

INDICE

RESUMEN	4
SUMMARY	6
1.- INTRODUCCIÓN:	8
2.- MARCO TEÓRICO	10
2.1- GENERALIDADES SOBRE LA BIORREMEDIACIÓN	10
2.2- CONTAMINANTES AMBIENTALES	12
2.1.1.- PETRÓLEO	15
2.1.2.- RESIDUOS PROCEDENTES DEL PETROLEO	17
2.3- BIORREMEDIACIÓN	18
2.3.1.- BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS	21
2.3.2.- RUTAS DE DEGRADACIÓN	23
2.3.3.- TECNOLOGÍA DE BIORREMEDIACIÓN	25
2.3.4.- PARÁMETROS CRÍTICOS	27
2.3.4.1.- VARIABLES RELEVANTES	35
2.4.- CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPONENTES DE LA BIORREMEDIACION	38
2.4.1.- CARACTERIZACION DEL SUELO BLANCO	38
2.4.2.- CARACTERIZACIÓN DE LOS SUELOS CONTAMINADOS	39
2.4.3.- CARACTERIZACIÓN DEL PETRÓLEO	40
2.4.4.- CARACTERIZACIÓN DE LA FLORA MICROBIANA	40
2.5.- BASE LEGAL	41
3 MARCO METODOLÓGICO	43
3.1 MÉTODOS GENERALES DE ANÁLISIS	43
3.1.1.- MODELO DE ESTUDIO	43
3.1.2.- FACTORES EN ESTUDIO	43
• Diagnostico de la contaminación	43
• Diseño y control del bioproceso.	43
3.1.3.- VARIABLE EN ESTUDIO	43
3.1.4.- UNIDAD EXPERIMENTAL	44
3.1.5.- NUMERO DE REPETICIONES	44
3.1.6.- TRATAMIENTOS	44
3.1.7.- MUESTREO	44
3.1.8.- RECOLECCION, TRANSPORTE Y TRATAMIENTO DE MUESTRAS	44
3.2 MÉTODOS ESPECIFICOS DE ANALISIS	45
3.2.1.- DISEÑO DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES	45
3.2.2.- DIAGNOSTICO DE LA CONTAMINACION	46
3.1.2.1.- Caracterización del contaminante en el suelo	47
3.1.2.3.- Caracterización de los microorganismos degradadores en el suelo	47
3.2.1.- DETERMINACION DE PARAMETROS CRITICOS	47
3.2.2.- CONTROL DEL BIOPROCESO	48
4. RESULTADOS Y ANALISIS	48
4.1 DISEÑO DEL BIOPROCESO:	48
4.2 DISEÑO DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES	49
4.2.1.- Ubicación del proceso.	49
4.2.2.- Construcción de Suelo base, Taludes y Drenajes	50
4.2.3.- Construcción de Techo: unidades experimentales y áreas de acopio y tamizado	53
4.2.4.- Disposición de geomembrana en las unidades experimentales:	54
4.3 DIAGNOSTICO DE LA CONTAMINACIÓN	55
4.3.1.- Caracterización del contaminante en el suelo	55
4.3.2.- Caracterización de los nutrientes en el suelo:	56
4.3.3.- Caracterización de los microorganismos degradadores en el suelo.	56
4.4 EJECUCIÓN DEL BIOPROCESO:	58
4.4.1.- Preparación del material a descontaminar:	58
4.4.2.- Igualar los parámetros críticos:	58
4.4.3.- Inicio de la fase de descontaminación:	58
4.5 CONTROL DEL BIOPROCESO	59

4.5.1.-Concentración de contaminante:	60
4.5.2.-Concentración de microorganismos:.....	61
4.5.3.-Concentración de nutrientes:	61
4.5.4.1 Temperatura:	64
4.5.4.2 Potencial de hidrógeno (pH).....	65
4.5.4.3 Humedad del suelo.....	66
4.6 RESULTADOS DE LA DESCONTAMINACIÓN DE LOS SUELOS	69
4.6.1.-Unidad experimental 1	69
4.6.2.-Unidad experimental 2	71
4.6.3.-Unidad experimental 3	72
4.7 COSTO ECONOMICO DEL PROYECTO	74
5.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	74
5.1.- CONCLUSIONES GENERALES.....	74
5.2.- RECOMENDACIONES	76
6.- BIBLIOGRAFÍA	76
7.- ANEXOS	77

TABLAS DE CONTENIDO

TABLA 2- 1.....	42
TABLA 3- 1.....	46
TABLA 3- 2.....	47
TABLA 4- 1.....	56
TABLA 4- 2.....	56
TABLA 4- 3.....	57
TABLA 4- 4.....	60
TABLA 4- 5.....	61
TABLA 4- 6.....	61
TABLA 4- 7.....	63
TABLA 4- 8.....	63
TABLA 4- 9.....	69
TABLA 4- 10.....	74

GRAFICOS

GRAFICO 1.....	60
GRAFICO 2.....	62
GRAFICO 3.....	62
GRAFICO 4.....	64
GRAFICO 5.....	64
GRAFICO 6.....	65
GRAFICO 7.....	65
GRAFICO 8.....	66
GRAFICO 9.....	66
GRAFICO 10.....	67
GRAFICO 11.....	67

<i>GRAFICO 12.....</i>	<i>69</i>
<i>GRAFICO 13.....</i>	<i>70</i>
<i>GRAFICO 14.....</i>	<i>70</i>
<i>GRAFICO 15.....</i>	<i>71</i>
<i>GRAFICO 16.....</i>	<i>71</i>
<i>GRAFICO 17.....</i>	<i>72</i>
<i>GRAFICO 18.....</i>	<i>72</i>
<i>GRAFICO 19.....</i>	<i>73</i>
<i>GRAFICO 20.....</i>	<i>73</i>

ILUSTRACIONES

<i>ILUSTRACION 1.....</i>	<i>50</i>
<i>ILUSTRACION 2.....</i>	<i>50</i>
<i>ILUSTRACION 3.....</i>	<i>51</i>
<i>ILUSTRACION 4.....</i>	<i>51</i>
<i>ILUSTRACION 5.....</i>	<i>52</i>
<i>ILUSTRACION 6.....</i>	<i>53</i>
<i>ILUSTRACION 7.....</i>	<i>53</i>
<i>ILUSTRACION 8.....</i>	<i>54</i>
<i>ILUSTRACION 9.....</i>	<i>55</i>
<i>ILUSTRACION 10.....</i>	<i>58</i>
<i>ILUSTRACION 11.....</i>	<i>59</i>
<i>ILUSTRACION 12.....</i>	<i>59</i>

RESUMEN

Las leyes y entidades de control para la contaminación por hidrocarburos han obligado a las empresas petroleras y prestadoras de servicios petroleros a remediar las contaminaciones que producen. Ya que a nivel mundial es una preocupación la contaminación de los elementos ambientales por ciertos compuestos tóxicos.

El Landfarming o cultivo de la tierra es una técnica de biorremediación aeróbica *ex situ*, esta técnica produce una bioestimulación de los microorganismos nativos de la zona permitiendo que ocurra la descontaminación. Este bioproceso posee una gran eficiencia y costos bajos en comparación a los tratamientos químicos.

La eficiencia depende de control de parámetros críticos de la biodegradación como que la concentración de contaminantes en el suelo sea menor al diez por ciento del volumen total de la tierra a ser descontaminada, como también que no exista la presencia de inhibidores (metales pesados), la concentración de nitrógeno, fósforo y la concentración de microorganismos degradadores que exista en el suelo.

También el control de los parámetros macroambientales como: La temperatura del ambiente, la temperatura del suelo, el potencial de hidrógeno (pH), dotación de oxígeno y la humedad del suelo contaminado.

La empresa de perforación y reacondicionamiento de pozos petroleros Saxon Energy Services del Ecuador, decidió desarrollar la metodología de Landfarming, para lo cual se diseñó, e implantó la mencionada metodología.

Se realizaron dos etapas principales; La construcción del proyecto con sus fases previas al Landfarming (acopio y tamizado) y la etapa de descontaminación de los suelos mediante una técnica de Landfarming.

En la descontaminación de los suelos se determinaron parámetros críticos de control, los mismos que fueron analizados en el laboratorio analítico Havoc que fue escogido por la empresa donde se implementó este sistema de biorremediación. Como también, se realizaron análisis microbiológicos en el Laboratorio de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador.

En la presente investigación se procedió a la descontaminación de suelos, utilizando la técnica de Landfarming de una concentración de TPH de 8205.4 mg/Kg. en promedio de las tres experimentales, se alcanzó la descontaminación llegando a un promedio de 654.3 mg/kg. De TPHs, en un lapso de 45 días, llegando a los límites permisibles estipulados en el Reglamento de Operaciones Hidrocarburíferas del Ecuador (RAOH1215).

SUMMARY

The laws and entities of control for hydrocarbon contamination have obligated petroleum companies and petroleum service companies to mitigate the contaminations that they produce, as worldwide, there is concern for the environmental elements of contamination due to certain toxic compounds.

Landfarming or the cultivation of land is an ex situ aerobic bioremediation technique, this technique produces bio-stimulation of the native microorganisms of the zone allowing decontamination to occur. This bioprocess possesses a great efficiency and low costs in comparison to other chemical treatments.

Efficiency depends on critical control parameter of biodegradation like the concentration of contaminants in the soil being less than ten percent of the total volume of contaminated land, and like the non-presence of inhibitors (heavy metals), the concentration of nitrogen and phosphorus, and the concentration of degrading microorganisms that exist in the soil.

Also the control of the macro-environmental parameters such as: the environmental temperature, the soil temperature, the hydrogen potential (pH), the oxygen supply and the contaminated soil humidity.

Saxon Energy Services of Ecuador, a perforation and petroleum wells re-conditioning company, decided to develop a Landfarming methodology for which it designed the methodology and implanted it.

Two main stages were performed: the construction of the project with the previous phases to Landfarming (recollection and sift) and the decontamination phase of soils through a Landfarming technique.

During the decontamination of the soils, certain critical control parameters were determined, the same which were analyzed in Havoc, an analytic laboratory, which was chosen by the company where this bioremediation system was implemented. Microbiological analysis was also performed in the Chemical Science Faculty library of the Central University of Ecuador.

In the present investigation soil decontamination was performed using the Landfarming technique with a concentration of 8205.4 mg/Kg TPH. In an average from the three experiments, decontamination was reached in an average of 654.3 mg/kg. Regarding TPH's, in a time period of 45 days, they came to the stipulated permissible limits in the Hydrocarbon Operation Regulations of Ecuador (RAOH1215)

1.- INTRODUCCIÓN:

En los últimos años el país ha sufrido cambios en el control ambiental con relevancia en la industria hidrocarburífera, con contaminación de aire, suelo y agua. A nivel mundial es una preocupación la contaminación de los elementos ambientales por ciertos compuestos tóxicos, que alteran el ambiente donde son vertidos o difuminados.

Las normas y leyes de control para contaminación por hidrocarburos han obligado a las empresas Petroleras a remediar las contaminaciones que producen, generando una cantidad de empresas que brindan este servicio, con resultados diferentes y costos altos. La demanda es alta y las empresas trabajan en desarrollar metodologías efectivas de remediación.

En este contexto, la biorremediación es la técnicas mas utilizadas en la actualidad en el campo hidrocarburifero, ya que posee una mayor eficiencia y posee precios bajos en comparación a tratamientos químicos.

Las ventajas de esta metodología es la alta efectividad y los bajos costos en economía de escala, la inversión es alta para el desarrollo de técnicas y procedimientos, El Landfarming o cultivo de la tierra posee lineamientos específicos para que el bioproceso sea eficiente. Es un bioproceso aeróbico *ex situ*, esta técnica produce una bioestimulación de los microorganismos presentes, permitiendo que ocurra la descontaminación de forma natural con cepas de microorganismos nativos propios de la zona.

La eficiencia de este técnica se basa en la bioestimulación de los microorganismos presentes cuyo eficiencia depende de control de parámetros críticos de la biodegradación como que la concentración de contaminantes en el suelo sea menor al diez por ciento del volumen total de la tierra a ser descontaminada, como también que no exista la presencia de inhibidores (metales pesados), de microorganismos.la concentración de nitrógeno y fósforo y la concentración de microorganismos degradadores que exista en el suelo.

Se controlan también los parámetros macroambientales como: La temperatura del ambiente, la temperatura del suelo, el potencial de hidrógeno (pH), dotación de oxígeno y la humedad del suelo contaminado.

La empresa de perforación y reacondicionamiento de pozos petroleros Saxon Energy Services del Ecuador, posee una cantidad significativa de material contaminado y decidió desarrollar la metodología de Landfarming, para lo cual se diseñó, e implantó la mencionada metodología. En las inmediaciones de la Empresa, se construyeron las unidades experimentales, áreas de acopio y tamizado y se ejecuto el bioproceso con resultados satisfactorios.

Se realizaron dos etapas principales; La construcción del proyecto con sus fases previas al Landfarming (acopio y tamizado) y la etapa de descontaminación de los suelos mediante una técnica de Landfarming.

En la construcción de todo el bioproceso se siguieron lineamientos técnicos tomados de la literatura de investigación y desarrollo.

En la etapa de descontaminación de los suelos se determinaron parámetros críticos de control, los mismos que fueron analizados en el laboratorio analítico Havoc que fue escogido por la empresa donde se implemento este sistema de biorremediación. Como también, se realizaron análisis microbiológicos en el Laboratorio de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador.

En los laboratorios se procedió hacer análisis de los parámetros críticos, utilizando métodos de análisis avaluados en el país como también con métodos ya conocidos como los EPA y ASTM.

En la presente investigación se procedió a la descontaminación de suelos, utilizando la técnica de Landfarming de una concentración de TPH de 8205.4 mg/Kg. en promedio de las tres experimentales, se alcanzó la descontaminación llegando a un promedio de 654.3 mg/kg. De TPHs, en un lapso de 45 días, llegando a los límites permisibles estipulados en el Reglamento de Operaciones Hidrocarburíferas del Ecuador (RAOH1215).

2.- MARCO TEÓRICO

2.1- GENERALIDADES SOBRE LA BIORREMEDIACIÓN

Los derrames de petróleo y sus derivados en el ámbito mundial, han provocado una severa contaminación del suelo y de los cuerpos de agua. Estos compuestos son tóxicos para los seres vivos ya que son mutagénicos y carcinogénicos.

La contaminación por petróleo se caracteriza por su persistencia en el ecosistema, a pesar de los procesos de degradación natural y/o antrópica a que puedan ser sometidos.

Una de las pruebas, de la persistencia de estos contaminantes es que los perfiles de concentración obtenidos en columnas de sedimentos han servido como archivos naturales para la reconstrucción de descargas históricas antropogénicas, lo cual resulta importante para evaluar el éxito de medidas recientes de control de la contaminación.

La contaminación por hidrocarburos tiene un pronunciado efecto sobre las propiedades físicas, químicas y microbiológicas de un suelo, pudiendo impedir o retardar el crecimiento de la vegetación sobre el área contaminada.

La solución ambiental adecuada de los residuos sólidos con altos contenidos de hidrocarburos generados durante los procesos de la perforación, extracción y producción del petróleo se encuentra dentro de las prioridades fundamentales de la industria petrolera.

Las técnicas de tratamiento de residuos sólidos consisten en la aplicación de procesos químicos, biológicos o físicos a desechos peligrosos o materiales contaminados a fin de cambiar su estado en forma permanente. Estas técnicas destruyen contaminantes o los modifican a fin de que dejen de ser peligrosos, además pueden reducir la cantidad del material contaminado presente en un lugar, retirar el componente de los desechos que los hace peligrosos o inmovilizar el contaminante en los desechos.

Entre las técnicas con menos impacto ambiental cabe destacar aquellas que no requieren de compuestos ajenos al suelo como desengrasantes o químicos con alto contenido de metales pesados, etc. Es decir, que el tratamiento se realiza in situ o sea recogido y llevado a un lugar adecuado para ser descontaminado de una manera amigable con el medio ambiente (Biorremediación). La tecnología a utilizar depende entre otros muchos factores, del tipo de contaminante, tipo de terreno, afectación de las aguas subterráneas, del tiempo necesario para descontaminar, del costo de la actuación, etc.

En el proceso de biorremediación, el más utilizado por la industria hidrocarburífera es el cultivo de tierra o Landfarming, ya que se ha demostrado que es uno de los métodos más eficientes y económicamente viables para la descontaminación de suelos con hidrocarburos de petróleo.

Esta técnica se la ha utilizado desde finales de los cincuentas, por las industrias del petróleo y su derivado, ya que en ellas fueron probadas, la mayoría de las técnicas de descontaminación, y fue aquí, donde se generó y se modificó la técnica más importante de degradación de hidrocarburos que es el Landfarming.

El asar y la biotecnología jugó un papel muy importante en esta técnica, ya que el tiempo de interperización hizo que los investigadores en este campo, utilicen técnicas de biotecnología para generar diversos manejos y lineamiento del Landfarming. Como va a ser indicado posteriormente, existen muchas más técnicas de biorremediación como el bioapilamiento, biopilas etc. Donde el tiempo de rendimientos es mucho menor y la eficiencia es solo en ciertos parámetros de degradación.

Estas técnicas despuntaron desde los años ochentas en los Estados Unidos de Norte América, ya que aquí es donde se dio una mayor importancia a la degradación de los suelos contaminados por hidrocarburos y en general a la mejora ambiental. Las empresas petroleras jugaron un rol muy importante en la mejora y eficiencia de las técnicas de biorremediación.

2.2- CONTAMINANTES AMBIENTALES

La contaminación ambiental puede ser muy diversa, ya que se conocen muchas fuentes y compuestos que contaminan un hábitat los cuales son perjudiciales para los seres vivos, se pueden encontrar contaminantes orgánicos, inorgánicos y gases. Muchas organizaciones extranjeras se han dedicado a establecer listas de contaminantes ambientales de toda índole, como la Unión Europea (UE) que reconoce un amplio número de productos y sustancias químicas tóxicas que la han situado en su “lista negra”¹ y de compuestos menos tóxicos en su “lista gris”².

Lista negra:

- Compuestos órgano halogenados y sustancias que pueden formar tales compuestos en medio acuático.
- Compuestos órgano fosforados.
- Compuestos órgano estánnicos.
- Sustancias cuya actividad carcinogénica se presenta en el medio acuático.
- Mercurio y sus compuestos.
- Cadmio y sus compuestos.
- Aceites minerales e hidrocarburos del petróleo persistentes.
- Sustancias sintéticas persistentes.

Lista gris:

- Los siguientes metales y sus compuestos: Cinc, Cobre, Níquel, Cromo, Plomo, Selenio, Molibdeno, Titanio, Estaño, Bario, Berilio, Boro, Uranio, Vanadio, Cobalto, Torio, Telurio, Oro.
- Biocida y sus derivados no incluidos en la lista negra.
- Sustancias con un efecto nocivo sobre el sabor y/o el olor de productos para el consumo humano provenientes de ambientes acuáticos; compuestos responsables de dar lugar a tales sustancias en el agua.
- Compuestos orgánicos tóxicos o persistentes de Silicio y sustancias que dan lugar a tales compuestos en agua, excluyendo aquellas que son biológicamente

¹ **Lista negra** de la (UE). Biotecnología Medioambiental, **pág. 29.**

² **Lista gris** de la (UE). Biotecnología Medioambiental, **pág. 29.**

inofensivas o que se convierten rápidamente en sustancias inofensivas en el agua.

- Compuestos inorgánicos de Fósforo y Fósforo elemental.
- Aceites minerales e hidrocarburos del petróleo no persistentes.
- Cianuros, fluoruros.
- Ciertas sustancias que pueden tener un efecto adverso sobre el balanceo de oxígeno, particularmente Amoniac y nitritos.

Cada una de las organizaciones interesadas en el control medio ambiental del mundo posee diferentes listados de compuestos contaminantes que en su mayoría son tóxicos y carcinógenos, Como en el caso de la Agencia Estadounidense de Protección Ambiental (EPA) posee listas similares y como en muchos de los casos estos contaminantes son compuestos persistentes ya que son difíciles de degradar. Sin embargo poseen rutas de degradación amplias, por sus propiedades y condiciones.

Existen ciertos residuos que no se acumulan en el medio ambiente, por que pueden ser degradados de una manera aerobia o anaerobia por diferentes microorganismos, los cuales son residuos de fuentes agrícolas o domésticas. Los fosfatos y nitratos son residuos inorgánicos que por su alta concentración en un hábitat pueden provocar problemas. “Muchos de los productos químicos sintéticos producidos por la industria se encuentran en la lista EPA de productos químicos tóxicos y debido a que no se encuentran en la naturaleza se conocen como xenobióticos”³. “La lista de contaminantes ambientales según la EPA”⁴, puede darse de diferentes maneras y de un sinnúmero de industrias como se puede observar en la siguiente lista.

Lista de contaminantes ambientales EPA

Inorgánicos:

- Metales: Cadmio, Mercurio, Plata, Cobalto, Plomo, Cobre, Cromo, Hierro.
- Isótopos radioactivos.
- Nitratos, nitritos, fosfatos.
- Cianuros.

³ Scragg, Alan. Biotecnología Medioambiental, **pág. 19**

⁴ Lista de contaminantes ambientales EPA. Biotecnología Medioambiental, **pág. 18**

- Asbesto.

Orgánicos:

- Biodegradables: Aguas residuales, residuos domésticos, agrícolas e industriales.
- Residuos petroquímicos: Petróleo, gasóleo, BTEX*.
- Sintéticos: Pesticidas, organohalogenados. PHAs*.

Biológicos:

- Patógenos: Bacterias, virus

Gaseosos:

- Gases: SO₂, CO₂, NO_x, Metano
- Volátiles: Clorofluorcarbonos, compuesto orgánicos volátiles (VOC_s).
- Particulados.

Donde: *BTEX: Es, benceno, tolueno, etilbenceno, xileno.

*PHA_s: Es, hidrocarburos poliaromáticos

Existe otro tipo de contaminación ambiental por compuestos orgánicos en su gran mayoría, por la industria petroquímica sus productos y derivados, ya que esta contaminación ambiental es por consecuencia, en gran parte por las malas técnicas o prácticas operacionales, perdidas en tanques contenedores, pérdidas en líneas de transmisión de crudo y sus derivados, vertidos marítimos, entre otros casos. La biotecnología desarrolla métodos *in situ* o *ex situ*, de estimulación o inoculación de los microorganismos endémicos del sector de la contaminación (derrame, prácticas hidrocarburíferas, etc.), ya que estos microorganismos tienen la capacidad de degradar las cadenas de hidrocarburos, lo que conlleva a una descontaminación de los suelos.

En el Ecuador las actividades hidrocarburíferas son las principales contaminantes de los suelos de la Amazonia ecuatoriana, ya que por accidentes naturales o malas actividades laborales este suelo oriental ha sufrido un grado de contaminación considerable.

Según el Reglamento Ambiental para la Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador “**Contaminación** es el, proceso por el cual un ecosistema se altera debido a la introducción, por parte del hombre, de elementos sustancias y/o energía en el ambiente hasta un grado capaz de perjudicar su salud, atentar contra los sistemas ecológicos y organismos vivientes, deteriorar la estructura y características del ambiente o dificultar el aprovechamiento racional de los recursos naturales”⁵.

2.1.1.- PETRÓLEO

Es un compuesto de origen orgánico, que posee cadenas de hidrocarburos, en los yacimientos petroleros se lo puede encontrar en una mezcla con otros compuestos químicos en pequeñas cantidades como es el azufre y el oxígeno, posee una apariencia viscosa, por ser un líquido oleoso bituminoso.

La consistencia varía desde un líquido tan poco viscoso como la gasolina, hasta un líquido tan espeso que apenas fluye, esto es dado por los grados API del petróleo, siendo este un elemento fundamental en el momento de refinación del crudo.

