



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICAS Y AMBIENTALES

**“BIORREMEDIACIÓN DE LODOS DE UNA PLANTA REGENERADORA DE
ACEITES LUBRICANTES USADOS, RECUPERANDO EL SUELO PARA USO
INDUSTRIAL”**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

Previa la obtención del Título de:

INGENIERO QUÍMICO

Presentado por:

JOEL DAVID SERRANO MENA

SUANNY SOPHIA MOSQUERA ROMERO

GUAYAQUIL-ECUADOR

2014

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a Dios, por permitirme trabajar en este tema que es de mi interés profesional, por darme la fuerza de levantarme todos los días a seguir adelante a pesar que no todo siempre estuvo a nuestro favor. Agradezco a mis padres por haberme ayudado a formarme como una persona correcta y alentarme a terminar este proyecto, a mis hermanos en especial a Andrés por ser mi líder en este campo, y agradezco a mis amigos Kevin, Cristhian y Bruno por siempre extenderme una mano cada vez que lo necesitaba.

Suanny Mosquera.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi padre y madre por los valores y actitudes que me inculcaron y me ayudaron a crecer como persona en todos los ámbitos. Agradezco también a Dios por guiarme en mi camino, en tomar buenas decisiones y sobre todo en nunca rendirme referente a mis objetivos.

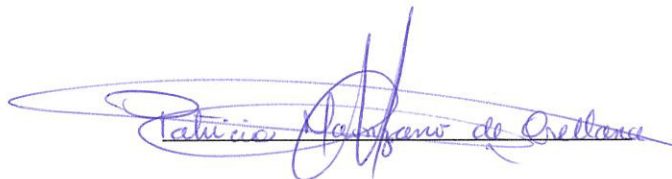
Joel Serrano Mena.

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

Msc. Oswaldo Valle Sánchez
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



Msc. José Cárdenas Murillo
DIRECTOR DE TESIS



PhD. Patricia Manzano Santana
VOCAL PRINCIPAL

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de este Trabajo de Graduación, nos corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL”

(Reglamento de Graduación de la ESPOL)

Joel Serrano

Joel David Serrano Mena

Suanny Mosquera

Suanny Sophia Mosquera Romero

RESUMEN

Los aceites lubricantes usados que son mencionados en la presente tesis, son residuos peligrosos, y ciertas plantas industriales se encargan de regenerarlos, los que a su vez produce lodos con altos contenidos de hidrocarburos (TPH), también considerados residuos peligrosos.

La investigación “Biorremediación de los lodos de una planta regeneradora de aceites lubricantes usados, recuperando el suelo para uso industrial”, tesis realizada en la ciudad de Guayaquil, plantea como objetivo general disminuir el contenido de TPH de los residuos peligrosos (lodos) hasta alcanzar la mínima concentración planteada y su posterior aprovechamiento. Para el efecto, se utiliza la biorremediación que es una técnica ampliamente estudiada y presenta un historial de éxito en la descontaminación de suelos contaminados con hidrocarburos.

El desarrollo de este estudio se realizó en el Laboratorio de Hidrocarburos de la FCNM-ESPOL, CSA-ESPOL, y en otros laboratorios acreditados se efectuaron los respectivos análisis.

Debido a la alta concentración de hidrocarburos presentes en el lodo residual, se realizó un prelavado con Jet Fuel, en donde se obtuvo una eficiencia en la remoción del TPH de 38.47%. Posteriormente se desarrolló el biotratamiento de estos lodos, logrando de esta manera cumplir la legislación ambiental vigente, de disponer el suelo tratado en zona de uso industrial.

Se logró reducir la concentración inicial aproximada de 41 8000 ppm de TPH a niveles inferiores de 4 000 ppm de TPH en 12 semanas de tratamiento. Además, se observó que esta técnica permitió reducir significativamente la concentración de TPH sobre el 95.9% en base al TPH inicial.

Con los resultados de esta investigación y para este caso particular, se obtuvo un modelo cinético con el que se estimó la variación de las concentraciones de TPH en función del tiempo, lo cual permite estimar las concentraciones de TPH en las semanas posteriores a la investigación.

De esta manera, el trabajo de investigación presenta una solución ecológica y factible para el manejo de lodos contaminados con hidrocarburos provenientes de la regeneración de los aceites lubricantes usados.

ÍNDICE GENERAL

	Página
RESUMEN	I
ÍNDICE GENERAL	III
ABREVIATURAS	IX
SIMBOLOGÍA	XI
ÍNDICE DE FIGURAS	XIII
ÍNDICE DE TABLAS	XIV
ÍNDICE DE GRÁFICOS	XV
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1	
ALCANCE DE LA INVESTIGACIÓN	
1.1. Generalidades.....	2
1.2. Definición del Problema	3
1.3. Objetivos	7
1.3.1. Objetivos General.	7
1.3.2. Objetivos Específicos.	8
1.4. Justificación	8
1.5. Metodología General	9

CAPÍTULO 2

GENERALIDADES DE CONTAMINACIÓN Y ACEITES LUBRICANTES USADOS

2.1. Origen de la contaminación	11
2.2. Normativas Ambientales.....	13
2.2.1. TULSMA	13
2.2.1.1. Aire.....	13
2.2.1.2. Agua	13
2.2.1.3. Suelo.....	15
2.2.2. Reglamento Ambiental para operaciones hidrocarburíficas en el Ecuador	16
2.3. Aceites Lubricantes.....	17
2.3.1. Tipos y Composición de aceites lubricantes	17
2.4. Aceite Lubricante Desgastado o Usado	19
2.5. Diferentes métodos de trabajar con los aceites usados.	22
2.5.1. Combustión de aceites lubricantes usados	22
2.5.2. Regeneración de aceites lubricantes usados.....	23
2.5.2.1. Procesos de regeneración de aceites usados.....	24
2.5.2.1.1. Refinación con tierras adsorbentes.....	27
2.5.2.1.2. Diagrama del proceso.....	30
2.5.2.1.3. Lodos producidos	31

2.6. Caracterización de los lodos de una planta regeneradora de aceites usados.....	32
---	----

CAPÍTULO 3

TÉCNICA DE BIORREMEDIACIÓN

3.1. Técnicas Biológicas de remediación de suelos contaminados

(Biorremediación).	35
3.1.1. Bioestimulación	36
3.1.2. Bioaugmentación.....	37
3.1.3. Reacción Biológica.	38
3.1.4. Microorganismos Activos	40
3.1.4.1. Pseudomonas.....	42
3.1.5. Factores que condicionan la Biorremediación	43
3.1.5.1. Medioambientales	44
3.1.5.1.1. pH.....	44
3.1.5.1.2. Humedad	45
3.1.5.1.3. Temperatura	46
3.1.5.1.4. Nutrientes	46
3.1.5.2. Físicos	47
3.1.5.2.1. Biodisponibilidad	47
3.1.5.2.2. Aceptor de electrones	48
3.1.5.2.3. Presencia de Agua.....	49

3.1.5.3. Químicos	50
3.1.5.3.1. Estructura Química.....	50
3.1.6. Técnicas de Biorremediación.....	52
3.1.6.1. Biodegradación ex -situ on site	52
3.1.6.1.1. Biopilas	52
3.1.6.1.2. Landfarming.....	54
3.1.6.1.3. Compostaje.....	55
3.1.6.2. Biodegradación ex -situ off site	56
3.1.6.3. Fitorremediación	57
3.1.7. Ventajas y Desventajas de la Aplicación de la Biorremediación	58
3.1.8. Comparación de técnicas de Remediación de Suelos	59

CAPÍTULO 4

METODOLOGÍA Y DESARROLLO

4.1. Obtención de tierra contaminada con hidrocarburo.....	62
4.2. Análisis inicial de la tierra contaminada.....	63
4.3. Selección de solvente removedor.....	64
4.4. Diseño experimental del sistema	65
4.5. Montaje del Sistema.....	66
4.5.1. Materiales.....	66
4.5.2. Factor.....	66
4.5.3. Tratamientos.....	67

4.5.4. Distribución de tierras contaminadas	68
4.5.5. Microorganismos	69
4.5.6. Nutrientes	70
4.5.7. Variables de respuesta.....	71
4.5.8. Variables de control	72
4.6. Desarrollo de la investigación	72
4.6.1. Cuidado bacteriano	73
4.6.2. Seguimiento de las variables	74
4.6.2.1. Temperatura	76
4.6.2.2. Microorganismos	76
4.6.2.3. pH.....	77
4.6.2.4. Humedad	77
4.6.2.5. Hidrocarburos totales	78
4.7. Velocidad de reacción	79

CAPÍTULO 5

ANÁLISIS DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Parámetros iniciales de lodos de la Regeneradora de Aceites	82
5.2. Lavado de suelos con solventes	83
5.3. Parámetros iniciales de tratamientos.....	88
5.4. Variables de Seguimiento	90
5.4.1. Temperatura	90
5.4.2. pH.....	92

5.4.3. Humedad	95
5.4.4. Conteo bacteriano	96
5.5. Variable de respuesta: TPH	99
5.5.1. Tasa de degradación de TPH	101
5.5.2. Testigo: A1 y A2.....	102
5.5.3. B1 y B2	103
5.5.4. C1 y C2	105
5.5.5. D1 y D2	107
5.6. Constante de velocidad de Reacción.....	109
5.7. Análisis de TPH comparados con laboratorio acreditado.....	111

CAPÍTULO 6

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones	115
6.2. Recomendaciones	117

ANEXOS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREVIATURAS

CG	Cromatografía de Gases
C:N:P	Relación Carbono, Nitrógeno, Fósforo
COV	Compuestos orgánicos volátiles
EPA	Agencia de protección ambiental
ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
FCNM	Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas
FID	Detectores de Ionización de Llama
HAPs	PAH, hidrocarburos poli aromáticos
pH	Potencial de hidrógeno
PCB	Policloruros de bifenilos, pesticidas
PVC	Policloruro de vinilo
RAOHE	Reglamento ambiental de las operaciones hidrocarburíferas Ecuador
S:S	Relación Solvente: Suelo
T	Temperatura
t	Tiempo
TPH	Hidrocarburos totales de petróleo

TSA Trypticase soy agar. Agar de soja tróptica, medio cultivo.

TULSMA Tratado unificado de legislación secundaria del medio ambiente

SIMBOLOGÍA

%	Porcentaje
%H	Porcentaje de humedad
°C	Grados centígrados
°F	Grados Fahrenheit
Ao	Concentración inicial
Af	Concentración final
CO	Monóxido de Carbono
CO ₂	Dióxido de Carbono
C ₁₀	Alcano de 10 átomos de carbono
C ₂₀	Alcano de 20 átomos de carbono
e	Euler
e ⁻	Electrón
H ₂ O	Agua
H ⁺	Átomo de Hidrógeno Ionizado
K	Constante de velocidad de reacción
Kg	Kilogramo
Kgss	Kilogramo de suelo seco

Ln	Logaritmo natural
mg/kgs	Miligramos/ kilogramo suelo seco
mg/ml	Miligramos por mililitro
O ₂	Oxígeno Molecular
OH ⁻	Ion Oxidrilo
Ppm	Partes por millón
TPHo	Concentración de TPH inicial.
TPHf	Concentración de TPH final.

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.1 Metodología general	10
Figura 2.1 Oxidación de Aceites	20
Figura 2.2 Mala disposición de Aceites Lubricantes usados	21
Figura 2.3 Imagen de un aceite lubricante usado y otro regenerado.....	23
Figura 2.4 Tierra diatomea en su estado original.....	28
Figura 2.6 Fenómeno de adsorción de Tierra Füller.....	29
Figura 2.5 Clarificación y neutralización de aceites usados con tierras adsorbentes	30
Figura 2.6 Proceso de refinación de aceites usados usando tierras adsorbente	31
Figura 2.7 Matriz de Generación del desecho contaminante	32
Figura 3.1 Bioestimulación	37
Figura 3.2 Bioaumentación	37
Figura 3.3 Biodegradación de parafinas en condiciones aeróbicas	40
Figura 3.4 Pseudomona.....	42
Figura 3.5 Biopilas.....	53
Figura 3.6 Landfarming	54
Figura 4.1 Tierras contaminadas con hidrocarburos.....	62
Figura 4.2 Tierra antes y después del lavado con el solvente	64
Figura4.3 Esquema de los ocho (8) tratamientos.....	67
Figura 4.4 Mezclado de tierra contaminad con aserrín.....	69
Figura4.5 Esquema de distribución de tierras y nutrientes	71
Figura 4.6 Montado del sistema.....	73
Figura4.7 Movimiento de tierras con pala de jardinería	74
Figura 5.1 Análisis de selección mejor relación suelo: solvente	84
Figura 5.2 Suelo obtenido luego del lavado L4 (izquierda) y L3 (derecha)	87

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla I Límites de descargas de efluentes al Sistema de alcantarillado público	14
Tabla II Criterios de Remediación o restauración de suelos. Niveles máximos.....	15
Tabla III Remediación de suelos según el RAOHE Tabla#6	16
Tabla IV Géneros más comunes de levaduras, hongos y bacterias que tienen la capacidad degradadora de petróleo	41
Tabla V Comparativa de Técnicas de Remediación de Suelos	59
Tabla VI Rangos óptimos para procesos de biorremediación	76
Tabla VII Frecuencia de análisis a variables de control los tratamientos.....	78
Tabla VIII Parámetros iniciales de tierra contaminada	82
Tabla IX TPH removido a tierras contaminadas con diferentes solventes	85
Tabla X TPH removido a tierra contaminada con Jet fuel a diferentes procedimientos..	85
Tabla XI Porcentaje de remoción de la técnica de lavado con Jet fuel.....	88
Tabla XII Parámetros iniciales de los tratamientos realizados en la investigación	89
Tabla XIII Degradación de hidrocarburos (TPH)	101
Tabla XIV Constante de velocidad de reacción de los tratamientos.....	110
Tabla XV Valores de TPH final otorgado por laboratorio acreditado	112

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Página
Gráfica 5.1 Temperaturas de los tratamientos a lo largo de la investigación	91
Gráfica 5.2 pH de los tratamientos a lo largo de la investigación	92
Gráfica 5.3 Humedad de los tratamientos a lo largo de la investigación	95
Gráfica 5.4 Crecimiento microbiano en las celdas de biorremediación	97
Gráfica 5.5 Degradación de hidrocarburos en las celdas de biorremediación	100
Gráfica 5.6 Degradación de Hidrocarburos en las celdas A1 y A2	103
Gráfica 5.7 Degradación de Hidrocarburos en las celdas B1 y B2	104
Gráfica 5.8 Degradación de Hidrocarburos en las celdas C1 y C2	106
Gráfica 5.9 Degradación de Hidrocarburos en las celdas D1 y D2	108

INTRODUCCIÓN

La EPA define la biorremediación como manipulación de sistemas biológicos para efectuar cambios en el ambiente. En un ambiente con suficiente disponibilidad de Oxígeno, Fósforo, Nitrógeno y otros nutrientes, los contaminantes del medio son utilizados como fuente de carbono para el crecimiento y multiplicación microbiana, siendo degradados a compuestos de formas menos tóxicas [1].

Mediante esta tesis se pretende realizar un estudio práctico de la biorremediación para observar su potencial de degradación de compuestos tóxicos, y el tiempo que se empleará, entre otros.

CAPÍTULO 1

Alcance de la Investigación

1.1.Generalidades

En el mundo actual, los hidrocarburos corresponden a un componente principal para cada utilidad y necesidad de las actividades humanas. Es un hecho que los compuestos hidrocarburíferos, son utilizados tanto en energía, transporte, productos cosméticos, plásticos y un sin número de materiales que a diario se utilizan por cada habitante promedio.

Es por esto que el sector petrolero, siempre está en constante desarrollo e innovación; tanto en la explotación de los yacimientos, refinación petróleo y procesamiento en productos finales y hasta en su comercialización. No obstante existe el potencial peligro de fugas, derrames de estos derivados del petróleo y los desechos que se generan durante este ciclo, que sean dirigidos a cuerpos de agua o suelo, causando contaminación en estos recursos naturales, por estos materiales, líquidos o sólidos considerados tóxicos para el medio ambiente. Sin embargo, existen reglamentos que impiden a las diversas empresas involucradas en estos procesos, que excedan los límites permisibles de concentración de componentes tóxicos en el suelo, aire y agua.

1.2. Definición del problema

El aceite lubricante automotriz se va desgastando mediante su uso continuo, ciertas empresas se encargan de regenerar estos aceites, y devolverlos nuevamente al sector industrial para su utilización. Los procesos de regeneración de los aceites lubricantes usados varían en ciertas operaciones, en esta investigación se enfocará en el proceso que logra el objetivo de regeneración de aceites usados mediante la utilización de tierras de diatomeas, lo cual genera al mismo tiempo un subproducto, lodo o tierra con alta concentración de hidrocarburos (TPH).

La planta regeneradora se dedica a la recolección, transporte y tratamiento de los aceites lubricantes usados, regenerándolos para su posterior comercialización. La regeneración de aceites lubricantes usados, consiste en un procedimiento térmico donde ingresan como materia prima los aceites usados, luego para el refinado se filtra con tierra de diatomeas o fúller, la cual remueve usualmente la mayor parte de aditivos e hidrocarburos oxidados, lo que permitirá conseguir el color y viscosidad deseados del aceite regenerado y como residuo del proceso, la producción no deseada de 80 Ton/mes de lodos contaminados con hidrocarburos.

La inadecuada disposición final de lodos contaminados con residuos de aceites lubricantes usados, compuestos por hidrocarburos totales de petróleo (TPH), aromáticos policíclicos (HAP), asfáltenos, metales y otros compuestos contaminantes ocasionan un deterioro en el medioambiente y la salud humana por sus efectos cancerígenos, tóxicos y venenosos [2].

Los lodos de desecho en este proceso, tienen una concentración de **418 209 ppm de TPH**, el cual según el ‘Reglamento Ambiental para las operaciones hidrocarburíferas en el Ecuador, Acuerdo 1205, febrero 13 del 2001’ sobrepasa **los límites para su reposición en el suelo**, agrícola (<2 500 ppm TPH) o **industrial (<4 000ppm TPH)**.

Según la normativa ambiental, el material debe ser regenerado o incinerado como es el caso de una empresa dedicada a esta actividad y localizada en la ciudad Durán [3].

Sabiendo que los lodos no se pueden disponer al suelo, ya que contienen hidrocarburos en concentraciones elevadas, que destruyen el humus vegetal y acaban con la fertilidad del mismo y, el actual procedimiento de disposición final es la incineración, la cual produce también contaminación al aire y su elevado costo de operación, nos abre la oportunidad de evaluar alternativas ecológicamente amigables y que podrían ser más económicas.

La incineración de estos lodos productos de la regeneración de los aceites lubricantes, implica un costo de 300 \$/ton. Por lo que, le representa actualmente a la compañía un gasto de \$24 000 dólares por mes. A su vez tiene un **impacto negativo** al **aire** ya que los gases de combustión contribuyen a su contaminación y disminución de la calidad del aire.

Las desventajas que abarca la utilización de incineración en este proceso son:

- El alto costo que le representa a la compañía.
- Requiere dispositivos especiales en control de gases para cumplir regulaciones sobre emisiones, que en algunos de los casos es inexistente, produciendo gases contaminantes al medio ambiente.
- Se generan gases tóxicos (por ejemplo las dioxinas pueden tener un efecto cancerígeno) que deben ser tratados.
- Necesitan un aporte de energía exterior para su funcionamiento.
- Requiere un procedimiento para la disposición final de las escorias o cenizas, o simplemente transportarlo a los rellenos sanitarios. Lo cual significa que se ha solucionado el problema parcialmente, ya que aún tenemos residuos que eliminar.
- La incineración transforma el material tóxico TPH a gases de combustión y cenizas, o sea que recibe material contaminado que afecta al suelo y entrega otro material que contamina al aire y genera residuos que se dirigirán al suelo [4].

La incineración no se muestra como la solución más óptima para esta problemática, además, su alto costo, que la hacen onerosa, para esta clase de empresas.

La investigación tiene como propósito eliminar al máximo posible, los contaminantes de hidrocarburos presentes en los lodos provenientes de la Planta Regeneradora de aceites usados, mediante la aplicación de microorganismos capaces de descomponer dichos contaminantes y a fin de esto, cumplir con las normativas del Reglamento Ambiental 1205, febrero 13 del 2001, para las operaciones hidrocarburíferas. Al aplicar el biotratamiento se espera que solucione dos problemáticas; disminuir la contaminación y poder disponer del sólido tratado como suelo de uso industrial.

1.3.Objetivos

1.3.1.Objetivo general

Disminuir el contenido de TPH en los lodos, subproducto de la regeneración de aceites lubricantes, aplicando la técnica de biorremediación hasta alcanzar el nivel de 4000 ppm de TPH.

1.3.2.Objetivos específicos

1. Analizar las condiciones iniciales de los lodos y determinar la necesidad o no de un prelavado
2. Aplicar la técnica de biorremediación adecuada en el tratamiento de los lodos contaminados y analizar los impactos ambientales de los subproductos obtenidos
3. Determinar la diferencia en la eficacia de remoción de TPH entre las estrategias de bioestimulación y bioaumentación aplicadas en este estudio.
4. Elaborar un modelo cinético, a partir de datos obtenidos de la degradación de TPH y determinar futuras concentraciones en base al tiempo
5. Estimar el tiempo de remediación requerido para alcanzar los 4000 ppm de TPH con el fin de caracterizarlo como suelo para uso industrial

1.4.Justificación

La contaminación ambiental en el país, se debe a las descargas de los materiales sin ningún tratamiento en los lechos del suelo o en cuerpos de agua.

En este caso particular, hablamos de un desecho sólido y una de las alternativas para poder aprovechar este material es degradando su contenido de hidrocarburos mediante la utilización de las técnicas de biorremediación.

Hoy en día, a nivel mundial se cuenta con diversas técnicas biológicas con el fin de proporcionar alternativas de descontaminación de zonas impactadas en suelo, aire y agua. La biorremediación es un proceso de descontaminación, con la finalidad de neutralizar sustancias tóxicas y transformarlas en sustancias menos tóxicas para el ambiente o salud humana. Es de interés científico, averiguar más sobre estas técnicas biológicas y contribuir con la disminución de la contaminación actualmente existente.

Estos métodos a más de tener resultados positivos constituyen un buen manejo, ya sea este caso de residuos con un alto grado de contaminación e impacto negativo al ambiente sin obtener en la mayoría un subproducto de aspecto negativo a más que tratar o preocuparse. En algunos casos representan a más de ser bajos en costos de implementación, únicos en aplicarse.

1.5. Metodología General

De acuerdo a los objetivos planteados se procederá a trabajar según la metodología descrita en la Figura 1.1.

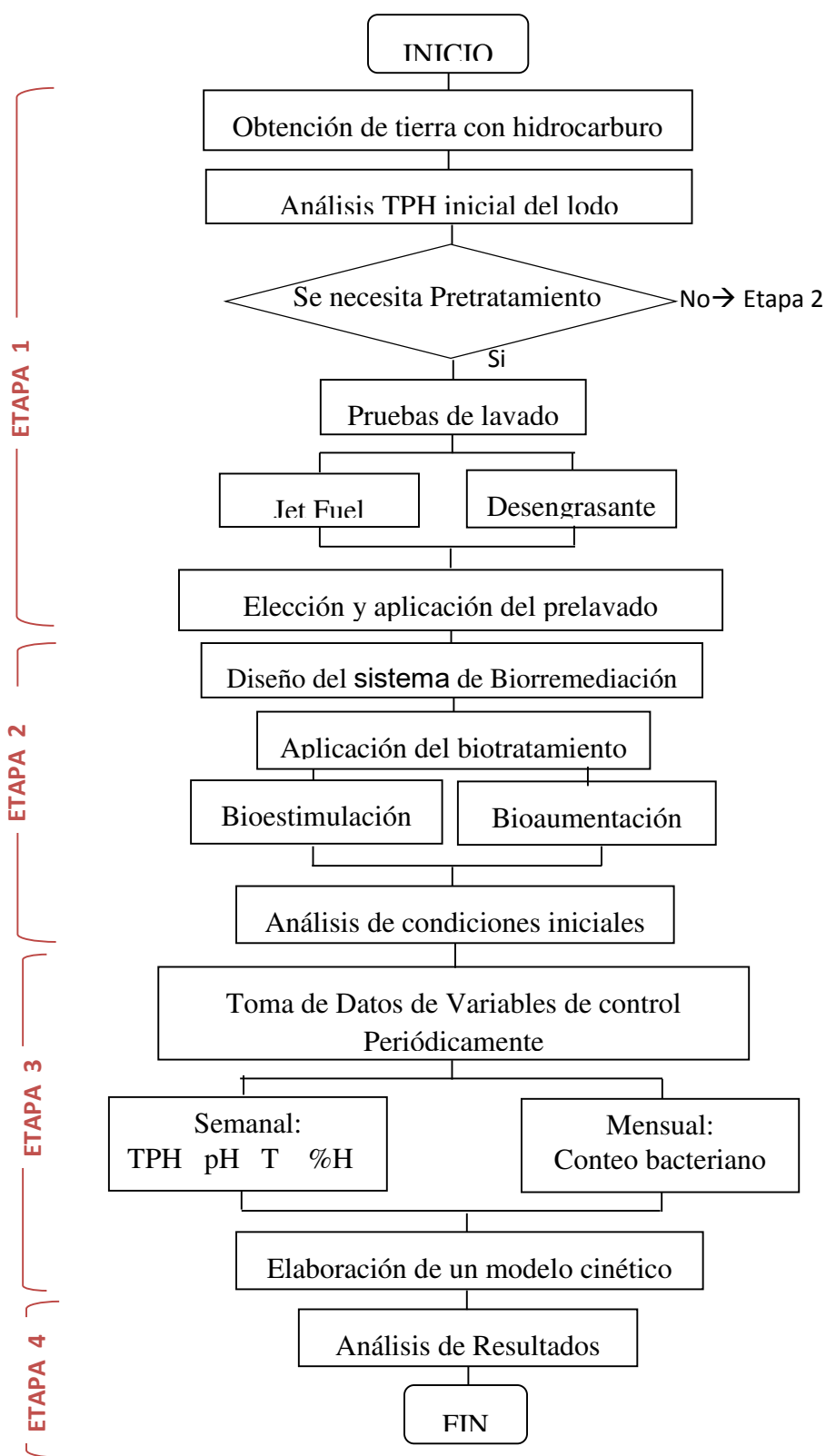


Figura 1.1 Metodología general

CAPÍTULO 2

Generalidades de Contaminación y

Aceites Lubricantes Usados

2.1. Origen de la contaminación

Los procesos industriales, tienen como propósito principal elaborar un producto final al menor coste y entre otras metas alta calidad de éste, con el fin de satisfacer al cliente y liderar en el mercado.

