



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

**“BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR
PETRÓLEO EN EL CAMPO LIBERTADOR MEDIANTE LA
TÉCNICA DE COMPOSTAJE”**

TRABAJO DE TITULACIÓN:
TIPO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Presentado para optar el grado académico de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTORA: SHIRLEY LISBETH JARA ERAZO

TUTORA: DRA. NANCY VELOZ MAYORGA

Riobamba - Ecuador

2018

© 2018, Shirley Lisbeth Jara Erazo

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA CIENCIAS QUÍMICAS

El Tribunal de Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de investigación: “BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR PETRÓLEO EN EL CAMPO LIBERTADOR MEDIANTE LA TÉCNICA DE COMPOSTAJE”, de responsabilidad de la señorita Shirley Lisbeth Jara Erazo, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Trabajo de Titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dr. Julio Idrovo Novillo

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dra. Nancy Veloz Mayorga

**DIRECTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

PhD. Irene Gavilanes Terán

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Yo, Shirley Lisbeth Jara Erazo soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este Trabajo de Titulación y el patrimonio intelectual del Trabajo de Titulación pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Shirley Lisbeth Jara Erazo

DEDICATORIA

En toda mi vida y en cada una de las páginas de este trabajo de titulación, cada letra, cada símbolo, nos conduce hacia un lugar que quisiera que todos conozcan, es cuál es fuente inagotable de poder, sabiduría, inteligencia y amor, estoy refiriéndome con honra y pleitesía a mi buen Dios quien a partir de este momento, o mejor desde antes mismo, sabrá guiar mis pasos hacia la consecución de grandes objetivos.

Por eso desde lo más profundo de mi corazón, le doy toda gloria, honra y exaltación, porque por él y para él son todas las cosas y sin Dios nada es posible.

Un día mis ojos vieron la luz de un nuevo amanecer, inicio de una desafiante vida y pregunté a Dios: ¿Quiénes serán aquellos seres humanos que con amor me trajeron al mundo? La respuesta es obvia: ¡mis amados padres! A quienes dedico este trabajo y que también estoy segura, es su triunfo para ellos. Gracias papá y mamá pido a Dios que derrame abundantes bendiciones y sean prosperadas sus vidas, así como prospera su alma. Ustedes son mi motor y ejemplo de vida. No debo dejar pasar por alto a mí querido hermano Cristian y a mis preciosos sobrinos Josué y Naomi.

Nombro aquí a mis abuelitos, sus canas me muestran sabiduría, experiencia, cariño y apoyo y entiendo que sólo los seres humanos tenemos la capacidad de dar y recibir, que por medio de ellos asimilamos lo qué es el bien y cómo afrontar los retos que nos impone la vida. Gracias preciosos abuelitos: Alfonso, Enrique, Elena y Laura.

Shirley Lisbeth Jara Erazo

AGRADECIMIENTO

En todo momento recibí palabras de aliento, de ánimo y motivación; fui alagada con frases hermosas y de contenidos profundos. Por eso ofrezco mi gratitud infinita a:

Dios por darme la fortaleza y sabiduría para culminar esta etapa de mi vida poniendo en mi camino a personas que me han dado la mano y me han permitido superar innumerables obstáculos.

A mis padres César Jara y Cecilia Erazo por ser el pilar fundamental en mi vida, mi fortaleza y mi mayor apoyo en todo momento.

A Estalin, su ayuda ha sido invaluable y expreso mi gratitud por su compañía en todo momento y ha sabido infundirme fuerza y aliento para culminar este trabajo.

Al Laboratorio CESTTA y todo su amable personal en especial al Dr. Roberto Erazo por abrirme las puertas y permitirme desarrollar esta investigación, gracias por el apoyo, la colaboración y el afecto de la Ing. Verónica Bravo, Dr. Mauricio Álvarez, Ing. Laura Salao, Ing. Danny Romero, Dra. Patricia Colcha, Ing. Cristian Chuquín, Ing. Jorge Miranda. Ellos que sembraron en mí la responsabilidad, tenacidad y perseverancia, hoy son parte de mirar que aquellas semillas nunca fueron depositadas en vano, que aquel esfuerzo hoy rinde el tan anhelado fruto que es el ÉXITO.

