



UNIVERSIDAD DE CHILE

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas

Departamento de Química Inorgánica y Analítica

Laboratorio de Química y Bioquímica de Suelos

MEMORIA DE TÍTULO

**“EVALUACIÓN DE LA APLICACIÓN DE ENMIENDA
ORGÁNICA SOBRE LA MOVILIDAD DE FENANTRENO EN
SUELOS CONTAMINADOS CON DIÉSEL”**

CARRERA QUÍMICA

JOEL NATHAM LEIGHTON FUENTES

Una firma manuscrita en azul que parece decir 'J. Natham Leighton Fuentes'.

DIRECTOR DE TESIS
Dra. TATIANA GARRIDO

SANTIAGO - CHILE

ENERO 2024

AGRADECIMIENTOS

La etapa universitaria tiene altos y bajos, debo agradecer al destino por tener gente y poner gente en mi camino que me ha hecho el trabajo mucho más fácil de lo que podría ser. Me gustaría comenzar agradeciendo a mi familia que son una pieza fundamental en todas las decisiones que pude haber tomado y siempre he contado con su apoyo incondicional. A mi madre Marcela o “La Marce” y mi papá Luis o “Edgardo”, que sin ellos todo sería más difícil, los valores y enseñanzas que he recibido de ellos desde muy pequeño han forjado la persona que soy ahora, los quiero mucho y gracias por todo, me faltaría tiempo para agradecer todo lo que han hecho por mí.

A mi hermano Yankel que sin duda puso los primeros ladrillos para que la vida en Santiago se me hiciera mucho más fácil y bueno, la vida en general porque siempre ha sido un ejemplo para mí y culpable de gran parte de mis gustos por el anime y los videojuegos, agradecer porque siempre está atento a todo lo que necesito y junto a la Clau me dieron a mis sobrinos Damián y Angelica que llegaron sólo a entregar más felicidad a nuestra familia. A mi hermano Nicolás que ha sido mi partner desde muy pequeños y compartimos experiencias desde las maldades hasta momentos muy lindos. A mi hermana Julieta que siempre es una de las primeras en alegrarse por los logros de sus hermanos, sin duda es una persona con la que se puede contar para todo. Y mi hermano Yerik que es con el que más compartimos gustos en cuanto a anime, videojuegos y contenido jajaja “la más obvia” nomas. Pronto le va a tocar a ustedes Julieta y Yerik terminar la etapa del colegio y seguir caminos distintos donde todos estaremos para apoyarlos.

A la tía Nicole que con toda la gente que conoce me presento a una amiga “Química” en los momentos más difíciles para poder darme cuenta de que si podía terminar esta carrera universitaria.

A mi abuela la nona y al nono que siempre intentan darnos en el gusto a todos, siempre están dispuestos a ayudarnos en todo lo que necesitemos. A la Luna y a la Nina que nos entregan felicidad a toda la familia con su shows y ladridos.

Gracias a todos ellos por ser quienes son, si bien podemos tener diferencias siempre están ahí.

En segundo lugar, agradecer a mi polola Francisca Veliz Bahamondez o la kika, que sin duda es un pilar fundamental en mi vida, siempre está para contenerme en los peores momentos y acompañarme en los buenos. Todos estos años que llevamos juntos han sido de mucho aprendizaje y crecimiento, te amo mucho y gracias por todo porque sin ti todo sería más difícil.

En tercer lugar, a mis amigos que me entregó la universidad el Gabo, el Edu, el Joni y el Nico, porque sin ellos el tiempo en la carrera no sería tan bueno como lo fue.

Y finalmente a la Profe Tati que me brindó todo su tiempo en esta última etapa de mi carrera con la mejor disposición, siempre facilitándome el camino para poder cumplir con todo el proceso. Todas sus enseñanzas, conversaciones y confianza que deposito en mí, muchas gracias por todo.

ABREVIATURAS

HAP	Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos.
PM	Peso Molecular.
GC	Cromatografía de Gases.
Kow	Coefficiente de reparto octanol/agua.
FID	Detector de ionización de llama.
LC	Limite de Cuantificación.
LD	Limite de Detección.
Fh	Factor de Humedad.
R	Factor de Correlación.
DE	Desviación Estándar.
EAA	Espectroscopia de Absorción Atómica.
CIC	Capacidad de Intercambio Catiónico.
FD	Factor de Dilución.
CONAF	Corporación Nacional Forestal.
FEN	Fenantreno.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	2
ABREVIATURAS	4
RESUMEN.....	6
SUMMARY	7
1. INTRODUCCIÓN.....	10
2. HIPÓTESIS.....	16
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3. MATERIALES Y REACTIVOS.....	17
4. METODOLOGÍA.....	20
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
6. CONCLUSIONES.....	55
7. BIBLIOGRAFIA	56
7.3.5 Anexo I: Tablas.....	62
7.3.6 Anexo II: Cromatogramas.....	64

RESUMEN

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP) son compuestos orgánicos que pueden ingresar al medioambiente y generar efectos tóxicos tanto en los suelos como en los cultivos, y por consecuencia pueden afectar a los seres vivos. Las fuentes de contaminación de los HAP son la emisión de gases mediante combustión y los procesos involucrados a la industria petroquímica; sin embargo, el derrame de diésel es uno de los accidentes medioambientales que genera más impacto debido a que afecta actividades económicas como, por ejemplo, la pesca, turismo y la agricultura. Los componentes del diésel, así como también los productos generados de su combustión incompleta afectan a la agricultura, y han sido motivo de estudio por sus efectos dañinos en el ambiente, tales como a sus efectos mutagénicos y carcinogénicos en animales y también la inhibición de algunos tipos de cultivos. Uno de los HAP más conocidos y simple debido a su estructura es el fenantreno, ampliamente utilizado para determinar efectos medioambientales, sumado a que dentro de los componentes presentes en el diésel el fenantreno presenta una menor toxicidad. Este trabajo tiene como objetivo determinar los compuestos volátiles generados por la contaminación de diésel, principalmente el fenantreno, utilizando suelos agrícolas incubados con combustible para vehículos motorizados de uso particular. Para esto se realizó una caracterización fisicoquímica de los suelos de la localidad de San Vicente de Tagua tagua, Región del Libertador General Bernardo O'Higgins, zona central de Chile, a través de una incubación de los suelos de uso agrícola para simular la retención o volatilización de los contaminantes e idear una metodología para la

detección y cuantificación mediante la técnica analítica de Cromatografía de gases (GC) con detector de ionización de llama (FID).

Los resultados experimentales obtenidos de los suelos agrícolas seleccionados tienen un pH que varía en el rango de 5,90 y 7,10; textura mayormente Franco Arenoso y un promedio cercano a 8,00% de materia orgánica. Por otro lado, la caracterización de la materia orgánica utilizada se obtuvieron resultados de pH de $6,56 \pm 0,01$ y $6,22 \pm 0,01$ y un contenido orgánico de $72,9 \pm 0,5$ y $48,3 \pm 0,3$ para los biosólidos de La Farfana y los biosólidos de Melipilla, respectivamente. Se logró validar una metodología para la cuantificación del Fenantreno en solventes obteniéndose una correlación de $R^2 = 0,9958$. Se logró realizar un experimento de interacción entre la fase gaseosa-diésel-materia orgánica se evidenció que la enmienda orgánica no modificó el comportamiento de fenantreno en el sistema suelo- biosólido- diésel.

SUMMARY

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) are organic compounds that can enter the environment and generate toxic effects on soils and crops, and consequently can affect living beings. The sources of PAH contamination are the emission of gases through combustion and the processes involved in the petrochemical industry; however, one of the environmental accidents that generates the greatest impact is the oil or diesel spill, which is why economic activities directly related are affected, such as fishing, tourism and agriculture. Despite the technological evolution and

the improvement of its processes, agriculture continues to use processes that involve the use of fossil fuels such as diesel. The components of diesel, as well as the products generated from its incomplete combustion, have been studied for their harmful effects on the environment, due to their mutagenic and carcinogenic effects on animals and also the inhibition of some types of crops. One of the best known and simplest PAHs due to its structure is phenanthrene, which is widely used to determine environmental effects, in addition to the fact that among the components present in diesel, phenanthrene has a lower toxicity. The objective of this work is to determine the volatile compounds generated by diesel contamination, mainly phenanthrene, using agricultural soils incubated with fuel for private motor vehicles. For this purpose, a physicochemical characterization of the soils of San Vicente de Tagua Tagua, Libertador General Bernardo O'Higgins Region, central Chile, an incubation of agricultural soils to simulate the retention or volatilization of contaminants and to devise a methodology for detection and quantification by means of the analytical technique of gas chromatography with FID detector.

The experimental results obtained from the selected agricultural soils have a pH that varies in the range of 5.90 and 7.10; texture mostly sandy loam and an average of about 8.00% of organic matter. On the other hand, the characterization of the organic matter used obtained pH results of 6.56 ± 0.01 and 6.22 ± 0.01 and organic contents of 72.9 ± 0.5 and 48.3 ± 0.3 for the biosolids from La Farfana and the biosolids from Melipilla, respectively. A methodology for the quantification of phenanthrene in solvents was validated, obtaining a correlation of $R^2 = 0.9958$. An

interaction experiment between the gas phase - diesel - organic matter was carried out and it was evidenced that the organic amendment did not modify the phenanthrene behavior in the soil - biosolid - diesel system.

1. INTRODUCCIÓN

El crecimiento exponencial de la población ha demandado una mayor producción del sector agrícola, por consecuencia las hectáreas de terreno destinadas a esta disciplina también han ido en aumento, así como el uso de maquinaria para esta actividad. Con el paso del tiempo la tecnología empleada en la agricultura ha ido evolucionando o mejorando con relación al funcionamiento de éstas; sin embargo, en nuestro país la gran mayoría de la maquinaria agrícola usa combustible fósil, en el cual están presentes Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP), los cuales pueden ingresar al medioambiente y generar efectos tóxicos tanto en los suelos como en los cultivos, incluso pueden afectar a los seres vivos.

El suelo es un recurso natural que influye en nuestros ecosistemas de numerosas maneras y, por tanto, es un componente integral de la vida en el planeta Tierra, responsable del ciclo de los nutrientes, crecimiento de las plantas, intercambio de gases, almacenamiento de carbono y la eliminación de residuos (Kalev y Toor, 2018).

El suelo corresponde a una mezcla de rocas erosionadas, nutrientes, organismos vivos, materia orgánica, agua y aire, el cual en condiciones óptimas contiene aproximadamente un 45 % de material sólido, un 5 % de materia orgánica y un 50 % de espacios porosos que están ocupados por una proporción igual de agua y aire (Kalev y Toor, 2018).

El suelo es considerado un recurso natural finito, siendo su pérdida y degradación no reversible a escala humana, siendo la erosión del suelo un importante

problema medioambiental y agrícola en todo el mundo, la cual ha aumentado en los últimos años (Scherr y Yadav, 1996; Pimentel y Kounang, 1998).

Existen varias causas de la degradación de los suelos, una de éstas puede ser la contaminación de esta matriz con sustancias químicas, tanto de origen orgánico como inorgánicos, siendo la acumulación de estas sustancias la que puede tener un efecto negativo en los suelos tanto en su ciclo biogeoquímico, en su función de biofiltro, en la disminución cualitativa y cuantitativa del crecimiento de microorganismos, la disminución del rendimiento de los cultivos y la contaminación de las aguas superficiales (Silva y Correa, 2009).

Los derrames de petróleo o sus derivados como el diésel, ya sea en ríos, lagos, océanos, así como también en los suelos producen un daño ecológico grave, causando la muerte de la mayoría de flora y fauna del lugar, además si los derrames suceden en suelos agrícolas ocasionan un daño económico debido a la inutilización de éstos (Mendez y col., 2006).

El diésel es un combustible que contiene HAP, que corresponden a compuestos orgánicos en su mayoría incoloros, blancos o amarillo pálido formados únicamente por átomos de carbono e hidrogeno (Arey, 2003). Se puede decir que son un grupo omnipresente de varios cientos de compuestos químicamente relacionados, persistentes en el medio ambiente con estructuras diversas y una toxicidad variada. Tienen efectos tóxicos en los organismos a través de diversas acciones (Abdel, 2015).

Los HAP pueden formarse durante procesos biológicos como la combustión incompleta de fuentes naturales, como son los incendios forestales o quema de matorrales o bien pueden provenir de fuentes de combustión artificial como son las emisiones de automóviles y el humo de los cigarrillos, por esta razón es posible detectarlos en el aire, suelo o agua (Abdel, 2015).

Los componentes del diésel, así como también los productos generados de su combustión incompleta han sido motivo de estudio por sus efectos dañinos en el ambiente, debido a sus efectos mutagénicos y carcinogénicos en animales (Schwab y col., 1998; Kanaly y Harayama, 2000) y además la inhibición del crecimiento de algunas especies de cultivos (Maliszewska y Smreczak, 2000). El efecto genotóxico de los HAP incrementa a medida que aumenta el tamaño de la molécula y, en el caso del fenantreno, su persistencia media en los suelos y sedimentos puede variar entre 16 y 126 días (Shuttleworth y Cerniglia, 1995; Kanaly y Harayama, 2000).

El fenantreno formado por tres anillos de benceno fusionados (Figura 1), es el HAP no lineal más simple, por lo cual es ampliamente utilizado para determinar efectos medioambientales, sumado a que dentro de los componentes presentes en el diésel el fenantreno presenta una menor toxicidad (Centro Nacional de Información Biotecnológica, 2020).

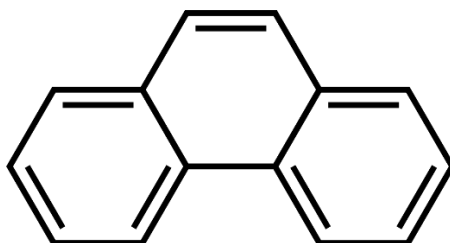


Figura 1: Estructura del fenantreno.

Este compuesto es un sólido cristalino incoloro con un olor ligeramente aromático (Tabla 1), el cual corresponde a un isómero del antraceno; sin embargo, es más estable en comparación a éste (Gutman y Stanković, 2007).

Tabla 1: Propiedades fisicoquímicas del Fenantreno (Jensen L & Centro Nacional de Información Biotecnológica 2020)

Propiedad	Valor
PM [g/mol]	178,2
Densidad [g/cm ³] (25°C)	1,179
Presión de Vapor [hPa] (20 °C)	0.0001
Solubilidad [mg/L]	1,15
Log K _{ow}	4,53

En los últimos años se ha implementado el uso de abonos o enmiendas orgánicas estas son el resultado de procesos de descomposición y mineralización de residuos vegetales, animales e industriales (guano, estiércol, biosólido, entre otros), que aplicados al suelo, pueden ayudar a mejorar las propiedades fisicoquímicas de los suelos, y de esta forma incrementar su producción, la búsqueda de alternativas de bajo costo ha llevado a la utilización de enmiendas como los biosólidos, que corresponden al residuo sólido generado como subproducto del tratamiento de aguas servidas domiciliarias (Wang y col. 2008).

La aplicación de este tipo de enmiendas ha despertado un creciente interés en el ámbito de la química ambiental y agrícola, ya que se ha descrito que además de mejorar las características de los suelos puede actuar inmovilizando contaminantes tanto orgánicos como inorgánicos, dependiendo de las características fisicoquímicas tanto del contaminante como de los suelos (Bolan y col. 2011).