Lamentablemente, todo proceso industrial genera residuos, productos de cola, desechos y entre otros, como se les nombra son subproductos no deseados del proceso. Generalmente estos subproductos según su estado físico, si es un desecho sólido se dirigen al suelo, si es líquido como un efluente se dirige al agua y si es una descarga gaseosa al aire.

La presencia en el ambiente de cualquier agente (físico, químico o biológico) o bien de una combinación de varios de estos en formas, lugares y concentraciones tales, que puedan ser perjudiciales para la salud, la seguridad o para el bienestar de la población, o bien, que puedan afectar la vida animal o vegetal, o impidan el uso normal de las propiedades y lugares de recreación y goce de los mismos, se denomina contaminación [5].

Una de las contaminaciones ambientales en el país, se debe a las descargas, de los materiales sin ningún tratamiento, en los lechos del suelo o en cuerpos de agua. Sin embargo, existen normativas ambientales en el Ecuador, que impiden que altos contenidos de contaminantes sean dispuestos en los recursos antes nombrados.

2.2.Normativas ambientales

2.2.1.TULSMA

La legislación Ambiental Nacional, publicada en R.O. No.2 del 31 marzo del 2013, exige según su libro VI, límites permisibles de descarga a los recursos, agua, suelo y aire.

2.2.1.1.Aire

Se menciona el componente ambiental Aire, debido a que en algunas técnicas de regeneración de suelos, produce emisiones gaseosas que deben estar limitadas a los valores expuestos en el Anexo 3 y Anexo 4 del libro IV del TULSMA.

2.2.1.2.Agua

Se denomina Aguas Residuales, a efluentes de agua de composición variada que provienen de las descargas de usos pecuarios, domésticos, municipales, industriales, comerciales, de servicios agrícolas, incluyendo fraccionamientos y

en general de cualquier otro uso, que hayan sufrido cambios en su calidad original [6].

En la Tabla I, se expone un extracto de la normativa referente a los límites de descargas permitidos al alcantarillado público.

Tabla I Límites de descarga de efluentes al sistema de alcantarillado público
Fuente: TULSMA, 2003. Libro VI Anexo I

Parámetros	Expresado como	Unidad	Límite máximo permisible
Aceites y grasas	Sustancias solubles en hexano	mg/l	100
Aluminio	Al	mg/l	5,0
Demanda Bioquímica de Oxígeno (5 días)	D.B.O ₅ .	mg/l	250
Demanda Química de Oxígeno	D.Q.O.	mg/l	500
Fósforo Total	P	mg/l	15
Hierro total	Fe	mg/l	25,0
Hidrocarburos Totales de Petróleo	TPH	mg/l	20
Potencial de hidrógeno	pH	pH	5-9
Sólidos Sedimentables	SS	ml/l	20
Sólidos Suspendidos Totales	SST	mg/l	220
Sólidos totales	ST	mg/l	1 600

2.2.1.3.Suelo

Los causantes por acción u omisión de contaminación al recurso suelo, a causa de derrames, vertidos, fugas, almacenamiento o abandono de productos o desechos peligrosos, infecciosos o hidrocarbúferos, deberán proceder a la remediación de la zona afectada, considerando para el efecto los criterios de remediación de suelos contaminados que se encuentran en la norma [6].

Tabla II Criterios de Remediación o Restauración suelos. Niveles máximos permitidos **Fuente:** TULSMA, 2003.Libro VI Anexo II

SUSTANCIAS		USO DEL SUELO			
Parámetros	Unidades	Agrícola	Residencia	Comercial	Industrial
Parámetros Generales					
Conductividad	mmhos/cm	2	2	4	4
pH	-	6 a 8	6 a 8	6 a 8	6 a 8
Parámetros Inorgánicos					
Azufre	mg/Kg	500	-	-	-
Cobre	mg/Kg	63	63	91	91
Cromo Total	mg/Kg	65	65	90	90
Cromo VI	mg/Kg	0.4	0.4	1.4	1.4
Estaño	mg/Kg	5	50	300	300
Molibdeno	mg/Kg	5	10	40	40
Níquel	mg/Kg	50	100	100	100
Plomo	mg/Kg	100	100	150	150
Parámetros Orgánicos					
Aceites y grasas Hidrocarburos Aromáticos Monocíclicos	mg/Kg	500	<2 500	<4 000	<4 000
Benceno	mg/Kg	0.05	0.5	5	5
Etilbenceno	mg/Kg	0.1	1.2	20	20
Estireno	mg/Kg	0.1	5	50	50
Tolueno	mg/Kg	0.1	0.8	0.8	0.8

**2.2.2.Reglamento Ambiental para las operaciones hidrocarburíferas en el Ecuador,
Acuerdo 1205: R.O. No. 265**

Los criterios de Remediación o Restauración se establecen de acuerdo al uso que del suelo (agrícola, comercial, residencial e industrial), como se presenta en la Tabla III. Tienen el propósito de establecer los niveles máximos de concentración de contaminantes de un suelo en proceso de remediación o restauración [3].

Tabla III Remediación de suelos según el RAOHE Tabla #6
Fuente: Registro oficial del Ecuador, 2001

Ensayo	Unidad	Uso Agrícola	Uso Industrial	Ecosistemas Sensibles
Hidrocarburos Totales (TPH)	mg/Kg	<2 500	<4 000	<1 000
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos	mg/Kg	<2	<5	<1
Cadmio	mg/Kg	<2	<10	<1
Níquel	mg/Kg	<50	<100	<40
Plomo	mg/Kg	<100	<500	<80

2.3. Aceites Lubricantes

Los aceites lubricantes son una mezcla de hidrocarburos, predominantemente de alto peso molecular y alto punto de ebullición, siendo usados para un normal funcionamiento de motor de combustión interna. Tiene como objetivo desarrollar varias funciones, como son: enfriar zonas calientes del motor, limpiar, proteger, reducir roces y proteger superficies internas de la corrosión [7].

2.3.1. Tipos y Composición del Aceite lubricante

Actualmente se utilizan como aceites lubricantes en los motores térmicos 3 tipos de aceites que se diferencian por su origen:

- **Aceites minerales:** Proceden de la destilación fraccionada del petróleo crudo, y son elaborados a través de múltiples procesos en las refinerías, formando el aceite base. En general, el aceite base más utilizado, son aquellos denominados aceites lubricantes básicos parafínicos y aceites lubricantes básicos nafténicos. El país se abastece de los aceites básicos mediante importación [8].

- Aceites sintéticos: Es una base artificial, se fabrica en laboratorio de subproductos petrolíferos y puede o no provenir del petróleo. Poseen unas excelentes propiedades de estabilidad térmica y resistencia a la oxidación. Estos se pueden clasificar en tipos: oligómeros olefínicos, esteres orgánicos, poliglicoles, fosfato esteres, polialfaolefina [8].
- Aceites semisintéticos: mezcla de los sintéticos y minerales.

A estos aceites base se les adiciona “aditivos”, que son productos químicos específicos, se les agrega porciones muy diversas desde partes por millón hasta un 20% en peso. Cada aditivo tienen una o varias funciones que cumplir, algunos ejemplos son: anti-desgaste, anticorrosivo, detergentes, dispersantes, etc. Su formulación química típicamente contienen constituyentes inorgánicos como azufre, nitrógeno, compuestos halogenados y trazas de metales [9].

2.4. Aceite Lubricante Desgastado o Usado

Se conoce como aceite lubricante desgastado a aquel aceite que debido a su uso dentro de un tiempo límite, pierde sus propiedades iniciales y por ende su funcionalidad. Lo que en realidad sucede dentro de la química del aceite y su gestión de residuos se detallará en este apartado [10].

Cuando se analiza un aceite lubricante usado y se halla sustancias como: Cu, Fe, Cr, Pb, Sn, Al, Mo, Si y Na, por lo general son desgastes de metales encontrados en motores y máquinas. Ciertos elementos que se pueden también encontrar en una muestra, puede ser debido a aceites aditivados más que el desgaste de un sistema.

Se puede hallar cantidad de combustibles (gasolina o diésel) disuelta en el aceite, dando así presencia de hidrocarburos ligeros como el producto de las cadenas rotas de hidrocarburos pesados, incluyendo hidrocarburos poli-aromáticos (PAH) [11]. Por ser aceites de baja volatilidad tienen también pequeñas concentraciones de asfáltenos y debido a su uso ciertos hidrocarburos sufren oxidación en la fase líquida, cuando ya se ha agotado la reserva alcalina. Las reacciones que se producen se pueden observar en la Figura 2.1.

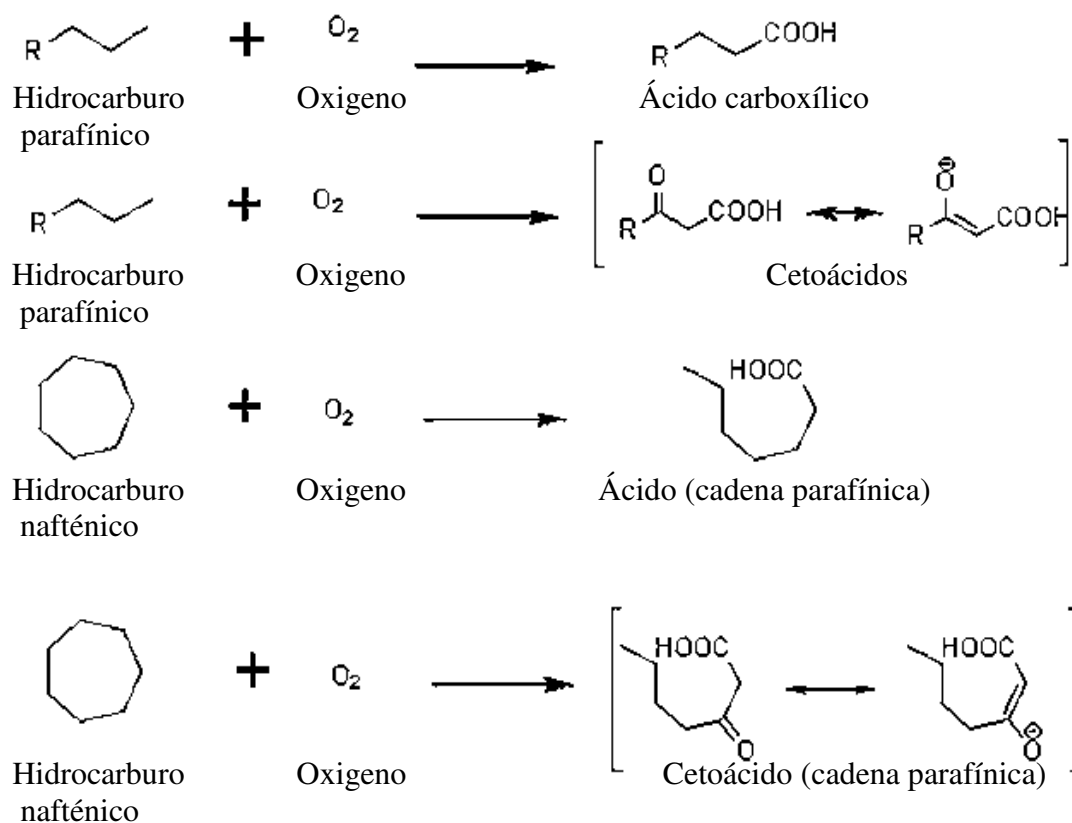


Figura 2.1 Oxidación de aceites

Fuente: Builes, S. (2005)

La gestión de aceites usados genera una cuestión difícil de solucionar, debido a que, tanto los aceites de procedencia industrial como los empleados en automoción, están considerados en la normativa vigente como un residuo especial o residuo peligroso, dado su contenido en metales pesados, y su capacidad de contaminación de las aguas. Como tal, la normativa ambiental exige la adecuada gestión de los mismos [12].



Figura 2.2 Mala Disposición de Aceites Lubricantes Usados
Fuente: Autoridad de desperdicios sólidos, ADS. (2013)

La transportación de Guayaquil produce un gran volumen de aceites lubricantes usados, según información disponible de Fundación Natura y Swisscontact, de acuerdo a la cifra de los vehículos matriculados durante los años de 1995-1997, se estima que en la ciudad consumen 2'668 559 galones/ año [13]. En el país, la disposición final ambientalmente segura de los aceites lubricantes usados es un problema que las empresas industriales y/o comerciales tienen que enfrentar. Actualmente hay empresas gestoras de residuos que recolectan estos aceites lubricantes usados y dicho residuo se los trata de distintas maneras, que se detallaran a continuación [10].

2.5.Diferentes métodos de trabajar con los aceites usados

2.5.1.Combustión de aceites lubricantes usados

La mayoría de los aceites usados contienen compuestos tóxicos los cuales al quemarse son liberados a la atmósfera. Pero debido a estos componentes tóxicos se dirigen a hornos de Clinker en las cementeras, como HOLCIM, estos hornos queman el aceite usado a 2 000°C y los contaminantes de éste especialmente los metales quedan incorporados al cemento, aquellas partículas que no lo hacen son retenidas por precipitaderos electrostáticos [10].

2.5.2.Regeneración de Aceites Lubricantes Usados

La regeneración es uno de los métodos para reutilizar los aceites usados con menor impacto ambiental, este método dispone los aceites usados de forma tal que se puedan volver a usar como lubricantes.



Figura 2.4 Imagen de un aceite lubricante usado y regenerado

Fuente: Sopeña, L. (2012)

La regeneración de aceites usados consiste en recuperar las bases lubricantes separándolas de los aditivos como de sus productos de degradación (fracciones de petróleo más ligeras como nafta y gas-oíl, y más pesadas como asfaltos y coque) y de los contaminantes adquiridos en su uso o recogida, en talleres y estaciones de petróleo, tales como disolventes agua y glicoles [14]. Un proceso de regeneración consta de tres fases:

- Pre-tratamiento: esta fase consiste en eliminar: el agua, los hidrocarburos ligeros, los lodos, las partículas gruesas, etc [15].
- Regeneración: en esta fase se eliminan los aditivos, metales pesados y fangos asfálticos. Este punto es el paso principal de cada método, cada uno

de ellos obteniendo al final un aceite libre de contaminantes con una fuerte coloración que lo hace inviable comercialmente, por esto es necesario incluir una última etapa de acabado [15].

- Acabado: Según el objetivo final del aceite dependerán los métodos usados en esta etapa. Dependiendo del proceso empleado pueden existir o no todas las fases [15].

2.5.2.1. Procesos de Regeneración de Aceites Usados

Entre algunos de los procesos más usados para regeneración de aceites se tiene:

Proceso Meinken: El aceite se pasa a través de una unidad de termocracking, la cual permite reducir los desechos, por el tope obtiene un básico de alta calidad y se obtiene gas oil obtenido como producto secundario [15].

Proceso K.T.I.: El aceite se envía a una torre de destilación al vacío, donde se extraen los livianos remanentes por la cabeza y contaminantes en el fondo. Al final se obtiene productos livianos separados que pueden ser utilizados como

combustibles y en el fondo contiene metales, productos de polimerización y materiales asfálticos, que se pueden usar para el asfalto de vías [15].

Proceso Berk: Se realiza un proceso de precipitación de lodos con ayuda del solvente 2propanol-metilcetona-1-butanol con una relación de aceite 3:1. Recupera el 95% de aceite base, con reducción de cenizas del 75%. Posteriormente el aceite extraído con solvente se pone en contacto con tierra adsorbente para mejorar el color y olor y finalmente se realiza un hidrotratamiento [15].

Proceso PROP: El aceite usado se ponen en contacto con fosfato diamónica, convirtiéndose en una emulsión al 1% sólidos, los cuales se separan por filtración. El aceite desmetalizado y deshidratado se mezcla con hidrógeno a alta temperatura removiendo compuestos de azufre, nitrógeno, cloro. Luego este aceite se hace circular a través de un lecho de arcilla o tierra adsorbente, la arcilla tiene como finalidad la descomposición de los ácidos sulfónicos, mejorar el color y el olor del aceite obtenido [15].

Proceso ácido-tierra: La carga se trata con ácido sulfúrico obteniéndose un rendimiento de 85% aproximadamente en relación con el producto tratado. El resto constituye un desecho aceitoso y ácido. El producto obtenido después del tratamiento ácido es enviado a filtración con arcilla o tierras adsorbentes y cal, para mejorar su color y su acidez. En este proceso de filtración se obtiene un desecho del 3 al 4% constituido por una mezcla de aceite ácido y arcilla o la tierra adsorbente [16].

Proceso propano – tierra Es una modificación del proceso ácido-arcilla convencional. En este proceso, se incluyen nuevas unidades con el objeto de disminuir el consumo de ácido sulfúrico y por consiguiente la producción de desechos. El rendimiento del proceso en relación con la carga es 79.5% en peso y un 6% de gas oil, y el volumen de residuos se limita a un 5% [16].

2.5.2.1.1. Refinación con Tierras Adsorbentes

El proceso con el que está trabajando la empresa regeneradora de Aceites Usados, emplea tierras adsorbentes.

Los mecanismos decoloración y purificación del aceite se basan en el principio de adsorción, a través de la adherencia de moléculas o iones de cualquier especie a la superficie de un sólido. Hay algunos materiales que cumplen con este propósito, los cuales son expuestos a continuación [17]:

- La bauxita es un tipo de arcilla que se compone principalmente de óxidos de aluminio, pero el proceso de regeneración de la arcilla es técnicamente difícil, además que su inversión inicial es alta.
- Las zeolitas son silicatos de aluminio, entre los cuales se tiene, la zeolita A4 que es utilizada para regenerar aceites lubricantes. La zeolita contaminada puede ser recuperada pero su elevado costo de inversión la hace menos aplicable que otros materiales adsorbentes.
- Las tierras de diatomeas, son algas fosilizadas trituradas formando polvos finos color blanquecino o cremoso, compuestas principalmente por sílice. Otras de tipo de algas cilíndricas son más conocidas por su capacidad de adsorción y son utilizadas como filtros.



Figura 2.5 Tierra diatomea en su estado original

Fuente: Burstein, E. (2013)

- La tierra fúller, también es conocida como un tipo de tierra de diatomeas, ya que su composición química es similar o también es conocida como arcilla atapulgita. La estructura de tierra fúller activada es altamente porosa y su superficie alcanza valores encima de los 100 m²/gramo. Las secuencias de capacidades de adsorción de diversos materiales por la tierra fúller es la siguiente: agua, alcoholes, ácidos, aldehídos, cetonas, olefinas, esteres neutros, aromáticos, cicloparafinas, y parafinas [18].



Figura 2.6 Fenómeno de adsorción de Tierra Füller
Fuente: Endelstein,J.(2010)

La tierra fuller es activada quemándola o calcificándola a temperaturas entre 800°F a 1100°F. Este tratamiento desarrolla porosidades en la arcilla.

La tierra adsorbente clarifica y neutraliza el aceite lubricante usado, adsorbiendo en su estructura los contaminantes que aún se encuentran en su composición química ajenos a la base lubricante original [17].



Figura 2.7 Clarificación y Neutralización de aceites usados con tierras adsorbentes

Fuente: Tian, A. (2013)

2.5.2.1.2. Diagrama del Proceso

En términos generales, el proceso de regeneración de aceites usados se lo puede estructurar de acuerdo al siguiente diagrama de flujo (Figura 2.8), en el cual se puede observar los desechos que se van generando en cada una de las etapas, y principalmente se enfocara esta tesis en los lodos producidos después de la operación de filtración.

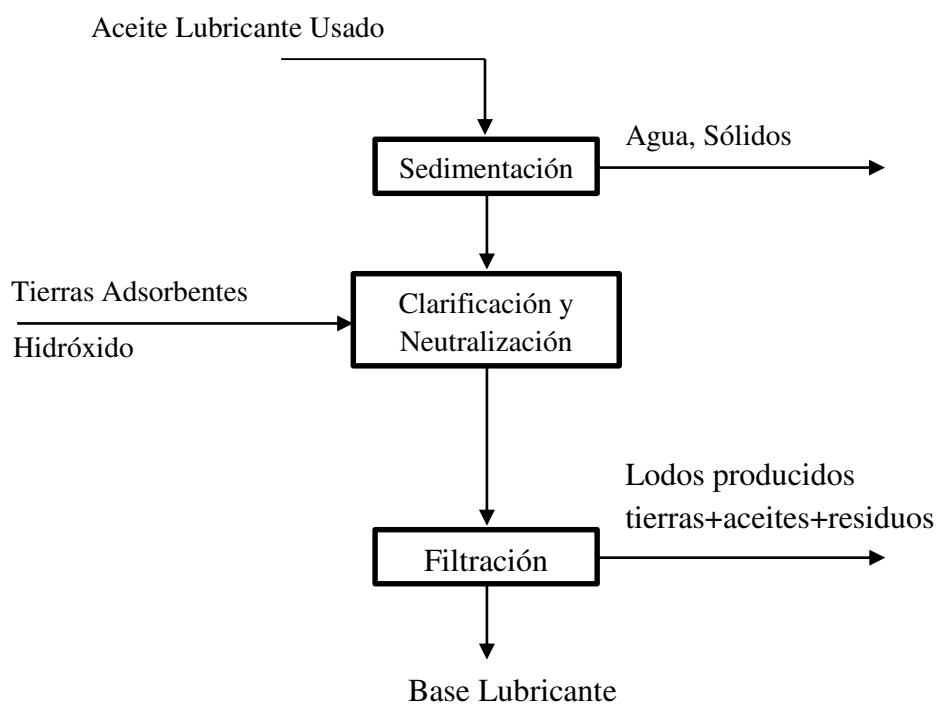


Figura 2.8 Proceso de refinación de aceites usados usando tierras adsorbentes.

2.5.2.1.3. Lodos Producidos.

En vista de que el proceso de clarificación y regeneración de aceites lubricantes usados utilizando tierras adsorbentes es aparentemente nuevo, no se ha analizado a profundidad los efectos que pueden causar esta tierra saturada de compuestos tóxicos al medio ambiente.

La tierra fuller luego del proceso es un silicato de aluminio y magnesio impregnado de base parafínica de aceite mineral que desprende gases que obliga a tomar medidas de precaución para evitar su contaminación con el medio ambiente [14].

Este trabajo explora el uso de las biotecnologías para el tratamiento y disposición final de este residuo peligroso, transformándolo debido a su regeneración en un material que puede ser dispuesto en un suelo de uso industrial.

2.6. Caracterización de Lodos de una Planta Regeneradora de Aceites Usados

De acuerdo a estas características de **los lodos de la recicladora de aceites usados** se lo considerara como **SUELO** para los procesos de remediación



Figura 2.9. Matriz de Generación del desecho contaminante

La textura del suelo se refiere a la distribución en proporcionada al tamaño de las partículas que lo constituyen. Suelos en donde existe granulometría similar de todas sus partículas, se definirán varias clasificaciones. Este lodo se puede considerar como un suelo contaminado, debido a que esta tierra tiene una granulometría similar y su composición mayormente sólida, cumple con la contextura blanda de partículas al tener débil coherencia, que se deshace en polvos sueltos bajo muy ligera presión. [19].