A los Doctores, Nancy Veloz, Irene Gavilánez y Julio Idrovo por su guía, comprensión, confianza y paciencia, valores que me permitieron cumplir con los objetivos de mi proyecto. Quienes con su don de gente y su calidad de profesionales, son testigos fieles y lógico serán parte importante para que este trabajo realizado con esmero, esfuerzo y sacrificio hoy sea una hermosa realidad.

Shirley Lisbeth Jara Erazo

TABLA DE CONTENIDO

Contenido

RESUMEN	xiii
SUMMARYxiv
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	4
1.1 Antecedentes	4
1.2 Petróleo	5
1.3 Petróleo en Ecuador	9
1.3.1 Principales zonas petroleras	10
1.4 Suelos contaminados por metales pesados	15
1.5 Caracterización de suelos	17
1.5.1 Parámetros físicos, químicos y biológicos	18
1.6 Contaminación de suelos por metales pesados	21
1.6.1 Metales pesados	22
1.6.1.1 Principales metales pesados	23
1.6.2 Fuentes de Contaminación	28
1.6.3 Métodos de detección.....	31
1.6.3.1 ICP-AES.....	32
1.7 Biorremediación	36
1.7.2.1 Biofiltración	39
1.7.2.2 Bioventing.....	39
1.7.2.3 Biosparging	40
1.7.2.4 Atenuación natural	40
1.7.2.5 Bioaugmentación	41

1.7.2.6	Biestimulación	42
1.7.2.7	Biopilas	42
1.7.2.8	Compostaje.....	44
1.8	Microorganismos en metales pesados.....	49
1.9	Relación de los microorganismos y metales.....	51
1.10	Normativa Legal.....	54

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO.....	58
2.1.	Lugar del desarrollo de la investigación	58
2.2.	Hipótesis General	58
2.3.	Variables	58
2.3.1.	Variable Independiente	58
2.3.2.	Variables Dependientes.....	59
2.4.	Tipo y Diseño de Investigación.....	59
2.5.	Diseño Experimental.....	59
2.5.1.	Variables	59
2.5.2.	Proceso.....	59
2.6.	Recuento Microbiano Aerobios Totales	62
2.7.	pH	64
2.8.	Conductividad Electica	65
2.9.	Materia Orgánica	66
2.10.	Metales asimilables.....	67
2.11.	Humedad.....	68
2.12.	Nitrógeno total KJELDANL	69
2.13.	Capacidad de retención hídrica	71

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	73
3.1	Ubicación del Lugar de estudio.....	73
3.2	Análisis Iniciales del suelo, compost, residuo de rosas.....	75

3.3	Análisis Estadístico	90
3.4	Discusión de Resultados.....	91
	CONCLUSIONES.....	99
	RECOMENDACIONES.....	99
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Proceso de Extracción del petróleo	7
Figura 1-2 Fases de la Industria Petrolera.....	9
Figura 1-3: Descripción gráfica de la ubicación de la operación de Petroamazonas EP	13
Figura 1-4: Empresas petroleras que operan en el Ecuador.....	14
Figura 1-5: Dinámica de los contaminantes en los suelos	17
Figura 1-6: Procesos de captación Microbiana.....	50
Figura 1-7: Mecanismos de interacción entre metales pesados y microorganismos	53
Figura 1-8: Mecanismos de interacción entre metales pesados y microorganismos	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3-1: Análisis de Parámetros Químicos del suelo	75
Tabla 3-2: Análisis de Parámetros Físicos del suelo.....	75
Tabla 3-3: Análisis Microbiológicos del suelo	75
Tabla 3-4: Análisis iniciales de Parámetros Fisicoquímicos, Químicos de los tratamientos	76
Tabla 3-5: Relación C/N/P	77
Tabla 3-6: Capacidad de Retención Hídrica (CRH) del suelo	78
Tabla 3-7: Cálculo de la cantidad de Agua para cada tratamiento.....	78
Tabla 3-8: Cálculo de la cantidad de compost y residuos de rosas para el suelo	78
Tabla 3-9: Evolución del proceso de los tratamientos según el tiempo.	90
Tabla 3-10: Valores medios de los diferentes parámetros en cada tratamiento.	91