Los hidrocarburos son los compuestos orgánicos más simples y pueden ser considerados como las sustancias principales de las que se derivan todos los demás compuestos orgánicos. Los hidrocarburos se clasifican en dos grupos principales, de cadena abierta y cíclica. En los compuestos de cadena abierta que contienen más de un átomo de carbono, los átomos de carbono están unidos entre sí formando una cadena lineal que puede tener una o más ramificaciones. En los compuestos cíclicos, los átomos de carbono forman uno o más anillos cerrados. Los dos grupos principales se subdividen según su comportamiento químico en saturados e insaturados.

“Las cadenas lineales de carbono asociadas al hidrógeno constituyen las “parafinas”, cuando las cadenas son ramificadas se tienen las “isoparafinas”, al presentarse dobles uniones entre los átomos de carbono se forman las “olefinas”, las moléculas en las que se forman ciclos de carbono son “naftenos” y cuando éstos ciclos se presentan dobles uniones alternas se llaman “aromáticos”⁶.

⁵ Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador, **pág. 129**.

⁶ Ing. Héctor Román, Petroproducción.

Existen tres tipos principales de cadenas de hidrocarburos que son esenciales en la contaminación del suelo y a su vez en la descontaminación de los mismos, para la implementación de un sistema de tratamiento.

Alcanos

Los hidrocarburos saturados de cadena abierta forman un grupo homólogo denominado alcanos o parafinas. Los primeros cuatro miembros del grupo son gases a presión y temperatura ambiente; los miembros intermedios son líquidos, y los miembros más pesados son semisólidos o sólidos. El petróleo contiene una gran variedad de hidrocarburos saturados, y los productos del petróleo como la gasolina, el aceite combustible, los aceites lubricantes y la parafina consisten principalmente en mezclas de estos hidrocarburos que varían de los líquidos más ligeros a los sólidos.

Alquenos

El grupo de los alquenos u olefinas está formado por hidrocarburos de cadena abierta en los que existe un doble enlace entre dos átomos de carbono. Al igual que los alcanos, los miembros más bajos son gases, los compuestos intermedios son líquidos y los más altos son sólidos. Los compuestos del grupo de los alquenos son más reactivos químicamente que los compuestos saturados.

Alquinos

Los miembros del grupo de los alquinos contienen un triple enlace entre dos átomos de carbono de la molécula. Son muy activos químicamente y no se presentan libres en la naturaleza.

“Se estima que existen entre 100.000 y 300.000 tanques de petróleo o de sus derivados que tienen pérdidas en los Estados Unidos”⁷. Las pérdidas de gasolina son de particular interés, ya que la gasolina contiene hasta un 20% de BTEX que se encuentra en la lista de productos peligrosos de la Agencia de Protección Ambiental (EPA).

⁷ Mesarch and Nies; Lee and Gongaware, 1997

“Los compuestos BTEX, aunque no son miscibles con el agua, son móviles y pueden contaminar las aguas subterráneas”⁸. Los componentes volátiles pueden perderse en la atmósfera si la pérdida ocurre en la superficie pero si la pérdida es bajo el nivel del suelo los componentes móviles pueden migrar a través del suelo hacia el nivel freático y a las aguas subterráneas. Los componentes de peso molecular más alto son en su mayor parte insolubles e inmiscibles y pueden desplazarse lentamente a través del suelo o permanecer sobre él o cerca de la superficie, dependiendo de la estructura del suelo.

Los compuestos insolubles pueden ser fuertemente absorbidos por las partículas del suelo. Si los componente no miscibles con agua migran a través del suelo y alcanzan el nivel freático formaran una capa en la superficie del agua y se extenderán de este modo.

La composición de los crudos es muy variable dependiendo del lugar en el que se han formado. “No solo se distinguen unos crudos de otros por sus diferentes proporciones en las distintas fracciones de hidrocarburos, sino también porque tienen distintas proporciones de azufre, nitrógeno y de las pequeñas cantidades de diversos metales, que tienen mucha importancia desde el punto de vista de la contaminación ambiental”⁹

2.1.2.- RESIDUOS PROCEDENTES DEL PETROLEO

El petróleo es una mezcla compleja y variable de compuestos orgánicos. “La mayoría de los compuestos en el petróleo son hidrocarburos, que varían en peso molecular desde el gas metano hasta los altos pesos moleculares de alquitranes y bitúmenes. Estos hidrocarburos pueden presentarse en un amplio rango de estructuras moleculares; cadenas lineales y ramificadas, anillos sencillos, condensados y aromáticos”¹⁰. Los dos grupos principales de hidrocarburos aromáticos son los monocíclicos, el benceno, tolueno, etilbenceno y xileno (BTEX), y los hidrocarburos policíclicos (HAP_s) como son el naftaleno, antraceno y fenantreno.

Cada compuesto varía en proporción según el origen del yacimiento y esta variación en composición, afecta a las propiedades físico químicas del petróleo. “Crudos de peso molecular bajo son conocidos como crudos ligeros y fluyen con facilidad, mientras que

⁸ Bossert and Compeau, **1995**

⁹ Echarrin, Luís. Ciencias de la tierra y del medio ambiente, **Tema 7.**

¹⁰ Scragg, Alan. Biotecnología Medioambiental, **pág. 136-137**

los crudos pesados son lo contrario”¹¹. “Además de los hidrocarburos, los crudos contienen 0.05 – 3.0% de compuestos heterocíclicos que también contienen azufre, nitrógeno, oxígeno y algunos metales pesados”¹². El crudo se refina después de su extracción utilizando muchos procesos para convertir la mayoría de los hidrocarburos poliaromáticos en compuestos aromáticos monocíclicos.

Normalmente los naftalenos pueden constituir el 5 – 35% del crudo, lo cual puede reducirse a un 1 – 7% después del refinado. El crudo refinado puede dividirse en gasolina, gasóleo, gasóleo de calefacción y muchos otros productos.

2.3- BIORREMEDIACIÓN

La descontaminación biológica de los contaminantes ambientales en las áreas contaminadas se conoce como Biorremediación. La Biorremediación puede definirse como la degradación natural o degradación biológica controlada de la contaminación ambiental. Se lleva a cabo normalmente con la ayuda de los microorganismos endémicos del sector y sus actividades pueden ser optimizadas por la inoculación de nutrientes o incrementando la población microbiana en un proceso conocido como bioincrementación.

Los microorganismos endémicos o autóctonos son los principales *descomponedores* del ecosistema que en este caso es el suelo, actividad que existió naturalmente en el ambiente con anterioridad a la disposición de xenobióticos en él, por lo que los procesos de degradación han sido tradicionalmente utilizados con aplicaciones ambientales.

Los microorganismos participantes son principalmente bacterias, y en menor medida, hongos nativos (filamentosos y levaduras) y algas. Estos son capaces de degradar una amplia variedad de elementos orgánicos que además se encuentran presentes en casi todas las superficies terrestres.

¹¹ **Suárez, Maria Isabel.** Octubre del 2003
http://www.udlap.mx/~ua013077/IQ498/Ej%20Ante/A_108739.pdf.

¹² **Asociación Española de Operadores de Productos Petrolíferos.**
<http://elpetroleo.aop.es/Tema1/CAPITULO%2001.pdf>

Muchos contaminantes tienen estructuras similares a las presentes en compuestos naturales y es por ello que son fácilmente degradados por los microorganismos del suelo y del agua. Sin embargo, existen otros compuestos con estructuras o sustituyentes más complejos de origen xenobiótico, que son difícilmente catabolizados (compuestos recalcitrantes, dado que se acumulan y persisten en la naturaleza)

.

A los microorganismos que viven en el suelo y las aguas superficiales, y profundas (lugares donde es aplicable este tipo de tratamiento), utilizan como fuente de energía ciertas sustancias químicas dañinas como las que se encuentran en derrames de gasolina y petróleo. Cuando estos compuestos son utilizados por los microorganismos se transforman en agua y gases inofensivos como el CO₂.

Para que los microorganismos puedan eliminar las sustancias contaminantes, el suelo y las aguas deben tener las condiciones apropiadas para que esto suceda, la temperatura, los nutrientes (fertilizantes) y la cantidad de oxígeno apropiados. Esas condiciones permiten que los microbios crezcan y se reproduzcan, lo que conlleva a un mayor consumo de contaminantes. Cuando las condiciones no son las adecuadas, los microorganismos crecen muy despacio o mueren. Incluso pueden crear sustancias químicas más dañinas o a su vez sustancias que son más difíciles de degradar, como son los recalcitrantes, para que esto no ocurra, se deben controlar las condiciones del sitio, como son accesibilidad de los nutrientes, temperatura, pH, ausencia de metales pesados.

“También puede ser necesaria la inoculación de poblaciones microbiana, que han sido reproducidas en el laboratorio. La Biorremediación fue usada en una forma no refinada durante muchos años por la industria petrolera de los Estados Unidos de Norteamérica, Posteriormente fue entendida de una manera científica. Esta tecnología surgió del conocimiento empírico de los operadores de las refinerías del petróleo, quienes desecharon los lodos de los separadores tipo API (Instituto Americano del Petróleo) y otros residuos aceitosos en forma de una capa delgada sobre la parte superior del suelo en un sitio próximo a la refinería. Se dieron cuenta que estos residuos desaparecían durante el curso de varios meses. Previo a una mayor regulación y estricto control, esta técnica, llamada “landfarming” (granjeo) fue ampliamente usada sin comprender los procesos que causaban la degradación de los lodos (King *et al.*, 1992).

Científicos académicos e industriales determinaron que algunos microorganismos, sobre todo algunas bacterias, podían utilizar los hidrocarburos del petróleo como alimento y fuente de energía. Posteriormente, algunas investigaciones demostraron que estos microorganismos eran los principales responsables de la descomposición de aceites en el suelo de los “landfarming”¹³.

Durante la biodegradación de los hidrocarburos del petróleo las bacterias oxidan el petróleo a dióxido de carbono, agua y energía, y “aproximadamente 50 % del carbono en el petróleo es usado para biomasa bacteriana”¹⁴. Algunos de los hidrocarburos son muy resistentes, especialmente los hidrocarburos poliaromáticos (HPAs), los cuales no son utilizados totalmente, pero pueden ser oxidados parcialmente e incorporados en el material húmico del suelo

Subsecuentemente, se hicieron investigaciones para determinar las condiciones óptimas de “biodegradación” para reproducir estas condiciones en el campo, y así acelerar el proceso de “landfarming”. “Se descubrió la necesidad de mantener el suelo muy húmedo (aproximadamente de 50 a 75 % de la capacidad de campo)”¹⁵, para mantener el contenido de humedad en las células bacterianas. “También se descubrió que es muy importante mantener el suelo en condiciones aeróbicas, porque la transformación de los hidrocarburos del petróleo en condiciones anaeróbicas es muy lenta o algunas veces inexistente”¹⁶. De igual modo, la incorporación de nutrientes inorgánicos, especialmente nitrógeno y fósforo establecen en gran medida un estímulo para la biorremediación. Esto se debe a que los hidrocarburos de petróleo son casi exclusivamente hidrógeno y carbón, por lo que contienen muy pocas cantidades de otros elementos esenciales para las células bacterianas, como son nitrógeno, fósforo, potasio y algunos minerales traza, para lo cual es indispensable la adición de un fertilizante para suelos.

La mayoría de estos descubrimientos sobre el metabolismo de la biodegradación de hidrocarburos fueron realizados en laboratorios académicos. Posteriormente, ingenieros y otros profesionistas, trabajando en la industria petrolera misma, así como en empresas

¹³ **Manacorda, Ana María – Cuadros, Daniela.** Microbiología Ambiental,. **Pág. 5**

¹⁴ **Sharabí and Bartha,** Biotecnología Medioambiental., **pág. 141**

¹⁵ **Manacorda, Ana María – Cuadros, Daniela.** Microbiología Ambiental,. **Pág. 7.**

¹⁶ **Ibid.,** **pág. 7.**

dedicadas a la restauración ambiental, implementaron estos descubrimientos en el campo.

La mayoría de los diseños, usaron el esquema de los primeros “landfarming” pero con más control. Usaron membranas plásticas abajo de la celda para no contaminar el suelo nativo e implementaron un sistema de drenaje para mantener condiciones aerobias y recuperar los lixiviados. Por lo general, se usaron tractores para remover el suelo contaminado y airearlo. Los nutrientes se agregaron a la celda en forma de polvo o soluciones que después se incorporaban al suelo contaminado, usando la misma remoción del tractor. Se mantuvo la humedad en la celda bombeando agua sobre el suelo periódicamente y removiéndolo.

2.3.1.- BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS

Las reacciones de oxidación son las de mayor importancia en biodegradación de hidrocarburos en condiciones aeróbicas, ya que el oxígeno funciona como aceptor final de la respiración y cumple también como un reactivo obligado en las reacciones de transformación. “Las velocidades y vías degradativas de los contaminantes en el suelo están determinadas por factores que son específicos de la naturaleza del contaminante, del suelo, de los microorganismos degradadores del compuesto y de la interacción entre ellos. La estructura de la molécula del contaminante determina sus propiedades físicas y químicas así como su biodegradabilidad inherente”¹⁷. El contenido de materia orgánica y arcilla de los suelos juega un rol crítico en la biodisponibilidad del contaminante.

Superficies altamente adsorptivas como la arcilla y fracciones de materia orgánica limitan la biodisponibilidad de los hidrocarburos del petróleo a los microorganismos del suelo. Esto es particularmente importante en suelos interperizados donde los contaminantes empezaron a migrar hacia los microporos y hacerse menos accesibles para ser utilizados por los microorganismos.

Los suelos presentan una variada disposición de microorganismos que se pueden dividir en bacterias y hongos capaces de utilizar hidrocarburos, que representan un 1% de la población total de aproximadamente $10^4 - 10^6$ células por gramo de suelo. “Además, se han encontrado cianobacterias y algas capaces de degradar hidrocarburos. Los suelos

¹⁷ **Ercoli, Eduardo.** Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos., **Pág. 1**

contaminados con hidrocarburos contienen más microorganismos que los suelos no contaminados, pero la diversidad de los microorganismos está reducida”¹⁸.

“Los factores que afectan el crecimiento de los microorganismos son los siguientes”¹⁹:

- Presencia de otro material orgánico biodegradable.
- Presencia de compuestos inorgánicos que contienen Nitrógeno y Fósforo.
- Niveles de Oxígeno.
- Temperatura.
- pH.
- Presencia de agua, humedad del suelo.
- Número y tipos de microorganismos presentes.
- Presencia de metales pesados.

“Los factores que afectan la degradación de compuestos son los siguientes”²⁰:

- Metabolismo y crecimiento bacteriano.
- Estructura química de los compuestos orgánicos.
- Disponibilidad y/o solubilidad.
- Fotoquímica.

La biodegradación de los hidrocarburos está asociada con el metabolismo y crecimiento microbiano y por lo tanto cualquiera de los factores que afectan al crecimiento bacteriano puede influenciar a la degradación. Si los microorganismos no pueden utilizar a los hidrocarburos como su sola fuente de energía y de carbono para realizar su desempeño microbiano, es necesario dotar de otro sustrato. En algunos casos si se encuentra presente otro sustrato, el microorganismo puede utilizar éste de forma preferencial a los hidrocarburos. Los microorganismos pueden también requerir otro tipo de elementos nutricionales con compuestos que contengan Nitrógeno y Fósforo, que por lo general estos compuestos poseen los fertilizantes. Para una degradación de hidrocarburos en el suelo es menester utilizar una aireación para su pronta descontaminación, como fue explicado con anterioridad.

¹⁸ Bossert and Compeau., 1995; Mesarch and Nies., 1997.

¹⁹ Scragg, Alan. Biotecnología Medioambiental, **pág. 41**

²⁰ Ibid., **pág. 41.**

Un suelo con una estructura abierta (tierra suelta) favorecerá la transferencia, de oxígeno y un suelo recargado de agua o a capacidad de campo, tendrá el efecto contrario. La temperatura es muy importante ya que influye en el crecimiento microbiano, así que a bajas temperaturas la velocidad de degradación será lenta, siendo todo lo contrario a temperaturas medias-alta. La adición de nutrientes a los suelos a temperaturas de 4 – 10 ° C se ha mostrado que tiene poco efecto ya que, algunas sales se esparcen o tienen movilidad a temperaturas altas, dando un mejor acceso para los microorganismos que se encuentra en la microporosidad del suelo. El pH del suelo afectará al crecimiento bacteriano y a la solubilidad del compuesto que debe ser degradado, como también a la movilidad de los nutrientes que pueden ser incorporados.

La presencia de un gran número de microorganismos que degradan los hidrocarburos en el suelo será claramente una ventaja al principio, pero como la mayoría de los suelos contienen este tipo de organismos el crecimiento pronto incrementará los números, por lo cual el incremento de microorganismos no será necesario. La contaminación por hidrocarburos también puede estar asociada con altos niveles de metales pesados que pueden inhibir el crecimiento microbiano dependiendo de la concentración y tipo de metales.

La velocidad de degradación de los hidrocarburos también dependerá de la estructura de los compuestos. Los compuestos más simples Alifáticos y Aromáticos monocíclicos se degradan rápidamente, pero estructuras más complejas tales como los PAH_s no se degradan tan fácilmente y pueden persistir durante algún tiempo.

“Algunos compuestos pueden ser adsorbidos a arcillas y por lo tanto se hacen invulnerables a la degradación. Para solventar este problema se han añadido surfactantes a suelos contaminados para mejorar la accesibilidad de los hidrocarburos”²¹.

2.3.2.-RUTAS DE DEGRADACIÓN

Los microorganismos que se encuentran en los suelos contaminados, utilizan los compuestos petroquímicos como fuente de energía para la síntesis celular, como

²¹ Mihelcic et al. , 1993

también los compuestos carbonados. Estos son reducidos a compuestos estables de una manera oxidativa, bajo condiciones aeróbicas o anaeróbicas.

La degradación microbiana de los hidrocarburos aromáticos monocíclicos y policíclicos se han estudiado de forma extensiva. Los hidrocarburos Alifáticos se convierten en alcoholes y después son oxidados secuencialmente a ácidos carboxílicos que son β -oxidados.

Los primeros dos pasos de degradación del benceno son comunes a la degradación de muchos otros hidrocarburos Aromáticos mono y policíclicos.

En general la hidroxilación del anillo aromático es seguida por la escisión del anillo y ambas reacciones son llevadas a cabo por oxigenasas. La incorporación de dos moléculas de oxígeno causa la introducción de dos grupos hidroxilo que pueden sufrir escisión en *meta* o en *orto*. La incorporación de una sola molécula de Oxígeno esta catalizada por monooxigenasas y ambos sistemas enzimáticos pueden ser utilizados para degradar hidrocarburos policíclicos aromáticos.

Muchas de las bacterias que degradan hidrocarburos aromáticos monocíclicos tienen genes cromosómicos que codifican enzimas de la ruta de degradación de hidrocarburos, pero se han encontrado plásmidos que codifican para la degradación de compuestos como alcanfor, octano, tolueno, naftaleno y algunos herbicidas y pesticidas.

La biorremediación de los suelos contaminados con hidrocarburos no pueden siempre ser mantenida en condiciones aeróbicas debido al agua, la fina estructura de partículas del suelo y el taponamiento de los poros del suelo con biomasa. “Sin embargo los hidrocarburos Alifáticos, Aromáticos mono y policíclicos pueden ser degradados anaeróbicamente siempre que el oxígeno pueda ser obtenido del agua bajo condiciones metanogénicas, a partir del nitrato bajo condiciones nitrificantes y a partir del sulfato bajo condiciones reductoras de azufre”²².

²² Ibid., pág. 147.

2.3.3.- TECNOLOGÍA DE BIORREMEDIACIÓN

La biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos y xenobióticos puede llevarse a cabo *in situ* o *ex situ*. En cualquiera de los dos casos sea este *in situ* o *ex situ*, la base del proceso, es la estimulación bacteriana, para su crecimiento y su aumento metabólico de los microorganismos endémicos. (Ilustración)

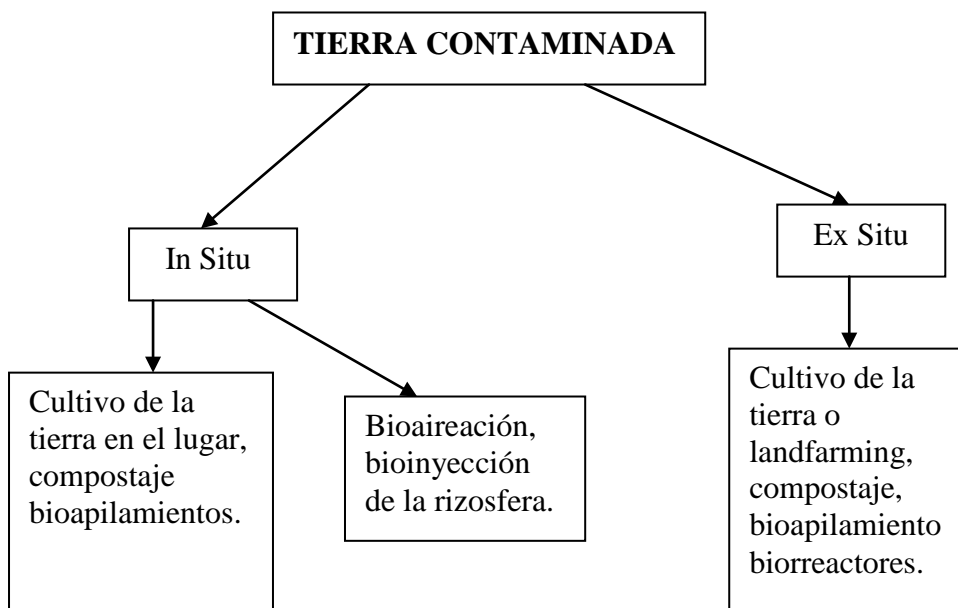


Ilustración Tipos de tecnologías de biorremediación.

En un tratamiento *ex situ* la base principal es el traslado de los contaminados con el sustrato, lo que conlleva hacer una excavación del suelo para después se dotado de nutrientes (fertilizantes), como de una adecuada aireación, con lo que llegamos a un trabajo de suelo o cultivo del suelo. Es aconsejable que este suelo, posea una disposición completamente adecuada para su tratamiento, como lo es una impermeabilización del mismo para que no tenga problemas de escorrentía. La tasa de degradación depende de la población microbiana, del tipo y nivel de contaminación y del tipo del suelo.

Los tratamientos *in situ* como su nombre lo indica son en el mismo lugar de la contaminación, sin necesidad de ser recolectados y transportados a un lugar de tratamiento, por lo general son procesos de mitigación de derrames petroleros. Estos se los pueden realizar para contaminación marina como de suelo. Es imprescindible la

facilidad de tratamiento, la disponibilidad de recursos como también de la fácil accesibilidad para los tratamientos correspondientes.

El proceso de **compostaje** fue realizado como una alternativa para los vertederos a partir de basura orgánica para la descontaminación de residuos sólidos domésticos y agrícolas, es otro tratamiento que se lleva a cabo después de la extracción requerido el caso. Material de compostaje como paja, corteza y virutas de manera se mezcla con el suelo contaminado y se apila en montones, lo que es “muy importante una separación inicial de los residuos sólidos en sus porciones orgánica e inorgánica”²³. La alta temperatura favorece el crecimiento de bacterias termófilas.

El proceso de **bioapilamiento**, se fundamenta en apilar el suelo en montones en un área con un revestimiento para evitar la escorrentía. Los montones se cubren con polietileno y se aplican nutrientes líquidos en la superficie. La aireación puede ser mejorada aplicando succión en la base del apilamiento como en el sistema de compostaje. Cualquier lixiviado que se forme se recoge por tuberías en la base y puede ser reciclado si es necesario. Este tipo de sistema puede ser utilizado cuando el espacio es limitado. Cuando las emisiones de vapor deben ser restringidas es necesario añadir algún tipo de biofiltro al sistema.

El proceso de cultivo de tierra o de **Landfarming**, se fundamenta en una técnica aerobia *ex situ*, la cual es trasladar el material contaminado, previamente excavado a un sistema donde va hacer aireado continuamente, dotado de nutrientes y controlado mediante parámetros críticos que ayudarán a la eficiencia del bioproceso.