Según el Libro VI, anexo II del TULSMA se define que el suelo contaminado es aquel cuyas características físicas, químicas y biológicas naturales, han sido alteradas debido a actividades antropogénicas y estas constituyen un riesgo para la salud humana o el medio ambiente [6].

CAPÍTULO 3

TÉCNICA DE BIORREMEDIACIÓN

En el momento que se genera la contaminación del aspecto ambiental, en el caso de este estudio, un lodo que se asemeja a las características del suelo, éste se convierte en un residuo peligroso, que debe tratarse. En este capítulo se expondrá la técnica de Biorremediación la cual es el objetivo principal de la Tesis.

3.1. Técnicas Biológicas de remediación de suelos contaminados (Biorremediación)

Se elige la técnica de Biorremediación para efecto de descontaminar las tierras adsorbentes utilizadas en el proceso de regeneración de aceites usados, como se detalló en el Capítulo 2.

La biorremediación tiene como objetivo reducir la concentración de los contaminantes orgánicos presentes en el medio, mediante la transformación de estos compuestos en moléculas más simples, utilizando el poder metabólico de los microorganismos (bacterias, pero también hongos y levaduras). Esta técnica puede ser aplicada tanto a terrenos como a aguas contaminadas, obteniendo el mismo resultado exitoso [21].

- Medio Sólido: Un ejemplo de este son los suelos, sedimentos, lodos industriales, borras de tanques, etc [22].

- Medio líquido: Estos se refieren a aguas subterráneas, aguas superficiales, aguas residuales, etc. [22].

Este tipo de remediación se puede realizar in-situ o ex-situ, siendo el punto de referencia el lugar donde se origina la contaminación; en el caso de este estudio, los lodos se generan en la Planta y se los transporta a otra zona para procesarlos.

Se especificará en este apartado como funciona esta técnica biológica, tanto en sus procesos macroscópicos y microscópicos, sus condiciones para mayor eficiencia, el rendimiento promedio de estos procesos, tanto como sus ventajas y desventajas.

La biorremediación es una técnica ensayada y probada en sitios contaminados con hidrocarburos, sus subcategorías más usadas son: Bioestimulación, Bioaumentación.

3.1.1. Bioestimulación

Esta técnica se basa en acondicionar el sitio o terreno de manera que alcance satisfactoriamente el crecimiento de los microorganismos existentes, para realizar una función deseada. Se pretende acelerar el proceso de biodegradación natural proporcionando nutrientes a la zona afectada con compuestos orgánicos, transformando estos contaminantes en compuestos inertes [23].

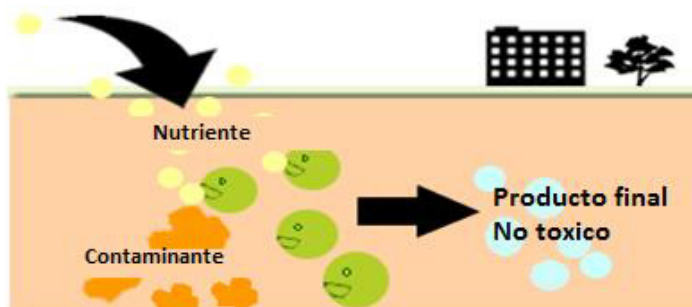


Figura 3.1 Bioestimulación
Fuente: Serrano, R. (2012)

3.1.2. Bioaumentación

Esta técnica incorpora formas específicas de vida a un suelo contaminado, para incrementar o ayudar a alcanzar el efecto deseado [23].

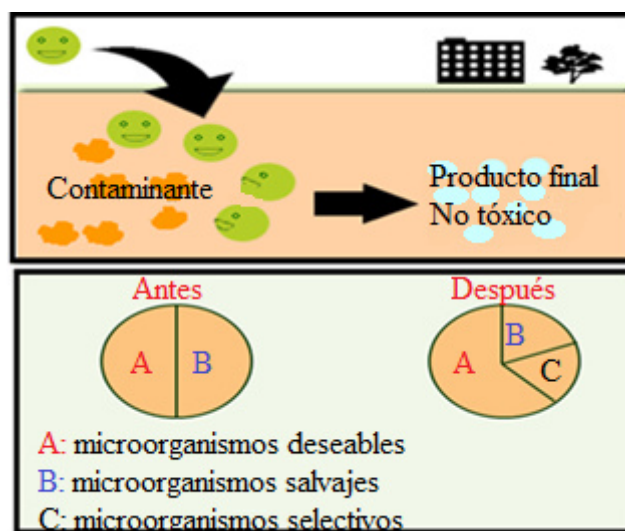


Figura 3.2 Bioaumentación
Fuente: Serrano, R. (2012)

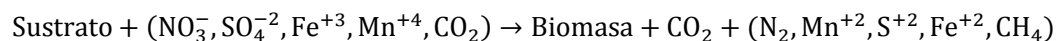
3.1.3.Reacción Biológica

El efecto que brinda la biorremediación se basa en una cadena de reacciones de óxido-reducción, que se producen en la cadena respiratoria, o transportadora de electrones de las células. El compuesto hidrocarburado (contaminante) denominado sustrato, inicia la serie de reacciones y actúa como dador de electrones, la célula acaba degradando y consumiendo el contaminante como parte de su actividad metabólica [2].

Dependiendo de los microorganismos activos que se utilicen para la biorremediación, se deberá adecuar diferentes condiciones, se producirán diferentes tipos reacciones, de acuerdo a su metabolismo anaeróbico o aeróbico.

- Condiciones Anaeróbicas.

La biorremediación se realiza sin presencia de oxígeno, este tipo de reacciones son más lentas, alargando el proceso de remediación. Las bacterias o microorganismos que puedan desarrollarse en esta condición se conocen como anaeróbicas.

Degradación Anaerobia:

Los iones nitrato, sulfato, férrico, manganeso y así sucesivamente, serán utilizados como aceptadores de electrón, ya que el oxígeno no está disponible. Los productos metabólicos de la biodegradación anaerobia incluyen los ácidos orgánicos simples, CO₂, H₂O, CH₄, H₂, N₂, y la masa de la célula [24].

- Condiciones Aeróbicas.

En esta condición se necesita la presencia de oxígeno para que se produzca la biorremediación. Este puede ser aportado mediante arado mecánico o manual al suelo, o por inyectores de aire.

Degradación Aerobia:

La reacción más fácil para la aceptación de electrón terminal es la biodegradación aerobia y frecuentemente es usada para biodegradar hidrocarburos. Los organismos anaerobios facultativos pueden utilizar el oxígeno o también otros aceptadores alternativos del electrón [24].

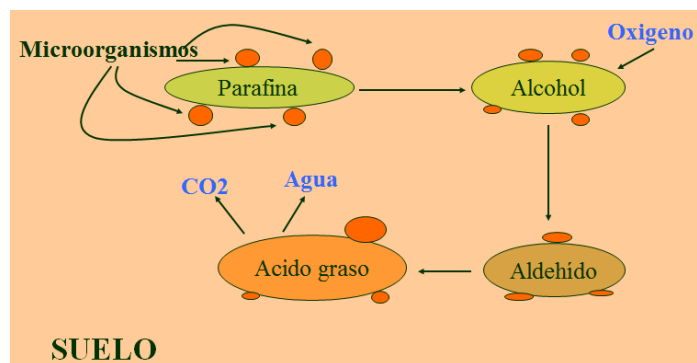


Figura 3.3 Biodegradación de parafinas en condiciones aeróbicas
Fuente: Serrano, R. (2012)

3.1.4. Microorganismos activos

En el proceso de Biorremediación, los microorganismos (bacterias, hongos) pueden ser: autóctonos, propios de la naturaleza del suelo, o inoculados, mediante la introducción de un cultivo de laboratorio.

Se pueden encontrar hasta 600 millones de bacterias en un solo gramo de suelo normalmente, de miles de especies distintas. Las bacterias que pueden sobrevivir en un ambiente tóxico como es en un lodo contaminado con hidrocarburos es porque han desarrollado la habilidad de alimentarse de este compuesto orgánico [17].

En un suelo contaminado se pueden hallar más bacterias por gramo que en un suelo no contaminado, pero la diversidad es reducida.

Entre los más importantes microorganismos, que realizan la acción de degradar los contaminantes presentes en un lecho de suelo, se detalla a continuación:

Tabla IV Géneros más comunes de levaduras, hongos y bacterias que tienen la capacidad degradadora del petróleo

Fuente: Murado, 1996 ; Zhu, 2001 ; Ferrer, 1997

Géneros de levaduras	Géneros de Bacterias		Género de Hongos	
Candida	Chomobacterium	Micrococcus	Acremonium	Gliocladium
Cryptococcus	Corynebacterium	Mycrobacterium	Asperigillus	Graphium
Endomyces	Cytophaga	Nocardia	Aureobasidium	Humicola
Hansenula	Flavobacterium	Proteus	Beauveria	Monilia
Mycotorula	Achromobacter	Pseudomonas	Botrytis	Mortierella
Pichia	Enwinea	Sarcina	Candida	Paecilomyces
Rhodotorula	Acinetobacter	Serratia	Chrysisporium	Penicillium
Torulopsis	Alcaligenes	Spirillum	Cladosporium	Rhodotorula
Trichosporon	Arthrobacter	Streptomyces	Cladosporium	Saccharomyces
	Bacillus	Vibrio	Cochlobolus	Spicardia
	Brevibacterium	Xanthomonas	Cylindrocarpon	Tolypocladium
	Actinomyces	Beneckea	Debaryomyces	Trichoderma
	Aeromonas	Coryneforms	Fusarium	Verticillium
	Arthrobacter	Klebsiella	Geotrichum	
	Lactobacillus	Leumthrix		
	Moraxella	Peptococcus		
	Spherotilus			

3.1.4.1. Pseudomonas

Las Pseudomonas están constituidas por microorganismos Gram-negativos, siempre móviles con flagelación polar. Pertenecen a la clase de las proteobacterias, las pseudomonas son productoras de biosurfactantes, lo que permitiría solubilizar y facilitar la inserción del contaminante, compuesto hidrocarbonado, a través de la pared hidrofílica [25].



Figura 3.4 Pseudomona
Fuente: Kunhel, D. (2004)

Su metabolismo es casi siempre aerobio (la mayoría usa como aceptor de electrones O_2) o anaerobio (algunos usan NO^-). Pueden utilizar como fuente de carbono substratos muy variados (hay especies, como *Ps. cepacia*, que logran sin problema utilizar como nutrientes más de 100 compuestos químicos diferentes), lo que le denominamos versatilidad metabólica [26].

La versatilidad metabólica del grupo se debe a la presencia de un gran número de plásmidos que contienen operones inducibles para la síntesis de enzimas específicas que permitan catabolizar los compuestos presentes en el medio. Esto confiere una importancia grande a las bacterias del género *Pseudomonas* como digestores aerobios de materiales animales y vegetales, lo que contribuye al reciclaje biológico de materia orgánica.

Algunas bacterias de este grupo producen pigmentos fluorescentes de colores amarillo-verdosos fácilmente solubles en agua. Estos pigmentos actúan como sideróforos: moléculas cuya función es capturar el hierro del medio necesario para el metabolismo del microorganismo [26].

3.1.5. Factores que condicionan la Biorremediación.

Para que el tratamiento sea efectivo, se debe cuidar de varios factores en los que se involucra la naturaleza del suelo, el tipo de contaminante, entre otras.

3.1.5.1.Medioambientales

3.1.5.1.1.pH

Afecta significativamente la actividad microbiana. Se desarrolla mayor rango de tolerancia, entre mayor sea la diversidad de microorganismos existentes. Cada caso es distinto, por lo que no hay rangos óptimos asentados, pero tomando en cuenta la tasa crecimiento máxima, de la mayor parte de los microorganismos, se alcanza dentro del rango de pH de 6 – 8 [22].

Comúnmente los hongos se desarrollan en un medio ácido (pH 4 -5), sin embargo las bacterias heterótrofas se desarrollan en un medio neutro (pH 6 – 8). El pH recomendable establecido para procesos de biodegradación es neutro [27].

El transporte de metales pesados y la solubilidad del fósforo en el suelo se ven afectados directamente por los cambios de pH. Mediante compuestos de azufre se puede lograr la acidificación o la reducción del pH, por otro lado con compuestos como bicarbonatos de sodio se logra la basicidad o el aumento de pH.

3.1.5.1.2.Humedad

La humedad es una condición fundamental para las bacterias, se debe mantener las condiciones de humedad a lo largo de la biorremediación, para garantizar su crecimiento. El protoplasma bacteriano está formado en su mayoría por agua y es por estas partículas de agua en el suelo por lo que se produce el transporte de los nutrientes y los compuestos orgánicos hacia el interior de la célula. La concentración de oxígeno disminuirá, afectando negativamente el crecimiento bacteriano, si existe un exceso de humedad.

Debido a esto, la biodegradación puede estar limitada severamente por la humedad, en especial a suelos superficiales que sufren de variaciones considerables en el contenido de agua. El rango varía en función del tipo de contaminante, propiedades del tipo de suelo, y si la técnica es anaeróbica o aeróbica [1].

Recomendable para el tratamiento es mantener un rango de 30-35% de humedad.

3.1.5.1.3. Temperatura

La actividad metabólica de los microorganismos y la tasa de biodegradación son afectadas por la temperatura, éste es uno de los factores más importantes para la biorremediación. Por lo general, las condiciones mesófilas entre 20 y 30°C son óptimas para el crecimiento de las especies bacterianas. Se procura mantenerse en estos intervalos reducidos, ya que la desnaturalización de las enzimas se produce temperaturas superiores a 40°C y se inhibe totalmente a temperaturas inferiores a 0°C, produciendo un decrecimiento en la biodegradación [28].

3.1.5.1.4. Nutrientes

Los nutrientes aportan con los constituyentes químicos para que el metabolismo microbiano, orientado a la reproducción, pueda asimilar y sintetizar dichos componentes disponibles en el suelo. Los principales nutrientes necesarios son el fósforo y el nitrógeno, la presencia de estos componentes en concentraciones asimilables en el suelo normalmente limitan el crecimiento y activación de la población microbiana., no siendo el caso de otros nutrientes esenciales como el

Ca^{+2} , Na^+ , Fe^{+2} y SO_4^{-2} que regularmente en el suelo se encuentran en concentraciones suficientes [2].

Para obtener un incremento de las unidades formadoras de colonias bacterianas y por ende la biodegradación de hidrocarburos en el suelo contaminado, generalmente se adicionan fuentes de N y P inorgánicas. Las proporciones molares de C:N:P, refiriéndonos a C como el carbono a degradar, varían de acuerdo a distintas fuentes; el rango más común recomendado por la EPA es de C:N:P \rightarrow 100:10:1. O también guardando una relación de masa de C/P =800 Y C/N=60 [27].

3.1.5.2.Físicos

3.1.5.2.1.Biodisponibilidad

La interconexión entre factores como la capacidad de transporte, el metabolismo microbiano y la transferencia de masas de compuesto, se conoce como biodisponibilidad [29].

El ageing o envejecimiento, es un fenómeno que influye de manera negativa a la biodisponibilidad de los contaminantes, produciendo la pérdida de la biodegradabilidad de los compuestos a lo largo del tiempo en el suelo (sin necesidad de que el potencial catabólico de la comunidad bacteriana disminuya); los suelos con altos niveles de materia orgánica serán más afectados por esta condición [29].

Para efectos de incrementar la biodisponibilidad de los contaminantes se puede agregar tensoactivos sintéticos o biológicos, con el fin de biorremediar el suelo contaminado por compuestos hidrocarbúricos

3.1.5.2.2. Aceptor de electrones

Generalmente para procesos biológicos de carácter aerobio, el aceptor de electrones final será el oxígeno (O_2); éste también es necesario en determinados tipos de reacciones de oxidación – reducción catalizada por enzimas. La energía que los microorganismos necesitan para su crecimiento la obtiene al oxidar compuestos orgánicos o inorgánicos. Las reacciones de oxidación liberan

electrones que interactúan en una serie de reacciones en el interior de la célula y, al final, deben ser vertidos en el entorno. Como ya se definió el aceptador final de estos electrones será el O_2 y H_2O es el producto [30].

Se ha demostrado que el método aeróbico puede degradar con mayor rapidez y extensión, la mayoría de hidrocarburos presentes en los productos petrolíferos. En un cuadro en el que sea escaso el O_2 , y en presencia de aceptores de electrones alternativos (NO_3^- , SO_4^{2-} , CO_2 , Mn^{+4} y Fe^{+3}) los hidrocarburos también podrán degradarse mediante el método anaeróbico, pero con tasas de biodegradación muy inferiores al método aeróbico [30].

3.1.5.2.3. Presencia de Agua

El agua formara la fase líquida del tratamiento, donde los microorganismos tomaran los nutrientes inorgánicos, carbono orgánico, y los aceptores de electrones, necesarios para el crecimiento microbiano. Las proporciones adecuadas de contaminantes deben estar en contacto con el agua, y así permitir el desarrollo de las comunidades bacterianas. Se debe considerar que el agua puede influir negativamente en el flujo de aire, produciendo una reducción del

Oxígeno necesario para la respiración microbiana. De acuerdo a esto se propone un rango del 25 -35% de humedad [25].

3.1.5.3.Químicos

La estructura molecular del compuesto hidrocarburífero es el factor químico más importante en el proceso de biológico de remediación. La formación molecular del contaminante definirá sus propiedades físicas y químicas y su capacidad para ser biodegradado. Esta última está concatenada con factores como ramificación del compuesto, solubilidad, la halogenación y la naturaleza y el efecto de los sustituyentes [31].

3.1.5.3.1.Estructura química.

La halogenación, la diferente carga atómica, las ramificaciones del compuesto y la baja solubilidad en el agua afectarán la biodegradabilidad de un compuesto

Los alcanos ramificados (isoprenoides) y los n-alcanos, desde cadenas comenzando por C10 hasta C20, se degradan con mayor facilidad por los microorganismos del suelo, y es por esto que la eficacia de la biodegradación puede darse con mayor probabilidad. No obstante, los alcanos de cadena larga (>C20), tienen alto peso molecular y baja solubilidad en agua, lo que los hace más difíciles de biodegradar [32].

Generalmente, los alcanos cíclicos se degradan con mayor lentitud en comparación con los n-alcanos y alcanos ramificados. En el caso de los HAPs, la tendencia es igual, HAPs de 2 a 3 anillos aromáticos, si cumplen las condiciones ambientales adecuadas, pueden ser biodegradados eficazmente en el suelo ; pero los HAPs de 4 anillos, pero en especial, los de 5 o más anillos bencénicos presentan una baja solubilidad y mayor recalcitrancia inherente [33].

Por consiguiente los compuestos hidrocarburíferos más pesados como son los asfáltenos y fracciones de resinas son las que presentaran menor degradabilidad.

3.1.6.Técnicas de Biorremediación.

3.1.6.1.Biodegradación ex-situ on site

3.1.6.1.1.Biopilas

Las biopilas es una técnica de biorremediación del tipo ex situ, en donde el suelo contaminado con hidrocarburos se extrae de su origen y es dispuesto en una especie de hueco o piscina excavada para su posterior descontaminación con microorganismos. Esta técnica es utilizada cuando el contaminante es demasiado volátil, ya que las emisiones gaseosas serían demasiado altas [20].

Los tipos de hidrocarburos presentes en el suelo a tratar no deben ser halogenados y tienen que encontrarse en el suelo a concentraciones menores a 50 000 ppm. Necesita también una densidad microbiana mayor 1 000 CFU/gramo de suelo, temperatura entre 10 - 45°C, porcentaje de humedad entre 40 - 85%, pH del suelo debe estar entre 6- 8 unidades y por ultimo tener una concentración menor a 2 500 ppm de metales pesados [25].

El tratamiento debe de incluir sistemas de recolección de lixiviados y un sistema de aireación mediante tubos de algún material resistente al tiempo y condiciones del suelo. Estos tubos deben estar conectados a un soplador de presión negativa o vacío, lo cual mediante inducción forzada hace pasar el oxígeno atmosférico a través del montículo de suelo. Cabe recalcar que se controlan los parámetros importantes como la humedad, la temperatura, los nutrientes y el pH [20].

A continuación se muestra un esquema general del proceso y de una biopila:

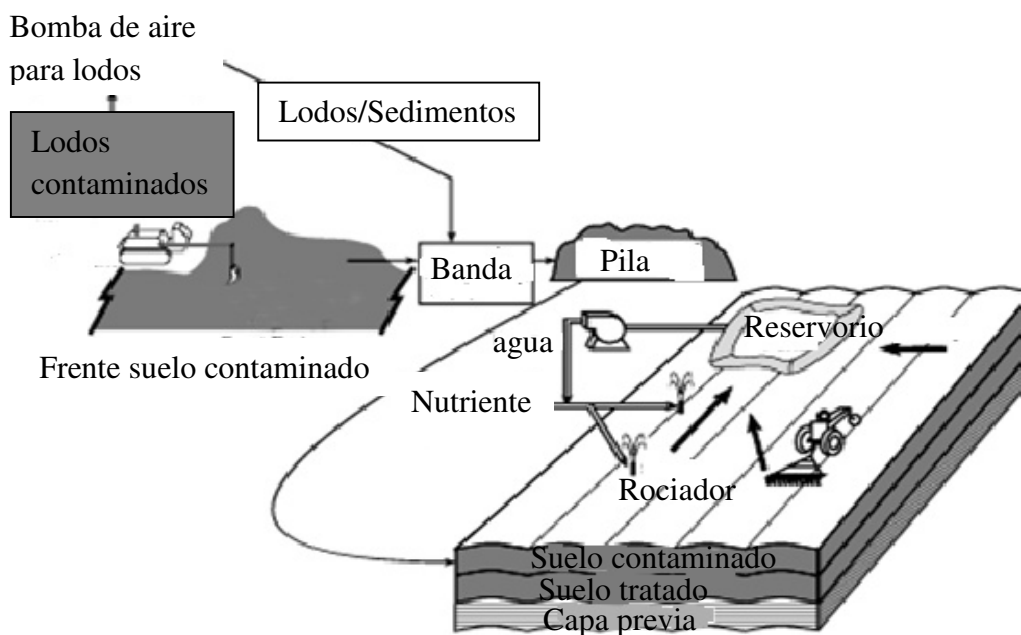


Figura 3.5. Biopilas
Fuente: Miliarium, A. (2004)

3.1.6.1.2.Landfarming

El landfarming es una técnica de biorremediación ex situ donde se excavan los suelos contaminados para luego ser colocados sobre una superficie impermeable (generalmente algún tipo de geomembrana). La geomembrana se coloca sobre la pequeña piscina excavada cerca de la zona contaminada, colocando sobre ella el suelo a tratar. Este proceso también debe contar con un sistema de drenaje para la recolección de lixiviados producidos, para que se les realice algún tratamiento posterior [20].

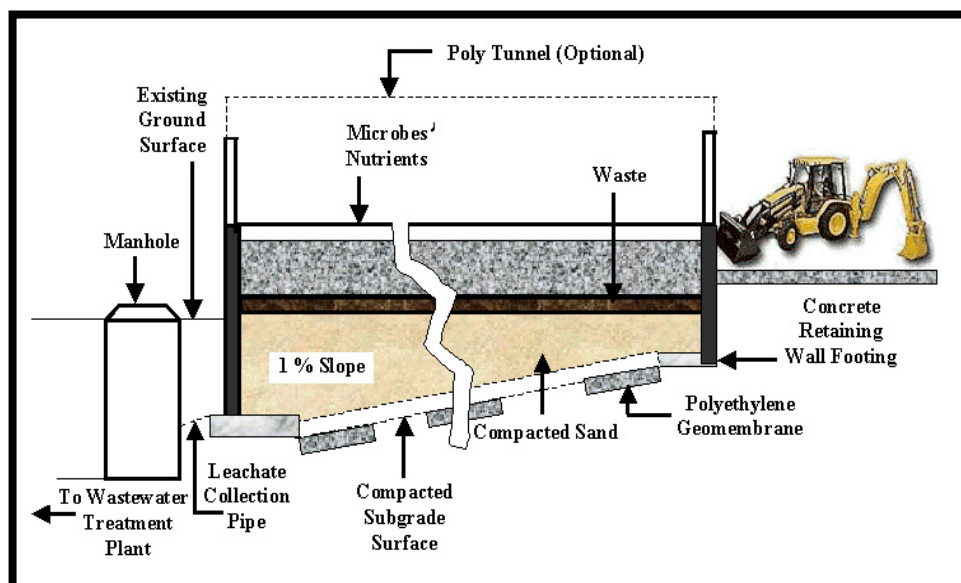


Figura 3.6 Landfarming
Fuente: Miliarium, A. (2004)

La descontaminación se efectúa por la acción metabólica que realizan los microorganismos presentes en el suelo. La utilidad de tratar los suelos ex situ consiste en controlar de manera fácil y adecuada las condiciones óptimas para que los microorganismos degraden rápida y adecuadamente los compuestos orgánicos. La técnica de landfarming es más económica su aplicación, que otras técnicas de biorremediación existentes [25].