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 2-1: Preparación del proceso.....	60
Gráfico 3-1: Ubicación geográfica del Petroamazonas.....	73
Gráfico 3-2: Ubicación geográfica del Campo Libertador.	74
Gráfico 3-3: Campo Libertador.....	74
Gráfico 3-4: Resultados microbiológicos suelo B correspondiente a la primera semana.	79
Gráfico 3-5: Resultados microbiológicos suelo C correspondiente a la primera semana.	80
Gráfico 3-6: Resultados microbiológicos suelo RR correspondiente a la primera semana.	81
Gráfico 3-7: Resultados microbiológicos suelo B correspondiente a la cuarta semana.....	81
Gráfico 3-8: Resultados microbiológicos suelo C correspondiente a la cuarta semana.....	82
Gráfico 3-9: Resultados microbiológicos suelo RR correspondiente a la cuarta semana.	83
Gráfico 3-10: Resultados microbiológicos suelo B correspondiente a la sexta semana.	83
Gráfico 3-11: Resultados microbiológicos suelo C correspondiente a la sexta semana.	84
Gráfico 3-12: Resultados microbiológicos suelo RR correspondiente a la sexta semana.....	85
Gráfico 3-13: Resultados microbiológicos suelo B correspondiente a la séptima semana.	86
Gráfico 3-14: Resultados microbiológicos suelo C correspondiente a la séptima semana.	87
Gráfico 3-15: Resultados microbiológicos suelo RR correspondiente a la séptima semana.	87
Gráfico 3-16: Resultados microbiológicos suelo B correspondiente a la octava semana.	88
Gráfico 3-17: Resultados microbiológicos suelo C correspondiente a la octava semana.	89
Gráfico 3-18: Resultados microbiológicos suelo RR correspondiente a la octava semana.	89
Gráfico 3-19: Concentración del metal Ni (ppm) en función del tiempo en los diferentes tratamientos.....	93
Gráfico 3-20: Concentración del metal Pb (ppm) en función del tiempo en los diferentes tratamientos.....	94
Gráfico 3-21: Concentración del metal Cd (ppm) en función del tiempo en los diferentes tratamientos.....	95
Gráfico 3-22: Concentración del metal Cu (ppm) en función del tiempo en los diferentes tratamientos.....	96
Gráfico 3-23: Concentración del metal Zn (ppm) en función del tiempo en los diferentes tratamientos.....	97
Gráfico 3-24: Números de microorganismos (Aerobios Totales (UFC/g)) en función del tiempo en los diferentes tratamientos.....	98