En la región metropolitana de Santiago, Chile, se encuentran dos importantes plantas de tratamiento de aguas residuales, una ubicada en la Farfana y la otra en Melipilla. Estas plantas de tratamiento de aguas servidas domiciliarias son responsables de procesar y tratar aguas residuales generadas por la población local. Como resultado de estos procesos, se producen los biosólidos, desechos sólidos que requieren una gestión adecuada y sostenible. En Chile, se generan aproximadamente 276088 m³ /año de biosólido, liderando la Región Metropolitana con 154543 m³ /año como muestra la Figura 2 (ESSAL, 2012).

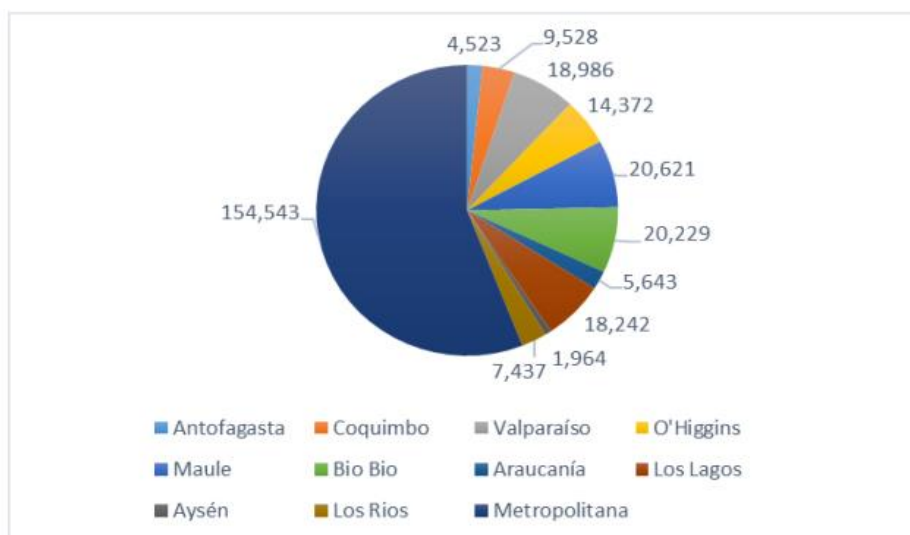


Figura 2: Generación de biosólidos m³/año en Chile, ESSAL, 2012.

Estos biosólidos se caracterizan por un alto contenido de nutrientes útiles para el crecimiento de las plantas, entre los cuales encontramos nitrógeno, fósforo, potasio, magnesio, calcio, sodio, azufre, cobre, hierro en concentraciones que varían alrededor de los 25 mg/kg. Sin embargo, también se encuentran elementos a nivel traza, correspondientes a metales pesados, los que en altas concentraciones presentan un riesgo para la flora, fauna y el ser humano. (Wang y col. 2008).

En consecuencia, es de gran importancia estudiar y evaluar el uso de los biosólidos en suelos de uso agrícola contaminados con diésel, tomando como analito de interés el fenantreno, presente en diésel, para así aportar información al posible uso de esta enmienda para mejorar y recuperar suelos contaminados.

2. HIPÓTESIS

La aplicación de enmienda orgánica a suelos contaminados con diésel disminuye la volatilidad de Fenantreno.

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la adición de enmienda orgánica sobre la concentración de fenantreno volátil en suelos contaminados con diésel.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Caracterizar y seleccionar suelos de San Vicente de Tagua Tagua.
2. Optimizar e implementar una metodología para determinar fenantreno por medio de cromatografía de gases con detector de ionización con llama ().
3. Evaluar el contenido de fenantreno presentes en los suelos contaminados con diésel.
4. Evaluar el efecto de enmienda orgánica sobre el contenido de fenantreno volátil en suelos contaminados con diésel.
5. Analizar resultados obtenidos de los experimentos.

3. MATERIALES Y REACTIVOS

3.1 MATERIALES E INSTRUMENTOS

- Agitador, Gel Rocker 50, Bhanu.
- Autovortex SA5, Stuart Scientific.
- Balanza Analítica, Precisa 125A, Swiss Quality.
- Centrífuga, Z 383 K, Hermle.
- Cromatógrafo Gaseoso, 7890A, Agilent Technologies, con FID.
- Cubetas de vidrio de 1 mL para espectrómetro.
- Electrodo para medición de pH, Sentix 21, WTW.
- Espectrofotómetro UV/Vis, Unicam.
- Estufa, WTB Binder.
- Handy Step, Brand.
- Jeringa analítica de precisión de 0,1; 0,5; 1 y 5 mL.
- Jeringa de vidrio, Normax.
- Matraces aforados.
- Matraz Erlenmeyer.
- pH metro, PMX 3000, WTW.
- Propipeta, Brand.

- Pipeta, de 1000 y 5000 μL , Pipet-Lite XLS.
- Pipetas y Pasteur.
- Tubos centrífuga.
- Tubos de ensayo.
- Tubos de vidrio con tapa.
- Vasos precipitados.
- Viales de vidrio color ámbar.

3.2 REACTIVOS

- Acetona, Emsure, P. A., Merck.
- Acetonitrilo, Emsure, P. A., Merck.
- Acetato de Amonio
- Acetato de Sodio
- Ácido Sulfúrico 95-97% P. A., Merck.
- Agua destilada.
- Dicromato de sodio, G. T., Heyn.
- Etanol
- Metanol, Emsure, P. A., Merck.
- n-hexano para análisis, Merck.
- Nitrógeno alta pureza, Indura, Chile.
- Sacarosa, P. A., Merck.

- Hexametafostafo de Sodio 10%.
- DTPA
- Cloruro de Sodio
- TEA
- Estándar de Fenantreno
- Suelo de San Vicente de Tagua Tagua 20 y 40 cm de profundidad.

4. METODOLOGÍA

4.1 Muestreo, molienda y tamizado de los suelos.

Para este estudio se utilizaron suelos agrícolas de la localidad de San Vicente de Tagua Tagua perteneciente a la región del Libertador Bernardo O'Higgins.

Para el Muestreo se consideraron 10 sectores de una parcela, tomándose en cada sector un suelo superficial (0-20 cm de profundidad) y suelo de profundidad (20-40 cm de profundidad). A cada sector se le asignó un sector nombrado como Sector 1 (S.1), Sector 2 (S.2), Sector 3 (S.3), Sector 4 (S.4), Sector 5 (S.5), Sector 6 (S.6) Sector 7 (S.7), Sector 8 (S.8). La división y distribución de los sectores donde se extrajeron las muestras se pueden ver en el siguiente esquema (Figura 3):









Sector 3 (S.3) Hectáreas: 0,37 Plantas:328	 Muestras: 1	Sector 1 (Casa/ Limones) Hectáreas: 0,7 Plantas:554	 Muestras: 1
Sector 4 (Kiwi) Hectáreas: 2,6 Plantas: 1480	 Muestras: 2	Sector 2 (Cerezos) Hectáreas: 1,3 Muestras: 1	
Sector 5 (Kiwi) Hectáreas: 0,9 Plantas:655	 Muestras: 2	Sector 2 (Kiwi) Hectáreas: 1,2 Plantas:995 Muestras: 1	
Sector 6 (Kiwi) Hectáreas: 0,51 Plantas:366	 Muestras: 3	Sector 8 (Kiwi) Hectáreas: 1,66 Plantas:1258	
Sector 7 (Kiwi) Hectáreas: 1,63 Plantas: 1167		Muestras: 4	

Figura 3: Diagrama del lugar de muestreo, con la información asociada a cada sector (S).

Posteriormente las muestras fueron secadas a temperatura ambiente, luego disgregadas, molidas y tamizadas hasta alcanzar un diámetro de tamaño de partícula menor a 1 mm.

4.2 Caracterización de los suelos.

4.2.1 Determinación de Humedad

En un recipiente previamente tarado, para cada muestra de suelo previamente secado al aire y tamizado, se pesaron en balanza analítica y por duplicado $10 \pm 0,01$ g de suelo. Posteriormente, estas muestras fueron secadas en estufa a 105°C durante 24 h.

Transcurridas 24 h, las muestras fueron retiradas de la estufa y transferidas a un desecador por al menos 45 min. Transcurrido este tiempo, las muestras se pesaron en una balanza analítica.

La determinación de humedad expresado como porcentaje de agua ($\%H_2O$) se realizó por diferencia de la pérdida de masa de la muestra antes y después del secado por 24 h a 105°C , utilizando la siguiente fórmula:

$$\%H_2O = \frac{a - b}{b - c} \times 100$$

Donde,

a= masa en gramos del suelo seco al aire + recipiente

b= masa en gramos del suelo seco a 105°C + recipiente

c= masa en gramos del recipiente

A partir del valor del %H₂O se determinó el factor de humedad (*Fh*) , mediante la siguiente ecuación:

$$Fh = \frac{100 + \%H_2O}{100}$$

Donde,

Fh: factor de humedad

4.2.2 Determinación de pH.

Se determinó el pH de las muestras de suelos de profundidad 0-20 cm y 20-40 cm, los resultados fueron comparados por medio del test Anova para determinar si existen diferencias significativas entre los valores de pH de los suelos, y en base a esta prueba estadística determinar la posibilidad de obtener muestras compuestas representativas de cada sector de muestreo.

Se pesaron 10 g de suelo en un tubo plástico de 50 mL previamente tarado, el análisis se realizó en duplicado. Una vez pesados, a los suelos se les añadió 25 mL de agua para luego agitar vigorosamente por 5 min y dejar reposar durante 2 h.

Transcurridas las 2 h, cada solución se agitó para luego sumergir el electrodo combinado de vidrio-calomelano en la solución (pH WTW pMX 3000). Una vez que la lectura del pH fuese estable (5 minutos aprox.), se registró el valor de pH (figura 4).

Los resultados (24 muestras) se presentan como el promedio de dos determinaciones independientes junto a la desviación estándar obtenida (DE).



Figura 4: Determinación del pH de suelos utilizando electrodo combinado de vidrio-calomelano

4.2.3 Determinación del contenido de Carbono Orgánico.

Se determinó por el método Walkley-Black, para lo cual se masaron 0,5 g de muestra de suelo en un matraz Erlenmeyer de 100 mL en duplicado, se agregaron 5 mL de solución dicromato 0,5 M y 20 mL de ácido sulfúrico 96 % (La Manna y col., 2007; Walkley y Black, 1934). Se agita y se deja reposar durante 30 min para luego agregar 40 mL de agua. Esta solución se dejó reposando durante toda la noche.

Para la curva de calibración se prepararon estándares de sacarosa de 0, 2, 5, 10, 20 y 30 mg/mL pasando 1 mL de esta solución al matraz Erlenmeyer de 100 mL y repetir el mismo proceso para las muestras de suelo.

Finalmente, se determinó la absorbancia del sobrenadante a 600 nm, con la curva de calibración se calculó el contenido de carbono de las muestras y de los blancos.

$$\text{Carbono Orgánico(\%)} = \frac{a - b}{10 * s} * 1,16$$

Donde:

a= mg de C en la muestra.

b= mg promedio de C en los blancos

s= masa en g de la muestra

1,16= factor de relación con el método de titulación (Walkley-Black).

En la Figura 5, podemos ver los matraces Erlenmeyer con el reposo de 24 h ya finalizado y listos para ser medido en el equipo de espectrofotometría UV-Visible:



Figura 5: Matracas Erlenmeyer utilizados para la medición de Carbono Orgánico.

4.2.4 Micronutrientes.

La técnica utilizada consiste en extraer el suelo con una solución de DTPA-CaCl₂-TEA tamponada a pH 7,30, luego en el extracto se puede medir las concentraciones de Fe, Zn, Cu y Mn.

Para preparar esta solución se utilizaron 1,967 g de DTPA, 13,32 mL de TEA y 1,47 g de CaCl₂ y se llevó a 1 L, posteriormente se hizo un ajuste de pH hasta 7,30 utilizando HCl 0,1 M.

Para el procedimiento se utilizó 5 g de suelo en un tubo falcón. El análisis se realizó en duplicado, luego se agregó 10 mL de solución de DTPA, esta solución se agitó durante 2 h, para luego separar el sobrenadante por filtración simple, cuantificándose los metales por medio de Espectroscopia de Absorción Atómica con llama (EAA.).

4.2.5 Capacidad de Intercambio Catiónico.

La Capacidad de Intercambio Catiónico se determinó de acuerdo al método de acetato de sodio a pH 8,2, para lo cual se pesaron 2,5 g de suelo y se agregó una solución de Acetato de Sodio 1 M, ajustado a pH 8,2 con ácido acético. La suspensión se agitó y se centrifugó a 3.000 rpm. Se volvieron a agregar dos porciones de acetato de sodio, con la sucesiva agitación y separación por centrifugación.

Se agregó a la fracción sólida una porción de etanol, se agitó y se centrifugó a 3.000 rpm, desechándose el sobrenadante. Esta operación se repitió 2 veces.

Se agregó al sólido, una porción de acetato de amonio 1 M, ajustado a pH 7,0 con amoniaco, se agitó la suspensión y se centrifugó a 3.000 rpm. El sobrenadante fue filtrado y recolectado para su análisis. Esta operación se repitió dos veces.

El volumen de las tres alícuotas se enrasó a 50 mL y se realizó la lectura de la concentración de sodio mediante Espectroscopia de Emisión Atómica (Figuroa, 2015).

Para la curva de calibración se prepararon soluciones estándares de Na⁺ de concentraciones 3, 5, 10 y 15 ppm.

Con la curva de calibración se calculó la concentración de Na⁺ en ppm de las muestras y de los blancos por resolución de la ecuación de regresión.

$$CIC = \frac{((ppm Na^+ - b) * 0.1 * FD * Fh * 0.1)}{(a * 22.9897)}$$

Donde: b= ppm Na⁺ del blanco; FD= Factor de dilución ; Fh= Factor de humedad
a= masa de muestra en kg; 4.2.6 Textura de los suelos.

Se utilizó el “Método de Bouyoucos” (Sadzawka y col., 2006), donde la muestra se dispersa con hexametáfosfato de sodio. Luego se mide la densidad de la suspensión con un hidrómetro a los 4 min y a las 2 h de sedimentación y con las lecturas se calcula la distribución de las partículas de arcilla, limo y arena.

Para este procedimiento se masaron 50 g de suelo en un vaso de precipitado de 1 L, luego se agregaron 700 mL de agua destilada y 20 mL de una solución de hexametáfosfato de sodio al 10 % con agitación por 15 minutos. Posteriormente, se trasvasió a una probeta de 700 mL y se llevó a 1 L. Se agitó durante 1 min y luego se dejó reposar durante 4 min para obtener la lectura con el hidrómetro y la temperatura. Finalmente, se dejó reposar durante 2 h y una vez cumplido el tiempo se volvió a obtener la lectura con el hidrómetro y con el termómetro. Como se muestra en la Figura 6:



Figura 6: Probetas utilizadas para la medición de texturas de los suelos.