3.1.6.1.3.Compostaje

El compostaje de suelos contaminados es un proceso biológico controlado en el que los contaminantes orgánicos (por ejemplo los HAPs) son convertidos en sustancias inofensivas por acción de los microorganismos, dando como resultado un producto final libre en su mayoría de contaminantes denominado compost, que es muy útil en agricultura ya que de ellos se producen abonos orgánicos utilizados para la fertilización de cultivos [20].

El suelo contaminado se excava y traslada a una zona aislada previamente construida para tratarlas, deberá tener una pendiente hacia un sumidero para la recolección de los lixiviados, los cuales serán vertidos nuevamente en el suelo,

generando así un ciclo semi-cerrado en cuanto a la recirculación del agua utilizada. El suelo normalmente se distribuye en filas o pilas de 1,5 metros de alto y 2,1-2,5 metros de ancho, aunque puede variar de acuerdo al diseño [20].

3.1.6.2. Biorremediación ex –situ off site

Esta técnica se basa en la excavación del suelo contaminado y su posterior transporte a instalaciones adecuadas donde se lo tratará en biorreactores.

Como etapa inicial el suelo es sometido a un proceso físico en donde se separan elementos gruesos. Luego se mezcla con agua el suelo separado para llevar el contaminante a una concentración adecuada [20].

El suelo hasta este punto es introducido en el biorreactor, el cual consiste en un fermentador cilíndrico horizontal que gira sobre su eje. A medida que gira el reactor se oxigena el suelo, también se introducen nutrientes y microorganismos en caso de que fuera necesario.

Es importante introducir materiales inertes con una elevada superficie específica, para que los microorganismos tengan un medio donde se puedan desarrollar con mayor facilidad. El ajuste de pH en caso de que fuera necesario, se adiciona cierta cantidad de un ácido o una base dependiendo del caso. Finalizado el proceso de biodegradación el suelo puede ser devuelto a su origen pero realizando previo secado [20].

3.1.6.3.Fitorremediación

Esta tecnología consiste en la utilización de las plantas para llevar acciones de eliminación, transferencia, estabilización o degradación de contaminantes presentes en el suelo. Las plantas van a actuar como filtros biológicos que descomponen o estabilizan metales o bien degradan contaminantes orgánicos [20].

3.1.7. Ventajas y Desventajas de la aplicación de la Biorremediación.

Las ventajas en la aplicación de la Biorremediación sobre otras técnicas, se basa en el costo de su aplicación, estos llegan a ser muy bajos y accesibles, y en la mayoría de los casos puede lograr eliminar los contaminantes en su totalidad. Esta técnica se adapta a cualquier medio y una vez finalizado el proceso de remediación el suelo puede ser reutilizado. No es de preocupar en cuanto a los microorganismos aun presentes, ya que estos mueren una vez haya acabado su ciclo y su alimento, esta técnica es 100% natural [20].

Algunos puntos negativos en los procesos de Biorremediación es la dificultad de aplicar esta técnica en suelos arcillosos, ya que estos tienen una alta permeabilidad, el tiempo de acción en ocasiones puede llegar a ser muy largo, dependiendo del tipo de contaminante. También los microorganismos utilizados o presentes pueden llegar a inhibir y esto ocurre cuando las concentraciones de contaminantes son bien altas y dejan sin un medio adaptable a los microorganismos. Pero una de la más importante es el cuidado constante que debe dársele, como lo son el tener un control de humedad, mantener la temperatura óptima, es decir las condiciones ambientales para la supervivencia de los microorganismos [34].

3.1.8. Comparación de técnicas de Remediación de Suelos

Tabla V Comparativa de Técnicas de Remediación de Suelos
Fuente: Miliarium, A. (2004)

Características de las tecnologías de tratamientos de suelos				
Técnica	Lugar de Aplicación	Velocidad de Tratamiento	Coste Económico	Contaminantes Tratables
Tecnologías de pantalla	In situ	Lenta	Bajo	Contaminantes muy tóxicos
Vitrificación in situ	In situ	Media	Alto	Contaminantes muy tóxicos
Reducción de la volatilización	In situ	Solución Temporal	Bajo	COV
Estabilización/solidificación	In situ Ex situ	Rápida	Bajo	Metales pesados, materiales radiactivos
Extracción de vapores	In situ	Media	Bajo	COV, algunos derivados del petróleo
Inyección de aire	In situ	Media	Bajo	COV
Aireación	Ex situ	Lenta	Bajo	COV
Enjuague de suelos	In situ	Media	Medio	Fenoles, metales, aceites, contaminantes solubles, compuestos orgánicos
Lavado de suelos	Ex situ	Rápida	Medio	metales, derivados del petróleo, COV, plaguicidas
Tratamiento electrocinético	In situ	Media	Alto	Metales, Compuestos Orgánicos
Tratamiento químico	In situ	Rápida	Medio	PCB, otros contaminantes orgánicos
Barreras reactivas	In situ	Lenta	Medio	Metales, halocarbonos, hidrocarburos derivados del petróleo, otros compuestos orgánicos
Incineración	Ex situ	Rápida	Alto	Todo tipo de compuestos orgánicos

Desorción térmica	Ex situ	Rápida	Medio	Compuestos orgánicos procedentes de residuos de refinería, residuos de alquitrán, residuos de la industria de la madera, suelos contaminados por creosota, hidrocarburos, pesticidas, desechos de pinturas
Bioestimulación in situ	In situ	Lenta	Bajo	Hidrocarburos, derivados del petróleo, pesticidas, disolventes, conservantes de la madera, otras sustancias químicas orgánicas
Bioventing	In situ	Media	Bajo	Hidrocarburos derivados del petróleo, disolventes no clorados, algunos pesticidas, conservantes de la madera, otros compuestos orgánicos
Bioslurping	In situ	Media	Bajo	Hidrocarburos derivados del petróleo
Landfarming	Ex situ	Media	Bajo	Lodos de refinería
Biopilas	Ex situ	Media	Bajo	COV, hidrocarburos, pesticidas
Compostaje	Ex situ	Media	Bajo	Explosivos, HAP, compuestos orgánicos biodegradables
Biodegradación off site	Ex situ	Media	Alto	Residuos de artillería, COV, PCB, pesticidas
Fitorremediación in situ	In situ	Lenta	Bajo	Metales, pesticidas, disolventes, explosivos, hidrocarburos del petróleo, HAP

CAPÍTULO 4

METODOLOGÍA Y DESARROLLO

Para el desarrollo de la investigación se plantearon y siguieron procedimientos. Estos permitieron llevar el control adecuado de todas variables y factores que intervinieran. Pero previo a dar inicio a ellos se llevaron a cabo análisis iniciales para obtener valores de partida en las variables de control y seguimiento, así poder llevar una referencia del avance en el proceso de la investigación. Una vez obtenidos los valores se dio inicio al tratamiento y periódicamente se siguieron las variables de control de acuerdo a los rangos óptimos que también se mencionan en el capítulo.

4.1. Obtención de tierra contaminada con hidrocarburos

Se obtuvieron las tierras de diatomea contaminadas con hidrocarburos provenientes de una empresa regeneradora de lubricantes ubicada en el cantón de Durán, donde eran utilizadas estas para la regeneración de aceites lubricantes y posteriormente enviadas a incinerar.



Figura 4.1 Tierras contaminadas con hidrocarburos

4.2. Análisis inicial de la tierra contaminada

Previo a dar inicio a la etapa de biorremediación se obtuvieron los análisis de las tierras otorgados por la empresa regeneradora de aceites, en donde se mostraban contenidos de metales y TPH. De dicho análisis, el único parámetro que no cumplía según la normativa vigente para ser dispuesto en el suelo, fue el TPH por lo que nuestro enfoque fue éste.

Para poder empezar con un dato de TPH inicial de la tierra se necesitaba saber con exactitud y a la vez concordar con el dato inicial de 15 0784 mg/kg de TPH otorgado por la empresa regeneradora, se hizo un propio análisis de TPH de las tierras en las cuales con una repetición de dos (2) ensayos se obtuvo un dato de 41 8209.8 mg/Kg. Entonces el dato obtenido de TPH en nuestros análisis se tomó como el valor de TPH inicial con el cual se recibió las muestras de tierra.

El valor de TPH de las muestras era muy elevado para dar inicio a un tratamiento de biorremediación, este alto valor de TPH indica cadenas largas de hidrocarburos difícilmente sintetizables por los microorganismos, así que se consideró hacer un lavado previo con un solvente removedor que nos permitiera llegar a un valor de TPH idóneo y a la vez q sustituyera mayor parte de cadenas largas por cortas.

4.3. Selección de solventes removedor

El TPH inicial de la tierra es muy elevado para empezar el proceso biológico, se recomienda concentraciones inferiores a 15 0000 mg/kg, este lodo contenía hidrocarburos de alto peso molecular debido a su tipo de contaminante. De acuerdo a esto, se procede a realizar el lavado, en donde se utilizan dos solventes diferentes: Jet Fuel y un surfactante biodegradable.

Comparando la remoción de TPH en ambas pruebas se analizó y verificó que el Jet Fuel remueve mayor cantidad de TPH. Sabiendo también que gran parte de lo removido son hidrocarburos pesados de difícil degradación por los microorganismos, por lo que si no se hiciera tomaría mayor tiempo el efectuarse la biodegradación.



Figura 4.2 Tierra antes y después del lavado con el solvente

4.4.Diseño experimental del sistema

En el planteamiento del sistema se trataron los temas de como tener un estado adecuado para iniciar el tratamiento, donde principalmente se enfocó en el TPH inicial y el medio óptimo de crecimiento de las bacterias. Obtenido el análisis de TPH inicial, se hicieron los cálculo de porcentaje de mezclado de aserrín y tierra contaminada con el fin de conocer como iniciar con un TPH menor al análisis obtenido y asegurando un medio donde las bacterias puedan alimentarse y reproducirse.

También se analizó recipientes adecuados para contener las tierras mezcladas, que sean duraderas y no permeables. Los nutrientes y bacterias a utilizar para la biodegradación también fueron investigados, estudiados y seleccionados.

Con la forma planteada se esperó sea factible la degradación de los hidrocarburos presentes y como consecuencia disminución de TPH a medida que avanzaba la investigación.

4.5.Montaje del sistema

4.5.1.Materiales

Los materiales usados fueron:

- Tierras contaminadas provenientes de industria regeneradora de aceites lubricantes usados.
- Aserrín.
- Microorganismos (*Pseudomonas*) adaptados a presencia de hidrocarburos.
- Nutrientes.
- 8 canastas de polietileno de alta densidad.
- Pala de jardinería para mezclar y airear tierras.

4.5.2.Factor

Durante la investigación se consideró un factor muy importante de seguimiento y de control:

1. Biodegradación.

4.5.3. Tratamientos

La cantidad de tratamientos está dada por el producto de los niveles y su réplica, en donde los niveles son las diferentes pruebas a realizar. Por lo tanto al tomarse cuatro (4) niveles por su respectiva réplica nos da un total de ocho (8) tratamientos a realizar.

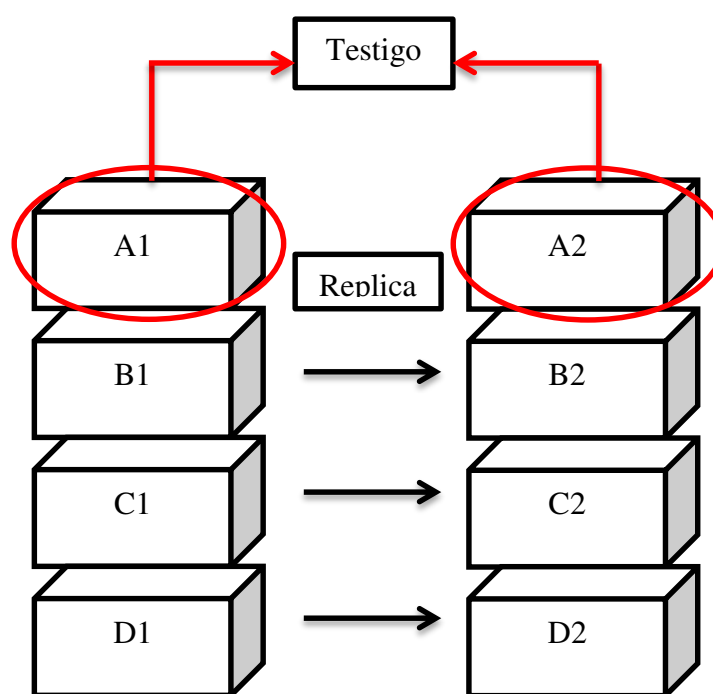


Figura 4.3 Esquema de los ocho (8) tratamientos

4.5.4. Distribución de tierras contaminadas

Las tierras contaminadas con lubricantes usados destinadas a la biorremediación se encuentran aún saturadas de hidrocarburos livianos y pesados en diferentes concentraciones pese al previo lavado realizado con un solvente de hidrocarburo liviano, pero a diferencia que ahora contiene mayor cantidad de livianos que pesados y estos hidrocarburos son más fáciles de degradar por los microorganismos. Realizado ya el lavado se procedió a mezclar las tierras con aserrín en una proporción definida (Figura 4.4). De esta forma las bacterias tienen lugar donde asentarse, alimentarse, obtener oxígeno y poder reproducirse, acelerando el proceso de degradación.

Las tierras mezcladas con aserrín se distribuyen en igual proporción en las diferentes canastas señaladas previamente. De ahí la concentración bacteriana y nutriente variara según el tratamiento.



Figura 4.4 Mezclado de tierra contaminada con aserrín

4.5.5. Microorganismos

Con los resultados de las investigaciones sobre organismos degradadores de suelos contaminados con hidrocarburos se escogieron los microorganismos o bacterias denominadas *Pseudomonas* las cuales son óptimas y muy conocidas para degradar suelos contaminados con hidrocarburo y pesticidas a nivel mundial. Su concentración varió en cada canasta para analizar con el tiempo si la cantidad bacteriana aceleraba o no el proceso de degradación.

4.5.6. Nutrientes

Estos son una parte esencial del tratamiento ya que con ellos las bacterias (*Pseudomonas*) más oxígeno (O_2) se reproducen y mantienen una población adecuada.

Los nutrientes de la etapa inicial de la investigación se colocaron en las micro celdas o canastas con la cantidad de agua calculada para llegar al 30% de humedad que necesitan para su desarrollo y alimentación.

Los nutrientes utilizados fueron:

1. Nitrato de potasio (KNO_3)
2. Urea ($(NH_2)_2CO$)
3. Roca fosfórica (P_2O_5)

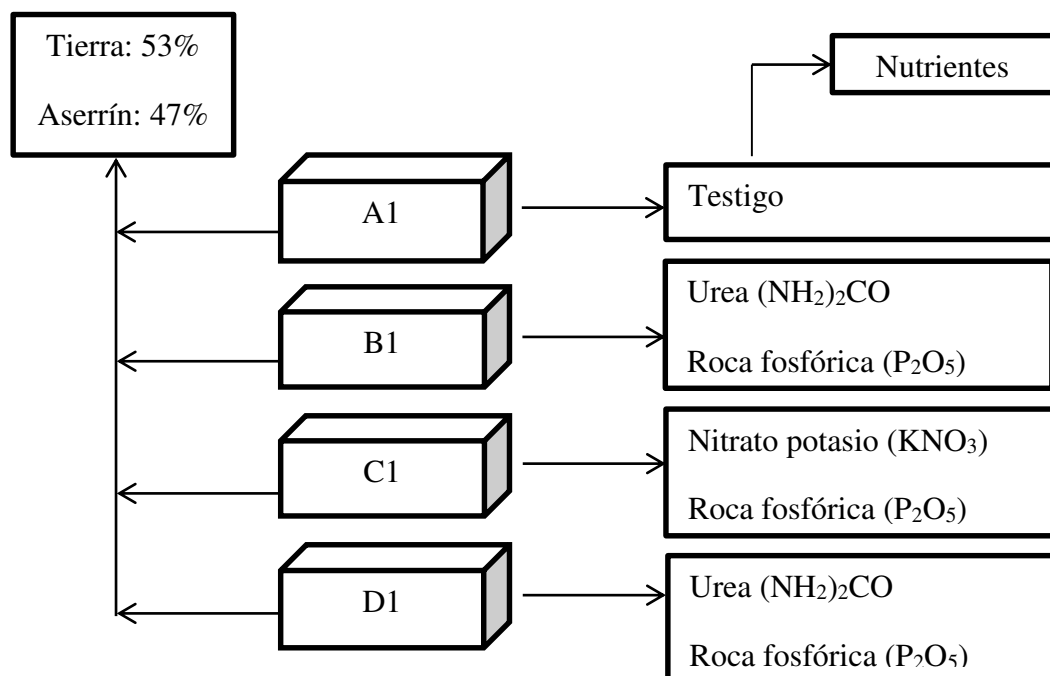


Figura 4.5 Esquema de distribución de tierras y nutrientes

4.5.7. Variables de respuesta.

En la investigación se tomó en cuenta una sola variable de respuesta:

1. Hidrocarburos totales (TPH)

4.5.8. Variables de Control.

En la investigación se tomó en cuenta dos (2) variables de control:

1. Característica físicas (Humedad, Temperatura, pH)
2. Presencia de microorganismos

4.6. Desarrollo de la investigación.

Una vez nombradas las micro celdas, colocado la mezcla de tierras (tierra contaminada + aserrín), cantidad de bacterias y cantidad de nutrientes, es decir montado el sistema (Figura 4.6) se tomaron los análisis o parámetros iniciales de la investigación, como lo es la cantidad de TPH, cantidad bacteriana, temperatura, pH y nutrientes. Así saber nuestra condición inicial de la investigación y como se iba desarrollando al pasar los días mediante un seguimiento a las variables.

Para el cuidado bacteriano y que se mantuvieran las condiciones óptimas para la biodegradación en los tratamientos, diariamente se controlaba la humedad y se aireaba las tierras, mientras que los nutrientes se colocaban en un periodo diferente.



Figura 4.6 Montado del sistema

4.6.1. Cuidado bacteriano

La aplicación de los nutrientes varió de acuerdo al tratamiento, pero se hicieron los cálculos para que obtuvieran la misma concentración porcentual de nitrógeno y fósforo como se indica en los rangos óptimos para procesos de biorremediación (Tabla VI).

En el tratamiento “A” y “B” se aplicó urea donde obtenían las bacterias el nitrógeno necesario (N) y roca fosfórica donde obtenían el fósforo necesario (P).

En el tratamiento “C” se aplicó nitrato de potasio (KNO_3) donde obtenían las bacterias el nitrógeno necesario (N) y roca fosfórica donde obtenían el fósforo necesario (P).

En el tratamiento “D” se aplicó el mismo nutriente que “A” y “B”.

Los nutrientes eran aplicados una vez cada 15 días, a la vez que se aplicaba las bacterias degradadoras (*pseudomonas*) en concentraciones diferentes para cada tratamiento, excepto para el tratamiento “A” que al ser testigo no se le aplicaban los microorganismos.

Las tierras diariamente eran movidas (Figura 4.7) con la pala de jardinería para permitir que las bacterias pudieran tomar el oxígeno del aire y continuar con normalidad su proceso de multiplicación y degradación de los hidrocarburos.



Figura 4.7 Movimiento de tierras con pala de jardinería

4.6.2. Seguimiento de las variables

Para llevar un control del desarrollo de la investigación se tomaban valores de las variables de control de características físicas (humedad, temperatura, pH), presencia de microorganismos y la variable de respuesta (TPH). Los valores obtenidos de las variables físicas y presencia de microorganismos eran comparados con los rangos óptimos de procesos de biorremediación (Tabla 4.1) y si alguna característica estaba fuera de rango se modificaban las condiciones y se llegaba a ellos.

Tabla VI Rangos óptimos para procesos de biorremediación.

PROPIEDAD	RANGO	REFERENCIA
Temperatura (°C)	18 - 30	Gómez, S., <i>et al</i> , 2008
Microorganismos degradadores	$10^6 - 10^8$	Ríos, R., 2005
pH (unidades)	6 - 8	Ríos, R., 2005
Humedad (%)	30	Gómez, S., <i>et al</i> , 2008
Nutrientes C:N:P	100:10:2 - 100:2:0.4	Gómez, S., <i>et al</i> , 2008.

4.6.2.1. Temperatura

La temperatura se la tomó mediante el uso de un termómetro de esfera o termómetro de sondeo en grados centígrados (°C) [35].

4.6.2.2. Microorganismos

Los conteos bacterianos fueron realizados mediante un laboratorio especializado, con la frecuencia de una vez cada mes, mediante la siembra en TSA agar.

4.6.2.3.pH

Mezcla de suelo y agua, se utiliza un electrodo y/o pH-metro de precisión 0.01 y rangos de 0 a 14 unidades [35].

Se toman 30 ml de suelo en pasta saturada, se le agregan 60 ml de agua destilada, se agita durante una hora y se hace lectura directamente sobre la suspensión.

4.6.2.4.Humedad

Método gravimétrico [35].

$$\%H = \frac{P_i - P_s}{P_s}$$

Dónde:

%H: Porcentaje de humedad

P_i: Peso inicial (gramos)

P_s: Peso seco en estufa a 110°C por 24 horas (gramos)

4.6.2.5. Hidrocarburos totales

Se llevó a cabo mediante extracción por reflujo en un sistema soxhlet, empleando hexano como disolvente, este método de extracción permite un contacto completo de la muestra con el solvente para una óptima extracción de los compuestos de hidrocarburos de la tierra a analizar. Luego de 4 horas de extracción se extrae el balón contenedor de hexano con los hidrocarburos retirados de la muestra, se lo coloca en un rotavapor para recuperar en lo posible el hexano utilizado y dejando solo los aceites extraídos en el balón. Haciendo uso de métodos gravimétricos obtenemos el peso inicial del balón y el final luego del ensayo en una balanza y logrando así el TPH contenido en la tierra analizada [36].

Tabla VII Frecuencia de análisis a variables de control de los tratamientos

ANÁLISIS	MÉTODO	FRECUENCIA	LUGAR
Temperatura	termómetro	Cada semana	Mediciones directas en las canastas
pH	pH-metro (1 suelo – 2 agua)	Cada semana	Laboratorio de hidrocarburos, ESPOL
Humedad	Método gravimétrico	Cada semana	

4.7. Velocidad de reacción

En la investigación se deseó estimar una proyección de la biorremediación referente a la disminución del TPH respecto al tiempo. Para ello se analizó que orden de reacción cumplía los valores de TPH de los tratamientos y se determinó que trata de una ecuación de velocidad de reacción de orden uno.

$$\ln(A_f) = -Kt + \ln(A_0)$$

Dónde:

A_f : Concentración de TPH (mg/Kg suelo seco)

K : constante (tiempo⁻¹)

t : Tiempo

A_0 : Concentración inicial de TPH (mg/Kg suelo seco)

Para determinar la constante de velocidad de reacción (K^{-1}) se procede a graficar el logaritmo natural de los valores de TPH con respecto al tiempo en que fueron determinados. Se realiza una línea de tendencia con respecto al gráfico, presentando

el coeficiente de correlación (R^2) y se determina la ecuación de la recta, de la ecuación de la recta se obtiene el dato de la constante (K^{-1}).

CAPÍTULO 5

ANÁLISIS DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Finalizado el tiempo establecido de 3 meses de investigación en la biodegradación de las tierras contaminadas, con los valores periódicamente obtenidos y documentados, se realizó el análisis de los resultados globales que serán discutidos en el presente capítulo.

5.1. Parámetros iniciales de lodos de la Regeneradora de Aceites.

Tabla VIII Parámetros iniciales de tierra contaminada

Parámetros	Método / Norma	Unidad	Resultado	Valor límite permisible		
				Uso Agrícola	Uso Industrial	Ecosistema sensible
Hidrocarburos Totales	EPA 8015	mg/Kg	150 784	<2 500	<4 000	<1 000
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos	PEE/LABCE STTA/23 EPA SW-846 N°8310 EPA SW-846 N°3540	mg/Kg	< 0.3	<2	<5	<1
Cadmio	EPA 6020A	mg/L	<0.8	<2	<10	<1
Níquel	EPA 6020A	mg/L	0.015	<50	<100	<40
Plomo	EPA 6020A	mg/L	0.022	<100	<500	<80

Los resultados del análisis inicial de las tierras absorbentes, fueron obtenidas de laboratorios Gruntec y LabCestta (véase en Anexo A), muestra que los Hidrocarburos totales de petróleo, TPH, están fuera del valor permisible, por lo contrario los hidrocarburos aromáticos policíclicos, HAPS, se encuentran por debajo del valor mínimo para la disposición final del suelo en zona industrial. Así mismo los metales pesados, tanto como plomo, cadmio y níquel, se encuentran muy por debajo del límite máximo permisible.