RESUMEN

Esta investigación tiene como propósito la biorremediación de un suelo contaminado con metales pesados proveniente del campo libertador mediante la técnica de compostaje con el objetivo de reducir la concentración de metales pesados presentes en el suelo, bioestimulándolo y aportando los nutrientes suficientes para la remoción de dichos contaminantes. La investigación se desarrolló en varias etapas; en la primera etapa se visitó el campo Libertador y se procedió a tomar varias muestras de las zonas más contaminadas usando el método de cuarteo. En la segunda etapa se realizó el análisis del suelo inicial en el laboratorio del Centro de Servicios Técnicos y Transferencia Tecnológica Ambiental (CESTTA), se confirmó la presencia de metales pesados y se determinó la relación C/N/P indispensable para un buen proceso de biorremediación. En la tercera etapa se incubaron unidades experimentales durante 105 días a una temperatura de 25°C, mismas que contenían los diferentes tratamientos como fue el suelo, suelos con compost, suelo con residuo de rosas para lo cual se usó de plástico opaco con 250g de suelo y 12,5 g de las enmiendas orgánicas para cada tratamiento. Tras esta incubación se realizó un conteo microbiano de aerobios totales, responsables de disminuir la concentración de metales pesados en suelos que se midieron en el equipo ICP, determinando la eficiencia del tratamiento con un porcentaje de inmovilización de metales pesados de aproximadamente el 98% a través de la adición de compost y residuo de rosas, a los 49 días la concentración de metales se estabilizó y siguió una tendencia de 0 ppm en los tratamientos. Se recomienda usar estas enmiendas orgánicas para tratamiento de suelos contaminados por hidrocarburos.

Palabras Clave: <BIOTECNOLOGÍA>, <BIORREMEDIACIÓN>, <COMPOST>, <BIOESTIMULACIÓN> <RESIDUO DE ROSAS> <METALES PESADOS>

SUMMARY

The purpose of this research is the bioremediation of a polluted soil with heavy metals from the liberator field through the composting technique with the purpose of reducing the concentration of heavy metals in the soil, bio-stimulating it and providing sufficient nutrients for the removal of these contaminants. The research was developed in several stages; in the first stage the liberator field was visited and several samples were taken from the most contaminated areas using the quartering method. In the second stage, the initial soil analysis was carried out in the laboratory of the Center for Technical Services and Environmental Technology Transfer, the presence of heavy metals was confirmed and the essential C / N / P relation was determined for a good process of bioremediation. In the third stage experimental units were incubated for 105 days at a temperature of 25 ° C, which contained the different treatments such as soil, soils with compost, soils with rose residues for which it was used some opaque plastic with 250 g of soil and 12.5 g of organic amendments for each treatment. After this incubation, a microbial count of total aerobes was performed, responsible for decreasing the concentration of heavy metals in soils that were measured in the ICP equipment, determining the efficiency of the treatment with a percentage of immobilization of heavy metals of approximately 98% through the addition of compost and rose residue, at 49 days the concentration of metals stabilized and followed the trend of 0 ppm in the treatments. It is recommended to use these organic amendments for the treatment of soils contaminated by hydrocarbons.

Key words: BIOTECHNOLOGY, BIOREMEDIATION, COMPOST, BIOSTIMULATION, ROSE RESIDUES, HEAVY METALS

INTRODUCCIÓN

IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

Ecuador es un país que exporta petróleo siendo su principal fuente de ingreso económico. En la amazonia ecuatoriana principalmente en las provincias de Sucumbíos, Orellana y Pastaza, encontramos varias industrias petroleras que realizan la extracción y manejo del petróleo, región donde existe una mayor susceptibilidad de contaminación ambiental sobre los suelos a causa de los derrames de petróleo y sus derivados, como es el caso del Campo Libertador. (Universo, 2013, pp. 2-4)

En el campo Libertador los derrames de petróleo y sus derivados son constantes y han provocado que los pobladores de esta zona sufran varias enfermedades y pierdan el valor de sus propiedades a causa de la actividad petrolera. El petróleo al estar formado por varias sustancias químicas, algunas tóxicas como los metales pesados, causan grave contaminación al medio ambiente y a la salud de los seres vivos de la zona influenciada. Estas sustancias tienen la capacidad de bioacumularse en el organismo lo que desencadena en enfermedades genéticas e incapacidad permanente.