Para el cálculo de la distribución de partículas de arcilla, limo y arena se realizó corrección a las lecturas del hidrómetro usando las siguientes ecuaciones:

$$L1_{\text{corregida}} = L1 \pm (T1^{\circ}F - 67^{\circ}F) * 0,2)$$

$$L2_{\text{corregida}} = L2 \pm (T2^{\circ}F - 67^{\circ}F) * 0.2)$$

Donde:

L1= Lectura del hidrómetro a los 4 min

T1= Lectura del termómetro a los 4 min

L2= Lectura del hidrómetro a las 2 h

T2= Lectura del termómetro a las 2 h

Luego, el porcentaje de Arcilla, Limo y Arena se determinó con las siguientes ecuaciones:

$$\%Arena = 100 - (L1\text{corregida} * 2)$$

$$\%Arcilla = L2\text{ corregida} * 2$$

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

Finalmente, se ubican los resultados del porcentaje de arena, arcilla y limo en el triángulo de texturas que se muestra en la Figura 7, para poder determinar la textura de los suelos a estudiar.

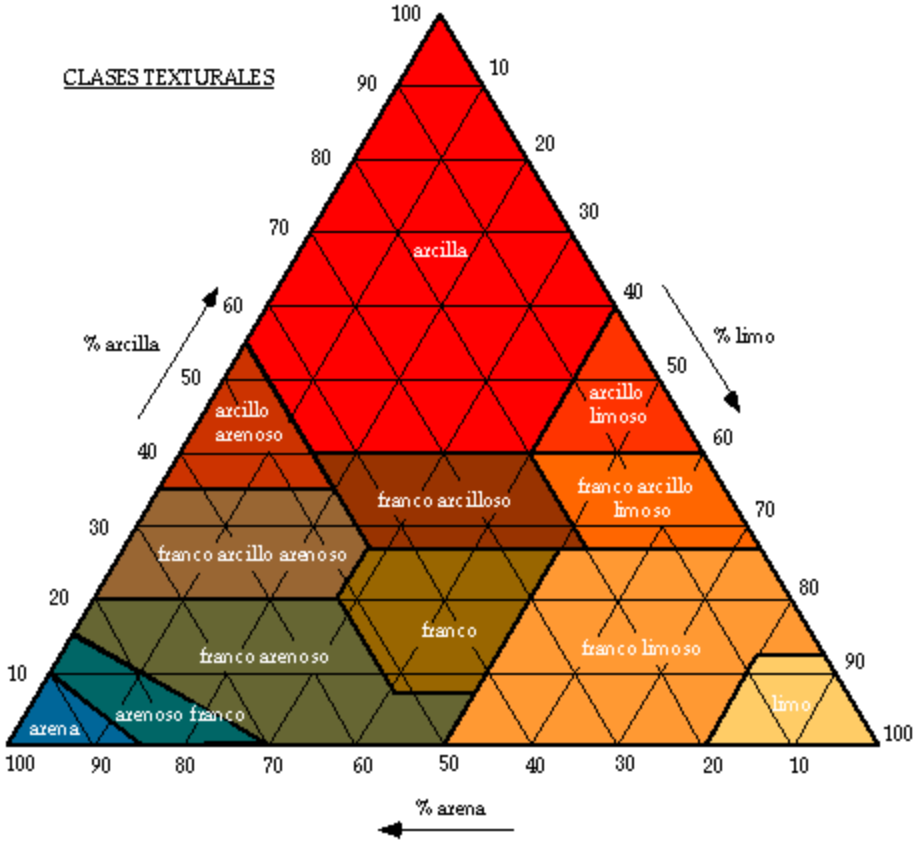


Figura 7: Triangulo de texturas.

4.2.7 Fósforo.

Para la determinación de fósforo se utilizó el “método de P-Olsen” (Sadzawka y col., 2006), en el cual se determina el índice de Fósforo disponible en los suelos. Esta determinación se basa principalmente en la precipitación de iones de Calcio, Aluminio y Hierro(III), de esta manera se liberan los iones fosfato a la solución, para lo cual la muestra de suelo se extrae con una solución de bicarbonato de sodio 0,5 M a pH 8,5. Posteriormente, el fosforó en solución se mide por colorimetría mediante la adición del reactivo para el desarrollo de color, el cual corresponde a una solución que contiene ácido sulfúrico 2,5 M, molibdato de amonio, tartrato de potasio y antimonio. A 250 mL de esta solución se le agregó 1,5 g de ácido ascórbico y se llevó a 1 L.

Para el análisis de fósforo se masó 1 g de muestra en un tubo falcón en duplicado, al cual se le agregó aproximadamente 0,1 g de carbón activado y 20 mL de la solución de bicarbonato de sodio 0,5 M, luego los tubos fueron llevados a un agitador recíproco por 30 min. Una vez finalizado el tiempo de agitación, el sobrenadante fue separado utilizando filtración simple y se llevó a tubos de ensayo donde se agregó el reactivo para el desarrollo de color. En la Figura 8, se muestran los tubos de ensayos con el reactivo para el desarrollo de color ya agregado:



Figura 8: Determinación de fósforo mediante el “método de P-Olsen”

Además, se prepararon estándares de fósforo, utilizando fosfato dihidrógeno de potasio, las soluciones preparadas fueron de concentración 0,08- 0,2- 0,4- 0,8 - 1,6.

Con la curva de calibración se calculó el contenido de fósforo de las muestras y de los blancos.

Luego para informar la cantidad de fósforo en las muestras se usó la siguiente ecuación:

$$\text{Contenido P} \left[\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right] = (\text{Concentración de P} - \text{Concentración blanco}) * \text{FD} * 20$$

Donde: FD= Factor de dilución

4.3 Análisis por GC-FID.

Para el análisis de las soluciones de la curva de calibración, se utilizó un cromatógrafo de gases, 7890A, Agilent Technologies® con detector de ionización de llama (FID). Los parámetros cromatográficos utilizados se describen en las tablas 2 y 3

Tabla 2: Condiciones cromatográficas usadas para la determinación de Fenantrenoantreno.

Parámetro	Valor
Temperatura de Inyección	270 °C
Detector	FID
Gas	N ₂ -Aire- H ₂
Make Up	N ₂
Flujo	29.5 mL/min
Volumen de Inyección	2uL
Modo de Inyección	Split
Columna	HP-5: 325°C: 30m x 320µm x 0,25µm

Tabla 3: Programa cromatográfico optimizado para la determinación de fenantreno.

	Incremento (°C/min)	Temperatura (°C)	Tiempo (min)
Inicial	-	40	2
Rampa 1	15	150	2
Rampa 2	10	225	2

4.3.1 Curva de Calibración Fenantreno.

Para la curva de calibración de Fenantreno se preparó por medio de pesada, estándares considerando un rango de concentración entre 0,03 – 4,6 ppm con 10 puntos (0,03- 0,14- 0,20- 0,31- 0,45-0,83- 2,72- 3,31- 3,97- 4,6 ppm). A cada uno de los viales se le agregó un volumen de 20 µL de estándar interno, el cual corresponde a n-Heptano con una concentración de 0,025 ppm.

4.3.2 Obtención de parámetros analíticos.

Se determinó el límite de detección (LD) y de cuantificación (LC) para técnica, para esto se inyectó 10 veces en el GC-FID la solución correspondiente al estándar de concentración más bajo de la curva de calibración. Para el cálculo de los parámetros se tuvieron en consideración las siguientes fórmulas:

$$LD = 3\sigma$$

$$LC = 10\sigma$$

Donde

σ : Desviación estándar de las 10 mediciones.

De esta manera se obtuvo un valor de área que corresponde al LD y LC, área que se interpoló en la curva de calibración, obteniéndose de esta manera la concentración correspondiente al LD y al LC de fenantreno.

4.3.3 Pruebas preliminares de adición de diésel a muestras de suelo

Se evaluó la dosis de diésel para ser usada en los sistemas de interacción, con el objetivo de estimar la concentración esperada de fenantreno en los suelos, y optimizar la metodología de extracción, para obtener concentraciones cuantificables por medio de GC-FID.

Para el estudio se incubaron 10 g de muestra de suelo con a 0,5- 1,0- 2,0- 3,0- 5,0 mL de diésel. Los suelos contaminados se dejaron secar por una semana bajo campana a temperatura ambiente.

4.4 Extracción de fenantreno desde suelos contaminados con diésel

Se evaluó la extracción por medio de ultrasonido, para los cual se tomó una porción de suelo, al cual se le adicionó n-hexano como extractante. Esta suspensión se llevó a agitación por 4 h, se separó el sobrenadante, el cual se llevó a sequedad en baño seco a 35°C con corriente de nitrógeno como se puede observar en la Figura 9, para luego reconstituir la muestra en n-hexano para su análisis por GC-FID.



Figura 9: Proceso de secado en baño seco con corriente de nitrógeno.

4.5 Sistema de interacción suelos-materia orgánica-diésel.

Para el montaje del experimento de interacción suelos –biosólidos- diésel se utilizó un sistema que consiste en vasos para la contención del suelo unidos a una bolsa hermética para retener la fase gaseosa producida por la interacción, se incluyó al sistema un vial con septa para poder extraer los gases liberados desde la matriz sólida, como se muestra en la figura 10:



Figura 10: Sistema de interacción para el suelo-biosólido-diésel previa adición de suelo.

La cantidad de suelo usado en cada vaso fue de aproximadamente 120 g, compuesto por 60 g de muestra de profundidad 0-20 cm y 60 g de suelo con profundidad de 20-40 cm, en la Figura 11 se muestra el sistema con los suelos.



Figura 11: Sistema de interacción para el suelo-biosólido-diésel solo con suelo.

Luego de obtener los resultados de la adición de diésel en las muestras de suelo y la posterior extracción del analito, se evaluó la dosis a utilizar en el experimento donde interactúan: suelo-biosólido -diésel, considerando 2 mL de diésel por 10 g de suelo para cada unidad la cual fue incubada a distintos tiempos, en los cuales se extrajo la fase gaseosa con una jeringa de vidrio como se puede observar en la Figura 12. Esta muestra fue inyectada inmediatamente en GC-FID.



Figura 12: Proceso de extracción de la fase gaseosa de los sistemas de interacción suelo-biosólido-diésel.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Caracterización de los suelos

El suelo utilizado en este estudio pertenece al sector de San Vicente de Tagua Tagua, VI Región. Los suelos de esta comuna han evolucionado a partir de sedimentos fluviales depositados por los ríos dando como resultado suelos de buena calidad agrícola. De acuerdo con el catastro de uso de suelo y vegetación de la Corporación Nacional Forestal (CONAF) de 2013, en la comuna existe un predominio de usos destinados a bosque nativo (28%), terrenos de uso agrícola (24%) y rotación cultivo-pradera (22%) (Centro de información de recursos naturales. 2021).

Los resultados para la determinación del factor de humedad (Fh) se presentan en la Figura 13.

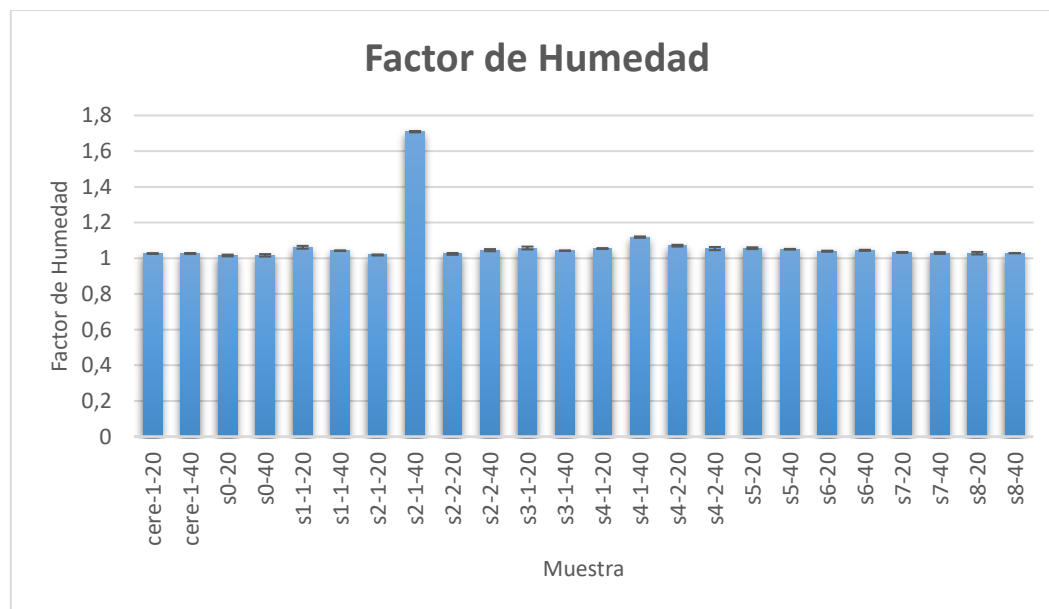


Figura 13. Resultados obtenidos respecto al factor de humedad

En las Figuras 14, 15, 16 y 17 (Tabla 4, Anexo I) se presentan los resultados obtenidos de la determinación del contenido de micronutrientes en las muestras de suelo en base seca. A partir de estos resultados se determinó que el suelo de San Vicente de Tagua Tagua, presenta concentraciones adecuadas de micronutrientes para suelos (Luzio y col., 2006). Sin embargo, por el fenómeno de lixiviación, gran parte de los micronutrientes del suelo pueden alcanzar más de un metro de profundidad cuando las precipitaciones son del orden de 700 mm/año, disminuyendo su concentración a medida que se incrementa la profundidad de suelo evaluada. (Luzio y col., 2006).

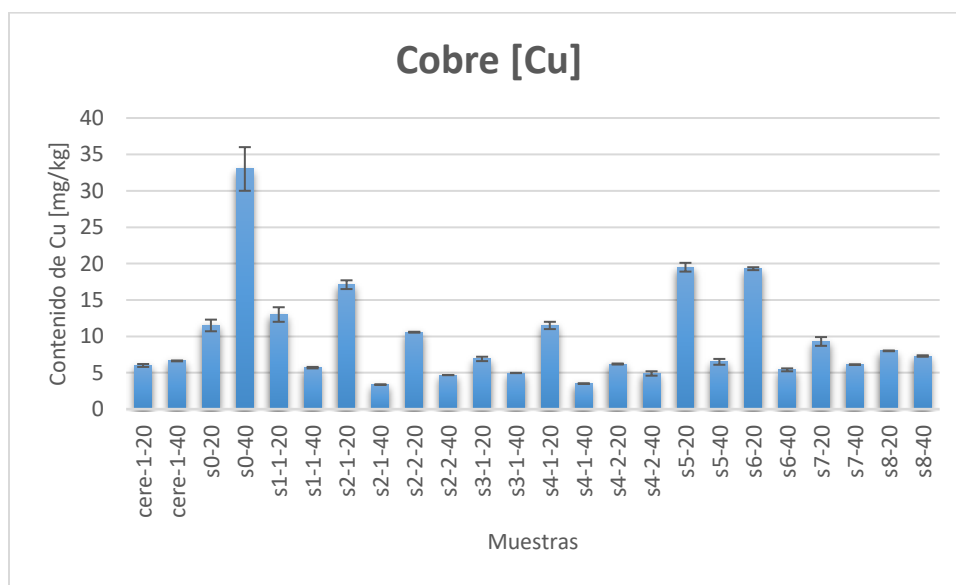


Figura 14. Contenido de Cobre presente en suelos como micronutriente (mg/kg base seca).

