciona información sobre la disponibilidad de fósforo en el suelo y su potencial para fomentar el crecimiento de la vegetación.

Al igual que en el caso de la β -glucosidasa, el producto empleado para medir la actividad de la fosfatasa fue el PNP. Los resultados se presentan en la Figura 29:

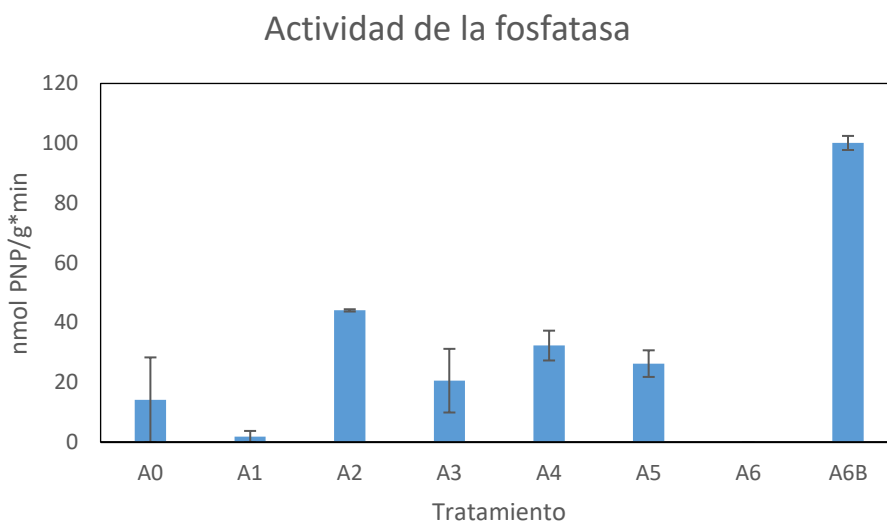


Figura 29. Actividad PHOS de las muestras con suelo A

Las actividades de estas enzimas son mayores que en el caso de la β -glucosidasa y los tratamientos parecen tener mejores resultados. Las muestras A2, A3, A4 y A5 presentan mayores concentraciones de PNP que la muestra de control. Al igual que en el caso anterior, la dosis elevada de hidrochar (muestra A6B) proporcionó el mejor resultado, el cual se traduce en este caso en una mayor disponibilidad de fósforo para la vegetación.

Ureasa (URE)

La ureasa es una enzima que cataliza la hidrólisis de la urea, un compuesto orgánico que contiene nitrógeno, en amonio y dióxido de carbono. La medición de la actividad de la ureasa proporciona información sobre la disponibilidad de nitrógeno y permite estimar la fertilidad del suelo, pues una alta actividad de esta enzima sugiere que este es capaz de

descomponer eficientemente la urea y liberar amonio, esencial para el medio (Nannipieri et al., 1983).

Para estudiar la actividad de la ureasa, se ha determinado la concentración de NH_4Cl (cloruro de amonio), el cual es producto de la hidrólisis de la urea, presente en las muestras (Figura 30):

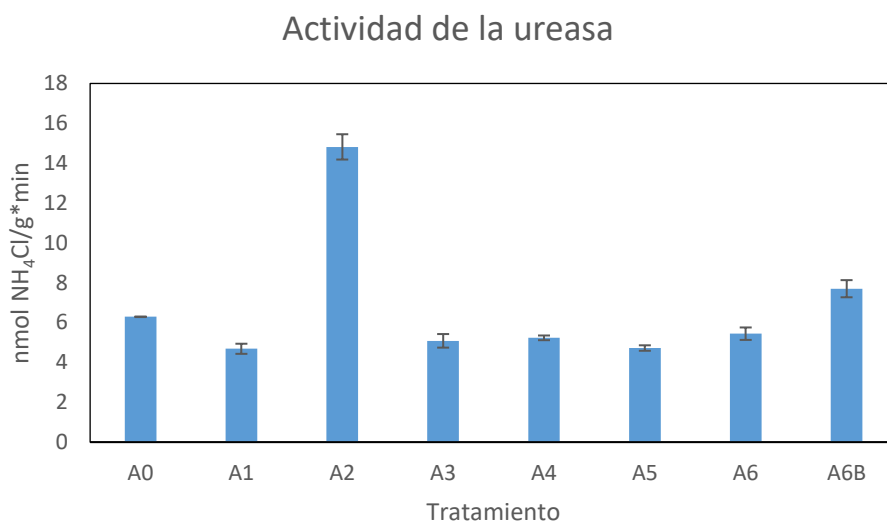


Figura 30. Actividad URE de las muestras con suelo A

En la Figura 30 se detecta que, a excepción de los tratamientos con 2,5% de hidrochar (A6B) y con compost de lodos (A2), todas las enmiendas orgánicas han causado una ligera disminución de la actividad enzimática de la ureasa respecto a la que presenta el suelo sin tratar (muestra A0). De los tratamientos en los que se aprecia una mejoría, destaca el de compost lodos.

Suelo O

Al igual que en el caso anterior, se presenta primero el conjunto de actividades enzimáticas medidas para proceder al análisis de las respuestas de las enzimas a cada uno de los tratamientos orgánicos aplicados (Tabla 20).

Tabla 20. Actividades enzimáticas de las muestras con suelo O

Muestra	DHA (INTF/g·min)	GLU (PNP/g·min)	PHOS (PNP/g·min)	URE (CH ₄ Cl/g·min)
O0	0,00	1,74	37,14	6,12
O1	3,05	0,11	71,18	7,21
O2	10,14	1,48	27,04	18,07
O3	5,41	2,09	48,10	8,12
O4	0,00	0,49	52,52	5,91
O5	0,00	0,54	78,59	5,34
O6	0,57	2,42	8,60	6,26
O6B	1,68	117,13	102,10	12,54

En la tabla:

DHA: es la actividad de la deshidrogenasa en nmol de INTF/ g·min

GLU: es la actividad de la β -glucosidasa en nmol de PNP/g·min

PHOS: es la actividad de la fosfatasa en nmol de PNP/g·min

URE: es la actividad de la ureasa en nmol de CH₄Cl/g·min

Deshidrogenasa (DHA)

Las concentraciones de iodonitrotetrazolium formazan (INTF) halladas en las macetas con suelo minero se muestran a continuación (Figura 31):

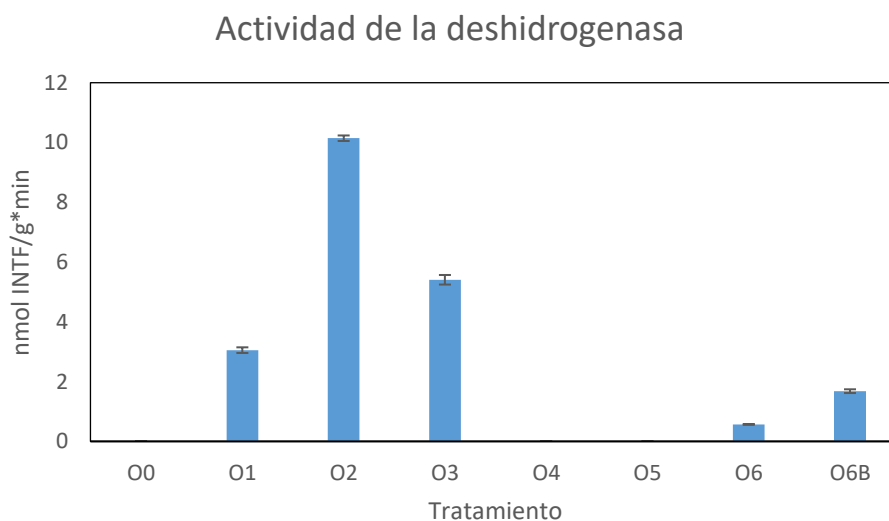


Figura 31. Actividad DHA de las muestras con suelo O

Los resultados presentan similitudes con los del caso de Avilés, pues los tres tipos de compost parecen incrementar la actividad de la deshidrogenasa, muestras O1, O2 y O3. También, aunque de forma mucho más reducida, parecen funcionar los tratamientos con hidrochar, muestras O6 y O6B.

B-Glucosidasa (GLU)

La actividad de las enzimas β -glucosidasa, de acuerdo con las concentraciones medidas de PNP, apenas es detectable en las muestras de suelo O, como señala la Figura 32. Sin embargo, al igual que ocurrió en el suelo de Avilés, las dosis altas de hidrochar producen un aumento destacable de la actividad de estas enzimas.

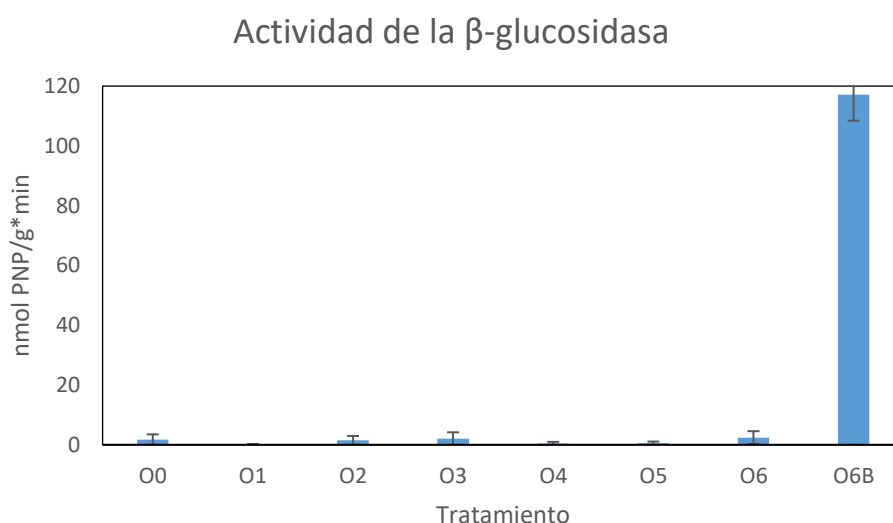


Figura 32. Actividad GLU de las muestras con suelo O

Fosfatasa (PHOS)

Las actividades de la fosfatasa (Figura 33) son superiores a las del control (O0) en cuatro de los siete tratamientos: compost vegetal, vermicompost, biochar, vermichar e hidrochar con una dosis del 2,5%. Una vez más, este último tratamiento (O6B) tuvo el mejor resultado.

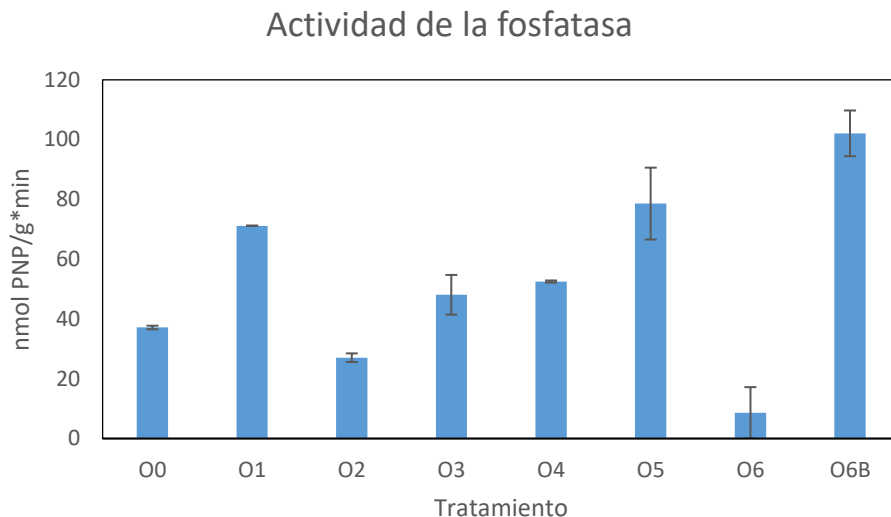


Figura 33. Actividad PHOS de las muestras con suelo O

Ureasa (URE)

Las distintas actividades enzimáticas de la ureasa medidas en las muestras de suelo O (Figura 34) presentaron valores muy similares a los detectados en las muestras con suelo A. La mayor parte de los tratamientos (O2, O3, O4, O5 y O6) no alteraron de forma considerable la concentración de cloruro de amonio, mientras que los tratamientos de compost lodos e hidrochar al 2,5% sí supusieron una mejoría en la actividad de ureasa.