Este tipo de bioproceso, es apto para realizar algunas conexiones de técnicas de biorremediación como es la bioaumentación o la inoculación de microorganismos, ya que los microorganismos están monitoreados constantemente, como también los contaminantes y nutrientes requeridos en el suelo.

Específicamente es un proceso de bioestimulación de los microorganismos nativos descomponedores de hidrocarburos, ya que se realizan dotaciones de nutrientes,

²³ Atlas, Ronald M. and Bartha, Richard. Ecología microbiana y microbiología ambiental. Pág. 468

humedad de suelo, aireación que conllevan a una mayor degradabilidad del contaminante, por la utilización de los nutrientes para el metabolismo bacteriano

“La **bioinyección** es un proceso que incrementa la actividad biológica al aumentar el suministro de oxígeno al suelo al inyectar aire u oxígeno en el mismo. La inyección de aire se realizó en primer lugar pero se sustituyó por oxígeno puro para incrementar las tasas de degradación”²⁴. El gasto de este tipo de tratamiento a limitado su aplicación a lugares altamente contaminados, pero la generación de oxígeno *in situ* ha reducido los costes. Se ha utilizado peróxido de hidrógeno en algunos lugares contaminados, pero incluso a concentraciones bajas resulta tóxico para los microorganismos. Este proceso es similar a la extracción de vapores del suelo que puede ser usado para contaminantes volátiles.

La adición de microorganismos al suelo es un proceso conocido como **bioincrementación**, se ha sugerido que la mayor aproximación es estimular las poblaciones microbianas endémicas, pero esto no es siempre posible. Algunas rutas degradativas pueden producir productos intermedios que quedan atrapados en rutas sin salida o transformar los contaminantes en productos tóxicos. En algunas ocasiones es posible mejorar mediante bioincrementación con organismos seleccionados o genéticamente manipulados.

Siendo todas estas unos cuantos ejemplos de técnicas de biorremediación de suelos tanto *in situ* como *ex situ*, como también ciertas técnicas pueden ser combinadas para una mejor eficiencia en la descontaminación de los suelos.

2.3.4.- PARÁMETROS CRÍTICOS

Al utilizar una técnica de Biorremediación de suelos, es necesario un intenso y verás monitoreo, como también un control de variables operacionales, no todas estas variables son relevantes para llegar a una exitosa descontaminación de los suelos, pero si influyen mucho ciertos parámetros, para llegar a una optimización de un bioproceso. Algunas variables críticas o criterios de monitoreo, son aplicables no solo para un tipo de

²⁴ **Ibid.,** pág. 157-158

biotratamiento de suelos, sino que pueden aplicarse en algunos como es el caso del Landfarming, acumulación aireada, biorrestauración, etc.

“La selección de técnicas de muestreo y técnicas analíticas también resulta de fundamental importancia, pues los sistemas en fase sólida son sistemas intrínsecamente heterogéneos y por tanto no siempre fáciles de evaluar”²⁵. La experiencia en ciertos lugares de investigación y de investigadores del tema, hacen que se determinen algunos parámetros críticos para los bioprocesos, ya que fueron investigados en diferentes climas y concentraciones de contaminantes.

Tratamiento biológico de suelos

La actividad biológica altera la estructura molecular del contaminante y el grado de alteración determina si se ha producido biotransformación o mineralización. La biotransformación es la descomposición de un compuesto orgánico en otro similar no contaminante o menos tóxico, mientras que la mineralización es la descomposición a dióxido de carbono, agua, y compuestos celulares. Los procesos biológicos se aplican frecuentemente al tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos. Se pueden aplicar técnicas in-situ (en el lugar donde se encuentra el suelo contaminado) o ex-situ (cuando el suelo se traslada a una instalación para su tratamiento). El tratamiento ex-situ de suelos, sedimentos y otros sólidos contaminados con hidrocarburos se puede realizar en un variado número de procesos en fase sólida y en fase lodo.

Los parámetros críticos a considerar en un tratamiento biológico son: tipo y concentración de contaminante, concentración de microorganismos, concentración de nutrientes, aireación, condiciones macroambientales, presencia de inhibidores y biodisponibilidad del contaminante.

Tipo y concentración de contaminante

Tipo de hidrocarburos. La biodegradabilidad de un compuesto se debe a su composición netamente, por eso los compuestos orgánicos son mucho más rápidos de degradarse, ya

²⁵Ercoli, E.; Gálvez, J.; Di Paola, M.; Cantero, J.; Videla, S.; Medaura, M.; Bauzá, J.. Laboratorio de Bioprocesos, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza.

que los microorganismos degradadores utilizan al contaminante (hidrocarburo) como fuente de energía.

- Los compuestos alifáticos de cadena lineal (parafínicos) se degradan fácilmente, pero cuando se incluyen como sustituyentes alcanos de cadena larga, se forman estructuras ramificadas estéricamente inaccesibles para la degradación. De la misma forma, los compuestos alifáticos insaturados se degradan más lentamente que los saturados.

- Los compuestos aromáticos simples se degradan por diferentes aperturas del anillo. La incorporación de halógenos disminuye la degradabilidad por estabilización del anillo. También se pueden degradar los compuestos aromáticos policlorados como los policlorobencenos cuya biodegradabilidad disminuye al aumentar el número de átomos de Cloro en la molécula.

- Los compuestos nitrogenados y azufrados se degradan lentamente. Los compuestos más resistentes al ataque microbiano son las fibras sintéticas, aunque se están aislando microorganismos capaces de degradar estos compuestos.

Concentración de hidrocarburos.

La concentración de los contaminantes es muy importante para el crecimiento bacteriano, ya que en concentraciones muy altas, puede ocurrir una inhibición del desarrollo bacteriano (disminuya su capacidad de metabolización) o que intoxique a los microorganismos y mueran

“Se han registrado en ensayos de campo procesos biológicos a concentraciones de hasta 30 %, medido por extracción sucesiva con solventes. Por encima del 30 % se han observado casos donde la velocidad es muy baja pero no nula”²⁶. En estos casos se ha optado por una bioaumentación de microorganismos adaptados a altas concentraciones.

Antigüedad de la contaminación. Los agentes ambientales son los encargados de modificar y alterar al hidrocarburo después de haber sido vertido accidentalmente en el suelo. Ya sea

²⁶ **Ercoli y otros.** Laboratorio de Bioprosos, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, **1998.**

por evaporación, por actividad fotoquímica o actividad biológica, las parafinas son eliminadas por el contrario los volátiles son los primeros en desaparecer. Por lo que la velocidad de reacción disminuya a medida que transcurre el tiempo y el contaminante se enriquece de elementos más pesados y más difíciles de degradar.

Presencia de microorganismos

Los microorganismos presentes en la descontaminación de contaminantes pueden estar presentes como cultivos puros (única especie) o cultivos mixtos (varias especies) estos últimos poseen una relación simbiótica lo que lleva a un mayor consumo de sustrato y a un crecimiento bacteriano mas veloz.

En un cultivo mixto de microorganismos, los consumidores primarios empiezan con la degradación de los contaminantes, mientras que los consumidores secundarios utilizan los productos metabólicos de los consumidores primarios para degradarlos.

Además pueden facilitar el crecimiento de los primarios, suministrándoles productos metabólicos (como factores de crecimiento), eliminando tóxicos mediante cometabolismo y produciendo intercambio de material genético.

Los contaminantes recalcitrantes, son compuestos que se resisten a ser biodegradados, por más que sean compuestos orgánicos y sen fáciles de degradar con un bioproceso o estos compuestos ocasionan un entorpecimiento del bioproceso. Sin embargo se ha logrado aislar compuestos capaces de degradar estos contaminantes recalcitrantes o transformarlos químicamente para que otros sean los que lo degraden fácilmente.

Para la descontaminación de los suelos con hidrocarburos es necesario que exista una concentración de microorganismos específicos mínima de de 10^3 a 10^4 UFC/g de suelo (UFC: unidades formadoras de colonias), de microorganismos heterótrofos totales de 10^5 a 10^6 UFC/g de suelo.

Esta cantidad de microorganismos es la mínima para no proceder hacer una inoculación de microorganismos, utilizando técnicas de bioaumentación. Por lo que la estimulación con nutrientes es lo más adecuado, a lo que se lo denomina bioestimulación.

Inoculación.

Es el proceso en el cual se incorpora microorganismos que van a cumplir una actividad específica, como es la degradación de los contaminantes, para lo cual se pueden preparar aislamiento de cepas bacterianas o simplemente conseguirlas en el mercado. Esta inoculación se la realiza cuando los microorganismos existentes no pueden degradar los contaminantes, poseen un grado de inhibición por la presencia excesiva de metales pesados o sales o se quiere llegar a una masa activa definida.

Existen desventajas al hacer una inoculación de microorganismos, ya que estos son ajenos al sector pueden desplazar a los microorganismos endémicos por competición, y llevar a la detención de la degradación, como también no puedan competir con los microorganismos existentes o las características ambientales del lugar no permitan su crecimiento, en estos casos la inoculación sería nula.

Bioaumentación.

La colocación de microorganismos similares a los existentes en los bioprocesos se define como bioaumentación, para lo cual se los reproducen en reactores biológicos. Por consiguiente se definen grupos microbianos más adecuados, basándose en la tolerancia de sustancias inhibitorias, sales como también en la degradación del hidrocarburo.

De esta manera se produce un número mayor de microorganismos degradadores, que actúen de forma simbiótica y puedan soportar concentraciones mayores. En algunos casos la bioaumentación se la puede realizar varias veces si es necesario.

Cometabolismo.

Se da en casos de sustratos complejos donde los microorganismos consumen un compuesto y producen enzimas para transformar otro compuesto.

Microorganismos biodegradadores

Se ha identificado una variedad de microorganismos para la degradación de hidrocarburos, siendo eubacterias en su mayoría. Pero se ha encontrado casos de presencia de arqueobacterias y eucariotes. Estos microorganismos poseen una actividad de peroxidazas y oxigenasas, que permiten una oxidación específica de algunas fracciones de petróleo, esta oxidación cambia las propiedades de los compuestos facilitando una conversión a dióxido de carbono y agua.

Se ha constatado que en algunas ocasiones no es necesario llegar a una mineralización de los contaminantes y sus compuestos, basta con una oxidación para que la toxicidad y la degradación de los contaminantes baje notablemente, incrementando su biodisponibilidad.

Se podría generar un riesgo para la salud humana y para los seres vivos de la zona, cuando existe la persistencia de contaminantes que no pueden ser degradados por microorganismos. “En algunas instancias, la persistencia es una consecuencia del inadecuado potencial catabólico de los microorganismos disponibles”²⁷.

Se tiene conocimiento de algunas variedades de microorganismos que pueden degradar xenobióticos tóxicos, pero existen algunos contaminantes ambientales que todavía no pueden ser degradados, por lo que se ha recurrido al ADN_r para extender el rango de los sustratos que el microorganismo puede utilizar y la tasa de consumo, inclusive se puede habilitar a un organismo con la capacidad de degradar un rango predeterminado de xenobióticos.

Nutrientes:

Son sustancias químicas muy necesarias para el desarrollo de los microorganismos y se pueden dividir en cuatro grupos: fuentes de Carbono, Fósforo, Nitrógeno y oligoelementos o elementos minoritarios (micronutrientes). El contaminante es la fuente de carbono para los microorganismos, fundamental para realizar compuestos celulares, productos metabólicos (CO₂, agua, enzimas) y para la reproducción celular. La fuente de Nitrógeno proporciona el elemento necesario para la producción de aminoácidos y enzimas.

Estos compuestos son utilizados rápidamente en el proceso de descontaminación por lo que es necesario incorporar un suplemento utilizando fertilizantes agrícolas o fertilizantes con una base orgánica como es el estiércol. La formación de compuestos energéticos dentro de la célula está dada por el fósforo, ya que este compuesto interviene en la reproducción y degradación del contaminante, es muy consumido por los microorganismos.

²⁷ **Ercoli y otros.** Laboratorio de Bioprocesos, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, **1998.**

La fuente de micronutrientes u oligoelementos, comprende un conjunto variado de elementos como el hierro, cobre, zinc, azufre, cobalto, manganeso, magnesio, calcio y otros compuestos, que depende en gran medida del proceso que se esta realizando y del tipo de microorganismo que lo esta utilizando. Requiriendo una concentración de menos 1ppm en total. En este caso el suelo posee la cantidad necesaria o requerida por los microorganismos por lo que no es necesaria la colocación de los micronutrientes, salvo el caso de degradación de un contaminante específico.

La dosificación de Nitrógeno y Fósforo se realiza en función de la concentración de contaminante de acuerdo a una relación que vincula C:N:P que varía según los autores entre 100:10:1 a 100:2:0,2 según la técnica con que se mida la concentración de hidrocarburo que se toma como referencia y que aporta un 80 % de su masa como carbono al proceso, la velocidad de degradación esperada y un balance de masa del material en tratamiento y del aporte de cada fertilizante del elemento considerado.

Aireación

La degradación de hidrocarburos en el suelo es un proceso aeróbico, como también anaeróbico pero con una velocidad muy baja.

“En el caso de algunos hidrocarburos aromáticos policíclicos puede ser necesaria una etapa anaerobia para realizar el proceso de degradación”²⁸. Hay que destacar que en cualquier bioproceso el proceso aeróbico es más eficiente que el anaeróbico.

Ciertos bioprocesos realizados en campo, reaccionan de diferente manera por la [remoción](#) del suelo o aireación del mismo, por su frecuencia.

Condiciones ambientales

El desarrollo de los microorganismos degradadores se debe en gran medida al pH del suelo, siendo los mas adecuados los que están dentro de los 6 – 8, cuando el pH del suelo se excede de 8 se debe disminuirlo aplicando azufre al suelo, mientras que si disminuye del 6 se debe agregar carbonato de calcio o hidróxido de calcio al suelo. En los dos casos se debe hacer un estudio previo para saber la masa a incorporar, por que influye mucho el proceso y el contaminante.

²⁸ **Ercoli y otros.** Laboratorio de Bioprocesos, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, **1998.**

Cuando se encuentran metales pesados en el terreno a muy altas concentraciones se debe trabajar a un pH que mantenga el metal inmovilizado o en forma no soluble (pH alto), para disminuir la toxicidad de los microorganismos. Por lo que es importante tomar en consideración el pH del suelo y si lo amerita trabajar con pH superior a 8.

Humedad.

El agua es importante para el desarrollo de los microorganismos ya que actúa como medio de transporte de nutrientes y oxígeno a la célula. Es conveniente mantener una humedad del orden del 70 % de la capacidad de campo, la cual se define como la masa de agua que admite el suelo hasta la saturación, que depende de cada tipo de suelo. Un exceso de humedad produce inhibición del proceso por anaerobiosis. Un déficit impide el desarrollo de los microorganismos.

Temperatura.

Normalmente las temperaturas más adecuadas se encuentran entre 20 ° C y 40 ° C, (los microorganismos que trabajan a estas temperaturas se denominan mesófilos). Siendo que la temperatura influye en la velocidad de degradación de los contaminantes, la velocidad aumenta con la temperatura.

Cuando supera los 40 ° C ocurre un intercambio poblacional de los microorganismos degradadores por microorganismos mas resistentes a la temperatura alta, como ocurre en el compostaje, que llega a tener temperaturas de hasta 65 – 70° C. Durante estos intercambios de temperatura se han registrado menos cantidad de microorganismos y puede darse un entorpecimiento del bioproceso pero no un para del bioproceso, como también el llegar a temperaturas de 15° C.

Presencia de metales y sales

Las altas concentraciones de sales y metales pesados retardan la degradación del contaminante, ya que pueden llegar a intoxicar a los microorganismos existentes, debido que estos compuestos pueden actuar como biocidas. Esto influye en la velocidad de degradación a menos que existan microorganismos tolerantes o se realice una bioaumentación con microorganismos resistentes.

“En el caso de los metales se puede aumentar el pH del suelo para inmovilizarlos y así disminuir la toxicidad sobre los microorganismos”²⁹.

Biodisponibilidad

La velocidad de degradación, no siempre esta relacionada con la capacidad de los microorganismos, esto es más evidente en contaminaciones antiguas y derrames. Se han realizado experimentaciones en el laboratorio, donde se concluyo que es más veloz la degradación de un contaminante fresco que uno que tiene su antigüedad.

“La reducción de la biodisponibilidad en el tiempo se debe a un proceso de envejecimiento”³⁰

Entre las posibles causas se mencionan reacciones de oxidación química que incorporan el contaminante dentro de la materia orgánica, difusión lenta dentro de los poros muy pequeños y adsorción en las paredes de los mismos, y también la formación de películas semirígidas alrededor de los líquidos en fase no acuosa con una alta resistencia a la transferencia de masa en acuíferos y reactores slurry.

2.3.4.1.- VARIABLES RELEVANTES

Existen muchos contaminantes que por lo general son tóxicos y mutagénicos, los cuales deben ser removidos por las complicaciones que estos pueden general en su entorno. Lo que ha generado nuevas tecnologías de remediación y una de ellas es la biorremediación, que ofrece grandes promesas en convertir compuestos tóxicos en productos menos tóxicos y en el mejor de los casos eliminarlos, sin una transformación o impacto ambiental mayor que el local. Para la aplicación efectiva de cualquiera de estas estrategias en la biorremediación de los ambientes contaminados, debe considerarse:

- La posibilidad de que el residuo puede encontrarse asociado a una o más de las fases que componen el suelo.

²⁹ **Ercoli y otros.** Laboratorio de Bioprocesos, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, **1998.**

³⁰ **Ercoli y otros.** Laboratorio de Bioprocesos, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, **1998**

- La presencia en el contaminante de una mezcla compleja de compuestos orgánicos e inorgánicos con diverso grado de toxicidad.

La selección de la técnica debe basarse en el análisis de diversos factores relacionados entre sí:

Composición química del residuo (varía según sea su origen, grado de procesamiento y tiempo de exposición a la intemperie). Los hidrocarburos se clasifican en: saturados, aromáticos, resinas y asfáltenos, siendo los dos últimos componentes característicos de los combustibles pesados.

Los compuestos inorgánicos presentan, en comparación con los orgánicos, un rango de variación mucho menor, pudiendo cambiar su estado de oxidación y su habilidad para combinarse con las moléculas orgánicas, por lo que los estudios analíticos del contenido de metales no son adecuados para inferir la movilidad del contaminante orgánico en el ambiente ni su potencial riesgo para la salud. Cuando los contaminantes orgánicos e inorgánicos se encuentran mezclados pueden interferir en el resultado de sus perfiles analíticos.

Procesos como la evapotranspiración, la pérdida fotoquímica, hidrólisis y biotransformación disminuyen la contaminación, aunque quedando en el ambiente aquellos compuestos recalcitrantes.

La susceptibilidad a la biotransformación es función de la estructura química, grado, naturaleza y del peso molecular del hidrocarburo. En grado decreciente la secuencia de biodegradación sería: n-alcanos, alcanos de cadena ramificada, alquenos ramificados, compuestos n-alquilaromáticos de bajo peso molecular, monoaromáticos, alcanos cíclicos, aromáticos polinucleares y asfaltenos (estos últimos son los más persistentes).

Según esto tiene que clasificar los contaminantes que tiene en su suelo contaminado en base a los análisis realizados

Textura y estructura del suelo. Dependiendo de la estratificación vertical del suelo, contenido de materia orgánica, la porosidad, el contenido de agua, régimen hidrológico (infiltración y capacidad de retención de agua), tipos de minerales presentes, la

temperatura, la aptitud para el laboreo, etc. son los suelos más recomendables para métodos de biotransformación/ biorremediación (suelos francos y arcillosos).

Complejidad del sitio contaminado. Existe gran variabilidad en la composición relativa de la estratificación del suelo a lo largo de un perfil, lo cual se traduce en la variación de su capacidad de conducción de los fluidos. Por lo tanto, la migración de los contaminantes no es uniforme a través de un medio tan heterogéneo, por lo que el movimiento del contaminante esta dado por el tipo de suelo (diferente contaminación en cada estrato) y su topografía del sector.

Toxicidad del residuo: La presencia del residuo hidrocarbonado en el suelo estimula el desarrollo de la flora microbiana degradadora; sin embargo una carga excesiva puede tener efectos tóxicos, provocando inhibición metabólica por consiguiente la disminución o retardo de la actividad de degradación y/o la muerte de los microorganismos. Es importante establecer la concentración óptima del residuo en el suelo para realizar con éxito el tratamiento de biorremediación. Concentraciones superiores al 10% pueden ser inhibitorias para el proceso de biodegradación. La toxicidad podría estar dada por la presencia de alcoholes y solventes clorados.

Biodegradabilidad del contaminante. Se considera que los hidrocarburos son compuestos biodegradables. La fracción más liviana (mineralizada) y volátil es más rápidamente degradada que la fracción más pesada. Algunos contaminantes no constituyen la fuente de carbono y energía para el desarrollo microbiano y sin embargo son de alguna manera incorporados a las células y biotransformados.

Uso de aceptores de electrones alternativos (O_2 , NO_3^- , SO_4^{2-} , CO_2). El oxígeno es el habitual aceptor final de electrones en el metabolismo microbiano de los contaminantes, debido a que en la mayoría de los casos la degradación de los hidrocarburos se lleva a cabo en aerobiosis por acción de las enzimas *oxigenasas*. Sin embargo muchos microorganismos son capaces de emplear otros aceptores de electrones tales como los iones nitrato, sulfato o el dióxido de carbono. Las ventajas que presenta al emplear estos compuestos es su mayor solubilidad en agua, su menor toxicidad para los

microorganismos y además son económicos. Algunos compuestos se degradan solamente en presencia de O_2 , pero otros necesitan condiciones reductoras o bien son degradados tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas.

Salinidad. Algunos residuos provenientes de la actividad hidrocarburífera tienen alto contenido en sales, generalmente cloruros de Na, K, Ca, Sr y Ba (ej. agua de purga), quienes pueden alterar la estructura proteica de las membranas microbianas, afectando su estabilidad y actividad enzimática.

Presencia de metales ecotóxicos. Metales como el Pb, As, Cs, Ba, Hg, Zn, Cu, Ni, V y Se son frecuentes en los residuos de petróleo). A diferencia de los compuestos orgánicos, los metales no son biodegradables, aunque pueden cambiar su estado de oxidación. La toxicidad ocurre por inhibición enzimática., competencia y sustitución con otros metales o por formación de quelatos.

Agua subterránea. El agua subsuperficial migra por formaciones rocosas permeables y suelos totalmente saturados. Es necesario conocer la distancia al acuífero al realizar una biorremediación in situ o por landfarming para evitar una posible migración y filtración de lixiviados.

2.4.- CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPONENTES DE LA BIORREMEDIACION

2.4.1 CARACTERIZACION DEL SUELO BLANCO.

El suelo blanco o limpio, es el primer indicador donde se puede observar el cambio por los contaminantes, ya sea este en su aspecto físico, químico o microbiológico. El suelo es el material exterior, poco compacto de la superficie terrestre, en donde existe una dinámica en interacciones biológicas por su gran variedad de bacterias, algas, hongos y protozoarios. La microbiología existente en el suelo limpio, va hacer la misma que llegue a degradar los contaminantes, ya que los microorganismos mutan y se adaptan a su entorno.

La caracterización del suelo blanco, permite evidenciar los cambios principalmente físicos y químicos que el contaminante puede producir. Por lo que, en la implementación de un bioproceso se debe conocer el estado del suelo antes de ser contaminado (suelo limpio, junto a la contaminación) para poder elegir una técnica adecuada, dotar de nutrientes si es necesario, dotar de agua o humedad, etc.

La mayor parte de los parámetros críticos se fundamentan en los aspectos físicos, químicos y textura de los suelo, ya que se deben hacer dotaciones de ciertos elementos para la optimización de un bioproceso.

Para llegar a la degradación de los suelos contaminados, se lo debe compara con el suelo blanco o limpio.