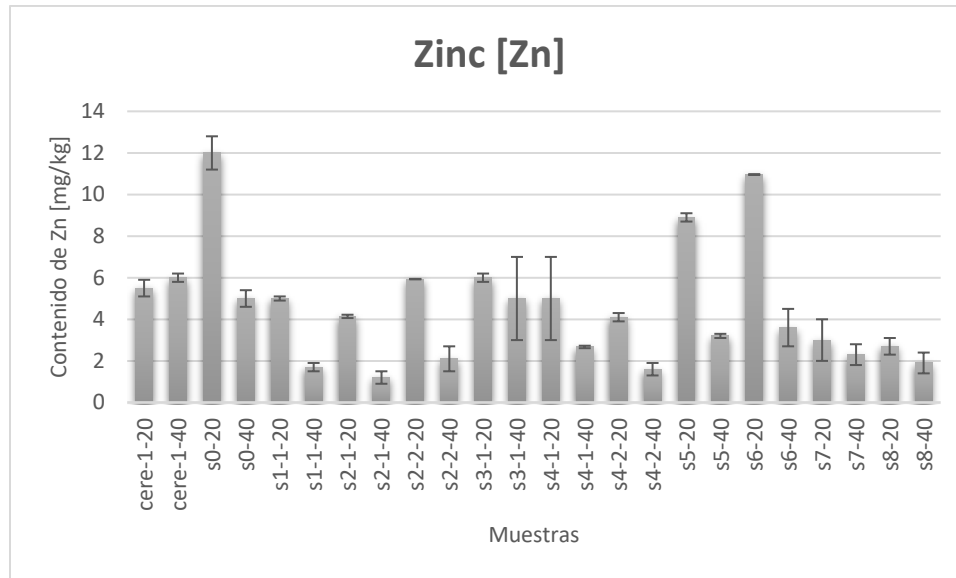


Figura 15. Contenido de Zinc presente en suelos como micronutriente (mg /kg base seca).

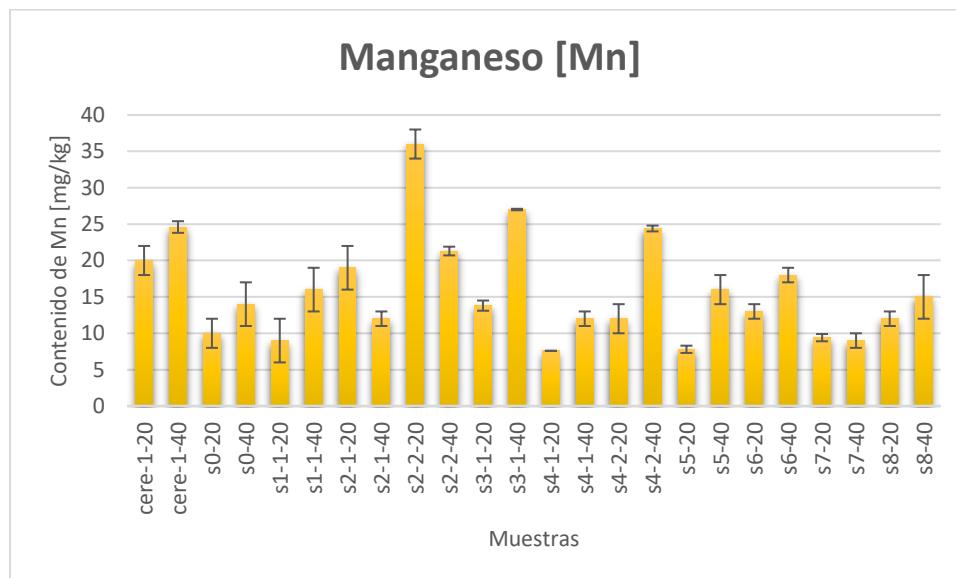


Figura 16. Contenido de manganeso presente en suelos como micronutriente (mg /kg base seca).

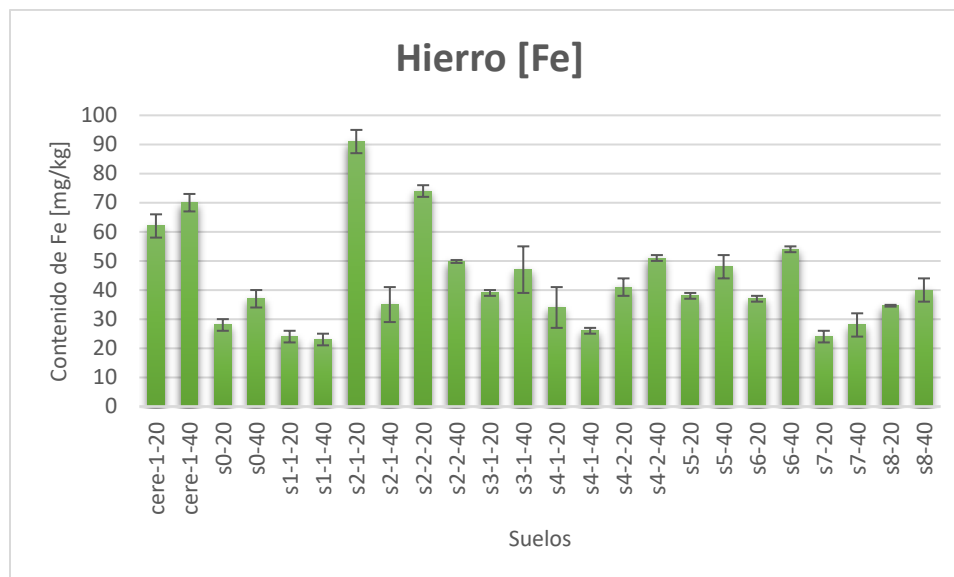


Figura 17. Contenido de hierro presente en suelos como micronutriente (mg /kg base seca).

Los resultados de la caracterización de los suelos muestreados mediante métodos estandarizados se presentan en las Figuras 18, 19 y 20 (Tabla 5 y 6, Anexo I). Se realizó una comparación de los resultados obtenidos de pH mediante el test ANOVA de un factor para poder determinar la diferencia en las medias entre los grupos, en este caso, para identificar las diferencias significativas entre las muestras de los sectores y así poder obtener una muestra compuesta representativa, como se indicó en la metodología.

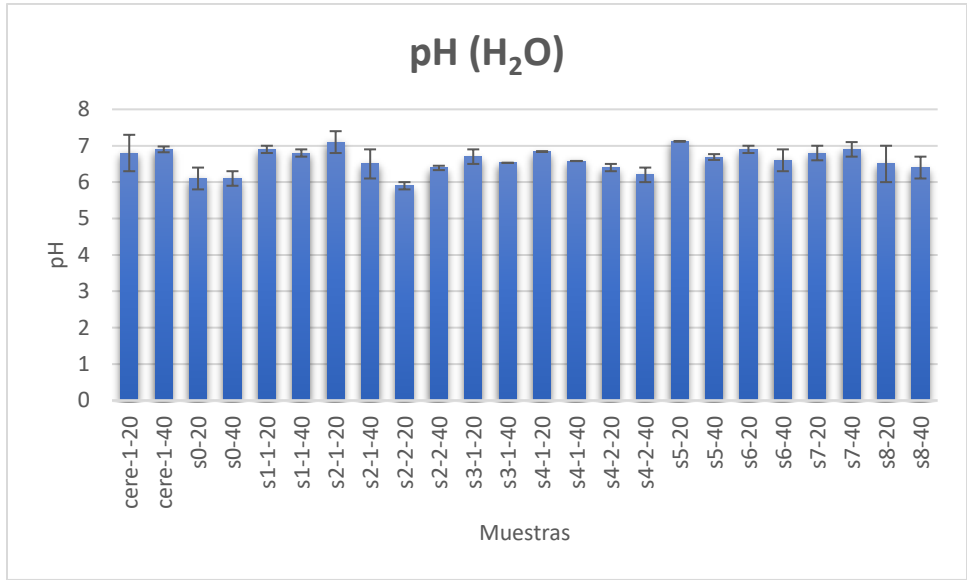


Figura 18. Determinación de pH en agua de los suelos muestreados a dos profundidades (0-20 y 20-40 cm).

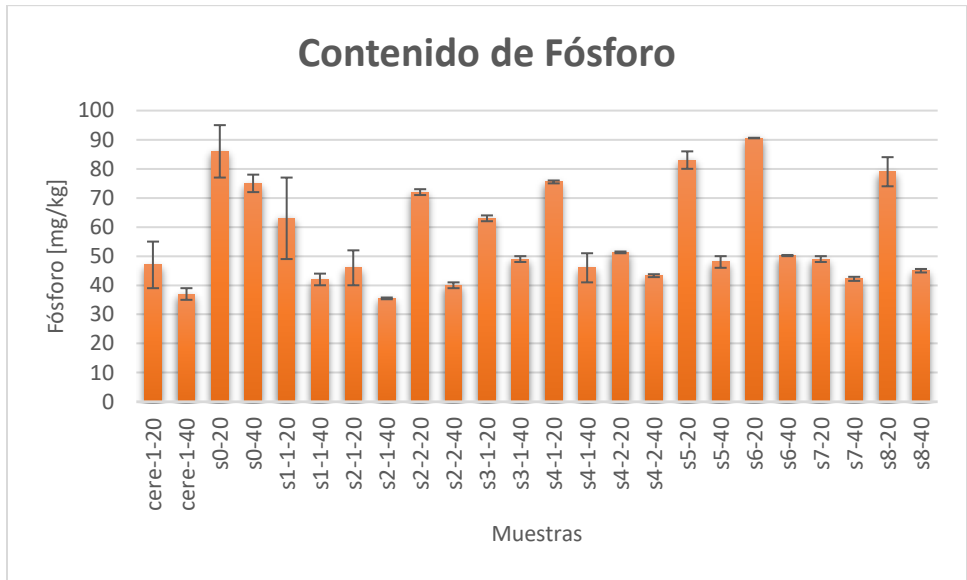


Figura 19. Contenido de Fósforo presentes en los suelos muestreados a dos profundidades (0-20 y 20-40 cm).

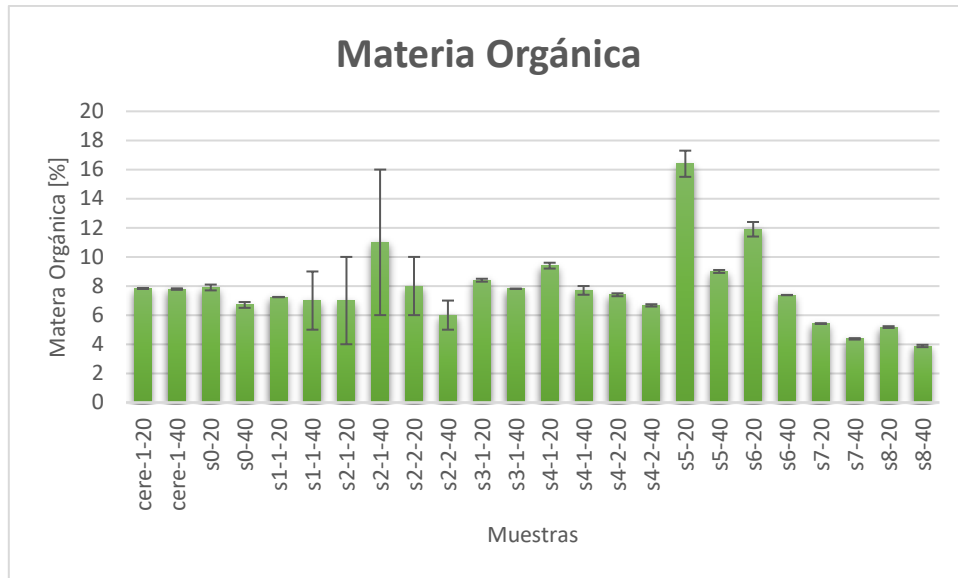


Figura 20. Contenido de Materia Orgánica en los suelos muestreados a dos profundidades (0-20 y 20-40 cm).

El pH de los suelos varía en el rango de 5,9-7,1; siendo esta una característica de los suelos de la región del Libertador Bernardo O'Higgins. Este rango de pH es considerado adecuado para el desarrollo de gran variedad de plantas (Luzio y col., 2006). El pH de los suelos puede variar con la textura del suelo y contenido de materia orgánica. Se ha descrito que a medida que el pH de los suelos disminuye de 6,5, la producción de algunos tipos de flora puede disminuir (Soto, 1991). Por otro lado, los valores de pH del suelo afectan directamente en la solubilidad de los elementos considerados nutrientes esenciales para las plantas, ya que previo a que sea absorbido por la planta éste debe disolverse en la solución de suelo (Soto, 1991).

Se ha descrito que la mayoría de los nutrientes son más solubles o se encuentran más disponibles en suelos ligeramente ácidos, en el caso específico de fósforo, se

encuentra más disponible a valores de pH cercanos a 6,5 porque el pH de los suelos afecta directamente en la solubilidad de los nutrientes, debido a la influencia sobre la forma iónica de éstos y la interacción que pueden tener con los elementos que componen el suelo. (Luzio y col., 2006).

A partir del análisis de los porcentajes de Arena, Arcilla y Limo se determinó que el suelo de San Vicente de Tagua Tagua presenta una textura mayormente Franco Arenoso (Figura 21). Los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado en el Estudio Agrológico realizado en Región de O'Higgins el año 2010 por Centro de información de recursos naturales, CIREN.

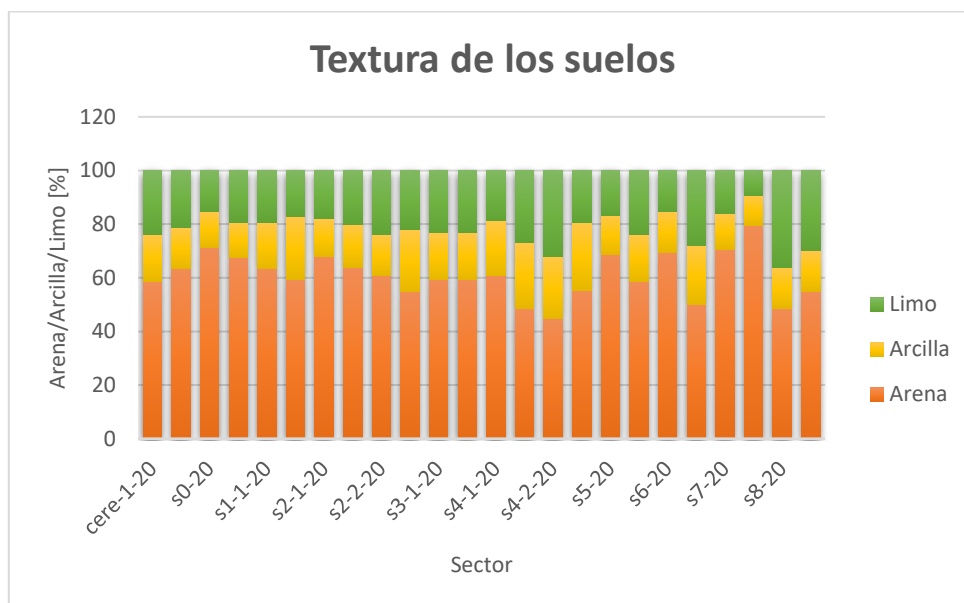


Figura 21. Contenidos de Arena limo y arcilla de los suelos muestreados a dos profundidades (0-20 y 20-40 cm).

La capacidad de intercambio catiónico (CIC) da cuenta del número de sitios disponibles para el intercambio catiónico (Figura 22). Los suelos en estudio presentan valores altos de CIC comparado a los valores promedios de suelos mayormente arenosos (20 [cmol(+)/kg] a 40 [cmol(+)/kg]) indicando que existe una alta presencia de sitios para el intercambio de cationes, esto también puede ser relacionado directamente con la cantidad de materia orgánica disponible en los suelos estudiados en esta tesis (Luzio y col., 2006).

