

Diseño ingeniero y montaje de unidades experimentales para la biorremediación de residuos petrolizados a escala de banco

Engineering design and assembly of experimental units for the bioremediation of petroleum waste on a bench-scale

Omar Gutiérrez Benítez*¹,  <https://orcid.org/0000-0002-3644-6245>

David Javier Castro Rodríguez,²  <https://orcid.org/0000-0002-7609-3229>

Orlando Manuel Viera Ribot,¹  <https://orcid.org/0000-0003-4867-3020>

Enmanuel Casals Pérez,¹  <https://orcid.org/0000-0003-2385-8846>

Dayana Rabassa Rabassa,¹  <https://orcid.org/0000-0003-3392-6486>

¹Departamento de Gestión e Ingeniería Ambiental. Centro de Estudios Ambientales de Cienfuegos, Cuba.

²Politecnico di Torino (POLITO). Dipartimento Scienza Applicata e Tecnologia (DISAT). Centro Studi su Sicurezza, Affidabilità e Rischi (SAFER). Dottorando.

* Autor para la correspondencia. Correo electrónico: omar@gestion.ceac.cu

RESUMEN

La contaminación con hidrocarburos es una problemática nacional. Es una prioridad la investigación y desarrollo de tecnologías de biorremediación de residuos petrolizados. El Centro de Estudios Ambientales de Cienfuegos, de conjunto con el Instituto de Ciencias del Mar y el Instituto de Investigaciones Suelos, ejecutan el proyecto nacional "Evaluación de la ecotecnología de biopilas para la biorremediación de residuos petrolizados utilizando texturizantes locales". La determinación de la forma y tamaño de las unidades experimentales constituyó una demanda científica de la investigación a escala de banco. El objetivo fue diseñar y montar las unidades experimentales de biopilas a escala de banco para evaluar la eficacia de la

biorremediación de residuos petrolizados. Se realizó el estudio del estado del arte. Se consideraron criterios de diseño de la ecotecnología, los requerimientos del diseño de experimentos, y las características del polígono experimental. Se adoptó la forma de pirámide truncada. Se programó un libro de cálculos Excel para realizar el balance de masa a nivel de unidad experimental y determinar sus dimensiones. El montaje de las unidades experimentales corroboró la validez del diseño ingeniero. Se aportó una solución ingeniera a una demanda científica de la investigación, que se aplicó a escala de banco y se generalizará en el escalado de la ecotecnología.

Palabras clave: residuo petrolizado; biorremediación, biopila; unidad experimental; diseño.

ABSTRACT

Oil pollution is a national problem. Research and development of bioremediation technologies for petroleum waste is a priority. The Center for Environmental Studies of Cienfuegos, together with the Institute of Marine Sciences and the Institute of Soil Research, are executing the national project "Evaluation of biopile ecotechnology for bioremediation of petroleum waste using texturizers". The determination of the shape and size of the experimental units constituted a scientific demand for bench-scale research. The aim was to design and to assemble the experimental biopile units on a bench-scale to evaluate the effectiveness of bioremediation of petroleum waste. Was carried out the study of the state of the art. Were considered the design criteria of the ecotechnology, the requirements of the design of experiments, and the characteristics of the experimental site. Was adopted the shape of a truncated pyramid. Was programmed an Excel workbook to perform the mass balance at the experimental unit level and determine its dimensions. The assembly of the experimental units confirmed the validity of the engineering design. An ingenious solution was provided to a scientific demand for research, which was applied on a bench-scale and will become generalized in the scale-up of ecotechnology.

Key words: petroleum waste; bioremediation; biopile; experimental unit; design.

Recibido: 19/11/2019

Aceptado: 20/03/2020

Introducción

Entre los desafíos que enfrenta el mundo para preservar y rehabilitar el medio ambiente es una prioridad la contaminación. La Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible reconoce metas para su reducción.⁽¹⁾ En Cuba también es un objetivo estratégico.⁽²⁾

La presencia de hidrocarburos en el suelo modifica sus características y consecuentemente pueden afectar al medio ambiente y la salud humana.⁽³⁾

En Cuba se reconoce los derrames de hidrocarburos como uno de los principales peligros de origen tecnológico, y se establece implementar acciones para la prevención de desastres, incluidas acciones de respuesta y recuperación.⁽⁴⁾

No obstante, el manejo de residuos petrolizados y suelos contaminados con hidrocarburos debido a derrames de hidrocarburos, desechos oleosos de fondajes de tanques de petróleos y sus derivados, de residuos y lodos, de trampas de hidrocarburos y sistemas de tratamiento de aguas residuales, y de residuos pasivos contaminados es una problemática de alcance nacional, que pueden provocar una amplia variedad de impactos.⁽⁵⁾