2.4.2.- CARACTERIZACIÓN DE LOS SUELOS CONTAMINADOS

Los suelos contaminados deben ser caracterizados en dos fases diferentes. La primera fase es la que nos indica el grado o nivel de contaminación de los suelos, para lo cual se deben realizar análisis en laboratorio, tanto de su estado químico, como también de su estado físico. Con esta primera caracterización se procede a escoger el mejor tipo de bioproceso, ya que la contaminación por hidrocarburos y sus derivados no siempre es la misma ya sea por el tipo de crudo o por el tipo de suelo. En la segunda fase se realizan caracterizaciones metódicas y con una frecuencia determinada, para llevar a cabo la degradación de los contaminantes.

Es necesario saber de la presencia de la flora activa degradadora, ya que sin la presencia de los microorganismo adecuados el proceso de biorremediación no se podría dar. Por consiguiente se debe realizar una caracterización a un nivel microbiológico en las dos fases y constatar el número de colonias degradadoras, ya que en ciertos casos es necesario una bioaumentación o inoculación de microorganismos.

Las técnicas de determinación son las básicas; siendo las siguientes en el aspecto físico.

- Gravimétrico: Usado para determinar niveles de sulfato.
- pH: Condiciones muy ácidas o muy alcalinas serán corrosivas y limitarán la actividad biológica. Se mide fácilmente con un electrodo de pH.

De igual manera en le aspecto químico del suelo

- HPLC (cromatografía líquida de alta resolución).
- GC (cromatografía de gases).

En la parte microbiológica existe muchas metodologías de conteo y recontéo de bacterias, por lo que cualquiera de ellas podría ser utilizada.

2.4.3- CARACTERIZACIÓN DEL PETRÓLEO

Esta caracterización es muy importante para llegar a conocer que tipo de contaminante esta en el suelo, cual es su composición química. Con ello se consigue implementas un bioproceso ya que hay que escoger por su eficiencia y velocidad de degradación cualquier proceso.

Esta caracterización se lo realiza mediante prácticas y análisis químicos fundamentalmente, con equipos de extracción y reflujo. Ya que se tiene que analizar los porcentajes de compuestos hidrocarburíferos presentes en el contaminante, y determinar el grado de afectación que el suelo sufrió.

2.4.4- CARACTERIZACIÓN DE LA FLORA MICROBIANA

El número de microorganismos, su actividad metabólica y su biomasa, son variables fundamentales en los ecosistemas microbianos. Es igualmente importante saber el verdadero significado a limitaciones a cada proceso de medición de microorganismos degradadores.

Saber que un recuento total de variables normalmente contabiliza solo un uno por ciento de los componentes de una colonia microbiana, da a los datos la perspectiva adecuada.

Un cambio en el número de microorganismos normalmente se correlaciona con un cambio similar en la biomasa y en sus actividades.

Debido a los ciclos de vida o a la disponibilidad de nutrientes, el tamaño celular de los microorganismos puede cambiar. Cuando esto sucede la biomasa puede cambiar (aumentar o disminuir), sin que se produzca la variación correspondiente en el número de microorganismos.

“Algunas técnicas como la de enterrar portaobjetos y tubos capilares, se emplea para la recogida directa de los microorganismos”³¹. En el caso de toma de muestras ambientales se suele utilizar procedimientos de cultivos en placas, que recuperan microorganismos viables o métodos de observación directa.

Los microorganismos pueden ser detectados por medio de análisis fenotípicos, bioquímicos, inmunológicos o moleculares. La caracterización fenotípica es un procedimiento clásico, especialmente por que aporta información fisiológica de los microorganismos para llegar a comprender su funcionamiento ecológico.

2.5.- BASE LEGAL

Se debe tomar en cuenta una prioridad en las leyes y estatutos en el Ecuador, para regirse a cualquier complicación ambiental, más aun si está estipulado en una Constitución Política, tratados y convenios. Según la pirámide de ordenamiento jurídico de Kelsen existe una prioridad de cumplimiento jurídico, lo cual conlleva a determinarlo de la siguiente manera:

Según el artículo 86 numeral 2, de la Constitución Política del Ecuador, es una falla directa con el estado el no prevenir o mitigar la contaminación ambiental producida por industrias privadas o públicas en el Ecuador.

En este caso se debe acoger fundamentalmente al Reglamento Ambiental para la Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador donde se indica que: Para proyectos de remediación se requiere no solamente una caracterización inicial del suelo, sino también de un monitoreo sistemático para determinar el momento en el que se logren las metas establecidas.

³¹ **Atlas, Ronald M.** Ecología microbiana y Microbiología ambiental., **pág. 262**

Según la Tabla 6 del Decreto No. 1215, indica los límites permisibles para la identificación y remediación de los suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicios.

“Los límites permisibles a aplicarse en un proyecto determinado dependen del suelo posterior a darse al suelo remediado, el cual constará en el respectivo Programa o Proyecto de remediación aprobado por la Subsecretaría de Protección Ambiental.

De presentar los suelos naturales (no contaminados) del área, concentraciones superiores a los límites establecidos, se pueden incrementar los valores del respectivo parámetro hasta este nivel, siempre que se haya comprobado este fenómeno estadísticamente a través de un monitoreo de suelos no perturbados ni influenciados en la misma área.

El monitoreo consistirá de una caracterización inicial del sitio y/o material a remediarse, un monitoreo de por lo menos un muestreo con los respectivos análisis cada seis meses, y una caracterización final una vez concluidos los trabajos. Dependiendo de la tecnología de remediación aplicada, la frecuencia del monitoreo será mayor, conforme al programa o proyecto de remediación aprobado por la Subsecretaría de Protección Ambiental”³².

Tabla 2-1 Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicios.

PRÁMETRO	EXPRESADO	UNIDADES	USO AGRÍCOLA	USO INDUSTRIA	ECOSISTEMA SENSIBLE
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
Niquel	Ni	mg/Kg	<50	<100	<40
Plomo	Pb	mg/Kg	<100	<500	<80

FUENTE: **RAOH N°1215** pág. 112

³² Reglamento ambiental para las operaciones hidrocarburíferas en el Ecuador., **pág. 112**.

3 MARCO METODOLÓGICO

3.1 MÉTODOS GENERALES DE ANÁLISIS

3.1.1 MODELO DE ESTUDIO

La empresa Saxon Energy Services del Ecuador, que presta servicios petroleros, (reacondicionamiento de pozos), permite realizar la presente investigación que tiene como objetivo descontaminar los suelos contaminados con hidrocarburos, utilizará tecnología de Landfarming, que incluye dos fases : el diagnostico de la contaminación del material contaminado de los taladros de perforación y el proceso de biorremediación. Esta investigación se desarrollará en alrededor de ocho meses

El diagnóstico de la contaminación utilizará estudios de caracterización en los suelos: del contaminante, caracterización de los nutrientes y de los microorganismos degradadores.

El diseño del bioproceso se realizará determinando los parámetros críticos de la biorremediación con el objeto de bioestimular a la flora microbiana activa permitiendo disminuir los tiempos de biodegradación del crudo contaminante.

3.1.2 FACTORES EN ESTUDIO

- Diagnostico de la contaminación.
- Diseño y control del bioproceso.

3.1.3 VARIABLE EN ESTUDIO

Hidrocarburos totales de petróleo (TPH), en el suelo contaminado y en el suelo en procesos de descontaminación

3.1.4 UNIDAD EXPERIMENTAL

Esta constituida por un volumen de suelo contaminado de 2, 025 m³, de la cual se obtiene una muestra de 250g de suelo

3.1.5 NUMERO DE REPETICIONES

Tres muestras cada quince días durante el proceso de descontaminación

3.1.6 TRATAMIENTOS

Tres unidades experimentales con diferentes concentraciones de contaminante

3.1.7 MUESTREO

El tipo de muestreo fue no probabilístico, aleatorio compuesto.

El muestreo efectuado a lo largo de todo el proyecto, fue realizado mediante procedimientos implementados por el autor de la presente investigación, para la empresa Saxon Energy Services del Ecuador, basándose en el reglamento Ambiental de Operaciones Hidrocarburíficas del Ecuador, (RAOH N° 1215) y el Libro IV del Texto Unificado de Legislación Ambiental (TULAS).

3.1.8 RECOLECCION, TRANSPORTE Y TRATAMIENTO DE MUESTRAS

La toma de muestras y el transporte de las mismas se implementaron siguiendo la misma modalidad anterior y se indican como sigue:

- Procedimiento para la toma de muestras del suelo blanco de la empresa saxon energy services. (Anexo1)
- Procedimiento para la toma de muestras de los suelos contaminados con hidrocarburos de la empresa saxon energy services. (Anexo2)

Cada una de las muestras para ser transportadas y entregadas a los laboratorios correspondientes, deben ser registrados mediante una hoja de control llamada cadena de custodia de las muestras (Anexo3).

El transporte se realiza en fundas plásticas las mismas que son enviadas a la ciudad de Quito para su análisis en los laboratorios correspondientes.

3.2 METODOS ESPECIFICOS DE ANALISIS

3.2.1 DISEÑO DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES

El diseño se fundamenta en la Metodología presentada por Dr. Carlos Ercoli, Investigador de la Universidad del Cuyo. Argentina, cuyos lineamientos generales de diseño son:

- **Suelo base:** Debe poseer pendiente para el sistema de drenaje del suelo en tratamiento, sobre la que se colocara la geomembrana. Debe estar completamente limpio de impurezas o materiales que puedan desgarrar la geomembrana.
- **Taludes:** Poseen una altura no mas de los 60cm de alto, sirven de anclaje de la geomembrana y de protección para el suelo a descontaminarse.
- **Membrana:** Funciona como impermeabilizante del suelo donde se ubica el bioproceso.
- **Drenajes:** Construidos en cada una de las unidades experimentales, para que fluya el exceso de agua hacia los colectores.
- **Techo:** de plástico de invernadero tipo 070 con filtro UV, que sirve de Protección de las unidades experimentales debido a la gran pluviosidad en la región oriental, y actúa como filtro UV, beneficiando el crecimiento bacteriano.

3.2.2 DIAGNOSTICO DE LA CONTAMINACION

3.1.2.1 Caracterización del contaminante en el suelo: los ensayos se realizarán en el Laboratorio Analítico HAVOC, en proceso de acreditación y siguiendo las metodologías anotadas a continuación.

Tabla 3-1 Caracterización del contaminante en el suelo.

ENSAYO	MÉTODO
Hidrocarburos aromáticos monocíclos	EPA 8260
Hidrocarburos alifáticos	EPA 8261
Hidrocarburos aromáticos policíclicos	EPA 8310
HAPS totales	EPA 3545 / 8310
TPH	MESS -02 EPA 84407418,1

Elaborado por Martín Chang B.

3.1.2.2 Caracterización de los nutrientes en el suelo: los ensayos se realizarán en el Laboratorio Analítico HAVOC, en proceso de acreditación por el Organismo de Acreditación Ecuatoriano, (OAE) y siguiendo las metodologías y técnicas validadas y anotadas a continuación.

Tabla 3- 2 Caracterización de los nutrientes del suelo.

ENSAYO	MÉTODO
Cobre	MESS - 01 /07 EPA 3050 B / 7210
Fósforo total	EPA 365,3
Hierro	EPA 7380
Magnesio	EPA 7450
Manganeso	EPA 7460
Nitrógeno total	EPA 351,3M
Potasio	EPA 7610
Zinc	MESS - 01 /07 EPA 3050 B / 7950
Materia orgánica	GRAVIMÉTRICO

Elaborado por Martín Chang B.

3.1.2.3 Caracterización de los microorganismos degradadores en el suelo: en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central con las siguientes Técnicas:

- Contaje Total de heterótrofos. BAM 2001, cap3
- Contaje de bacterias degradadoras de petróleo.

3.2.3 EJECUCION Y CONTROL DEL BIOPROCESO

3.2.1 DETERMINACION DE PARAMETROS CRITICOS

Todos los ensayos químicos, con excepción de los microbiológicos fueron realizados en el Laboratorio Analítico HAVOC, en proceso de acreditación y siguiendo las metodologías anotadas a continuación.

- **Tipo y concentración de contaminante:** Utilizando métodos de la EPA, ASTM, y métodos validados y acreditados por el OAE.
- **Concentración de nutrientes:** Utilizando métodos de la EPA, ASTM y métodos evaluados por el OAE.

- **Concentración de microorganismos:** Realizados en el laboratorio de microbiología de la Universidad Central del Ecuador, utilizando una metodología de conteo de Heterótrofos totales y conteo de bacterias degradadoras de petróleo.
- **Condiciones macro ambientales:**
 - Temperatura: Se determina utilizando un termómetro de mercurio para el ambiente y un termómetro electrónico para el suelo.
 - pH: Se lo determina mediante el método colorimétrico en campo, en el laboratorio se lo determina mediante el método EPA 9045 B.
 - Humedad del suelo: Determinado por un método manual y observación.
- **Presencia de inhibidores:** de igual manera, utilizando métodos de la EPA, ASTM y métodos evaluados por el OAE.

3.2.2 CONTROL DEL BIOPROCESO

- **Control de la flora microbiana activa:** Conteo de Heterótrofos totales y Conteo de bacterias degradadoras de petróleo.
- **Control de Hidrocarburos totales de petróleo:** Fue determinado en el laboratorio analítico Havoc, utilizando un método propio evaluado por el OAE y basado en el método de la EPA 84407418.1.
- **Condiciones macroambientales:**
 - Temperatura: Se determina utilizando un termómetro de mercurio para el ambiente y un termómetro electrónico para el suelo.
 - pH: Se lo determina mediante el método colorimétrico en campo, en el laboratorio se lo determina mediante el método EPA 9045 B.
 - Humedad del suelo: Determinado por un método manual y observación.

4. RESULTADOS Y ANALISIS

4.1 DISEÑO DEL BIOPROCESO:

- **Aplicación Biotecnológica:** Tratamiento de suelo contaminado
- **Finalidad del bioproceso:** Producción de biomasa

- **Tipo de microorganismos:** Microorganismos Heterotróficos
- **Metabolismo Bacteriano:** Aerobio para mayor producción de biomasa

4.2 DISEÑO DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES

4.2.1 Ubicación del proceso.

La empresa Saxon Energy Services del Ecuador, tiene su Campo Base en la provincia de Sucumbíos, vía Shushufindi. Las unidades experimentales se construyeron en las inmediaciones del campamento base en el patio posterior de la empresa.

El diseño de las unidades experimentales se fundamentó en la referencia bibliográfica, (Carlos Ercoli investigador de biotecnología de la universidad del Cuyo – Argentina), y tomando en cuenta factores como: el volumen de suelo a descontaminar, la concentración de contaminante y el área asignada para el efecto, que tiene una superficie de 66 m². La misma que se distribuyó en tres unidades experimentales mas el al área de acopio y al área de tamizado.

Cada unidad experimental presenta en promedio las siguientes dimensiones; 3m de largo, por 5m de ancho y con 0.50m de profundidad, cubierto tan solo por 0.15 a 0.20m. del suelo contaminado.

Cada una de las unidades experimentales lleva un volumen de suelo similar, pero con diferentes concentraciones de contaminantes.

Esta fase abarca la construcción de las unidades experimentales para el proceso de Landfarming y los procesos previos (el acopio y el tamiz).

4.2.2 Construcción de Suelo base, Taludes y Drenajes.

- Construcción de la estructura de las unidades experimentales, área de acopio y área de tamizado.



Ilustración 1 Área de las unidades experimentales.



Ilustración 2 Construcción de las unidades experimentales, área de acopio y de tamizado

Suelo base

Se nivela con una pendiente de 3 a 4 % en la dirección longitudinal, se coloca el sistema de drenaje. Se limpia el suelo (piedras, ramas, residuos metálicos). En caso de que el suelo sea pedregoso se colocará una capa de arena entre éste y la membrana, para

proteger a esta última. Esta capa se utilizará de base para definir las pendientes del predio (sobre la misma se realizarán las acumulaciones de suelo necesarias para garantizar la esorrentía de los lixiviados). Se presentan dos opciones para definir las pendientes del suelo base, dependiendo de la geometría del sistema de recolección de lixiviados.

El extremo más elevado de la cuña tendrá un desnivel con respecto del opuesto para garantizar una pendiente de 3 %. En el extremo más bajo se construirá una zanja o poza de 0.60m de profundidad con una pendiente del 0 % a partir del punto extremo, la misma se construirá de acuerdo a la pendiente propia del terreno (desnivel de 0,25 m) para instalar una cañería de recolección de lixiviado.



Ilustración 3 Camas de descontaminación y taludes de seguridad.



Ilustración 4 Sistema de transporte de lixiviados.



Ilustración 5 Recolectores de lixiviados

Taludes

Se realizarán con suelo no contaminado. La sección será trapezoidal, manteniendo las mismas precauciones para la cara que se encuentran en contacto con la membrana tomada para el suelo base. Al contorno de las unidades experimentales se excavará una zanja de 20 - 30 cm de profundidad y 20 cm de ancho que permitirá fijar la geomembrana. Si el suelo no es adecuado para apoyar la membrana se colocará en la cara en contacto con la misma una capa de 20 cm de espesor de arena o grava sin clastos grandes, ramas, restos de metales o materiales que pudieran dañar la membrana.

Durante la construcción se colocará una cañería de dimensiones adecuadas que permita retirar los lixiviados fuera del predio, dado que la misma se fijará a la membrana mediante pega especializada de geomembrana, apoyada en el fondo de la zanja impermeabilizada sin cambiar la pendiente.

Drenajes

Se construirán con tubo de PVC ranurado de 4pulg de diámetro para drenajes. Los mismos se colocarán sobre la membrana en las zanjas. Estos caños se dirigirán en la dirección de la pendiente hacia un colector del mismo tipo no ranurado que atravesará la membrana y los taludes. La cañería de drenaje se dirigirá a un tanque de PVC de 12 litros de capacidad (que estará enterrado para lograr un buen escurrimiento) con tapa que se vaciarán en tanques para su tratamiento

4.2.3 Construcción de Techo: unidades experimentales y áreas de acopio y tamizado



Ilustración 6 Cubierta plástica de las unidades experimentales.

El material escogido para las unidades experimentales fue el plástico con filtro UV por que los rayos solares son necesarios para el crecimiento bacteriano, ya que la radiación UV actúa a 225 nm atacando el DNA bacteriano. Igual para las unidades de acopio y tamizado.

- Colocación de la cubierta metálica en los procesos previos (acopio del material contaminado y tamiz del mismo) a la descontaminación de los suelos por Landfarming



Ilustración 7 Techo metálico para el área de acopio y tamiz del material contaminado.

Techo metálico para unidades de acopio y tamizado

Se construirá cubriendo el ancho de las unidades de acopio como de la unidad de tamizado del material contaminado, El techo debe cubrir completamente los taludes y sobresalir 0.5 m a cada lado para evitar erosión en el suelo contorno a las unidades de acopio y tamizado, así como la entrada de agua lluvia.

Las dimensiones del mismo serán:

Ancho total (Columna del techo + talud + sector de tratamiento) = 6 m
aproximadamente

Largo: Talud + Landfarming = 11 m.

4.2.4 Disposición de geomembrana en las unidades experimentales:

Se utilizó geomembrana para mitigar alguna contaminación en el área del bioproceso.



Ilustración 8 Colocación de la geomembrana en las camas de descontaminación.



Ilustración 9 Colocación de la geomembrana en el área de acopio y tamizado del material contaminado.

Se utilizará una geomembrana de 0,75 mm a 1 mm de espesor sujeta por sus bordes cubriendo toda el área de trabajo y los taludes. La misma se colocará sobre el suelo base y los taludes acondicionados como se indicó en los párrafos anteriores y se sellará. La membrana debe seguir el contorno del suelo base, incluyendo las zanjas perimetrales.

En el punto donde se debe atravesar la cañería de drenaje se realizará un orificio para las cañerías. La unión entre la cañería y la membrana se realizará con bridas plásticas pegadas a la misma o parches impermeabilizados. Se utilizarán dos bridas, una por cada lado.

4.3 *DIAGNOSTICO DE LA CONTAMINACIÓN*

4.3.1 Caracterización del contaminante en el suelo:

Los resultados de los análisis de suelo contaminado se fundamentan en el análisis de los Hidrocarburos totales (TPH).

Tabla 4-1 Diagnostico del contaminante en el suelo.

FECHA	CARACTERIZACIONES DE SUELO.	NOMBRE DE LA MUESTRA	CODIGO DE LA MUESTRA	TIPO DE MUESTRA	ENSAYO	RESULTADOS EN %	RESULTADOS EN mg/Kg
15/06/2007	Caracterización del suelo contaminado de inicio	MUESTRA - 1	MSC010	Aleatorio-Compuesto	TPH	0,378	3780,2
		MUESTRA - 2	MSC020	Aleatorio-Compuesto	TPH	1,039	10396,7
		MUESTRA - 3	MSC030	Aleatorio-Compuesto	TPH	1,0439	10439,3

Elaborado por Martín Chang B.

4.3.2 Caracterización de los nutrientes en el suelo:

Los principales nutrientes analizados son el nitrógeno y el fósforo.

Tabla 4- 2 Diagnostico de los nutrientes en el suelo.

FECHA	CARACTERIZACIONES DE SUELO.	NOMBRE DE LA MUESTRA	CODIGO DE LA MUESTRA	TIPO DE MUESTRA	ENSAYO	RESULTADOS EN %	RESULTADOS EN mg/Kg
15/06/2007	Caracterización del suelo contaminado de inicio	MUESTRA - 1	MSC010	Aleatorio-Compuesto	Nitrógeno Total	0,00961	96,1
					Fósforo	0,00032	3,2
		MUESTRA - 2	MSC020	Aleatorio-Compuesto	Nitrógeno Total	0,00878	87,8
					Fósforo	0,00032	3,19
		MUESTRA - 3	MSC030	Aleatorio-Compuesto	Nitrógeno Total	0,0665	65,4
					Fósforo	0,00082	8,17

Elaborado por Martín Chang B.

4.3.3 Caracterización de los microorganismos degradadores en el suelo.

Se determinó el número de heterótrofos totales.

Tabla 4- 3 Determinación de heterótrofos Totales en el suelo contaminado.

Fecha de análisis	Caraterizaciones de la muestra	Nombre de la muestra	Número de microorganismos	Unidades de medida
18/07/2007	Heterótrofos Totales de inicio	MUESTRA - 1	$2,5 \times 10^5$	UFC/ml
		MUESTRA - 2	$8,9 \times 10^6$	UFC/ml
		MUESTRA - 3	$5,2 \times 10^5$	UFC/ml

Elaborado por Martín Chang B.

ANALISIS DE RESULTADOS:

- La concentración del TPH en las tres unidades experimentales son diferentes, la primera unidad experimental posee una concentración relativamente baja a comparación de la unidad experimental dos y tres. Pero existe una contaminación en el suelo y debe ser tratada para reunir los requisitos de un suelo tratado para ser reutilizado como es indicado en la ley.
- En cada una de las unidades experimentales, se colocó suelo contaminado que contengan concentraciones de hidrocarburos menores al 10 % del volumen total. Todos los análisis de las muestras están dentro de este parámetro, como indica la **tabla 4- 1** “Diagnostico del contaminante en el suelo”
- Los nutrientes analizados Nitrógeno y fósforo son macroelementos vitales para que ocurra el crecimiento microbiano y consecuentemente para que ocurra la oxidación del contaminante y se degrade. Los nutrientes se encuentran en bajas cantidades en las tres unidades experimentales, en consideración a la especificación teórica de la relación C-N-P que es 100-2-1
- La cantidad de microorganismos degradadores especificada para estos bioprocesos es de 1×10^4 UFC/g de tierra de flora activa y de 1×10^6 UFC/g de tierra de contaje de Heterótrofos. En el diagnóstico de cantidad de microorganismos presentes en el suelo a descontaminar, la cantidad de microorganismos activos estuvo muy baja, por lo que se debe añadir nutrientes nitrógeno y fósforo (según la relación C-N-P).

