

UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK

FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES

Trabajo de Fin de Carrera previo a la obtención del Título de
Ingeniera Ambiental

**DISEÑO DE UN PROCESO BIOLÓGICO DE DEGRADACIÓN PARA LODOS
RESIDUALES PROCEDENTES DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS EN
UNA ENVASADORA DE GLP**

Autor:

María Fernanda Chávez

Director:

Ing. Katty Coral

Quito-Ecuador

2012

DEDICATORIA

A mis padres y hermanos, por todo su apoyo
y motivación constante.

CONTENIDO

CAPITULO I: INTRODUCCION.....	3
1.1. Introducción	3
1.2. Planteamiento del Problema	5
CAPITULO II: MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Gas licuado de petróleo (GLP).....	5
2.1.1. Principales componentes del Gas Licuado de Petróleo (GLP)	6
2.1. Biorremediación	6
2.1.1. Antecedentes:	7
2.2. Métodos de biorrecuperación.....	8
2.2.1. Tratamiento <i>In situ</i> :.....	8
2.2.2. Tratamiento <i>Ex situ</i> :.....	9
2.3. Técnicas de biorrecuperación	9
2.3.1. Compostaje	9
2.3.2. Biorreactores	10
2.3.3. Land farming.....	10
2.3.4. Tratamiento en lechos	11
2.3.5. Bioventilación	11
2.4. Factores que inciden en la biorremediación	12
2.5. Referencias metodológicas.....	14
2.5.1. Atenuación natural	15
2.5.2. Bioestimulación	15
2.5.3. Bioaumentación	15
2.6. Ventajas y Desventajas de la biodegradación.....	16
2.7. Contaminantes Orgánicos	17
2.7.1. Metabolismo de la materia orgánica	18
2.8. Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH).....	18
2.9. Marco Legal	19
2.9.1. Definición legal del contaminante caso de estudio.....	19
2.9.2. Sugerencia de tratamiento y disposición final	19

CAPITULO III: METODOLOGÍA	20
3.1. Aspectos del residuo objeto de estudio	20
3.2. Selección de la muestra	21
3.3. Caracterización fisicoquímica	21
3.3.1. Toma de muestras	21
3.3.2. Determinación de materia orgánica	21
3.3.3. Determinación de TPH	22
3.3.4. Determinación de comunidades microbianas autóctonas	24
3.3.5. Determinación de Nutrientes	29
3.3.6. Medición de pH.....	29
3.3.7. Medición de Temperatura	30
3.3.8. Determinación de humedad	30
3.4. Metodología.....	31
3.4.1. Definición de la técnica	31
3.4.2. Adición de fuentes de carbono y energía.....	32
3.4.3. Adición de nutrientes:	33
3.4.4. Bioventilación:	34
3.4.5. Control de parámetros:.....	34
3.4.6. Características del lecho de tratamiento	35
3.5. Proceso realizado.....	36
 CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	 37
4.1. Datos	37
4.1.1. Lecho1 (Testigo).....	37
4.1.2. Lecho 2.....	39
4.1.3. Lecho 3.....	41
4.1.4. Lecho 4.....	43
4.2. Cálculos	45
4.2.1. Humedad	45
4.2.2. Contenido de materia orgánica	46
4.2.3. Hidrocarburos totales de Petróleo.....	47
4.2.4. Determinación de comunidades microbianas	48
4.2.5. Nutrientes.....	49
4.3. Análisis Estadístico de resultados de Hidrocarburos Totales de Petróleo.....	50
4.3.1. Lecho 1 (Testigo).....	50
4.3.2. Lecho 2.....	51
4.3.3. Lecho 3.....	53
4.3.4. Lecho 4.....	55

4.4. Porcentaje comparativo de remoción de Hidrocarburos Totales de Petróleo.....	58
4.5. Modelo matemático por lecho de tratamiento	58
4.5.1. Lecho 1.....	58
4.5.2. Lecho 2.....	59
4.5.3. Lecho 3.....	59
4.5.4. Lecho 4.....	61
4.6. Discusión	61
 CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	 62
6.1. Conclusiones	62
6.2. Recomendaciones:	64
 CAPITULO VI: REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA	 65
 ANEXOS	 68
Anexo No. 1: Control de parámetros Mayo 2012.	69
Anexo No. 2: Control de parámetros Junio 2012.....	70
Anexo No. 3: Control de parámetros Julio 2012.....	71
Anexo No. 4: Informe de análisis de TPH 1.....	78
Anexo No. 5: Informe de análisis de TPH 2.....	79
Anexo No. 5: Informe de análisis de nutrientes.....	80
Anexo No. 6: Método EPA 418.1.....	81
Anexo No. 7: Método EPA 9045D.....	84

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla No. 1: Límites máximos permisibles.....	19
Tabla No. 2: Clasificación de desechos de operaciones hidrocarburíferas.....	20
Tabla No. 3: Nutrientes determinados en la muestra.....	29
Tabla No. 4: Dosificación de fructosa por lecho de tratamiento.....	33
Tabla No. 5: Frecuencia de mediciones.....	34
Tabla No. 6: Frecuencia de dosificaciones.....	35
Tabla No. 7: Dimensión de los lechos de tratamiento.....	35
Tabla No. 8: Datos Lecho 1 (Testigo).....	37
Tabla No. 9: Datos Lecho 2.....	39
Tabla No. 10: Datos Lecho 3.....	41
Tabla No. 11: Datos Lecho 4.....	43
Tabla No. 12: Análisis Nutrientes.....	59
Tabla No. 13: TPH Lecho 1.....	50
Tabla No. 14: TPH Lecho 2.....	52
Tabla No. 15: TPH Lecho 3.....	54
Tabla No. 16: TPH Lecho 4.....	56

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico No. 1: pH Lecho 1	38
Gráfico No. 2: Temperatura Lecho 1	38
Gráfico No. 3: Humedad Lecho 1	39
Gráfico No. 4: pH Lecho 2	40
Gráfico No. 5: Temperatura Lecho 2	40
Gráfico No. 6: Humedad Lecho 2	41
Gráfico No. 7: pH Lecho 3	42
Gráfico No. 8: Temperatura Lecho 3	42
Gráfico No. 9: Humedad Lecho 3	43
Gráfico No. 10: pH Lecho 4	44
Gráfico No. 11: Temperatura Lecho 4	44
Gráfico No. 12: Humedad Lecho 4	45
Gráfico No. 13: Curva de Calibración	47
Gráfico No. 14: TPH Lecho 1	51
Gráfico No. 15: TPH Lecho 2	53
Gráfico No. 16: TPH Lecho 3	55
Gráfico No. 17: TPH Lecho 4	57
Gráfico No. 18: Porcentaje comparativo de remoción de TPH	58
Gráfico No. 19: Modelo matemático Lecho 1	58
Gráfico No. 20: Modelo matemático Lecho 2	59
Gráfico No. 21: Modelo matemático Lecho 3	60
Gráfico No. 22: Modelo matemático Lecho 4	61

Resumen

La contaminación de los diferentes componentes ambientales tiene varios orígenes, pero entre los eventos de contaminación más graves que se han producido a través de la historia, se destacan las generadas por actividades de extracción y manejo de petróleo y sus derivados.

Como respuesta a esta problemática se han desarrollado varias técnicas de remediación de suelos y cuerpos de agua contaminados. Dentro de estas técnicas, los tratamientos de tipo biológico por su interés potencial y carácter multidisciplinar, han recibido una atención preferente en los últimos años por parte de profesionales de diversos campos, los cuales señalan a la biodegradación como una de las técnicas más efectivas y eficientes.

Este estudio empleó técnicas de biorremediación para la remoción de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) de lodos contaminados procedentes de la planta de tratamiento de aguas de una envasadora de GLP, durante un periodo experimental de cuatro meses.

Las técnicas empleadas para la remoción fueron *bioestimulación* y *bioventilación*, las cuales consisten en la adición controlada de nutrientes y control de factores ambientales como pH, temperatura y humedad de la muestra problema, junto con la incorporación de condiciones aeróbicas para favorecer la biodegradación de los compuestos presentes.

Al final del periodo experimental se lograron porcentajes de remoción altos hasta del 93.9%, demostrando la efectividad de la técnica.

Palabras Clave: Biodegradación, Biorremediación, Contaminantes, Compuestos de Hidrocarburos, Contaminación del Suelo.

Summary

The contamination of the different environmental components has many sources, but among the most serious contamination events that have occurred throughout history, those generated by extraction and handling of petroleum and its derivatives stand out.

In response to this problem, several remediation techniques, biological treatments for their potential interest and multidisciplinary character, have received priority attention in recent years by professionals from diverse fields, which point to biodegradation as one of the most effective and efficient techniques.

This study used techniques of bioremediation for the removal of total petroleum hydrocarbons (TPH) contained in contaminated sludge product of the wastewater treatment plant of an LPG bottling company during a trial period of four months.

The techniques applied for removal were biostimulation and bioventing, which consist of the controlled addition of nutrients and control of environmental factors such as pH, temperature and humidity of the sample, along with the addition of conditions to promote aerobic biodegradation of the compounds of interest.

At the end of the experimental period, high removal rates up to 93.9% were achieved, demonstrating the effectiveness of the technique.

Key Words: Biodegradation, Bioremediation, Pollutants, Hydrocarbon Compounds, Soil Contamination.

CAPITULO I: INTRODUCCION

1.1. Introducción:

El manejo inadecuado de los materiales y residuos peligrosos ha generado, a escala mundial, un problema de contaminación de suelo, aire y agua (Benavides et al., 2006).

La contaminación de los diferentes componentes ambientales tiene varios orígenes, pero entre las contaminaciones más graves que se han producido a través de la historia se destacan las producidas por actividades de extracción y manejo del petróleo y sus derivados.

Sin embargo, con la creciente preocupación por el medio natural así como el establecimiento de normativas ambientales que regulan la emisión de contaminantes de las industrias, se han implementado varios sistemas de tratamiento o depuración de estos, los cuales pueden, a su vez, generar desechos que requieren ser tratados. Uno de los problemas más serios de contaminación lo constituye la generación de lodos de diferentes naturalezas y principalmente los provenientes del tratamiento de aguas residuales (López e. al. 2010).

Los procedimientos de tratamiento de aguas residuales tanto domésticas como industriales, pueden ser realizados en base a distintos métodos físicos, químicos o biológicos. Generalmente, cualquiera de estos procesos genera un importante volumen de lodos, lo cual hace necesario que se realice un adecuado tratamiento para los mismos o en su defecto que se les dé una disposición final adecuada.

Se debe considerar que la importancia de implementar un tratamiento para los lodos obtenidos de un proceso de depuración de aguas, radica tanto en la reducción del volumen del mismo como en el control y supervisión de los problemas de contaminación que dichos lodos puedan generar debido a su composición.

La química de los hidrocarburos y sus derivados es bien conocida, sin embargo el estudio de estos compuestos como contaminantes ambientales ha sido desarrollado solo en las últimas décadas (Jarrín, 2004).

De toda la amplia gama de técnicas dirigidas a la limpieza de emplazamientos contaminados por hidrocarburos y sus derivados, la biorremediación, por su interés potencial y carácter multidisciplinar, ha recibido una atención preferente en los últimos años por parte de profesionales de muy diversos campos, los cuales señalan a la biorremediación como una de las técnicas más efectivas, considerando que esta posee una ventaja frente a otras técnicas en

varios aspectos, los cuales se relacionan tanto con el ámbito económico como con la efectividad obtenida (Jarrín, 2004)

Los métodos biológicos de remediación suponen una de las mejores opciones, ya que permiten lograr una transformación de los contaminantes presentes y no solo un transporte o fijación de los mismos, y debido a que poseen una ventaja en el caso de contaminación por petróleo o sus derivados por el alto contenido de compuestos orgánicos fácilmente biodegradables.

La biodegradación se puede definir como una tecnología que consiste principalmente en el uso de microorganismos naturales (levaduras, hongos o bacterias) existentes en el medio para descomponer o degradar sustancias que supongan un riesgo para la salud humana o del ambiente, empleando su potencial metabólico, específicamente su capacidad para degradar total o parcialmente dichos compuestos.

La muestra problema del presente estudio, está compuesta por lodos residuales que tienen su origen en un sistema de tratamiento de efluentes dentro de una planta envasadora de gas licuado de petróleo (GLP). El lodo residual objeto de estudio presenta una cantidad elevada de hidrocarburos totales de petróleo (TPH), los cuales por su naturaleza orgánica son susceptibles a ser biodegradados.

El objetivo general de este estudio es diseñar experimentalmente, un proceso biológico que permita la biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) contenidos en lodos residuales procedentes de una planta de tratamiento de aguas en una planta envasadora de GLP.

Mediante el método biológico implementado, se pretende reducir los niveles de TPH contenidos en la muestra problema, hasta alcanzar niveles que se encuentren dentro de los límites máximos permisibles, de acuerdo a la Tabla 6. del Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador. Decreto Ejecutivo 1215 (RAOH 1215). La cual establece los *límites máximos permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburíferas, incluidas las estaciones de servicios.*

La efectividad del proceso biológico determinado será evaluado al concluir este estudio, si se determina efectivo, en términos de tasas de biodegradación, debe adicionalmente constituir una alternativa viable económicamente para el tratamiento y disposición final de los lodos residuales,

1.2. Planteamiento del Problema

El proceso de mantenimiento del sistema de tratamiento de aguas de inertización de cilindros de GLP, genera lodos residuales que, debido a su composición, requieren ser tratados previo a su disposición final.

La afectación que la disposición inadecuada de este residuo genera, así como la transferencia de contaminantes entre los componentes ambientales que resulta de su tratamiento convencional, propone la búsqueda de una solución alternativa que suponga una real transformación de los contaminantes.

Al ser la biodegradación considerada como una técnica efectiva, versátil, económica y segura, para la degradación de hidrocarburos y sus derivados en suelos, se plantea su aplicación en el caso específico de este proyecto.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Gas licuado de petróleo (GLP)

El gas licuado de petróleo es un producto obtenido de los procesos de refinación de petróleo o de recuperación de gas natural. Este producto corresponde a aquellos hidrocarburos cuyos principales componentes son propano, butano, iso-butano, butileno o mezclas de ellos en pequeñas cantidades (AgipEcuador, 2005)

El GLP es un gas incoloro e inodoro el cual se encuentra en estado gaseoso a presión atmosférica, sin embargo puede ser licuado a presiones relativamente bajas a temperatura ambiente. Como medida de seguridad a esta mezcla de gases se le agrega un odorizante que le confiere un olor persistente el cual permite su identificación. La sustancia odorizante empleada es el etilmercaptano debido al sulfuro que contiene, el cual le confiere las propiedades olfativas requeridas (AgipEcuador, 2005).

Debido a sus características, el GLP es mayormente empleado como combustible para el consumo doméstico o comercial (Yépez, 1980), aunque también es ampliamente empleado como solvente, propelente, en sistemas de aire acondicionado, refrigeración y secado (Barros, 2003)

2.1.1. Principales componentes del Gas Licuado de Petróleo (GLP)

Propano:

El propano es un gas incoloro e inodoro perteneciente al grupo de los hidrocarburos alifáticos con enlaces simples, denominados alcanos. Este gas puede ser obtenido del gas natural o como resultado de la refinación del petróleo.

Su uso principal radica en el aprovechamiento energético en forma de combustible, además es usado como gas propulsor en aerosoles o como refrigerante.

Butano: Es un gas incoloro e inodoro altamente volátil, se usa principalmente como combustible, produce algunas limitaciones en cuanto a su transporte por lo cual no es empleado en grandes cantidades (Barros, 2003).

Mercaptanos: Se define como un compuesto químico que contiene un grupo funcional compuesto por un átomo de azufre y un átomo de hidrógeno, por lo que es también denominado *tiol*. (Barros, 2003).

Los mercaptanos son compuestos líquidos incoloros que poseen un fuerte olor, por esta razón son incorporados al gas licuado de petróleo (GLP) con el fin de que posibles fugas sean detectadas (Barros, 2003).

2.1. Biorremediación:

Desde un punto de vista oficial, la Academia Americana de Microbiología define la biorremediación como “la utilización de organismos vivos para reducir o eliminar riesgos medio ambientales resultantes de la acumulación de compuestos químicos tóxicos y otros residuos peligrosos” (Marín, et al. 2005).

El termino biorrecuperación se aplica a cualquier sistema o proceso en el que métodos biológicos son empleados para la transformación o fijación de los contaminantes presentes en el medio natural.

Esta tecnología ofrece varias ventajas con respecto al empleo de tratamientos físicos y químicos de aguas y de terrenos contaminados, estas ventajas se pueden reflejar tanto en el aspecto económico como en los resultados obtenidos. La ventaja más destacable es que la biorrecuperación consiste en la eliminación y transformación biológica de los contaminantes

tóxicos, mientras otras tecnologías solo trasladan los contaminantes de un medio a otro (Benavides, 2006).

Cabe recalcar que la complejidad propia de esta tecnología hace necesaria la aproximación de distintos enfoques, los cuales requieren ser complementados con el fin de llevar a cabo el proceso de manera efectiva.

2.1.1. Antecedentes:

La biorremediación surge como una respuesta a la pregunta de los primeros investigadores sobre la posible utilidad de los microorganismos asociados a las acumulaciones naturales de hidrocarburos, para llevar a cabo la degradación de esos compuestos en entornos diferentes (Marín, et al. 2005).

La biorrecuperación constituye una tecnología de implantación relativamente reciente (Eweis et.al., 1999). Los conceptos de esta tecnología fueron desarrollados a partir del tratamiento de aguas residuales y de residuos sólidos.

En el siglo XIX, se inicia la actividad de uso microbiano con fines de descontaminación a través del vertido de aguas residuales en suelos agrícolas (sewage farms). A mediados del siglo XX se desarrollaron las primeras investigaciones sobre el potencial de los microorganismos para biodegradar contaminantes y este “uso” intencionado recibió entonces el nombre de biorremediación (Marín, et al. 2005).

Las primeras aplicaciones de biorremediación empleadas se desarrollaron en formas similares al laboreo de suelos actual (*landfarming*), estas fueron desarrolladas por las compañías petroleras, posteriormente en el siglo XX se desarrollan técnicas de tratamiento de contaminantes más complejas, los cuales incluían lechos bacterianos, fermentación, entre otros. A partir de 1960, nuevos métodos y procesos de biodegradación para compuestos específicos han sido desarrollados bajo la categoría de procesos de tratamiento biológico, estos aplicados a terrenos y acuíferos constituyen la biorrecuperación (Eweis et.al., 1999).