5.2. Lavado de suelos con solventes.

Como se explica en el capítulo 4 debido al alto nivel de TPH obtenido según el análisis realizado por los autores (418 209.8 mg/kg), se lava la tierra adsorbente original con dos tipos de solventes, un agente surfactante y jet fuel por separado, en una relación solvente: tierra de 2:1, se observa los resultados en Tabla IX.

Tabla IX TPH removido a tierras contaminadas con diferente solventes

Solvente Orgánico	TPH (Inicial) mg/Kg	TPH (Final) mg/Kg	Remoción TPH mg/Kg
Jet Fuel	41 8209.8	23 6444.61	181 765.8
Agente surfactante	41 8209.8	28 0500.40	137 709.4

Se eligió el Jet Fuel como solvente de máxima remoción de TPH ya que en las pruebas como se observó en la Tabla IX, con la misma cantidad de solvente separó más hidrocarburos del sustrato, a partir de esta decisión se realizó diferentes pruebas de lavado con Jet Fuel, para determinar cuál es la mejor relación solvente: tierra y procedimiento a seguir.

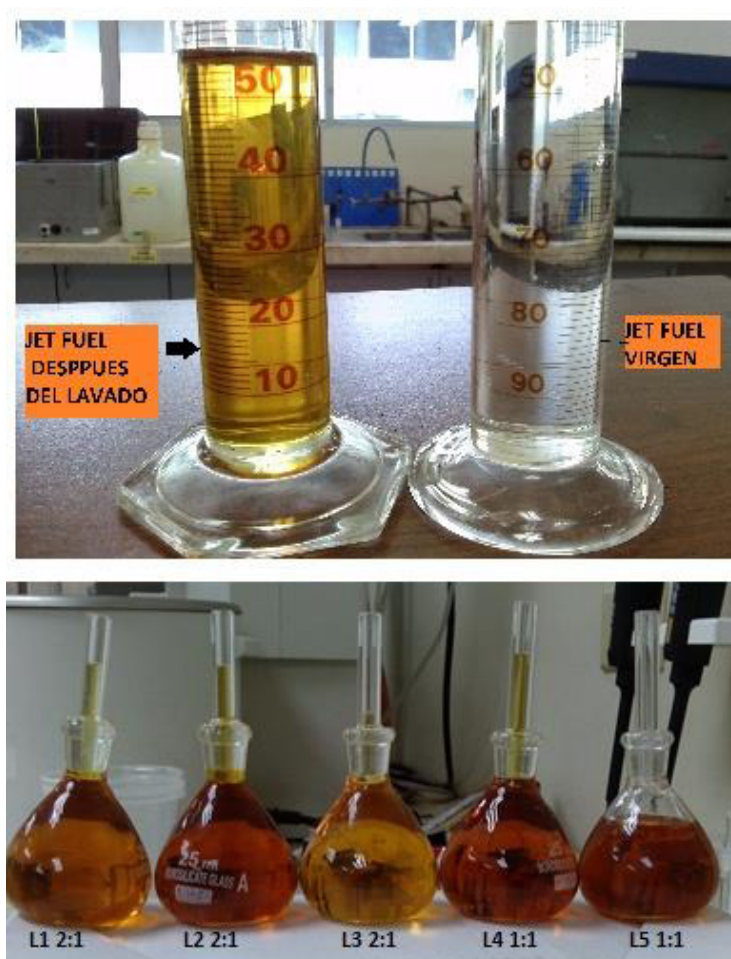


Figura 5.1 Análisis de selección mejor relación suelo: solvente

Tabla X TPH removido a tierras contaminadas con Jet fuel a diferentes procedimientos

# Lavado	Procedimiento	S:S*	Densidad gr/ml	Masa aceite removida/ 100ml jet fuel	gr aceite / gr suelo	TPH Removido mg/kg
L1	Suelo original + jet fuel virgen	2:1	0.88048	8.048 gr	0.1609	160 900
L2	Suelo original + jet fuel usado1	2:1	0.89876	1.828gr	0.037	37 000
L3	Suelo lavado2 + jet fuel virgen	2:1	0.86516	6.516gr	0.13	131 000
L4	Suelo original + jet fuel virgen	1:1	0.90236	10.236 gr	0.10236	102 360
L5	Suelo original + jet fuel usado4	1:1	0.8930	- no removió	0	0
L6	Suelo lavado5 + jet fuel virgen	1:1	0.8748	7.48 gr	0.0748	74 800

*S:S relación solvente: suelo m/m

Si se toma como referencia la densidad del jet fuel virgen de 0.8 gr/ml, se puede determinar la masa de aceite que captura el jet fuel luego del lavado, por la diferencia del incremento de densidad y tomando como base de cálculo 100 ml de Jet fuel. Así, se puede obtener el porcentaje de remoción determinado por la razón entre la masa de aceite extraída y la masa de suelo empleada, tomar en cuenta que si la relación es 2:1, se utilizará 50 gr suelo; y, si la relación es 1:1, se usará 100 gr suelo.

Cabe recalcar, que en la Figura 5.1 se observan picnómetros con coloración más intensa y se relacionaría a que dichos lavados serían los que alcancen la máxima remoción de aceites, esto sería un error. La coloración más intensa se da debido a que en ese volumen determinado, tienen más masa de aceite extraído (aceites lubricantes de alto peso molecular) que de jet fuel (hidrocarburo ligero), pero no obstante lo importante es la relación entre la masa de aceite extraído por cada gramo de suelo que está en contacto en el lavado. Finalmente, se determinó en la Tabla X que el mejor lavado se da con una relación de solvente: suelo 2:1 y llevando el procedimiento L1 o aplicando L2-L3 consecutivamente.

En la Figura 5.2 se observa del lado izquierdo la tierra lavada luego del procedimiento L3(mejor resultado) y en el lado derecho la tierra lavada por el procedimiento L4(coloración más oscura, típico del hidrocarburo de alto peso molecular).



Figura 5.2 Suelo obtenido luego del lavado L4 (izquierda) y L3 (derecha)

De acuerdo a la experimentación, al usar una sola vez el jet fuel muestra un porcentaje de remoción del 38.47% expresado en la Tabla XI; sin embargo si se reutilizara el desecho de este proceso para volver a lavar otro suelo como es el caso del L2, y luego este suelo prelavado se lava con jet-fuel virgen L3 se obtiene mayor porcentaje de remoción. Cabe recalcar que para efectos de este estudio, solo nos enfocaremos en el lavado L1, al ser el más práctico y sencillo de aplicación, sin embargo a mayor escala se debería considerar el procedimiento L2-L3 por ahorro de solvente.

Tabla XI Porcentaje de remoción de la técnica de lavado con Jet fuel

Lavado efectivo	Solvente: Suelo	TPH inicial	TPH removido	% Remoción
L1	2:1	418 209.8	160 900	38.47%
L2-L3	2:1	418 209.8	168 000	40.17%

5.3. Parámetros iniciales de tratamientos

Antes de empezar el proceso de biodegradación se tomaron los parámetros iniciales de cada uno de los tratamientos después de haber realizado el lavado correspondiente, y acondicionado el ambiente apto para el proceso, para de esta manera darle el seguimiento adecuado a los mismos. En la Tabla XII se puede apreciar los parámetros de cada uno.

Tabla XII Parámetros iniciales de los tratamientos realizados en la investigación

TRATAMIENTOS	PARAMETROS						
	T (°C)	pH	Humedad (%)	TPH (mg/kg)	Microorganismos (UFC/g)	% Nitrógeno	% Fosforo
A1	29	6.8	30	152 000	1.2×10^6	2.01	0.16
A2	30	6.9	30	152 000	1.1×10^6	2.01	0.16
B1	29	7.0	30	152 000	2.5×10^7	2.02	0.15
B2	29	6.9	30	152 000	1.62×10^7	2.01	0.15
C1	30	7.2	30	152 000	1.62×10^7	2.02	0.15
C2	29	7.3	30	152 000	1.62×10^7	2.02	0.15
D1	29	6.9	30	152 000	2.42×10^7	2.01	0.16
D2	30	6.8	30	152 000	2.42×10^7	2.01	0.16

Con estos parámetros iniciales se puede observar que cada tratamiento o celda presenta características adecuadas con las que se inicia su proceso de biorremediación.

Se observó que la temperatura estuvo entre los 29 y 30 °C, dentro de los rangos óptimos (18 - 30°C) que la bacteria necesita para alimentarse de los hidrocarburos; el pH se encontró entre los 6.8 a 7.3 unidades con lo que también estuvo dentro del rango óptimo (6.0 – 8.0 unidades) para el crecimiento bacteriano, en lo que refiere a la humedad se encontró dentro del rango óptimo (30% humedad) el cual es importante también ya que sirve como medio de transporte de los nutrientes y oxígeno.

El conteo bacteriano inicial de cada una de las celdas posterior a la colocación nutrientes y bacterias, empezó dentro del rango óptimo de concentración bacteriana ($10^6 - 10^8$) esta población adecuada permite que a medida que se alimentan las bacterias de los hidrocarburos se reproduzcan y repongan la población ya que cierta cantidad bacteriana también mueren en el proceso.

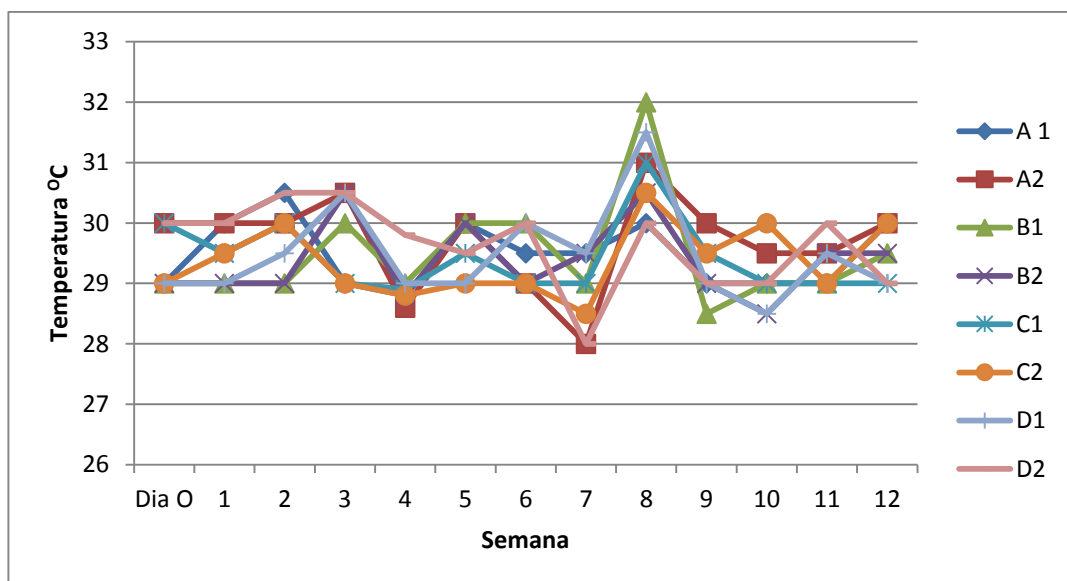
5.4. Variables de Seguimiento

5.4.1. Temperatura

Cabe recalcar que a temperaturas bajas, la viscosidad de los compuestos hidrocarbúricos aumenta y sus compuestos tóxicos de bajo peso se reducen, retrasando el proceso de biodegradación, ya que la temperatura influye en el metabolismo de los microorganismos, la actividad celular y enzimática.

Como se puede apreciar en la Gráfica 5.1 se mantuvo las temperaturas de los tratamientos dentro los rangos óptimos de biorremediación (18°C - 30°C), sin embargo en la semana 8 la temperatura sobrepasó los 30°C producto de variación en el clima, donde se pasaron días bastantes soleados y secaban las tierras con facilidad.

Pese al cuidado que se les daba, éste incremento en la temperatura nos hizo obtener una disminución en el porcentaje de humedad y por consiguiente hubo poco fluido para que las bacterias tuvieran mayor paso de nutrientes a través de sus células lo que llevo a una baja disminución de TPH aquella semana.

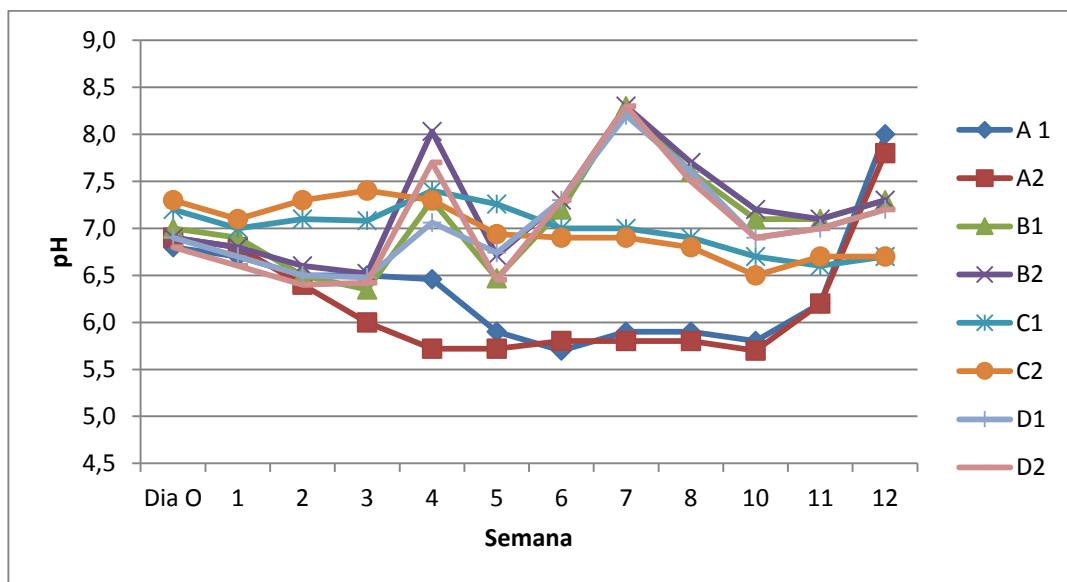


Gráfica 5.1 Temperaturas de los tratamientos a lo largo de la investigación

5.4.2.pH

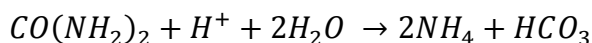
El parámetro pH es de gran importancia para la degradación de los hidrocarburos ya que ayuda en la actividad enzimática y en el desarrollo de las bacterias degradadoras.

Los rangos óptimos son 6 a 8 unidades en donde menores a 6 unidades (medio ácido) inhiben el crecimiento de grupos microbianos que ayudan en el proceso de degradación de hidrocarburos, así mismo para valores sobre los 8 unidades (medio alcalino).



Gráfica 5.2 pH de los tratamientos a lo largo de la investigación

Como se observa en la Gráfica 5.2 los valores de pH se encuentran en rango con los tratamientos referenciados para llevarlos a condiciones óptimas de biorremediación, con excepción de las semanas 4 y 7 para los tratamientos de B y D, cuyos valores de pH fueron elevados, los cuales se debería a que en dichas semanas hubo un aumento en la humedad de las correspondientes muestras, sumándole que en los nutrientes aplicados se encontraba la urea, los tratamientos B y D podrían haber sufrido un proceso de hidrólisis:



Urea + protón + agua \rightarrow amonio + bicarbonato

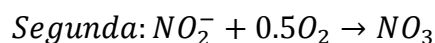
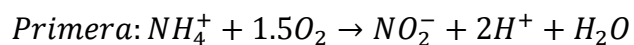
La hidrólisis incrementa significativamente el pH producto de que consume protones.

En el desarrollo de la investigación se adicionó a los tratamientos B y D, urea como nutriente principal por el contenido de nitrógeno y dichos tratamientos contienen valores altos en relación a pH respecto a los demás tratamientos como se puede observar en la Gráfica 5.2.

Los tratamientos B y D estuvieron por encima de los límites inferiores de pH (6 unidades) nunca por debajo y en una ocasión sobrepasaron el límite superior de pH (8 unidades). Esto evidentemente es causado por la adición de urea como nutriente a estos tratamientos, con lo que podría llegar a alcalinizar las tierras si no se lleva un control.

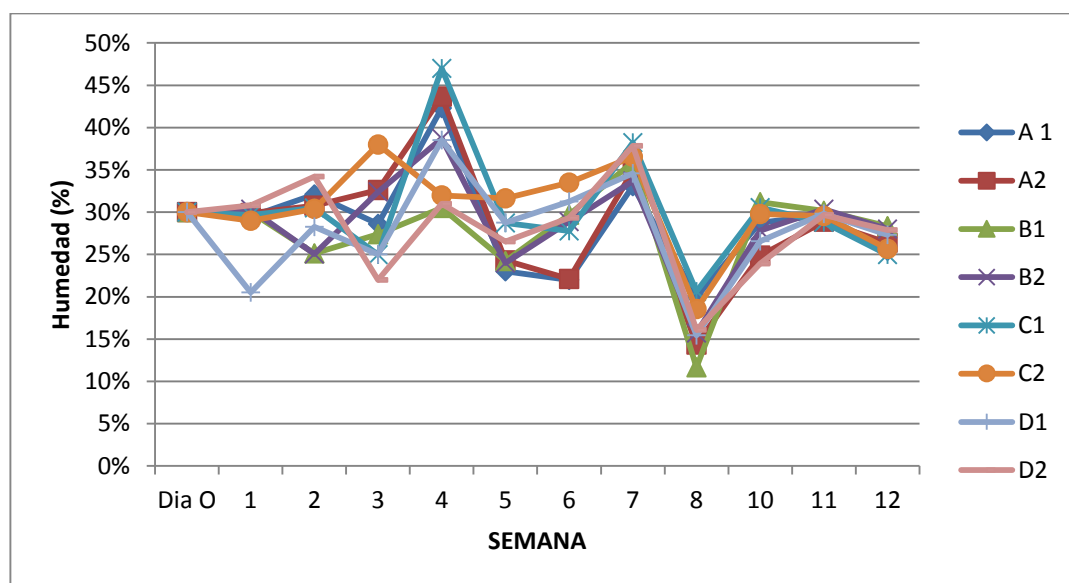
Se observa también en la Gráfica 5.2 que disminuye rápidamente el pH en los tratamientos B y D después del incremento en la semana 4 y 7, esto es debido a la fijación y asimilación del nitrógeno, las bacterias degradadoras oxidan el amonio y lo convierten en nitratos y nitritos. La presente oxidación reduce el pH consecuentemente con el tiempo [37].

Etapas de la oxidación:



5.4.3. Humedad

Las bacterias toman de la fase líquida los nutrientes necesarios para su crecimiento poblacional, el agua es fundamental para la movilización de los compuestos orgánicos y nutrientes hasta el interior de la células de las bacterias. Si hay poca humedad presente en las tierras se puede generar zonas secas donde habría poca actividad microbiana, mientras que a mayor humedad se puede inhibir el flujo de oxígeno y como resultado se darían zonas anaerobias [38] [39].



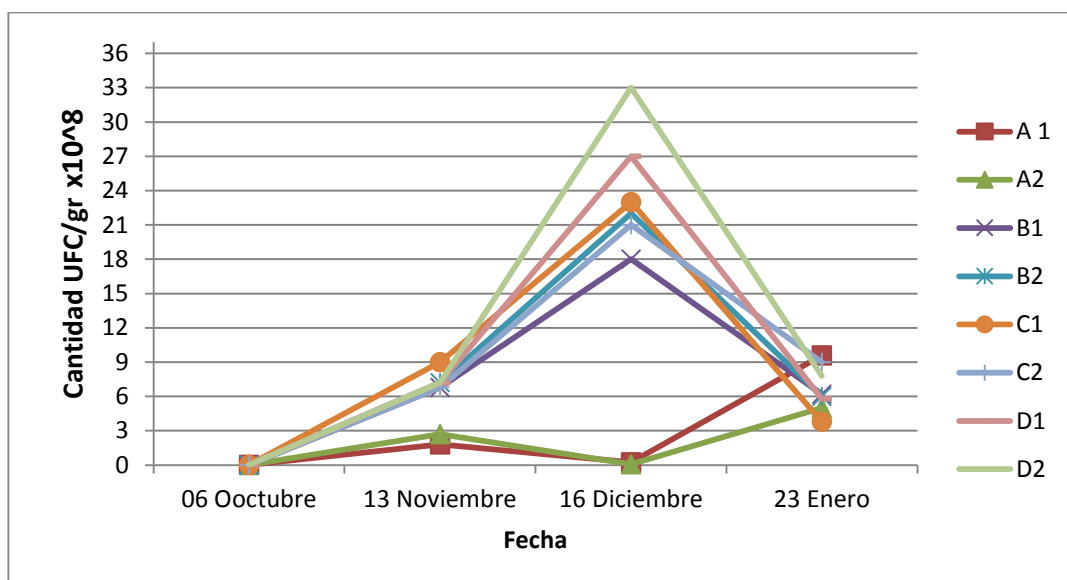
Gráfica 5.3 Humedad de los tratamientos a lo largo de la investigación

Durante el desarrollo de la investigación se mantuvo en constante riego los tratamientos para mantener la humedad óptima y se pueda dar el crecimiento bacteriano. Como se puede observar en la Gráfica 5.3 estuvo en el rango del 20% al 40% con excepción, de la semana 4 en la cual los testigos A1 y A2 presentaron humedades de 42 y 43% respectivamente. En la semana 8 se observó una disminución en la humedad en todos los tratamientos a diferencia del testigo A2 que obtuvo un 20% de humedad no muy baja comparada a los demás. La disminución de humedad se debe a la condición climática de aquella semana, producto del calor en el ambiente se secaban rápidamente las tierras.

5.4.4. Conteo Bacteriano

Se realizó análisis microbiológicos en el laboratorio CSA de la ESPOL, una vez por mes, mediante el método de siembra TSA en agar.

Los tratamientos de bioestimulación, que denominamos testigos (A1 y A2) en esta investigación presentaron un comportamiento de crecimiento de microorganismos hidrocarbúricos distinto de los demás tratamientos de bioaumentación (B1-2,C1-2,D1-2).



Gráfica 5.4 Crecimiento microbiano en las celdas de biorremediación

A1 y A2 , inició con una población de 0.012×10^6 UFC/gr y 0.011×10^6 UFC/gr respectivamente, a este tratamiento sólo se cuidó de aportarle los nutrientes necesarios para que el ciclo microbiológico de las bacterias siga activo. Esto nos indica que los lodos por si mismos cuentan con bacterias autóctonas capaces de sobrevivir al medio tóxico y alimentándose de estos contaminantes para su reproducción.

Los tratamiento B1 y B2, inició con una población igual de 0.162×10^7 UFC/gr , tomando en cuenta la inducción de los microorganismos activos a la celda de biorremediación. Este tratamiento alcanzó un máximo en B1= 18×10^8 UFC/gr y en

$B2 = 22 \times 10^8$ UFC/gr en el segundo mes, lo cual demuestra que la celda contaba con la población adecuada de bacterias para llevar a cabo la biorremediación.

Para los tratamientos de C1 y C2, se inició con la misma densidad poblacional de los tratamientos B1-2, pero este tratamiento alcanzó un máximo en C1 = 23×10^8 UFC/gr y en 21×10^8 UFC/gr al segundo mes, así se muestra un valor en promedio mayor que el tratamiento anterior, lo que podría indicar que la adición de iones K^+ , incrementaría la densidad microbiana en pequeños rangos. Esto sucede ya que el potasio cataliza diversas reacciones bacterianas, ayuda en diferentes procesos químicos dentro de las células y contribuye a mantener el agua dentro de éstas [40].