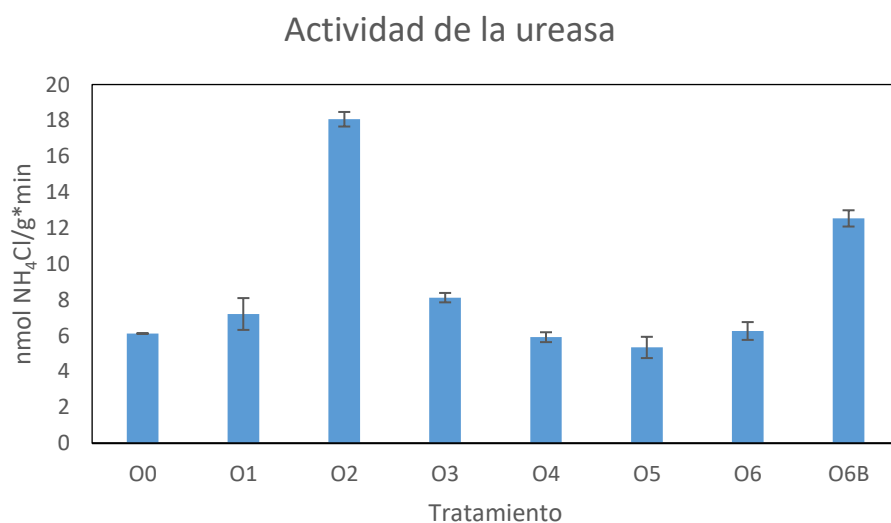


Figura 34. Actividad URE de las muestras con suelo O

5.2.3 Fraccionamiento de carbono

Para estudiar el fraccionamiento de carbono de los suelos A y O con sus correspondientes tratamientos, se analizaron las muestras por triplicado, a excepción de los suelos iniciales, en cuyo caso solo se tomó una muestra.

Suelo A

Como puede constatarse en la Tabla 21, la cual incluye los resultados del fraccionamiento de carbono de las macetas con suelo A, todas las enmiendas orgánicas aportan carbono orgánico, pues las muestras que las contienen tienen mayor TOC que las muestras control (A0) y de suelo inicial (A). Al igual que ocurrió en el experimento de biorremediación, los composts (A1, A2, A3) fueron los que más incrementaron el carbono orgánico mientras que el hidrochar fue el que menos (A6, A6B).

Tabla 21. Fracciones de TOC en el suelo A en el tiempo final (180 días)

Muestras	C lábil (mg/kg)	C extraíble (mg/kg)	C recalcitrante (mg/kg)	TOC (mg/kg)
A	347	432	2218	2997
A0	381	312	1881	2573
A1	631	2104	17801	20536
A2	1354	1648	20156	23158
A3	720	1356	10565	12640
A4	437	10	8906	9353
A5	549	848	5306	6703
A6	429	50	2730	3209
A6B	841	274	3311	4426

En cuanto a las fracciones de carbono (Figura 35), es destacable que el porcentaje de carbono lábil con respecto al control disminuyó notablemente en todos los tratamientos, a excepción del hidrochar (muestras A6 y A6B). A su vez, la fracción extraíble fue mayor en las muestras con compost lodos (A1), vermicompost (A3) y vermichar (A5). Del carbono recalcitrante es interesante mencionar que compone más del 90 % del TOC de la muestra con biochar (A4). Este hecho se relaciona directamente con la gran capacidad del biochar de almacenar carbono, debido al proceso de síntesis del material (pirólisis).

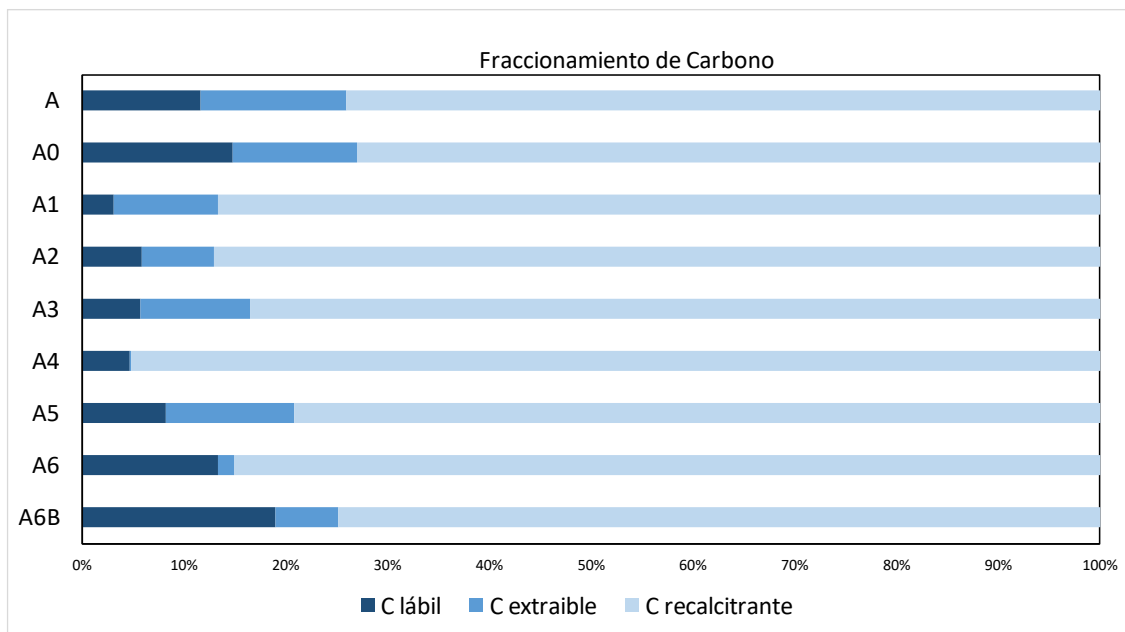


Figura 35. Porcentajes de C lábil, extraíble y recalcitrante en el suelo A

Suelo O

En el fraccionamiento de carbono de las macetas con suelo O (Tabla 22), lo primero a destacar es que muy probablemente se cometió algún error en el análisis del suelo inicial, pues los valores obtenidos difieren considerablemente de los valores de la muestra control (O0). En las demás medidas, se observa el mismo comportamiento que presentaron las enmiendas orgánicas en los casos anteriores: gran aporte de carbono orgánico en las muestras O1, O2 y O3 y menor aumento de TOC con el hidrochar, muestras O6 y O6B.

Tabla 22. Fracciones de TOC en el suelo O en el tiempo final (180 días)

Muestras	C lábil (mg/kg)	C extraíble (mg/kg)	C recalcitrante (mg/kg)	TOC (mg/kg)
O	0,1	0,0	0,7	0,8
O0	457,4	145,0	5834,2	6436,6
O1	587,7	1089,3	25033,6	26710,6
O2	949,9	1158,8	22492,7	24601,3
O3	733,8	945,5	21128,3	22807,6
O4	445,2	438,4	22818,3	23701,9
O5	546,7	633,3	18315,7	19495,7
O6	623,5	751,8	8784,2	10159,6
O6B	1037,0	981,5	8074,4	10092,9

Los porcentajes de carbono lábil también imitan lo descrito anteriormente, pues se mantienen similares a los del control en las muestras con hidrochar (O6, O6B) y disminuyen en los demás casos (Figura 36). De igual forma, el porcentaje de carbono extraíble es superior en las muestras con hidrochar. Por último, como cabía esperarse, el porcentaje de carbono recalcitrante es muy elevado en la muestra O4, tratada con biochar.

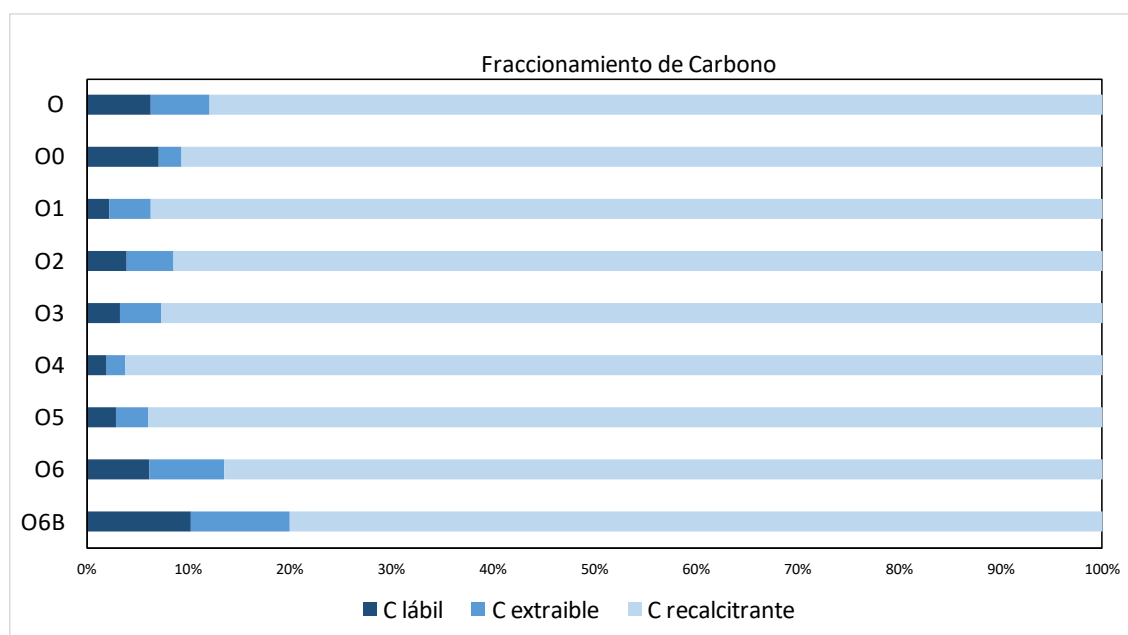


Figura 36. Porcentajes de C lábil, extraíble y recalcitrante en el suelo O

5.2.4 Extracción con agua destilada

Al igual que en el estudio propuesto por Gil-Díaz et al. (2021), se realizó una extracción en una sola etapa empleando agua destilada para evaluar la disponibilidad de distintos elementos en las macetas pertenecientes al ensayo de inmovilización de contaminantes en los suelos industrial y minero contemplados.

Suelo A

En el suelo inicial muestreado en el entorno de Avilés, designado como suelo A, se encontró que el único metal disponible es el zinc, con una concentración de 16 mg/kg. Como se recoge en la Tabla 23, en la muestra control A0, a la cual no se le aplicó ninguna enmienda orgánica, presente un amplio abanico de elementos disponibles. Una posible explicación a la diferencia de elementos presentes en ambas muestras puede ser que las condiciones del experimento (tiempo transcurrido, aireación, humedad, etc.) han incrementado la disponibilidad de metales en la muestra control.

Tabla 23. Extracción con agua destilada del suelo inicial A

Elemento	Suelo A (mg/kg)
Zn	16

Los resultados del análisis de las macetas con el suelo A indican que los metales y metaloides Ni, Cu, Zn, As, Cd, Hg y Pb tienen la siguiente disponibilidad, expresada en mg de elemento por kg de suelo (Tabla 24):

Tabla 24. Resultados de la extracción con agua destilada del suelo A

Muestra	Concentración						
	Ni (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	As (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Hg (µg/kg)	Pb (mg/kg)
A0		0,15	16,56	0,07	0,14	10,40	0,35
A1		0,15	36,38	0,34	0,10	9,80	0,26
A2	0,05	0,58	14,22	0,28	0,05	7,00	0,22
A3		0,31	18,44	0,21	0,11	7,10	0,27
A4		0,16	12,26	0,10	0,10	10,50	0,37
A5		0,26	16,20	0,17	0,12	6,20	0,29
A6		0,31	24,07	0,11	0,17	9,30	0,37
A6B	0,05	1,36	31,79	0,21	0,15	7,90	0,31

De forma general, se encontró que las enmiendas orgánicas no redujeron de forma significativa la disponibilidad del Ni, del Zn, del Cu ni del As. De hecho, en la mayoría de los casos la concentración de esos elementos en el medio se incrementó. Resultados más positivos se dieron en la inmovilización del Cd, del Pb y del Hg. Un breve análisis de la disponibilidad de los elementos citados se proporciona a continuación.

Níquel (Ni)

Las enmiendas orgánicas compost de lodos (muestra A2) e hidrochar, al 2,5%, (muestra A6B) liberan concentraciones de níquel al medio. La disponibilidad de este metal es nula en la muestra control y en los demás tratamientos (Figura 37).

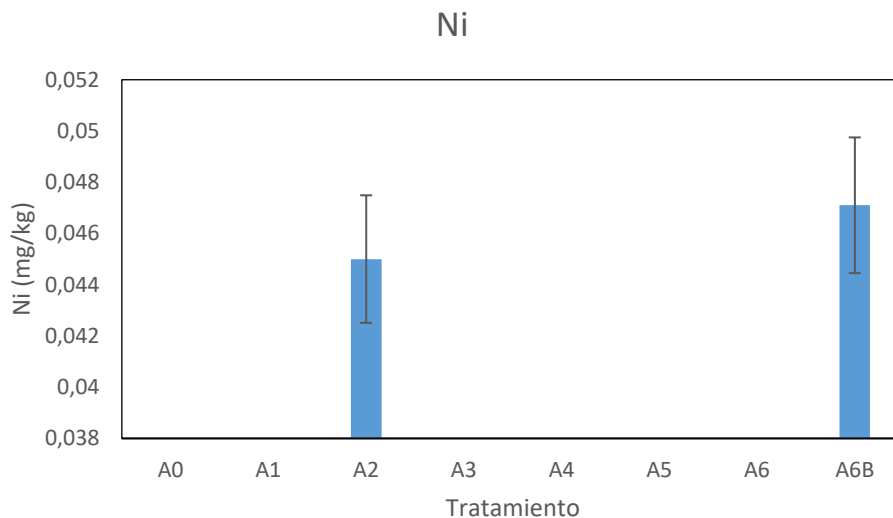


Figura 37. Ni (mg/kg) en extracción con agua destilada del suelo A

Cobre (Cu)

Ninguno de los tratamientos aplicados parece eficaz en la inmovilización del cobre, pues en las muestras la concentración hallada de Cu no fue inferior a la del control (A0) (Figura 38). Al igual que en el caso del níquel, los tratamientos de compost lodos (A2) y dosis alta de hidrochar (A6B) aumentaron la disponibilidad del elemento medido.