Durante los últimos 30 años, los accidentes petroleros de gran magnitud que se han producido constantemente, han tenido un gran impacto en las investigaciones sobre la biodegradación como una tecnología de limpieza y de mitigación de impactos sobre el medio ambiente (Marín, et al. 2005).

Por esta razón, el tratamiento de terrenos y cuerpos de agua contaminados petróleo y sus derivados, ha constituido el objetivo de la mayoría de estudios realizados. Sin embargo, últimamente este método ha demostrado ser de gran utilidad en el tratamiento de residuos peligrosos, logrando transformar compuestos que se pensaba eran resistentes a la biodegradación. De ahí su actual importancia en el tratamiento de suelos contaminados (Marín, et al. 2005).

Actualmente la biorremediación compite ventajosamente, en cuanto al coste y eficiencia se refiere, con otros métodos alternativos de limpieza.

2.2. Métodos de biorrecuperación:

La biorrecuperación de terrenos contaminados puede realizarse tanto en el sitio de contaminación "*in situ*", como fuera del mismo en instalaciones de tratamiento a parte, es decir, "*ex situ*". Ambos tratamientos suelen consistir en una combinación de tratamientos biológicos y no biológicos, siendo los últimos realizados generalmente con el fin de aumentar la eficacia del tratamiento biológico (Marín et. al., 2005).

2.2.1. Tratamiento *In situ*:

Consiste en tratar las aguas, suelos o arenas contaminadas sin moverlas del lugar en el que se encuentran (Marín, et al. 2005). La biorrecuperación de terrenos *in situ* precisa distribuir oxígeno y posiblemente nutrientes a través del volumen contaminado (Eweis, et al.1999). En algunos casos, la población microbiana existente en el terreno contaminado puede no ser de la especie adecuada para el proceso biológico requerido, en este caso es necesario añadir, además, un cultivo microbiano enriquecido. Sin embargo, factores como la alta porosidad de los terrenos puede generar limitaciones en relación al transporte de líquidos y partículas, en este caso la adición de nutrientes y cultivos microbianos puede presentar dificultad.

Con el fin de distribuir oxígeno en el terreno se debe realizar la aireación del mismo, en este proceso el aire es aspirado a través de la zona contaminada, en el caso de que existan contaminantes volátiles se deberá realizar el tratamiento *ex situ* de los vapores resultantes. En el caso de que los contaminantes presentes sean menos volátiles, una forma de tratamiento

aplicable es la bioventilación, este procedimiento incluye la introducción de aire (u oxígeno) en la zona contaminada del terreno y la incorporación de nutrientes ya sea mediante inyección o infiltración (Eweis, et. al. 1999).

2.2.2. Tratamiento *Ex situ*:

Los tratamientos *ex situ* pueden llevarse a cabo sobre el propio terreno (on site) o en otro lugar (off site). Los procesos de tratamiento se aplican tras la excavación del medio contaminado, en todos los casos es necesario proteger el suelo que circunda las operaciones (Marín, et al. 2005). Sin embargo, los tratamientos *ex situ* presentan, entre otros inconvenientes, la emisión incontrolada de partículas o vapores provocada por la excavación y la dificultad de llevarla a cabo si la contaminación se extiende cerca de tuberías, líneas eléctricas o cimentaciones de edificios. Otro inconveniente es el encarecimiento derivado de ésta y del transporte, si el tratamiento se efectúa fuera del emplazamiento, así como de los costes del vertido del suelo y del material de relleno, si éste se deposita en un vertedero. A pesar de todos estos inconvenientes los tratamientos “*ex situ*” todavía son ampliamente empleados, debido a que la excavación es fácil de llevar a cabo, puede ser efectuada rápidamente y se puede lograr eliminar la contaminación de forma clara y demostrable, garantizando la ausencia de responsabilidad legal en el futuro (Kiely, 1999).

Las ventajas de este tipo de procedimientos se deben a la mayor rapidez, mayor cantidad de compuestos susceptibles a ser degradados, la optimización de los parámetros microbiológicos, el mejor control del proceso, entre otros. Sin embargo el coste es mayor.

2.3. Técnicas de biorrecuperación:

Son varias las técnicas de biorrecuperación que actualmente son empleadas en el tratamiento tanto de residuos peligrosos como de residuos peligros, a continuación se detallan algunas de ellas:

2.3.1. Compostaje

Este tratamiento consiste en la mezcla del terreno contaminado con agentes esponjantes orgánicos tales como el estiércol, los cuales tienen el fin de incrementar la porosidad con el fin de facilitar la aireación, la adición de agua se realiza periódicamente, para de esta manera

mantener una humedad óptima durante todo el tratamiento. El material mezclado se coloca en pilas o hileras, las cuales son volteadas en intervalos controlados por medios mecánicos. La degradación orgánica de los compuestos presentes se traduce en la elevación de la temperatura de la pila o hilera (Eweis, et al.1999).

Pilas estáticas: Las pilas estáticas suponen un procedimiento alternativo en el cual se incorporan nutrientes, agua y agentes esponjantes. Sin embargo, estas no son volteadas y las temperaturas se mantienen próximas a las ambientales. La aireación puede realizarse de forma pasiva (como resultado de la gradiente de convección térmica existente entre el aire exterior y el aire de los poros) o de forma forzada mediante la aplicación de aire a la pila por succión y vacío (Eweis, et al.1999).

2.3.2. Biorreactores

En este proceso el terreno contaminado es introducido en un recipiente que contenga suficiente agua para permitir que se genere una mezcla ininterrumpida. La adición de oxígeno se realiza dependiendo de las necesidades que se generen en el proceso, es necesario controlar la pérdida de gases para evitar la emisión de compuestos orgánicos volátiles los cuales pueden ser recirculados, empleados en procesos de combustión o depurados biológicamente (Kiely, 1999).

2.3.3. Land farming

Es un método internacionalmente conocido en el tratamiento de sedimentos contaminados con hidrocarburos o sus derivados, este procedimiento generalmente involucra el esparcimiento del suelo o sedimento contaminado en capas de poca profundidad (0.3m) (Jarrín, 2004), sobre una geomembrana, esta técnica requiere control constante de parámetros como pH, humedad, temperatura y disponibilidad de nutrientes con el fin de estimular la actividad microbiana y con ello el proceso de biodegradación, así como el laboreo del suelo para incorporar aire al sistema (Benavides, 2006).

Esta técnica es considerada viable económica y ambientalmente para empalimizamientos contaminados con hidrocarburos y sus derivados (Jarrín, 2004).

2.3.4. Tratamiento en lechos

Los procesos de degradación presentes en el tratamiento en lechos son esencialmente biológicos, incluso la oxidación fotoquímica puede ser de gran importancia en algunos casos. Este tratamiento consiste en el acondicionamiento del terreno mediante la aireación y mezcla del mismo, la adición de nutrientes y cultivos microbianos (en caso de ser requeridos), mientras se mantiene un control constante de la humedad a través de la adición controlada de agua. En la mayoría de casos, los terrenos contaminados se excavan y se tratan en un lugar en el que la infiltración pueda ser controlada a través de la construcción de barreras de drenaje. Sin embargo, en algunos casos, el terreno contaminado se encuentra lo suficientemente cerca de la superficie y permite que el tratamiento se lleve a cabo *in situ*. La emisión de compuestos volátiles a la atmósfera suele suponer una restricción a la aplicación del tratamiento en lechos (Kiely, 1999).

El uso de tratamiento en lechos como sistema de gestión de residuos peligrosos tiene su inicio a inicios del siglo anterior (Eweis et.al., 1999), aunque este nació en la revolución industrial como sistema de vertido más que como un proceso de recuperación, con el mayor entendimiento de la reducción del volumen de los vertidos, se inicia el desarrollo de la técnica con el fin de optimizar los resultados del mismo. Con el tiempo y mediante el control de factores ambientales, físicos y químicos, la biodegradación de los desechos pudo ser aumentada.

En los años 50, el tratamiento en lechos se estableció como un método eficiente y de amplio uso en el tratamiento de residuos industriales y peligrosos en sus diferentes estados. Sin embargo, con el desarrollo de una legislación ambiental más estricta, se tuvo que reconsiderar los métodos antiguos de tratamiento en lechos que fomentaban la volatilización y la lixiviación como métodos de eliminación de contaminantes, y de esta manera surgió la necesidad de eliminar los lixiviados y minimizar la volatilización de los contaminantes fomentando la eliminación biológica de los compuestos orgánicos.

2.3.5. Bioventilación

La técnica de bioventilación es un tratamiento de biorremediación, el cual consiste en la ventilación forzada del suelo a través de la inyección forzada de aire o a través del volteo mecánico (Jarrín, 2004).

La aireación del suelo favorece la degradación de hidrocarburos o sus derivados presentes en el de dos maneras:

- Favorece la volatilización, facilitando la migración de compuestos de bajo peso molecular.
- Incrementa las tasas de biodegradación, ya que al aumentar la presencia de oxígeno se estimula la actividad microbiana.

Sin embargo, existen factores que deben ser considerados para la implementación de esta técnica:

- *“Con la aplicación de esta técnica se logra degradar más fácilmente las moléculas más pequeñas (hasta C20), siendo más fácilmente biodegradables los compuestos parafinados o de cadena lineal que los compuestos aromáticos”* (Jarrín, 2004, 13).
- Los suelos deben poseer una permeabilidad relativamente alta y bajo contenido de arcilla.
- Se debe considerar la biodisponibilidad de los contaminantes ya que esta reduce cuando disminuye la solubilidad del contaminante.
- Los aportes de oxígeno deben ser los adecuados, así como la cantidad de nutrientes, fuentes de carbono, energía y aceptores de electrones.
- Deben existir condiciones óptimas de pH, humedad, temperatura y nutrientes.
- Los tiempos de degradación oscilan entre corto y medio.

2.4. Factores que inciden en la biorremediación:

Existen una serie de factores que pueden ayudar a prever el grado de consecución de los objetivos planteados en un proceso de biorremediación para cada situación concreta.

La composición microbiana del suelo y la tasa de transformación de contaminantes, son factores determinantes dentro de esta técnica, los cuales se encuentran a su vez altamente influenciados por los factores ambientales, factores de sustrato y factores microbiológicos (Eweis et.al., 1999). Los factores ambientales incluyen la humedad, la aireación, la temperatura, el pH y la disponibilidad de nutrientes. En relación a las condiciones del sustrato se puede mencionar la toxicidad de los contaminantes, la concentración, la solubilidad, la volatilidad, separación de la fase sólida y la estructura química como factores que pueden

afectar la biotransformación. Los factores microbiológicos incluyen la presencia de microorganismos aptos para las reacciones deseadas, aclimatación de dichas poblaciones y factores ecológicos (Torres, 2003).

2.4.1. Naturaleza y condiciones del medio contaminado

Necesidad de nutrientes: Es esencial que los compuestos químicos, constituyentes de la célula bacteriana, estén disponibles para la asimilación y síntesis de nuevo material celular que dará lugar a la reproducción de los organismos.

Los nutrientes son regularmente asimilados desde un número limitado de estados elementales y por lo tanto, la cantidad de nutrientes presentes y el estado de los mismos son importantes (Eweis et.al., 1999).

pH del suelo: El pH del suelo tiene una incidencia significativa sobre la actividad microbiana del mismo y por lo tanto sobre la biotransformación. Normalmente el pH óptimo para el crecimiento microbiano se encuentra dentro del intervalo de 6-8 (Vallejo, 2005; Vásquez, 2010), aunque existen excepciones dependiendo del tipo y especie del microorganismo. Condiciones del suelo altamente acidas o alcalinas tienden a inhibir la actividad microbiana. El pH del suelo también afecta la solubilidad del fósforo, el cual constituye un nutriente importante para las poblaciones microbianas y para el transporte de metales pesados.

Temperatura: La temperatura del suelo afecta en gran medida a la actividad microbiana del suelo y por ello a las tasas de biodegradación.

En el suelo, los cambios climáticos estacionales son los que determinan la temperatura y por ello tienen una incidencia directa en la tasa de biodegradación. La adición de agua al terreno constituye un sistema de control de la temperatura en el suelo, la humedad disminuye la conductividad eléctrica y reduce sus variaciones diarias de temperatura (Vásquez, 2010).

Humedad: Este parámetro tiene una gran influencia para la actividad microbiana del suelo. El agua constituye un elemento esencial para el crecimiento y supervivencia microbiano. El agua

además constituye el medio de movilización de nutrientes hasta el interior de la célula microbiana y de los metabolitos al exterior de la misma (Lara, 2005).

2.4.2. Propiedades del contaminante (Biodegradabilidad):

Se encuentra directamente relacionada con la composición y estructura del contaminante. En el caso de los componentes del petróleo, algunos hidrocarburos alcanos lineales se degradan rápidamente, sin embargo las estructuras ramificadas son más resistentes a ser biodegradadas, al igual que moléculas con presencia de dobles enlaces y un alto número de anillos bencénicos en caso de compuestos aromáticos, entre otros (Benavides, 2006).

Por ello este es un factor importante a considerar para la implementación de un proceso de biodegradación.

2.4.3. Presencia de comunidades microbianas adecuadas:

Los microorganismos pueden ser autóctonos (en cuyo caso estaríamos refiriéndonos a biorremediación *intrínseca o atenuación natural*), o añadidos al sistema para mejorar la degradación (correspondiéndose en este caso con el término *bioaumentación*). Estos factores determinaran la capacidad de los microorganismos para colonizar el ambiente contaminado, algo directamente relacionado con su adaptación al hábitat (Marín, et al. 2005).

2.4.4. Disponibilidad del Contaminante:

Un aspecto crítico para la disponibilidad de los contaminantes lo constituye la composición del suelo, la cual determinará, tanto la cinética de adsorción y desorción de los contaminantes como la propia capacidad de moverse por parte de los microorganismos y contactar con ellos (Marín, et al. 2005). Otros factores importantes para la disponibilidad del contaminante es la presencia o no de fases líquidas no acuosas en el suelo.

2.5. Referencias metodológicas:

Son tres conceptos importantes los que determinan la eficacia de la biodegradación, desde un punto de vista metodológico:

2.5.1. Atenuación natural:

Se denomina también biodegradación intrínseca o natural, esta se lleva a cabo sobre diversos compuestos mediante microorganismos autóctonos del medio contaminado. Los procesos de degradación que ocurren suelen tener lugar mediante una gran variedad de interacciones biogeoquímicas entre los componentes del suelo, el agua y los microorganismos contaminantes (Marín, et al. 2005). Esta capacidad propia del medio de degradar los contaminantes presentes depende tanto de las propiedades metabólicas de los microorganismos nativos, de la Biodegradabilidad del contaminante y de la hidrogeología de la zona. Este procedimiento presenta dos variables definidas:

- En presencia de oxígeno
- En ausencia de oxígeno

Una vez más, las condiciones óptimas del medio tienen gran importancia en el proceso, estos determinarán la total o parcial degradación de los compuestos presentes. De igual manera existen factores limitantes que podrán afectar el proceso de atenuación natural los cuales están directamente relacionados con la eficiencia:

- Carencia de nutrientes esenciales para el desarrollo microbiano
- Ausencia de aceptores de electrones adecuados
- Ausencia de poblaciones microbianas adecuadas para el contaminante
- Concentraciones excesivas del contaminante, baja solubilidad en agua, presencia de compuestos tóxicos (Marín, et al. 2005).

2.5.2. Bioestimulación:

Existen distintas formas de aplicar la bioestimulación. En muchos casos consiste en la adición de un aceptor de electrones (ej. oxígeno), en otros casos se refiere a la adición de nutrientes, ajustes de pH, entre otros, con el fin de estimular la biodegradación en el medio (Marín, et al. 2005).

2.5.3. Bioaumentación:

Consiste en la adición de poblaciones microbianas específicas al medio contaminado, con el fin de facilitar y optimizar la degradación de los contaminantes. Se dice que este tipo de

tratamiento resulta efectivo en biodegradaciones *ex-situ* ya que se presentan algunas dificultades al momento de emplear esta metodología *in-situ*:

- La población microbiana crece rápidamente como efecto de la contaminación del medio y resulta difícil incrementar el tamaño de la población más allá de esos valores mediante la adición de un inóculo.
- La supervivencia de la población microbiana añadida está afectada por varios factores que resultan difíciles de controlar, tales como poblaciones nativas que ocupan nichos potenciales, existencia de depredadores, la presencia y/o ausencia de materia orgánica, y la superficie disponible libre de contaminantes (Marín et al. 2005).

Por este tipo de limitaciones se requieren estudios previos que determinen la factibilidad de implementación de esta metodología.

2.6. Ventajas y Desventajas de la biodegradación:

2.6.1. Ventajas:

- Los tratamientos físicos y la mayoría de los químicos se basan en transferir la contaminación entre medios sólidos, líquidos y gaseosos, lo cual se evita notablemente en la biodegradación.
- La biorremediación constituye una tecnología de poco impacto en el medio y en la mayoría de los casos no requiere componentes mecánicos complejos.
- Es una aproximación que presenta ventajas económicas sobre otro tipo de tecnologías y, al tratarse de un proceso natural (ya que se emplean recursos microbiológicos presentes en el medio), es más susceptible de ser aceptada por parte de la opinión pública (Marín, et al. 2005).

2.6.2. Desventajas:

- La biodegradación incompleta puede generar intermediarios metabólicos no deseados, con un poder contaminante igual o incluso mayor al inicial (López, 2010).
- Algunos contaminantes son resistentes a ser biodegradados.

- El tiempo requerido para un tratamiento óptimo es difícil de predecir y requiere de seguimiento y control constante (López, 2010).

2.7. Contaminantes Orgánicos

Los contaminantes orgánicos que pueden encontrar en los terrenos suelos o lodos residuales pueden ser clasificados como de origen natural o de origen antropogénico.

De origen natural: Estos resultan de la descomposición de tejidos vegetales o animales generando así materias húmicas, las cuales poseen una estructura compleja y son resistentes a transformaciones biológicas adicionales (Eweis, et al.1999), estas son constituyentes habituales de los suelos.

De origen antropogénico: Los compuestos orgánicos de origen antropogénico varían ampliamente dependiendo de sus características, las cuales se atribuyen a la fuente de dichos compuestos. Dentro de las características más importantes podemos mencionar:

Capacidad de ser biodegradados: Normalmente este tipo de compuestos son fácilmente biodegradables ya que no son tóxicos para los microorganismos, de esta manera pueden ser oxidados fácilmente por los microorganismos presentes en el suelo.

Polaridad y solubilidad: La polaridad de los contaminantes tiene una incidencia directa sobre la movilidad de los mismos, tanto en suelos como en el agua, por otro lado la solubilidad, pese a ser un término similar al de polaridad, se relaciona más directamente con la disponibilidad de los contaminantes en la fase líquida lo cual hace que se encuentren disponibles para el proceso de transformación microbiana.