La biorremediación es un método de tratamiento apropiado para la degradación de hidrocarburos.^(6,7,8,9,10) La ecotecnología de biopilas es una tecnología ex situ, que es pertinente para la biorremediación de residuos petrolizados y suelos contaminados con hidrocarburos.^(11,12,13)

Las biopilas son una forma de composteo en el cual se forman pilas de suelo, residuos petrolizados y materiales texturizantes, acondicionantes y/o mejoradores, ocurriendo un proceso biológico controlado donde los contaminantes orgánicos son biodegradados y mineralizados. Se logra estimular la actividad microbiana mediante

la adición de nutrientes, la aireación y la humedad. Estos materiales son residuos orgánicos, de origen agrícola o industrial, que aportan nutrientes, flora microbiana, mejoran la porosidad y la aireación, y mantienen los niveles de humedad requeridos; y que contribuyen a la degradación de hidrocarburos. ^(14,15,16)

Es una prioridad la investigación y desarrollo de tecnologías de biorremediación de residuos petrolizados. El Centro de Estudios Ambientales de Cienfuegos, de conjunto con el Instituto de Ciencias del Mar y el Instituto de Investigaciones Suelos, ejecutan el proyecto nacional "Evaluación de la ecotecnología de biopilas para la biorremediación de residuos petrolizados utilizando texturizantes locales", en lo adelante proyecto Biopilas, perteneciente al Programa de Ciencia, Tecnología e Innovación de Interés Nacional "Uso sostenible de los componentes de la Diversidad Biológica en Cuba".

La determinación de la forma y tamaño de las unidades experimentales constituyó una demanda científica de la investigación a escala de banco.

El objetivo fue diseñar y montar las unidades experimentales de biopilas a escala de banco, para evaluar la eficacia de la biorremediación de residuos petrolizados.

Materiales y métodos

En la figura 1 se muestra el procedimiento metodológico utilizado en el protocolo experimental del proyecto Biopilas. La investigación se realizó a escala de banco.

El fin de este procedimiento fue evaluar la biodegradación de residuos petrolizados utilizando diferentes texturizantes en la ecotecnología de biopilas a escala de banco y elegir el texturizante idóneo para ser utilizados en la optimización y escalado de la ecotecnología.

El procedimiento fue integrado por varios pasos, donde se aplicaron las herramientas ingenieriles bajo el principio de la convergencia metodológica.

A continuación se detallan los dos primeros pasos, lo cual es necesario para la comprensión del diseño ingeniero y montaje de unidades experimentales.