4.4 Ejecución del Bioproceso:

Se procede a la descontaminación de los suelos con hidrocarburos, utilizando la tecnología de Landfarming y siguiendo todos sus lineamientos:

4.4.1 Preparación del material a descontaminar:

Se procede a limpiar la tierra contaminada de residuos físicos mediante un proceso de tamizado y se coloca en cada unidad experimental en volumen aproximado de $2,025\text{m}^3$. Se mezcla con material liviano que ayuda a la aireación como viruta u otro material similar.

4.4.2 Igualar los parámetros críticos:

Nutrientes, TPH igual o menor al 10 % del volumen de la tierra en cada unidad experimental, en función de los resultados del diagnostico de la contaminación.

4.4.3 Inicio de la fase de descontaminación:

Considerando los parámetros TPH, conteo de microorganismos, y nutrientes iniciales y la fecha de iniciación del bioproceso.



Ilustración 10 Descontaminación de los suelos (Landfarming).



Ilustración 11 Aireación de los suelos (Landfarming).



Ilustración 12 Proceso de acopio y tamiz del material contaminado.

4.5 CONTROL DEL BIOPROCESO

En esta fase se controla el proceso de landfarming mediante los diversos parámetros críticos en el ambiente y en las muestras del suelo contaminado con pruebas de laboratorio y de campo. Se utilizan hojas de control., En la etapa de control del bioproceso, se monitorea quincenalmente tres parámetros críticos, indicadores de la degradación del hidrocarburo: concentración del contaminante, concentración de nutrientes y cantidad de biomasa activa.

4.5.1 Concentración de contaminante:

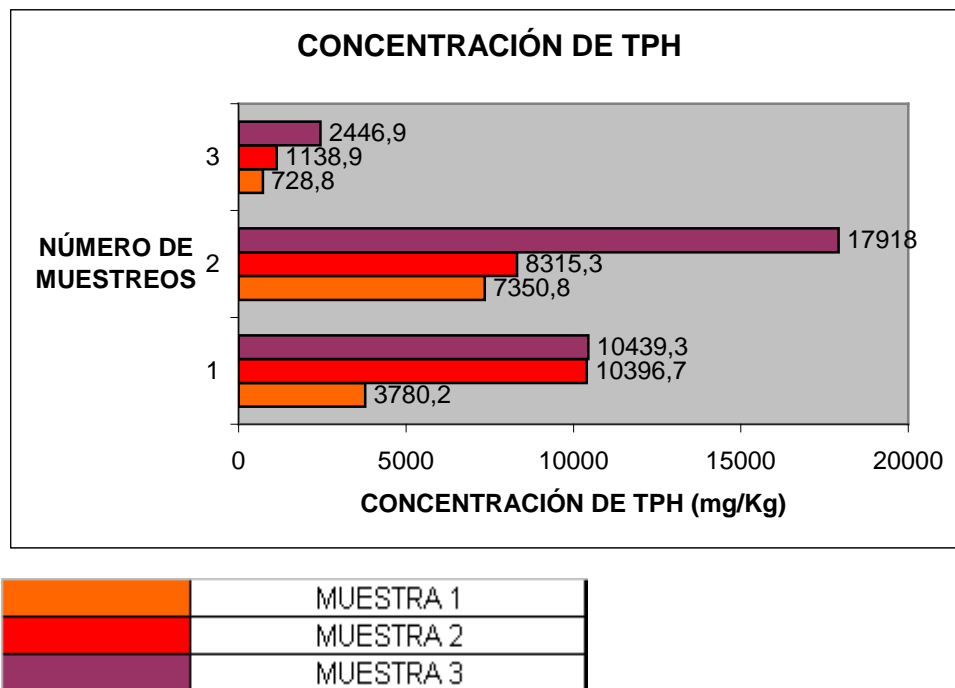
Los controles fueron realizados cada quince días a partir del día

Tabla 4- 4 Concentración del contaminante en el suelo.

FECHA	CARACTERIZACIONES DE SUELO.	NOMBRE DE LA MUESTRA	CODIGO DE LA MUESTRA	TIPO DE MUESTRA	ENSAYO	RESULTADOS EN %	RESULTADOS EN mg/Kg
10/07/2007	Caracterización del suelo contaminado	MUESTRA - 1	MSC011	Aleatorio-Compuesto	TPH	0,73	7350,8
		MUESTRA - 2	MSC021	Aleatorio-Compuesto	TPH	0,83	8315,3
		MUESTRA - 3	MSC031	Aleatorio-Compuesto	TPH	1,79	17918
26/07/2007	Caracterización del suelo contaminado	MUESTRA - 1	MSC012	Aleatorio-Compuesto	TPH	0,073	728,8
		MUESTRA - 2	MSC022	Aleatorio-Compuesto	TPH	0,11	1138,9
		MUESTRA - 3	MSC032	Aleatorio-Compuesto	TPH	0,25	2446,9

Elaborado por Martín Chang B.

Gráfico 1 Concentración del TPH en el suelo.



Elaborado por Martín Chang B.

4.5.2 Concentración de microorganismos:

Tabla 4- 5 Concentración de Heterótrofos Totales en el suelo.

Fecha de análisis	Caraterizaciones de la muestra	Nombre de la muestra	Número de microorganismos	Unidades de medida
30/07/2007	Heterótrofos Totales	MUESTRA - 1	2,61 X 10 ⁸	UFC/ml
		MUESTRA - 2	8,14 X 10 ⁸	UFC/ml
		MUESTRA - 3	1,78 X 10 ⁹	UFC/ml

Elaborado por Martín Chang B.

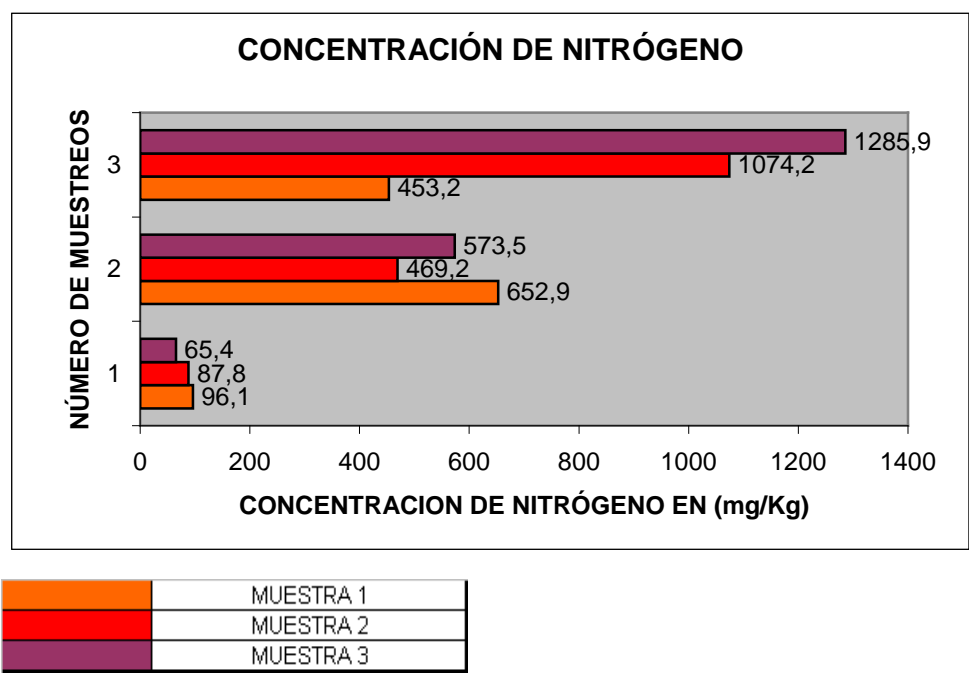
4.5.3 Concentración de nutrientes:

Tabla 4- 6 Concentración de los nutrientes en el suelo.

FECHA	CARACTERIZACIONES DE SUELO.	NOMBRE DE LA MUESTRA	CODIGO DE LA MUESTRA	TIPO DE MUESTRA	ENSAYO	RESULTADOS EN %	RESULTADOS EN mg/Kg
10/07/2007	Caracterización del suelo contaminado	MUESTRA - 1	MSC011	Aleatorio-Compuesto	Nitrógeno Total	0,065	652,9
					Fósforo	0,15	1536,19
		MUESTRA - 2	MSC021	Aleatorio-Compuesto	Nitrógeno Total	0,047	469,2
					Fósforo	0,11	1172,9
		MUESTRA - 3	MSC031	Aleatorio-Compuesto	Nitrógeno Total	0,057	573,5
					Fósforo	0,056	557,1
26/07/2007	Caracterización del suelo contaminado	MUESTRA - 1	MSC012	Aleatorio-Compuesto	Nitrógeno Total	0,045	453,2
					Fósforo	0,11	1132,93
		MUESTRA - 2	MSC022	Aleatorio-Compuesto	Nitrógeno Total	0,11	1074,2
					Fósforo	0,21	2065,71
		MUESTRA - 3	MSC032	Aleatorio-Compuesto	Nitrógeno Total	0,13	1285,9
					Fósforo	0,24	2411,03

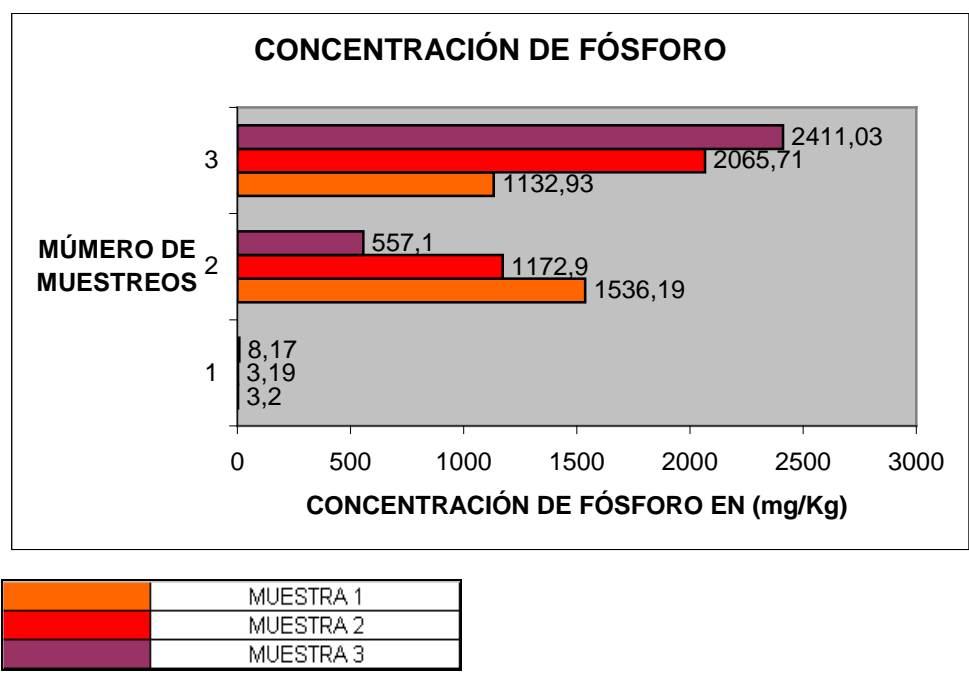
Elaborado por Martín Chang B.

Gráfico 2 Concentración de nitrógeno en el suelo.



Elaborado por Martín Chang B.

Gráfico 3 Concentración de fósforo en el suelo.



Elaborado por Martín Chang B.

4.5.4 CONDICIONES MACROAMBIENTALES:

Temperatura., Ph, Humedad del suelo, Presencia de inhibidores y Aireación

Tabla 4- 7 Datos de control de los parámetros de campo.

MES	DÍA	pH.	TEMPERATURA AMBIENTE (°c)	TEMPERATURA DEL SUELO (°c)	REMOCIÓN DEL SUELO	HUMEDAD DEL SUELO (%)
JUNIO	15	7	32,6	24,5	9:04am	62
	16	7	34,3	23,7	8:40am	65
	17	7	31,7	27,6	7:30am	63
	18	7	26,1	27,8	10:00am	71
	19	7	30,5	25,8	7:50am	67
	20	7	32,6	28,4	7:15am	66
	21	7	29,5	26,6	8:37am	63
	22	7	26,8	28,4	7:50am	64
	23	7	29,3	27,4	7:25am	69
	24	7	28,7	24,8	9:40am	71
	25	7	31,2	27,8	8:55am	73
	26	7	30,6	26,5	7:56am	65
	27	7	29,8	25,2	8:40am	68
	28	7	28,3	27,8	7:30am	64
	29	7	31,5	25,8	10:00am	68
	30	7	27,3	28,4	7:50am	72

Elaborado por Martín Chang B.

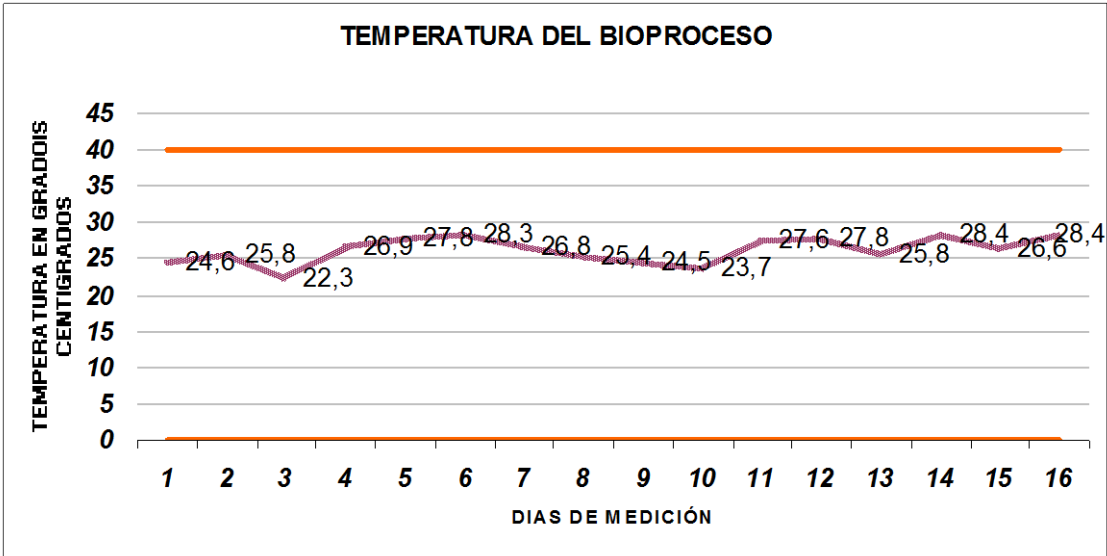
Tabla 4– 8 Datos de control de los parámetros de campo.

MES	DÍA	pH.	TEMPERATURA AMBIENTE (°c)	TEMPERATURA DEL SUELO (°c)	REMOCIÓN DEL SUELO	HUMEDAD DEL SUELO (%)
JULIO	1	7	26,5	24,6	7:30am	24
	2	7	27,6	25,8	8:12am	66
	3	7	28,3	22,3	7:35am	70
	4	7	29,3	26,9	9:40am	73
	5	7	31,5	27,8	8:50am	63
	6	7	32,8	28,3	8:45am	61
	7	7	30,9	26,8	7:50am	60
	8	7	29,8	25,4	8:55am	63
	9	7	32,6	24,5	9:04am	62
	10	7	34,3	23,7	8:40am	65
	11	7	31,7	27,6	7:30am	63
	12	7	26,1	27,8	8:00am	71
	13	7	30,5	25,8	7:50am	67
	14	7	32,6	28,4	7:15am	66
	15	7	29,5	26,6	8:37am	63
	16	7	26,8	28,4	7:50am	64
	17	7	29,3	27,4	7:25am	69
	18	7	28,7	24,8	9:40am	71
	19	7	31,2	27,8	8:55am	73
	20	7	30,6	26,5	7:56am	65
	21	7	29,8	25,2	8:40am	68
	22	7	28,3	27,8	7:30am	64
	23	7	31,5	25,8	8:25am	68
	24	7	27,3	28,4	7:50am	72
	25	7	26,9	23,4	7:45am	60
	26	7	25,8	23,1	7:55am	61
	27	7	26,8	23,5	8:20am	62
	28	7	29,8	26,8	8:45am	71
	29	7	27,6	25,4	7:40am	72
	30	7	31,3	27,1	9:15am	60
	31	7	30,8	26,7	7:25am	73

Elaborado por Martín Chang B.

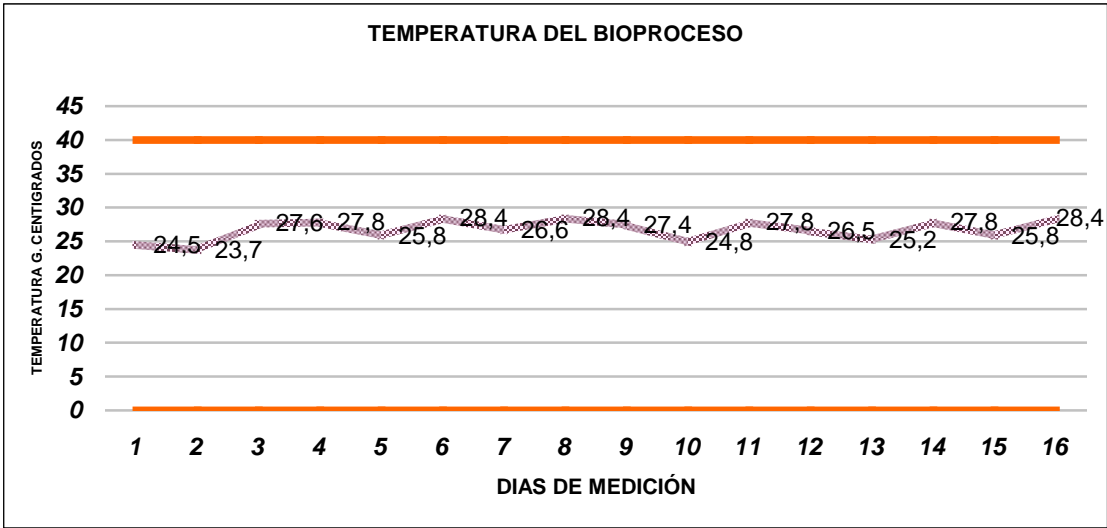
4.5.4.1 Temperatura:

Gráfico 4 Variación de la temperatura del suelo del bioproceso en la primera quincena.



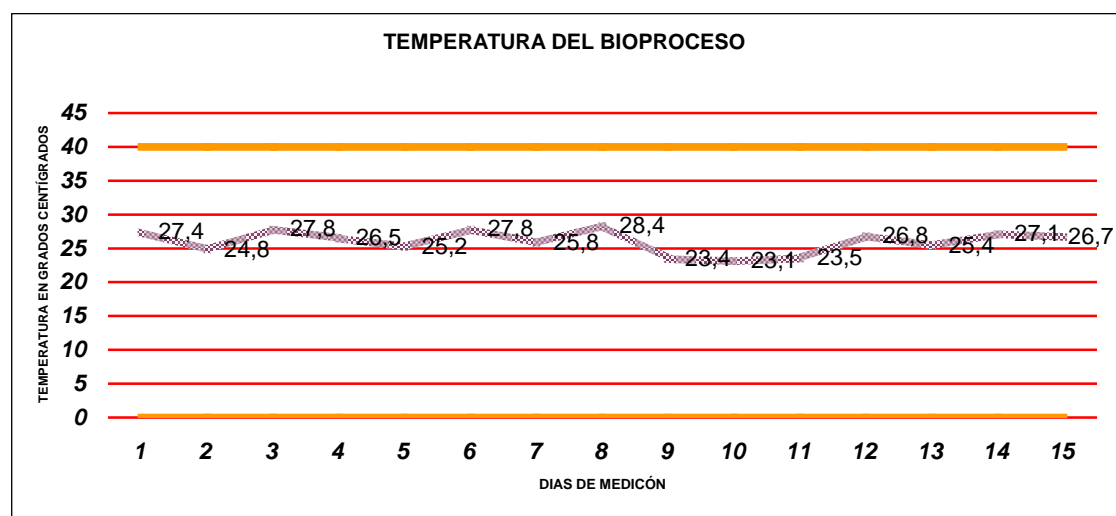
Elaborado por Martín Chang B.

Gráfico 5 Variación de la temperatura del suelo del bioproceso en la segunda quincena.



Elaborado por Martín Chang B.

Gráfico 6 Variación de la temperatura del suelo del bioproceso en la tercera quincena.

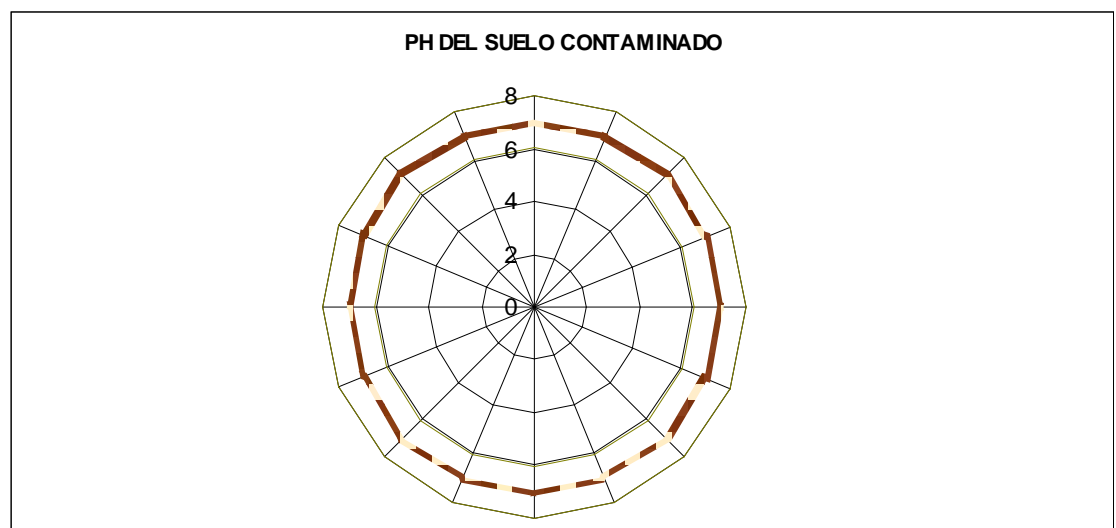


Elaborado por Martín Chang B.

En los gráficos 4, 5 y 6. Se observa que la temperatura del bioproceso implementado, esta dentro de los limites teóricos de un bioproceso de Landfarming.

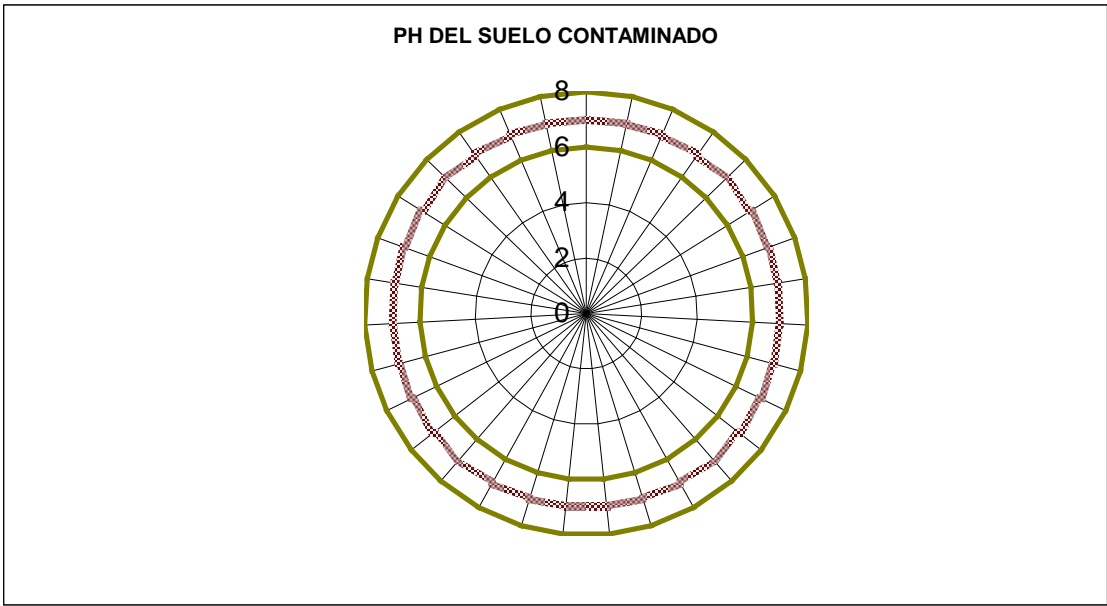
4.5.4.2 Potencial de hidrógeno (pH).