Volatilidad: Los compuestos volátiles se difunden fácilmente hacia la fase vapor, este vapor contaminado puede ser tratado en la superficie ya que pueden constituir un peligro o una fuente de contaminación del aire.

Toxicidad: La toxicidad de los compuestos está generalmente asociada con la susceptibilidad de estos a ser degradados, pero a la vez, es este mismo factor el que crea la necesidad de recuperar suelos, lodos o aguas contaminados al tener un efecto potencial en los seres humanos y los ecosistemas (López, 2010).

2.7.1. Metabolismo de la materia orgánica:

La materia orgánica es metabolizada por los microorganismos mediante dos vías distintas:

- Fermentación
- Respiración

Fermentación: La materia orgánica sufre reacciones de oxidación-reducción en ausencia de un aceptor externo de electrones.

Respiración: La materia orgánica actúa como dador de electrones, mientras un compuesto exógeno actúa como aceptor de electrones. En el caso de que el oxígeno sea el aceptor exógeno de electrones se dice que se produce una *respiración aerobia*, si otros compuestos, diferentes al oxígeno, actúan como aceptor exógeno de electrones se dice que se realiza una *respiración anaerobia* (Benavides, 2006).

La respiración aerobia abarca un rango más amplio de reacciones, las cuales implican oxidaciones importantes en el proceso de biorrecuperación (Benavides, 2006).

2.8. Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH)

El termino hidrocarburos totales de petróleo (abreviado TPH en inglés) se usan para describir una gran familia de varios cientos de compuestos químicos originados de petróleo crudo. Debido a que hay muchos productos químicos diferentes en el petróleo crudo y en otros productos de petróleo, no es práctico medir cada uno en forma separada. Sin embargo, es útil medir la cantidad total de TPH en un sitio.

Los TPH son una mezcla de productos químicos compuestos principalmente de hidrógeno y carbono, llamados hidrocarburos. Los científicos han dividido a los TPH en grupos de hidrocarburos de petróleo que se comportan en forma similar en el suelo o el agua. Estos grupos se llaman fracciones de hidrocarburos de petróleo. Cada fracción contiene muchos productos químicos individuales. Algunas sustancias químicas que pueden encontrarse en los TPH incluyen al hexano, combustibles de aviones de reacción, aceites minerales, benceno, tolueno, entre otros. Sin embargo, es probable que muestras de TPH contengan solamente algunas, o una mezcla de estas sustancias químicas (Barros, 2003).

2.9. Marco Legal:

Para efectos de este proyecto, se tomará como base legal el Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador, Decreto Ejecutivo 1215 (RAOH 1215), el cual en la tabla 6 establece los “*Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicios.*”

Tabla No. 1: Límites máximos permisibles

Parámetro	Expresado en	Unidad ¹⁾	Uso agrícola ²⁾	Uso industrial ³⁾	Ecosistemas sensibles ⁴⁾
Hidrocarburos totales	TPH	mg/kg	<2500	<4000	<1000
Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs)	C	mg/kg	<2	<5	<1
Cadmio	Cd	mg/kg	<2	<10	<1
Níquel	Ni	mg/kg	<50	<100	<40
Plomo	Pb	mg/kg	<100	<500	<80

1) Expresado en base de sustancia seca (gravimétrico; 105°C, 24 horas).

2) Valores límites permisibles enfocados en la protección de suelos y cultivos.

3) Valores límites permisibles para sitios de uso industrial (construcciones, etc.).

4) Valores límites permisibles para la protección de ecosistemas sensibles tales como

Patrimonio Nacional de Areas Naturales y otros identificados en el correspondiente Estudio Ambiental.

Fuente: RAOH 1215, 2001.

2.9.1. Definición legal del contaminante caso de estudio:

El reglamento ambiental, base de este estudio define:

Lodo de decantación: “*Sólido asentado después del reposo de un sistema coloidal o una suspensión de materiales, por ejemplo después del tratamiento de aguas residuales con agentes floculantes y la sedimentación de los flóculos formados.*” (RAOH 1215, 2001).

Esta definición será usada como descripción de los lodos residuales dentro de esta investigación.

2.9.2. Sugerencia de tratamiento y disposición final:

Tabla 8: Clasificación de desechos procedentes de todas las fases y operaciones hidrocarburíferas, y recomendaciones de reducción, tratamiento y disposición.

Tabla No. 2: Clasificación de desechos de operaciones hidrocarburíferas.

Código	Tipo de desecho	Reducción, tratamiento y disposición
B3002	Lodos y arena contaminados con hidrocarburos	Biorremediación, landfarming

Fuente: RAOH 1215, 2001.

CAPITULO III: METODOLOGÍA

3.1. Aspectos del residuo objeto de estudio

La empresa envasadora y comercializadora de GLP donde este estudio es llevado a cabo, realiza el mantenimiento de cilindros en los cuales el gas es envasado, esto como parte de sus procedimientos normales. Esta actividad tiene el objetivo de prevenir posibles accidentes que podrían ser ocasionados por envases en mal estado.

El procedimiento denominado de “inertización” consiste en extraer el material sólido contenido dentro del cilindro, el cual constituye un residuo, a través de un enjuague realizado con agua previo a la realización de cualquier reparación que requieran los envases.

Como resultado de este proceso se generan aguas residuales industriales, las cuales debido a su naturaleza y composición, requieren de un tratamiento previo a su descarga.

En razón de esta necesidad, la empresa ha implementado un sistema de tratamiento de efluentes que consiste principalmente en cinco etapas:

- a. Etapa de homogenización, separación de solventes, aceites y grasas;
- b. Etapa de reacción, coagulación y floculación;
- c. Etapa de precipitación;
- d. Etapa de filtración y
- e. Etapa de vertido.

Este sistema de tratamiento de efluentes genera una importante cantidad de lodos, los cuales se acumulan en el fondo de los tanques producto de los procesos de precipitación.

Como parte de las actividades de mantenimiento del sistema de tratamiento de efluentes, estos lodos son extraídos periódicamente y entregados a un Gestor Ambiental Autorizado elegido por la empresa para su incineración controlada.

Este proyecto propone una disposición final alternativa de estos lodos, con el fin de transformar los compuestos tóxicos contenidos en los mismos y evitar así su incineración.

3.2. Selección de la muestra

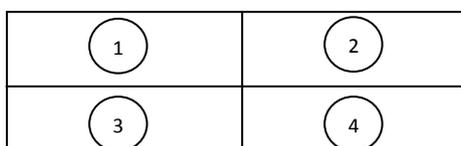
El proceso de mantenimiento del sistema de tratamiento de aguas residuales es realizado cada trimestre. Como resultado de este proceso se genera una cantidad de lodo, considerado como residuo, que se aproxima a los 3600 kg.

La muestra problema entregada para este estudio fue de 85.5kg, la cual fue dividida en 4 lechos en igual proporción, correspondiéndole a cada uno de ellos la cantidad de 21.4kg.

3.3. Caracterización fisicoquímica:

3.3.1. Toma de muestras

Para realizar una toma de muestras representativa para la caracterización fisicoquímica se procedió a realizar un cuarteo dentro del mismo lecho, posteriormente se tomo una muestra (de aprox. 50g) del centro de cada parcela dividida, y de esta manera se obtuvo una muestra compuesta de ≈.200g.



3.3.2. Determinación de materia orgánica

Con el fin de determinar el porcentaje de materia orgánica presente en la muestra inicial, se procedió a calcinar 50g de lodo a 550°C durante 1 hora en una mufla. Una vez transcurrido el tiempo se peso nuevamente la muestra seca. Finalmente se calculó el porcentaje de materia orgánica presente a través del empleo de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de materia orgánica} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} \times 100 \quad (1)$$

Realizando las correcciones de humedad correspondientes, se obtuvo el porcentaje de materia orgánica presente en la muestra.



Fotografía No.1: Muestra Calcinada. Fernanda Chávez, 2012

3.3.3. Determinación de TPH:

La determinación de hidrocarburos totales de petróleo (TPH), fue realizada en base al método EPA 418.1. Este método consiste colocar dentro de un vial la muestra junto con sulfato de sodio (Na_2SO_4) en una relación 1:1., en el caso específico de este estudio se colocaron 0.5g de cada elemento. Posteriormente se añaden 0.3g de sílica gel con el fin de eliminar interferencias.



Fotografía No. 2: Mezcla para medición de TPH. Fernanda Chávez, 2012

Una vez obtenida esta mezcla se procede a ser homogenizarla, para luego colocar dentro del mismo vial 10ml del solvente *S-316* marca *HORIBA*, el solvente empleado actúa extrayendo los hidrocarburos totales de petróleo (TPH) desde la fase sólida (muestra) a una fase líquida, con este fin la mezcla debe ser agitada durante cinco minutos.



Fotografía No.3: Mezcla para medición de TPH con reactivo S-316. Fernanda Chávez, 2012.

El líquido extraído del proceso descrito anteriormente debe ser filtrado para eliminar los sólidos que contenga, para posteriormente ser colocado en una celda de cuarzo con el fin de realizar la medición



Fotografía No. 4: Filtración de la mezcla para medición. Fernanda Chávez, 2012.

La medición de la muestra fue realizada en el espectrofotómetro de absorción atómica *buck scientific total hydrocarbon analyzer. Modelo 404*.



Fotografía No. 5: Medición de TPH en espectrofotómetro de absorción atómica. Fernanda Chávez, 2012.

En el caso específico de este estudio, se realizó una dilución de la muestra extraída debido a la alta concentración de hidrocarburos totales de petróleo presentes, ya que se encontraban fuera del rango de detección del equipo. Con este fin la dilución realizada fue 1:10.

La muestra diluida obtenida fue colocada en celdas de cuarzo para proceder a la medición, y de esta manera obtener los datos de absorbancia.

La medición de TPH fue realizada inicialmente en una muestra compuesta del total entregado por la empresa, y posteriormente cada 15 días iniciando a partir de la deshidratación de los lodos y la aplicación de la técnica descrita.

3.3.3.1. Elaboración de la curva de calibración:

Con el fin de procesar los datos de absorbancia obtenidos de las mediciones realizadas, fue necesario elaborar una curva de calibración.

La curva de calibración es una curva de referencia elaborada a partir de concentraciones conocidas de la sustancia problema para determinar la cantidad de esa misma sustancia en una muestra incógnita.

Con este fin se elaboró tres soluciones con concentraciones de: 50, 100 y 250 ppm de TPH respectivamente. Se procedió a medir la absorbancia de cada una de ellas y con estos datos se elaboró la curva de calibración respectiva, siendo los datos de concentración la variable independiente (eje x) y los datos de absorbancia la variable dependiente (eje y).

De esta manera los datos de absorbancia obtenidos pudieron ser interpretados como datos de concentración en mg/l, los cuales posteriormente fueron transformados con el fin de obtener el valor en mg de TPH/ kg de muestra seca.

3.3.4. Determinación de comunidades microbianas autóctonas:

Con el fin de determinar las comunidades microbianas presentes en la muestra, específicamente hongos, se realizaron cultivos microbianos en Agar Saburo y PDA (Potato Dextrose Agar), los cuales son medios ampliamente utilizados para el cultivo de hongos y levaduras.

El procedimiento fue elaborado en el siguiente orden:

- **Esterilización de cajas petri:** Se colocaron las cajas petri en una incubadora a 115°C durante 30 minutos con el fin de esterilizarlas.



Fotografía No. 6: Incubadora. Fernanda Chávez, 2012.

- **Elaboración de Agar (Saburo y PDA):** Se colocaron 65g de agar Saburo y 39g de PDA con el fin de elaborar un litro de mezcla. Esta mezcla fue disuelta colocándola sobre una plancha, con el fin de mantener movimiento y calor constante.



Fotografía No. 7: Preparación de agar Saburó y PDA. Fernanda Chávez, 2012.

- **Autoclavado de agar (líquido):** Una vez que el agar fue completamente diluido, este procedió a ser autoclavado.



Fotografía No. 8: Autoclavado de agar. Fernanda Chávez, 2012.

Adición de ácido tartárico: La mezcla fue enfriada en baño maría y posteriormente se colocó en ella ácido tartárico al 10%, con el fin de inhibir el crecimiento bacteriano.

Se colocaron 1.8mL de ácido tartárico por cada 100mL de medio preparado.

- **Elaboración de cajas para siembra:** El agar, una vez alcanzada la temperatura ambiente, fue colocado en las cajas petri para realizar el cultivo, luego de transcurrido el tiempo para su solidificación.

Se elaboraron 28 cajas: dos por cada dilución para cada uno de los tipos de agar y cuatro cajas para siembra directa de la muestra.



Fotografía No. 9: Medios de Cultivo preparados. Fernanda Chávez, 2012.

- **Elaboración de diluciones de la muestra:** Se realizaron diluciones de la muestra para obtener concentraciones desde 10^{-1} - 10^{-6} empleando tubos de ensayo, con el fin de realizar siembras a distintas concentraciones.

Para ello se procedió a colocar 7 tubos de ensayo cada uno con 9 mL de agua.

Con el fin de elaborar las diluciones, se procedió a colocar 10g de una muestra compuesta en 90mL de agua destilada, esta mezcla fue agitada durante cinco minutos.

Posteriormente se dejó reposar dicha muestra durante dos minutos para luego agitar nuevamente durante 1 minuto.

Una vez obtenida la mezcla se procedió a tomar 1 mL de la misma con la ayuda de una jeringuilla para ser colocada en el primer tubo de ensayo (dilución 10^{-1}), esta dilución fue homogenizada y de ella se tomo nuevamente 1mL para ser colocado en el siguiente tubo de ensayo (dilución 10^{-2}).

Este procedimiento fue repetido hasta obtener una dilución 10^{-7} .



Fotografía No. 10: Diluciones de la muestra. Fernanda Chávez, 2012.

- **Siembra de muestras:**

Diluciones: La siembra fue elaborada colocando 1mL de dilución sobre el agar solidificado, luego de ser homogenizado la caja petri fue sellada para ser incubada a 20°C durante 48h.

Se elaboró 2 cajas petri de cada dilución en agar Saburo y dos cajas por cada dilución en PDA.

Siembra directa: Se procedió a colocar cuatro muestras de lodo distribuidas en el agar de la siguiente manera:



Fotografía No. 11: Siembra directa Agar Saburó y PDA. Fernanda Chávez, 2012.

Se elaboraron dos siembras en cada tipo de agar.

- **Incubación:** Todas las muestras fueron selladas y llevadas a la incubadora para mantenerse a 20°C durante 48h.



Fotografía No. 12: Incubación de muestras. Fernanda Chávez, 2012.

- **Identificación de comunidades microbianas:** La identificación del crecimiento microbiano obtenido, fue realizado a través de la observación directa del crecimiento producido en los cultivos elaborados. También fueron elaboradas placas de los crecimientos micóticos de interés para ser observados en el microscopio, estas observaciones fueron comparadas con bibliografía existente para su identificación.

3.3.5. Determinación de Nutrientes

La determinación de nutrientes presentes en la muestra fue realizada en el Laboratorio de la *Facultad de Ciencias Agrícolas de Universidad Central del Ecuador*, donde fueron determinados los siguientes parámetros:

Tabla No. 3: Nutrientes determinados en la muestra

Parámetro	Método
pH	Con potenciómetro, en la pasta acuosa o en solución acuosa, relación 1:2.
Materia Orgánica	Por combustión húmeda.
Carbono Orgánico	-
Nitrógeno Total	Mediante cálculo a partir del porcentaje de materia orgánica.
Fósforo	P ₂ O ₅ : Colorimétricamente con fotómetro
Potasio	K ₂ O: Midiendo del espectro de emisión, con fotómetro a la llama.

Fuente: Informe de análisis, Laboratorio Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Central del Ecuador, 2012.

3.3.6. Medición de pH:

La medición continua del pH de los lechos elaborados, tiene como objetivo principal el de controlar las condiciones presentes en los mismos. Al ser el pH uno de los parámetros determinantes dentro del proceso de biodegradación, por su alta influencia en la actividad microbiana, este será medido dos veces por semana durante todo el estudio.

La medición de pH fue realizada en base al Método EPA 9045D (soil & waste pH). El alcance y aplicación de este método establece que es un proceso electrométrico el cual permite la medición de pH en muestras de suelo y de desechos, estos pueden encontrarse en forma sólida, en forma de fango o como líquidos no acuosos (Environmental Protection Agency, 2004).

Siguiendo dicho procedimiento se procedió a colocar en un vaso de precipitación 25g de lodo junto con 25mL de agua destilada, posteriormente la mezcla fue agitada durante 5 minutos, en este caso se empleo un agitador magnético con el fin de lograr mayor homogeneidad y, una vez

obtenida la mezcla, esta fue filtrada para evitar el daño del electrodo medidor de pH por la adherencia del material aceitoso contenido en la muestra.

Finalmente se procedió a realizar la medición de pH en el líquido obtenido de la filtración realizada, empleando un medidor multiparámetros calibrado.



Fotografía No. 13: Medición de pH. Fernanda Chávez, 2012.

3.3.7. Medición de Temperatura:

Este parámetro fue controlado dos veces por semana durante toda la investigación.

La medición de temperatura se realizó *in situ*, a través del empleo de un termómetro digital, el cual fue colocado en la capa media del lecho. En el caso de presentarse variaciones drásticas de temperatura, esta fue medida en varios puntos del lecho con el fin de obtener un promedio representativo de este parámetro.

3.3.8. Determinación de humedad:

La determinación de este parámetro se realizará en el marco de la Legislación Ambiental Aplicable para el caso de estudio, el cual es el Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador, Decreto Ejecutivo 1215 (RAOH 1215), este establece que las mediciones de Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH) para determinar los Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburíferas (Tabla 6), deberán ser *expresados en base de sustancia seca (gravimétrico: 105 °C, 24 horas)*.

Con el fin de realizar esta medición se tomarán 15g de muestra, los cuales serán colocados dentro de una estufa a 105°C durante 24 horas. Una vez transcurrido este periodo de tiempo, las muestras serán pesadas nuevamente con el fin de determinar la diferencia de masa. Los datos

obtenidos serán empleados para realizar el cálculo del porcentaje de humedad mediante el uso de la siguiente fórmula: (2)

$$\text{Porcentaje de Humedad} = \frac{\text{Peso humedo} - \text{Peso seco}}{\text{Peso humedo}} \times 100$$

La determinación de humedad tiene dos objetivos: uno de ellos es el control de condiciones que favorezcan la actividad microbiana, y por ende el proceso de biodegradación; el segundo objetivo de calcular el porcentaje de humedad de cada muestra tomada, es realizar las correcciones necesarias para el cálculo de TPH (mg/kg) el cual es expresado en base de sustancia seca, procedimiento que fue detallado anteriormente.