A nivel ambiental, varias son las formas por las que el petróleo se esparce en el ambiente, por su transporte, daños en los equipos de extracción, fugas en los buques, oleductos en mal estado, entre otros. El petróleo al entrar en contacto con el suelo provoca cambios sobre sus propiedades físicas, químicas y biológicas, dando como resultado un suelo infértil, perdiendo su capacidad de sostener la flora y la fauna. El ingreso del petróleo en los estratos de suelo va a depender del tipo de suelo y la facilidad de penetración, una vez introducido el suelo incorpora sustancias tóxicas a su composición poniendo en peligro al ecosistema y a los pobladores en general. (Olmedo, 2010)

Este es el caso de los metales pesados quienes generan un gran impacto ambiental por su presencia en el ambiente teniendo como consecuencias la pérdida de la cobertura vegetal, contaminación

por infiltración al agua, cambios en la fauna, daños en la salud de la población a más de impactos económicos.

JUSTIFICACIÓN

El objetivo primordial de la biorremediación es la recuperación de suelos contaminados por petróleo ya que el suelo presenta varios procesos los cuales ayudan a eliminar contaminantes tóxicos como los metales pesados. El uso de diferentes tipos de biorremediación proporciona una solución ambiental efectiva, económica y segura que garantiza la degradación del contaminante, siendo una de las principales técnicas biológicas la del compostaje en donde se aprovechan los residuos orgánicos que al estar contenidos en el compost aportarán al suelo los nutrientes necesarios presentes en la materia orgánica los cuales ayudarán a reducir la carga contaminante y le devolverá al suelo sus características fisicoquímicas, químicas y biológicas principalmente su composición y textura que darán lugar a la fertilidad del mismo donde pasará de ser un pasivo ambiental a un activo ambiental creando un ambiente más seguro y sano. De esta manera el Campo Libertador recibirá un tratamiento biológico adecuado que beneficiará tanto a su población como a sus recursos bióticos.

Esta investigación cumple con las líneas de investigación de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Ciencias Químicas, Carrera de Ingeniería en Biotecnología Ambiental.

OBJETIVOS

Objetivo general

Realizar la biorremediación de un suelo contaminado por petróleo a través de la utilización de compost en el Campo Libertador

Objetivos Específicos

- Realizar el estudio Geotopográfico.
- Caracterizar los parámetros fisicoquímicos, físicos y microbiológicos del suelo
- Evaluar la reducción del contaminante de los suelos tratados a través de la medición de las concentraciones metales pesados

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1 Antecedentes

La contaminación ambiental tanto en el suelo como en el agua se ha venido incrementado por la explotación, almacenamiento y transporte del petróleo y sus derivados. En el año 2004 se calculó el volumen de derrames, siendo 1.5 millones de toneladas por año, afectando suelo, agua y atmósfera (Sermarnat, 2004). El ecosistema que representa un 70% de contaminación total causado por el impacto de la industria petrolera es el suelo. (Donagh.M, et al., 1996, pp. 342-365).

Según el diario El Universo, el Ministerio de Ambiente dio a conocer las cifras de los derrames de petróleo registrados en las provincias de Orellana y Sucumbíos cuando se iniciaba la actividad petrolera en 1967, dando una cifra de 794 derrames los cuales han ido incrementado con el pasar de los años; En el 2009 se registró un derrame de 299.757 barriles. (El Universo, 2013)

El campo Libertador fue descubierto en 1980 por CEPE (Corporación Estatal Petrolera Ecuatoriana). En 1982 inició su producción. El campo Libertador se encuentra ubicado en las zonas de petróleo más importantes del país. (Baby, 1999, pp. 68-72)

El campo Libertador se encuentra ubicado en la provincia de Sucumbíos el cual está conformado por los siguientes campos: Frontera, Tapi, Tetete, Peña Blanca, Ucano, Shushuqui, Pacayacu, Shuara, Secoya, Pichincha, Carabobo. (Almeida & Suárez, 2006)