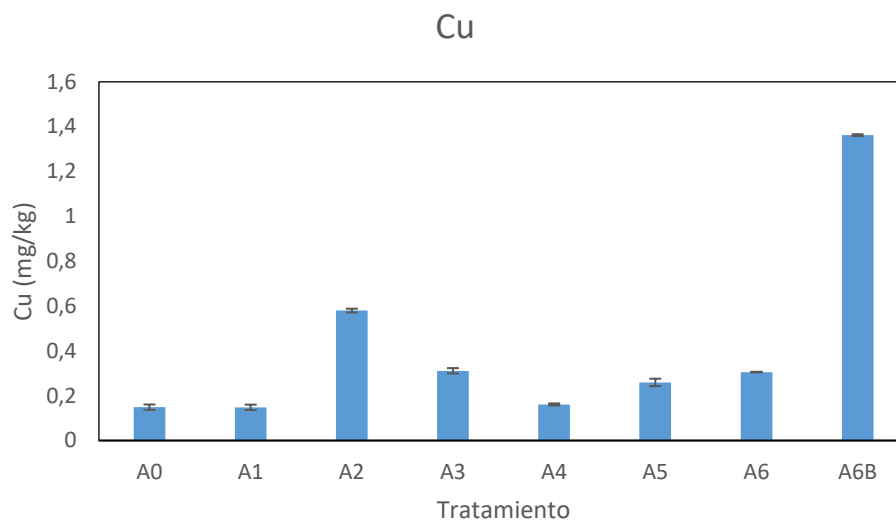


Figura 38. Cu (mg/kg) en extracción con agua destilada del suelo A

Zinc (Zn)

En el caso del zinc, las muestras A2, A4 y A5 presentaron concentraciones ligeramente inferiores a las del control. Contrariamente, el compost vegetal (A1) y las dos dosis de hidrochar (A6, A6B) incrementaron la disponibilidad del zinc (Figura 39).

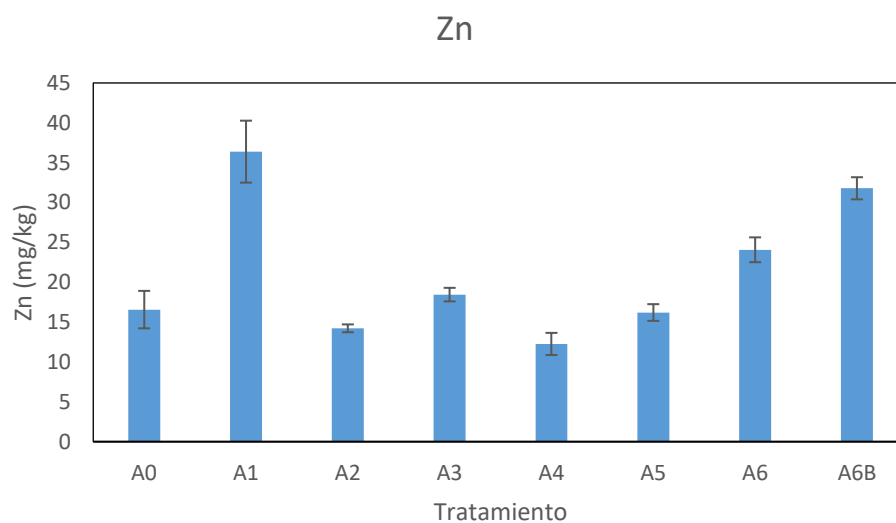


Figura 39. Zn (mg/kg) en extracción con agua destilada del suelo A

Arsénico (As)

Al igual que en el caso del cobre, ninguna de las enmiendas empleadas permitió reducir la disponibilidad del arsénico (Figura 40). Se constató, además, que dos de los compost aplicados aumentaron considerablemente la concentración de arsénico en el suelo. Estos compost son el compost vegetal (A1) y el compost de lodos (A2).

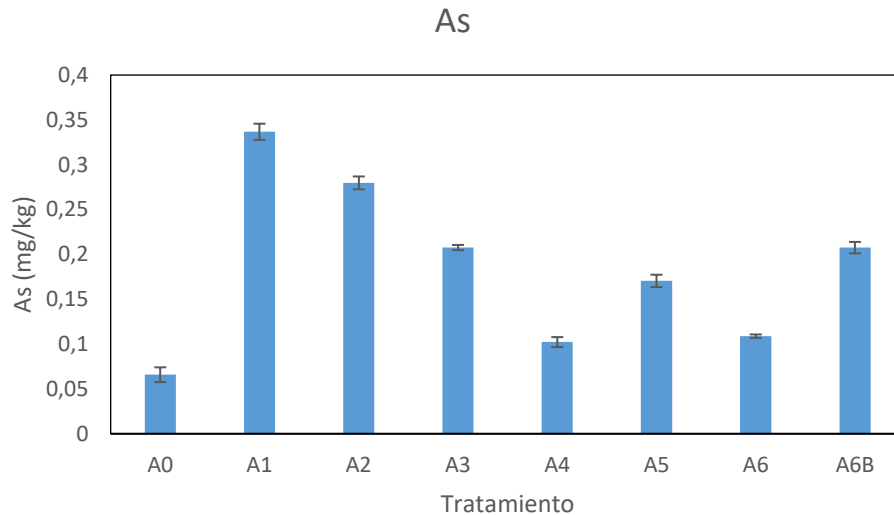


Figura 40. As (mg/kg) en extracción con agua destilada del suelo A

Cadmio (Cd)

En el análisis de la disponibilidad del cadmio (Figura 41), todas las enmiendas, a excepción del hidrochar, dieron resultados positivos. El compost de lodos (A2) redujo a más de la mitad la concentración de cadmio respecto a la muestra sin tratamiento (A0).

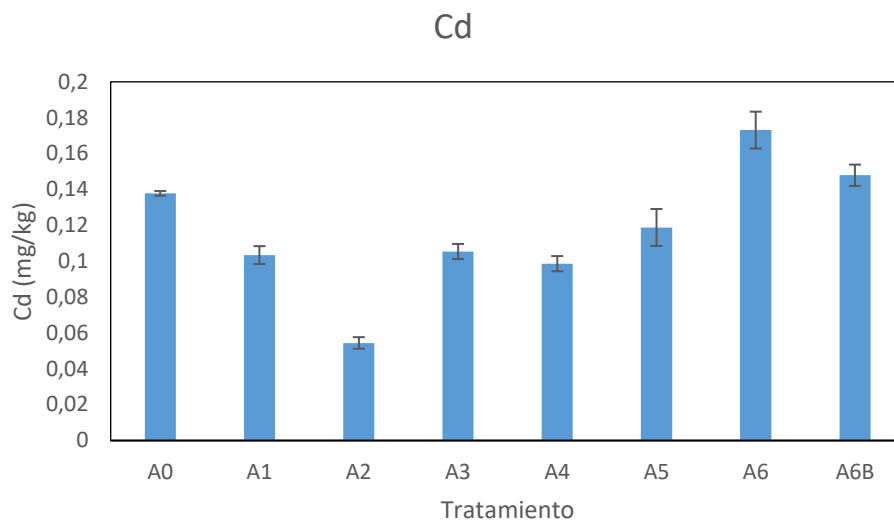


Figura 41. Cd (mg/kg) en extracción con agua destilada del suelo A

Mercurio (Hg)

La disponibilidad del mercurio (Figura 42) disminuyó, aunque de forma muy sutil, en todas las muestras. No obstante, la concentración más baja fue de 6,2 $\mu\text{g/kg}$ en el caso del vermichar (A5) frente a la concentración de mercurio de 10,4 $\mu\text{g/kg}$ del control (A0).

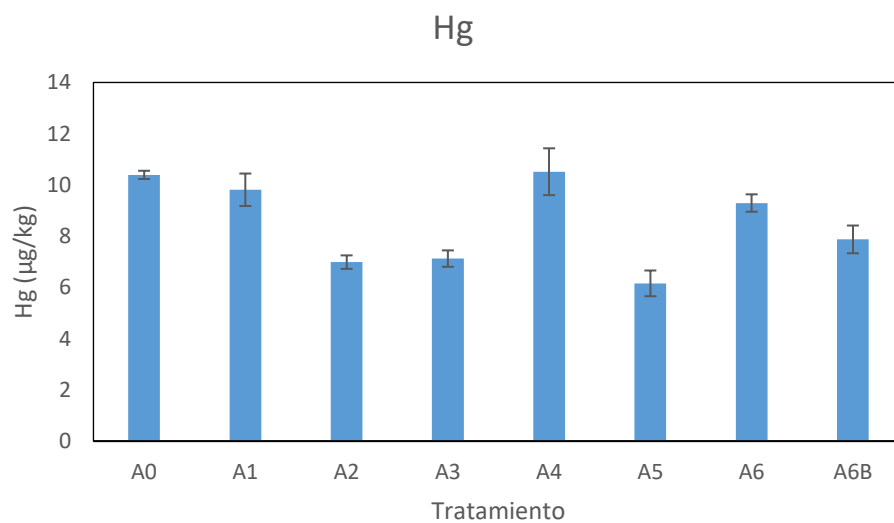


Figura 42. Hg ($\mu\text{g/kg}$) en extracción con agua destilada del suelo A

Plomo (Pb)

Los tratamientos de compost, vermichar y 2,5% de hidrochar presentaron menores concentraciones de plomo respecto a la muestra de control (Figura 43). De entre ellos, el compost de lodos (A2) fue el que mejor inmovilizó el plomo.

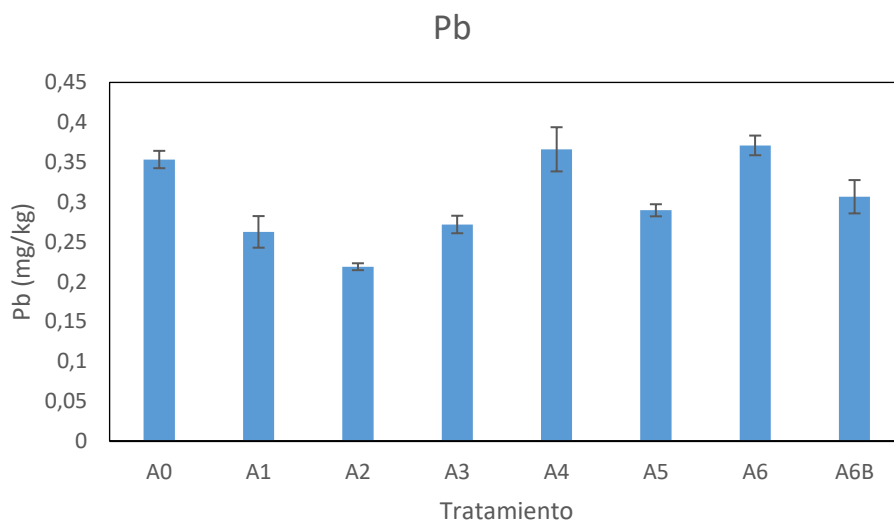


Figura 43. Pb (mg/kg) en extracción con agua destilada del suelo A

Suelo O

En la extracción con agua destilada aplicada al suelo minero O (Tabla 25), previo al inicio del experimento, se constató que los metales zinc y cobre se encontraban presentes en concentraciones de 0,688 mg/kg y 12,642 mg/kg, respectivamente. Al igual que en el caso de las muestras de suelo inicial y control de Avilés, las muestras O y O0 también presentan diferencias apreciables.

Tabla 25. Extracción con agua destilada del suelo O

Elemento	Suelo O (mg/kg)
Zn	0,7
Cu	12,6

En el análisis de las macetas con suelo O se detectaron concentraciones de Ni, Cu, Zn y As (Tabla 26). Desafortunadamente, los tratamientos aplicados parecen haber tenido el efecto

contrario al esperado, pues las concentraciones de estos contaminantes fueron en las muestras con enmiendas fueron superiores a las medidas en la muestra de control.