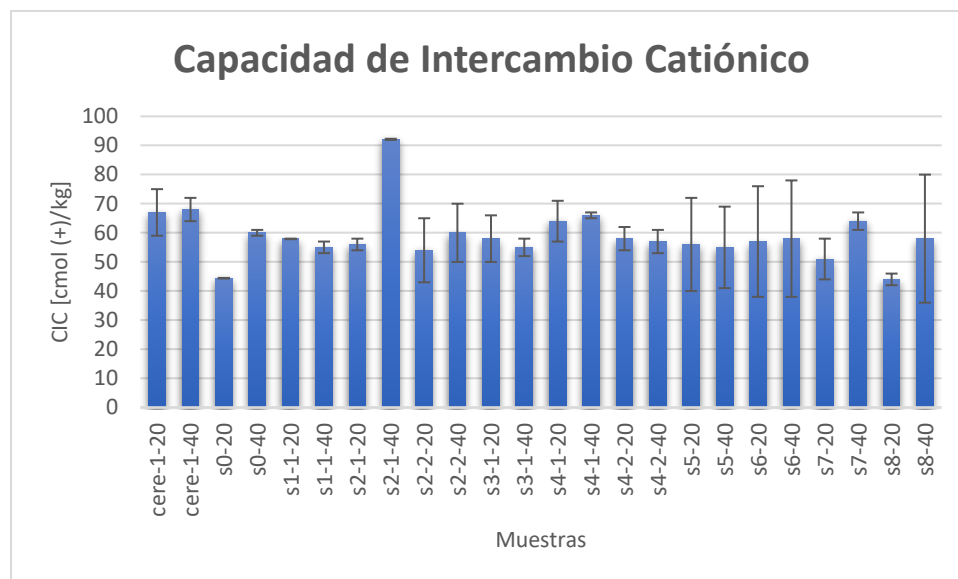


Figura 22. Capacidad de Intercambio Catiónico de los suelos muestreados a dos profundidades (0-20 y 20-40 cm).

5.2 Caracterización de la enmienda orgánica.

Los resultados de la caracterización de las enmiendas que fueron utilizadas en este estudio se presentan en la Tabla 7. Estos datos fueron obtenidos de la Tesis de Magíster en Química de Álvaro Quiroz 2020:

Tabla 7: Caracterización de los biosólidos.

Parámetro	Biosólido Farfana	Biosólido Melipilla
pH	6,56 ± 0,01	6,22 ± 0,01
C.E. (mScm⁻¹)	5,77 ± 0,01	3,74 ± 0,02
C.O.	(%)	(%)
	72,9 ± 0,5	48,3 ± 0,3
Vs (mL)	0,94	1,15
Humedad (%)	6,03	6,14
Metales	(mg/kg)	
Cu	436,9 ± 0,1	754,7 ± 0,1
Ni	39,7 ± 0,1	27,81 ± 0,02
Zn	1509,4 ± 0,1	834,2 ± 0,1
Pb	95,33 ± 0,03	75,47 ± 0,02

Respecto a los resultados de pH, tanto para el biosólido de La Farfana como el de Melipilla tienen un valor ligeramente ácido, esto concuerda con los estudios realizados en biosólidos de la región Metropolitana (Jachero y col., 2016). Se puede observar que el contenido de materia orgánica de la enmienda de La Farfana es mayor a la enmienda proveniente de Melipilla, esta diferencia se debe principalmente al proceso de obtención que consiste en tratamientos como: espesamiento, estabilización, acondicionamiento, desinfección, deshidratación, secado, reducción térmica y, por último, la evaluación final que permite clasificar el tipo de biosólido (Wijesekara y col, 2016). Los valores de conductividad eléctrica indican la presencia de mayor cantidad de sales en los biosólidos de La Farfana y menor cantidad en los biosólidos de Melipilla. Los resultados obtenidos para metales pesados fueron mayores en Ni, Zn y Pb para la enmienda orgánica de La Farfana, las concentraciones máximas de metales pesados permitidos en enmienda orgánica producida en base a lodos son de Cu = 1000 [mg/kg]; Níquel =

80 [mg/kg]; Zinc = 2000 [mg/kg]; Plomo = 300 [mg/kg], todos en base seca (INN-Chile, 2004).

5.3 Análisis por GC-FID.

5.3.1 Parámetros cromatográficos

Para este estudio se utilizó un cromatógrafo de gases, 7890A, Agilent Technologies® con detector de ionización de llama (FID). Las condiciones optimizadas para el análisis de las muestras que contiene HAP se describen en la Tabla 9.

Tabla 9: Programa cromatográfico optimizado para la determinación de fenantreno.

	Incremento (°C/min)	Temperatura (°C)	Tiempo (min)
Inicial	-	40	2
Rampa 1	15	150	2
Rampa 2	10	225	2

5.3.2 Análisis de soluciones de estándares

Para los análisis realizados por GC-FID, el estándar interno (SI) utilizado fue una solución de n-Heptano de concentración 0,025 ppm. La elección del SI utilizado se basó en los tiempos de retención del analito, el cual presentó un tiempo de retención de 1,4 min, siendo el tiempo de retención de Fenantreno de 13,91 min (Figura 23), para un análisis cromatográfico que considera un tiempo total de 20 min. Para estos análisis se utilizó una inyección en modo Split para disminuir el frente del solvente en relación 3:1. Se consideró una corrida cromatográfica con un tiempo mayor a 45 minutos ya que tanto la fase gaseosa que se puede generar de los experimentos de interacción, como los extractos de suelo deberían podrían

presentar señales de los hidrocarburos aromáticos poli cíclicos presentes en diésel, por lo tanto una corrida de mayor tiempo puede evitar el solapamiento de señales cromatográficas.

El tiempo de retención del Fenantreno de 13,91 refleja las propiedades fisicoquímicas del compuesto y la afinidad con la fase estacionaria. Donde se ha reportado que para este compuesto el valor de $\text{Log } K_{ow} = 4,53$ y su Presión de Vapor = 0.00012 hPa (Jensen L & Centro Nacional de Información Biotecnológica, 2020).

En la Figura 23 se presenta el cromatograma obtenido usando GC-FID para un estándar de Fenantreno y el estándar interno (SI) usado en el estudio.

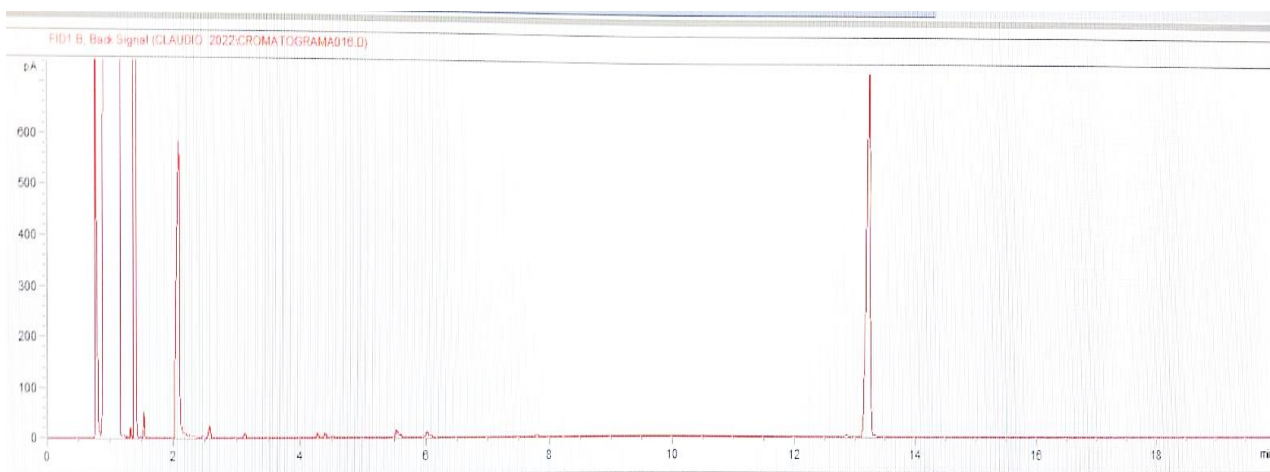


Figura 23. Cromatograma del estándar interno y el analito fenantreno.

5.3.3. Curva de Calibración Fenantreno.

En la Figura 24 se presentan los resultados obtenidos de la curva de calibración de Fenantreno utilizando los parámetros cromatográficos optimizados.

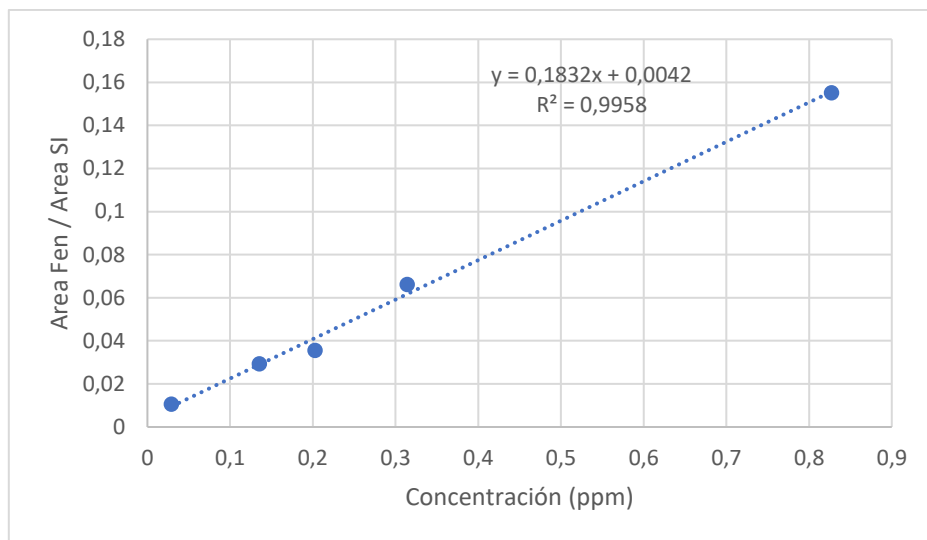


Figura 24. Curva de calibración obtenida para Fenantreno.

Curva de calibración Fenantreno: $Y=0,1832x+0,0042$; $R^2=0,9958$

Los resultados de la curva de calibración presentan una buena correlación, con un $R^2 = 0.9958$. La adición del SI cumplió mejoró la precisión de los resultados obtenidos, disminuyendo el error por inyección, donde para todas las concentraciones en duplicado la precisión obtenida como la desviación estándar relativa para cada punto de la curva fue menor a 5%.

5.3.4 Obtención de parámetros analíticos.

En la Tabla 10 se presentan los resultados del análisis del estándar de menor concentración considerado en la curva de calibración y analizado por GC-FID, a partir de estos datos se determinó el Límite de Detección (LD) y Límite de Cuantificación (LC) de la técnica para el analito Fenantreno.

Al reemplazar la desviación estándar (DE) en las ecuaciones descritas en la metodología 4.3.2, se obtuvieron los valores LD y LC. Estos valores fueron interpolados en la curva de calibración para obtener la concentración definida como LD y LC (Tabla 11).

Tabla 10: Resultados de las inyecciones para determinar LD y LC de la técnica por GC- μ ECD.

Muestra	Área SI [Hz]	Área fenatreno [Hz]	Área fenantreno/SI
1	21591.2	455.1	0.021078
2	20864.8	486.1	0.023298
3	40622	844.5	0.020789
4	33197.7	723.5	0.021794
5	38966.2	743.7	0.019086
6	31097.4	653	0.020999
7	26097.2	586.4	0.022470
8	42074.8	863.8	0.020530
9	27644.8	635.7	0.022995
		Promedio (YB)	0,021
		DE (σ_B)	0,001

En el estudio “*Determination of phenanthrene and fluoranthene in rice samples by activated carbon-based dispersive solid phase micro-extraction coupled with gas chromatography flame ionization detector analysis*” los LD y LC fueron de 0,15 y 0,46 ug/kg, respectivamente, la cuantificación se realizó utilizando GC-FID, con un tiempo de la corrida cromatográfica 12,9 min (Nadjway y col., 2020). Los valores obtenidos en este trabajo dan cuenta de un LD y LC de la técnica fueron menores

a los reportados por Nadjway, esta diferencia se debe a la diferencia entre las matrices analizadas, siendo el arroz una matriz compleja (Tabla 11), en este tipo de muestras el contenido de materia orgánica puede incrementar la señal cromatográfica, mejorando de esta manera el LD y el LC (Fan y col., 2019).

Tabla 11: LD y LC del método para Fenantreno.

Parámetro	Resultados
C_{LD} [ppm]	0,00025
C_{LC} [ppm]	0,05432

5.3.5 Análisis de los extractos de suelo contaminado con diésel.

Se tenía considerado incubar los suelos con 0,5; 1; 2; 3; 5 mL de diésel en los suelos seleccionados S5-20, S5-40, S6-20 y S6-40, los cuales presentan características fisicoquímicas similares. Para el estudio el volumen de diésel usado para 10 g de suelo fue 0,5-1- 2 mL, ya que los suelos con una dosis mayor a 2 mL modificaron completamente sus propiedades físicas, impidiendo que estas muestras se secaran para los análisis posteriores. Los resultados cromatográficos obtenidos de los extractos de los suelos incubados con diésel, que fueron dejados secar por una semana bajo campana a temperatura ambiente se presentan en la tabla 12, que serán considerados los niveles basales del estudio.

Tabla 12. Áreas obtenidas de fenantreno presente en el extracto de suelo incubado con diésel.

Volumen	Tiempo	Área	Concentración
---------	--------	------	---------------

diésel [mL]	de retención [min]	[Hz]	fenantreno [ppm]
0,5	12,852	-	n.d.
1	12,474	35725,7	5,51
2	12,711	167406	26,0

n.d.: No detectado

Los resultados obtenidos en cuanto a tiempo de retención fueron similares entre sí y concordantes con el tiempo obtenido en la optimización de parámetros cromatográficos. Ya que el objetivo era determinar la fracción volátil de fenantreno que, se decidió usar un volumen de 2 mL de diésel para los experimentos de interacción suelo-biosólidos-diésel.

5.3.6 Experimento interacción suelo-biosólidos-diésel.

Tomando en consideración los resultados obtenidos en el punto anterior (5.3.5) de la dosis de aplicación de diésel a los suelos se usó el siguiente diseño experimental, el cual consideró un análisis en triplicado (Tabla 13), con una adición de 2 mL de diésel, una dosis de 30 ton/ha de biosólido proveniente de La Farfana para el Grupo 2 y 100 ton/ha para el Grupo 3, y un tiempo de incubación de 2 días y de 1 semana para poder representar lo que pasaría en un suelo agrícola al ocurrir un derrame de diésel inmediatamente ocurrido el evento y en un periodo de una semana, además cabe destacar que este objetivo fue modificado por las problemáticas presentadas en el cultivo de plantas de alfalfa, por lo que el tiempo era acotado para dar término con la investigación.

Tabla 13: Diseño experimental para la interacción Suelo- Biosólido- Diesel.