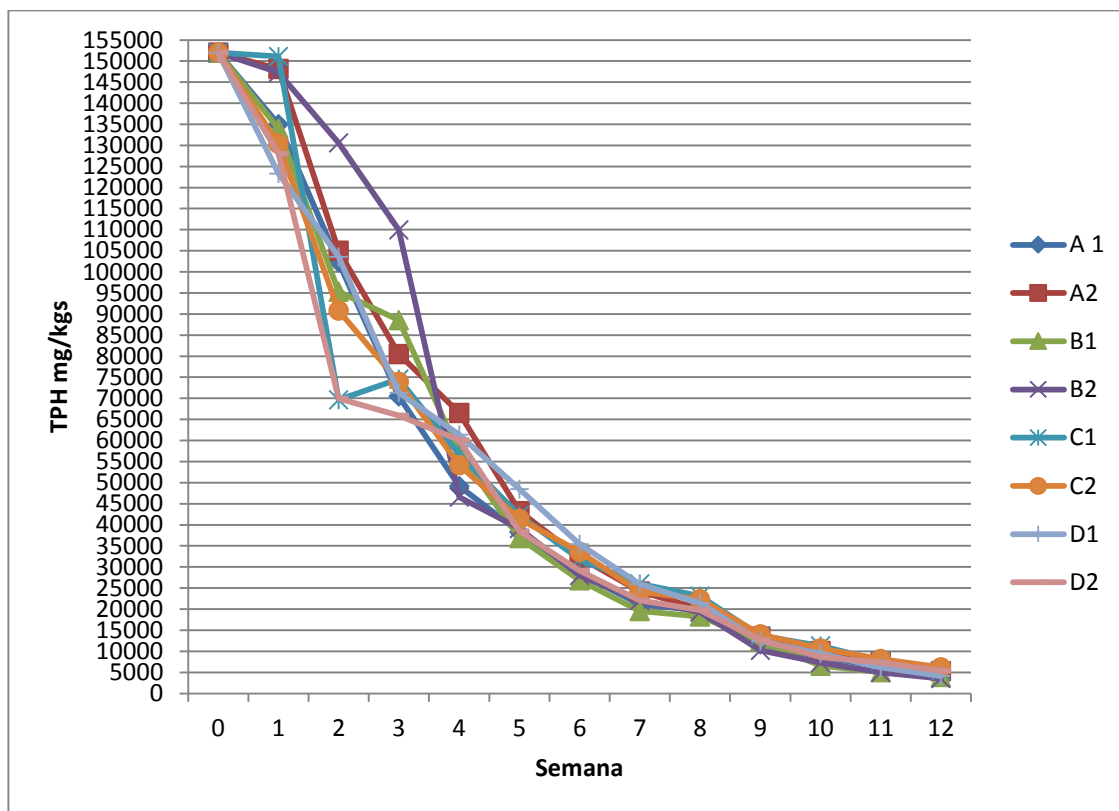
Los tratamientos D1 y D2 iniciaron con la mayor densidad microbiana de todos los tratamientos, se observa que al segundo mes alcanza su valor máximo para D1 = 27×10^8 UFC/gr y en D2 = 33×10^8 UFC/gr, el crecimiento de las bacterias indica la adaptación de las bacterias inducidas en el tratamiento.

Los tratamientos B1-2, C1-2, D1-2 muestran un crecimiento constante en los 8 primeras semanas, para el último mes decae.

En los tratamientos B1-2 , C1-2 , D1-2 la inclusión de fósforo conjunto con urea, en un momento libera fosfatos en el proceso de metabolismo microbiano y produce decaimiento en la población microbiana, lo que explica en el mes 3, los resultados mas bajos de densidad microbiana durante el tratamiento [38].

5.5.Variable de respuesta: TPH

Se realizó el análisis semanalmente de TPH, según el método de la EPA, especificado en el capítulo 4, por el método de extracción Soxhlet y gravimetría. Las tablas de datos recolectadas puede observarse en el Anexo C.



Gráfica 5.5 Degradación de Hidrocarburos en las celdas de biorremediación

En la Gráfica 5.5 se muestran los diferentes TPH alcanzados para todos los tratamientos en el transcurso de las semanas. Se puede apreciar una disminución con una tendencia logarítmica para todas en general. También se observa claramente que a partir de la semana 5 los valores de TPH ya no son alejados uno de otro para los tratamientos en general y en la semana 8 se presenta una disminución baja en TPH.

5.5.1. Tasa de degradación de TPH

En la Tabla XIII que se encuentra a continuación se muestra los valores de TPH inicial, TPH final, el porcentaje de reducción y la tasa de reducción que tuvieron los diferentes tratamientos en el tiempo total en el que se llevó a cabo la investigación.

Tabla XIII Degradación de hidrocarburos (TPH)

Celda	TPH Inicial (mg/kg)	TPH Final (mg/kg)	TPH Degradado_t (mg/kg)	% Reducción	Tasa Degradación (mg/kg.d)
A1 (testigo)	152 000	4 737.62	147 262.38	96.88%	1 753.124
A2 (testigo)	152 000	5 289.47	146 710.53	96.52%	1 746.554
B1	152 000	3 881.6	148 118.4	97.45%	1 763.314
B2 (replica)	152 000	3 504.59	148 495.41	97.69%	1 767.803
C1	152 000	5 319.65	146 680.35	96.50%	1 746.195
C2 (replica)	152 000	6 203.89	145 796.11	95.92%	1 735.668
D1	152 000	4 158.58	147 841.42	97.26%	1 760.017
D2 (replica)	152 000	5 346.13	146 653.87	96.48%	1 745.879
t: La cantidad de TPH que se removió en las 12 semanas del biotratamiento					

5.5.2. Testigo: A1 y A2

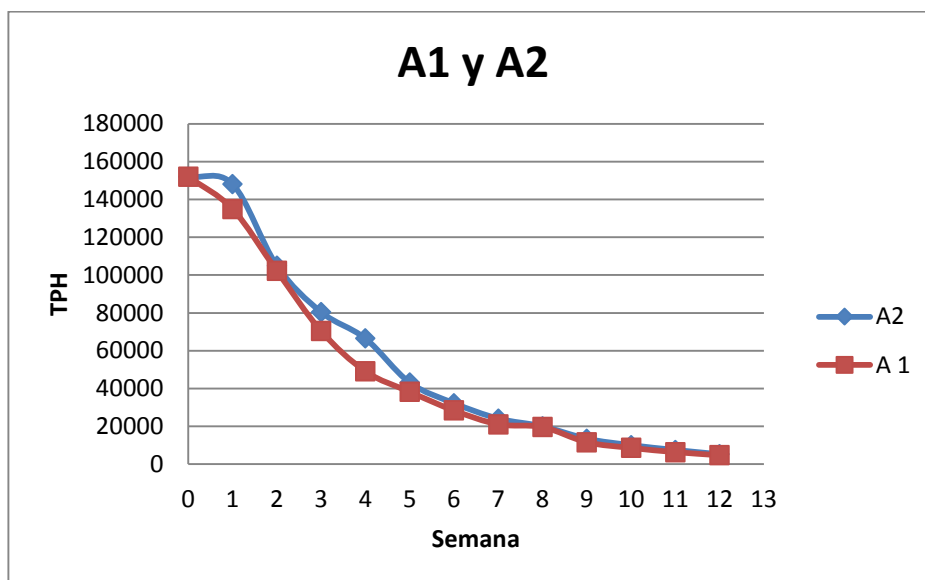
Los tratamientos testigos A1 y A2 tuvieron un TPH final de 4 737.62 y 5 289.47 respectivamente donde se comenzó el tratamiento con 152 000 de TPH, la tasa de degradación de hidrocarburos fue de 1 753.12 y 1 746.55 $\frac{\text{mgTPH}}{\text{kg.día}}$ respectivamente.

A estos tratamientos se les dió el seguimiento igual que los demás; movimientos diario para la aeración, toma de pH, control de humedad y temperatura, conteo bacteriano y adición de nutrientes periódicamente, es decir se hacía una bioestimulación ya que no se le adicionaba bacterias que no fueran propias del medio.

Como se observa en la Gráfica 5.6, que el testigo (A1) con su réplica (A2) tuvieron un comportamiento similar que en los tratamientos que se adicionaba bacterias no propias del medio para acelerar el proceso de degradación de TPH.

También a lo largo del tiempo de biorremediación (cada semana) se puede observar una disminución constante y en similitud con la réplica del testigo (A2) con lo que se analiza que no hubo uno solo con el comportamiento detallado sino ambos (testigo con su réplica) tuvieron una biodegradación con una tasa de remoción alta.

Los testigos A1 y A2 tuvieron un porcentaje de reducción de 96.88% y 96.52% respectivamente, uno de los porcentajes más altos en la investigación.



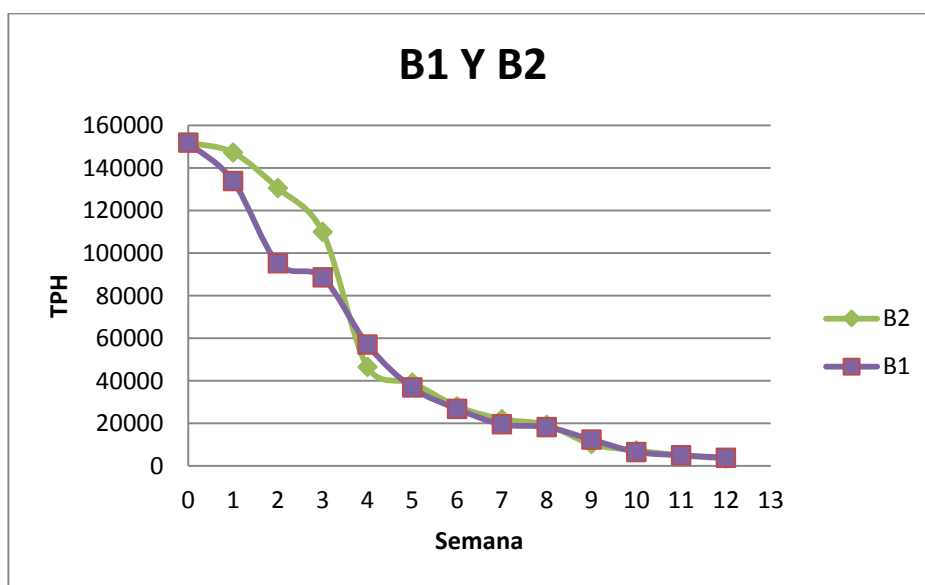
Gráfica 5.6 Degradación de Hidrocarburos en las celdas A1 y A2

5.5.3.B1 y B2

Los tratamientos B1 y B2 tuvieron un TPH final de 3 881.6 y 3 504.59 respectivamente donde se comenzó el tratamiento con 152 000 de TPH, la tasa de degradación de hidrocarburos fue de 1 763.314 y 1 767.803 $\frac{\text{mgTPH}}{\text{kg.día}}$. Estos tratamientos tuvieron la tasa de degradación más elevada con respecto a todos los tratamientos.

A estos tratamientos se les dio movimiento diario para la aeración, toma de pH, control de humedad y temperatura, conteo bacteriano, adición de nutrientes (urea y fosforo) y bacterias periódicamente, es decir estos tratamientos se les hacia bioaumentación y bioestimulación.

Los tratamientos B1 y B2 tuvieron un porcentaje de reducción de 97.45% y 97.69% respectivamente. Estos tratamientos tuvieron los porcentajes más altos de reducción en la investigación.



Gráfica 5.7 Degradación de Hidrocarburos en las celdas B1 y B2

En la Gráfica 5.7 referente a los tratamientos B1 y B2 se puede observar que en las primeras semanas estaban un poco alejados en cuanto a los resultados del TPH, pero en las semanas siguientes a partir de la semana 5 estos resultados comenzaron a tener similitud y a llevar una misma tendencia.

5.5.4.C1 y C2

Los tratamientos C1 y C2 tuvieron un TPH final de 5 319.65 y 6 203.89 respectivamente donde se comenzó el tratamiento con 152 000 de TPH, la tasa de degradación de hidrocarburos fue de 1 746.195 y 1 735.668 $\frac{\text{mgTPH}}{\text{kg.dia}}$ respectivamente.

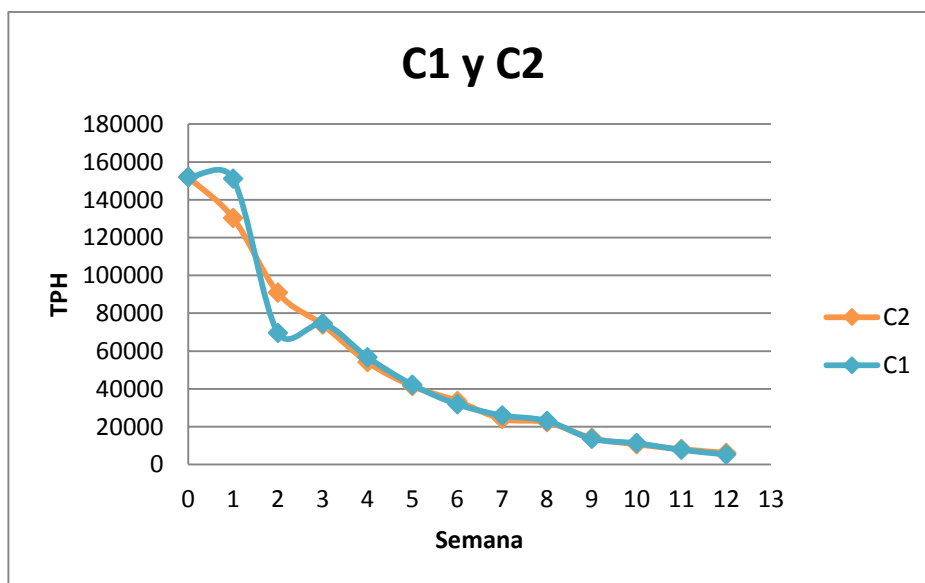
Estos tratamientos tuvieron la tasa de remoción más baja con respecto a todos los tratamientos.

A estos tratamientos se les dio movimiento diario para la aeración, toma de pH, control de humedad y temperatura, conteo bacteriano, adición de nutrientes (Nitrato de potasio y fosforo) y bacterias periódicamente, es decir estos tratamientos se les hacia bioaumentación y bioestimulación.

Cabe mencionar que los tratamientos C1 y C2 su nutriente principal fue el nitrato de potasio a diferencia de los demás tratamientos que fue urea.

Además de tener las tasa de degradación más baja también tuvieron el porcentaje de reducción más bajo con respecto a todos los tratamientos que fueron de 96.50% para C1 y de 95.92% para C2.

Se puede observar en la Gráfica 5.8 su disminución en el TPH sigue una tendencia en similitud a los anteriores tratamientos mencionados, también se puede observar que el tratamiento (C1) con su réplica (C2) hasta la semana 3 llevan una tendencia diferente y a partir de la semana 4 llegan a tener una similitud en la disminución periódica.



Gráfica 5.8 Degradación de Hidrocarburos en las celdas C1 y C2
5.5.5.D1 y D2

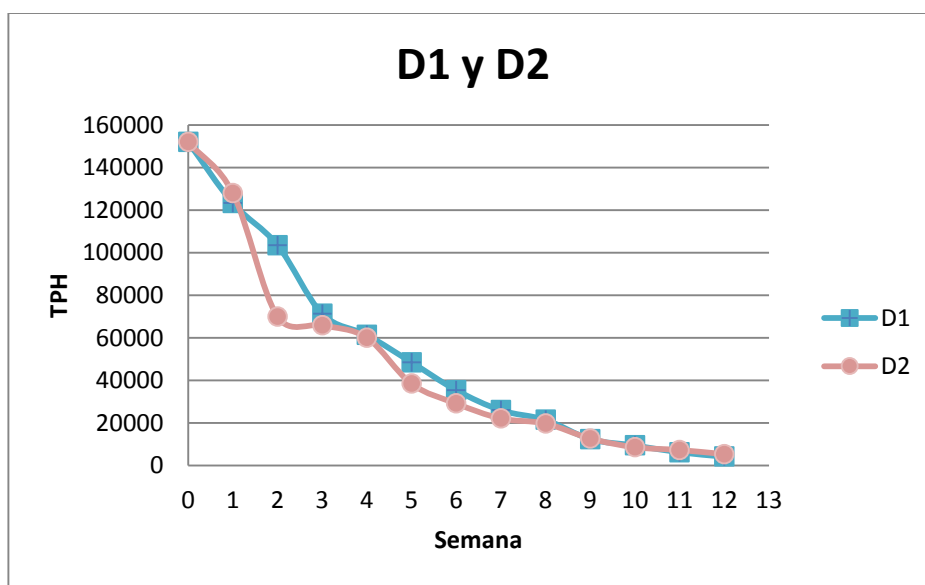
Los tratamientos D1 y D2 tuvieron un TPH final de 4 158.58 y 5 346.13 respectivamente donde se comenzó el tratamiento con 152 000 de TPH, la tasa de degradación de hidrocarburos fue de 1 760.02 y 1 745.88 $\frac{\text{mgTPH}}{\text{kg.dia}}$ respectivamente. Estos tratamientos tuvieron una tasa de degradación alta después de los tratamientos B1 y B2 y no tan distinta del tratamiento A1 y A2.

Los tratamientos D1 y D2 al igual que los demás tratamientos se les dio movimiento diario para la aeración, toma de pH, control de humedad y temperatura, conteo bacteriano, adición de nutrientes (urea y fósforo) y bacterias periódicamente, es decir estos tratamientos se les hacía bioaumentación y bioestimulación.

Importante mencionar que este tratamiento a pesar de tener la mayor densidad microbiana durante el tratamiento, no resulto ser más efectiva en cuanto a la reducción de TPH que los otros tratamientos que tienen menor densidad microbiana como es el caso de B1 y B2. Y a su vez A1 y A2 siendo la celda de biorremediación con menor densidad microbiana alcanza valores muy cercanos de tasa de reducción de TPH a comparación del tratamiento D1 y D2.

Los porcentajes de reducción para D1 y D2 fueron de 97.26% y 96.48% respectivamente, un alto porcentaje de reducción después de B1 y B2.

En la Gráfica 5.9 se observa una similitud en la tendencia de la disminución de TPH del tratamiento (D1) con su réplica (D2) pero con más exactitud a partir de semana 5.



Gráfica 5.9 Degradación de Hidrocarburos en las celdas D1 y D2

5.6. Constante de velocidad de Reacción

Este análisis se llevó a cabo para determinar la cinética de reacción de los tratamientos y así también proyectar la degradación de hidrocarburos con respecto al tiempo a partir de la semana 12, Véase en el Anexo J.

Para la velocidad de reacción fue necesario primero determinar las constantes cinéticas de velocidad de reacción (K^{-1}) de acuerdo al modelo matemático de MONOD – HERBERT, Véase en el Anexo I.

Al encontrar estas constantes se puede determinar el comportamiento de la concentración de hidrocarburos en el tiempo para los diferentes tratamientos.

Los tratamientos presentaron degradación gradual y continua y se llegó a determinar que los valores representaban a una ecuación de primer orden.

Tabla XIV Constante de velocidad de reacción de los tratamientos

	Nutriente	K^{-1}	R^2	Proyección de la concentración $A = A_0 * e^{(-Kt)}$
A1	Urea	0.2954	0.9954	
A2	Urea	0.2898	0.9949	
B1	Urea	0.3182	0.9886	
B2	Urea	0.3328	0.9807	
C1	Nitrato de potasio	0.2725	0.9836	
C2	Nitrato de potasio	0.2687	0.9966	
D1	Urea	0.2972	0.9858	
D2	Urea	0.2775	0.9906	

Analizando y comparando los resultados que se observan en la Tabla XIV podemos mencionar que los tratamientos donde se utilizó urea como nutriente tuvieron un valor más alto de constante de velocidad de reacción (K^{-1}) de primer orden que los tratamientos donde se utilizó nitrato de potasio como nutriente (C1 y C2).

También los coeficientes de correlación de todos los tratamientos están muy cercanos al valor uno (1) por lo que se puede deducir que los datos de los tratamientos presentaron una variabilidad baja.

Si se compara estos datos de cinética de reacción (Tabla XIV) con la tasa de degradación (Tabla XIII), se observa claramente una estrecha relación en cuanto al comportamiento de las constantes de velocidad de reacción y las tasas de degradación, es decir que a mayor constante de velocidad de reacción tendremos una tasa de degradación mayor.

Tomando por ejemplo B1 y C1 los cuales tienen una constante de velocidad de reacción (K^{-1}) de 0.3182 y 0.2725 respectivamente, tenemos en cuenta a su tasa de degradación 1763.314 y 1746.195 igual respectivamente.

5.7. Análisis de TPH comparados con laboratorio acreditado

Los análisis que se realizaron en esta investigación para la determinación de TPH fueron mediante el método de SOXHLET como se mencionó en el Capítulo 4.

Terminado el período de investigación, además del análisis final de TPH de los tratamientos, se mandó a realizar el mismo análisis de TPH final a un laboratorio acreditado para verificar adicionalmente si existía similitud en los resultados obtenidos, los cuales se pueden observar en la Tabla XV.

Tabla XV Valores de TPH final otorgado por laboratorio acreditado

Parámetro	Método	Muestra	Unidad	Resultado	Incertidumbre
Hidrocarburos totales	TNRCC 1005	A1	mg/Kg	169.66	±26%
		B1	mg/Kg	130.20	±26%
		C1	mg/Kg	402.85	±26%
		D1	mg/Kg	148.58	±26%

Los datos mostrados en la Tabla XV fueron obtenidos mediante un análisis de cromatografía de gases (CG) con detector de ionización de llama (FID), diferente al método que se realizó en esta investigación (Soxhlet + método gravimétrico), se puede ver la diferencia de estos datos con los de la Tabla XIII.

Esta diferencia en los valores de TPH se debe a la diferencia en los métodos empleados, cada uno tiene un proceso de extracción diferente para determinar el dato de TPH y el método utilizado soxhlet combinado con gravimetría va acumulando errores durante el transcurso de la obtención del dato como pueden ser extracción de todo compuesto que se disuelva en el solvente extractor, precisión de la balanza, entre otros. La cromatografía de gases responde a señales de enlaces entre C-H de cada molécula de hidrocarburo que esté desde nC6-nC35.

Sin embargo de la diferencia de resultados dependiendo del método, se confirma mediante el laboratorio acreditado que el biotratamiento ha sido efectivo al disminuir la concentración TPH a un nivel inferior a <4000 mg/kg.

CAPÍTULO 6

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Concluido los pasos de investigación, desarrollo, toma de datos, resultados y análisis de los mismos; se presenta este capítulo final con el fin de condensar el extenso trabajo de tesis y el lector pueda asimilar la información más destacada de este documento.

6.1. Conclusiones

1. Se analizó las condiciones iniciales de los lodos contaminados con aceites lubricantes y se determinó la necesidad de un prelavado usando Jet Fuel, con el cual se obtuvo una máxima remoción de TPH del 38.47%, con una relación solvente: suelo de 2:1. El Jet Fuel ya usado en un proceso de lavado, puede ser reutilizado obteniendo una remoción de TPH del 8.85% en el suelo inicial, importante tenerlo en cuenta con el fin de aminorar costos y uso del solvente en el pre-tratamiento de la biorremediación. Los residuos de este tratamiento (Jet Fuel con aceites lubricantes), puede ser vendido a empresas que puedan combustionar el material para obtener su energía calorífica ya que el Jet Fuel conjunto a los aceites lubricantes extraídos del suelo pueden combustionarse con facilidad al ser compuestos hidrocarbúricos. O a su vez esta mezcla puede llevarse a refinerías utilizando destilación fraccionada. De esta manera el producto no deseado (jet fuel +aceites), puede dársele un uso provechoso antes de incluirlo como desecho que impacte negativamente al medio ambiente, y pudiere generar una utilidad mas no un gasto.

2. Se aplicó la técnica de Landfarming en el método biológico (biorremediación), debido a su corroborado historial de éxito en este tipo de matriz, hidrocarburos con alto peso molecular y de difícil degradación. Se generó una cantidad mínima de lixiviados durante el desarrollo de la investigación que puede ser recirculado al sistema, y así no causan un impacto negativo significativo. Una vez finalizado el trabajo de investigación, se reintegra a los aspectos ambientales, un suelo con niveles por debajo de los permisibles (4000 ppm TPH). Sin preocupación alguna en cuanto a la vida celular (*pseudomonas*) aun presente, ya que son bacterias vegetativas, es decir, que una vez se termine su alimento, mueren y no producen ningún tipo de esporas ni alteración al entorno donde se dispongan finalmente.
3. No se evidenció diferencias significativas en cuanto a la disminución de los hidrocarburos totales de petróleo (TPH) entre las estrategias de bioestimulación y bioaumentación aplicadas en esta investigación, ya que al implantar colonias microbianas adaptadas al hidrocarburo no se obtienen resultados considerablemente superiores con respecto a los de la población autóctona. Se puede llevar a cabo un buen proceso de biorremediación utilizando la estrategia de bioestimulación.

4. Se elaboró un modelo cinético, de primer orden y de acuerdo al modelo matemático de Monod- Herbert, se hallaron las constantes cinéticas de reacción (constantes de degradación), con las que se logró estimar futuras variaciones en la concentración de TPH de las tierras tratadas (lodos) con respecto al tiempo, véase Anexo J.

5. Se estima que el tiempo de biorremediación de este tipo de lodo contaminado en referencia al tratamiento más efectivo, B1 y su réplica B2, es de 12 semanas(3 meses), luego de este tiempo el sólido puede ser dispuesto libremente a un suelo destinado a la zona industrial.

Sin embargo a la semana 14 (estimación de la concentración) todas las celdas de biorremediación o tratamientos llegan a cumplir con lo destinado.

6.2.Recomendaciones

- La técnica de lavado con jet fuel puede ser prescindida, con la consecuencia que las celdas de biorremediación inicien con un valor mucho más alto de

TPH, y el tratamiento biológico por ende demore considerablemente más tiempo.

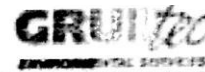
- Cuando se dé seguimiento de las condiciones de las celdas de biorremediación tales como la aireación manual, toma de temperatura, se recomienda desinfectar los materiales, para evitar posible contaminación cruzada.
- Dependiendo de los métodos para determinación de TPH, se obtendrá resultados notablemente distintos, si se elige un método normalizado se debe seguir con éste hasta la finalización de la investigación y preferiblemente si un laboratorio certificado avala tus resultados.