Tabla 26. Resultados de la extracción con agua destilada del suelo O

Muestra	Concentración			
	Ni (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	As (mg/kg)
O0	0,00	1,93	0,21	0,13
O1	1,20	2,37	0,44	0,21
O2	0,10	4,57	0,39	0,54
O3	0,05	2,76	0,28	0,92
O4	0,00	2,70	0,23	0,25
O5	0,00	2,41	0,25	0,60
O6	0,11	5,44	0,27	0,34
O6B	0,75	12,44	0,35	0,65

Níquel (Ni)

Una vez más, una dosis del 2,5% de hidrochar (O6B) eleva la disponibilidad del níquel (Figura 44). De forma aún más notable, el compost vegetal (O1) también provoca un aumento en la concentración de este metal.

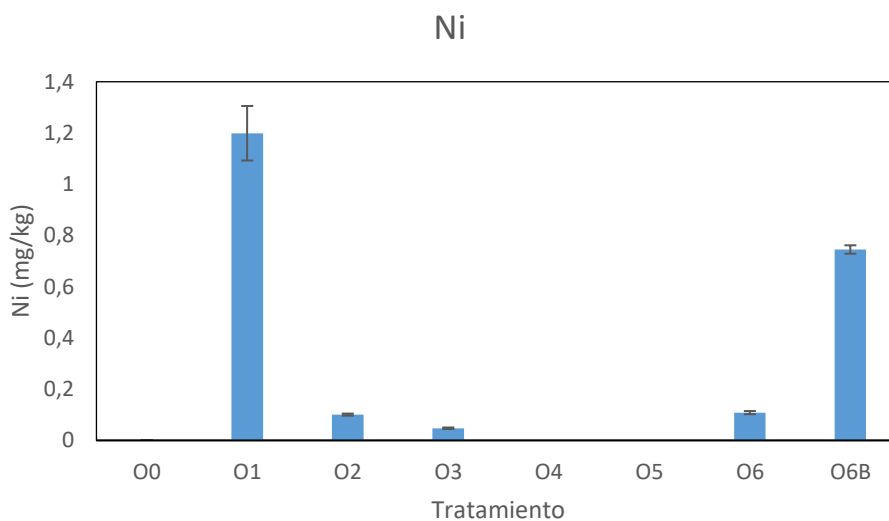


Figura 44. Ni (mg/kg) en extracción con agua destilada del suelo O

Cobre (Cu)

Como se adelantó, ninguna enmienda consiguió inmovilizar de forma significativa el cobre (Figura 45). El tratamiento del 2,5% de hidrochar (muestra O6B) presentó una concentración de 12,44 mg/kg frente a la concentración de 1,93 mg/kg detectada en el control (O0).

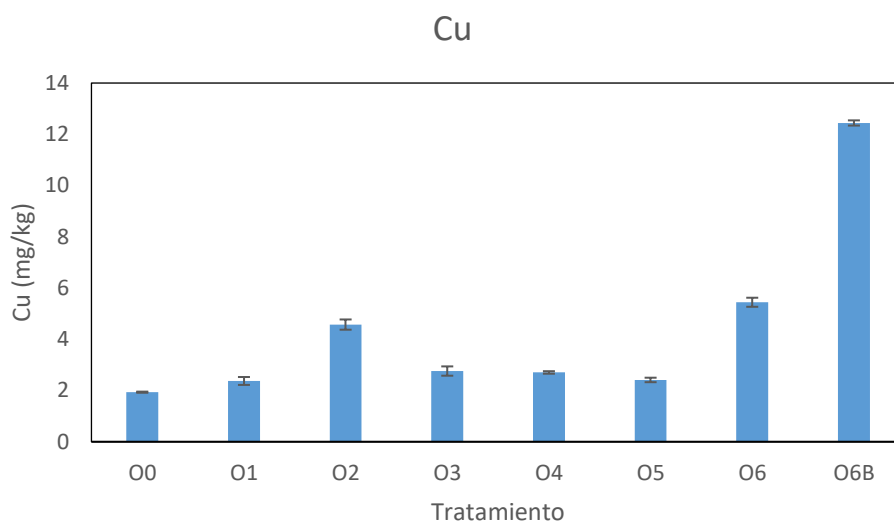


Figura 45. Cu (mg/kg) en extracción con agua destilada del suelo O

Zinc (Zn)

En el caso del zinc, los resultados tampoco fueron los esperados (Figura 46). El compost vegetal (O1) y el compost lodos (O2) duplicaron la disponibilidad de zinc en comparación con la muestra sin tratamiento.

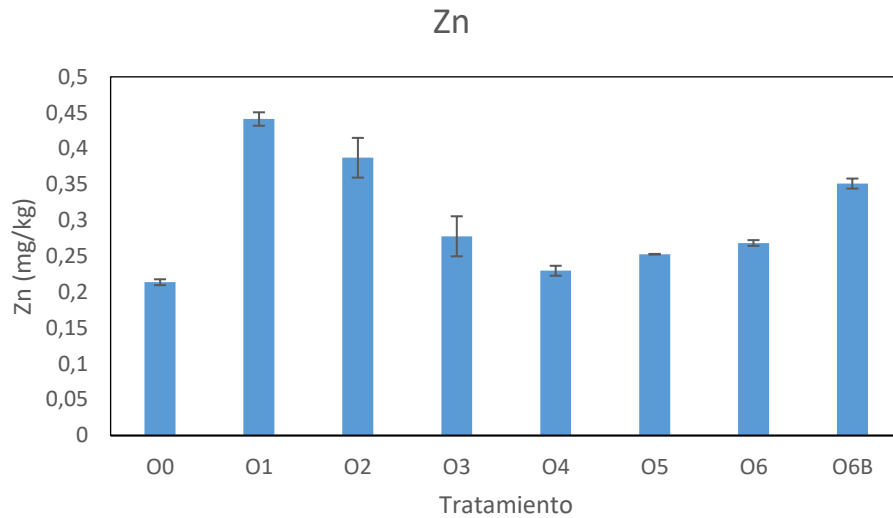


Figura 46. Zn (mg/kg) en extracción con agua destilada del suelo O

Arsénico (As)

En el caso del arsénico, las muestras O2, O3, O5 y O6B presentaron los peores resultados en la inmovilización de este contaminante (Figura 47). Concretamente, en la maceta con vermicompost (O3) se midió una concentración de 0,92 mg/kg de arsénico, mientras que en el control la concentración fue de 0,13 mg/kg.

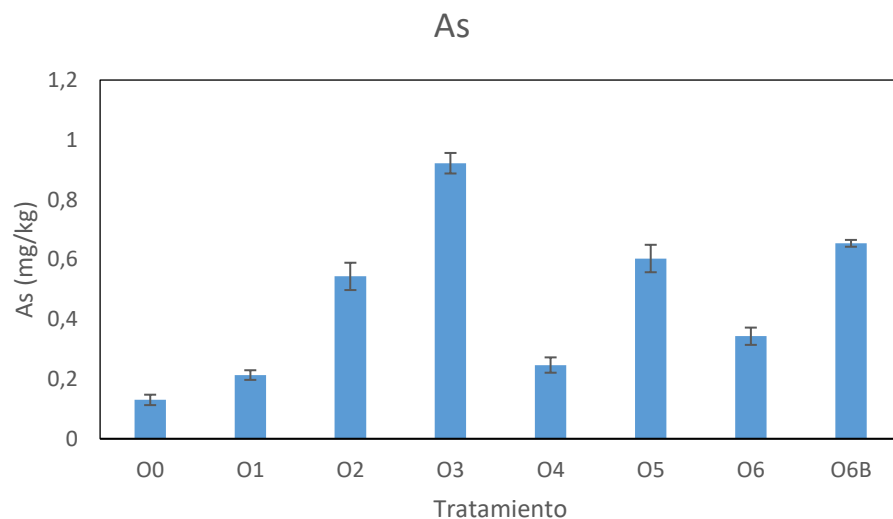


Figura 47. As (mg/kg) en extracción con agua destilada del suelo O

5.2.5 Extracción TCLP

Suelo A

Los resultados del análisis TCLP del suelo inicial A indicó que de acuerdo con los límites establecidos por la Agencia de Protección Ambiental de los EE.UU. (EPA), el suelo muestreado presenta una concentración de plomo muy superior a la permitida. En los demás elementos detectados, las concentraciones no superan los límites establecidos (Tabla 27).

Tabla 27. Comparación de concentraciones de elementos en el suelo A con los límites permitidos para el análisis TCLP por la EPA (EPA, 1992)⁷

Elemento	Suelo A (mg/kg)	Suelo A (mg/l)	EPA (mg/l)
Cu	9,30	0,46	**
Zn	1949,41	97,47	**
As	0,89	0,04	5
Cd	13,02	0,65	0,11
Pb	40,61	2,03	0,75

El análisis TCLP realizado a las muestras con suelo A reveló que las siguientes concentraciones de metales y metaloides serían liberadas al medio en caso de lixiviación (Tabla 28):

Tabla 28. Resultados del análisis TCLP del suelo A

Muestra	Concentración					
	Ni (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	As (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Pb (mg/kg)
A0	0,0	10,6	2011	1,0	13,4	46,1
A1	0,0	1,2	1437	2,1	7,2	14,5
A2	0,4	2,2	1251	1,9	4,1	2,2
A3	0,0	1,5	1488	2,5	6,3	9,4
A4	0,0	4,8	1703	1,2	10,9	38,5
A5	0,0	1,8	1553	2,3	8,3	13,7
A6	0,0	8,1	2019	1,4	11,6	38,1
A6B	0,0	3,3	1556	1,6	9,6	12,8

⁷ Los caracteres ** indican que la EPA no determinó límites para esos elementos

Analizando los resultados expuestos en la Tabla 28, puede afirmarse que las enmiendas orgánicas han inmovilizado, en la mayoría de los casos, los siguientes elementos: Zn, Cu, Cd y Pb. Por su parte, el As y el Ni (en la muestra con compost lodos), han incrementado su disponibilidad en el suelo. A continuación, se estudia de forma detallada la evolución de cada elemento.

Níquel (Ni)

De acuerdo con los resultados, el níquel solo lixivia en la muestra A2, la cual contiene compost de lodos como tratamiento (Figura 48). Una posible explicación a este resultado es que la interacción del compost de lodos con el suelo muestreado resulte en la lixiviación de níquel.

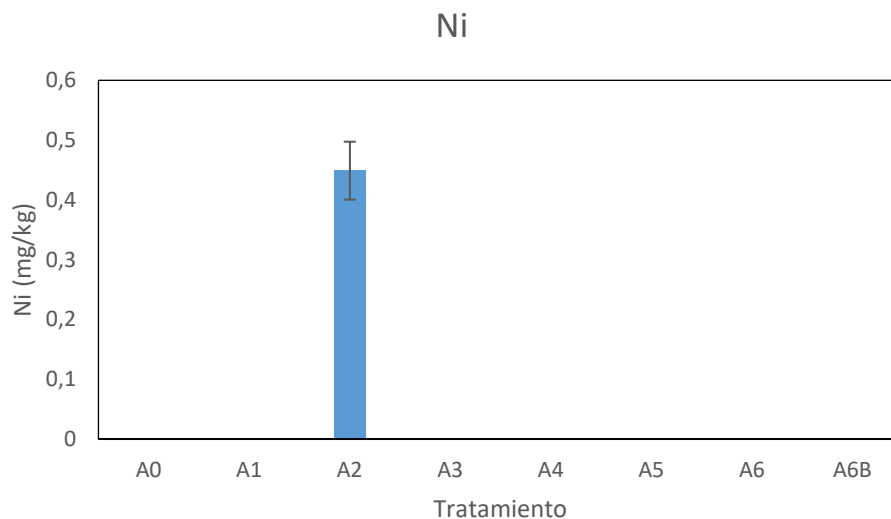


Figura 48. Ni (mg/kg) en análisis TCLP del suelo A

Arsénico (As)

El arsénico presenta el peor comportamiento de acuerdo con el análisis TCLP. En comparación con el control, en todas las muestras se produjo una movilización de este metaloide (Figura 49). El mayor aumento de concentración respecto al control se produjo en la muestra con vermicompost (A3), en la que la concentración de arsénico es de 2,52 mg por kg de suelo, lo que equivale a 0,13 mg/l. Por tanto, ni siquiera en el peor de los resultados se supera el límite EPA.