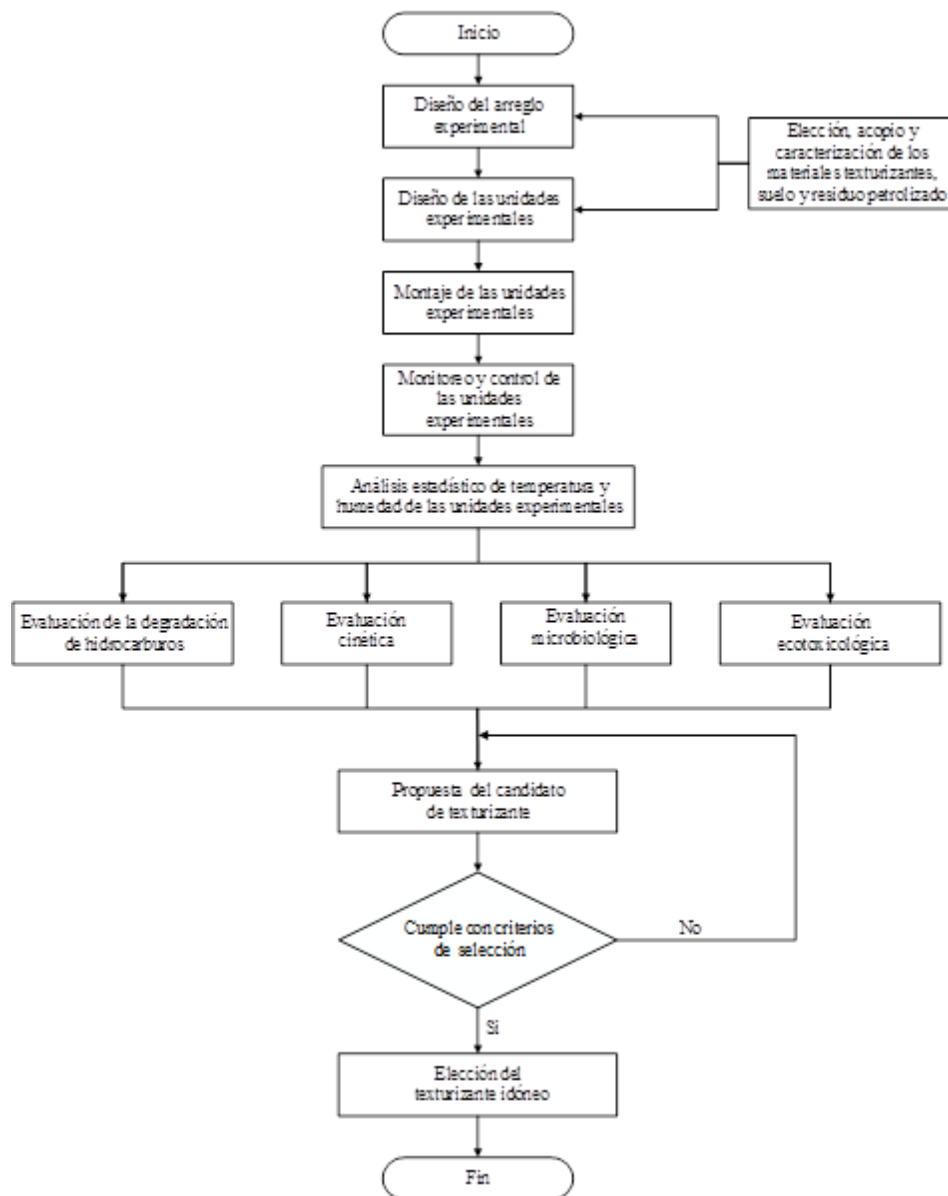


Fig. 1- Procedimiento metodológico utilizado en el proyecto Biopilas

Elección, acopio y caracterización de los materiales

Se utilizó un suelo característico de la región central de Cuba, de bajo potencial agrícola. Se realizó caracterización física y química para determinar la densidad aparente, composición de carbono (C), nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), humedad y pH.

Se utilizó un residuo petrolizado sólido proveniente la limpieza del fondo de un sedimentador de la planta de tratamiento de residuales de una Refinería de Petróleo.

Se realizó la caracterización física y química para determinar la densidad aparente, Grasas y Aceites (GyA), Hidrocarburos Totales del Petróleo (HTP) y humedad.

Fueron utilizados seis tipos de texturizantes: bagazo, cachaza, serrín, pulpa de café, estiércol vacuno, y residuos de *Thalassia testudinum*. Se realizó caracterización física y química para determinar la densidad aparente, composición de carbono (C), nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K) y humedad.

Diseño de experimentos

El sistema experimental utilizado, atendiendo a criterios de interés en el orden investigativo, económico y logístico, resultó un modelo multifactorial categórico, con dos factores experimentales (tratamientos y tiempo), y dos variables de respuesta (GyA e HTP). Cada tratamiento se replicó en tres ocasiones más. ⁽¹⁷⁻¹⁸⁾

El factor categórico “tratamientos” estuvo constituido por siete tratamientos. Seis de ellos, formados por una mezcla de suelo, hidrocarburo y un tipo de texturizante. El otro tratamiento utilizado fue el nombrado “control”, que estuvo constituido solamente por la mezcla de suelo e hidrocarburo.

El factor aleatorio fue la variable “tiempo”, con cinco niveles correspondientes a los momentos de muestreo 0, 60, 90, 150 y 240 días, seleccionados atendiendo a criterios cinéticos de crecimiento de microorganismos y de degradación de hidrocarburos. El arreglo experimental consistió en 28 unidades experimentales.

Diseño ingeniero de las unidades experimentales

Se consideraron principios y criterios de diseño establecidos en el estado del arte, ^(19,20,21,22,23,24,25) tales como:

- Escala de la investigación y principios de escalado.
- Aplicabilidad de los principios básicos de diseño del compostaje tradicional.
- Tipo de texturizantes, acondicionantes y/o mejoradores.
- Características de los sistemas de compostaje aeróbicos.
- Morfología de biopilas con una geometría de pirámide truncada.
- El ángulo de reposo o inclinación de la masa de la biopila.
- Alturas de las unidades experimentales utilizadas a escala de banco.

- Sistema cerrado o abierto.