ANEXOS

Anexo A

Análisis inicial de lodos provenientes de la regeneradora de aceites usados, por laboratorios acreditados.

- Análisis de TPH inicial.
Fuente: Laboratorio Gruntec 2009



ENSAYOS
No. OAE LE 2C 05-008

REPORTE DE ANÁLISIS

Cliete: BIOFACTOR S.A.

Ave. Ca006 Julio Arcañena Km 1 1/2 - Guayaquil
Tel: 04 2201226

Attn: Ing. Edgar Enrique Pinzón

Proyecto: Gestión Ambiental de Residuos Especiales y Peligrosos

Muestra recibida: 08-may-09

Tipo de muestra: 1 muestra de sólido

Análisis completado: 29-may-09

Número reporte Gruntec: 090535-S1

Rotulación muestra	Muestra Tecnológica Experimental de Arcilla + Aceite	Método Adaptado de Referencia
Fecha muestreo	n/d	

Parámetros Orgánicos		
Hidrocarburos Totales de Petróleo mg/L ^(1,3)	150784	EPA 8015 B

Acreditaciones y Registros

(1) Acreditación No. OAE LE 2C 05-008,

(3) Registro DINAPA No. 007-SPA-RLAH;

(2) Acreditación CALA No. A3154;

(4) Registro DNMA No. LEA-R-005

Ing. Santiago Cadena
Gerente de Operaciones

Nota 1: Estos análisis, opiniones y/o interpretaciones están basados en el material e información provistos por el cliente para quien se ha realizado este informe en forma exclusiva y confidencial.

Nota 2: La toma de muestras fue realizada directamente por el cliente.

- Análisis de HAP y metales.

Fuente: LabCestta 2013

 LABCESTTA <small>Technologie & Soluciones</small> SGC	LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL E INSPECCIÓN Panamericana Sur Km. 1 ½ Telefax: (03) 2998232 ESPOCH FACULTAD DE CIENCIAS RIOBAMBA - ECUADOR	 LABORATORIO DE ENSAYOS N° DAE LE 2C 06-008
--	--	---

INFORME DE ENSAYO No: 1375
ST: 13- 101 ANÁLISIS DE SUELOS

Nombre Peticionario: NA
Atn. Egdo. Joel Serrano
Dirección: Avda. Octava y callejón segundo n° 207, Mapasingue Oeste.
FECHA: 25 de Junio del 2013
NUMERO DE MUESTRAS: 1
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB: 2013/06/17 15:50
FECHA DE MUESTREO: 2013/06/14 07:35
FECHA DE ANÁLISIS: 2013/06/17 - 2013/06/25
TIPO DE MUESTRA: Suelo Pasivo
CÓDIGO LABCESTTA: LAB-S 293-13
CÓDIGO DE LA EMPRESA: NA
PUNTO DE MUESTREO: NA
ANÁLISIS SOLICITADO: Tabla 6 RAOHE
PERSONA QUE TOMA LA MUESTRA: NA
CONDICIONES AMBIENTALES: T máx.:25.0 °C. T mín.: 15.0 °C

RESULTADOS ANALÍTICOS:

PARAMETROS	MÉTODO /NORMA	UNIDAD	RESULTADO	VALOR LÍMITE PERMISIBLE			INCERTIDUMBRE (k=2)
				Uso Agrícola	Uso Industrial	Ecosistema Sensible	
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos	PEE/LABCESTTA/23 EPA SW-846 N°8310 EPA SW-846 N°3540	mg/Kg	< 0,3	<2	<5	<1	±30%
Cadmio	PEE/LABCESTTA/76 EPA SW-846, N° 3050B, 7130	mg/Kg	< 0,8	<2	<10	<1	±38%
Niquel	PEE/LABCESTTA/77 EPA SW-846 N° 3050B, 7520	mg/Kg	< 30	<50	<100	<40	±12%
Plomo	PEE/LABCESTTA/78 EPA SW-846 N° 3050B, 7420	mg/Kg	< 20	<100	<500	<80	±38%

OBSERVACIONES:

- Muestra receptada en laboratorio.
- Resultados comparados con límites permisibles Tabla 6 RAOHE

RESPONSABLES DEL INFORME:

Dr. Mauricio Álvarez
RESPONSABLE TÉCNICO

Ing. Marcela Erazo
JEFE DE LABORATORIO

Anexo B

Análisis después del lavado con jetfuel

Fuente: Laboratorio Cesta

 <p>LABCESTA Tecnología & Soluciones SGC</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL E INSPECCIÓN</p> <p>Panamericana Sur Km. 1 ½ Telefax: (03) 2998232 ESPOCH FACULTAD DE CIENCIAS RIOBAMBA - ECUADOR</p>	 <p>LABORATORIO DE ENSAYOS N° DAE LE 2C 06-008</p>
--	---	---

INFORME DE ENSAYO No:
ST:

1636
13- 115 ANÁLISIS DE SUELOS

Nombre Peñonario:

UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL

Atn.

Ing. Raul Serrano

Dirección:

Av. Kennedy s/n Av. Delta

FECHA:

29 de Agosto del 2013

NUMERO DE MUESTRAS:

1

FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB:

2013/08/24 10:00

FECHA DE MUESTREO:

2013/08/23 09:00

FECHA DE ANÁLISIS:

2013/08/24 - 2013/08/29

TIPO DE MUESTRA:

Suelo lavado con hidrocarburos

CÓDIGO LABCESTA:

LAB-S 353-13

CÓDIGO DE LA EMPRESA:

S-1

PUNTO DE MUESTREO:

Laboratorio ESPOL

ANÁLISIS SOLICITADO:

TPH

PERSONA QUE TOMA LA MUESTRA:

Ing. Raul Serrano

CONDICIONES AMBIENTALES:

T máx.: 25.0 °C. T mín.: 15.0 °C

RESULTADOS ANALÍTICOS:

PARÁMETROS	MÉTODO /NORMA	UNIDAD	RESULTADO	VALOR LÍMITE PERMISIBLE			INCERTIDUMBRE (k=2)
				Uso Agrícola	Uso Industrial	Ecosistema Sensible	
Hidrocarburos Totales	PEE/LABCESTA/26 TNRCC 1005	mg/Kg	236444,61	<2500	<4000	<1000	±4%

OBSERVACIONES:

- Muestra receptada en laboratorio.
- Resultados comparados con límites permisibles Tabla 6 RAOHE

RESPONSABLES DEL INFORME:

Dr. Mauricio Álvarez
RESPONSABLE TÉCNICO

Ing. Marcela Erazo
JEFE DE LABORATORIO

Anexo C

Concentración de TPH mg/Kgss en los tratamientos

Semana	TESTIGO		TRATAMIENTO B		TRATAMIENTO C		TRATAMIENTO D	
	A 1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2
Día 0	152000.00	152000.00	152000.00	152000.00	152000.00	152000.00	152000.00	152000.00
1	134984.15	148126.62	133971.29	147294.59	151102.72	130382.39	123324.15	128028.39
2	102299.49	105023.24	95301.25	130598.65	69666.00	90837.89	103541.65	69941.00
3	70492.44	80482.60	88581.52	109931.00	74612.65	73910.99	71291.13	65928.13
4	49152.71	66511.41	57068.77	46533.66	56727.62	54145.82	61338.08	60068.01
5	38305.24	43215.71	36837.62	39122.68	42223.12	41439.75	48498.32	38434.47
6	28434.03	32304.42	26856.81	27985.95	31847.79	33602.64	35406.41	29135.42
7	21106.62	24148.06	19580.21	22019.41	26021.95	24100.69	25959.98	22086.24
8	19667.47	20051.05	18275.14	19320.65	23119.12	22379.58	21465.55	19742.57
9	11629.98	13493.45	12407.43	10244.11	13666.78	14016.57	12411.42	12691.78
10	8632.95	10086.56	6587.63	7328.00	11308.49	10689.27	9420.04	8621.06
11	6408.25	7539.86	5031.83	4942.00	7775.42	8151.81	6212.82	7293.29
12	4737.62	5289.47	3881.60	3504.59	5319.65	6203.89	4158.58	5346.13

Anexo D

Unidades de pH en los tratamientos

Semana	TESTIGO		TRATAMIENTO B		TRATAMIENTO C		TRATAMIENTO D	
	A 1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2
Día 0	6.8	6.9	7.0	6.9	7.2	7.3	6.9	6.8
1	6.7	6.8	6.9	6.8	7.0	7.1	6.7	6.6
2	6.5	6.4	6.5	6.6	7.1	7.3	6.5	6.4
3	6.5	6.0	6.4	6.5	7.1	7.4	6.5	6.4
4	6.5	5.7	7.3	8.0	7.4	7.3	7.1	7.7
5	5.9	5.7	6.5	6.7	7.3	6.9	6.7	6.5
6	5.7	5.8	7.2	7.3	7.0	6.9	7.3	7.3
7	5.9	5.8	8.3	8.3	7.0	6.9	8.2	8.3
8	5.9	5.8	7.6	7.7	6.9	6.8	7.6	7.5
10	5.8	5.7	7.1	7.2	6.7	6.5	6.9	6.9
11	6.2	6.2	7.1	7.1	6.6	6.7	7.0	7.0
12	8.0	7.8	7.3	7.3	6.7	6.7	7.2	7.2

Anexo E

Temperatura (°C) en los tratamientos

Semana	TESTIGO		TRATAMIENTO B		TRATAMIENTO C		TRATAMIENTO D	
	A 1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2
Día 0	29	30	29	29	30	29	29	30
1	30	30	29	29	29.5	29.5	29	30
2	30.5	30	29	29	30	30	29.5	30.5
3	29	30.5	30	30.5	29	29	30.5	30.5
4	28.8	28.6	29	28.8	28.9	28.8	29	29.8
5	30	30	30	30	29.5	29	29	29.5
6	29.5	29	30	29	29	29	30	30
7	29.5	28	29	29.5	29	28.5	29.5	28
8	30	31	32	30.5	31	30.5	31.5	30
9	29	30	28.5	29	29.5	29.5	29	29
10	29	29.5	29	28.5	29	30	28.5	29
11	29	29.5	29	29.5	29	29	29.5	30
12	30	30	29.5	29.5	29	30	29	29

Anexo F

Porcentaje (%) de humedad en los tratamientos

Semana	TESTIGO		TRATAMIENTO B		TRATAMIENTO C		TRATAMIENTO D	
	A 1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2
Día 0	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00
1	29.49	29.90	30.01	30.34	29.68	28.99	20.50	30.79
2	32.10	30.78	25.12	25.06	30.50	30.39	28.28	34.19
3	28.60	32.63	27.40	32.40	24.98	38.00	25.00	22.00
4	42.30	43.64	30.51	38.72	47.00	31.96	38.50	31.00
5	23.02	24.29	24.23	23.98	28.70	31.62	28.74	26.51
6	22.00	22.10	29.70	28.86	27.78	33.48	31.27	29.33
7	33.08	34.90	35.91	33.67	38.22	36.56	34.59	37.84
8	20.00	14.33	11.66	15.71	20.64	18.56	15.44	16.10
10	28.75	24.86	31.18	27.82	30.53	29.78	26.55	23.90
11	29.67	28.88	30.14	30.33	28.78	29.55	29.82	29.67
12	25.44	26.36	28.33	28.01	24.98	25.67	27.32	27.88

Anexo G

Microorganismos (U.F.C/g) en los tratamientos

Fecha	TESTIGO E+08		TRATAMIENTO B E+08		TRATAMIENTO C E+08		TRATAMIENTO D E+08	
	A 1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2
06 Octubre	0.012	0.011	0.15	0.15	0.162	0.162	0.242	0.242
13 Noviembre	1.800	2.700	6.800	7.200	9.000	6.800	7.200	7.200
16 Diciembre	0.250	0.074	18.000	22.000	23.000	21.000	27.000	33.000
23 Enero	9.600	5.000	6.200	6.000	3.800	9.000	5.800	7.800

Anexo H

Equipos de laboratorio utilizados en la investigación

-Equipo de extracción soxhlet

-pH-metro de precisión 0.1 y rango 0 a 14 unidades

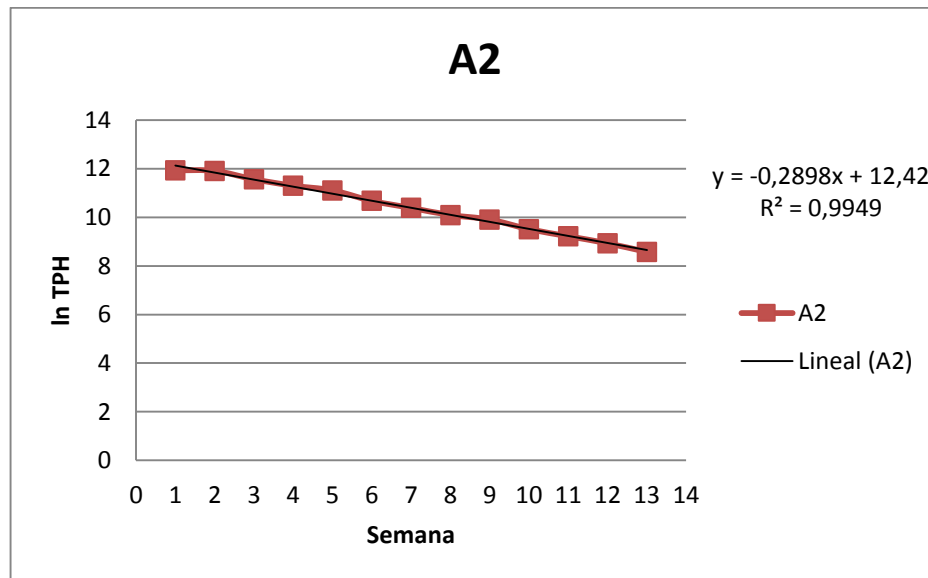
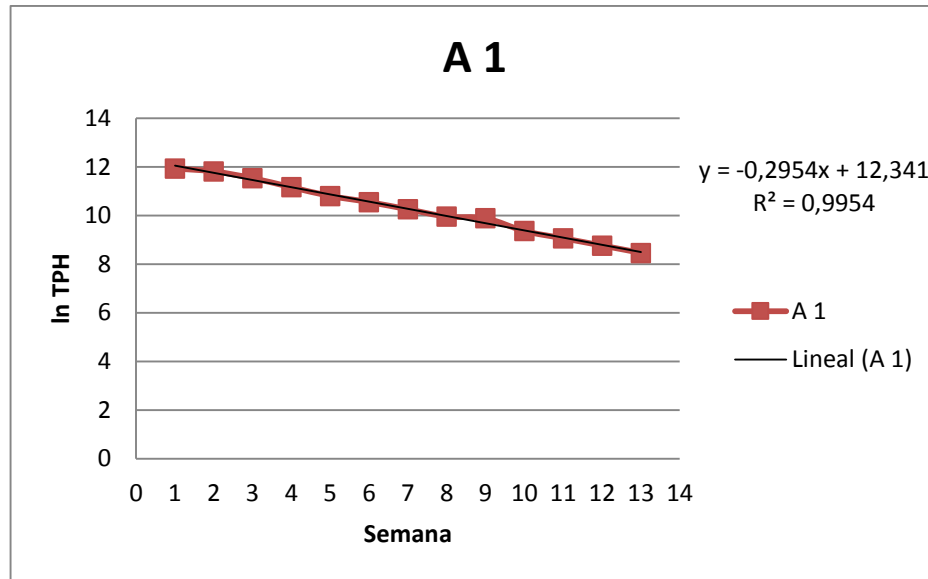
-Equipo de rotavapor



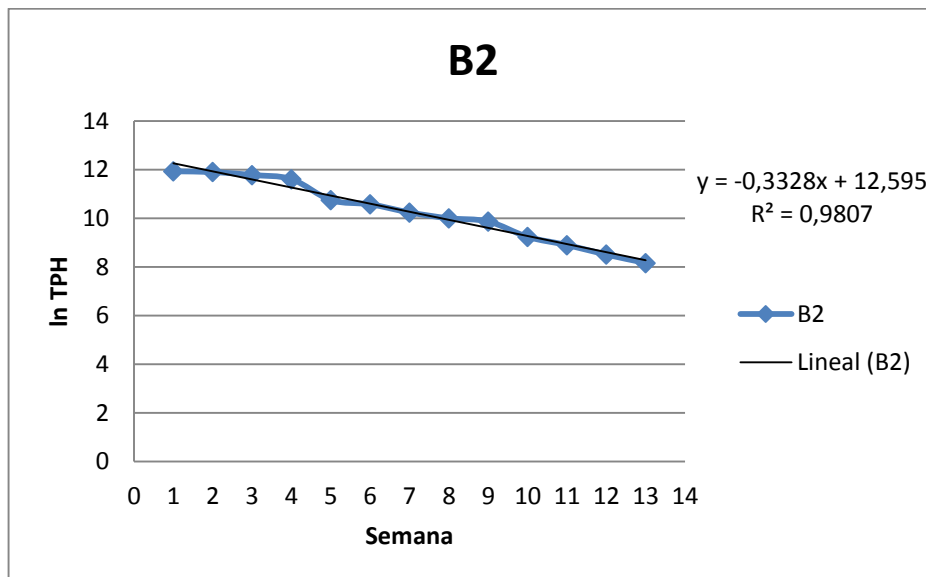
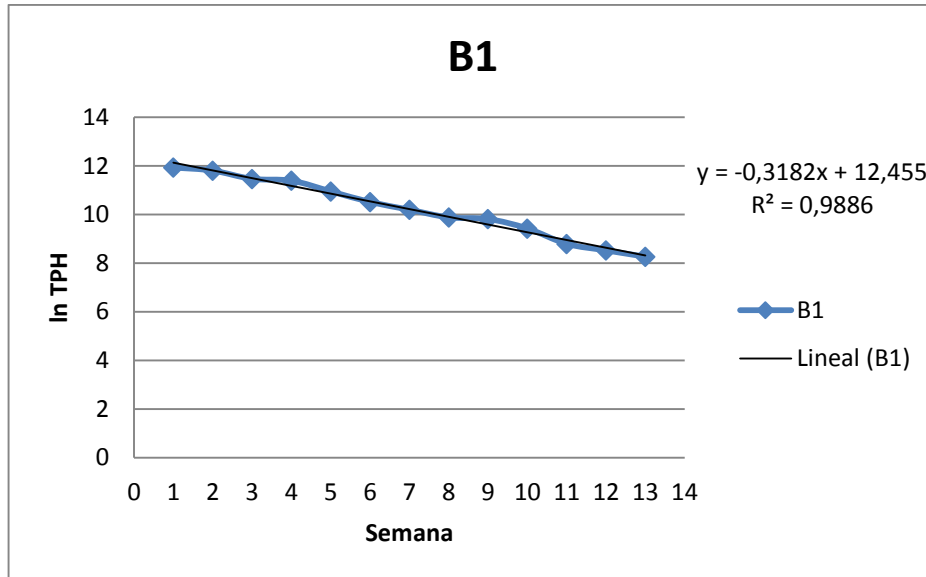
Anexo I

Gráficas de constantes de velocidad de reacción

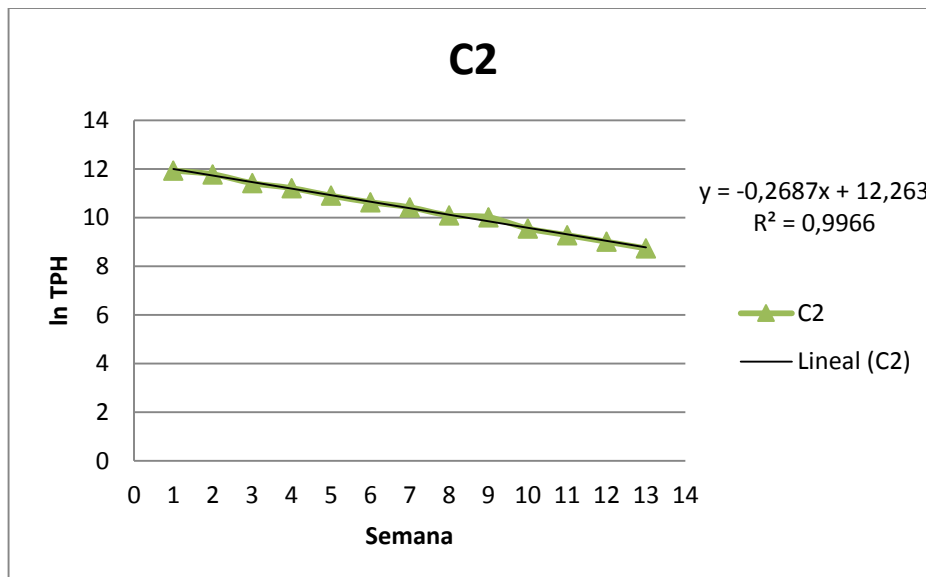
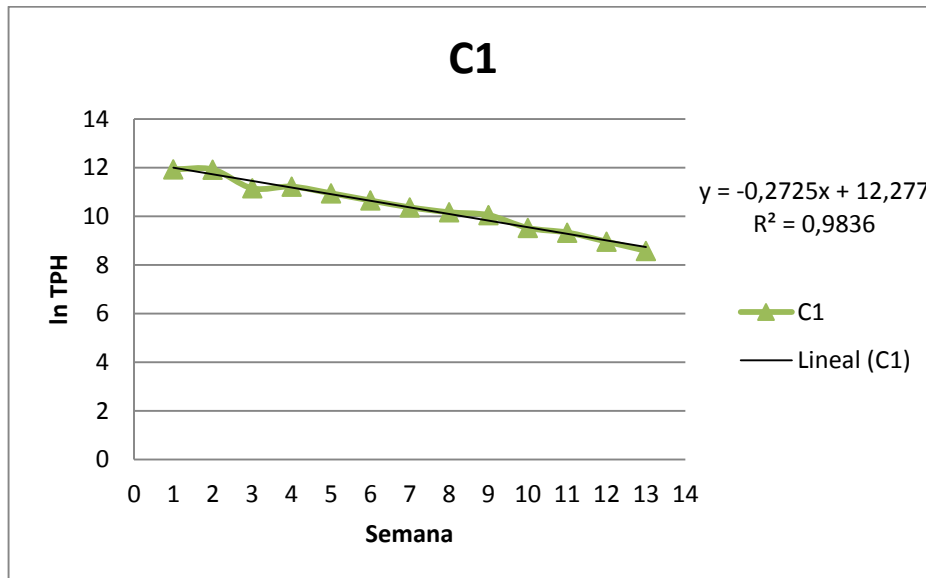
- Constante de degradación de testigo A1 y A2



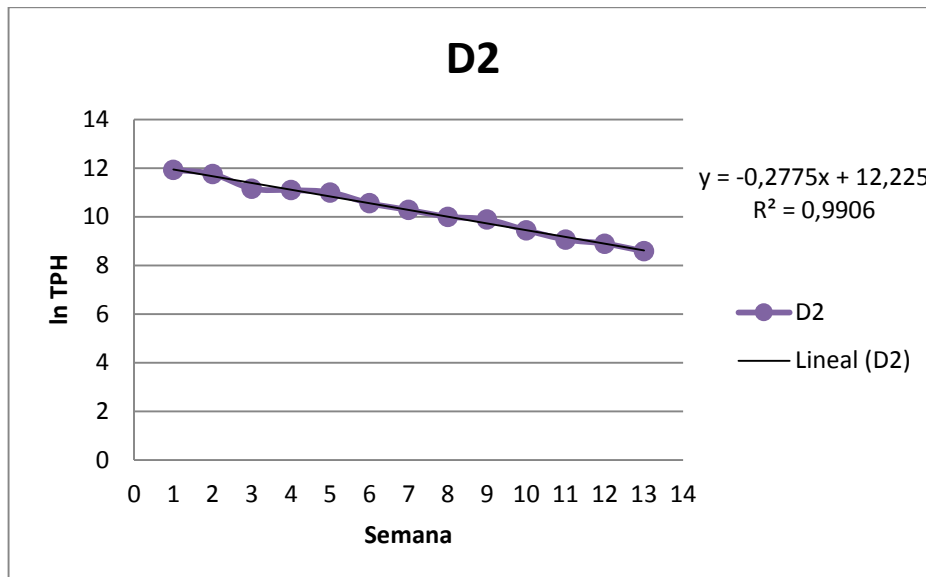
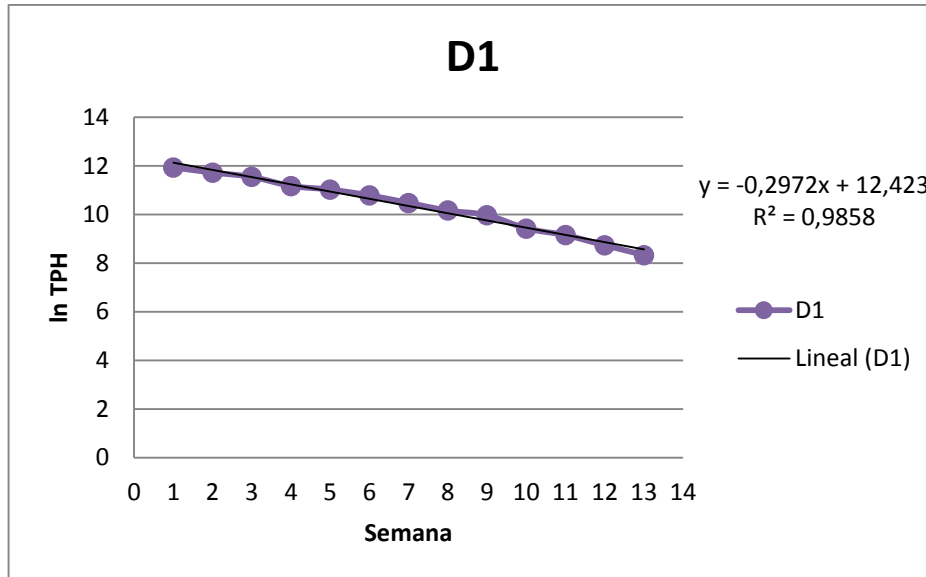
- Constante de degradación de tratamiento B1 y B2