El campo Shushuqui inicio sus actividades petroleras el 31 de Enero de 1980 siendo unos de los principales campos que ha registrado derrames por la rotura de oleductos, en el año 2003 se

registró un derrame en la plataforma del pozo Shushqui 10 perjudicando a un estero y una laguna, tomando en cuenta que la plataforma se encontraba dentro de la propiedad de la señora Gloria Vera quien manifestó que el pozo de agua que usaba estaba ubicado a 2m del estero afectado por el derrame (Almeida & Suárez, 2006). Cabe recalcar que en este campo se realizó una biorremediación mediante una técnica de landfarming en donde los resultados fueron muy satisfactorios indicándonos que los tratamientos biológicos son eficientes. (Pinos, 2010)

El uso de microorganismos, plantas o enzimas permiten disminuir el impacto ambiental de los derrames por petróleo y sus derivados, las técnicas de landfarming, composting son unas de las técnicas más populares que han ido mejorando su rendimiento y eficacia en la biorremediación de suelos contaminados. (Eve, 1998)

Existen diferentes tratamientos biológicos que contribuyen a la remediación de estos suelos contaminados siendo efectivos, económicos y sostenibles. Por tanto, esta técnica de biotecnología es una herramienta efectiva para mejorar la degradación de contaminantes en el suelo del campo Libertador.

1.2 Petróleo

El petróleo es un mineral que se da por la descomposición de residuos vegetales y animales a lo largo de muchos siglos que se encuentran a grandes profundidades de la tierra. Según varios estudios el petróleo se forma de un conjunto de microorganismos y detritus vegetal acumulado y transformado a lo largo de milenios en capas gaseosas o pastosas y que por lo general surge en forma de líquido, gas o pasta. Vestigios de estas afloraciones se han registrado en diversas comunidades del mundo, y conocidas sus propiedades se han aprovechado hace varias décadas. (Fontaine, 2004, pp. 52-60).

❖ Composición del petróleo

Los principales componentes del petróleo son los hidrocarburos (compuestos químicos que contienen únicamente hidrógeno y carbono), los cuales representan el 50-98% en relación a su composición total. (Clark y Brown, 1977) (Botello, 2005, pp. 261-268)

El carbono (80-87%) y el hidrógeno (10-15%) son los principales y más abundantes elementos en el petróleo, aunque existen otros elementos como el azufre (0-10%), nitrógeno (0-1%) y el oxígeno (0- 5%) que están presentes en menores cantidades, ya sea en su forma elemental o bien como constituyentes heterocíclicos y grupos funcionales. También se reportan algunos metales traza como Vanadio, Níquel, Hierro, Aluminio y Cobre, cuya concentración va dependiendo del tipo de petróleo. (Botello, 2005, pp. 261-268)

El vanadio y níquel son los elementos metálicos más abundantes presentes en el petróleo y en ocasiones alcanzan concentraciones a las mil partes por millón. Pueden estar presentes ya sea como metales libres o bien formando complejos en los núcleos de las porfirinas (Clark y Brown, 1977).

Dependiendo del número de átomos de carbono y de la estructura de los hidrocarburos que integran el petróleo, se tienen diferentes propiedades que los caracterizan y determinan su comportamiento como combustibles, lubricantes, ceras o solventes. (Clark y Brown, 1977)