Entorno a estos objetivos, la humedad será medida dos veces por semana durante todo el estudio y cada 15 días en las muestras tomadas para la medición de TPH. Considerando el rango óptimo de humedad entre un 20-30%.

3.4. Metodología:

3.4.1. Definición de la técnica:

La metodología para el tratamiento de los lodos residuales fue determinada en base a investigación bibliográfica y estudios previos realizados en situaciones similares, de los cuales se obtuvieron las siguientes pautas:

El petróleo y sus derivados, debido a su composición, resultan ser una excelente fuente de energía y carbono, por esta razón pueden ser empleados como combustible por los microorganismos en un proceso de biodegradación (Castillo et. al. 2005).

La biorremediación es considerada una técnica de innovadora que ha sido reportada como eficiente y efectiva en la remoción de distintos tipos de contaminantes presentes tanto en el agua como en el suelo y lodos residuales; ya que esta técnica logra obtener una real transformación de los contaminantes y no solo una fijación o transporte de los mismos.

Técnicas tradicionales o establecidas	Técnicas innovadoras
Incineración	Extracción de vapores del suelo
Mezclar, enterrar y cubrir	Aspersión de aire
Dispersión sobre el terreno	Desorción térmica
Solidificación	Deshalogenación química
Reuso y Reciclado	Enjuague del suelo in situ
	Extracción con solvente
	Lavado del suelo
	Medidas Fitocorrectivas
	Biorremediación

Fuente: Alternativas para la remediación de ecosistemas contaminados por hidrocarburos.
Centro de investigaciones del petróleo. 1997

Este proceso de biodegradación puede ser llevado a cabo tanto en condiciones aerobias (en presencia de oxígeno) como anaerobias (en ausencia de oxígeno). Sin embargo, en el caso específico de los hidrocarburos, este ocurre mayormente en condiciones aerobias, es decir, en presencia de oxígeno (Castillo *et. al.*, 2005).

A su vez, la biorremediación puede ser aplicada tanto *in situ* como *ex situ*. En el caso particular de este estudio, se debe realizar *ex situ* debido a que el proceso que lo genera es el tratamiento de aguas residuales, por lo cual los lodos generados deben ser retirados cada tres meses como parte del proceso de mantenimiento del sistema.

Estudios realizados han demostrado que la bioestimulación, junto con el control de parámetros ambientales, genera un aumento en las tasas de biodegradación de suelos contaminados con TPH (Vallejo *et. al.*, 2005). Por lo cual, una vez estabilizadas las condiciones (pH, humedad, temperatura y fuentes energéticas) del lodo, esta técnica será aplicada.

3.4.2. Adición de fuentes de carbono y energía

La adición de fuentes de carbono fue realizada a través de la adición de fructosa a los lechos de tratamiento. Se escogió la fructosa como fuente de carbono debido a la fluidez que esta presenta, y debido a la alta humedad determinada inicialmente en la muestra.

La proporción de la adición de fructosa por lecho fue la siguiente, y se realizó cada 15 días por dos ocasiones:

Tabla No. 4: Dosificación de fructosa por lecho de tratamiento

Lecho	% de fructosa
1 (testigo)	-
2	1
3	0.7
4	0.5

Elaborado por: María Fernanda Chávez, 2012.



Fotografía No. 14: Adición de fructosa. Fernanda Chávez, 2012.

3.4.3. Adición de nutrientes:

Tras el análisis de nutrientes presentes en la muestra inicial, se hizo evidente la necesidad de incorporar nutrientes adicionales a los lechos de tratamiento, con el fin de alcanzar una relación 100:10:1 (C:N:P), debido a que esta relación ha sido reportada como eficiente en varios estudios previos (Vallejo et. al., 2005).

Siendo el fósforo el elemento que se presentaba en menor cantidad (reactivo limitante) y, considerando que la fuente de carbono fue añadida inicialmente a través de la fructosa, el producto elegido para ser incorporado a la muestra es un fertilizante 10:30:10 (N:P:K), el cual fue dosificado de igual manera en todos los lechos de tratamiento de la siguiente manera:

Se añadieron 10g por lecho dos veces por semana durante un mes¹, en función de la humedad de los lechos, la dosificación fue realizada por vía húmeda o por vía seca. En el caso de la dosificación por vía húmeda se procedió a diluir 10g de fertilizante en un litro de agua, esta fue añadida hasta alcanzar la humedad óptima, determinada visualmente. En el caso de la adición de fertilizante por vía seca, este fue añadido directamente sobre los lechos y fue incorporado a la muestra mediante volteo.



Fotografía No. 15: Adición de fertilizante. Fernanda Chávez, 2012.

3.4.4. Bioventilación:

La bioventilación fue realizada de manera manual a través del volteo de los lechos. Esta técnica fue empleada con el fin mantener condiciones aeróbicas dentro de los lechos para favorecer la biodegradación, ya que a través de esta técnica se logra nivelar tanto la humedad, la temperatura y la granulación de la muestra, además de facilitar la volatilización de los productos más ligeros presentes en la misma.

Este procedimiento fue realizado una vez por semana durante todo el estudio.

3.4.5. Control de parámetros:

La frecuencia de mediciones y dosificación que fueron realizadas dentro de este estudio, se determinaron en base a su influencia dentro de la biorremediación. Así, parámetros de mayor incidencia en la actividad microbiana fueron controlados con mayor frecuencia y de manera constante.

3.4.5.1. Frecuencia de mediciones:

Tabla No. 5: Frecuencia de mediciones

Parámetro	Frecuencia
pH	Dos veces por semana
Temperatura	Dos veces por semana
Humedad	Una vez por semana
TPH	Una vez cada 15 días

Elaborado por: María Fernanda Chávez, 2012.

3.4.5.2. Frecuencia de dosificación¹:

Tabla No. 6: Frecuencia de dosificaciones

Parámetro	Frecuencia
Bioventilación	Una vez por semana
Adición de fructosa	Una vez cada 15 días (dos ocasiones)
Adición de abono	Dos veces por semana (durante un mes)
Toma de muestras (control de TPH)	Una vez cada 15 días

Elaborado por: María Fernanda Chávez, 2012.

3.4.6. Características del lecho de tratamiento

Los lechos de tratamiento fueron diseñados con el fin de que posean la capacidad de mantener un volumen de muestra manejable, y que a la vez puedan contener los 22 kg (aprox.) de lodo que le correspondían a cada uno.

Tabla No. 7: Dimensión de los lechos de tratamiento

Dimensiones de los lechos (cm)	
Longitud	100
Ancho	30
Profundidad	30

Elaborado por: María Fernanda Chávez

La base de los lechos de tratamiento fue impermeabilizada con el fin de evitar daños debido a la humedad contenida en la muestra problema, adicionalmente se colocó una cubierta externa debido a que estos fueron colocados en exteriores, con el fin de protegerlos de agentes externos pero manteniendo a su vez las condiciones aerobias.

¹ Consulta personal a Laura Huachi

Una vez elaborados y protegidos, los lechos de tratamiento fueron colocados en la parte posterior del edificio de la Facultad de Ciencias Ambientales de la Universidad Internacional SEK.



Fotografía No. 16: Elaboración de lechos. Fernanda Chávez, 2012

3.5. Proceso realizado:

La muestra problema del caso de estudio fue recibida con una alta humedad, por lo cual esta procedió a ser dividida homogéneamente en los cuatro lechos elaborados y se inicio el proceso de deshidratación, esto se logro mediante el laboreo de los lechos una vez por semana durante 15 días.

Una vez deshidratados los lechos, se procedió a realizar las diferentes dosificaciones de fructosa por dos ocasiones cada 15 días, con el fin de añadir fuentes disponibles de carbono y energía y de esta manera estimular la biodegradación, manteniendo el procedimiento y frecuencia de la bioventilación.

El control de parámetros fue realizado dos veces por semana para controlar las condiciones del estudio a lo largo de su ejecución.

Se procedió a humedecer los lechos cuando este parámetro se encontraba bajo los valores recomendados (20-30%), mediante aspersión directa y volteo para homogenizar los lechos de tratamiento.

Tras realizar el análisis de nutrientes presentes en la muestra, se procedió a dosificar un fertilizante 10:30:10 dos veces por semana durante un mes con el fin de alcanzar valores óptimos de nutrientes que favorezcan la biodegradación.

Los lechos permanecieron cubiertos como protección a factores externos, manteniendo las condiciones aerobias requeridas para el tratamiento seleccionado.

CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Datos:

4.1.1. Lecho1 (Testigo):

Tabla No. 8: Datos Lecho 1

Lecho 1- Testigo			
Medición	Parámetro		
	pH	Temperatura °C	Humedad
1	8.2	15.5	51.3
2	8.27	16.6	20.9
3	8.21	19.9	11.8
4	8.05	19.8	10.8
5	8.01	19	9.2
6	8.00	19	9.0
7	8.00	19.2	8.4
8	7.76	17.7	8.8
9	7.52	17.3	8.2
10	7.82	17.6	7.7
11	8.00	18.7	7.3
12	8.12	18.0	7.2
13	8.15	17.0	6.8
14	8.12	16.8	6.4
15	8.25	17.7	5.8
16	8.23	16.3	4.8
17	8.21	15.2	4.1
18	8.17	18.1	3.7
19	8.20	19.2	3.6
20	8.31	19.2	3.6
21	8.25	19.3	3.4
22	6.67	19.2	3.2
23	6.54	19.1	3.5
24	6.35	19.3	3.3
25	6.63	19.3	3.2

Elaborado por: María Fernanda Chávez

Gráfico No. 1: pH Lecho 1

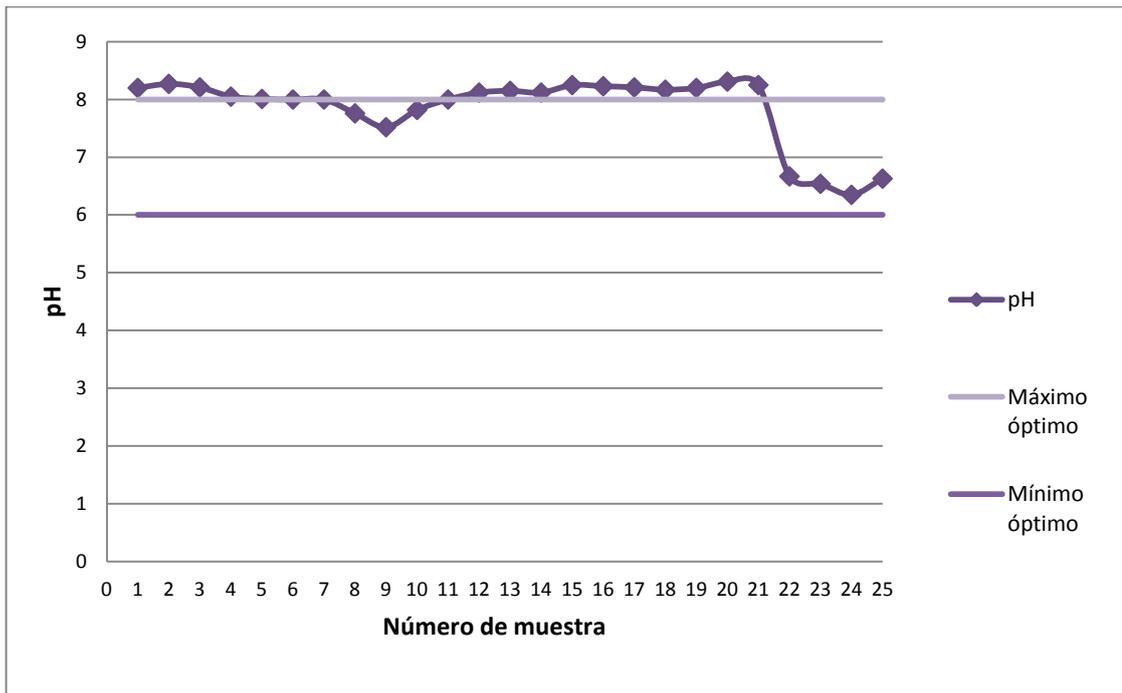


Gráfico No. 2: Temperatura (°C) Lecho 1

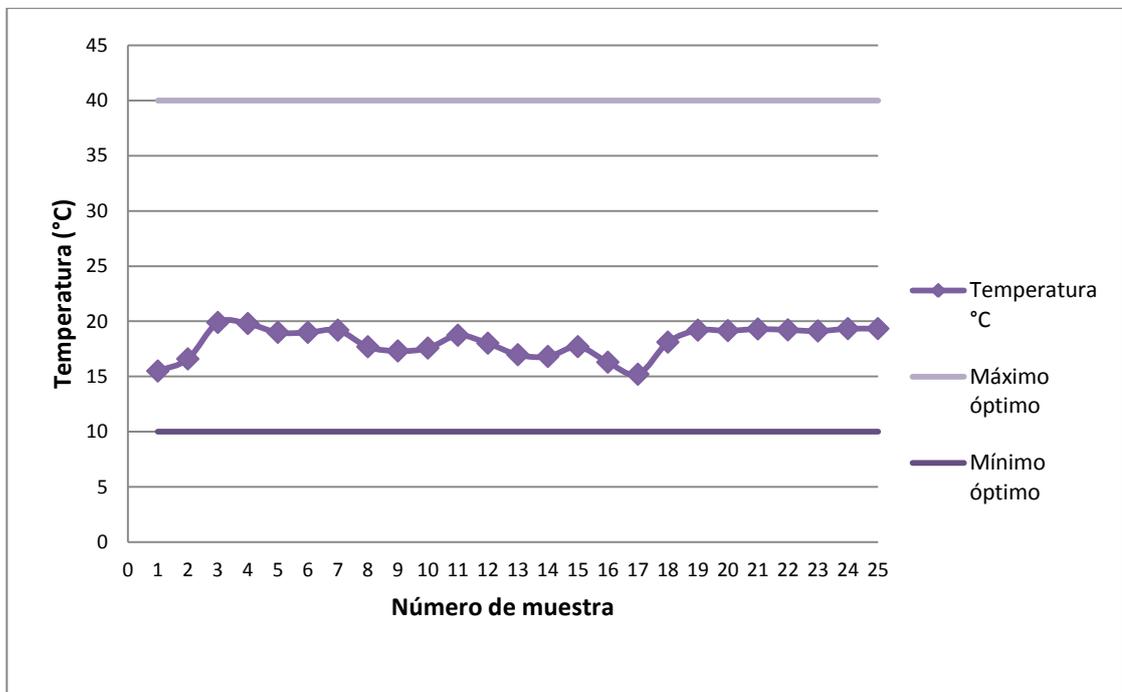
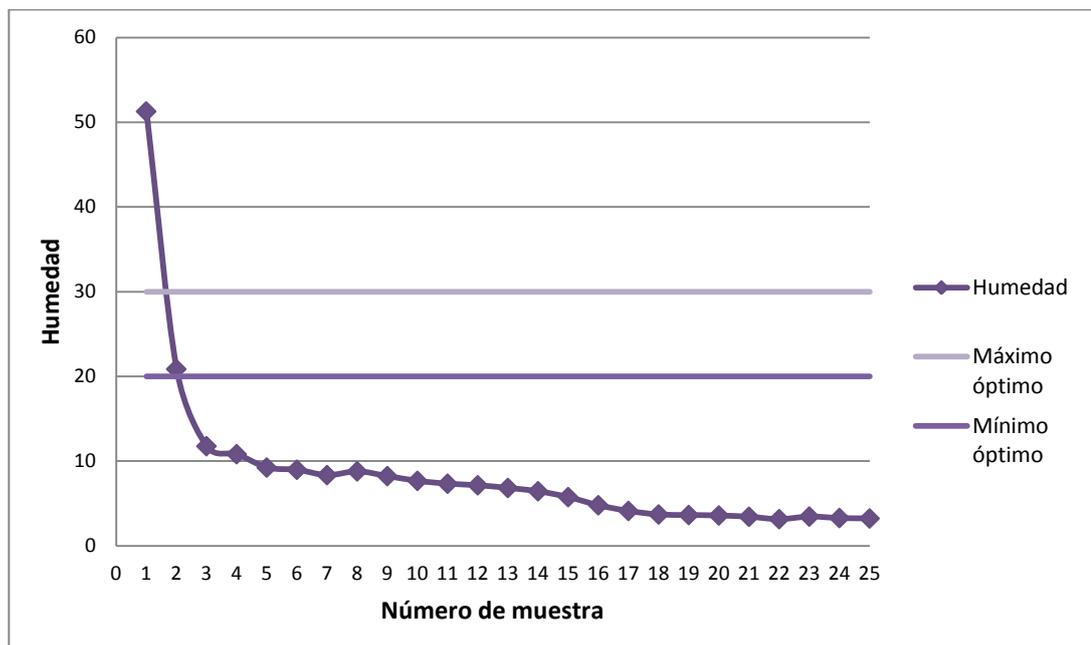


Gráfico No. 3: Humedad Lecho 1



4.1.2. Lecho 2:

Tabla No. 9: Datos Lecho 2

Lecho 2			
Medición	Parámetro		
	pH	Temperatura °C	Humedad
1	8.32	15.4	53.1
2	8.25	16.4	29.0
3	8.25	21.6	9.5
4	8.32	19.9	9.5
5	8.4	19.5	9.3
6	8.30	19.3	23.1
7	8.20	19	22.3
8	8.33	17.6	21.3
9	8.12	18.26	19.3
10	8.13	18.23	16.2
11	7.30	19.32	9.0
12	7.43	18.23	7.7
13	7.8	17.12	7.1
14	7.62	17.02	5.8
15	7.72	17.62	4.6
16	7.81	16.34	21.7
17	7.77	16.34	20.4
18	7.87	18.45	19.8
19	8.51	18.15	16.1
20	8.42	18.87	15.2
21	8.36	19.22	14.9
22	6.15	19.14	14.3
23	6.23	19.24	8.6
24	6.34	19.17	21.2
25	6.64	19.21	22.9