Gráfico 7 pH del suelo en descontaminación.



Elaborado por Martín Chang B.

Gráfico 8 pH del suelo en descontaminación.

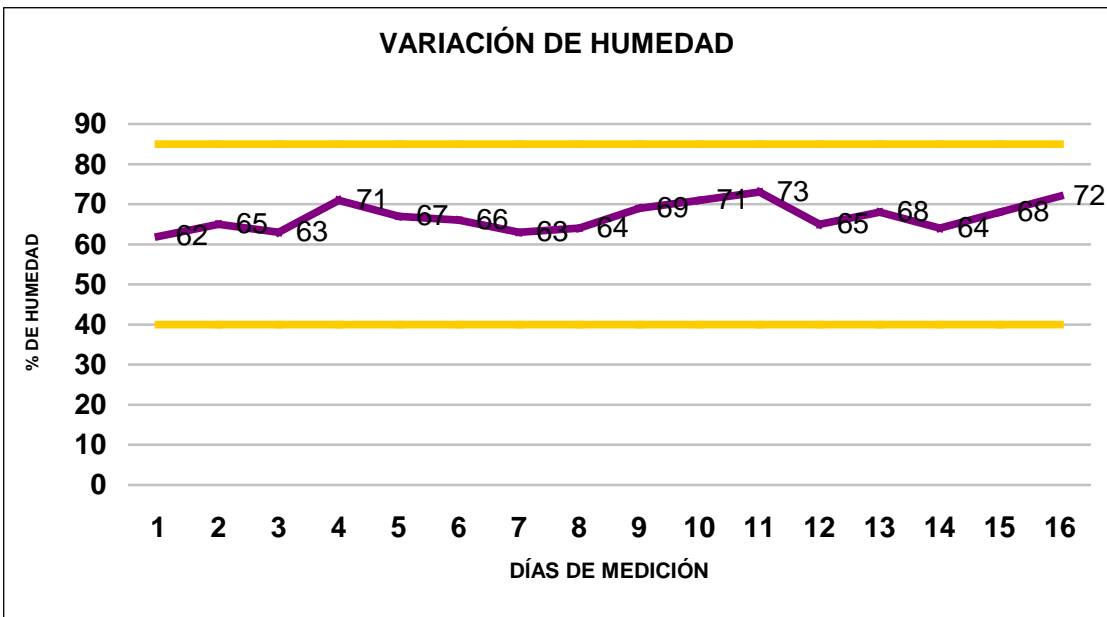


Elaborado por Martín Chang B.

El Ph del suelo en proceso de descontaminación se encuentra dentro de las especificaciones teóricas del proceso de Landfarming.

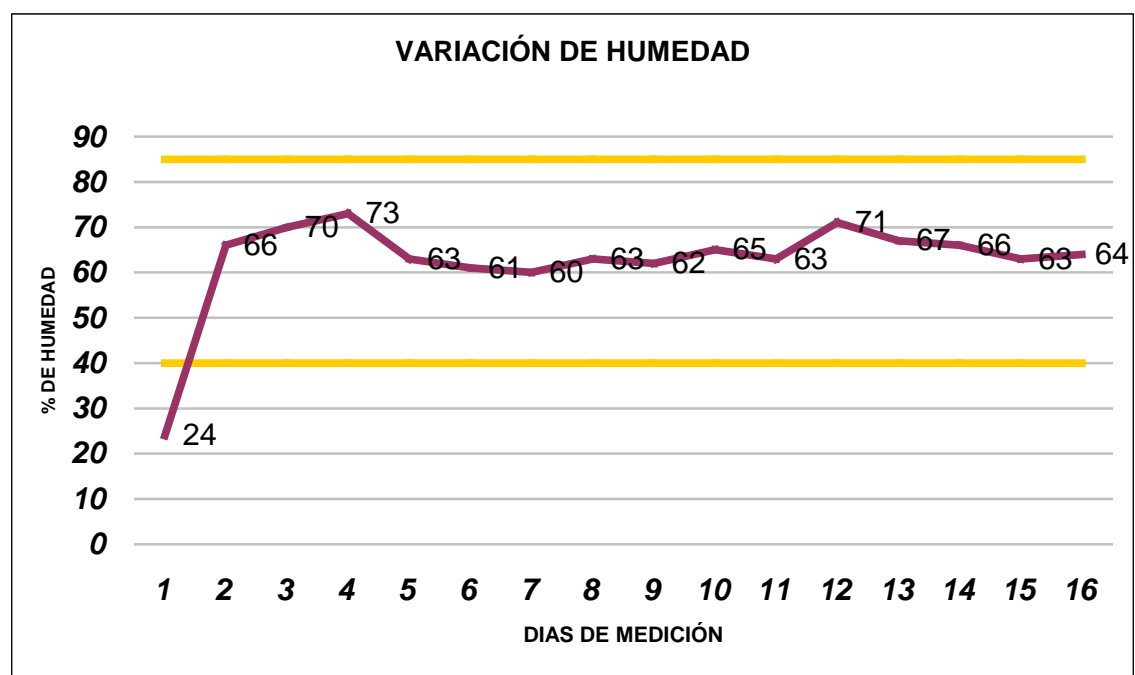
4.5.4.3 Humedad del suelo.

Gráfico 9 Variación de humedad del suelo del bioproceso en la primera quincena



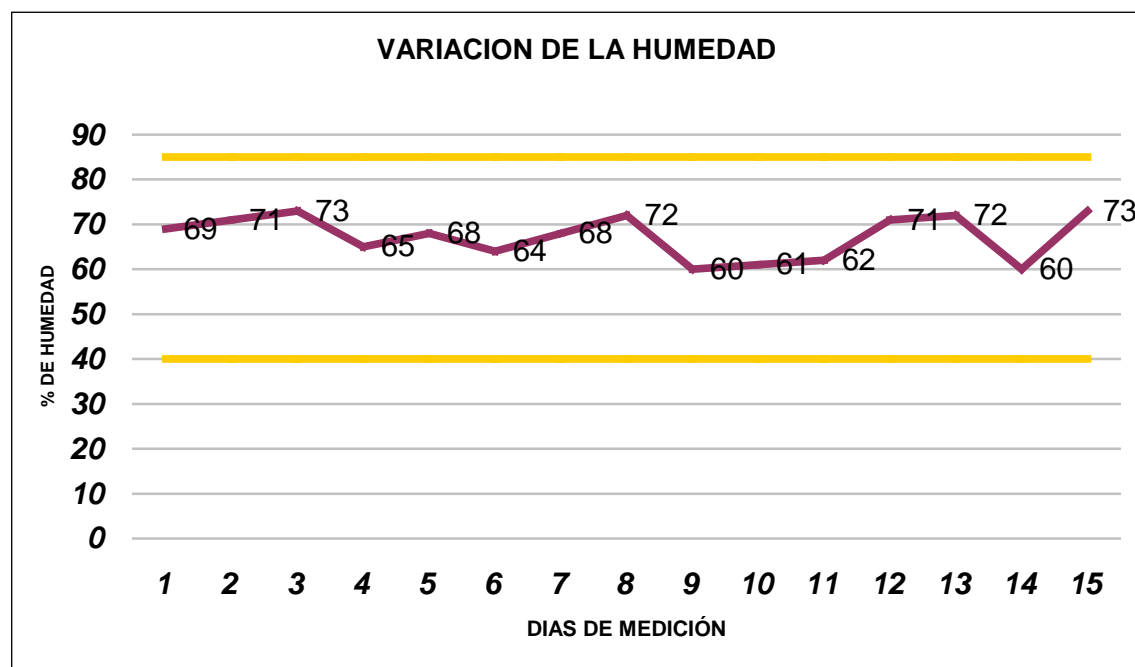
Elaborado por Martín Chang B.

Gráfico 10 Variación de humedad del suelo del bioproceso en la segunda quincena.



Elaborado por Martín Chang B.

Gráfico 11 Variación de humedad del suelo del bioproceso en la tercera quincena.



Elaborado por Martín Chang B.

Se observa que este parámetro esta dentro de las especificaciones del proceso de Landfarming.

4.5.5.- ANALISIS DE RESULTADOS DEL CONTROL DEL BIOPROCESO:

- **Concentración de contaminante:**

En las tres unidades experimentales, se experimentó la biodegradación manifiesta por la disminución del TPH (en un 82.11%), en un período de tiempo de 45 días. Donde la unidad experimental uno disminuyó de 3780.2 mg/Kg. a 728.8 mg/Kg. Dando un total de 3051.4 mg/Kg. de TPHs degradados. En la unidad experimental dos se disminuyó el contaminante de 10396.7 mg/Kg. a 1138.9 mg /kg. llegando a un total de 9257.8 mg/Kg de TPHs degradados. Y en la unidad experimental tres los contaminantes disminuyeron de 10439.3 mg/Kg. a 2446.9 mg/Kg. degradando 7992.4 mg/Kg. de TPHs.

Se puede observar en el control del TPH que en la unidad experimental 1y 3, aumento los niveles de concentración del contaminante, por algunos factores como son, mala remoción del suelo o mala práctica del laboratorio encargado en analizar los contaminantes.

- **Concentración de microorganismos activos:**

Existió un incremento muy considerable en la concentración de heterótrofos totales (un promedio de 1×10^3) en las tres unidades experimentales. En la unidad experimental uno se produjo un incremento de 2.5×10^5 a 2.61×10^8 . En la unidad experimental dos el incremento fue de 8.9×10^6 a 8.14×10^8 . En la unidad experimental tres se produjo un incremento de 5.2×10^5 a 1.78×10^9 . Esto se debe al incremento de nutrientes necesarios para su reproducción y a todas las condiciones ambientales que influyen en su crecimiento, como es la aireación (bacterias aeróbicas), humedad, control de temperatura, etc.

- **Concentración de nutrientes:**

Los nutrientes han aumentado por la adición de los mismos, utilizando fertilizante radicular N-P-P con una proporción de 18 – 24 – 19.

Se añadió este fertilizante considerando la relación C-N-P (100:2:1),. que es la ideal para crecimiento microbiano, y según el volumen de suelo en tratamiento, y fue determinado por un especialista agrónomo. Considerando las especificaciones anteriores

la cantidad calculada de fertilizante a ser añadida en cada unidad experimental fue de 150g de fertilizante.

4.6 RESULTADOS DE LA DESCONTAMINACIÓN DE LOS SUELOS

Tabla 4- 9 Resultados de la degradación.

FECHA	CARACTERIZACIONES DE SUELO.	NOMBRE DE LA MUESTRA	CODIGO DE LA MUESTRA	TIPO DE MUESTRA	ENSAYO	RESULTADOS EN %	RESULTADOS EN mg/Kg
20/08/2007	Caracterización de suelo contaminado (última muestra)	MUESTRA - FINAL	MSC100	Aleatorio-Compuesto	HAPS	0,0000079	0,079
					TPH	0,06543	654,3
					Cadmio	0,0000097	<3,33
					Níquel	0,000321	<8,33
					Plomo	0,001054	<16,67

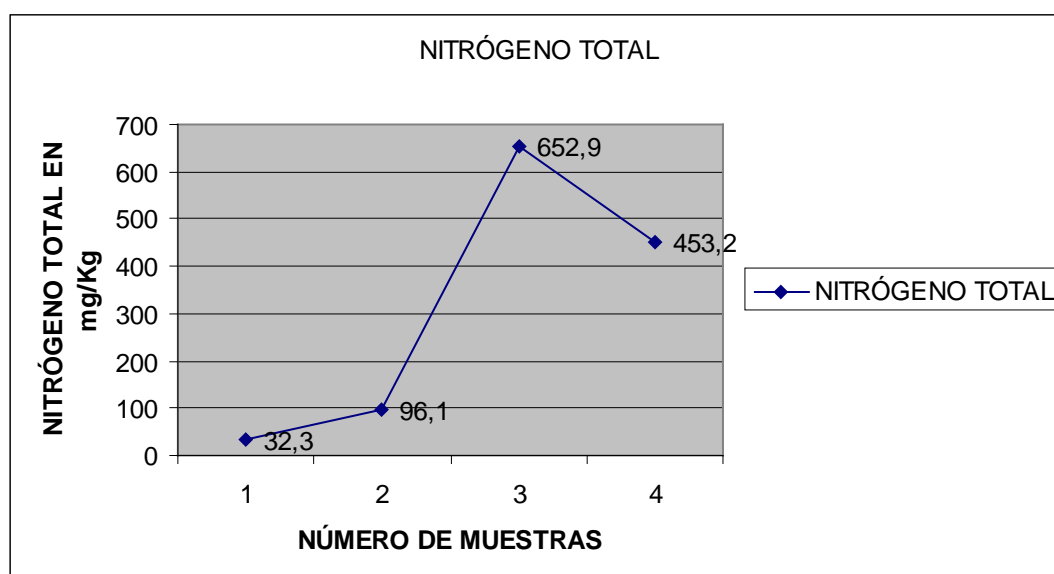
Elaborado por Martín Chang B.

La última muestra se basa en la tabla 6 del RAOH 1215, la cual permite observar una degradación de los contaminantes.

4.6.1 Unidad experimental 1

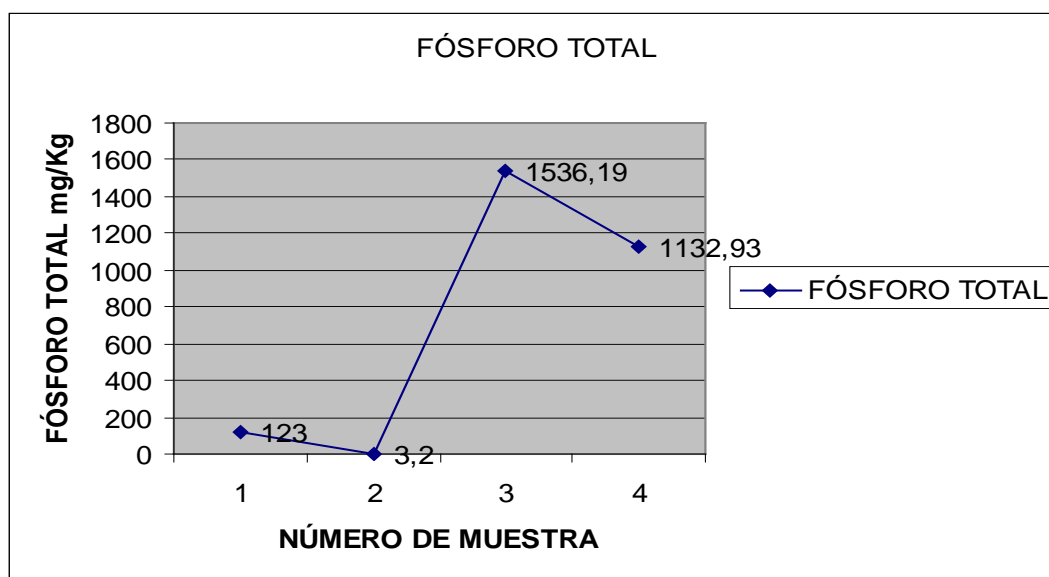
Nutrientes de la unidad experimental uno y nivel de descontaminación del suelo.

Gráfico 12 Concentración del nitrógeno en el suelo descontaminado.



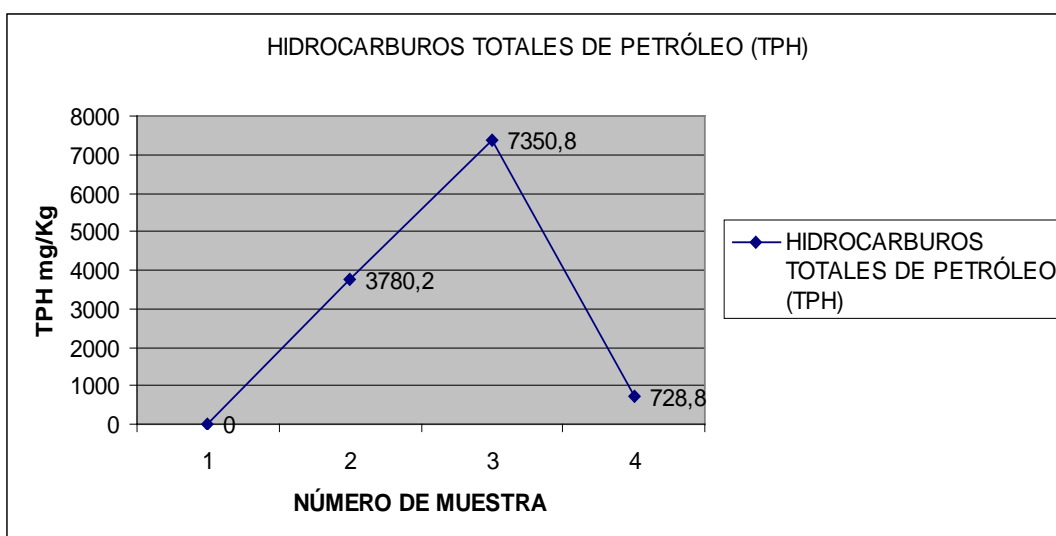
Elaborado por Martín Chang B.

Gráfico 13 Concentración del fósforo en el suelo descontaminado.



Elaborado por Martín Chang B.

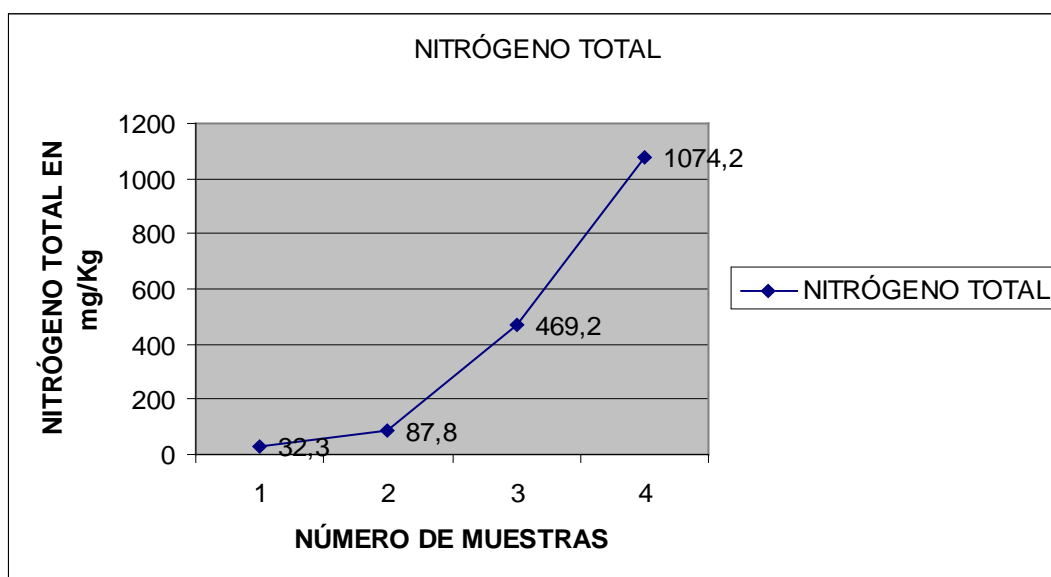
Gráfico 14 Concentración del TPH.



Elaborado por Martín Chang B.

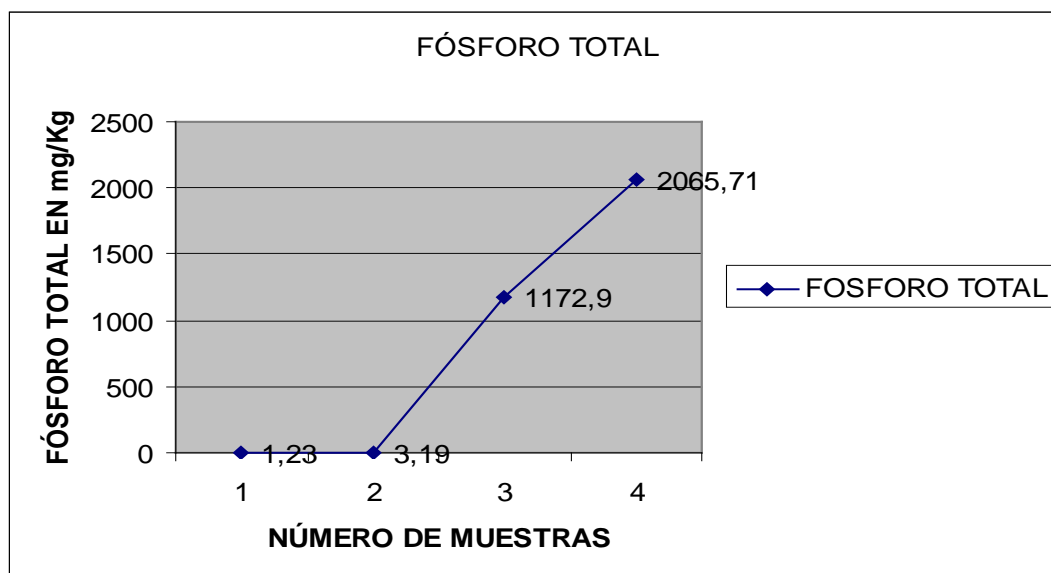
4.6.2 Unidad experimental 2

Gráfico 15 Concentración de nitrógeno en el suelo descontaminado.



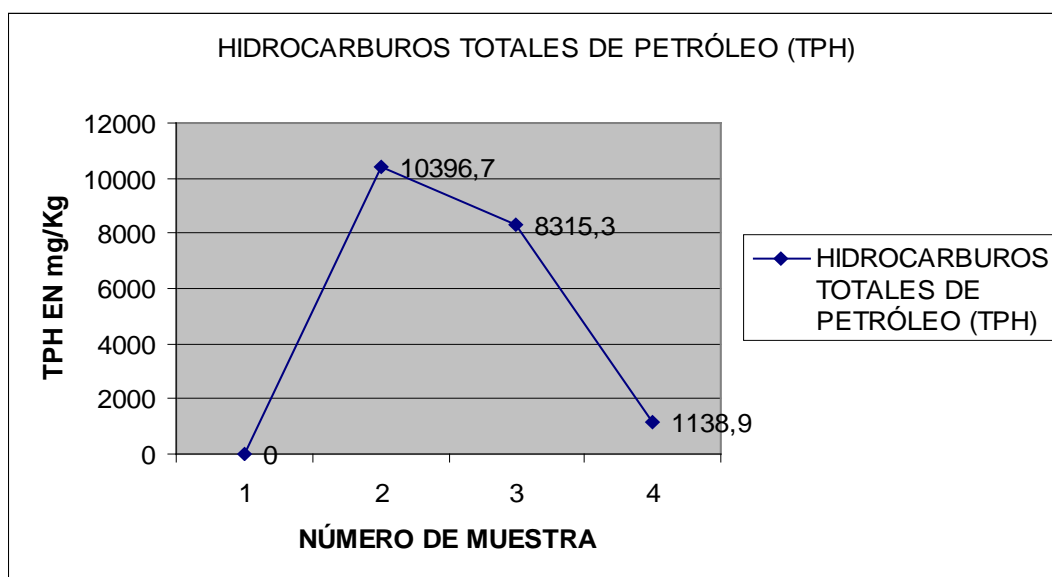
Elaborado por Martín Chang B.

Gráfico 16 Concentración de fósforo en el suelo descontaminado.