Grupo 1: Suelo + Biosólido	Grupo 2: Suelo+ 1,56g de Biosólido+Diésel	Grupo 3: Suelo+5,4g de Biosólido+Diésel	Grupo 4: Suelo+Diésel

Réplica 1-0	Réplica 1-1	Réplica 1-2	Réplica 1-3
Réplica 2-0	Réplica 2-1	Réplica 2-2	Réplica 2-3
Réplica 3-0	Réplica 3-1	Réplica 3-2	Réplica 3-3

Una vez agregado el diésel y la materia orgánica al sistema, se extrajo 10 µL de la fase gaseosa la cual fue inyectada en el GC-FID, considerando los dos tiempos de incubación, donde:

Grupo 1: Suelo+ 1,56 g Biosólido

Grupo 2: Suelo+1,56 g Biosólido+ 24 mL Diésel

Grupo 3: Suelo+ 5,4 g de Biosólido+ 24 mL Diésel

Grupo 4: Suelo+ 24 mL Diésel.

Al realizar la comparación de los cromatogramas obtenidos de la fase gaseosa extraída no se observan diferencias significativas entre los grupos y los días de interacción, sugiriendo que es necesario una incubación más prolongada para evidenciar si la materia orgánica que aporta la enmienda tiene un efecto en la movilidad de fenantreno en suelos. Las áreas obtenidas de la señal cromatográfica que corresponde a fenantreno están bajo el límite de cuantificación de la técnica para todos los grupos, por lo tanto, no es posible determinar la concentración del analito (cromatogramas en Anexo II: Cromatogramas), pero al analizar las tendencias observadas de los resultados se evidencia que la movilidad de fenantreno hacia la fase gaseosa es casi nula para todos los grupos. En bibliografía se ha descrito que es necesario un proceso de 30 días para poder evidenciar remoción, volatilización y degradación de algunos PAH en suelos con materia orgánica (Namkoong y col., 2002). Se sugiere que uno de los factores que

puede afectar en la volatilización del analito es la relación entre las cantidades de suelo y la materia orgánica relacionados al diésel siendo una razón de 1: 5 respectivamente la más eficiente (Namkoong y col., 2002). Otro factor que puede ayudar a evidenciar la volatilización del analito a la fase gaseosa es utilizar otros detectores como por ejemplo un cromatógrafo de gases acoplado a un detector de masas, el cual nos permite evidenciar los iones de los compuestos de una manera más eficiente y con mayor sensibilidad. (Liang y col, 2005).

6. CONCLUSIONES

- Los suelos muestreados tienen un pH levemente ácido en H₂O, con una textura franco-arenosa, contienen entre un 3,88% y un 16,4% de materia orgánica en base seca y una capacidad de intercambio catiónico entre 40 y 90 cmol/kg.
- La enmienda orgánica obtenida desde las plantas de aguas servidas de La Farfana y Melipilla tienen un porcentaje de materia orgánica de $72,9 \pm 0,5$ y $48,3 \pm 0,3$, respectivamente, con un pH ligeramente ácido al igual que los suelos en estudio.
- Fue posible cuantificar fenantreno por medio de GC-FID, obteniéndose un tiempo de retención de 13,91 para fenantreno y de 1,4 para el estándar interno.
- Se determinó un rango lineal de trabajo para el Fenantreno entre 0,0032 y 4,6 ppm obteniendo una correlación de $R^2 = 0,9958$. Los límites de detección y cuantificación de la técnica GC- FID fueron de 0,00024 y 0,05432 µg/kg respectivamente para el Fenantreno.
- Para un tiempo de 7 días de incubación, no se evidenció la movilidad de fenantreno a la fracción gaseosa tanto de los sistemas suelo- diésel, como para los sistemas suelo- biosólido- diésel, por lo que no es posible afirmar que la aplicación de enmienda orgánica evita la volatilización de Fenantreno desde suelos.

7. BIBLIOGRAFIA

Abdel Shafy, H. I., & Mansour, M. S M. (2016). A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation, *Egypt. J. Petrol.* 107-123, 25.

Arey, J., & Atkinson, R. (2003). Photochemical Reactions of PAHs in the Atmosphere. *Ecological and Environmental Toxicology Series*, 47–63.

Avci, M., S. Cinar, C. Yucel, and I. Inal. (2010). Evaluation of some selected alfalfa (*Medicago sativa* L.) lines for herbage yield and forage quality. *J. Food. Agr. Environ.* 8: 545-549.

Chen, L., Beiyuan, J., Hu, W., Zhang, Z., Duan, C., Cui, Q., Zhu, X., He, H., Huang, X., & Fang, L. (2022). Phytoremediation of potentially toxic elements (PTEs) contaminated soils using alfalfa (*Medicago sativa* L.): A comprehensive review. *Chemosphere*, 293, 133577.

Consejería de Medio Ambiente Andalucía. (2003). Contaminación de Suelos por Compuestos Orgánicos. P 12-14.

Centro de información de recursos naturales, CIREN. (2010). Estudio Agrológico Región de O'Higgins. Ed. 2010. (Publicación CIREN N° 179), https://bibliotecadigital.ciren.cl/bitstream/handle/20.500.13082/26090/Materiales%20y%20Simbolos_ESTUDIO%20AGROLOGICO%20VI_2010.pdf?sequence=4&isAllowed=y. último acceso 16 de diciembre 2022

ESSAL. (2012). Uso Benéfico de los Biosólidos Generados en las Plantas de Tratamiento de Aguas Servidas. Recuperado el 28 de Mayo de 2023, de http://www.mma.gob.cl/1304/articles52250_pdf_1.pdf

Fan, C., Li, Z., & Zheng, C. (2019). Effects of compost amendment on the transport and fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil-water systems. *Science of the Total Environment*, 671, 801-810.

Figueroa, G. (2015). Estudio de la afinidad entre materia orgánica disuelta de la solución de suelo y Bifenilos Policlorados. Memoria para optar al título profesional de Químico. Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. P 16-17.

Liang, F., Lu, M., Keener, T., Liu, Z., & Khang, S., (2005). The organic composition of diesel particulate matter, diesel fuel and engine oil of a non-road diesel generator, *J. Environ. Monit.*, 2005, 7 , 983–988 983

Gutman, I., & Stanković, S. (2007). Why is phenanthrene more stable than anthracene? *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 26(2), 111–114.

Han, Q. F., Z. K. Jia, and J. P. Wang. (2005). Current status and future prospects of alfalfa industry in and outside China. *Pratacultural Sci.* 3: 22-25

Instituto Nacional de Normalización. (2004). Norma Chilena Oficial NCh 2880.Of2004. Compost-Clasificación y requisitos. P 9-10.

Jachero, L., Ahumada, I., Fuentes, E., & Richter, P. (2016). Decreases in the bioconcentration of triclosan in wheat plants according to increasing amounts of biosolids added to soil. *Geoderma*, 276, 19-25

Jensen, L. K.; Jæger, I.; Jani, O., H. & Carroll, J. Bioaccumulation of phenanthrene and benzo[a]pyrene in *Calanus finmarchicus* (2012). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 225-231, 78.

Kalev, S. D., & Toor, G. S. (2018). The Composition of Soils and Sediments. *Green Chemistry*, 339–357.

Kanaly, R. A. & S. Harayama. (2000). Biodegradation of highmolecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria. *J. Bacteriol.* 182: 2059-2067.

La Manna, L., Buduba, C., Alonso, V., Davel, M., Puentes, C., & Irisarri, J. (2007). Comparación de métodos analíticos para la determinación de materia orgánica en suelos de la región Andino-Patagónica: efectos de la vegetación y tipo de suelo. (25): 179-188.

Luzio, W. & Casanova, M. (2006). Avances en el conocimiento de los suelos de Chile Registro de propiedad intelectual N° 157.822. 130-154.

Mahar, A., Wang, P., Ali, A., Awasthi, M.K., Lahori, A.H., Wang, Q., Li, R., Zhang, Z., (2016). Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 126, 111–121.

Mendez, J., Velazquez, A., & Salazar Garantón, R. (2006). Effect of simulated oil spill and application of remediator on seed germination and seedling growth of two corn (*Zea mays* L.) types. *Revista UDO Agrícola* 6 (1): 102-108

Mendoza, P. S. I., A. Hernández-Garay, J. Pérez, P., A. R. Quero, C., J. A. S. Escalante, E., J. L. Zaragoza, R., y O. Ramírez, R. (2010). Respuesta productiva de la alfalfa a diferentes frecuencias de corte. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 1: 287-296

Mejia-Delgadillo, M. A., E. G. Álvarez-Almora, J. M. PinosRodríguez, J. F. Ponce-Medina, A. Plascencia-Jorquera, L. F. Escoboza-García, y J. Rodríguez-García. (2011). Digestión del heno de trigo en comparación con la de alfalfa y ballico en novillos. *Agrociencia* 45: 13-21.

Naamkong, W., Hwang, E., Park, J., Choi, J. (2002) Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting. *Environmental Pollution* 23-31.

Nadjwa, N., Yih, B., Shariff, M., Yahaya, N., Mohd, N., Asman, S., Khan, F., Pandian, K., Lim, V., & Raoov, M. (2020). Determinatio of Phenanthrene and fluoranthene in rice samples by activated carbon-based dispersive solid pase microextraction coupled with gas chromatography flame ionization detector analysis. *Malaysian Journal of Analytical Sciences.* Vol 24 N 6. 882-892.

National Center for Biotechnology Information (2020). PubChem Compound Summary for CID 995, Phenanthrene. Retrieved September 21, 2020 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Phenanthrene>.

N.N. 2021. Recursos Naturales Comuna de San Vicente. Centro de Información de Recursos Naturales. 1-6.

Pimentel, D. & Kounang, N. (1998). Ecology of soil erosion in ecosystems. *Ecosystems*, 1(5), 416-426.

Pivetz, B.E., (2001). Phytoremediation of contaminated soil and ground water at hazardous waste sites. US Environmental Protection Agency.

Quiroz, A. (2020). DETERMINACIÓN DE CEFEPIME E IDENTIFICACIÓN DE N-METILPIRROLIDINA EN MATRICES DE BIOSÓLIDO Y ORINA MEDIANTE HPLC-DAD, GC- μ ECD Y AxION DSA-TOF-MS. Memoria para optar al título profesional de Magíster en Química. Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, P 60-61.

Sadzawka, R., Carrasco, R., Grez, Z., Mora, M., Flores, P., & Neaman, A. (2006). Recommended Methods for Chilean soils. Commission on Accreditation and Standardization. Chilean Society of Soil Science.

Saleem, M.H., Ali, S., Rehman, M., Hasanuzzaman, M., Rizwan, M., Irshad, S., Shafiq, F., Iqbal, M., Alharbi, B.M., Alnusaire, T.S., (2020b). Jute: a potential candidate for phytoremediation of metals—a review. *Plants* 9, 258.

Scherr, S. J. & Yadav, S. (1996). Land degradation in the developing world: Implications for food, agriculture, and the environment to 2020. International Food Policy Research Institute (IFPRI). 3-5, 14.

Shuttleworth, K. L. & C. E. Cerniglia. (1995). Environmental aspects of PAH degradation. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 54: 291-302

Schwab, A. P.; A. A. Al-Assi & M. K. Banks. (1998). Adsorption of naphthalene onto plant roots. *J. Environ. Qual.* 27: 220-224

Silva, S. & Correa, F. 2009. Análisis de la contaminación del suelo: Revisión de la normativa y posibilidades de regulación económica. *Semestre Económico*, volumen 12, No. 23, pp. 13-34. Medellín, Colombia.

Soto, P. (1991). Establecimiento de Alfalfa en la zona Centro sur. *IPA QUILAMAPU*. N° 48.

Walkley, A., & Black, I. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, (37): 29-38.

Wang, L., Shamas, N., & Hung, Y. (2008). *Biosolids Engineering and Management*. En *Handbook of Environmental Engineering* (Vol. 7).

Wijesekara, H., Bolan, N., Kumarathilaka, P., Geekiyanage, N., Kunhikrishnan, A., Seshadri, B., . . . Vithanage, M. (2016). Biosolids Enhance Mine Site Rehabilitation and Revegetation. En *Environmental Materials and Waste: Resource Recovery and Pollution Prevention* (págs. 45-71). Elsevier.

7.3.5 Anexo I: Tablas

Tabla 4: Contenido de micronutrientes

Muestra	Contenido de Micronutrientes mg /kg (DTPA)							
	Cu	DE	Zn	DE	Mn	DE	Fe	DE
cere-1-20	6,0	0,2	5,5	0,4	20	2	62	4
cere-1-40	6,63	0,06	6,0	0,2	24,6	0,8	70	3
s0-20	11,5	0,8	12,0	0,8	10	2	28	2
s0-40	33	3	5,0	0,4	14	3	37	3
s1-1-20	13	1	5,0	0,1	9	3	24	2
s1-1-40	5,7	0,1	1,7	0,2	16	3	23	2
s2-1-20	17,1	0,6	4,14	0,08	19	3	91	4
s2-1-40	3,37	0,04	1,2	0,3	12	1	35	6
s2-2-20	10,57	0,06	5,93	0,01	36	2	74	2
s2-2-40	4,68	0,01	2,1	0,6	21,3	0,6	49,8	0,5
s3-1-20	6,9	0,3	6,0	0,2	13,8	0,7	39	1
s3-1-40	4,97	0,02	5	2	27,0	0,1	47	8
s4-1-20	11,5	0,5	5	2	7,59	0,00	34	7
s4-1-40	3,51	0,05	2,67	0,06	12	1	26	1
s4-2-20	6,20	0,07	4,1	0,2	12	2	41	3
s4-2-40	4,9	0,3	1,6	0,3	24,4	0,4	51	1
s5-20	19,5	0,6	8,9	0,2	7,8	0,5	38	1
s5-40	6,5	0,4	3,2	0,1	16	2	48	4
s6-20	19,3	0,2	10,96	0,01	13	1	37	1
s6-40	5,4	0,2	3,6	0,9	18	1	54	1
s7-20	9,3	0,6	3	1	9,4	0,5	24	2
s7-40	6,12	0,05	2,3	0,5	9	1	28	4
s8-20	8,01	0,05	2,7	0,4	12	1	34,6	0,3
s8-40	7,3	0,1	1,9	0,5	15	3	40	4

DE: Desviación estándar

Tabla 5: Resultados de la caracterización de los suelos en estudio.

Muestra	pH (H ₂ O)		Contenido de Fósforo		Contenido de Materia Orgánica	
	pH	DE	P (mg/kg)	DE	%MO	DE
cere-1-20	6,8	0,5	47	8	7,83	0,02
cere-1-40	6,90	0,08	37	2	7,79	0,05
s0-20	6,1	0,3	86	9	7,9	0,2
s0-40	6,1	0,2	75	3	6,7	0,2

s1-1-20	6,9	0,1	63	14	7,24	0,01
s1-1-40	6,8	0,1	42	2	7	2
s2-1-20	7,1	0,3	46	6	7	3
s2-1-40	6,5	0,4	35,5	0,3	11	5
s2-2-20	5,9	0,1	72	1	8	2
s2-2-40	6,39	0,06	40	1	6	1
s3-1-20	6,7	0,2	63	1	8,4	0,1
s3-1-40	6,53	0	49	1	7,81	0,00
s4-1-20	6,840	0,008	75,5	0,5	9,4	0,2
s4-1-40	6,580	0,002	46	5	7,7	0,3
s4-2-20	6,4	0,1	51,3	0,3	7,4	0,1
s4-2-40	6,2	0,2	43,3	0,5	6,67	0,08
s5-20	7,12	0,00	83	3	16,4	0,9
s5-40	6,69	0,08	48	2	9,00	0,1
s6-20	6,9	0,1	90,57	0,09	11,9	0,5
s6-40	6,6	0,3	50,2	0,2	7,38	0,01
s7-20	6,8	0,2	49	1	5,42	0,00
s7-40	6,9	0,2	42,2	0,7	4,37	0,05
s8-20	6,5	0,5	79	5	5,18	0,06
s8-40	6,4	0,3	45,0	0,6	3,88	0,08

DE: Desviación estándar

Tabla 6: Textura de los suelos en estudio y la capacidad de intercambio catiónico (CIC).