Elaborado por: María Fernanda Chávez

Gráfico No. 4: pH Lecho 2

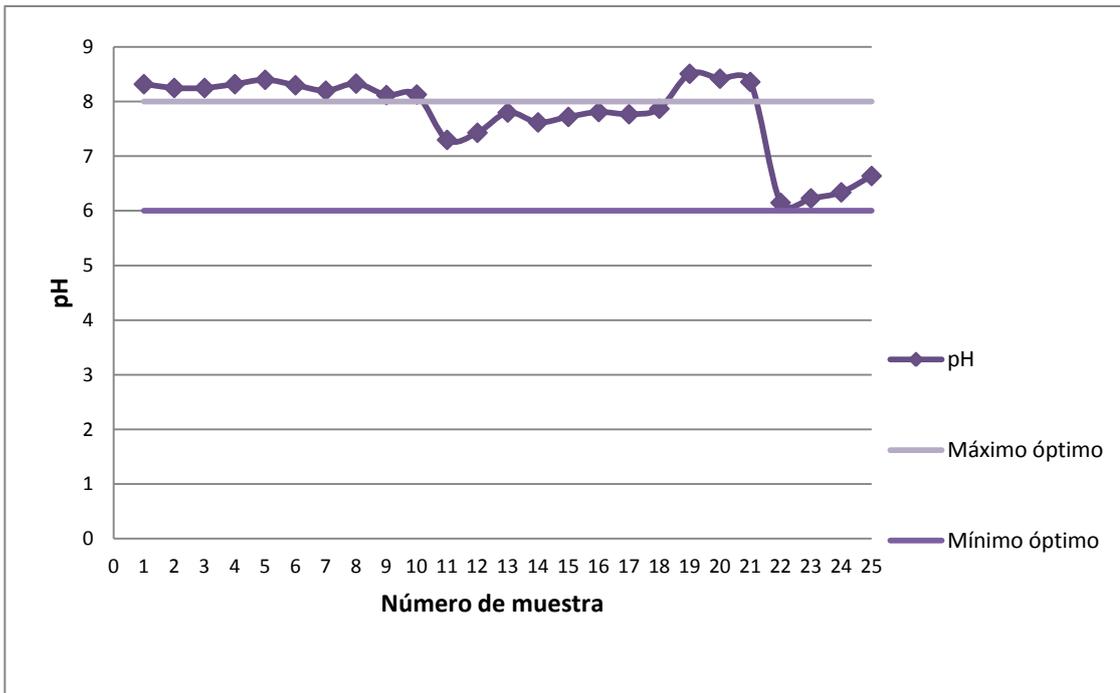


Gráfico No. 5: Temperatura Lecho 2

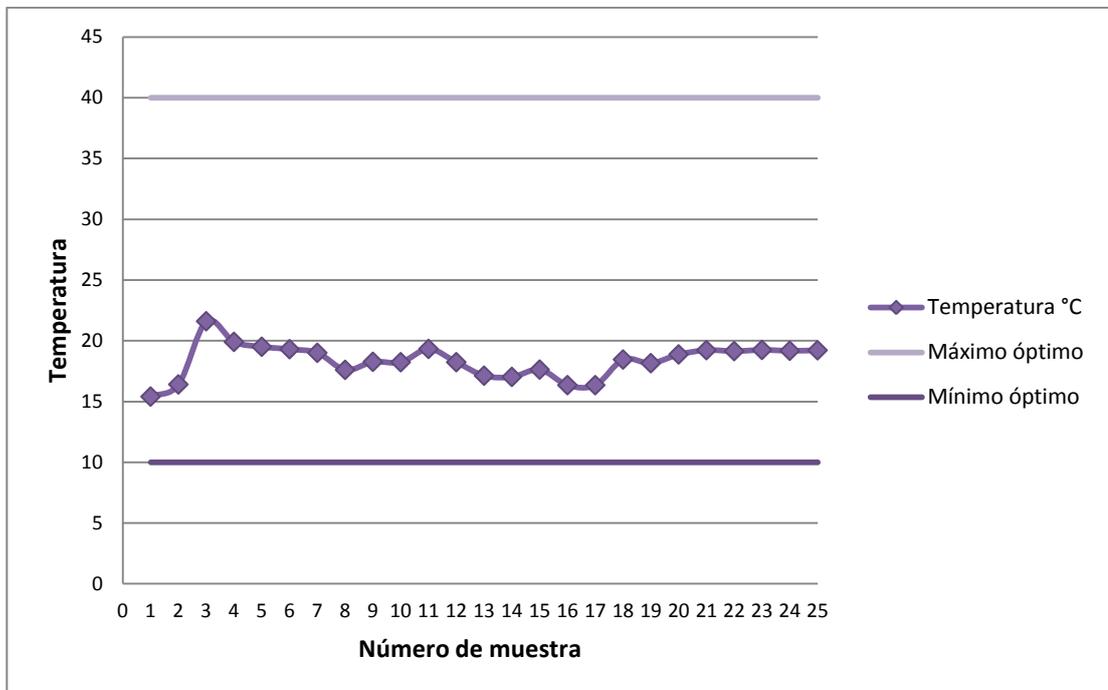
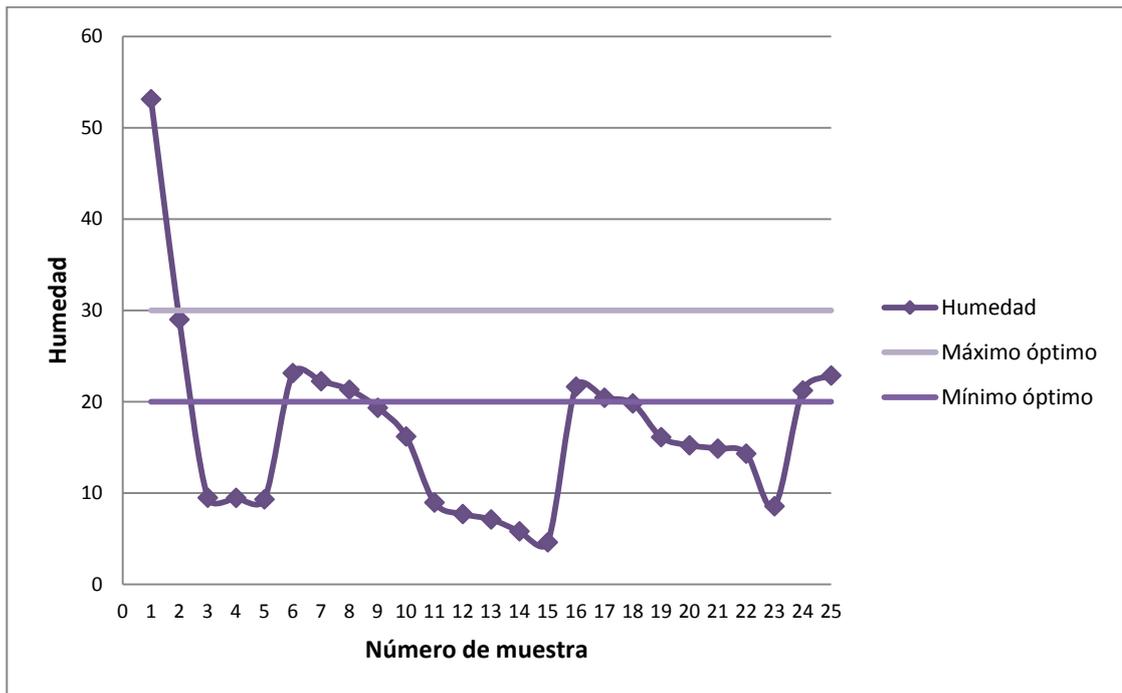


Gráfico No. 6: Humedad Lecho 2



4.1.3. Lecho 3:

Tabla No. 10: Datos Lecho 3

Lecho 3			
Medición	Parámetro		
	pH	Temperatura °C	Humedad
1	8.31	15.4	53.0
2	8.27	16	26.2
3	7.83	21.5	9.9
4	8.18	19.8	8.2
5	8.27	19.5	8.1
6	8.22	19.3	23.0
7	8.10	19.1	22.6
8	8.34	17.1	22.7
9	8.42	18.17	19.0
10	8.12	18.32	16.3
11	7.40	19.36	5.9
12	7.82	18.34	5.1
13	8.01	17.31	6.0
14	8.16	17.12	4.5
15	8.18	17.12	4.7
16	8.79	16.43	21.4
17	8.62	16.34	20.5
18	8.72	18.53	19.1
19	8.13	17.9	18.2
20	8.23	18.93	17.3
21	8.43	18.93	16.2
22	6.43	19.02	15.8
23	6.81	19.25	8.6
24	6.38	19.33	22.8
25	6.48	19.13	22.6

Elaborado por: María Fernanda Chávez

Gráfico No. 7: pH Lecho 3

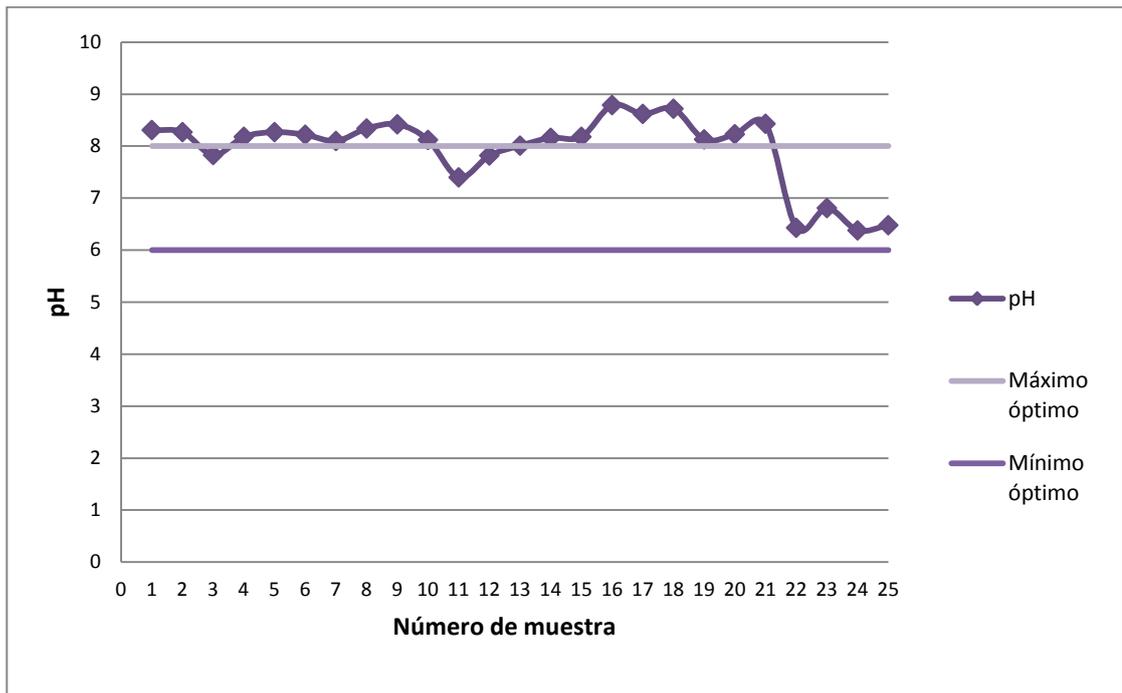


Gráfico No. 8: Temperatura Lecho 3

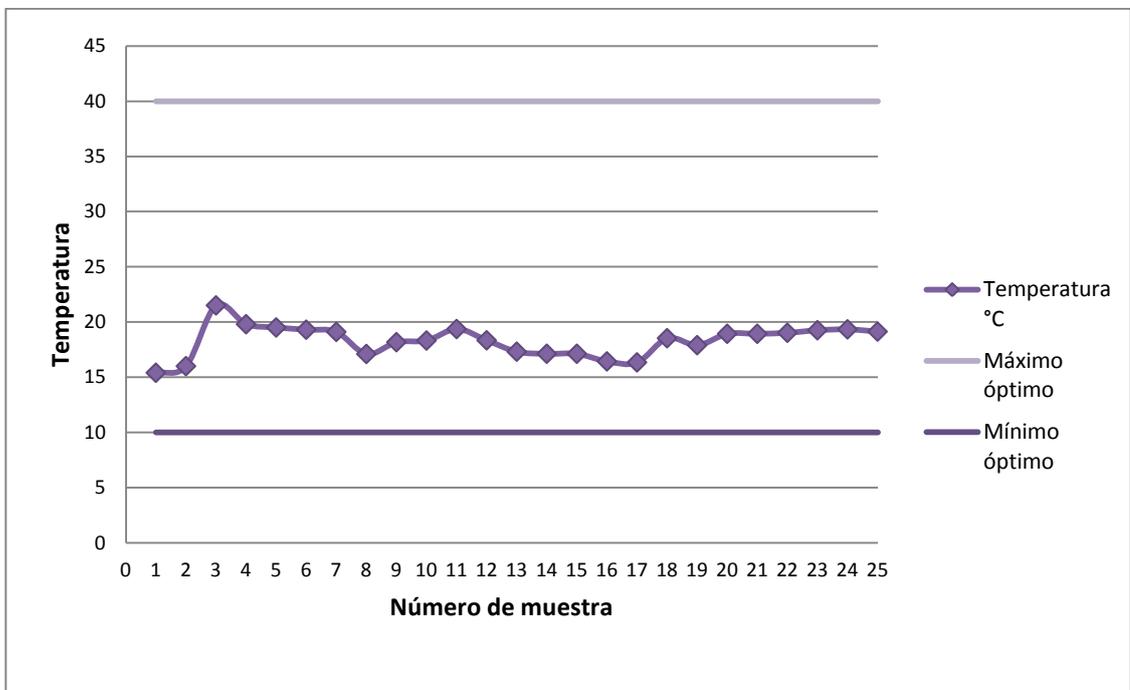
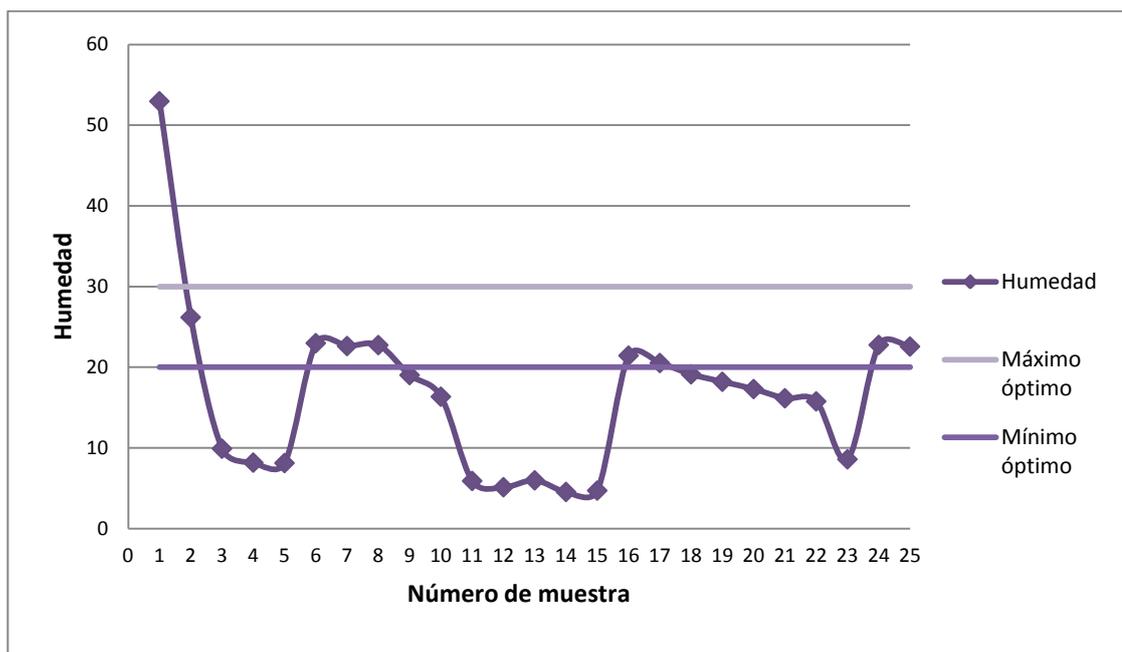


Gráfico No. 9: Humedad Lecho 3



4.1.4. Lecho 4:

Tabla No. 11: Datos Lecho 4

Lecho 4			
Medición	Parámetro		
	pH	Temperatura °C	Humedad
1	8.11	15.3	55.2
2	7.97	16.6	27.4
3	7.65	21.2	8.2
4	7.94	19.7	8.0
5	8.20	19.7	7.6
6	8.20	19.5	23.0
7	7.9	19.1	20.6
8	7.85	17	20.6
9	7.73	18.15	18.1
10	7.53	18.17	14.2
11	7.1	19.37	7.3
12	7.23	18.34	6.7
13	7.42	17.23	5.8
14	7.52	17.12	5.0
15	7.82	17.09	3.4
16	8.01	16.42	21.0
17	7.92	16.32	20.1
18	7.68	18.54	18.3
19	8.04	17.8	14.4
20	8.22	18.92	13.9
21	8.41	18.96	13.2
22	5.68	19	12.7
23	5.76	19.25	7.6
24	6.19	19.25	21.1
25	6.23	19.53	20.9