- Constante de degradación de tratamiento C1 y C2



- Constante de degradación de tratamiento C1 y C2



Anexo J

Proyección de la concentración final de los tratamientos

- Testigos más nutriente (Urea)

Tiempo (semanas)	TPH mg/Kgss		Ln TPH (mg/Kgss)		Proyección $A = A_0 \cdot e^{(-kt)}$	
	A1	A2	A1	A2	A1	A2
0	152000	152000	11.9316358	11.9316358	-	-
1	134984.152	148126.619	11.8129127	11.9058227	-	-
2	102299.492	105023.24	11.53566	11.5619369	-	-
3	70492.439	80482.595	11.1632607	11.2957962	-	-
4	49152.7103	66511.411	10.8026873	11.1051288	-	-
5	38305.238	43215.7112	10.5533419	10.6739594	-	-
6	28434.0295	32304.4216	10.2553419	10.3829594	-	-
7	21106.6182	24148.0616	9.95734193	10.0919594	-	-
8	19667.471	20051.0547	9.88672133	9.90603703	-	-
9	11629.9847	13493.4464	9.36134193	9.50995939	-	-
10	8632.95322	10086.5627	9.06334193	9.21895939	-	-
11	6408.25274	7539.86377	8.76534193	8.92795939	-	-
12	4737.62	5289.47	8.46329018	8.57347333	-	-
13	-	-	-	-	3660.66462	4284.67508
14	-	-	-	-	2724.39047	3206.70754
15	-	-	-	-	2027.58356	2399.94236
16	-	-	-	-	1508.99629	1796.14863
17	-	-	-	-	1123.04609	1344.26141
18	-	-	-	-	835.808901	1006.06303
19	-	-	-	-	622.037263	752.950885
20	-	-	-	-	462.941178	563.518408
21	-	-	-	-	344.536488	421.744635
22	-	-	-	-	256.415711	315.639267

- B1 y B2 más nutriente (Urea)

Tiempo (semanas)	TPH mg/Kgss		Ln TPH (mg/Kgss)		Proyección $A = A_0 \cdot e^{(-kt)}$	
	B1	B2	B1	B2	B1	B2
0	152000	152000	11.9316358	11.9316358	-	-
1	133971.29	147294.59	11.8053808	11.9001899	-	-
2	95301.2505	130598.65	11.4647982	11.7798842	-	-
3	88581.518	109931	11.3916785	11.6076082	-	-
4	57068.7711	46533.662	10.9520123	10.7479312	-	-
5	36837.6164	39122.6848	10.5142748	10.5744578	-	-
6	26856.8124	27985.9465	10.1982748	10.2394578	-	-
7	19580.2129	22019.4134	9.88227479	9.99967977	-	-
8	18275.1392	19320.6489	9.8132969	9.86892969	-	-
9	12407.4252	10244.1056	9.42605038	9.23445775	-	-
10	6587.63166	7327.99887	8.79294918	8.89945775	-	-
11	5031.83457	4941.99669	8.52353992	8.50552472	-	-
12	3881.6	3504.59	8.26400272	8.16182882	-	-
13	-	-	-	-	2981.55424	2795.59432
14	-	-	-	-	2168.95334	2004.19948
15	-	-	-	-	1577.8209	1436.83779
16	-	-	-	-	1147.79731	1030.0885
17	-	-	-	-	834.97351	738.484416
18	-	-	-	-	607.407561	529.429494
19	-	-	-	-	441.863053	379.555185
20	-	-	-	-	321.436496	272.10826
21	-	-	-	-	233.83132	195.078102
22	-	-	-	-	170.102296	139.854137

- C1 y C2 más nutriente (nitrato de potasio)

Tiempo (semanas)	TPH mg/Kgss		Ln TPH (mg/Kgss)		Proyección $A = A_0 \cdot e^{(-kt)}$	
	C1	C2	C1	C2	C1	C2
0	152000	152000	11.9316358	11.9316358	-	-
1	151102.72	130382.392	11.9257151	11.7782269	-	-
2	69666	90837.891	11.1514677	11.4168318	-	-
3	74612.6547	73910.992	11.2200654	11.2106168	-	-
4	56727.6246	54145.82	10.9460166	10.8994361	-	-
5	42223.116	41439.7487	10.6507231	10.6319958	-	-
6	31847.7852	33602.636	10.3687231	10.4223598	-	-
7	26021.9463	24100.6915	10.1666956	10.0899958	-	-
8	23119.122	22379.5849	10.0484153	10.0159044	-	-
9	13666.7769	14016.5747	9.52272312	9.54799581	-	-
10	11308.4902	10689.2711	9.33330906	9.27699581	-	-
11	7775.42285	8151.81445	8.95872312	9.00599581	-	-
12	5319.65	6203.89	8.57916279	8.73293179	-	-
13	-	-	-	-	4731.51156	4920.6701
14	-	-	-	-	3602.92034	3761.22507
15	-	-	-	-	2743.5281	2874.97713
16	-	-	-	-	2089.12375	2197.55355
17	-	-	-	-	1590.81223	1679.74958
18	-	-	-	-	1211.36124	1283.95444
19	-	-	-	-	922.419399	981.419507
20	-	-	-	-	702.397863	750.170114
21	-	-	-	-	534.857309	573.409431
22	-	-	-	-	407.27963	438.298419

- **D1 y D2 más nutriente (Urea)**

Tiempo (semanas)	TPH mg/Kgss		Ln TPH (mg/Kgss)		Proyección $A = A_0 \cdot e^{(-kt)}$	
	D1	D2	D1	D2	D1	D2
0	152000	152000	11.9316358	11.9316358	-	-
1	123324.151	128028.39	11.7225715	11.7600073	-	-
2	103541.646	69941	11.5477292	11.1554073	-	-
3	71291.1295	65928.13	11.1745272	11.0963205	-	-
4	61338.08	60068.01	11.0241561	11.0032327	-	-
5	48498.3225	38434.4659	10.7892845	10.5567099	-	-
6	35406.4056	29135.4197	10.474648	10.2797099	-	-
7	25959.975	22086.2359	10.1643112	10.0027099	-	-
8	21465.5453	19742.5705	9.97420439	9.89053252	-	-
9	12411.4207	12691.7808	9.42637235	9.44870989	-	-
10	9420.04075	8621.06155	9.15059469	9.06196351	-	-
11	6212.81857	7293.28897	8.73436995	8.89470989	-	-
12	4158.58	5346.13	8.33292895	8.58412821	-	-
13	-	-	-	-	3874.60887	4188.08974
14	-	-	-	-	2878.42918	3173.21326
15	-	-	-	-	2138.37185	2404.26615
16	-	-	-	-	1588.58665	1821.65371
17	-	-	-	-	1180.15374	1380.2225
18	-	-	-	-	876.730809	1045.76087
19	-	-	-	-	651.319301	792.347454
20	-	-	-	-	483.862125	600.342304
21	-	-	-	-	359.458956	454.864694
22	-	-	-	-	267.040411	344.639864

Anexo K

Análisis de TPH final.

- Análisis de TPH final al tratamiento A1 por laboratorio acreditado
Fuente: LabCestta 2014.

	LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL E INSPECCIÓN Panamericana Sur Km. 1 ½ Telefax: (03) 2998232 ESPOCH FACULTAD DE CIENCIAS RIOBAMBA - ECUADOR	
---	--	---

INFORME DE ENSAYO No: 389
ST: 14- 033 ANÁLISIS DE SUELOS

Nombre Peticionario: NA
Atm. Sr. Joel Serrano
Dirección: Avda. Octava y Callejón segundo No. 207, Mapasingue Oeste, Guayaquil
11 de Marzo del 2014

FECHA: 1
NUMERO DE MUESTRAS: 2014/03/06 10:00
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB: 2014/02/12 10:00
FECHA DE MUESTREO: 2014/03/06 - 2014/03/11
FECHA DE ANÁLISIS: 1
TIPO DE MUESTRA: Suelo contaminado
CÓDIGO LABCESTTA: LAB-S 0163-14
CÓDIGO DE LA EMPRESA: A1
PUNTO DE MUESTREO: Proyecto de tesis
ANÁLISIS SOLICITADO: TPH
PERSONA QUE TOMA LA MUESTRA: Joel Serrano
CONDICIONES AMBIENTALES: T máx.:25.0 °C. T min.: 15.0 °C

RESULTADOS ANALÍTICOS:

PARÁMETROS	MÉTODO /NORMA	UNIDAD	RESULTADO	VALOR LÍMITE PERMISIBLE			INCERTIDUMBRE (k=2)
				Uso Agrícola	Uso Industrial	Ecossistema Sensible	
Hidrocarburos Totales	PEE/LABCESTTA/26 TNRCC 1005	mg/Kg	169,66	<2500	<4000	<1000	±26%

OBSERVACIONES:

- Muestra transportada en refrigeración.
- Resultados comparados con límites permisibles Tabla 6 RAOHE .

RESPONSABLES DEL INFORME:

Dr. Mauricio Álvarez
RESPONSABLE TÉCNICO

Ing. Marcela Erazo
JEFE DE LABORATORIO

- **Análisis de TPH final al tratamiento B1 por laboratorio acreditado**
Fuente: LabCestta 2014.

 LABCESTTA Tecnología & Soluciones SGC	LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL E INSPECCIÓN Panamericana Sur Km. 1 ½ Telefax: (03) 2998232 ESPOCH FACULTAD DE CIENCIAS RIOBAMBA - ECUADOR	 LABORATORIO DE ENSAYOS N° OAE LE 2C 06-008
--	--	---

INFORME DE ENSAYO No: ST: Nombre Peticionario: Atn. Dirección: FECHA: NUMERO DE MUESTRAS: FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB: FECHA DE MUESTREO: FECHA DE ANÁLISIS: TIPO DE MUESTRA: CÓDIGO LABCESTTA: CÓDIGO DE LA EMPRESA: PUNTO DE MUESTREO: ANÁLISIS SOLICITADO: PERSONA QUE TOMA LA MUESTRA: CONDICIONES AMBIENTALES:	389 14- 033 ANÁLISIS DE SUELOS NA Sr. Joel Serrano Avda. Octava y Callejón segundo No. 207, Mapasingue Oeste, Guayaquil 11 de Marzo del 2014 1 2014/03/06 10:00 2014/02/12 10:00 2014/03/06 - 2014/03/11 Suelo contaminado LAB-S 0164-14 B1 Proyecto de tesis TPH Joel Serrano T máx.:25.0 °C. T min.: 15.0 °C
---	---

RESULTADOS ANALÍTICOS:

PARÁMETROS	MÉTODO /NORMA	UNIDAD	RESULTADO	VALOR LÍMITE PERMISIBLE			INCERTIDUMBRE (k=2)
				Uso Agrícola	Uso Industrial	Ecosistema Sensible	
Hidrocarburos Totales	PEE/LABCESTTA/26 TNRCC 1005	mg/Kg	130,20	<2500	<4000	<1000	±26%

OBSERVACIONES:

- Muestra transportada en refrigeración.
- Resultados comparados con límites permisibles Tabla 6 RAOHE .

RESPONSABLES DEL INFORME:

Dr. Mauricio Álvarez
RESPONSABLE TÉCNICO

Ing. Marcela Erazo
JEFE DE LABORATORIO

- **Análisis de TPH final al tratamiento C1 por laboratorio acreditado**
Fuente: LabCestta 2014.

	LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL E INSPECCIÓN Panamericana Sur Km. 1 ½ Telefax: (03) 2998232 ESPOCH FACULTAD DE CIENCIAS RIOBAMBA - ECUADOR	
---	--	---

INFORME DE ENSAYO No:	389
ST:	14- 033 ANÁLISIS DE SUELOS
Nombre Peticionario:	NA
Atn.	Sr. Joel Serrano
Dirección:	Avda. Octava y Callejón segundo No. 207, Mapasingue Oeste, Guayaquil
FECHA:	11 de Marzo del 2014
NUMERO DE MUESTRAS:	1
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB:	2014/03/06 10:00
FECHA DE MUESTREO:	2014/02/12 10:00
FECHA DE ANÁLISIS:	2014/03/06 - 2014/03/11
TIPO DE MUESTRA:	Suelo contaminado
CÓDIGO LABCESTTA:	LAB-S 0165-14
CÓDIGO DE LA EMPRESA:	C1
PUNTO DE MUESTREO:	Proyecto de tesis
ANÁLISIS SOLICITADO:	TPH
PERSONA QUE TOMA LA MUESTRA:	Joel Serrano
CONDICIONES AMBIENTALES:	T máx.:25.0 °C. T min.: 15.0 °C

RESULTADOS ANALÍTICOS:

PARÁMETROS	MÉTODO /NORMA	UNIDAD	RESULTADO	VALOR LÍMITE PERMISIBLE			INCERTIDUMBRE (k=2)
				Uso Agrícola	Uso Industrial	Ecosistema Sensible	
Hidrocarburos Totales	PEE/LABCESTTA/26 TNRCC 1005	mg/Kg	402,85	<2500	<4000	<1000	±26%

OBSERVACIONES:

- Muestra transportada en refrigeración.
- Resultados comparados con límites permisibles Tabla 6 RAOHE .

RESPONSABLES DEL INFORME:

Dr. Mauricio Álvarez
RESPONSABLE TÉCNICO

Ing. Marcela Erazo
JEFE DE LABORATORIO

- **Análisis de TPH final al tratamiento D1 por laboratorio acreditado**
Fuente: LabCestta 2014.

 LABCESTTA Tecnología & Soluciones SGC	LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL E INSPECCIÓN Panamericana Sur Km. 1 ½ Telefax: (03) 2998232 ESPOCH FACULTAD DE CIENCIAS RIOBAMBA - ECUADOR	 LABORATORIO DE ENSAYOS N° OAE LE 2C 06-008
---	--	---

INFORME DE ENSAYO No: 389
ST: 14- 033 ANÁLISIS DE SUELOS

Nombre Peticionario: NA
Atn. Sr. Joel Serrano
Dirección: Avda. Octava y Callejón segundo No. 207, Mapasingue Oeste, Guayaquil
 11 de Marzo del 2014

FECHA: 1
NUMERO DE MUESTRAS: 2014/03/06 10:00
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB: 2014/02/12 10:00
FECHA DE MUESTREO: 2014/03/06 - 2014/03/10
FECHA DE ANÁLISIS: Suelo contaminado
TIPO DE MUESTRA: LAB-S 0166-14
CÓDIGO LABCESTTA: D1
CÓDIGO DE LA EMPRESA: Proyecto de tesis
PUNTO DE MUESTREO:

ANÁLISIS SOLICITADO: TPH
PERSONA QUE TOMA LA MUESTRA: Joel Serrano
CONDICIONES AMBIENTALES: T máx.:25.0 °C. T min.: 15.0 °C

RESULTADOS ANALÍTICOS:

PARÁMETROS	MÉTODO /NORMA	UNIDAD	RESULTADO	VALOR LÍMITE PERMISIBLE			INCERTIDUMBRE (k=2)
				Uso Agrícola	Uso Industrial	Ecosistema Sensible	
Hidrocarburos Totales	PEE/LABCESTTA/26 TNRCC 1005	mg/Kg	148,58	<2500	<4000	<1000	±26%

OBSERVACIONES:

- Muestra transportada en refrigeración.
- Resultados comparados con límites permisibles Tabla 6 RAOHE .

RESPONSABLES DEL INFORME:

Dr. Mauricio Álvarez
RESPONSABLE TÉCNICO

Ing. Marcela Erazo
JEFE DE LABORATORIO

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Arboleda, V. & Bravo, V., 2008. DSPACE ESPOCH. Biorremediación del suelo contaminado con Hidrocarburos de la central hidroeléctrica del campamento Secoya mediante landfarming. Obtenida en Junio 2013, disponible en: dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/222/1/236T0006.pdf.
- [2] Arroyo, M., Quesada, M., Quesada, R. 2008. Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos. Geocisa. Div. Protección Ambiental de Suelos: 297-305. Obtenida en Junio 2013, disponible en <http://aguas.igme.es/igme/publica/pdf/lib15/028.pdf>
- [3] Registro Oficial del Ecuador, Reglamento Ambiental para las operaciones hidrocarburíferas en el Ecuador, Acuerdo 1205 paginas 11-19; R.O. No. 265 - 13 febrero de 2001
- [4] Anónimo., 2013. Wikipedia. Incineración Obtenida en Febrero 2013, disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Incineraci%C3%B3n>.
- [5] Dávila, D., 2009. Monografías. Contaminación y toxicología Obtenida en Octubre 2013, disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos37/contaminacion-toxicologia/contaminacion-toxicologia.shtml>.
- [6] Gobierno del Ecuador, Tratado Unificado de Legislación Secundaria, Medio Ambiente, TULSMA, 2003. Obtenida en Junio 2013.
- [7] Hernández, J. 2007. Lubricantes. Obtenida en Agosto 2014, disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos48/lubricantes/lubricantes.shtml>

- [8] Galera, P. J. Educarm. Aceites Lubricantes. Obtenida en Junio 2013, disponible en: www.educarm.es/templates/portal/ficheros/.../21/aceites_lubricantes.doc.
- [9] Macías, M. Análisis de metales en aceites lubricantes automotrices usados por espectroscopia de absorción atómica, pagina2. Obtenida en Junio 2013, disponible en:
<http://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/8061/JIMENEZ%20MACIAS.pdf?sequence=1>
- [10] Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial. Convenio 063, 2005. Manual para el manejo integral de aceites lubricantes usados. Obtenido en Julio 2012.
- [11] Benaverte R, G. Aceite Lubricante Usado. Bravo Energy Chile S.A. Boletín N° 2. Junio 1999
- [12] Montes, M. Re-Refinado de Aceites Usados, pag 47. Obtenida en Septiembre 2013, disponible en:
<http://www.miliarium.com/PremiosMiliarium/2003/RefinadoAceites/RefinadoAceites.pdf>
- [13] Auhing, L, 2003. “Thermal Elimination of Waste Lubricating Oil in High Intensity Industrial Combustion Chambers in Guayaquil”, Tesis de Maestría, Faculty of Graduate Studies, University of Calgary. Chapter 1.
- [14] Angulo, J., 2005. Patentes, Procedimiento para regenerar aceites usados por desmetalización y destilación. Obtenida en Junio 2013, disponible en: <http://www.google.com/patents/WO2005028600A1?cl=es>
- [15] Ramírez, J., 1994. Recuperación de aceites lubricantes para automotores a partir de aceites usados y desechados, utilizando procesos físico-químicos. Tesis (Ingeniero químico). Universidad de Antioquia
- [16] Moya, L., 2009-2010. Desde el aceite lubricante usado hasta su puesta en el mercado tras su regeneración., Master profesional en Ingeniería y gestión ambiental.
- [17] Duran, M. y Contreras, N., 2006. Alternativa de tratamiento para tierras fuller contaminadas con aceite dieléctrico.

- [18] Briones, M., 2005. "Análisis técnico y económico de la recuperación de los aceites dieléctricos con tierra fuller y desludificación de bobinados en transformadores", (páginas 58-59)
- [19] López, W., 2009. Mecánica de los suelos. Obtenida en Julio 2013, disponible en: <http://es.slideshare.net/wlopezaltarza/mecanica-de-los-suelos>
- [20] Miliarium, A., 2004. Técnicas de tratamientos de suelos contaminados. Obtenida en Julio 2013, disponible en: <http://miliarium.com/Paginas/Prontu/TratamientoSuelos/TratamientoSuelos.htm>
- [21] Glazer, A y Nikaido, H. 1995. Microbial Biotechnology: Fundamentals of Applied Microbiology. W. H. Freeman and Company, New York
- [22] Atlas R.M. Y Uterman, R. 1999. Biorremediation In: Demain Al & Davies Je (Eds) Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology 2nd ed (pg 666-681), ASM Press, Washington Dc
- [23] Serrano, R., 2012. Remediación de suelos contaminados, Universidad de Guayaquil. Obtenida en Julio 2013.
- [24] Cortina, J. 2007. Técnicas de Análisis de Riesgo para la Remediación de Suelos y Aguas Subterráneas Contaminados por Hidrocarburos. Obtenida en Noviembre 2013, disponible en: <http://www.openarchives.es/oai:www.recercat.net:2072/3035>
- [25] Torres, K. y Zuluaga, T., 2009. Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, Universidad Nacional de Colombia. Obtenido en Julio 2013
- [26] Todar, K. ,2000. Pseudomonas aeruginosa. Universidad del departamento de Wisconsin-Madison de la bacteriología.
- [27] BARTHA, 2002. Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental 3ra ed. Madrid: Pearson Education. pp. 255- 261
- [28] Glynn, H., Heinke, G. 1999. Ingeniería Ambiental , Segunda Edición, México
- [29] Huesemann, M. H. 1994. Guidelines for land-treating petroleum hydrocarbon-contaminated soils. J. Soil. Contam. 3:318-335.

(Huesemann, 1995; Nocentini, 2000; Breedveld y Sparrevik, 2001).

- [30] Holliger, C. y A. J. Zehnder. 1996. Anaerobic biodegradation of hydrocarbons. *Cur. Opin. Biotechnol.* 7:326-330.
Holliger y Zehnder, 1996; Grishchenkov et al., 2000; Boopathy, 2002; Massias et al., 2003).
- [31] Eweis, J., 1999. “Principios Biorrecuperación”, Tratamientos para la descontaminación y regeneración de suelos y aguas subterráneas mediante procesos biológicos y físico – Químicos: España: Editorial McGraw-Hill.
- [32] Chaineau, C., H. Morel, y J. L. Oudot. 1995. Microbial degradation in soil microcosmos of fuel oil hydrocarbons from drilling cuttings. *Env. Sci. Technol.* 29:1615-1621
- [33] Kästner, M. 2000. Degradation of aromatic and polyaromatic compounds. En H. J. Rehm, G. Reed, A. Pühler y P. Stadler (Eds), *Biotechnology. Environmental processes II. Soil decontamination.* Wiley-VCH. Weinheim. pp. 211-240.
- [34] Toledo, B., 2009. Aplicación de procesos biológicos como medida remediación para recuperar suelos Limo-arcillosos contaminados con gasolina.
- [35] Zegal, E., y Sadzawka, 2007. Protocolo de análisis de suelos y lodos. Obtenido en: Octubre 2013, disponible en:
http://www.sag.cl/sites/default/files/METODOS_LODOS_SUELOS.pdf
- [36] Método de la EPA 350C, 1996. Obtenido en: Agosto 2013, disponible en:
<http://www.caslab.com/EPA-Method-3540C/>
- [37] Rodríguez, L. 2008. Evaluación de Dos Sustratos en la Técnica de Landfarming Para el Tratamiento de Suelos Contaminados con Hidrocarburos. *Ingeniería en Biotecnología Ambiental.* Escuela de Ciencias Químicas. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba. Ecuador.
- [38] Si-Zhong, Y., Hui-Jun, J., Zhi, W., Rui-Xia, H., Yan-Jun, J., Xiu-Mei, L., and Shao, Y. 2009. Bioremediation of Oil Spills in Cold Environments: A Review. Published by Elsevier Limited and Science Press. *Pedosphere* 19 (3): 371–381. China.).
- [39] Ruberto, L., Vazquez, S., y Mac Cormack, W. 2003. Effectiveness of the natural bacterial flora, biostimulation and bioaugmentation on the bioremediation of a

hydrocarbon contaminated Antarctic soil. *International Biodeterioration & Biodegradation* 52 (115–125). Buenos Aires. Argentina.

- [40] Ríos, R. 2005. Estudio de la Estimulación Biológica Para el Tratamiento de Residuos de Perforación Petrolera Empleando Lisímetros. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. Casa Abierta al Tiempo. México D.F.