Para el diseño de las unidades experimentales en esta investigación se tuvieron en cuentas los siguientes aspectos:

- Requerimientos del arreglo experimental, según resultados del diseño de experimentos.
- Sistema cerrado para el polígono experimental, para lo cual se adaptó una nave con piso de hormigón, cubierta de fibrocemento y ventanal para ventilación. La puerta está enrejada para limitar los accesos y a la vez favorecer la ventilación. Las dimensiones del polígono experimental fueron 14,35 m x 5,70 m.
- Las dimensiones de las bandejas de polietileno para el montaje de una unidad experimental fueron de 1,10 m x 0,95 m.
- Caracterización física y química de los materiales componentes de la biopila.
- Masa total de muestra destructiva requerida para los ensayos físico-químicos y microbiológicos durante la ejecución del experimento.
- Masa total de muestra requeridas para los ensayos ecotoxicológicos en el tiempo 0 de la ejecución del experimento.
- Relación masa total inicial / masa total final de la unidad experimental.
- La geometría de la unidad experimental se asumió como una pirámide truncada, con ángulo de 45° y altura de 20,00 cm.

Se implementó el protocolo de diseño ingeniero programado en un libro de cálculo de Microsoft Office Excel. Incluyó el balance de masa a nivel de cada unidad experimental para determinar la masa de cada componente de la biopila y posteriormente determinar las dimensiones de las mismas. Incluyó:

- Determinación de la masa total inicial seca de la unidad experimental.
- Determinación de la masa total de residuo petrolizado en la unidad experimental seca, a partir de las concentraciones de las fracciones de hidrocarburos (G y A, HTP) obtenidas en la caracterización del residual y de los requerimientos de experimentación prefijados para las condiciones iniciales.
- Definición del porcentaje masa de los agentes de volumen o texturizantes en la unidad experimental seca.

- Determinación de la masa total de suelo en la unidad experimental seca.
- Determinación del volumen inicial de los componentes y de la unidad experimental seca.
- Determinación de las dimensiones del largo y ancho de la base, que satisfagan los requerimientos establecidos para el diseño. Se programó un procedimiento de cálculo iterativo mediante la ecuación del volumen del cuerpo geométrico ⁽²⁶⁾ para verificar que la altura calculada fuera igual a la altura de diseño.

$$V = \frac{1}{3} h (A_B + \sqrt{A_B A_b} + A_b) \quad (1)$$

Donde:

V es el volumen de una pirámide truncada (cm³).

A_B es el área de la base mayor (cm²).

A_b es el área de la base menor (cm²).

h es la altura (cm).

- Determinación de la masa total de las enmiendas de nutrientes necesarios en solución acuosa según las proporciones requeridas de C:N:P:K (100:10:1:0,1) y porcentaje de humedad, según la literatura. ^(13, 24)

Se utilizó un procedimiento aleatorio simple para intercalar cada una de las unidades experimentales correspondientes a los tratamientos y sus réplicas. Posteriormente, se asignaron números consecutivos para la distribución en planta de las unidades experimentales aplicando un patrón de S.

Montaje de las unidades experimentales

El residuo petrolizado acopiado se depositó en bandejas y se procedió al desmenuce manual de los grumos. Posteriormente el residuo petrolizado se introdujo en dos partes en un tanque tapado de manera segura, el que se colocó horizontalmente y se hizo rodar como tambor, para homogenizar contenido en el interior del tanque.

Por su parte, el suelo previamente tamizado, se descompactó y homogenizó con medios manuales como guatacas y palas.

Posteriormente se procedió al pesaje de la masa de los componentes de la mezcla para la estabilización (suelo-residuo petrolizado) en correspondencia con lo diseñado

para cada unidad experimental. Luego fueron acarreados hasta el polígono experimental y mezclados con métodos manuales mediante un vagón de construcción y guatacas. Se procedió a mezclar hasta lograr que la textura de la mezcla fuera homogénea haciéndose una valoración visual del color (parejo en toda la masa) y ausencia de grumos en la mezcla. Una vez homogenizada la mezcla se introdujo dentro de bolsas de polietileno de 25,00 x 30,00 cm, se cerraron las mismas y se depositaron en bandejas de polietileno. Se mantuvo tapado 12 días para la estabilización del sistema. ⁽²⁷⁻²⁸⁾

Transcurrido el período de estabilización se procedió a destapar las bolsas y añadir al sistema residuo petrolizado-suelo la cantidad de texturizante requerida según el diseño. La homogenización de esta mezcla se logró en condiciones análogas a la anterior. Una vez lograda la nueva mezcla se volteó el vagón en las bandejas de polietileno, que previamente se había cubierto con bolsas de polietileno. La mezcla final de todos los componentes fue homogenizada.