Elaborado por: María Fernanda Chávez

Gráfico No. 10: pH Lecho 4

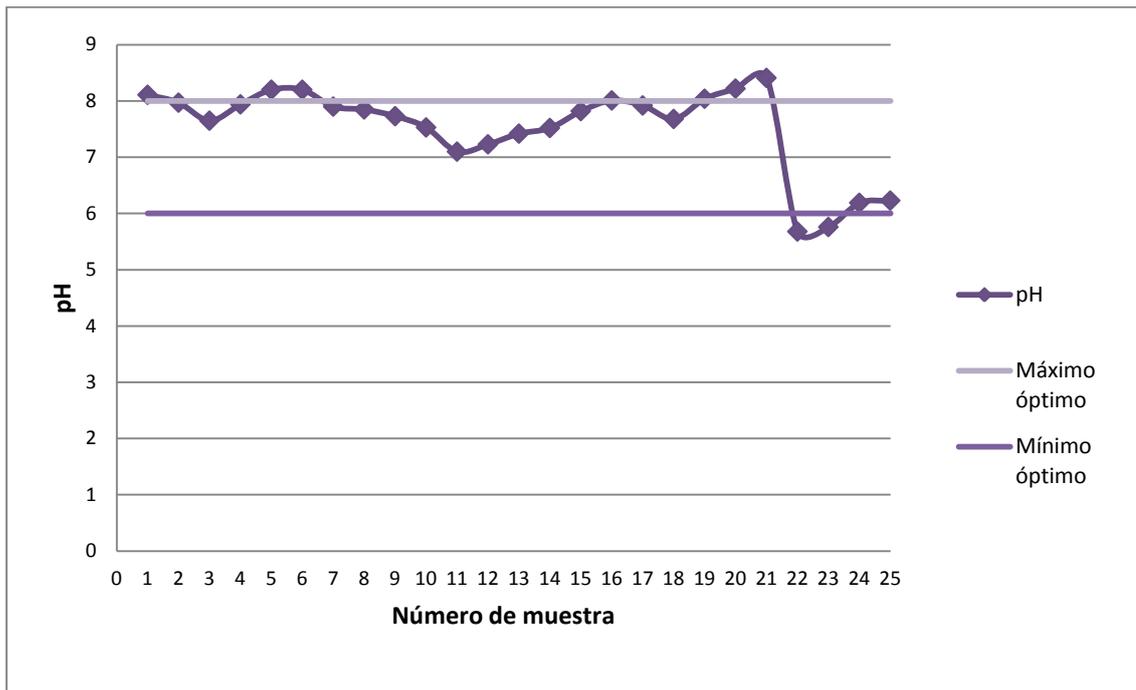


Gráfico No. 11: Temperatura Lecho 4

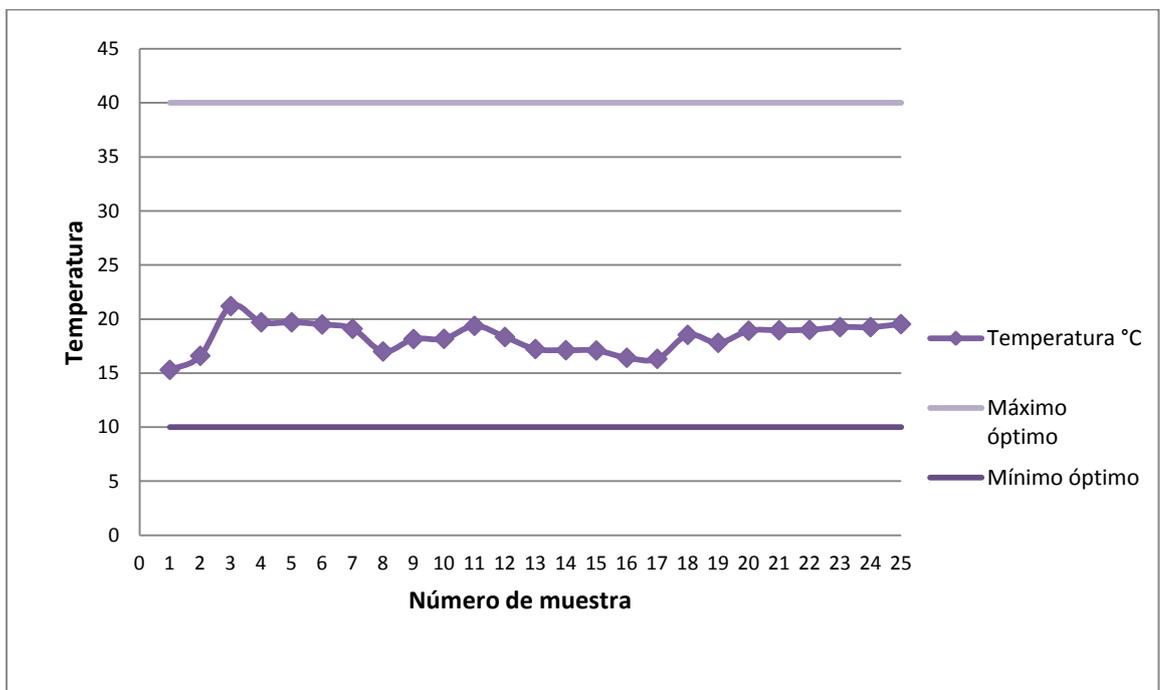
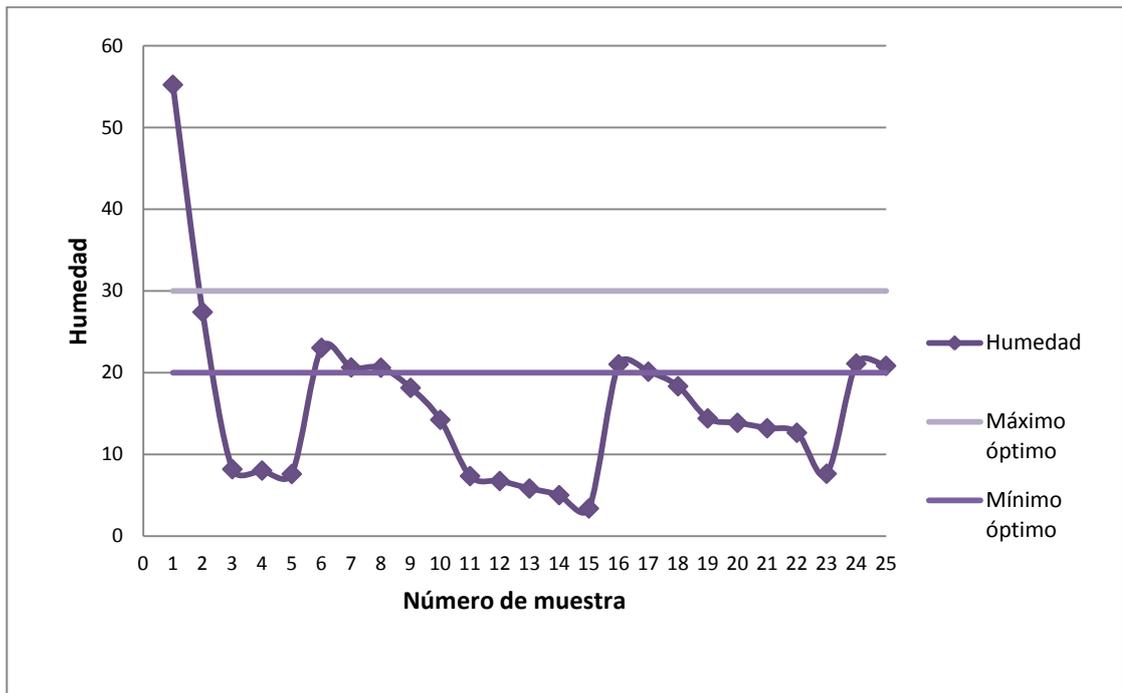


Gráfico No. 12: Humedad Lecho 4



4.2. Cálculos:

4.2.1. Humedad:

Empleando la ecuación 2

Peso papel = 0.78g (1)

Peso papel + muestra = 25.52g (2)

Peso húmedo = (2) – (1) = **25.52g (3)**

Peso Seco = Papel + muestra = 20.36g (4)

Peso Seco = (4) – (1) = **19.58g (5)**

$$\% \text{ de humedad} = \frac{\text{Peso húmedo} - \text{Peso Seco}}{\text{Peso húmedo}} \times 100$$

$$\% \text{ de humedad} = \frac{25.52\text{g} - 19.58}{25.52\text{g}} \times 100$$

$$\% \text{ de humedad} = \underline{\underline{20.86\% \text{ de humedad}}}$$

4.2.2. Contenido de materia orgánica:

Empleando la ecuación 1

$$\text{Peso del Crisol} = 91.27\text{g} \quad (1)$$

$$\text{Peso Crisol} + \text{muestra} = 140.38\text{g} \quad (2)$$

$$\text{Peso muestra inicial} = (2) - (1) = 49.11$$

$$\text{Peso final Crisol} + \text{muestra} = 120.97\text{g} \quad (3)$$

$$\text{Peso muestra final} = (3) - (1) = 29.7\text{g}$$

$$\% \text{ de materia orgánica} = \frac{\text{Peso muestra inicial} - \text{Peso muestra final}}{\text{Peso muestra inicial}} \times 100$$

$$\% \text{ de materia orgánica} = \frac{49.11 - 29.7}{49.11} \times 100 = \underline{\underline{39.52 \% \text{ de contenido de materia orgánica.}}}$$

En base a las características físicas del residuo generado de la calcinación de la muestra, se determinó que esta se encuentra compuesta casi en su totalidad por óxido de hierro, el cual es atribuido al desgaste normal de los cilindros de GLP que es retirado como residuo en el proceso de mantenimiento.

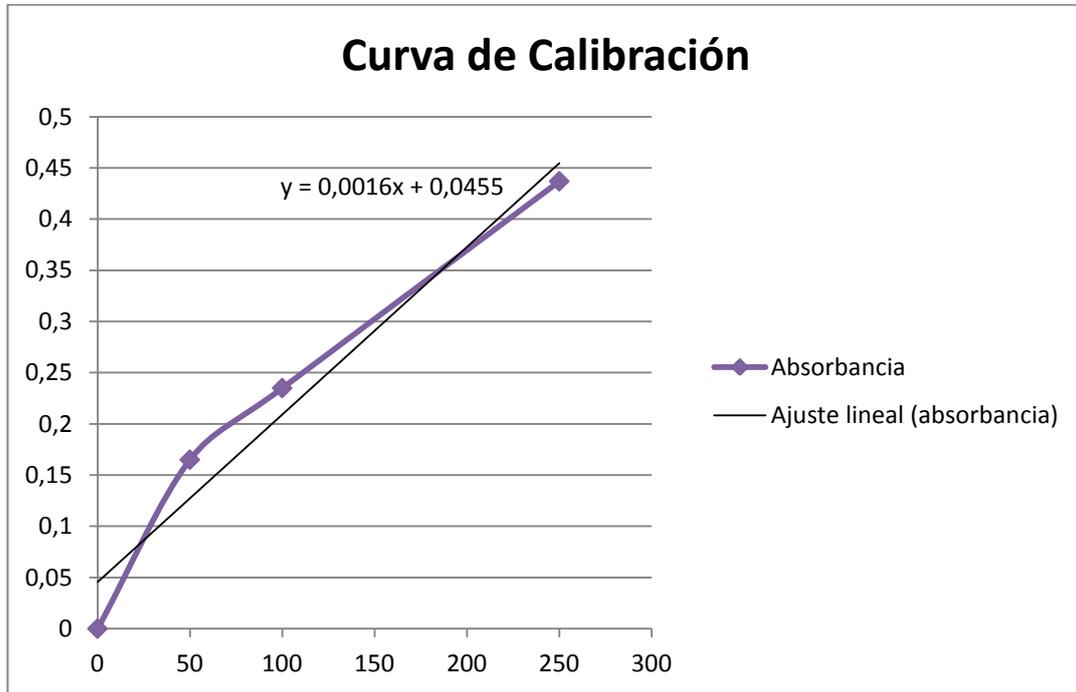
El contenido de materia orgánica presente corresponde a un 30%, este alto valor es atribuido a la gran cantidad de hidrocarburos totales de petróleo presentes en la muestra problema, los cuales son de naturaleza orgánica.



Fotografía No. 17: Análisis materia orgánica. Fernanda Chávez, 2012

4.2.3. Hidrocarburos totales de Petróleo:

Gráfico No.13: Curva de calibración



Peso muestra = 0.5024g (1)

Absorbancia (y): 0.430 (2)

$$\text{Concentración (x)} = \frac{y - 0,0455}{0,0016} = 240,31 \text{ (2)}$$

$$\text{Concentración x dilución (1:10)} = 240,31 \times 10 = 2403,13 \text{ (3)}$$

Corrección humedad:

$$\text{Humedad} = 20,86\% = 0,2086 \text{ (4)}$$

$$\text{Peso seco} = [1 - (4)] \times (1) = 0,3976$$

Concentración (mg/l)

$$\frac{2403,13 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} \times \frac{10 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 24,03 \text{ mg/l}$$

Concentración mg/kg de muestra seca

$$\frac{24.03 \text{ mg}}{0.3976 \text{ g}} \times 1000 \text{ g}$$

= 60438.51mg de TPH /kg de muestra Seca

4.2.4. Determinación de comunidades microbianas:

A través del cultivo microbiano elaborado, se determinó que la muestra problema contiene una gran diversidad de crecimiento micótico. Dentro de todo el crecimiento presente se evidenció un hongo de interés en el caso particular de este estudio, el cual fue identificado mediante observación directa y la elaboración de placas para su identificación en el microscopio en base a bibliografía existente.

El hongo identificado corresponde al *mucor sp.*:



Fotografía No. 18: Mucor sp. Fernanda Chávez, 2012



Mucor sp. perteneciente al *Phylum Zygomycota*

Fuente: Pontificia Universidad Javeriana, 2008

El *Mucor sp.* ha sido identificado como uno de los hongos con capacidad para degradar hidrocarburos y sus derivados (Carrasco, 2007), ha sido empleado en varios estudios de remoción de hidrocarburos en suelos contaminados a través de la bioaumentación generando resultados favorables (Acuapan et. al., 2010), y es ampliamente empleado como bioindicador de contaminación de suelos por hidrocarburos, de ahí su importancia en este estudio.

Este hongo esta dentro de los géneros más comunes encontrados en suelos (Arias y Pineros, 2008).

Al identificar la presencia de este microorganismo en los lechos de tratamiento se hizo necesario estimular su crecimiento, con este fin se realizó un análisis de nutrientes para proceder a estabilizarlos de ser necesario.

4.2.5. Nutrientes:

Tabla No. 12: Análisis de nutrientes

	Unidades	Muestra 1	Muestra 2	Interpretación
pH	-	6.6	6.6	Ligeramente acido
Carbono orgánico	%	3.36	2.90	-
Nitrógeno Total	%	0.32	0.27	Medio
Fosforo	ppm	3.0	1.4	Muy bajo
Potasio	cmol/kg	0.25	0.25	Medio

Fuente: Informe Laboratorio de Química Agrícola y Suelos, Universidad Central del Ecuador, 2012.

4.3. Análisis Estadístico de resultados de Hidrocarburos Totales de Petróleo:

4.3.1. Lecho 1 (Testigo)

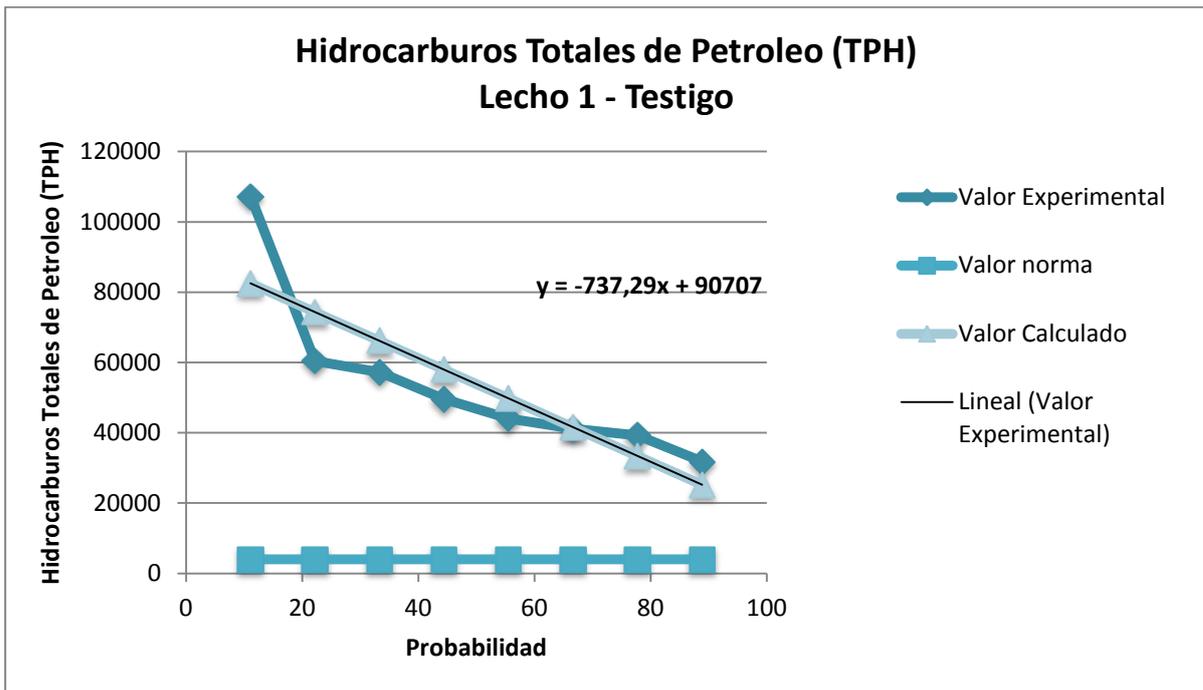
Tabla No. 13: TPH Lecho 1

Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH) Lecho 1 - Testigo				
N° Orden	Valor Experimental mg/kg	Probabilidad (%)	Valor Calculado	Valor norma
1	107251	11.11	82515	4000
2	60439	22.22	74323	4000
3	57252	33.33	66131	4000
4	49568	44.44	57939	4000
5	44079	55.56	49746	4000
6	41129	66.67	41554	4000
7	39243	77.78	33362	4000
8	31779	88.89	25170	4000

Valores notables	
Maximo	107251.00
Minimo	31778.68
Promedio	53842.51

Valores persistentes	
Percentiles	Valor Calculado
10	83334.20
25	72274.81
50	53842.51
75	35410.20
90	24350.81

Gráfico No. 14: TPH Lecho 1



Calculo del Porcentaje de remoción de TPH:

$$\% \text{ de remocion} = \frac{\text{Contenido Inicial} - \text{Contenido Final}}{\text{Contenido Inicial}} \times 100$$

$$\% \text{ de remocion} = \frac{107251 - 31778.68}{107251} \times 100$$

Porcentaje de remoción = 70.37 %

4.3.2. Lecho 2:

El tratamiento realizado a este lecho de tratamiento consistió en:

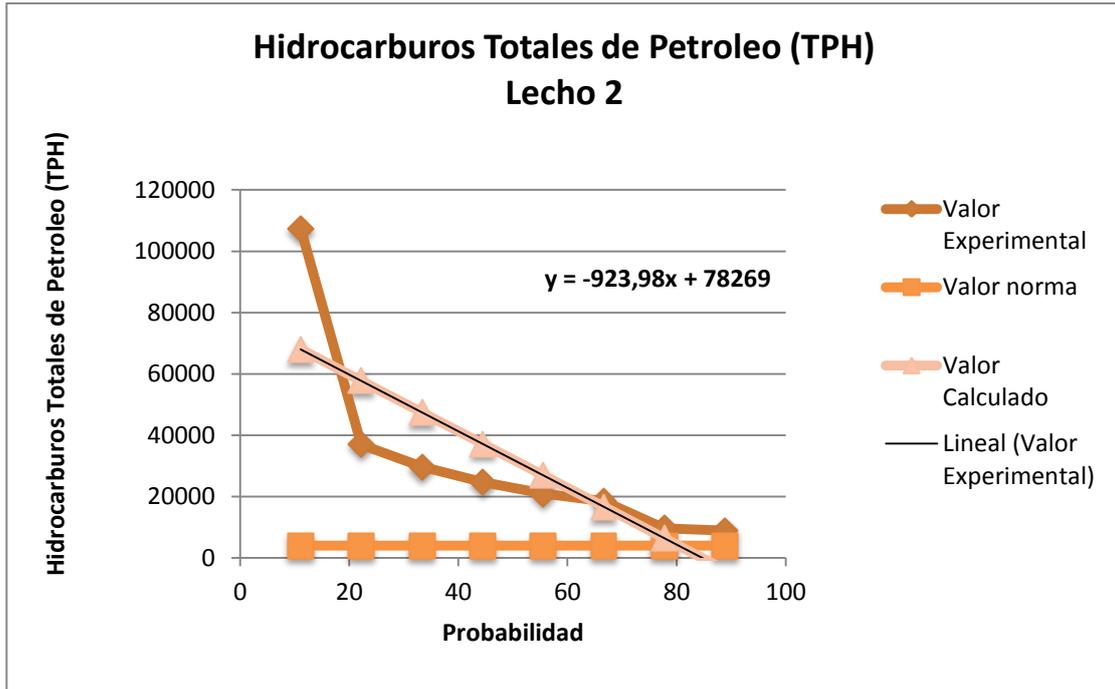
- Deshidratación: Mediante laboreo
- Adición de Fructosa: 1% - cada 15 días por dos ocasiones
- Fertilizante: 10g por litro hasta humedecer/ 10g directamente junto con laboreo.
- Bioventilación: Una vez por semana