Elaborado por Martín Chang B.

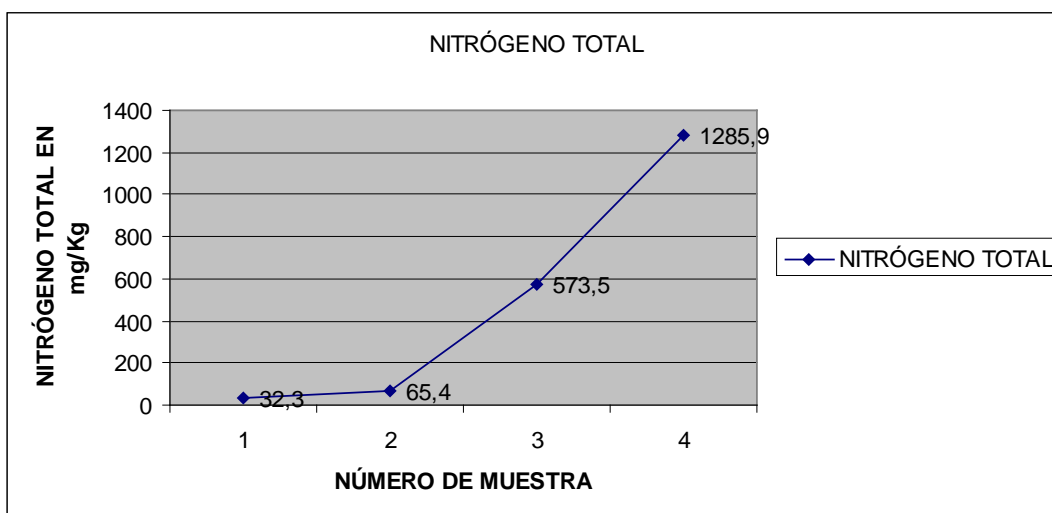
Gráfico 17 Concentración del TPH.



Elaborado por Martín Chang B.

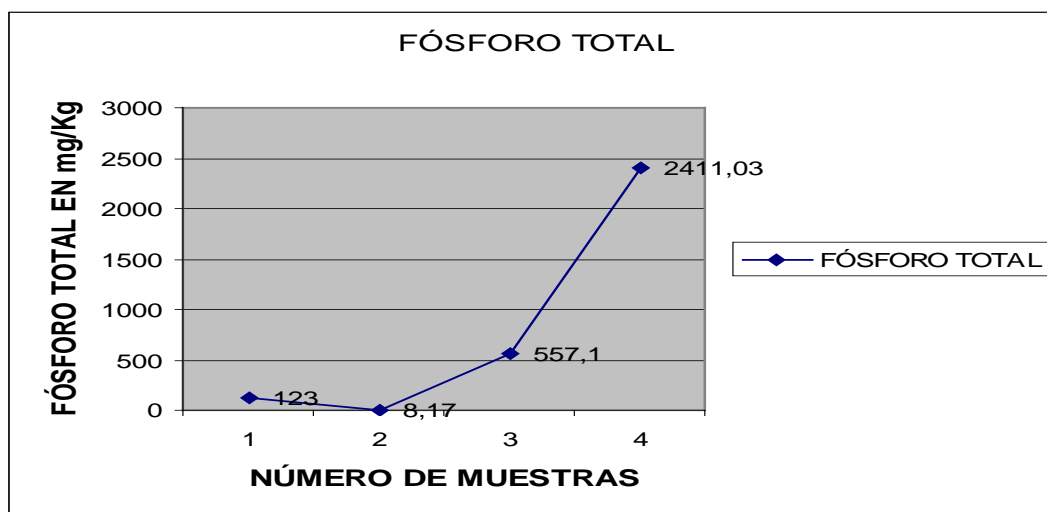
4.6.3 Unidad experimental 3

Gráfico 18 Concentración de nitrógeno en el suelo descontaminado.



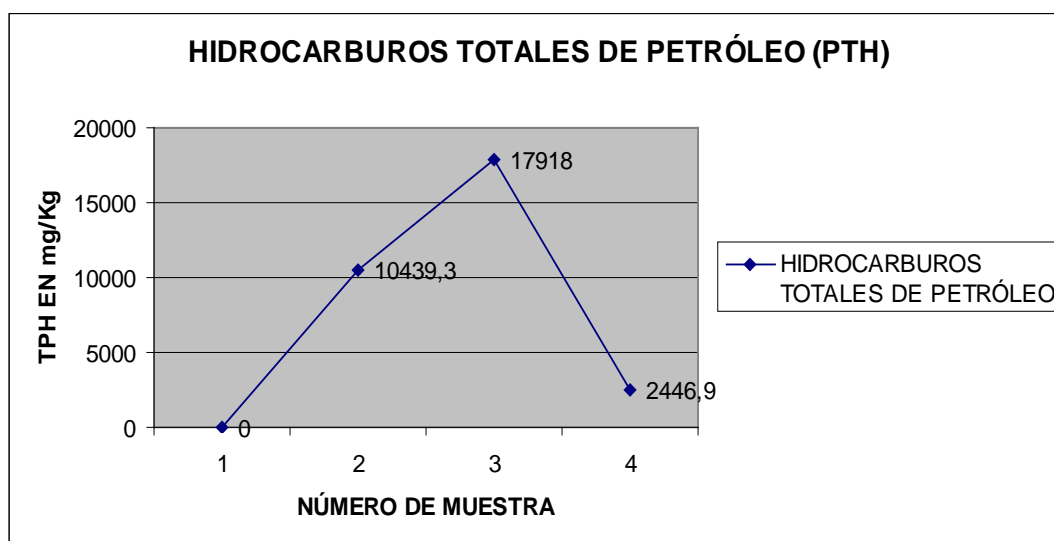
Elaborado por Martín Chang B.

Gráfico 19 Concentración de fósforo en el suelo descontaminado.



Elaborado por Martín Chang B.

Gráfico 20 Concentración de TPH.



Elaborado por Martín Chang B.

El principal parámetro, para saber la degradación del contaminante son los TPHs de cada una de las unidades experimentales en el bioproceso.

Tabla 4- 10 Cantidad de TPHs degradados.

UNIDADES EXPERIMENTALES	mg/Kg DE TPHs DE INICION	mg/Kg DE TPHs FINAL	TOTAL DE mg/Kg DE TPHs DEGRADADOS.	PORCENTAJES DE DEGRADACIÓN.
MUESTRA - 1	3780,2	728,8	3051,4	80,72059679
MUESTRA - 2	10396,7	1138,9	9257,8	89,04556253
MUESTRA - 3	10439,3	2446,9	7992,4	76,56068894

Elaborado por Martín Chang B.

Dando un promedio en las tres unidades experimentales de 6767.2 mg/Kg. de TPHs degradados con un 82.11% de degradación.

4.7 COSTO ECOMÓMICO DEL PROYECTO

El proyecto implementado es la empresa Saxon Energy Services del Ecuador, constituyo una inversión, minimizando los costos de tratamiento del material contaminado que se genera por el reacondicionamiento de los pozos petroleros.

El costo aproximado es de ocho mil dólares, que se ve reflejado en la infraestructura, materiales, insumos y los análisis realizados en los laboratorios respectivos que se utilizaron en el bioproceso de Landfarming. La Empresa gastó el año anterior por concepto de tratamiento del suelo contaminado dos mil dólares para un volumen de 90m³.

Hoy la empresa cuenta con infraestructura y una metodología desarrollada y los tratamientos puede realizarlos, con tan solo el costo de los análisis de laboratorio referentes a nutrientes, TPH y conteo de flora activa, disminuyendo los costos por descontaminación.

5.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1.- CONCLUSIONES GENERALES

- En la presente investigación la técnica Landfarmig fue efectiva esto lo demuestra los resultados que se obtiene sobre descontaminación: en la unidad experimental1 se inicia con TPH de 3780.2 mg/Kg. y en un lapso de 45 días se

obtiene disminución de 3051.4 mg/Kg. de TPH, que equivale a un porcentaje de eficiencia de el 80.72%. En la Unidad experimental 2 se inicia con TPH de 10396.7 mg/Kg. y en un lapso de 45 días se obtiene disminución de 9257.8 mg/Kg. de TPH, que equivale a un porcentaje de eficiencia de el 89.04%. En la Unidad experimental 3 se inicia con TPH de 10439.3 mg/Kg. y en un lapso de 45 días se obtiene disminución de 7992.4 mg/Kg. de TPH, que equivale a un porcentaje de eficiencia de el 76.56%.

- La descontaminación ocurre porque se controlan permanentemente los parámetros críticos de la biorremediación esto es: pH este parámetro se mantiene en un rango de 7, según el requerimiento teórico de 6 a 8, quiere decir que se encuentra dentro de los límites. La humedad del suelo se encuentra con un promedio de 65% de su capacidad de carga, estando dentro de los límites teóricos de 40 a 80%. La temperatura del suelo en descontaminación posee una temperatura promedio de 26 °C. lo que nos indica que esta en funcionamiento el bioproceso ya que la temperatura teórica va de 0 a 45 °C.
- Los puntos críticos de este proceso constituyen:, la aireación porque el metabolismo de los microorganismos que metabolizan las fracciones de hidrocarburo es aerobio. Otro punto crítico es el tamizado de la tierra contaminada ya que no solo existe suelo, sino diversos elementos contaminados los mismos que disminuyen la eficiencia del proceso y el tamizado ayuda facilitando la aireación.
- Factores determinantes para la efectividad del bioproceso son: un buen diseño de las unidades experimentales y el control continuo de los parámetros críticos del bioproceso, los mismos que deben se registrados y evaluados diariamente. Por responsables del departamento de HSE de la empresa Saxon Energy Services del Ecuador.
- El costo beneficio del presente bioproceso es positivo, se realiza una inversión en la primera etapa, luego disminuyen los costos de cada descontaminación, la empresa ya posee la infraestructura y la metodología respectiva, el costo solo se limita a los análisis de control del bioproceso.

- La utilización de equipo de protección personal (EPP), es indispensable en cualquier etapa del bioproceso, ya que con la utilización de este equipo se mitigará una gran cantidad de accidentes y/o enfermedades laborales.

5.2.- RECOMENDACIONES

- Escoger un buen laboratorio de análisis de los parámetros críticos es fundamental, para la obtención de resultados veraces. Dentro del cual debe utilizar métodos de análisis avalados o estar acreditado por el OAE.
- Seguir los lineamientos implementados para la utilización del bioproceso, ya que se ha comprobado de su eficiencia.
- Difundir la información necesaria sobre la implementación de este sistema a toda la empresa, para que no exista complicaciones de logística.

6.- BIBLIOGRAFÍA

- SCRAGG, Alan. Biotecnología medioambiental. Person education limited, Zaragoza, España, 1999.
- ATLAS, R. M. Y BARTHA, R. Ecología microbiana y Microbiología ambiental. Pearson educación, S. A., Madrid, 2002.
- ALEXANDER, Martín. Introducción a la microbiología del suelo. Libros y editoriales, S. A., Mexico 1980.
- ERCOLI, Carlos E. Fundamentos de la ingeniería bioquímica aplicados a biorremediación de suelos. Curso intensivo, Noviembre 2003.
- ERCOLI, Carlos E. Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos. Curso de capacitación, Agosto 2003.
- Reglamento ambiental para las operaciones hidrocarburíferas del Ecuador, Decreto N° 1215, Febrero del 2001.

7.- ANEXOS

ANEXO 1.



PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRAS DEL SUELO BLANCO DE LA EMPRESA SAXON ENERGY SERVICES.

1.-Objetivos:

Objetivo General:

Establecer lineamientos ó normas necesarias para la toma de muestras, correspondientes al área de manejo ambiental de la empresa Saxon Energy Services tanto administrativos como operacionales.

Objetivos Específicos:

- Establecer un método único para la toma de muestras, para llevar acabo la biorremediación de los suelos contaminados utilizando LandFarming.
- Recolectar las muestras de una manera estricta, verificando su cumplimiento en las hojas de control.
- Determinar los mecanismos de control para un efectivo resultado del proceso ha establecer.

2.- Alcance:

- Gerencia de Operaciones e Ingeniería
- Superintendencia de Campo
- Jefes de Campo
- Departamento Médico SAXON ENERGY SERVICES DEL ECUADOR S.A.
- Gerencia de HSE – Quito y campo

Responsabilidades:

La responsabilidad es de todos los departamentos y áreas de Saxon Energy Services del Ecuador S.A., puesto que al llevarse a cabo este proceso, el muestreo es fundamental en la eficiencia del mismo. Ya que este proceso beneficiará a toda la empresa disminuyendo costos de remediación y mejorando la imagen exterior, frente a los organismos de control del estado.

Justificación:

La necesidad de establecer normas dentro de la toma de muestras para la biorremediación de los suelos contaminados y sus implicaciones para que el manejo y eficiencia del proceso sea el mejor y que las mismas sean controladas, preservadas de manera que garantice la viabilidad una vida útil más prolongada del proceso.

3.- Definiciones:

Hidrocarburo: Compuestos orgánicos formados por carbono e hidrógeno. Los átomos de C pueden formar largas cadenas. Así, por ejemplo, el hidrocarburo más sencillo es el CH₄ (metano). La gasolina C₈H₁₈ está formada principalmente por diferentes isómeros del octano

Suelo: Medios porosos formados en la superficie terrestre mediante el proceso de meteorización durante largos períodos, aportados por los fenómenos biológicos, geológicos e hidrológicos. Los suelos se consideran como sistemas Biogeoquímicos multicomponentes y abiertos, están sometidos a los flujos de masa y energía con la atmósfera, la biosfera y la hidrosfera, su composición es altamente variable y también cambia con el tiempo. Además el suelo es un sistema dinámico de 3 componentes: partículas minerales, detritos y organismos que se alimentan de éstos.

Suelo contaminado: Todo aquel cuyas características físicas, químicas y biológicas naturales, han sido alteradas debido a actividades antropogénicas y representa un riesgo para la salud humana o el medio ambiente.

Biorremediación: Es la utilización de seres vivos para solucionar un problema ambiental, tales como suelo o agua contaminados. En un ambiente no contaminado, las bacterias, los hongos, los protistas, y otros microorganismos heterotróficos degradan constantemente la materia orgánica disponible, para obtener energía. Cuando un agente contaminante orgánico, combustible, petróleo u otro es accidentalmente liberado en un ambiente dado, algunos de los microorganismos endémicos morirán, mientras que sobrevivirían algunos otros capaces de degradar estos compuestos orgánicos.

LandFarming: Es una técnica de saneamiento de suelos donde el suelo contaminado se trata con microorganismos dotándolo una aireación con el objeto de crear unas condiciones óptimas para un correcto desarrollo bacteriano, acelerando de este modo el proceso de degradación. Este método está especialmente indicado para la descontaminación de suelos contaminados con aceites, grasas o hidrocarburos

Muestra: Es la actividad por la cual se toman pequeñas porciones (muestras) de una población de elementos de los cuales vamos a tomar ciertos criterios de decisión, el muestreo es importante porque a través de él podemos hacer análisis de situaciones de un todo.

Proceso: Etimológicamente, proceder significa “continuar realizando cierta acción que requiere un orden”; procedimiento, “sucesión. Serie de cosas que siguen una a otra” y proceso “marcha hacia delante (progreso). Desarrollo o marcha de alguna cosa”. Así pues, al hablar de análisis del proceso, nos estamos refiriendo a las diferentes etapas que componen de una manera ordenada -escalonada- la realización de alguna cosa.

Protección Ambiental: A través de la implementación de Programas y Planes se desarrollan medidas de control, mitigación y cuidado del Medio ambiente el mismo que es el conjunto de elementos abióticos (energía solar, suelo, agua y aire) y bióticos (organismos vivos) que integran la delgada capa de la Tierra llamada biosfera, sustento y hogar de los seres vivos.

4.- Procedimiento:

La toma de muestras de suelo blanco (suelo sin contaminación) se lo debe realizar de una manera aleatoria y como muestra compuesta ya que de esa manera se obtendrá un resultado veras para los diferentes usos de resultados que se deberán utilizar. Como todo trabajo en campo se lo tendrá que ejecutar con la seguridad que esto requiere.

Los planes de seguridad deben incluir requerimientos de:

- Casco.
- Botas de seguridad.
- Lentes de seguridad.
- Guantes.

Los protocolos de muestreo son descripciones escritas de procedimientos específicos a seguirse en la colección, etiquetado, preservación (si es necesario), transporte, almacenamiento (si es necesario) y documentación de muestras. Cuanto más específico sea un protocolo de muestreo, menor será la posibilidad de error o de interpretaciones erróneas.

El protocolo de campo debería brindar información sobre lo siguiente:

- Localización de toma de muestras.
- Recipientes – tipo, número y tamaño;
- Etiquetas.
- Equipo de campo (papel medidor de pH, hoja de registro, etc.).
- Tipos de dispositivos de muestreo.
- Volumen de la muestra.
- Procedimientos de la cadena de custodia.
- Recipientes para el almacenaje.
- Planes de transporte hasta el laboratorio analítico.

Localización de toma de muestras:

La toma de muestras se las realizara en el lugar donde se definió para el bioproceso de descontaminación de suelos contaminados por hidrocarburos, que se localiza en el Campamento Base de la empresa Saxon Energy Services.

Recipientes:

Se utilizara recipientes botellas plásticos o fundas plásticas con una capacidad de un (1Kg), este tipo de recipientes se lo ha escogido por su comodidad y fácil transportación. Ya que en las normas y leyes de transportación de suelos contaminados y recolección de los mismos se debe utilizar recipientes de vidrio, los cuales no son los indicados en este caso.

Para la primera toma de muestras que se realizara para determinar hidrocarburos alifáticos y aromáticos se debe recolectar cuatro (4) muestras, para lo cual se necesitan cuatro (4) recipientes.

Para la etapa de seguimiento, se necesita un solo recipiente de las mismas características de las demás muestras.

Etiquetas:

En las etiquetas debe estar estipulado lo siguiente:

Tipo de muestra:	Suelo contaminado con hidrocarburos
Cantidad de la muestra	1Kg
Fecha y hora de la recolección	
Quien la recolecto	

Esto es muy importante para tener un registro del monitoreo que se va a realizar durante el proceso de descontaminación de los suelos.

Equipo de campo:

Este equipo consta de los siguientes elementos:

- Hoja de control para los parámetros críticos in-situ, los cuales constan de lo siguientes:
 - Medición de pH, con los papeles de medición.
 - Medición de la temperatura ambiente como también del proceso (temperatura del suelo).
 - Mediante la observación calificar la cantidad de humedad que tiene el suelo contaminado, en proceso de descontaminación.

- Señalar o indicar cuantas veces ha sido aireado o removido el suelo contaminado.

Dispositivo de muestreo:

Se lo va a realizar el muestreo del suelo contaminado utilizando las siguientes herramientas:

- Saca muestras perpendicular, ya que se necesita sacar una muestra estratificada.
- Recipiente plástico o fundas plásticas para la transportación de los contaminantes.

Volumen de la muestra:

En el primer caso de la toma de muestras se necesita 4 muestras de 250gr cada una, ya que así se requiere para hacer los análisis respectivos en el laboratorio.

En la etapa de seguimiento, 500 a 750gr para la realización de los controles respectivos.

Procedimientos de la cadena de custodia:

- La muestra recolectada se la llevará por parte de la empresa en primera instancia al laboratorio designado por la empresa.
- Otra muestra será llevada o enviada a Quito, para realizar los análisis respectivos en el laboratorio.
- Hoja de control de la cadena de custodia.

Planes de transporte de la muestra al laboratorio:

- Cadena de custodia.
- Se las transportara de la manera mas adecuada, utilizando todos los atenuantes de un derrame (disminución de la muestra) de las muestras utilizando una:
- Colocación de las muestras en recipientes o fundas plásticas, completamente selladas.
- Buena disposición de las muestras; que no corran el riesgo de ser aplastadas, cambiadas o ocurra alguna perdida.
- Que las muestras se encuentren identificadas.

ANEXO 2.



PROCEDIMIENTO PARA LA TOMA DE MUESTRAS DE LOS SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS DE LA EMPRESA SAXON ENERGY SERVICES.

2. Objetivos:

Objetivo General:

Establecer lineamientos ó normas necesarias para la toma de muestras, correspondientes al área de manejo ambiental de la empresa Saxon Energy Services tanto administrativos como operacionales.

Objetivos Específicos:

- Establecer un método único para la toma de muestras, para llevar acabo la biorremediación de los suelos contaminados utilizando LandFarming.
- Recolectar las muestras de una manera estricta, verificando su cumplimiento en las hojas de control.
- Determinar los mecanismos de control para un efectivo resultado del proceso ha establecer.

3. Alcance:

- Gerencia de Operaciones e Ingeniería
- Superintendencia de Campo
- Jefes de Campo
- Departamento Médico SAXON ENERGY SERVICES DEL ECUADOR S.A.
- Gerencia de HSE – Quito y campo

Responsabilidades:

La responsabilidad es de todos los departamentos y áreas de Saxon Energy Services del Ecuador S.A., puesto que al llevarse a cabo este proceso, el muestreo es fundamental en la eficiencia del mismo. Ya que este proceso beneficiará a toda la empresa disminuyendo costos de remediación y mejorando la imagen exterior, frente a los organismos de control del estado.

Justificación:

La necesidad de establecer normas dentro de la toma de muestras para la biorremediación de los suelos contaminados y sus implicaciones para que el manejo y eficiencia del proceso sea el mejor y que las mismas sean controladas, preservadas de manera que garantice la viabilidad una vida útil más prolongada del proceso.

4. Definiciones:

Hidrocarburo: Compuestos orgánicos formados por carbono e hidrógeno. Los átomos de C pueden formar largas cadenas. Así, por ejemplo, el hidrocarburo más sencillo es el CH₄ (metano). La gasolina C₈H₁₈ está formada principalmente por diferentes isómeros del octano

Suelo: Medios porosos formados en la superficie terrestre mediante el proceso de meteorización durante largos períodos, aportados por los fenómenos biológicos, geológicos e hidrológicos. Los suelos se consideran como sistemas Biogeoquímicos multicomponentes y abiertos, están sometidos a los flujos de masa y energía con la atmósfera, la biosfera y la hidrosfera, su composición es altamente variable y también cambia con el tiempo. Además el suelo es un sistema dinámico de 3 componentes: partículas minerales, detritos y organismos que se alimentan de éstos.

Suelo contaminado: Todo aquel cuyas características físicas, químicas y biológicas naturales, han sido alteradas debido a actividades antropogénicas y representa un riesgo para la salud humana o el medio ambiente.

Biorremediación: Es la utilización de seres vivos para solucionar un problema ambiental, tales como suelo o agua contaminados. En un ambiente no contaminado, las bacterias, los hongos, los protistas, y otros microorganismos heterotróficos degradan constantemente la materia orgánica disponible, para obtener energía. Cuando un agente contaminante orgánico, combustible, petróleo u otro es accidentalmente liberado en un ambiente dado, algunos de los microorganismos endémicos morirán, mientras que sobrevivirían algunos otros capaces de degradar estos compuestos orgánicos.

LandFarming: Es una técnica de saneamiento de suelos donde el suelo contaminado se trata con microorganismos dotándolo una aireación con el objeto de crear unas condiciones óptimas para un correcto desarrollo bacteriano, acelerando de este modo el proceso de degradación. Este método está especialmente indicado para la descontaminación de suelos contaminados con aceites, grasas o hidrocarburos

Muestra: Es la actividad por la cual se toman pequeñas porciones (muestras) de una población de elementos de los cuales vamos a tomar ciertos criterios de decisión, el muestreo es importante porque a través de él podemos hacer análisis de situaciones de un todo.

Proceso: Etimológicamente, proceder significa “continuar realizando cierta acción que requiere un orden”; procedimiento, “sucesión. Serie de cosas que siguen una a otra” y proceso “marcha hacia delante (progreso). Desarrollo o marcha de alguna cosa”. Así pues, al hablar de análisis del proceso, nos estamos refiriendo a las diferentes etapas que componen de una manera ordenada -escalonada- la realización de alguna cosa.