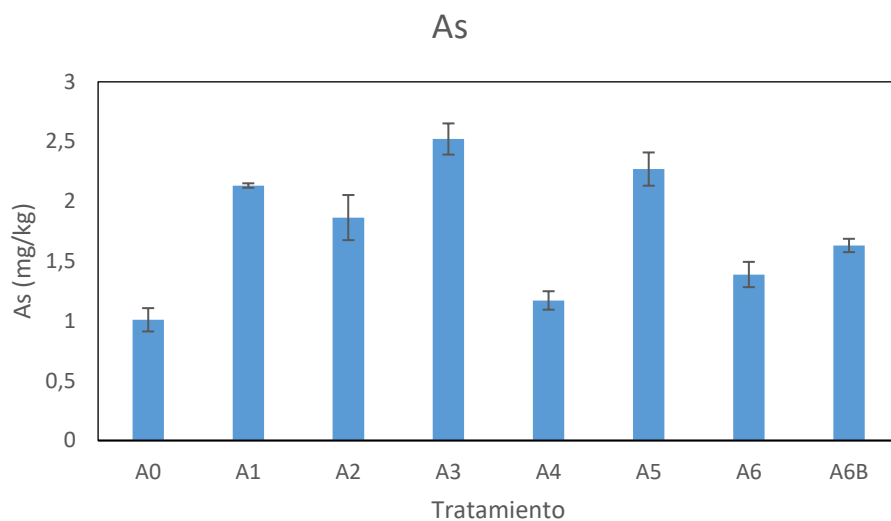


Figura 49. As (mg/kg) en análisis TCLP del suelo A

Zinc (Zn)

La concentración de zinc disponible tras lixiviación disminuye en todas las muestras a excepción de la muestra A6, es decir, el suelo con 0,5% de hidrochar, en la que no se produce una variación notable (Figura 50). El mejor resultado se obtiene en la muestra A2 (tratamiento con compost de lodos).

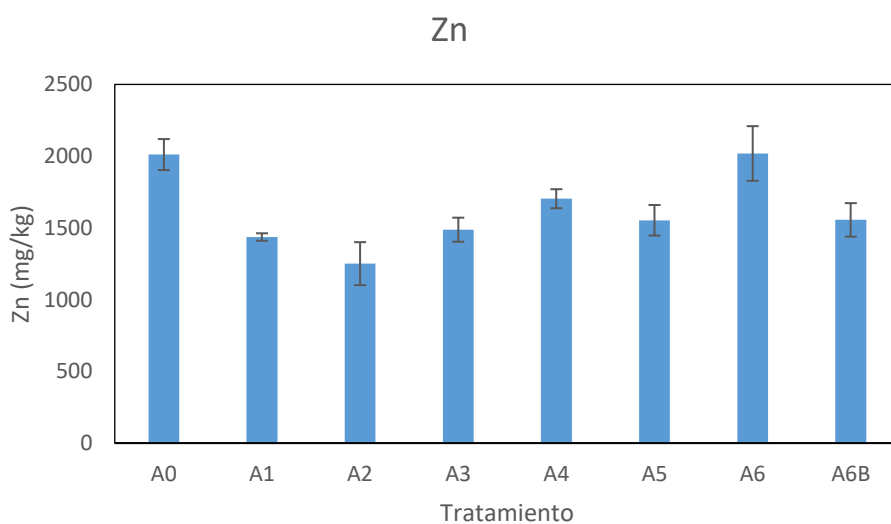


Figura 50. Zn (mg/kg) en análisis TCLP del suelo A

Cobre (Cu)

La inmovilización del cobre con las enmiendas orgánicas se aprecia de forma muy notoria, especialmente en los tres tipos de compost (vegetal, de lodos y vermicompost) y en el vermichar (Figura 51).

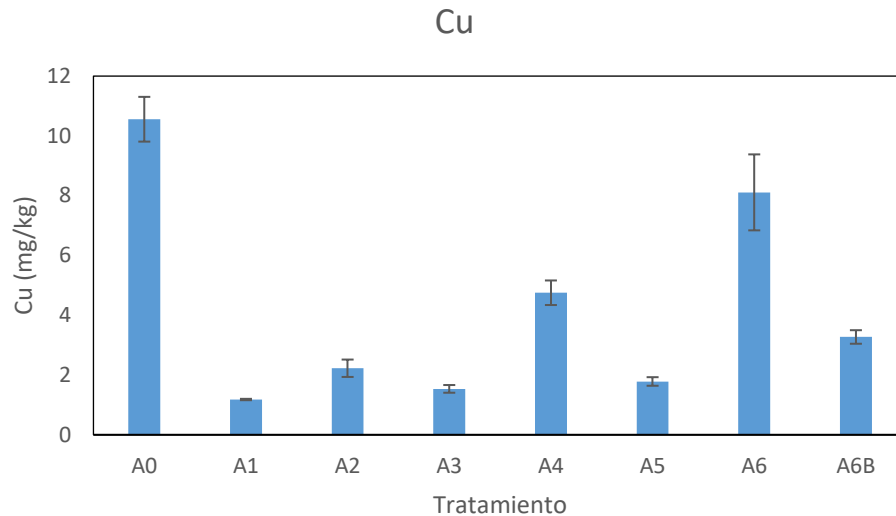


Figura 51. Cu (mg/kg) en análisis TCLP del suelo A

Cadmio (Cd)

Al igual que en el caso del cobre, se consiguió una mayor inmovilización del cobre en todos los tratamientos empleados, destacando igualmente los tratamientos de compost y vermichar (Figura 52).

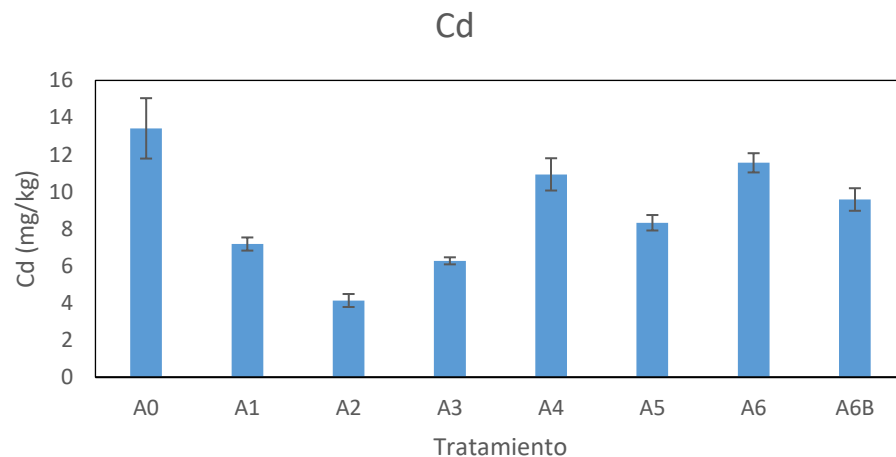


Figura 52. Cd (mg/kg) en análisis TCLP del suelo A

Plomo (Pb)

En comparación con la muestra de control (Figura 53), la concentración de plomo lixiviable disminuye radicalmente con los tratamientos con composts (A1, A2 y A3), con vermichar (A5) y con dosis del 2,5% de hidrochar (A6B).

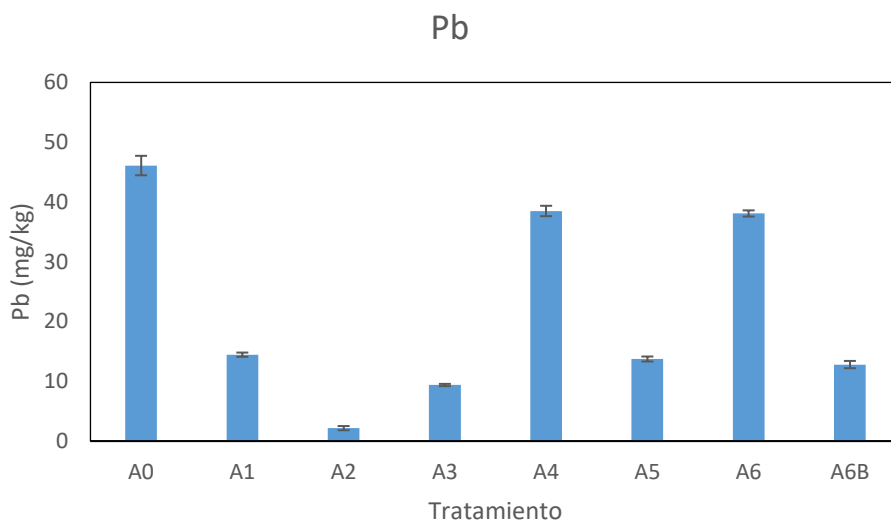


Figura 53. Pb (mg/kg) en análisis TCLP del suelo A

En los tratamientos citados, las concentraciones de plomo en mg/l son las siguientes: 0,72 en la muestra A1; 0,11 en la muestra A2; 0,47 en la muestra A3; 0,69 en la muestra A5; y 0,64 en la muestra A6B. Por tanto, todas ellas se encuentran por debajo del límite de 0,75 mg/l establecido para el plomo.

Suelo O

El suelo minero fue sometido al análisis TCLP, obteniéndose los valores de la Tabla 29. El único metal cuya concentración puede compararse con los límites establecidos por la EPA es el cadmio. Según este límite, el suelo O no supera la concentración de cadmio determinada.

Tabla 29. Comparación de concentraciones de elementos en el suelo O con los límites permitidos para el análisis TCLP por la EPA (EPA, 1992)

Elemento	Suelo O (mg/kg)	Suelo O (mg/l)	EPA (mg/l)
Ni	2,23	0,11	**
Cu	189,16	9,46	**
Zn	15,95	0,80	**
Cd	0,49	0,02	0,11

El análisis TCLP de las muestras con suelo O indicó que las siguientes concentraciones lixiviables de metales y metaloides son las siguientes (Tabla 30):

Tabla 30. Resultados del análisis TCLP del suelo O

Muestra	Concentración			
	Ni (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	As (mg/kg)
O0	1,6	163,5	12,1	0,0
O1	1,7	30,7	6,2	1,0
O2	1,2	36,0	18,5	5,1
O3	1,0	37,9	13,7	6,2
O4	1,5	115,6	12,1	0,6
O5	1,0	44,8	10,7	3,5
O6	1,7	130,9	12,6	0,9
O6B	1,9	95,7	11,9	2,9

Los resultados del análisis TCLP en el caso del suelo de O no han sido tan positivos como los obtenidos para el suelo de Avilés, pues no todos los tratamientos inmovilizaron de forma significativa los elementos detectados. Por ello, es necesario prestar atención al comportamiento de cada enmienda con respecto a cada metal o metaloide.

Níquel (Ni)

El suelo inicial de O, al contrario que en el caso anterior, contiene níquel. Por ello, es entendible que este metal pueda lixiviar. Con respecto a la muestra de control (Figura 54), presentan una mayor inmovilización de níquel las muestras O2 (compost de lodos), O3 (vermicompost) y O5 (vermichar).

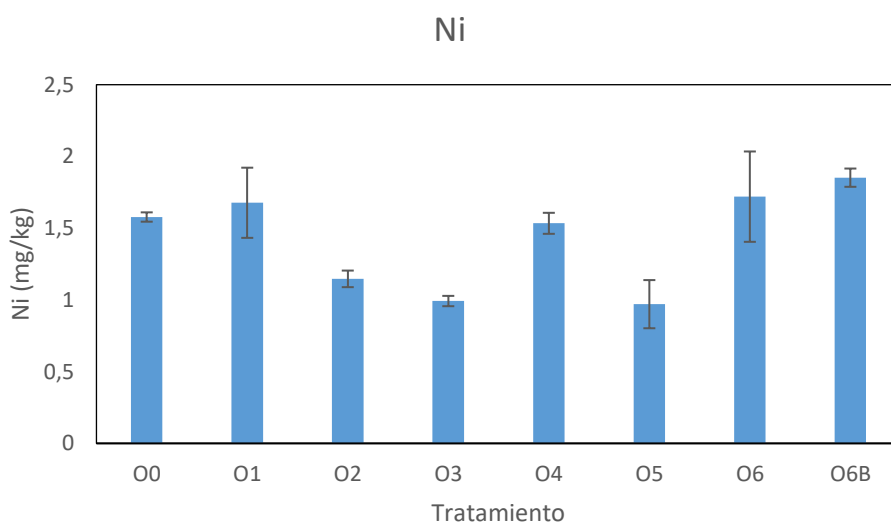


Figura 54. Ni (mg/kg) en análisis TCLP del suelo O

Zinc (Zn)

En el caso del zinc, únicamente el compost vegetal (muestra O1) produce una inmovilización notoria de este metaloide (Figura 55).