Posteriormente se le tomó a cada unidad experimental una muestra para la determinación del % de humedad en la unidad experimental seca.

A partir de este resultado, por balance de masa, se determinó la masa y volumen de agua a añadir para lograr el % humedad final requerida (20 %).

Seguidamente se añadieron las enmiendas de nutrientes en solución acuosa en correspondencia con las proporciones requeridas. El mezclado continuó de forma manual utilizando espátulas como herramientas para romper los grumos y homogenizar.

Finalmente, se realizó el conformado de las unidades experimentales en correspondencia con las propuestas de diseño para cada tratamiento. Además, se construyeron y utilizaron plantillas para la estandarización de las relaciones entre las dimensiones de la base, altura y ángulo de reposo entre las réplicas de cada tratamiento.

Resultados y discusión

Diseño ingeniero de las unidades experimentales

La composición química del residual petrolizado de partida contenía 186000 mg/kg y 78000 mg/kg de G y A e HTP respectivamente. La composición química de diseño de las unidades experimentales fue de 22809 mg/kg y 9565 mg/kg de G y A e HTP respectivamente. El % masa de texturizante en la biopila fue del 8 %. La composición en masa de los componentes de cada uno de los tratamientos investigados y por consiguiente de todas las unidades experimentales fue similar.

Los resultados del balance de masa arrojaron la siguiente composición en masa para cada unidad experimental:

- Masa total: 38,00 kg
- Masa de residuo petrolizado: 4,66 kg
- Masa de texturizante. 3,04 kg
- Masa de suelo: 30,30 kg

Los resultados del diseño ingeniero, obtenido a partir del balance de masa a nivel de cada unidad experimental, se muestran en la tabla 1.

Tabla 1- Dimensiones de las unidades experimentales para cada tratamiento

Parámetros	Tratamientos						
	Estiércol vacuno	Bagazo	Cachaza	Serrín	<i>Thalassia</i>	Pulpa de café	Control
Altura (cm)	20	20	20	20	20	20	20
Ángulo de reposo (grados)	45	45	45	45	45	45	45
Longitud de la base inferior (cm)	65	84	70	72	70	73	64
Ancho de la base inferior (cm)	54	70	58	59	57	60	53
Longitud de la base superior (cm)	25	44	30	32	30	33	24
Ancho de la base superior (cm)	14	30	18	19	18	20	13
Relación Longitud/ Ancho de la base inferior	1,20	1,20	1,20	1,22	1,22	1,21	1,20

En la figura 2 se muestra la distribución en planta aleatorizada de las unidades experimentales, según los resultados del diseño ingeniero.

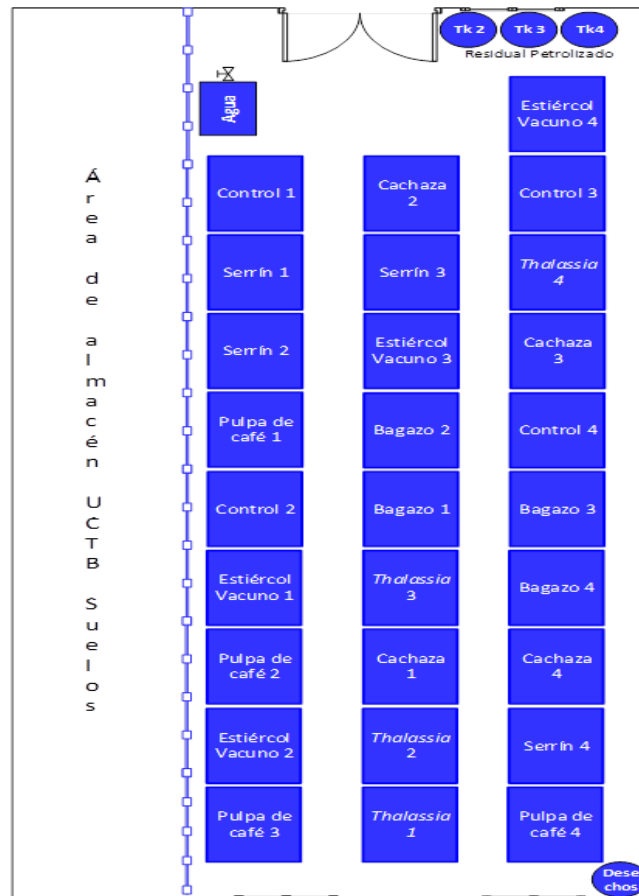


Fig. 2- Vista en planta de las unidades experimentales en el polígono experimental

Montaje de las unidades experimentales

En la figura 3 se muestran imágenes de las etapas de montaje de las unidades experimentales: homogenización del residual petrolizado (a), mezcla (b), estabilización (c), conformado (d), estandarización (e) y distribución en planta (f).