Muestra	Determinación de Textura				Capacidad de Intercambio Catiónico	
	% Arena	%Arcilla	%Limo	Textura	cmol (+)/ kg	DE
cere-1-20	58,72	17,28	24,00	Franco arenoso	67	8
cere-1-40	63,44	15,28	21,28	Franco arenoso	68	4
s0-20	71,44	13,28	15,28	Franco arenoso	44,4	0,1
s0-40	67,44	13,28	19,28	Franco arenoso	60	1
s1-1-20	63,44	17,28	19,28	Franco arenoso	57,9	0,1
s1-1-40	59,44	23,28	17,28	Franco arcillo-arenoso	55	2
s2-1-20	68,00	14,00	18,00	Franco arenoso	56	2
s2-1-40	64,00	16,00	20,00	Franco arenoso	92,1	0,2
s2-2-20	60,72	15,28	24,00	Franco arenoso	54	11
s2-2-40	54,72	23,28	22,00	Franco arcillo-arenoso	60	10
s3-1-20	59,44	17,28	23,28	Franco arenoso	58	8
s3-1-40	59,44	17,28	23,28	Franco arenoso	55	3
s4-1-20	60,72	20,56	18,72	Franco arcillo-arenoso	64	7
s4-1-40	48,72	24,56	26,72	Franco arcillo-arenoso	66	1
s4-2-20	44,72	23,28	32,00	Franco	58	4

s4-2-40	55,44	25,28	19,28	Franco arcillo-arenoso	57	4
s5-20	68,72	14,56	16,72	Franco arenoso	56	16
s5-40	58,72	17,28	24,00	Franco arenoso	55	14
s6-20	69,44	15,28	15,28	Franco arenoso	57	19
s6-40	50,00	22,00	28,00	Franco	58	20
s7-20	70,72	13,28	16,00	Franco arenoso	51	7
s7-40	79,44	11,28	9,28	Franco arenoso	64	3
s8-20	48,72	15,28	36,00	Franco	44	2
s8-40	54,72	15,28	30,00	Franco arenoso	58	22

DE: Desviación estándar

7.3.6 Anexo II: Cromatogramas.

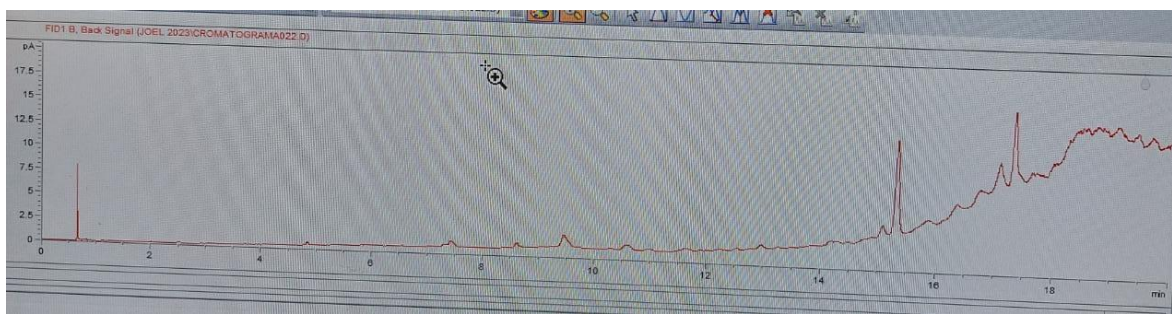


Figura 25: Cromatograma grupo 1, Réplica 1, Incubación 1.

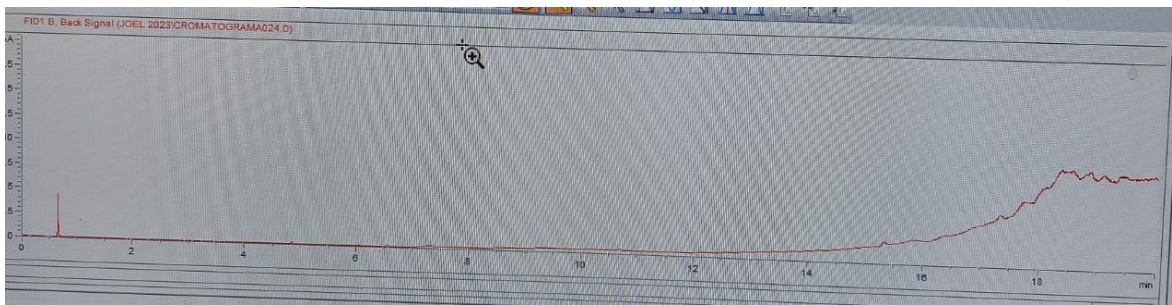


Figura 26: Cromatograma grupo 1, Réplica 2, Incubación 1.

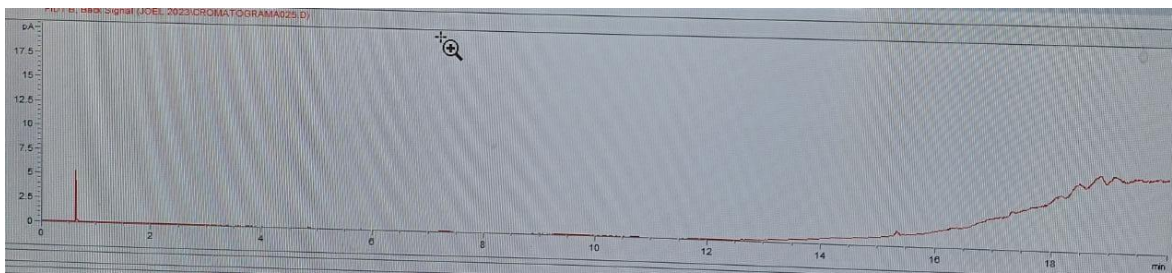


Figura 27: Cromatograma grupo 1, Réplica 3, Incubación 1.

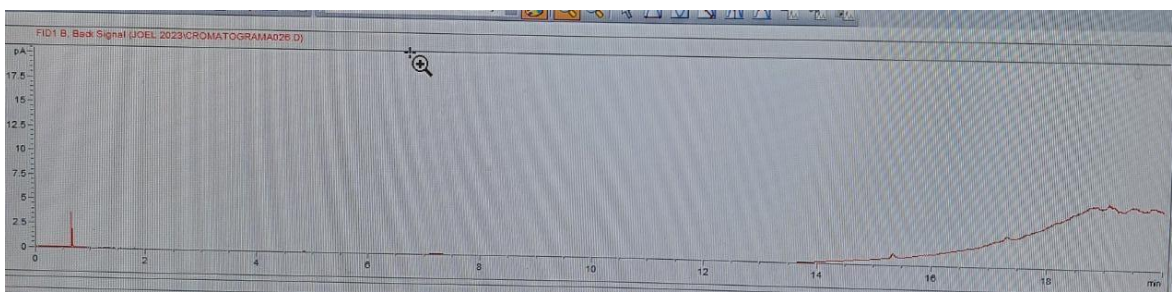


Figura 28: Cromatograma grupo 2, Réplica 1, Incubación 1.

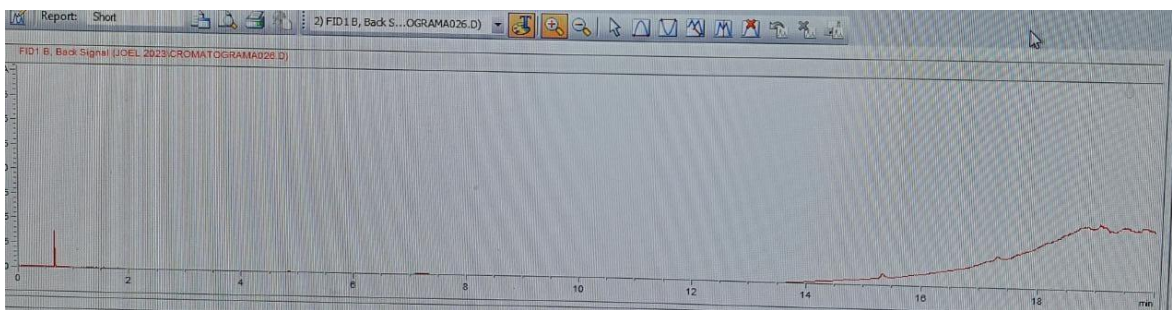


Figura 29: Cromatograma grupo 2, Réplica 2, Incubación 1.

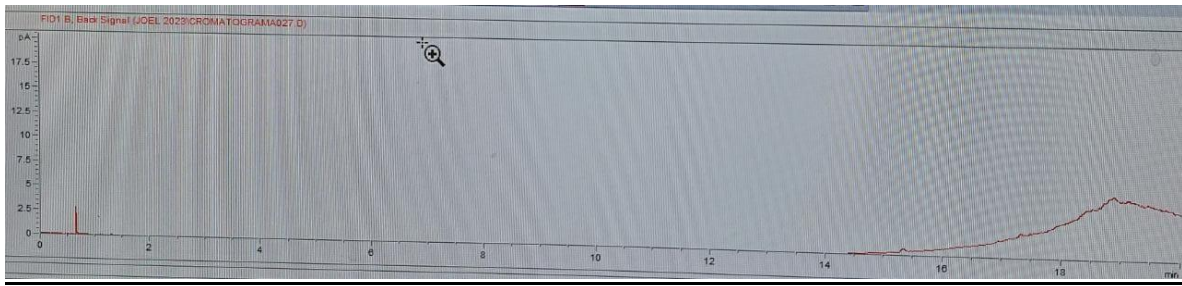


Figura 30: Cromatograma grupo 2, Réplica 3, Incubación 1.

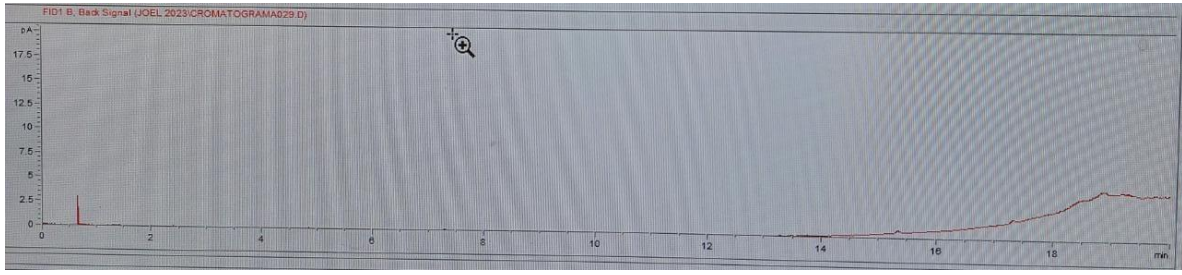


Figura 31: Cromatograma grupo 3, Réplica 1, Incubación 1.

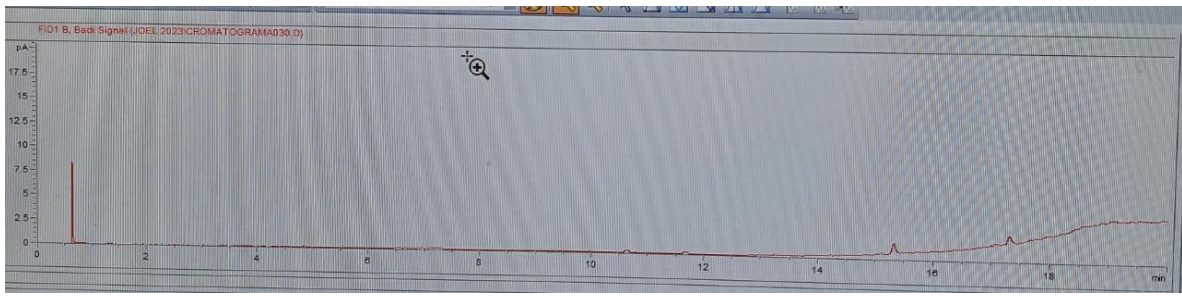


Figura 32: Cromatograma grupo 3, Réplica 2, Incubación 1.

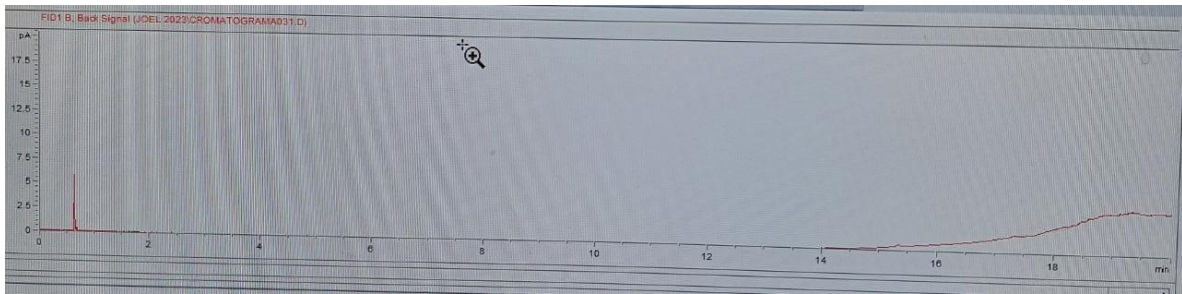


Figura 33: Cromatograma grupo 3, Réplica 3, Incubación 1.

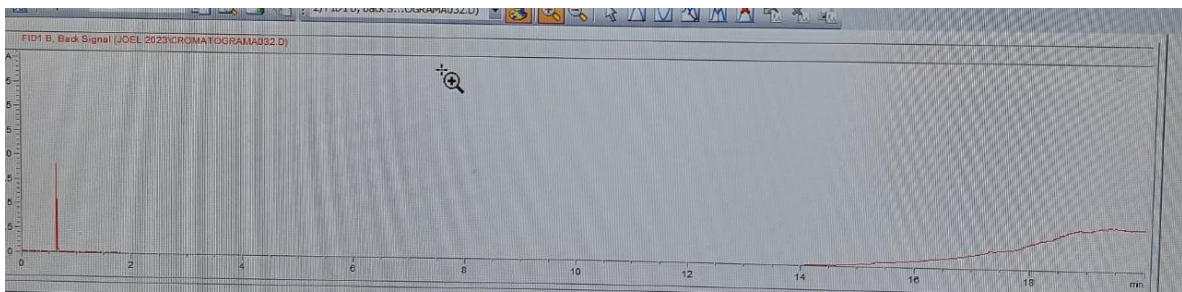


Figura 34: Cromatograma grupo 4, Réplica 1, día 1.

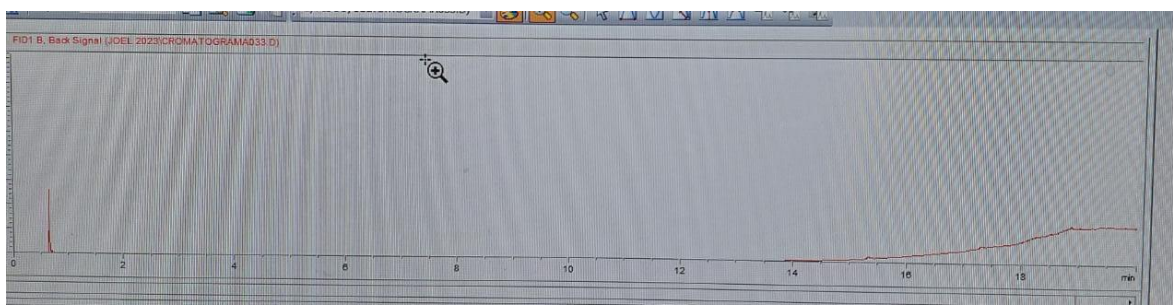


Figura 35: Cromatograma grupo 4, Réplica 2, Incubación 1.