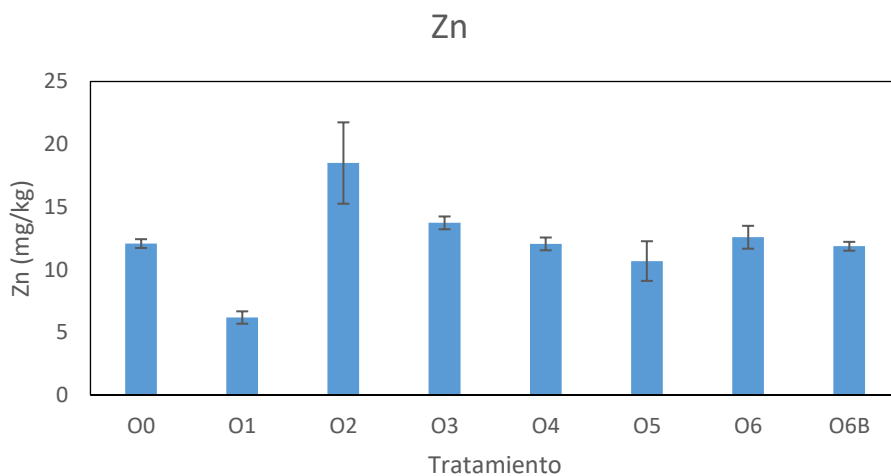


Figura 55. Zn (mg/kg) en análisis TCLP del suelo O

Cobre (Cu)

En este análisis, los mejores resultados se obtuvieron en la inmovilización del cobre (Figura 56). Todos los tratamientos parecen ser efectivos, destacando una vez más el conjunto formado por los tres tipos de compost (O1, O2 y O3) y el vermichar (O5).

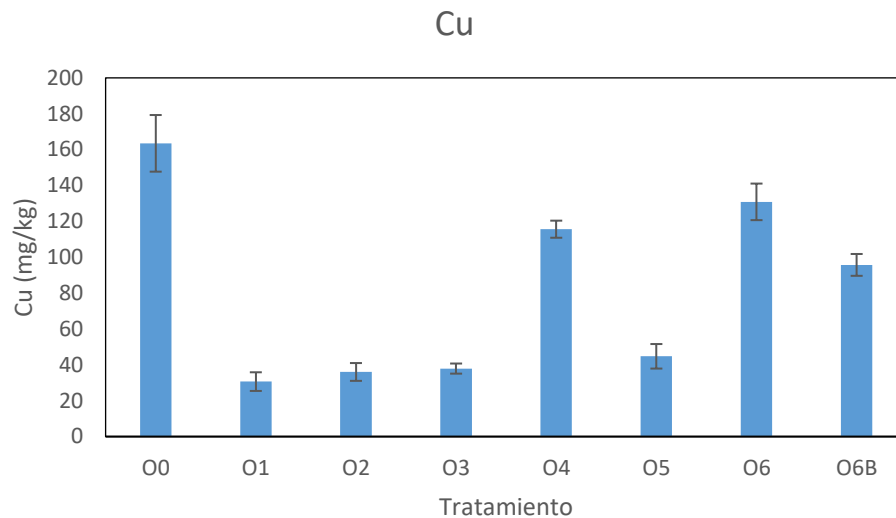


Figura 56. Cu (mg/kg) en análisis TCLP del suelo O

Arsénico (As)

Al igual que en el suelo de Avilés, los tratamientos orgánicos no parecen efectivos en la inmovilización del arsénico (Figura 57). En este caso, se produce un aumento de la lixiviación de As en todas las muestras, especialmente en los casos del compost de lodos (O2) y del vermicompost (O3). A pesar de este incremento de disponibilidad, no se supera el límite EPA de 5 mg/l de arsénico.

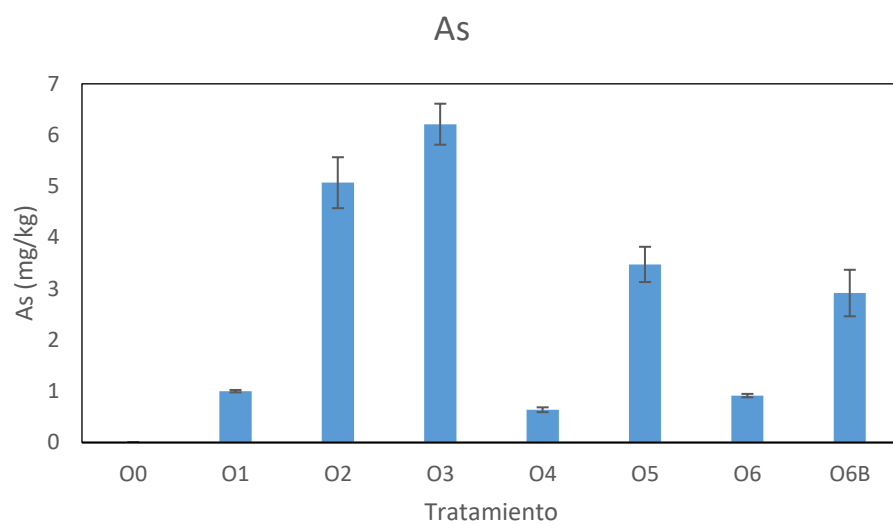


Figura 57. As (mg/kg) en análisis TCLP del suelo O

6. Conclusiones y perspectivas de futuro

A lo largo de la historia, la práctica de diversas actividades mineras e industriales, entre otras, y su escasa regulación en lo que atañe a la contaminación de terrenos han resultado en la degradación de la calidad de numerosos emplazamientos. Esta degradación puede suponer en ocasiones graves riesgos para la salud humana y ambiental. Dentro de España los focos de contaminación de suelos principales están en Asturias, País Vasco, Madrid y la Costa de Levante producto de la mayor actividad industrial que ha tenido lugar en estas zonas.

Afortunadamente, desde finales del siglo XX se han establecido leyes a nivel nacional e internacional para regular las actividades potencialmente contaminantes y se han desarrollado distintas metodologías para la recuperación de suelos contaminados. Actualmente, las técnicas de mayor interés son las denominadas como “soluciones basadas en la naturaleza”.

Siguiendo esta filosofía, en este Trabajo Fin de Máster se propuso un estudio sobre la aplicación de enmiendas orgánicas (compost vegetal, compost de lodos, vermicompost, biochar, vermichar e hidrochar) en la remediación de un suelo contaminado con diésel y en la inmovilización de metales y metaloides en dos suelos, uno industrial (suelo A) y el otro minero (suelo O). El empleo de enmiendas orgánicas se justifica en la búsqueda de mitigar la problemática de los suelos degradados a la vez que se fomenta la economía circular, pues dichas enmiendas se obtienen a partir de residuos. En los siguientes apartados se recogen las conclusiones de ambos experimentos, así como las posibilidades para futuras líneas de investigación que derivan de este trabajo.

6.1 Landfarming

El ensayo de landfarming a pequeña escala consistió en simular y evaluar la remediación de un suelo contaminado por hidrocarburos mediante la aplicación de distintas enmiendas orgánicas. El objetivo principal de este experimento fue determinar con qué tratamiento se

consigue degradar el mayor porcentaje de hidrocarburos. Además, también se investigó qué modificaciones inducen las enmiendas orgánicas en la calidad del suelo.

Para analizar la evolución de la degradación del diésel añadido al suelo se midió el TPH (*Total Petroleum Hydrocarbons*) de todas las muestras en el tiempo inicial, en el tiempo intermedio (90 días) y en el tiempo final (180 días). A partir de estos datos, se estableció el porcentaje de degradación final. En la muestra control, es decir, aquella a la que no se le aplicó un tratamiento, el porcentaje de degradación al cabo de 180 días fue de 48,4%. Se constató que en la mayoría de muestras tratadas el porcentaje de degradación fue superior al de la muestra control. Los mejores resultados se obtuvieron con el compost vegetal (%Degradación=65,2), con el compost de lodos (%Degradación=63,5) y con el hidrochar al 0,5% (%Degradación=61,9) aunque este último resultado no es muy fiable.

En cuanto a la evaluación de la calidad del suelo, se constató que las enmiendas orgánicas no alteran de forma significativa parámetros como el pH, la conductividad eléctrica y el potencial redox. Otros análisis efectuados fueron el índice de germinación (IG), el análisis elemental CHNS y el fraccionamiento de carbono. Del ensayo de germinación, el cual permite estimar la toxicidad del medio, se consiguieron resultados positivos en las muestras que contenían hidrochar (para la dosis de 0,5% de hidrochar el IG fue 63%; para la dosis de 2,5%, IG=42%) y vermichar (IG=44%), pues sus índices de germinación fueron superiores al del control (IG=41%). Por otro lado, a través del análisis CHNS se calculó la relación C/N, cuyo valor se considera un índice de la calidad del suelo y es aceptable en biorremediación si varía entre 10 y 50 aproximadamente. La relación C/N del control era igual a 190 y con la aplicación del vermichar y del compost de lodos, se rebajó a 54 y 62, respectivamente. Con el fraccionamiento de carbono, a su vez, se estableció que el compost de lodos y el hidrochar en ambas dosis aumentan el porcentaje de carbono lábil, lo que fomenta una mayor actividad de microorganismos.

Con los datos expuestos se concluye que el compost vegetal y de lodos y el hidrochar (a bajas dosis) favorecen notablemente la degradación de hidrocarburos en el suelo. Además, el compost de lodos y el hidrochar al 0,5% también presentan buenos resultados en análisis

como el CHNS y el índice de germinación, respectivamente. Por tanto, ambos podrían ser buenas opciones que considerar para la remediación de emplazamientos contaminados por hidrocarburos. No obstante, el compost de lodos es un producto más conocido y comercializado que el hidrochar, el cual curiosamente parece ofrecer mejores resultados a bajas concentraciones. Por este motivo, la aplicación del compost de lodos podría ser más recomendable actualmente.

6.2 Inmovilización de contaminantes

Para estudiar cómo influye la aplicación de enmiendas orgánicas en la inmovilización de potenciales elementos contaminantes en suelos se prepararon macetas con muestras de suelo A y O mezclados con los siete tratamientos citados. Los resultados clave de este experimento se determinaron mediante dos extracciones, una con agua destilada y la otra con TCLP. Por otro lado, al igual que en el ensayo de landfarming, también se realizaron otras mediciones, como la actividad enzimática o el fraccionamiento de carbono.

La extracción con agua destilada realizada a las macetas con suelo industrial A determinó que los siguientes elementos se encontraban disponibles: Ni, Cu, Zn, As, Cd, Hg y Pb. De forma genérica, no se obtuvieron resultados positivos en la disminución de la concentración de Ni, Cu, Zn y As en las muestras con enmiendas, pues en ellas se midieron mayores concentraciones de estos elementos que en la muestra control. Contrariamente, sí se observaron reducciones en la disponibilidad de Cd, Hg y Pb en los suelos tratados con enmiendas tipo compost y con vermichar. En el suelo O, se hallaron concentraciones de Ni, Cu, Zn y As. Al igual que en el suelo A, las enmiendas orgánicas no inmovilizaron estos metales. Cabe señalar que en ambos suelos el hidrochar al 2,5% fue el tratamiento que más incrementó la disponibilidad de los elementos medidos, por lo que su aplicación requiere especial precaución.

Los resultados de la extracción TCLP de las muestras con suelo A, a excepción del caso del As, fueron en general muy positivos, pues la lixiviación de Cu, Zn, Cd y Pb se redujeron en todas las macetas con tratamiento. De entre ellos, las mayores disminuciones se consiguieron en las muestras con los tres tipos de compost (vegetal, de lodos y

vermicompost). Además, el suelo inicial casi triplicaba las concentraciones de Pb permitas por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de EE.UU. y con la aplicación de las enmiendas, las concentraciones se situaban por debajo del límite establecido. En el caso del suelo minero O, todas las enmiendas orgánicas respondieron bien en la inmovilización del Cu y de forma negativa en la del As. La lixiviación del Ni fue menor que la de la muestra control en los suelos con compost lodos, vermicompost y vermichar; mientras que la del Zn disminuyó en las muestras con compost vegetal y vermichar.

En relación con la caracterización de otros parámetros analizados, se destaca que los tratamientos no modificaron sustancialmente el pH ni el potencial redox en ninguno de los dos suelos. Lo mismo ocurrió en la medición de la conductividad eléctrica, si bien las muestras con compost lodos y vermicompost sí presentaron mayores conductividades en ambos casos.

Mediante la cuantificación de las actividades enzimáticas en el caso del suelo industrial, se observó que, en general, las enmiendas orgánicas fomentan las actividades de la deshidrogenasa, la β -glucosidasa y la fosfatasa. En las muestras con compost de lodos y con 2,5% de hidrochar las actividades medidas de todas las enzimas fueron mayores que las del control, incluyendo la actividad de la ureasa. En el suelo O, también se apreció este resultado en las muestras con vermicompost y con hidrochar al 2,5%.

Finalmente, en el fraccionamiento de carbono de las muestras con ambos suelos se apreció el mismo comportamiento. Las enmiendas tipo compost inducen un mayor aumento del carbono orgánico total (TOC) en comparación con los otros tratamientos. No obstante, en las muestras con hidrochar, en dosis de 0,5% y 2,5%, el porcentaje de carbono lábil es superior. A su vez, es de interés señalar el elevado porcentaje de carbono recalcitrante presente en las muestras con biochar, pues dicho hecho pone de manifiesto el potencial de esta enmienda para actuar como un sumidero de CO₂.