Fig. 3- Imágenes de las etapas de montaje de las unidades experimentales. Fuente: Autores, fotografías del polígono experimental

Conclusiones

1. Las demandas científicas de la investigación del proyecto Biopilas fueron satisfechas con los protocolos para el diseño ingeniero y el montaje de las unidades experimentales. Se implementaron varias herramientas ingenieriles bajo el principio de la convergencia metodológica.
2. El montaje de las unidades experimentales a escala de banco corroboró la validez del diseño ingeniero.
3. Los protocolos para el diseño ingeniero y el montaje de las unidades experimentales se generalizaron en la optimización y escalado de la ecotecnología.

Referencias Bibliográficas

1. UNITED NATIONS ORGANIZATION. *Transforming Our World: The 2030 Agenda for Sustainable Development A/RES/70/1* [en línea]. United Nations Organization, 2015 [Consulta: 23 de enero de 2018]. Disponible en: https://www.un.org/ga/search/view_doc.asp?symbol=A/RES/70/1&Lang=E.
2. MINISTERIO DE CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE. *Estrategia Ambiental Nacional 2016-2020* [en línea]. La Habana, Cuba: Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente (CITMA), 2015. [Consulta: 23 de enero de 2018]. Disponible en: <http://repositorio.geotech.cu/jspui/bitstream/1234/2727/1/Estrategia%20Ambiental%20Nacional%202016-2020.pdf>
3. COCÂRTĂ, Diana Mariana, STOIAN, Mihaela Alexandra, KARADEMIR, Aykan. *Crude Oil Contaminated Sites: Evaluation by Using Risk Assessment Approach. Sustainability* [en línea]. 2017. **9**, 1365 [Consulta: 15 diciembre 2017]. ISSN 2071-1050. Disponible en: www.mdpi.com/journal/sustainability/doi:10.3390/su9081365
4. CONSEJO DE DEFENSA NACIONAL. *Proyecto Directiva 1 del Presidente del Consejo de Defensa Nacional para la reducción de desastres, inédito*. La Habana, Cuba: Consejo de Defensa Nacional (CDN). 2018.
5. GONZÁLEZ GARCÍA, Alejandro. *Evaluación de la eficacia de la ecotecnología de biopilas para la biorremediación de residuos petrolizados a escala semipiloto utilizando diferentes texturizantes*. Tesis presentada para optar por el título de ingeniero químico, inédita. O. Gutiérrez Benítez, D. J. Castro Rodríguez y O. M. Viera Ribot (dir.). Universidad de Cienfuegos, 2019.
6. EWEIS Juana B., ERGAS, Sarina J., CHANG, Daniel P. y SCHROEDER, Edward D. *Bioremediation Principles*. United States of America: McGraw-Hill International, 1998. 296 p. ISBN 10: 0070577323, ISBN-13: 9780070577329.
7. BOSCO, Francesca, CASALE, Annalisa, MAZZARINO, Italo, GODIO, Alberto, RUFFINO, Barbara, MOLLEA, Chiara, CHIAMPO, Fulvia. Microcosm evaluation of bioaugmentation and biostimulation efficacy on diesel-contaminated soil. *J Chem Technol Biotechnol* [en línea]. 2019, Published online in Wiley Online Library.