Protección Ambiental: A través de la implementación de Programas y Planes se desarrollan medidas de control, mitigación y cuidado del Medio ambiente el mismo que es el conjunto de elementos abióticos (energía solar, suelo, agua y aire) y bióticos (organismos vivos) que integran la delgada capa de la Tierra llamada biosfera, sustento y hogar de los seres vivos.

5. Procedimiento:

De acuerdo con su naturaleza y definición, los sitios contaminados contienen concentraciones de químicos que pueden ser dañinas a las personas, incluyendo aquellas que colectan las muestras en dichos sitios. Consecuentemente, en el desarrollo de cualquier plan de muestreo se deberá tomar siempre en cuenta la salud y la seguridad.

Un debido planeamiento y una apropiada ejecución de los protocolos de seguridad ayudan a proteger a los empleados de accidentes y de una innecesaria exposición a químicos peligrosos.

Los planes de seguridad deben incluir requerimientos de:

- Casco.
- Botas de seguridad.
- Lentes de seguridad.
- Guantes.
- E indumentaria contra material peligroso, de ser el caso.

Los protocolos de muestreo son descripciones escritas de procedimientos específicos a seguirse en la colección, etiquetado, preservación (si es necesario), transporte, almacenamiento (si es necesario) y documentación de muestras. Cuanto más específico sea un protocolo de muestreo, menor será la posibilidad de error o de interpretaciones erróneas.

El protocolo de campo debería brindar información sobre lo siguiente:

- Localización de toma de muestras.
- Recipientes – tipo, número y tamaño;
- Etiquetas.
- Equipo de campo (papel medidor de pH, hoja de registro, etc.).
- Tipos de dispositivos de muestreo.
- Volumen de la muestra.
- Procedimientos de la cadena de custodia.
- Recipientes para el almacenaje.
- Planes de transporte hasta el laboratorio analítico.

Localización de toma de muestras:

La toma de muestras se las realizara en el lugar donde se definió para su disposición final del suelo contaminado con hidrocarburos, que se localiza en el Campamento Base de la empresa Saxon Energy Services del Ecuador. En la etapa de seguimiento las muestras se las tomara del lugar en que la empresa lo ha designado para su descontaminación.

Recipientes:

Se utilizara recipientes botellas plásticos o fundas plásticas con una capacidad de un (1Kg), este tipo de recipientes se lo ha escogido por su comodidad y fácil transportación. Ya que en las normas y leyes de transportación de suelos contaminados y recolección de los mismos se debe utilizar recipientes de vidrio, los cuales no son los indicados en este caso.

Para la primera toma de muestras que se realizara para determinar hidrocarburos alifáticos y aromáticos se debe recolectar tres (3) muestras, para lo cual se necesitan tres (3) recipientes.

Para la etapa de seguimiento, se necesita un solo recipiente de las mismas características de las demás muestras.

Etiquetas:

En las etiquetas debe estar estipulado lo siguiente:

Tipo de muestra:	Suelo contaminado con hidrocarburos
Cantidad de la muestra	1Kg
Fecha y hora de la recolección	
Quien la recolecto	

Esto es muy importante para tener un registro del monitoreo que se va ha realizar durante el proceso de descontaminación de los suelos.

Equipo de campo:

Este equipo consta de los siguientes elementos:

- Hoja de control para los parámetros críticos in-situ, los cuales constan de lo siguientes:
 - Medición de pH, con los papeles de medición.
 - Medición de la temperatura ambiente como también del proceso (temperatura del suelo).
 - Mediante la observación calificar la cantidad de humedad que tiene el suelo contaminado, en proceso de descontaminación.
 - Señalar o indicar cuantas veces ha sido aireado o removido el suelo contaminado.

Dispositivo de muestreo:

Se lo va a realizar el muestreo del suelo contaminado utilizando las siguientes herramientas:

- Sacar muestras perpendicular, ya que se necesita sacar una muestra estratificada.
- Recipiente plástico o fundas plásticas para la transportación de los contaminantes.

Volumen de la muestra:

En el primer caso de la toma de muestras se necesita 3 muestras de 250gr cada una, ya que así se requiere para hacer los análisis respectivos en el laboratorio.

En la etapa de seguimiento, 500 a 750gr para la realización de los controles respectivos.

Procedimientos de la cadena de custodia:

- La muestra recolectada se la llevará por parte de la empresa en primera instancia al laboratorio designado por la empresa.
- Otra muestra será llevada o enviada a Quito, para realizar los análisis respectivos en el laboratorio.
- Hoja de control de la cadena de custodia.

Planes de transporte de la muestra al laboratorio:

- Cadena de custodia.
- Se las transportara de la manera mas adecuada, utilizando todos los atenuantes de un derrame (disminución de la muestra) de las muestras utilizando una:

- Colocación de las muestras en recipientes o fundas plásticas, completamente selladas.
- Buena disposición de las muestras; que no corran el riesgo de ser aplastadas, cambiadas o ocurra alguna pérdida.
- Que las muestras se encuentren identificadas.

CADENA DE CUSTODIA PARA EL MANEJO DE SUELO CONTAMINADO Y BLANCO DEL BIOPROCESO.



ANEXO 4



MANUAL DE SEGURIDAD INDUSTRIAL EN OPERACIONES DE LANDFARMING.

1. Generalidades.

El proceso de LANDFARMING es una tecnología de remediación biológica de los suelos contaminados, lodos, o material con características de suelo mediante la cual los microorganismos generan materiales inocuos para el ambiente, o subproductos estabilizados que no representan peligro.

Durante la operación de LANDFARMING los materiales contaminados son esparcidos en una superficie de suelo, o son extraídos del lugar y apilados sobre una superficie impermeable para evitar contaminación de las capas de suelo o aguas que se encuentran por debajo. Las poblaciones de microorganismos naturales del suelo (bacterias, hongos, protozoarios) crecen en el material usando el contaminante como fuente de alimento, transformándolo en productos inocuos. La marcha del proceso se estimula, monitorea y controla mediante los siguientes parámetros:

- Mezclado (rastreo).
- Sistema de colección de lixiviados (arena o grava).
- Cubierta impermeable del suelo (arcilla o geomembrana).
- Contenido de humedad (irrigación de agua).
- Nivel de oxigenación (rastreo o ventilación forzada).
- Nutriente (se añaden Macro Elementos según la necesidad).
- pH (se controla con enmiendas agrícolas).
- Capacidad de carga de aire del suelo (agentes voluminizantes de ser necesarios)
- Temperatura (se monitorea y pudiera controlarse con agua asperjada generalmente).

Equipos y requerimientos del terreno.

El Landfarming utiliza equipos agrícolas comerciales tales como tractores, arados, mangueras de riego, y aspersores rotativos. La tecnología requiere de extensas áreas abiertas donde dispersar el material para crear las unidades de tratamiento, y estas áreas deben ser preparadas para que tengan un drenaje adecuado, acceso de los equipos y para el manejo de los materiales.

En nuestro caso se va a realizar unidades de tratamiento experimentales para lo cual el equipo de campo se reduce a:

- Malla de tamizado.
- Palas redondas.
- Riego de agua (manguera, etc.).

Aplicaciones.

El Landfarming ha sido exitoso en el tratamiento de los hidrocarburos de petróleo tales (TPH) como combustible diesel, aceites combustibles, lodos en base a aceite, preservantes de madera, hidrocarburos poli cíclicos aromáticos (HAPs y creosote), desechos de coque, y algunos pesticidas. La eficacia del tratamiento es menor a medida que se incrementa el peso molecular de los contaminantes a ser degradados. También los compuestos clorados, o nitrogenados son por lo general difíciles para degradar.

Corrientes de desechos resultantes.

El procedimiento de LANDFARMING puede generar tres corrientes de desechos que ameritan un manejo adecuado:

- Aguas de desecho ó lixiviados (puede requerir tratamientos adicionales).
- Suelos u otros materiales tratados (agentes recalcitrantes).
- Emisiones volátiles del suelo removido (gases de la degradación o formación de nuevos gases).

Riesgos Ocupacionales:

Los principales riesgos ocupacionales asociados al tratamiento por LANDFARMING sus controles y sus puntos de control son evaluados de la siguiente manera:

- Las Inspecciones Formales o Planeadas que se dividen en dos categorías que son:
 - Inspecciones Generales.
 - Inspecciones Críticas.
- Las Inspecciones informales o no planeadas.

Riesgos evaluados en ambas inspecciones:

2. Riesgos Físicos.

(1) Riesgos de Equipos.

Descripción: Durante la construcción de las parcelas de LANDFARMING, los trabajadores pueden ser expuesto a una condición insegura que traería como consecuencia ser heridos por los equipos pesados de movimiento de materiales.

Control:

Las medidas tomadas para minimizar los riesgos ocupacionales en equipos pesados en condiciones inseguras son:

- Uso de alarma de retroceso para unidades móviles.
- Aproximar siempre las unidades móviles por el frente y dentro del campo visual del operador, preferiblemente estableciendo contacto visual.
- Utilización de equipo de protección personal, como son guantes, casco etc.
- Las herramientas y equipos de trabajo deben ser utilizados con la mayor cautela del caso.

Puntos De Control: Construcción, Operaciones, Mantenimiento.

(2) Bordes afilados en las cubiertas.

Descripción: Las cubiertas sintéticas están elaboradas en diferentes espesores y rigidez. En algunas cubiertas los bordes resultan afilados y rígidos después del corte, por lo que pueden provocar cortes, abrasión a la piel y a los ojos.

Control:

Los controles para las cubiertas filosas incluyen

- Uso de vestimenta con mangas largas, pantalones largos, guantes de trabajo adecuados para mejor agarre y protección
- Uso de lentes de seguridad para prevenir lesiones oculares

Punto De Control: Construcción, Mantenimiento

(3). Lesiones Musculares

Descripción: El movimiento manual de grandes pesos puede exponer a los trabajadores a tensiones en la espalda y en el hombro.

Control:

El control para la tensión muscular incluye equipos de elevación mecánicos, tal como grúas y montacargas para levantar y mover los materiales y equipos pesados.

Punto De Control: Construcción, Operaciones, Mantenimiento

(4). Riesgo de Quemadura

Descripción: Los riesgos de quemadura de la piel con fuego, pueden existir con diversos tipos de equipo de trabajo incluyendo maquinarias pesadas, soldadores y generadores de extrusión del material de cobertura, etc.

Control:

Los controles para el riesgo de quemadura incluyen:

- Asegurarse de que los operadores de equipos de trabajo en caliente conozcan los riesgos de los equipos y posible eventualidad.
- Proteger todas las superficies calientes expuestas para prevenir el contacto accidental.
- Elaborar normas que conlleven a actos seguros para la operación, reparación y mantenimiento de los equipos

Puntos De Control: Construcción, Mantenimiento

(5) Riesgo de Corte o Punción.

Descripción: Los trabajadores pueden estar expuestos a punciones y cortes de pies y manos, por la presencia de materiales u objetos contundentes de desecho en la parcela, durante la operación de Landfarming.

Control:

Los controles para el riesgo de punción y corte incluyen

- Uso de botas de seguridad con puntera de acero para prevenir cortes
- Usar guantes resistentes a cortes si se requiere contacto manual con material de desperdicio

Punto De Control: Construcción, Operaciones, Mantenimiento

(6) Riesgo de tropiezo.

Descripción: El riesgo de tropiezo esta presente con las mangueras y tuberías colocadas para la irrigación de la parcela de LANDFARMING.

Control:

Los controles del riesgo de tropiezo incluyen

- Tener cuidado cuando se camina sobre mangueras y tuberías
- Uso de iluminación extra cuando se camina por el área de mangueras y tuberías

Punto De Control: Diseño, Mantenimiento

(7) Riesgo de respiración de cuarzo.

Descripción: Dependiendo del tipo de suelo, la exposición respiratoria al cuarzo puede constituir un peligro. Se requiere la consulta de un geólogo para confirmar la presencia de peligro por cuarzo respirable (ejemplos. para determinar si el tipo de suelo es rico en contenido de cuarzo respirable).

Control:

Los controles para cuarzo respirable incluyen

- Humedecer el suelo con agua para minimizar la exposición de los trabajadores
- Usar protección respiratoria, como respiradores-purificadores de aire o mascarillas (con cartucho HEPA R100, N100, P100).

Puntos De Control: Construcción, Operaciones.

(8) Actividades de pre-diseño.

Descripción: Las actividades de campo de pre-diseño de un tratamiento pueden incluir una prospección del lugar en los aspectos biológicos, geofísicos, presencia de gas en el suelo, excavación de perfiles de suelo, perforaciones, acumulaciones de material contaminado, muestreo de agua subterránea contaminada y otras actividades pertinentes. Cada una de estas actividades de campo puede exponer al personal a peligros físicos, químicos o biológicos, dependiendo del tipo de desecho acumulado en cada lugar.

Control:

Los controles para los riesgos generados durante las actividades de pre-diseño incluyen:

- Preparar un análisis de riesgo específico de cada actividad de pre-diseño
- Entrenar a los trabajadores en los riesgos identificados

Punto De Control: Diseño

3. Riesgos químicos

(1) Contaminantes.

Descripción: Los trabajadores pueden verse expuestos a contaminantes y productos químicos tóxicos. El uso de urea o de otros fertilizantes a base de amonio puede resultar en la exposición de los trabajadores al amonio. Los productos intermedios de la degradación de los contaminantes pueden ser también tóxicos y representar un peligro de exposición. La exposición puede ocurrir vía inhalación, ingestión o absorción dérmica, durante la realización de las operaciones de carga, descarga, pre-procesamiento, arado, rastreo y otros procesos propios del LANDFARMING en el que los suelos son removidos.

Control:

Los controles para los contaminantes químicos incluyen:

- Uso de guantes durante la manipulación de compuestos nitrogenados de amonio
- Analizar las labores y los potenciales de exposición química en cada una de ellas, para determinar los equipos de protección corporal mas adecuados (tipo de mascara, ropa, guantes, lentes, etc....). El análisis debe incluir información específica de cada riesgo químico presente en el sitio con el fin de aplicar el uso de EPP adecuadas

Punto De Control: Diseño, Operaciones

(2) Riesgo de productos Reactivos, Ácidos o Cáusticos.

Descripción: Los trabajadores pueden exponerse a riesgos de quemaduras durante la manipulación de productos químicos ácidos o cáusticos usados para el control del pH. Algunos materiales usados en el Landfarming pueden presentar riesgo de explosión al ponerse en contacto con materiales incompatibles (ejemplo.el nitrato de amonio y los combustibles). Otros pueden ser higroscópicos, lo que puede provocar reacciones químicas.

Control:

Los controles para productos químicos ácidos o cáusticos incluyen

- Minimizar el contacto con productos químicos ácidos o corrosivos mediante su manipulación y distribución por medios mecánicos

- Usar guantes (ejes. nitrilo) y otros medios de protección personal resistentes a los productos químicos que se estén manipulando, incluyendo protección en cara y ojos.
- Separar los productos químicos utilizados para el Landfarming, clasificándolos según su compatibilidad química, para evitar mezclas y reacciones accidentales, especialmente el nitrato de amonio y los combustibles.

Punto De Control: Diseño, Operaciones

4. Riesgo biológicos.

(1) Microbios Patógenos.

Descripción: La actividad de Landfarming puede exponer a los trabajadores a exposición por contacto vía inhalación, ingestión o dérmica con microbios patógenos si los desechos a ser tratados contienen algún agente patógeno. El riesgo puede incrementarse durante los periodos secos y de vientos cuando los microbios adheridos al polvo pueden ser suspendidos en el aire por la acción de la agitación, el viento, o la ventilación forzada. La exposición puede ocurrir durante la instalación de la parcela o durante la agitación del material de desecho. La inhalación de agentes patógenos puede provocar reacciones alérgicas o enfermedades ocupacionales.

Control:

Los controles para los microbios patógenos incluyen

- Aplicación periódica de agua para limitar la exposición por suspensión de partículas de polvo
- Usar equipos de protección personal como guantes para evitar contaminación dérmica

Punto De Control: Construcción, Operaciones

(2) Animales nocivos.

Descripción: Los trabajadores pueden verse expuestos a una variedad de riesgos biológicos incluyendo serpientes, abejas, avispa, abejorros, ácaros, garrapatas, roedores, etc. durante cualquier fase de la remediación. Los síntomas de exposición

varían desde irritación ligera hasta shock anafiláctico y muerte. Varias enfermedades como el Chagas y la malaria pueden ser transmitidas por insectos chupadores de sangre, y los roedores pueden transmitir varias formas de fiebre hemorrágica, rabia, etc.

Control:

Los controles para animales nocivos incluyen

- Efectuar inspecciones periódicas del lugar para identificar panales de abejas o nidos de avispas, y chequear la presencia de serpientes y roedores.
- Emplear especialistas en el exterminio de plagas de ser necesario.

Usar repelentes de insectos y ácaros para controlar la exposición. Los trabajadores deben chequearse las ropas y la piel diariamente para controlar la presencia de ácaros o garrapatas.

ANEXO 5



PROCEDIMIENTO PARA EL TAMIZADO DE LOS SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS A LAS UNIDADES EXPERIMENTALES DE LA EMPRESA SAXON ENERGY SERVICES.

1.- Objetivos:

Objetivo General:

Establecer lineamientos ó normas necesarias para el tamizado del material contaminado a las unidades experimentales, correspondientes al área de manejo ambiental de la empresa Saxon Energy Services tanto administrativos como operacionales.

Objetivos Específicos:

- Establecer un método único para tamizar los suelos contaminados con hidrocarburos para llevar acabo la biorremediación de los mismos utilizando LandFarming.
- Transportar el suelo contaminado con hidrocarburo, cada ves que esto se lo amerite (termino de cada tanda de remediación), verificando su cumplimiento en las hojas de control.
- Determinar los mecanismos de control para un efectivo resultado del proceso ha establecer.

2.- Alcance:

- Superintendencia de Campo
- Jefes de Campo
- Departamento Médico SAXON ENERGY SERVICES DEL ECUADOR S.A.
- Gerencia de HSE – Quito y campo

Responsabilidades:

La responsabilidad es de todos los departamentos y áreas de Saxon Energy Services del Ecuador S.A, y más aun del departamento de HSE de la misma empresa, puesto que al llevarse acabo este proceso, mejorará la eficiencia del proceso de biorremediación. Ya que esta etapa del proceso beneficiará a la biorremediación implementada, y por consiguiente a la empresa disminuyendo costos de remediación y mejorando la imagen exterior, frente a los organismos de control del estado.

Justificación:

La necesidad de establecer una etapa previa a la biorremediación de suelos contaminados y sus implicaciones para que el manejo y eficiencia del proceso sea el mejor y que las mismas sean controladas, para que garantice la viabilidad del proceso.

3.- Definiciones:

Hidrocarburo: Compuestos orgánicos formados por carbono e hidrógeno. Los átomos de C pueden formar largas cadenas. Así, por ejemplo, el hidrocarburo más sencillo es el CH₄ (metano). La gasolina C₈H₁₈ está formada principalmente por diferentes isómeros del octano

Suelo: Medios porosos formados en la superficie terrestre mediante el proceso de meteorización durante largos períodos, aportados por los fenómenos biológicos, geológicos e hidrológicos. Los suelos se consideran como sistemas

Biogeoquímicos multicomponentes y abiertos, están sometidos a los flujos de masa y energía con la atmósfera, la biosfera y la hidrosfera, su composición es altamente variable y también cambia con el tiempo. Además el suelo es un sistema dinámico de 3 componentes: partículas minerales, detritos y organismos que se alimentan de éstos.

Suelo contaminado: Todo aquel cuyas características físicas, químicas y biológicas naturales, han sido alteradas debido a actividades antropogénicas y representa un riesgo para la salud humana o el medio ambiente.

Tamizado de suelo: Separación de partículas según la medida de porosidad del material o de tamaño de partículas.

Biorremediación: Es la utilización de seres vivos para solucionar un problema ambiental, tales como suelo o agua contaminados. En un ambiente no contaminado, las bacterias, los hongos, los protistas, y otros microorganismos heterotróficos degradan constantemente la materia orgánica disponible, para obtener energía. Cuando un agente contaminante orgánico, combustible, petróleo u otro es accidentalmente liberado en un ambiente dado, algunos de los microorganismos endémicos morirán, mientras que sobrevivirían algunos otros capaces de degradar estos compuestos orgánicos.

LandFarming: Es una técnica de saneamiento de suelos donde el suelo contaminado se trata con microorganismos dotándolo una aireación con el objeto de crear unas condiciones óptimas para un correcto desarrollo bacteriano, acelerando de este modo el proceso de degradación. Este método está especialmente indicado para la descontaminación de suelos contaminados con aceites, grasas o hidrocarburos

Muestra: Es la actividad por la cual se toman pequeñas porciones (muestras) de una población de elementos de los cuales vamos a tomar ciertos criterios de decisión, el muestreo es importante porque a través de él podemos hacer análisis de situaciones de un todo.

Proceso: Etimológicamente, proceder significa “continuar realizando cierta acción que requiere un orden”; procedimiento, “sucesión. Serie de cosas que siguen una a otra” y proceso “marcha hacia delante (progreso). Desarrollo o marcha de alguna cosa”. Así pues, al hablar de análisis del proceso, nos estamos refiriendo a las diferentes etapas que componen de una manera ordenada -escalonada- la realización de alguna cosa.

Protección Ambiental: A través de la implementación de Programas y Planes se desarrollan medidas de control, mitigación y cuidado del Medio ambiente el mismo que es el conjunto de elementos abióticos (energía solar, suelo, agua y aire) y bióticos (organismos vivos) que integran la delgada capa de la Tierra llamada biosfera, sustento y hogar de los seres vivos.

4.- Procedimiento:

De acuerdo con su naturaleza y definición, los sitios contaminados contienen concentraciones de químicos que pueden ser dañinas a las personas, incluyendo aquellas que colectan las muestras en dichos sitios. Consecuentemente, en el desarrollo de cualquier plan de muestreo se deberá tomar siempre en cuenta la salud y la seguridad.

Un debido planeamiento y una apropiada ejecución de los protocolos de seguridad ayudan a proteger a los empleados de accidentes y de una innecesaria exposición a químicos peligrosos.

Los planes de seguridad deben incluir requerimientos de:

- Casco.
- Botas de seguridad.
- Lentes de seguridad.
- Guantes.
- E indumentaria contra material peligroso, de ser el caso.

El protocolo de campo debería brindar información sobre lo siguiente:

- Localización del tamizado.
- Cantidad de suelo ha tamizar.
- Equipo de campo (malla para tamizar,etc.).

Localización del lugar de tamizado:

El tamizado del suelo contaminado se lo realizará junto al proceso de biorremediación de los suelos contaminados, que se localiza en el Campamento Base de Saxon Energy Services.

Cantidad de suelo para tamizar:

La cantidad a ser tamizada es de 2.025m^3 por cada unidad experimental. Se continuará con la misma cantidad requerida para el proceso de tamizado, ya que el proceso fue diseñado para esa cantidad específica.

Equipo de campo:

Este equipo consta de los siguientes elementos:

- Hoja de control para designar el cambio de suelo contaminado en las unidades experimentales.
- Herramientas de trabajo las cuales constan de:
 - Malla para tamizar.
 - Pala.

En el supuesto caso de que el lugar de tamizado sea cambiado ó trasladado a otro lugar el suelo contaminado será transportado con una carretilla.

ANEXO 6

HOJA DE CONTROL DE LOS PARÁMETROS DEL BIOPROCESO IN-SITU.



HOJA DE CONTROL DE PARÁMETROS DE CAMPO PARA EL BIOPROCESO										
DÍAS.	Ph.		Temperatura Ambiente		Temperatura del Suelo		Remoción del Suelo		Dotación de Agua al Suelo	
	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
11										
12										
13										
14										
15										
16										
17										
18										
19										
20										
21										
22										
23										
24										
25										
26										
27										
28										
29										
30										
31										