En base a los resultados obtenidos, se concluye que los tratamientos de tipo compost son los que mejor responden en la inmovilización de metales como el Cd, el Pb y el Hg. Contrariamente, en el caso de la inmovilización de elementos como el Ni o el As, ninguno

de las enmiendas proporcionó resultados favorables. Estos fenómenos ponen de manifiesto que no existe un tratamiento o solución universal para los suelos contaminados, sino que cada caso debe estudiarse de forma individual, determinándose previamente qué elementos se quiere inmovilizar y el comportamiento particular de cada enmienda. Es decir, si un emplazamiento presenta elevadas concentraciones de Pb, la aplicación de compost de lodos resulta apropiada; mientras que, si la contaminación está motivada por exceso de Ni, esta enmienda puede incluso aumentar la concentración de este metal.

6.3 Perspectivas de futuro

Una vez finalizado el estudio de la inmovilización de metales y metaloides en el suelo mediante la aplicación de enmiendas orgánicas, se decidió dar continuidad al ensayo mediante la plantación de *Medicago sativa* (comúnmente denominada alfalfa) en el suelo de las macetas. Esta nueva etapa de investigación tiene dos objetivos fundamentales: por un lado, analizar el efecto combinado de la inmovilización de contaminantes con la fitorremediación; por otro, comprobar si se fomenta el crecimiento de la vegetación con las enmiendas aplicadas.

Como se describió en la introducción de este TFM, una de las técnicas naturales empleadas para la recuperación de emplazamientos contaminados es la fitorremediación, o lo que es lo mismo, aprovechar el potencial de ciertas especies vegetales para inmovilizar, extraer y acumular distintos elementos contaminantes. En un futuro próximo, se someterán a las plantas de alfalfa y a las muestras de suelo a diferentes análisis para comprobar la evolución de la fitorremediación. Por ejemplo, las plantas serán digeridas químicamente en el laboratorio para analizar qué metales han absorbido y el suelo será sometido nuevamente a las extracciones con agua destilada y TCLP para comprobar si existen diferencias en la disponibilidad de los metales y metaloides.

Para estudiar la influencia de las enmiendas orgánicas en el crecimiento de vegetación se procedió de la siguiente manera: en cada maceta se contabilizó el número de plantas que germinaron, las que seguían vivas y la longitud de estas. Seguidamente, se calculó el índice de supervivencia, dividiendo el número de plantas vivas entre el total que germinaron en

un principio, y la longitud media de las plantas. Finalmente, con la finalidad de comparar los resultados obtenidos con los distintos tratamientos, se determinó el índice de crecimiento (I.C.):

$$I.C. = N^{\circ} \text{ plantas germinadas} * \text{Índice de supervivencia} * \text{Longitud media}$$

Así, los tratamientos con mayor índice de crecimiento presentan mayor número de plantas germinadas y de mayor longitud. A continuación, se exponen los I.C. medios de cada tratamiento en los suelos A y O transcurridos 3 meses desde la plantación de las semillas, mientras que los datos específicos de cada maceta se recogen en el Anexo I.

Suelo A

El índice de crecimiento medio en las muestras con suelo industrial A fueron los siguientes (Figura 58):

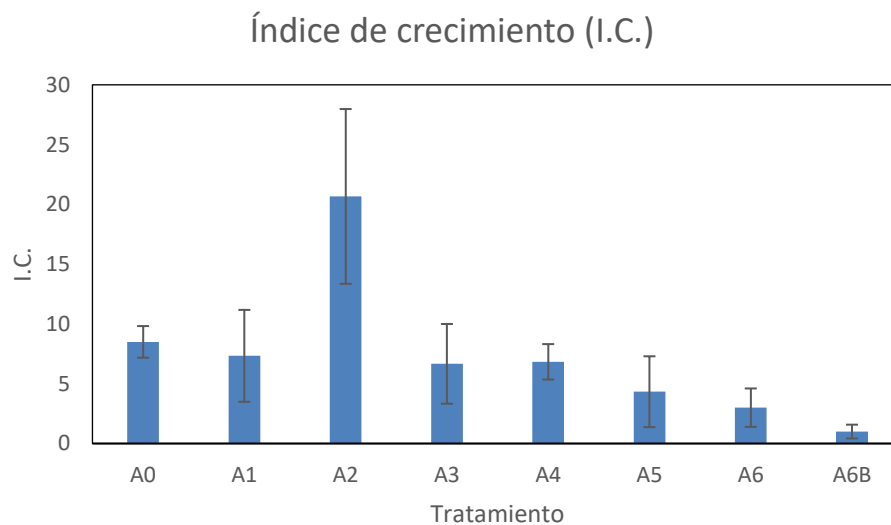


Figura 58. Índice de crecimiento en las muestras con suelo A

De acuerdo con el índice de crecimiento medio, a excepción del compost de lodos (A2), las enmiendas orgánicas no parecen fomentar el crecimiento de la vegetación, pues presentan un I.C. inferior al control (A0). Entre los tratamientos aplicados, el hidrochar en ambas dosis (A6, A6B) presenta los I.C. más bajos. Por su parte, la muestra con compost de lodos sí

ofrece una notable mejoría en el crecimiento y germinación de la especie estudiada. Las Figuras 59 y 60 ilustran el crecimiento de alfalfa en las macetas con suelo A.



Figura 59. Vista general de las macetas con suelo A



Figura 60. Macetas con suelo A tratado con compost lodos (A2) y vermicompost (A3)

Suelo O

Las macetas con suelo minero O presentaron los siguientes índices de crecimiento (Figura 61):

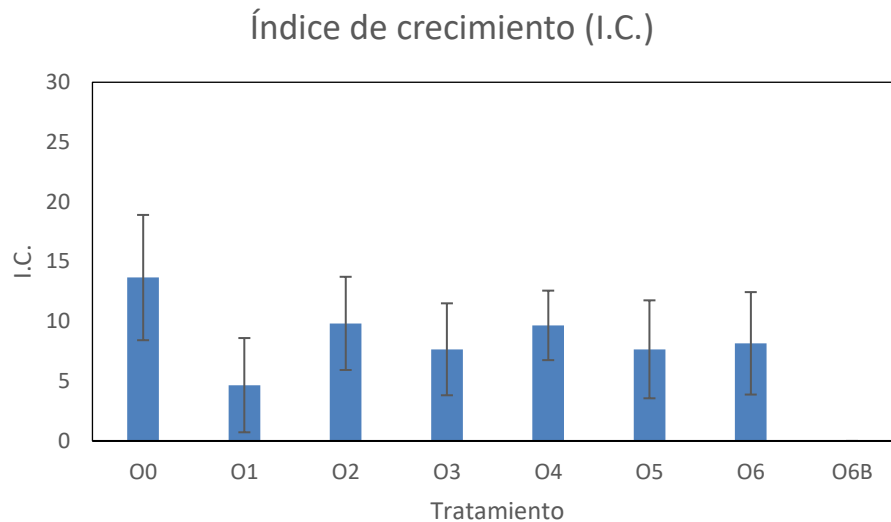


Figura 61. Índice de crecimiento en las muestras con suelo O

En las macetas con suelo minero O se aprecia un comportamiento similar al observado en el caso del suelo A: los índices de crecimiento son menores en las muestras con tratamientos orgánicos. La muestra con compost vegetal (O1) presenta el índice de crecimiento más bajo, dado que para la muestra de suelo con 2,5% de hidrochar (O6B) solo pudo analizarse una maceta y este resultado puede no ser representativo. Imágenes de las macetas con suelo minero se muestran en las Figuras 62 y 63.



Figura 62. Vista general de las macetas con suelo O



Figura 63. Macetas con suelo O sin tratamiento (00), con compost vegetal (01) y con compost lodos (02)

7. Bibliografía

- Aguilar, M. G., Alfaro, M. R, Martin, B. C., Ponce de León, D., Font Vila, L. (2015). Carbono lábil como un indicador de cambios en dos suelos bajo diferentes usos. *Cultivos Tropicales*, 36(3), 64-70.
- Baragaño, D., Alonso, J., Gallego, J. R., Lobo, M. C., & Gil-Díaz, M. (2020a). Zero valent iron and goethite nanoparticles as new promising remediation techniques for As-polluted soils. *Chemosphere*, 238, 124624.
- Baragaño, D., Forján, R., Fernández, B., Ayala, J., Afif, E., & Gallego, J. L. R. (2020b). Application of biochar, compost and ZVI nanoparticles for the remediation of As, Cu, Pb and Zn polluted soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(27), 33681-33691. doi:10.1007/s11356-020-09586-3
- Baragaño, D., R. Gallego, J. L., & Forján, R. (2021a). Comparison of the effectiveness of biochar vs. magnesite amendments to immobilize metals and restore a polluted soil. *Environmental Geochemistry and Health*, 43(12), 5053-5064. doi:10.1007/s10653-021-00981-4
- Baragaño, D., R. Gallego, J. L., & Forján, R. (2021b). Short-term experiment for the in situ stabilization of a polluted soil using mining and biomass waste. *Journal of Environmental Management*, 296 doi:10.1016/j.jenvman.2021.113179
- Bruce, R. C., Rayment, G. E. (1982). Analytical methods and interpretations used by the Agricultural Chemistry Branch for Soil and Land Use Surveys. Queensland Departamento of Primary Industries. Boletín QB8 (2004), Indooroopilly, Queensland.
- Caravaca, F., Masciandro, G., Ceccanti, B. (2002). Land use in relation to soil chemical and biochemical properties in a semiarid Mediterranean environment. *Soil and Tillage Research*.

- Caron, V. C., Graças, J. P., Castro, P. D. C. (2015). Condicionadores do solo: ácidos húmicos e fúlvicos. *Piracicaba: ESALQ/USP*.
- Cooper, J.M., Warman, P.R. (1997). Effect of three fertility amendments on soil dehydrogenase activity, organic carbon and pH. *Canadian Journal of Soil Science*.
- Environmental Protection Agency. (1992). Method 1311: Toxicity Characteristic Leaching Procedure.
- Ferreiro, J. P. (2006). Propiedades bioquímicas de suelos de prado de Galicia. Universidad de Santiago de Compostela.
- Gay, L. M. (2015). Influencia de la materia orgánica del suelo en el secuestro de carbono. Biochar, una estrategia potencial.
- Gil-Díaz, M., Luchsinger-Heitmann, A., García-Gonzalo, P., Alonso, J., & Lobo, M. C. (2021). Selecting efficient methodologies for estimation of As and Hg availability in a brownfield. *Environmental Pollution*, 270, 116290.
- González, D., Almendros, P., Álvarez, J.M. (2009). Métodos de análisis de elementos en suelos: disponibilidad y fraccionamiento. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3094237>
- Hazelton, P. (2007). Interpreting soil test results, what do all the numbers mean?. CSIRO Publishing.
- Ibáñez, J.J. (2008). Biología y ecología del suelo, biomasa y necromasa en los suelos: raíces y materia orgánica, componentes, estructuras y procesos en los suelos. Un universo bajo nuestros pies. <https://www.madrimasd.org/blogs/universo/2008/01/28/83434>
- Kandeler, E., Kampichler, O., Horak, C. (1996). Influence of heavy metal son the functional diversity of soil microbial communities. *Biology and Fertility of Soils*.
- Nannipieri, P., Muccini, L., Ciardi, C. (1983). Microbial biomass and enzyme activities: production and persistence. *Soil Biology and Biochemistry*.

- Rihm, A.; Arellano, J.; Sancha, A. M. (1998, 1-5 de noviembre). Uso de test de lixiviación para caracterización de residuos del área minera y reflexiones sobre gestión de residuos peligrosos en América Latina. Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Lima, Perú.
- Schumacher, B. A. (2002). Methods for the determination of total organic carbon (TOC) in soils and sediments.
- Soto-Mora, E. S., Hernández-Vázquez, M., Luna-Zendejas, H. S., Ortiz-Ortiz, E., & García-Gallegos, E. (2016). Evaluación del contenido de materia orgánica en suelos agrícolas y su relación carbono/nitrógeno. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 3(5), 98-102.
- Speir, T.W., Ross, D.J. (1978). Soil phosphatase and sulphatase. *Soil Enzymes*. Academic Press, Londres.
- Taylor, J.P., Wilson, M., Mills, S., Burns, R.G. (2002). Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in Surface soils and subsoils using various techniques. *Soil Biology and Biochemistry*.
- Tortosa, G. (2013). Índice de Germinación de Zucconi, la prueba más usada para saber la madurez de un compost. *Compostando Ciencia*.
<http://www.compostandociencia.com/2013/12/test-de-zucconi-o-indice-de-germinacion-de-un-compost-html/>
- Von Mersi, W., Schinner, F. (1991). An improved and accurate method for determining the dehydrogenase activity of soils with idonitrotetrazolium chloride. *Biology and Fertility of Soils*.
- Yagüe, J. L. F. (1994). "El suelo y los fertilizantes". 4ª edición. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Instituto Nacional de Reforma y Desarrollo Agrario.
- Zucconi, F., Monaco, A., Forte, M., De Bertoldi, M. (1985). Phytotoxins during the stabilization of organic matter. In *Composting of agricultural and other wastes*; Gasser, J.K.R., Ed.; Elsevier: London.