- [Consulta: 15 octubre de 2019]. ISSN 1097-4660. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jctb.5966>
8. DE OLIVEIRA SANTOS, João Victor, ALVES FERREIRA, Ylanna Larissa, DE SOUZA SILVA, Leticia Leôncio, DE LACERDA BUARQUE, Ingrid Miranda, BRANDÃO PALÁCIO, Sarah, FERRO CAVALCANTI, Isabella Macário. *Use of bioremediation for the removal of petroleum hydrocarbons from the soil: an overview*. International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology [en línea]. 2018, septiembre-octubre, **3** (5). 1831-1838. [Consulta: 18 febrero 2019]. ISSN 2456-1878. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.22161/ijeab/3.5.35>
 9. AL-HAWASH, Adnan B., DRAGH, Maytham A., LI, Shue, ALHUJAILY, Ahmad, ABBOOD Hayder, A., ZHANG, Xiaoyu, FUYING, Ma. *Principles of microbial degradation of petroleum hydrocarbons in the environment*. The Egyptian Journal of Aquatic Research [en línea]. 2018, **44** (2). 71-76. [Consulta: 18 febrero 2019]. ISSN: 1687-4285. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1687428518300244>
 10. PÉREZ, Josefina Pérez, VIGUERAS, Sergio Esteban, ZAMUDIO, Enid Zamudio, RIVERA, Noemí Araceli, CALVA, Graciano. *Bioremediation of soils from oil spill impacted sites using Bioaugmentation with biosurfactants producing, native, Free-living nitrogen fixing bacteria*. Rev. Int. Contam. Ambie. [en línea]. 2017,**33**.105-114. [Consulta: 3 marzo 2018]. ISSN: 0188-4999. Disponible en: https://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/view/RICA.2017.33.es_p01.09/46648
 11. ERCOLI, Eduardo. *Biorremediación de suelos: Desde el concepto a su aplicación*. Lima, Perú: Foro Internacional Supervisión y fiscalización ambiental en el sector hidrocarburos. 2008. [Consulta: 10 de febrero de 2017]. Disponible en: <http://www.osinerg.gob.pe/newweb/pages/GFH/ForoUMAL/tema5.pdf>
 12. VOLKE SEPÚLVEDA, Tania y VELASCO TREJO, Juan Antonio. *Tecnologías de remediación para suelos contaminados*. México: Instituto Nacional de Ecología (INE-SEMARNAT), 2002. 64 p. ISBN: 968-817-557-9.

13. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *How To Evaluate Alternative Cleanup Technologies For Underground Storage Tank Sites. A Guide For Corrective Action Plan Reviewers. Chapter IV Biopiles EPA 510-B-17-003. Land And Emergency Management 5401R* [en línea]. Washington D. C.: United States Environmental Protection Agency (EPA), 2017. [Consulta: 8 de marzo de 2018]. Disponible en: https://www.epa.gov/sites/production/files/2014-03/documents/tum_ch4.pdf
14. SNELGROVE, Jessica. *Biopile bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soils from a Sub-Arctic site*. A thesis submitted to the Faculty of Graduate Studies and Research in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Engineering. Department of Civil Engineering and Applied Mechanics, McGill University, Montreal, Canada. 2010. [Consulta: 5 de mayo de 2018]. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/fdb6/01ca75dd6d621962f876a4e6f89e04976ea2.pdf>
15. VELASCO, Juan Antonio, VOLKE, Tania Lorena. *El composteo: Una alternativa tecnológica para la biorremediación de suelos en México*. Gaceta Ecológica [en línea]. 2003, enero-marzo, 66. 41-53 [Consulta: 3 marzo 2018]. ISSN: 1405-2849. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/539/53906604.pdf>
16. ITURBE, R., FLORES, C., CHÁVEZ, C., ROLDÁN, A. *Saneamiento de suelos contaminados con hidrocarburos mediante biopilas*. Ingeniería, Investigación y Tecnología [en línea]. 2002, 1. 25-35 [Consulta: 3 marzo 2018]. ISSN: 2594-0732. Disponible en: <https://www.revistaingenieria.unam.mx/numeros/2002/v03n1-04.pdf>
17. MONTGOMERY, Douglas C. *Design and Analysis of Experiments*. Ninth edition, Arizona State: John Wiley & Sons, Inc., 2017. 640 p. ISBN: 978-1-119-32093-7.
18. GUTIÉRREZ PULIDO, Humberto y DE LA VARA SALAZAR, Roman. *Análisis y diseño de experimentos*. Tercera edición. México, DF: McGRAW-HILL/Interamericana Editores, S.A. de C.V., 2012. 506 p. ISBN: 978-607-15-0725-9.
19. MANAN Musaalbakri Abdul, WEBB Colin. *Design Aspects of Solid State Fermentation as Applied to Microbial Bioprocessing*. J Appl Biotechnol Bioeng [en