Tabla No. 14: TPH Lecho 2

Hidrocarburos Totales de Petroleo (TPH) Lecho 2				
N° Orden	Valor Experimental	Probabilidad (%)	Valor Calculado	Valor norma
1	107251	11.11	68003	4000
02	36938	22.22	57737	4000
3	29706	33.33	47470	4000
4	24709	44.44	37204	4000
5	20972	55.56	26937	4000
6	18426	66.67	16671	4000
7	9634	77.78	6404	4000
8	8924	88.89	0	4000

Valores notables		Valores persistentes	
		%P	Valor Calculado
Máximo	107251.00	10	69029.60
Mínimo	8924.44	25	55169.91
Promedio	32070.42	50	32070.42
		75	8970.94
		90	0

Gráfico No. 15: TPH Lecho 2



Calculo del Porcentaje de remoción de TPH:

$$\% \text{ de remocion} = \frac{\text{Contenido Inicial} - \text{Contenido Final}}{\text{Contenido Inicial}} \times 100$$

$$\% \text{ de remocion} = \frac{107251 - 8924.44}{107251} \times 100$$

Porcentaje de remoción = 91.68 %

4.3.3. Lecho 3:

El tratamiento realizado a este lecho de tratamiento consistió en:

- Deshidratación: Mediante laboreo
- Adición de Fructosa: 0.7% - cada 15 días por dos ocasiones
- Fertilizante: 10g por litro hasta humedecer/ 10g directamente junto con laboreo.
- Bioventilación: Una vez por semana

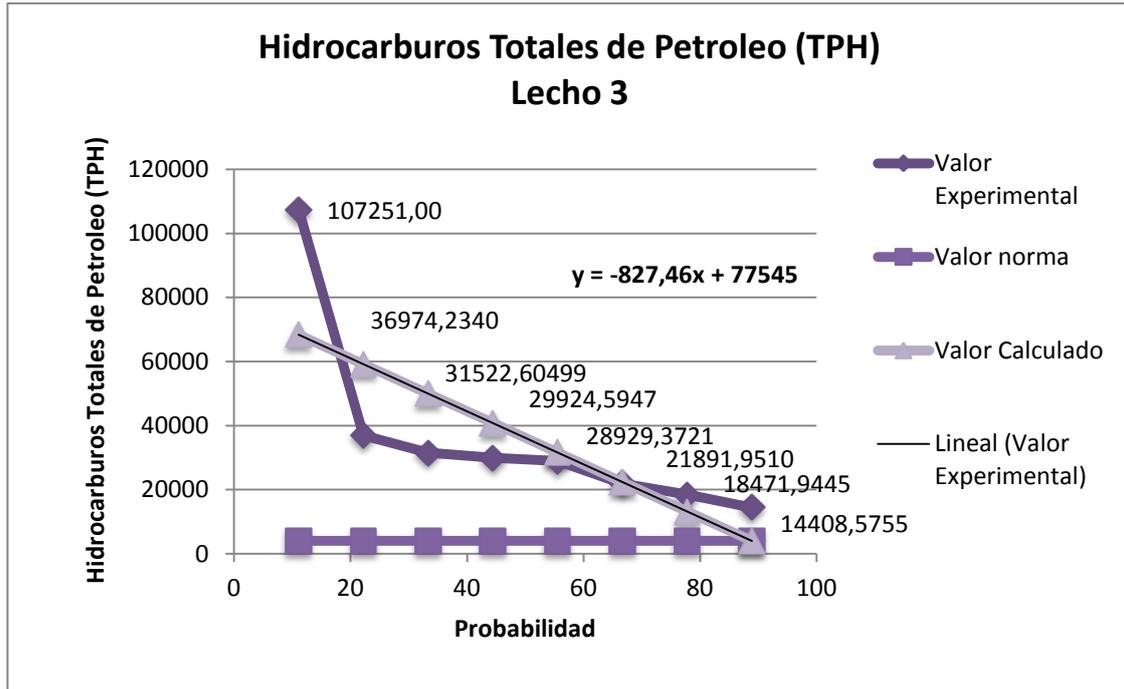
Tabla No. 15: TPH Lecho 3

Hidrocarburos Totales de Petroleo (TPH) Lecho 3				
N° Orden	Valor Experimental	%P= f x 100	Valor Calculado	Valor norma
1	107251	11.11	68351	4000
2	36974	22.22	59157	4000
3	31523	33.33	49963	4000
4	29925	44.44	40769	4000
5	28929	55.56	31575	4000
6	21892	66.67	22381	4000
7	18472	77.78	13187	4000
8	14409	88.89	3993	4000

Valores notables	
Máximo	107251.00
Mínimo	14408.58
Promedio	36171.78

Valores persistentes	
%P	Valor Calculado
10	69270.17
25	56858.27
50	36171.78
75	15485.30
90	3073.40

Gráfico No. 16: TPH Lecho 3



Calculo del Porcentaje de remoción de TPH:

$$\% \text{ de remocion} = \frac{\text{Contenido Inicial} - \text{Contenido Final}}{\text{Contenido Inicial}} \times 100$$

$$\% \text{ de remocion} = \frac{107251 - 14408.58}{107251} \times 100$$

Porcentaje de remoción = 86.57 %

4.3.4. Lecho 4:

El tratamiento realizado a este lecho de tratamiento consistió en:

- Deshidratación: Mediante laboreo
- Adición de Fructosa: 0.5% - cada 15 días por dos ocasiones
- Fertilizante: 10g por litro hasta humedecer/ 10g directamente junto con laboreo.
- Bioventilación: Una vez por semana

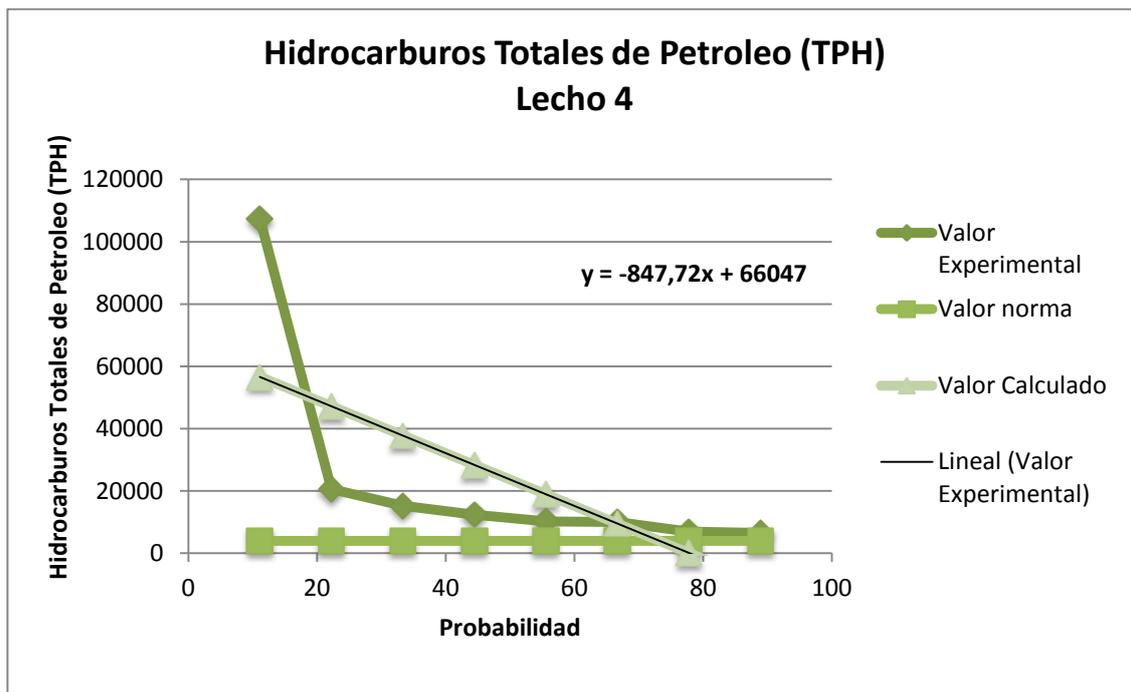
Tabla No. 16: TPH Lecho 4

Hidrocarburos Totales de Petroleo (TPH) Lecho 4				
N° Orden	Valor Experimental	Probabilidad (%)	Valor Calculado	Valor norma
1	107251	11.11	56628	4000
2	20578	22.22	47209	4000
3	15311	33.33	37790	4000
4	12401	44.44	28371	4000
5	10264	55.56	18952	4000
6	10012	66.67	9533	4000
7	6922	77.78	113	4000
8	6553	88.89	0	4000

Valores notables	
Maximo	107251.00
Minimo	6552.68
Promedio	23661.28

Valores persistentes	
%P	Valor Calculado
10	57570.10
25	44854.29
50	23661.28
75	2468.26
90	0

Gráfico No. 17: TPH Lecho 4



Calculo del Porcentaje de remoción de TPH:

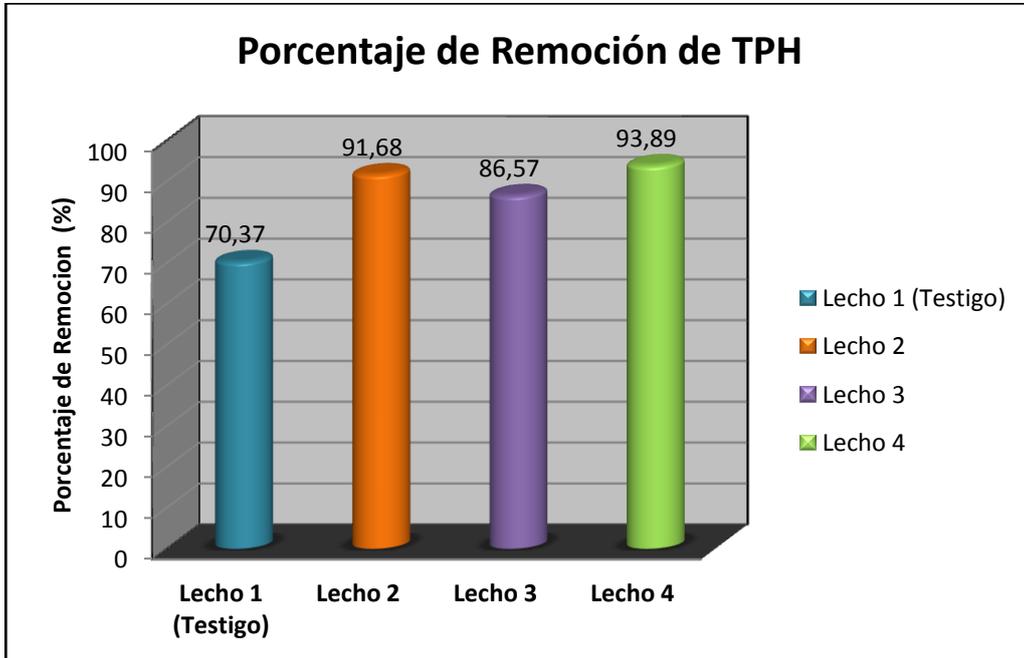
$$\% \text{ de remocion} = \frac{\text{Contenido Inicial} - \text{Contenido Final}}{\text{Contenido Inicial}} \times 100$$

$$\% \text{ de remocion} = \frac{107251 - 6552.68}{107251} \times 100$$

Porcentaje de remoción = 93.89 %

4.4. Porcentaje comparativo de remoción de Hidrocarburos Totales de Petróleo

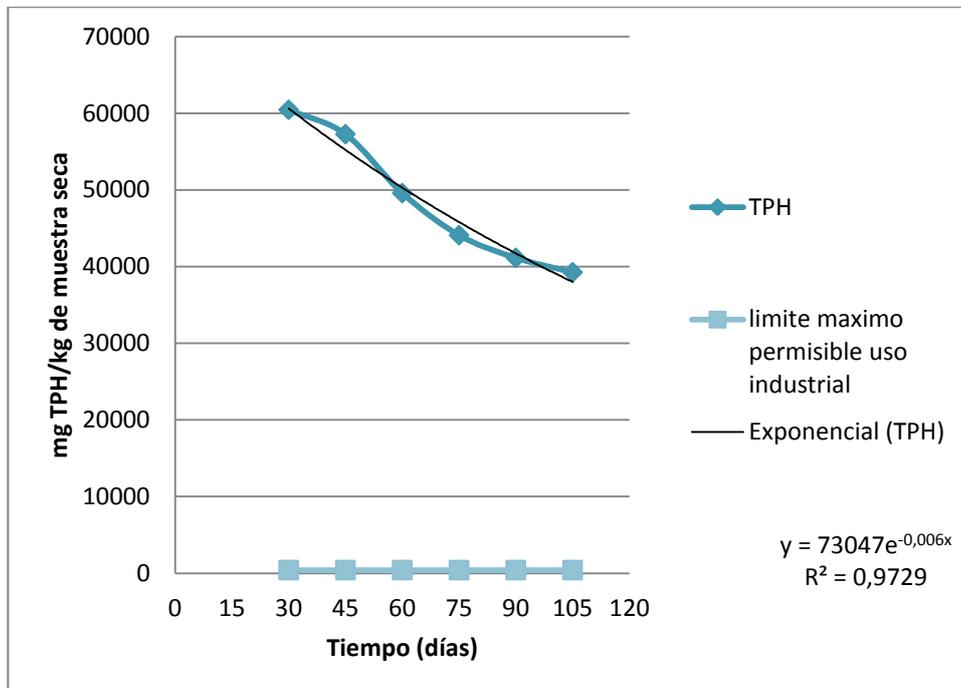
Gráfico No. 18: Porcentaje comparativo de remoción de TPH



4.5. Modelo matemático por lecho de tratamiento

4.5.1. Lecho 1:

Gráfico No. 19: Modelo Matemático Lecho1



Calculo de días requeridos para alcanzar el valor de norma (4000 ppm):

$$y = 73047e^{-0.006x} \quad (3)$$

$$R = 0.9729$$

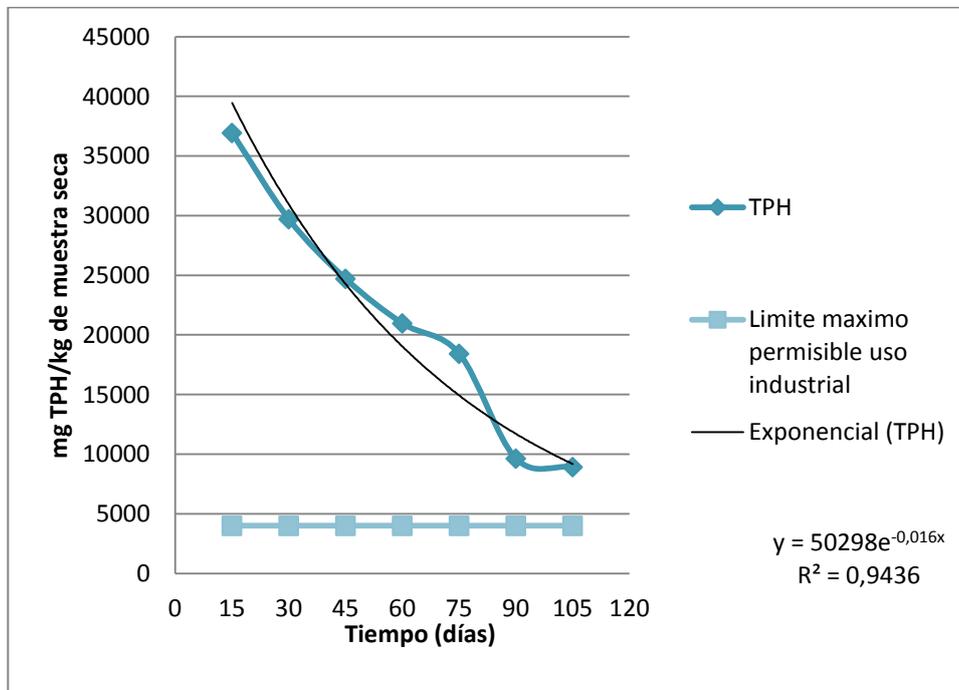
$$4000 = 73047e^{-0.006x}$$

$$\ln \frac{4000}{73047} = -0.006 x \ln e$$

$$x = 484 \text{ días}$$

4.5.2. Lecho 2:

Grafico No. 20: Modelo Matemático Lecho2



Calculo de días requeridos para alcanzar el valor de norma (4000 ppm):