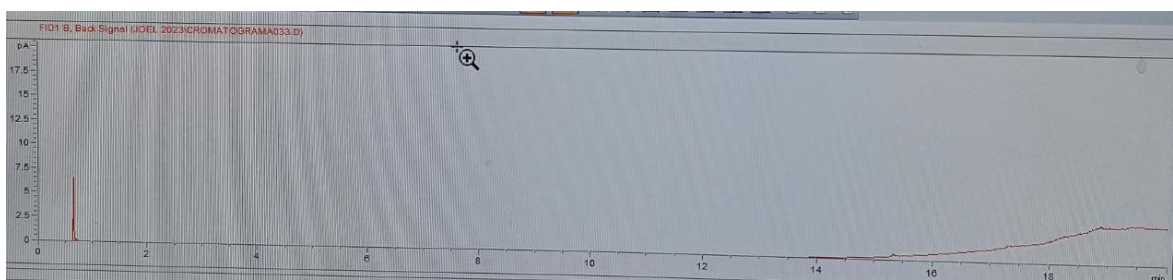


Figura 36: Cromatograma grupo 4, Réplica 3, Incubación 1.

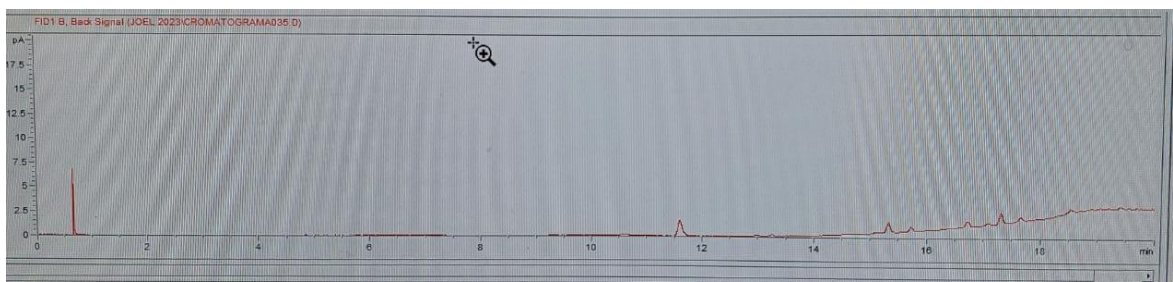


Figura 37: Cromatograma grupo 1, Réplica 1, Incubación 2.

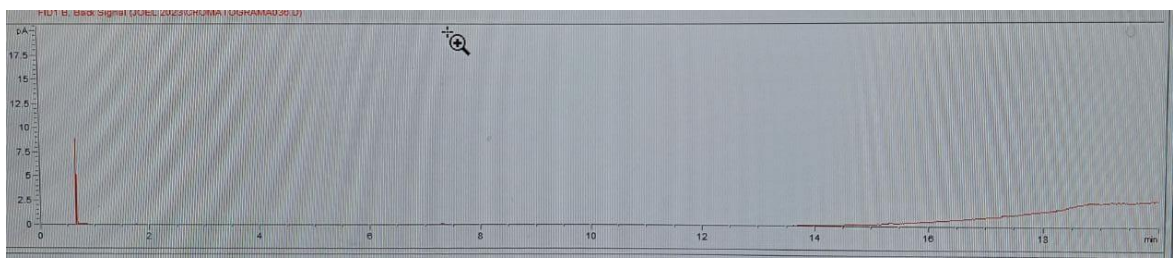


Figura 38: Cromatograma grupo 1, Réplica 2, Incubación 2.



Figura 39: Cromatograma grupo 1, Réplica 3, Incubación 2.

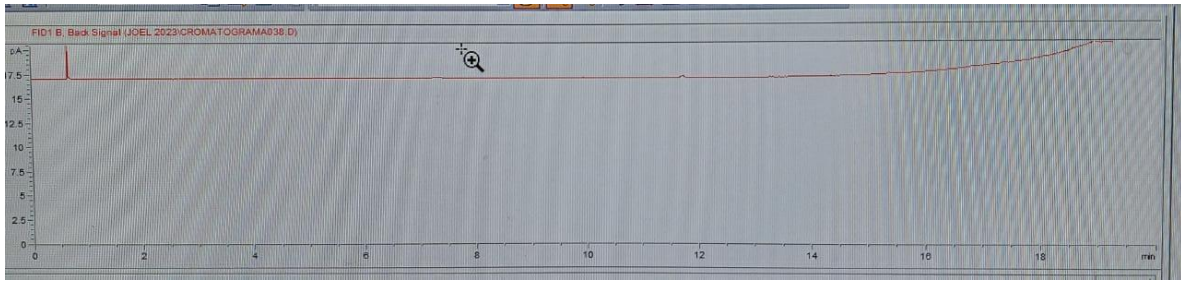


Figura 40: Cromatograma grupo 2, Réplica 1, Incubación 2.

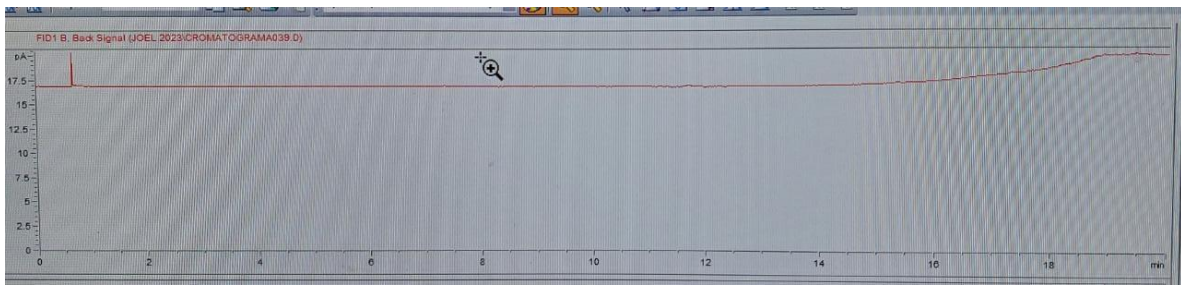


Figura 41: Cromatograma grupo 2, Réplica 2, Incubación 2.

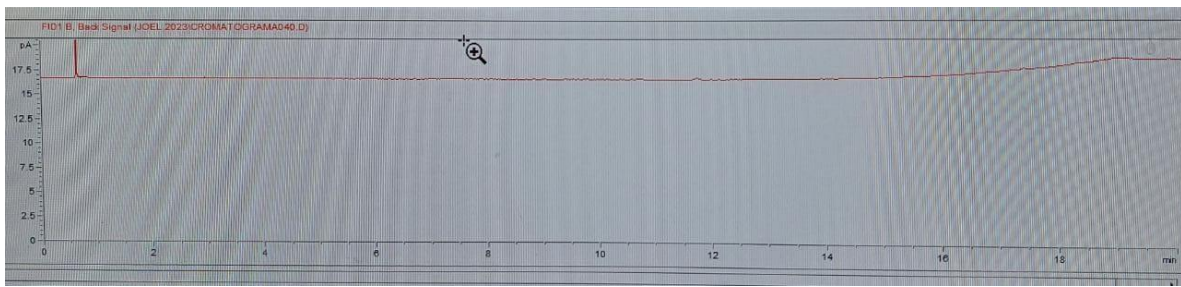


Figura 42: Cromatograma grupo 2, Réplica 3, Incubación 2.

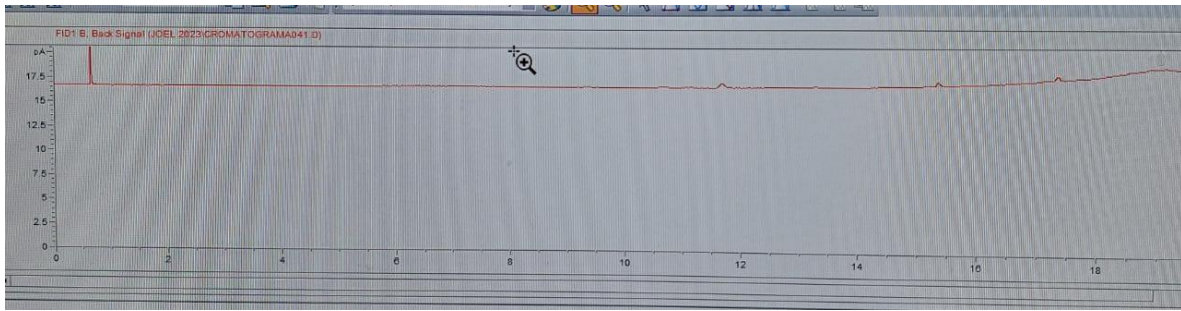


Figura 43: Cromatograma grupo 3, Réplica 1, Incubación 2.

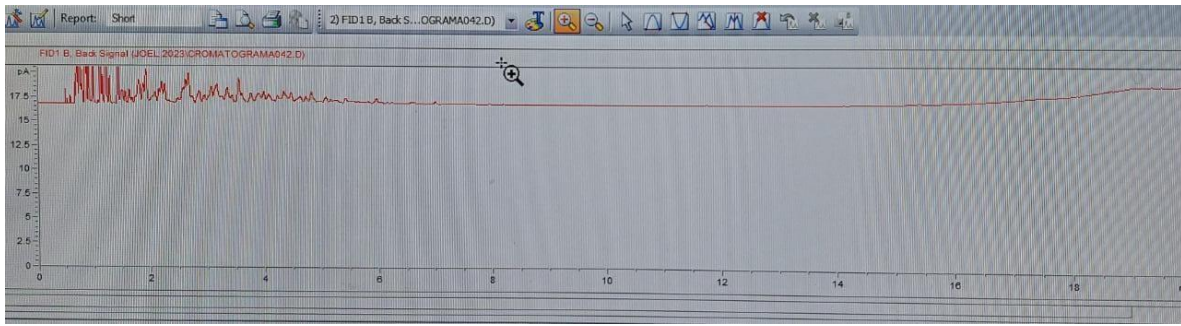


Figura 44: Cromatograma grupo 3, Réplica 2, Incubación 2.

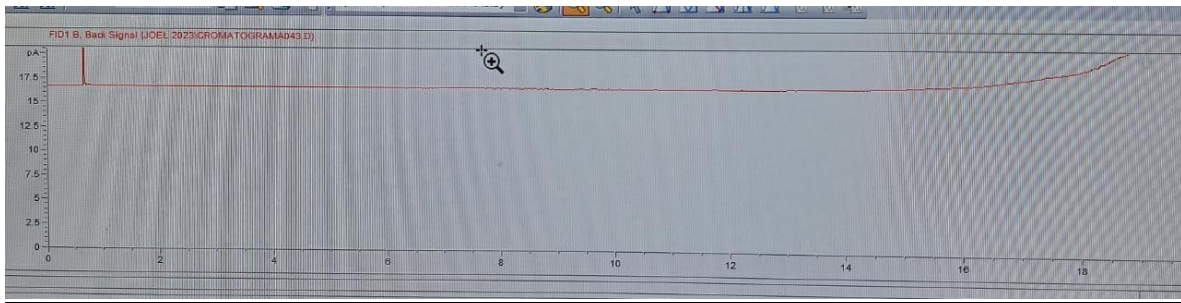


Figura 45: Cromatograma grupo 3, Réplica 3, Incubación 2.

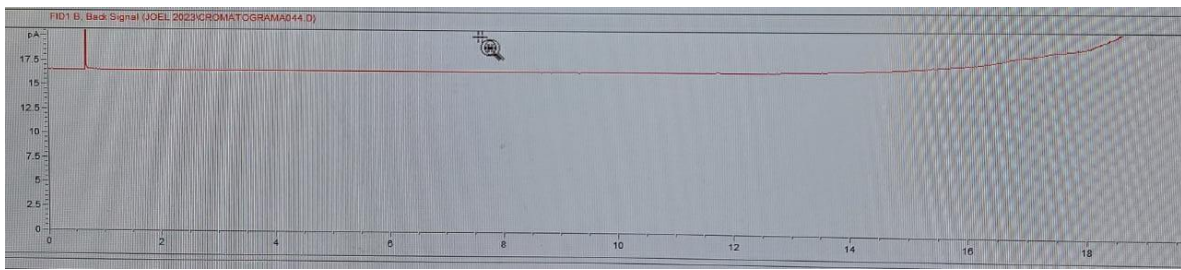


Figura 46: Cromatograma grupo 4, Réplica 1, Incubación 2.

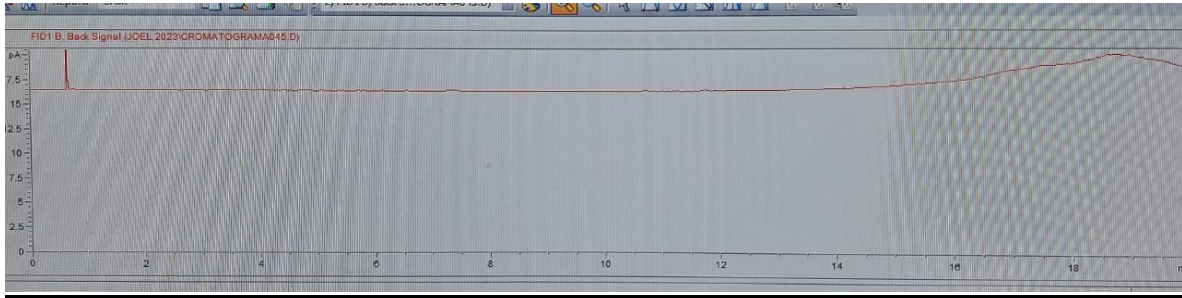


Figura 47: Cromatograma grupo 4, Réplica 2, Incubación 2.

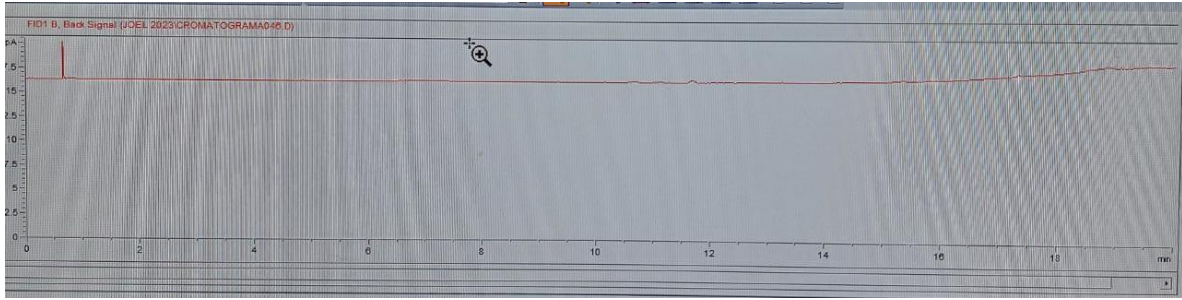


Figura 48: Cromatograma grupo 4, Réplica 3, Incubación 2.