- línea]. 2017, **4**(1). 1-25 [Consulta: 19 abril de 2018]. ISSN: 2572-8466. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/320489032_Design_Aspects_of_Solid_State_Fermentation_as_Applied_to_Microbial_Bioprocessing
20. BACHERT, Carsten, BIDLINGMAIER, Werner y WATTANACHIRA, Suraphong. *Open windrow composting manual*. Germany: ORBIT e. V., Weimar, 2008, 68 p. ISBN 3-935974-23-X.
 21. GONZÁLEZ CASTELLANOS, Roberto A. *Principios básicos de escalado*. Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos, Cuba: Editorial Universitaria, 2000. 139 p. ISBN 959-16-0112-3.
 22. ROMÁN, Pilar, MARTÍNEZ, María M. y PANTOJA Alberto. *Manual de compostaje del agricultor: Experiencias en América Latina*. Santiago de Chile: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Oficina Regional para América Latina y el Caribe, 2013. 112 p. ISBN 978-92-5-307844-8.
 23. MARTINEZ ALVAREZ, Lucas Manuel, RUBERTO, Lucas Adolfo Mauro, LO BALBO Alfredo, MAC CORMACK, Walter Patricio. *Bioremediation of hydrocarbon-contaminated soils in cold regions: Development of a pre-optimized biostimulation biopile-scale field assay in Antarctica*. *Sci Total Environ* [en línea]. 2017, **590-591**. 194-203 [Consulta: 19 abril de 2018]. ISSN: 0048-9697. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969717304631>
 24. BATTELLE-NFESC. *Biopile design and construction manual. Technical Memorandum TM-2189-ENV* [en línea]. BATTELLE Environmental Restoration Department and Naval Facilities Engineering Service Center (NFESC), 1996. [Consulta: 8 de marzo de 2018]. Disponible en: <https://clu-in.org/download/techfocus/bio/Biopile-design-and-construction-1996-tm-2189.pdf>
 25. WU, Guozhong, COULON, Frédéric. *Protocol for Biopile Construction Treating Contaminated Soils with Petroleum Hydrocarbons. Pollution Mitigation and Waste Treatment Applications* [en línea]. 2015. [Consulta: 29 mayo 2017]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/300247512_Protocol_for_Biopile_Constr

uction Treating Contaminated Soils with Petroleum Hydrocarbons/citation/download

26. POLYANIN, Andrei D. y MANZHIROV, Alexander V. *Handbook of Mathematics for engineers and scientists*. United States of America: Taylor & Francis Group, 2007. 1543 p. ISBN- 10: 1- 58488- 502- 5, ISBN- 13: 978- 1- 58488- 502- 3.
27. FLORES LÓPEZ, José Samuel, BENITES SANTISTEBAN, Julio César. *Efecto del estiércol cuy, porcino y vacuno en la biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburo de diésel en terrarios*. Tesis para optar el título de licenciado en biología-microbiología-parasitología. Universidad Nacional "Pedro Ruíz Gallo", Lambayeque, Perú. 2015. [Consulta: 2 de mayo de 2018]. Disponible en: <http://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/UNPRG/832/BC-TES-4114.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
28. PARDO, Jenny Liliana, PERDOMO, María Carolina, BENAVIDES, Joaquín L. *Efecto de la adición de fertilizantes inorgánicos compuestos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con petróleo*. Ingeniería Ambiental y Sanitaria [en línea]. 2004, enero-diciembre, 2 (2). 40-49 [Consulta: 19 abril de 2018]. ISSN: 1794-2370. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/411/41100205.pdf>

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

Contribución de los autores

MSc. Omar Gutiérrez Benítez: Elaboración de los protocolos para el diseño ingeniero y el montaje de las unidades experimentales. Ejecución y validación del balance de masa a nivel de unidades experimentales y de los cálculos ingenieros. Participación en el acondicionamiento del polígono experimental y la campaña de

montaje de las unidades experimentales. Escritura y corrección del manuscrito del artículo.

MSc. David Javier Castro Rodríguez: Elaboración del protocolo para el diseño de experimentos. Planeación y realización del diseño de experimentos. Elaboración de la distribución en planta. Participación en el acondicionamiento del polígono experimental y en la campaña de montaje de las unidades experimentales. Oponencia del manuscrito del artículo.

MSc. Orlando Manuel Viera Ribot: Elaboración de otros protocolos utilizados. Caracterización física y química de los componentes de las unidades experimentales. Participación en el acondicionamiento del polígono experimental y en la campaña de montaje de las unidades experimentales. Revisión del manuscrito del artículo.

Ing. Enmanuel Casals Pérez: Participación en la elaboración de otros protocolos utilizados. Participación en el acondicionamiento del polígono experimental y en la campaña de montaje de las unidades experimentales. Revisión del manuscrito del artículo.

MSc. Dayana Rabassa Rabassa: Participación en la elaboración de otros protocolos utilizados. Participación en el acondicionamiento del polígono experimental y en la campaña de montaje de las unidades experimentales. Revisión del manuscrito del artículo.