$$y = 50298e^{-0.016x} \quad (4)$$

$$R = 0.9436$$

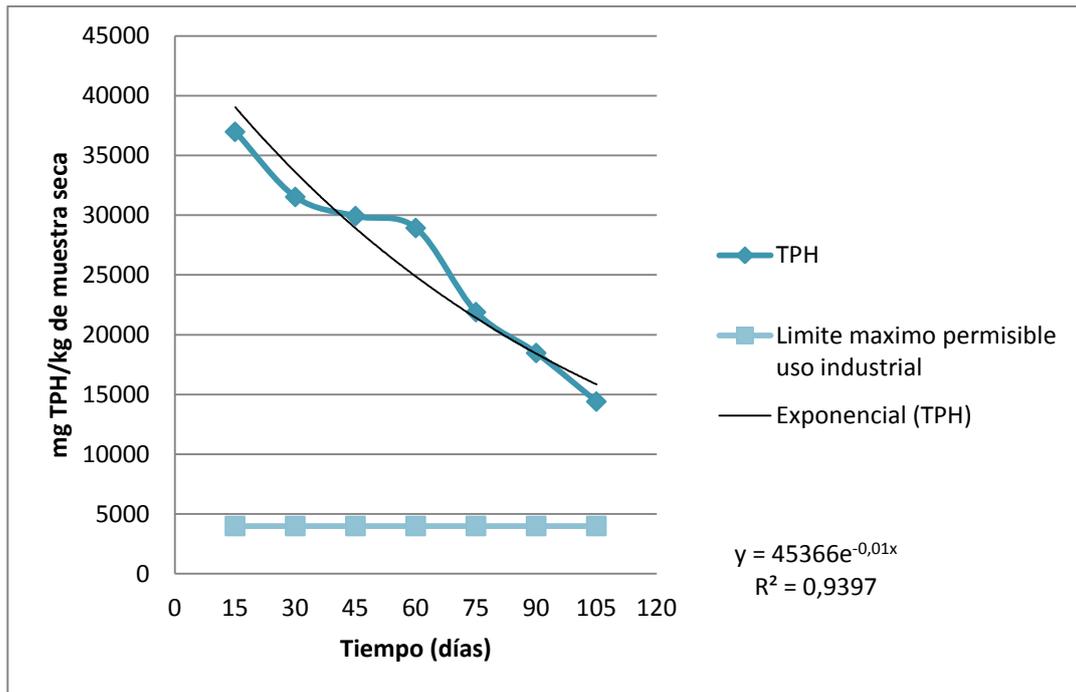
$$4000 = 50298e^{-0.016x}$$

$$\ln \frac{4000}{50298} = -0.016 x \ln e$$

$$x = 158 \text{ días}$$

4.5.3. Lecho 3:

Grafico No. 21: Modelo Matemático Lecho3



Calculo de días requeridos para alcanzar el valor de norma (4000 ppm):

$$y = 45366e^{-0.01x} \quad (5)$$

$$R = 0.397$$

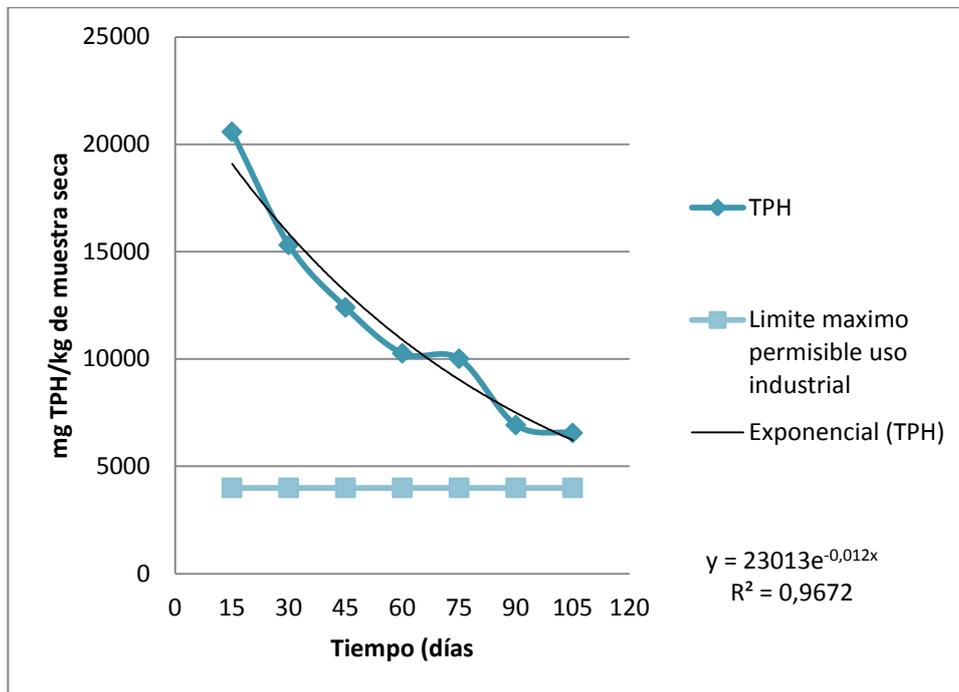
$$4000 = 45366e^{-0.01x}$$

$$\ln \frac{4000}{45366} = -0.01 x \ln e$$

$$x = 242 \text{ días}$$

4.5.4. Lecho 4:

Grafico No. 22: Modelo Matemático Lecho4



Calculo de días requeridos para alcanzar el valor de norma (4000 ppm):

$$y = 23013e^{-0.012x} \quad (5)$$

$$R = 0.9672$$

$$4000 = 23013e^{-0.012x}$$

$$\ln \frac{4000}{23013} = -0.012 x \ln e$$

$$x = 145 \text{ días}$$

4.6. Discusión:

La presente investigación logró, a través del uso de técnicas de degradación biológicas, alcanzar altos porcentajes de remoción de hidrocarburos totales de petróleo presentes en lodos residuales de una planta de tratamiento de aguas. En el transcurso de la implementación de la técnica se presentaron algunos inconvenientes.

Entre las dificultades reportadas, cabe mencionar la alta pérdida del contenido de humedad que presentaron los lechos durante el tratamiento, lo cual generaba condiciones poco favorables

para el desarrollo microbiano y por tanto, para la degradación, esta pérdida fue compensada con la adición de agua a los lechos de tratamiento como parte de la técnica aplicada. Por otro lado, durante el tratamiento se produjo una generación de olores atribuidos principalmente a los mercaptanos presentes debido al origen de la muestra problema, los cuales pueden llegar a causar problemas y, a gran escala, a conllevar un riesgo al ser inflamables por su naturaleza.

De acuerdo con los resultados obtenidos en esta investigación, podemos asegurar que la bioventilación y bioestimulación son técnicas apropiadas para la remoción de hidrocarburos totales de petróleo de esta muestra específica, ya que se consideran hidrocarburos de bajo peso molecular, por lo tanto susceptibles a la biodegradación y a la volatilización generando su remoción.

CAPITULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones:

Todos los lechos de tratamiento presentaron una disminución significativa de la concentración hidrocarburos totales de petróleo (TPH).

El lecho de tratamiento 1, el cual actuó como testigo de este ensayo, presentó un porcentaje de remoción de TPH del 70.37%. Esto se atribuye a que, a pesar de no haber recibido tratamiento alguno, la naturaleza de la mayor parte de los hidrocarburos presentes en la muestra son volátiles por su origen ya que constituyen hidrocarburos alifáticos y aromáticos.

Los lechos de tratamiento 2, 3 y 4 presentan porcentajes de remoción similares 91.7%, 81.7% y 93.89% respectivamente. Ma

El lecho 4 es el que mayor porcentaje de remoción presenta, esto puede deberse a que presentaba un mayor contenido de humedad inicialmente, lo que permitió que mayor cantidad de compuestos pasen a la fase de vapor en el proceso de deshidratación.

El mayor porcentaje de remoción de TPH en todos los lechos de tratamiento se produjo en la fase de deshidratación, esto se debe al traslado de los hidrocarburos presentes en la fase acuosa de la muestra hacia la atmosfera mediante el proceso de bioventilación.

Debido a que los lechos de tratamiento se encontraban ubicados en exteriores, la temperatura de los mismos estaba directamente relacionada con la temperatura ambiente, y por esta razón no pudo ser relacionada con actividad microbiana.

La muestra problema, a pesar de ser de origen artificial, tiene la capacidad de amortiguar y mitigar la carga contaminante presente, por lo cual la bioestimulación (técnica aplicada en este estudio) acelera el proceso de remoción de dichos contaminantes.

Procesos de bioaumentación no fueron incluidos dentro de este estudio, debido a que el objetivo del mismo fue el de buscar una alternativa viable que no suponga mayores gastos ni requiera de un trabajo exhaustivo para lograr los resultados esperados.

Se evidencio una alta tasa de pérdida de humedad en todos los lechos de tratamiento durante todo el ensayo, las cuales fueron compensadas con el fin de mantener condiciones favorables para la biodegradación (bioestimulación).

Considerando que la generación de lodos se realiza en función del trimestre, el tratamiento propuesto es factible en referencia al tiempo que se requiere para alcanzar los resultados presentados.

Durante toda la investigación se detectaron olores fuertes generados por los lechos de tratamiento, este se atribuye principalmente a los mercaptanos e hidrocarburos presentes en la muestra.

A través del análisis de materia orgánica se determinó que la muestra problema se encuentra compuesta en gran proporción por óxido de hierro. Esta composición se debe al desgaste normal de los cilindros de GLP.

El tiempo calculado requerido para el alcance de los límites máximos permisibles establecidos para TPH del lecho 1 (testigo), corresponde a 484 días, mientras que el promedio de días requeridos por los lechos que recibieron tratamiento es de 181 días, siendo el lecho 4 el que requiere menor tiempo para la remoción.

Todas las gráficas que ilustran la disminución de TPH durante el tratamiento muestran un comportamiento exponencial decreciente.

6.2. Recomendaciones:

Es importante controlar las emisiones generadas durante todo el proceso sugerido en este estudio, tanto por los hidrocarburos volátiles presentes como por las propiedades organolépticas del mercaptano, el cual puede generar molestias.

Con el fin de alcanzar resultados favorables con este procedimiento, se debe elaborar lechos de tratamiento con una profundidad máxima de 0.5 metros, ya que la bioventilación es imprescindible para alcanzar dichos resultados.

Se podrían realizar futuros ensayos de bioaumentación conjuntamente con el tratamiento propuesto para alcanzar mayores niveles de remoción de TPH o un menor tiempo de degradación.

Es recomendable realizar una determinación de comunidades bacterianas presentes en la muestra que tengan capacidad de degradar hidrocarburos y sus derivados, con el fin de fortalecer o acelerar el tratamiento propuesto.

En el caso de implementar esta técnica a gran escala, se recomienda tener un control sobre las emisiones generadas durante el tratamiento, debido a que la naturaleza de la muestra problema puede generar gases inflamables.

Se debe mantener condiciones aerobias de la muestra problema durante todo el tratamiento para evitar una mayor generación de gases y olores.

Futuros ensayos con un control artificial de temperatura podrían ser elaborados con el fin de aumentar la actividad microbiana y de esta manera el proceso de degradación

Se recomienda realizar un análisis más profundo acerca de la composición de los hidrocarburos presentes en la muestra problema.

CAPITULO VI: REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA

AgipEcuador S.A. (Eni S.p.A 2005). Disponible en: <http://www.agip.com.ec/queglp.htm>

Acuapan et. al. (2010). Bioaumentación con hongos aislados del café para la remoción de hidrocarburos policíclicos aromáticos (HAPs). Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

Arias y Pineros (2008). Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de los páramos de Guasca y Cruz Verde. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

Arroyo, M. y Rogel, J. Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos. GEOCISA. Div. Protección Ambiental de Suelos.

Barros, D (2003). Caracterización, manejo, tratamiento y disposición final de lodos provenientes de una planta envasadora de Gas Licuado de Petróleo. Escuela Politécnica Nacional. Quito, Ecuador.

Benavides, et al. (2006). Biodegradación de suelos contaminados por hidrocarburos derivados del petróleo. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, Colombia, 4, pp. 82-90.

Carrasco, D (2007). Aislamiento e identificación de bacterias con capacidad degradadora de hidrocarburos, comprobando su actividad enzimática. Universidad San Francisco de Quito. Quito, Ecuador.

Castillo, et. al. (2005). Biotecnología Ambiental. Editorial Tébar S.L., Madrid (España), 364-542 pp.

Eweis, et al. (1999). Principios de Biorrecuperación (Biorremediation). McGRAW-HILL/INTERAMERICANA DE ESPAÑA, S. A. U.

Ferrera et. al. (2006). Revista Latinoamericana de Microbiología, vol. 48.

Harmsen, J. Landfarming of polycyclic aromatic hydrocarbons and mineral oil contaminated sediments. Wagenigen University, Wangeningen, The Netherlands, 344 pp.

Jarrín, V. (2004). Biorremediación de suelos por contaminación de hidrocarburos, método de Landfarming, aplicado en el Bloque N18, Palo Azul. Tesis de grado, Universidad Central del Ecuador, Quito-Ecuador.

Kiely, G. (1999). Ingeniería Ambiental: Fundamentos, entornos, tecnologías y sistemas de gestión (vol. 4). McGRAW-HILL/INTERAMERICANA DE ESPAÑA, S. A. U.

Lara, E. (2009). Evaluación de la adición de nutrientes en el proceso de biopilas para la biodegradación de suelos contaminados por hidrocarburos, provenientes de la piscina Sacha 41-1 del campo Sacha. Tesis de grado, Universidad Central del Ecuador, Quito-Ecuador.

López, et al. (2010). Tratamiento de lodos. Una etapa necesaria dentro del proceso tecnológico. Revista CENIC. Centro Nacional de Investigaciones Científicas de Cuba, La Habana, Cuba. Ciencias Químicas, 41 pp, 1- 6.

Método EPA 9045D (2004). Solid and Waste pH. Environmental Protection Agency.

Método EPA 418.1. Petroleum Hydrocarbons (Spectrophotometric, Infrared). Environmental Protection Agency.

Marín, et. al., (2005). Biotecnología y Medio Ambiente. Ephemera.

Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador. Decreto Ejecutivo 1215 (RAOH 1215).

Torres, D. (2003). Ecosistemas, El papel de los microorganismos en la biodegradación de compuestos tóxicos. Asociación Española de Ecología Terrestre (AEET). Revista científica y técnica de ecología y medio ambiente [Revista electrónica]. Disponible en: http://www.revistaecosistemas.net/index_frame.asp?pagina=http%3A/www.revistaecosistemas.net/articulo.asp%3Fid%3D224.

Vallejo et. al., (2005). Evaluación de la bioestimulación de TPHs en suelos contaminados con petróleo. Revista Colombiana de Biotecnología, vol. II.

Vásquez, et al. (2010) Biorremediación de lodos contaminados con aceites lubricantes usados. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia: Revista Colombiana de Biotecnología, vol. XII, núm. 1, pp. 141-157.

Viñas, M. (2005). Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos: caracterización microbiológica, química y ecotoxicológica. Universidad de Barcelona, Barcelona, España.

Yepez, F. (1980). Algunos apuntes sobre el gas natural. División de comunicación y Relaciones Externas de CEPE. Quito, Ecuador, pp 7-13.

ANEXOS

Anexo No. 1: Control de parámetros Mayo 2012.

Elaborado por: María Fernanda Chávez, 2012.

Control Parámetros mes de Mayo				
Lecho	Parámetro			Fecha
	pH	Temperatura	Humedad	
1	8.20	15.5	51.28	13-abr-12
2	8.32	15.4	53.12	
3	8.31	15.4	52.97	
4	8.11	15.3	55.24	
1	8.27	16.6	20.86	27-abr-12
2	8.25	16.4	29.00	
3	8.27	16	26.18	
4	7.97	16.6	27.42	
1	8.21	19.9	11.76	11-may-12
2	8.25	21.6	9.50	
3	7.83	21.5	9.90	
4	7.65	21.2	8.18	
1	8.05	19.8	7.82	15-may-12
2	8.32	19.9	9.48	
3	8.18	19.8	8.17	
4	7.94	19.7	8.02	
1	8.01	19	4.63	18-may-12
2	8.40	19.5	9.32	
3	8.27	19.5	8.12	
4	8.20	19.7	7.60	
1	8.0	19.0	4.02	22-may-012
2	8.30	19.3	23.14	
3	8.22	19.3	22.98	
4	8.20	19.5	23.04	
1	8.0	19.2	8.35	25-may-12
2	8.2	19.0	22.25	
3	8.1	19.1	22.62	
4	7.9	19.1	20.64	
1	7.76	17.7	8.79	29-may-12
2	8.33	17.6	21.32	
3	8.34	17.1	22.74	
4	7.85	17.0	20.61	

Anexo No. 2: Control de parámetros Junio 2012.

Elaborado por: María Fernanda Chávez, 2012.

Control Parámetros mes de Junio				
Lecho	Parámetro			Fecha
	pH	Temperatura	Humedad	
1	7.52	17.32	8.23	01-jun-00
2	8.12	18.26	19.34	
3	8.42	18.17	19.02	
4	7.73	18.15	18.14	
1	7.82	17.58	7.67	05-jun-00
2	8.13	18.23	16.20	
3	8.12	18.32	16.34	
4	7.53	18.17	14.23	
1	8.0	18.74	7.33	08-jun-00
2	7.3	19.32	8.97	
3	7.4	19.36	5.89	
4	7.1	19.37	7.34	
1	8.12	18.02	7.15	12-jun-00
2	7.43	18.23	7.71	
3	7.82	18.34	5.12	
4	7.23	18.34	6.74	
1	8.15	16.98	6.83	15-jun-00
2	7.8	17.12	7.12	
3	8.01	17.31	5.97	
1	8.12	16.82	6.44	19-jun-00
2	7.62	17.02	5.82	
3	8.16	17.12	4.53	
4	7.52	17.12	5.01	
1	8.25	17.71	5.75	22-jun-00
2	7.72	17.62	4.62	
3	8.18	17.12	4.70	
4	7.82	17.09	3.38	
1	8.23	16.3	4.79	26-jun-00
2	7.81	16.34	21.65	
3	8.79	16.43	21.43	
4	8.01	16.42	21.03	
1	8.21	15.21	4.11	29-jun-00
2	7.77	16.34	20.44	
3	8.62	16.34	20.52	
4	7.92	16.32	20.12	

Anexo No. 3: Control de parámetros Julio 2012.

Elaborado por: María Fernanda Chávez, 2012.

Control Parámetros mes de Julio				
Lecho	Parámetro			Fecha
	pH	Temperatura	Humedad	
1	8.17	18.12	3.70	03-jul-12
2	7.87	18.45	19.82	
3	8.72	18.53	19.12	
4	7.68	18.54	18.34	
1	8.20	19.2	3.63	06-jul-12
2	8.51	18.15	16.13	
3	8.13	17.9	18.19	
4	8.04	17.8	14.40	
1	8.31	19.16	3.58	10-jul-12
2	8.42	18.87	15.23	
3	8.23	18.93	17.29	
4	8.22	18.92	13.86	
1	8.25	19.31	3.43	13-jul-12
2	8.36	19.22	14.87	
3	8.43	18.93	16.15	
4	8.41	18.96	13.2	
1	6.67	19.23	3.15	17-jul-12
2	6.15	19.14	14.32	
3	6.43	19.02	15.76	
4	5.68	19.00	12.65	
1	6.54	19.13	3.45	20-jul-12
2	6.23	19.24	8.56	
3	6.81	19.25	8.58	
4	5.76	19.25	7.63	
1	6.35	19.34	3.28	24-jul-12
2	6.34	19.17	21.23	
3	6.38	19.33	22.76	
4	6.19	19.25	21.11	
1	6.63	19.34	3.23	27-jul-12
2	6.64	19.21	22.87	
3	6.48	19.13	22.56	
4	6.23	19.53	20.84	