Anexos

Anexo I. Datos del crecimiento de vegetación en las macetas con suelo A y O

→ Datos sobre el crecimiento de *Medicago sativa* en las macetas con suelo A

Tabla 31. Datos necesarios para determinar el índice de crecimiento en las macetas con suelo A

Muestra	Nº germinadas	Nº sobrevivientes	Índice de supervivencia	Longitud media (cm)	Índice de crecimiento
A01	3	3	1,00	3,67	11,00
A02	2	2	1,00	3,25	6,50
A03	4	3	0,75	2,67	8,00
A11	0	0	0,00	0,00	0,00
A12	3	1	0,33	13,00	13,00
A13	3	3	1,00	3,00	9,00
A21	3	3	1,00	5,33	16,00
A22	4	4	1,00	8,75	35,00
A23	2	1	0,50	11,00	11,00
A31	1	1	1,00	10,00	10,00
A32	1	0	0,00	0,00	0,00
A33	2	1	0,50	10,00	10,00
A41	1	1	1,00	4,00	4,00
A42	3	2	0,67	3,75	7,50
A43	3	2	0,67	4,50	9,00
A51	1	1	1,00	3,00	3,00
A52	2	0	0,00	0,00	0,00
A53	2	2	1,00	5,00	10,00
A61	2	2	1,00	2,75	5,50
A62	2	0	0,00	0,00	0,00
A63	3	2	0,67	1,75	3,50
A6B1	1	1	1,00	2,00	2,00
A6B2	0	0	0,00	0,00	0,00
A6B3	1	1	1,00	1,00	1,00

→ Datos sobre el crecimiento de *Medicago sativa* en las macetas con suelo O

Tabla 32. Datos necesarios para determinar el índice de crecimiento en las macetas con suelo O

Muestra	Nº germinadas	Nº sobrevivientes	Índice de supervivencia	Longitud media (cm)	Índice de crecimiento
O01	1	1	1,00	15,00	15,00
O02	3	3	1,00	7,33	22,00
O03	1	1	1,00	4,00	4,00
O11	1	0	0,00	0,00	0,00
O12	2	2	1,00	6,25	12,50
O13	1	1	1,00	1,50	1,50
O21	2	2	1,00	8,25	16,50
O22	2	1	0,50	10,00	10,00
O23	2	2	1,00	1,50	3,00
O31	1	1	1,00	12,00	12,00
O32	1	1	1,00	11,00	11,00
O33	0	0	0,00	0,00	0,00
O41	1	1	1,00	9,00	9,00
O42	2	1	0,50	5,00	5,00
O43	2	2	1,00	7,50	15,00
O51	2	1	0,50	14,00	14,00
O52	1	1	1,00	9,00	9,00
O53	0	0	0,00	0,00	0,00
O61	1	1	1,00	10,00	10,00
O62	4	4	1,00	3,63	14,50
O63	1	0	0,00	0,00	0,00
O6B	0	0	0,00	0,00	0,00

Anexo II. Protocolo de los análisis químicos

→pH, conductividad y potencial redox

La medición de estos tres parámetros se realizó de la misma forma, aunque se emplearon distintos equipos. Se pesaron 5 g de muestra y se le añadió 12,5 ml de agua destilada. Se agitaron las muestras durante 20 minutos y se procedió a la toma de datos. En el caso del pH y de la conductividad eléctrica se empleó un pHmetro. En el caso del potencial redox, un medidor Redox.

→TPH

El análisis TPH se realizó con un equipo GC-MS (Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas) en los laboratorios del Servicio Científico-Técnico de Ensayos Medioambientales en el Campus de Mieres.

→CHNS

El análisis CHNS se realizó con un analizador elemental LECO CN-2000 en los laboratorios del Servicio Científico-Técnico de Ensayos Medioambientales en el Campus de Mieres.

→Fitotoxicidad

La fitotoxicidad de las muestras de suelo se determinó usando una variación del método de Zucconi, la cual se empleó también en el estudio de Baragaño et al. (2020a). De forma resumida: 4 semillas de berro (*Lepidium Satuvum*) fueron humedecidas con 6 ml de agua destilada, en el caso de la muestra control, o con extracto de suelo, en el caso de las demás muestras, y colocadas sobre papel de filtro en el interior de placas Petri. Los extractos de suelo se obtuvieron añadiendo 50 ml de agua destilada a 60 °C a 5 g de suelo y agitando la mezcla durante 30 min. Seguidamente, se filtró el líquido con papel Whatman (Grade 541). Tras 72 h de incubación a 25°C, se determinó el Índice de Germinación (IG):

$$IG(\%) = \frac{G * L_s}{L_c}$$

Donde “G” es el porcentaje de semillas germinadas (aquellas cuya raíz es mayor de 5 mm), “Ls” es la longitud media de las raíces y “Lc”, la longitud media de las raíces en la muestra control. Todas las muestras se hicieron por triplicado.

→Actividades enzimáticas

- **Protocolo deshidrogenasa**
- **Protocolo fosfatasa y β -glucosidasa**

Los pasos a seguir son los siguientes:

Pesar 4g de suelo y añadir 25 ml de agua destilada.

Agitar 10 min en orbital a 250 rpm.

Transferir 625 μ l del suelo en suspensión a un Eppendorf, mientras la suspensión de suelo se agita con un imán.

La distribución de muestras debería seguir el siguiente esquema para un suelo S:

Sa1	Sb1	Sc1
Sa2	Sb2	Sc2
Sa control	Sb control	Sc control

De esta forma habría tres replicas biológicas (las columnas) y de cada replica biológica, dos replicas técnicas más el control que no lleva sustrato.

A los 625 μ l de suspensión se añaden 125 μ l de sustrato.

Incubar en la estufa (30 minutos en el caso de la fosfatasa, 1 hora en el caso de la β -glucosidasa).

Detener la reacción con:

- 125 μ l de CaCl_2
- 500 μ l de Trizma 100 mM pH 12

Añadir 125 μ l de sustrato a los controles

A partir de este momento la reacción es estable durante 2 horas.

Centrifugar a 1500 rpm durante 5 min.

Transferir 1 ml de sobrenadante a una cubeta para espectrofotómetro.

Calibrar al aire y medir absorbancia a 405 nm.

- **Protocolo ureasa**

Para medir la actividad enzimática de la ureasa, la metodología es la siguiente:

Pesar 4 g de suelo y añadir 25 ml de agua ionizada.

Agitar durante 10 minutos en orbital a 250 rpm.

Transferir 200 µl de la mezcla en suspensión a los Eppendorf.

Añadir en cada pocillo, excepto los controles, 160 µl de sustrato (Urea) y 600 µl de agua desionizada. En los controles añadir 750 µl de agua (600 + 150).

Homogeneizar.

Incubar durante 3 horas a 25°C.

Tras la incubación se detiene la reacción con:

- 160 µl de salicilato y deja reaccionar 3 minutos.
- 160 µl de cianurato y homogeneizar.

Incubar 30 minutos en oscuridad. Después, la reacción será estable durante 2 horas.

Centrifugar a 1500 rpm durante 5 minutos.

Calibrar al aire. Transferir 1ml a una cubeta de espectrometría y medir absorbancia a 650 nm.

→Extracción con agua destilada

Para la extracción con agua destilada, se añadió 20 ml de agua a 1 g de muestra y se agitó la mezcla durante 2 horas. Posteriormente, se filtró el líquido sobrenadante. La solución obtenida fue finalmente analizada en un equipo ICP-MS (espectrometría de masa con plasma acoplado inductivamente) en los laboratorios del Servicio Científico-Técnico de Ensayos Medioambientales en el Campus de Mieres.

→Extracción TCLP

La extracción TCLP se realizó siguiendo el Método 1311 de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA). Se mezcló 1 g de suelo con 20 ml de solución TCLP (0,1 M de ácido acético glacial y 0,0643 M NaOH, pH $4,94 \pm 0,03$) en tubos Falcon de 50 ml. La mezcla se agitó durante 18 horas a temperatura ambiente y posteriormente se centrifugó a 13.000 rpm durante 15 minutos. El sobrenadante se filtró y fue analizado en el equipo ICP-MS ya mencionado.

→Fraccionamiento de carbono

Dada la complejidad y el elevado número de etapas que requiere el fraccionamiento de carbono, el protocolo de este análisis se adjunta mediante un esquema gráfico (Figuras 64, 65 y 66).

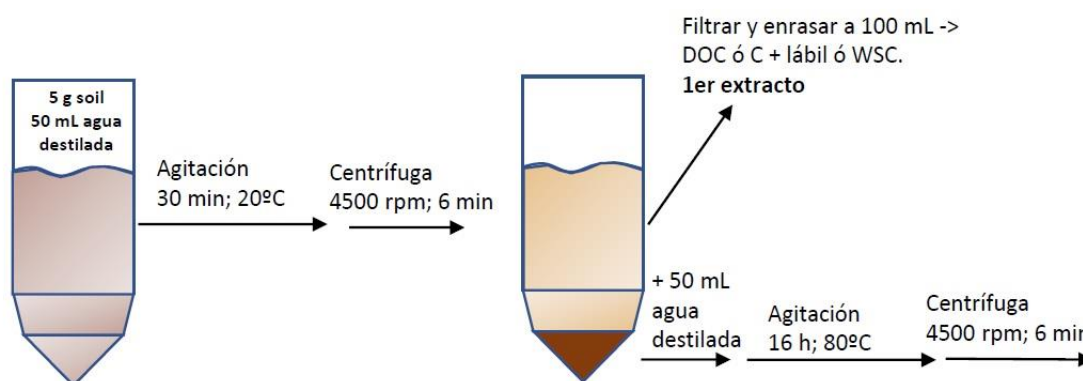


Figura 64. 1ª y 2ª etapa del protocolo del fraccionamiento de carbono

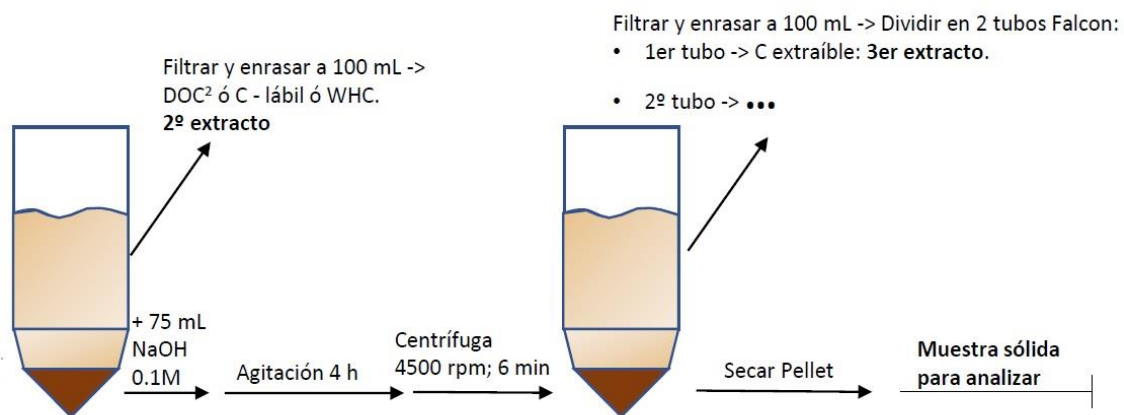


Figura 65. 3ª y 4ª etapa del protocolo del fraccionamiento de carbono

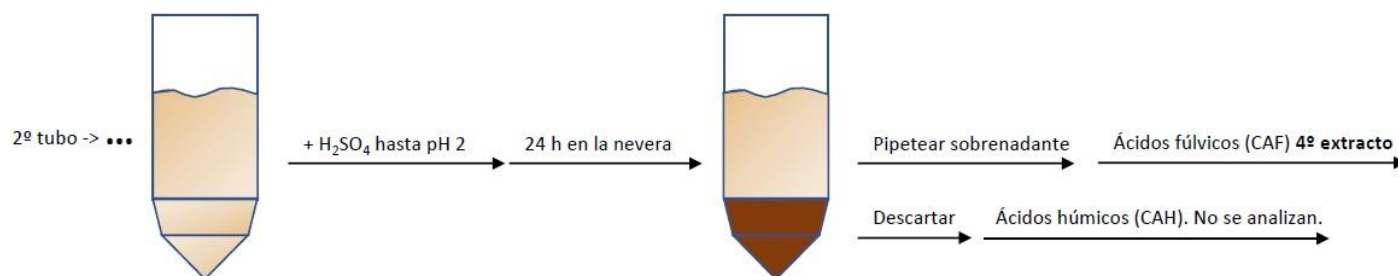


Figura 66. 5ª y 6ª etapa del protocolo del fraccionamiento de carbono