❖ **Procesos de Extracción del Petróleo.**

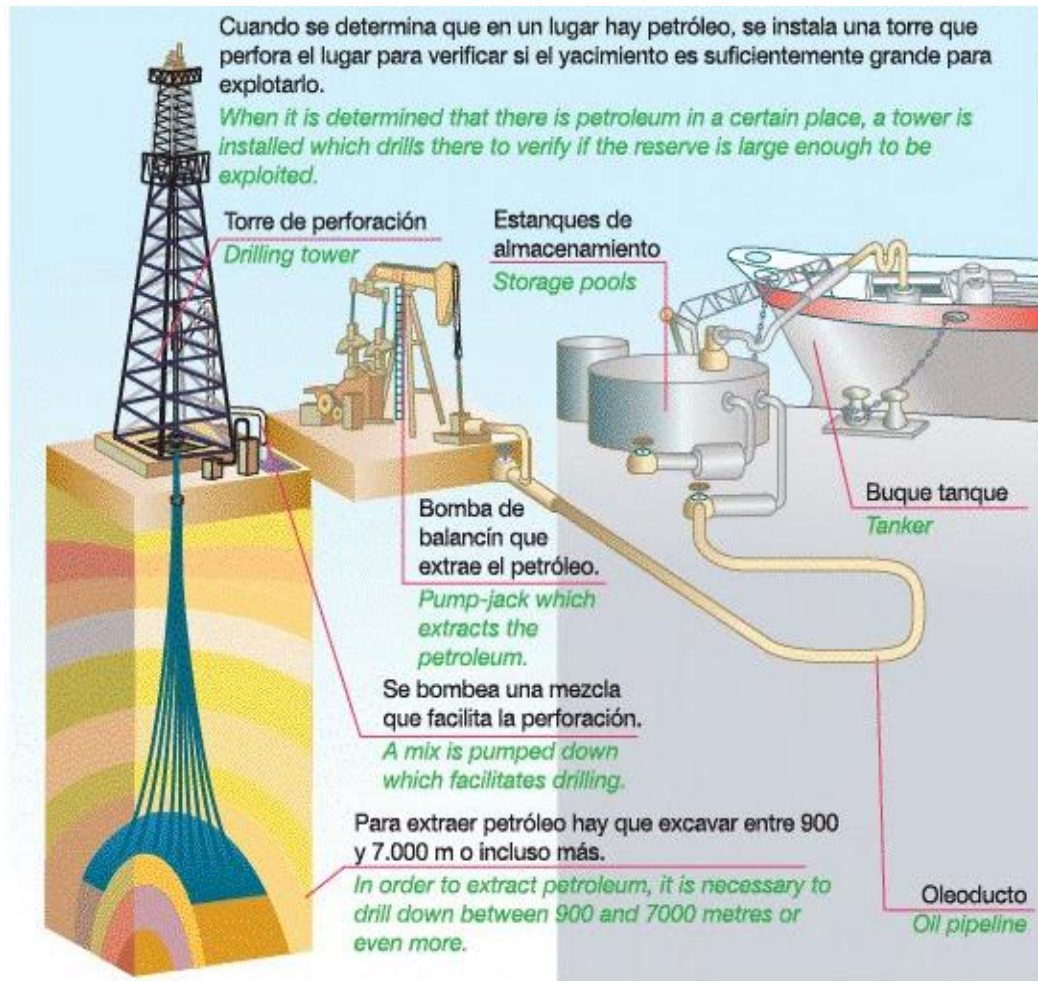


Figura 1-1: Proceso de Extracción del petróleo

Fuente: (Jiménez, 2011) Procedimiento de extracción

Los procesos que se emplean en la extracción del petróleo dependen de factores como la ubicación de los yacimientos y sus características. El proceso para la extracción del petróleo como se observa en la Figura 1-1 consiste en colocar una especie de cañón en el yacimiento y se perfora la tubería de revestimiento a la altura de las formaciones donde se encuentra el yacimiento. El petróleo sale por esos orificios hacia el pozo y se extrae mediante una tubería de menor diámetro, conocida como tubería de producción. (Venezolana, 2017)

En el caso de que los yacimientos tendrían energía propia generada por la presión subterránea y por los elementos que acompañan el petróleo como aguas y gas este saldrá solo, si no se instala un árbol de navidad en la cabeza del pozo que consta de un conjunto de válvulas que regula el paso del petróleo. Si no existe presión se extrae por otros métodos siendo el más común el balancín

que es un permanente balanceo en el cual actúa una bomba en el fondo del pozo que succiona el petróleo hacia la superficie. (Pons-Jiménez, 2011, pp. 1-15)

El petróleo extraído generalmente viene acompañado de sedimentos, agua y gas natural, por lo que deben construirse previamente las facilidades de producción, separación y almacenamiento. El petróleo se envía a los tanques de almacenamiento y a los oleoductos que lo transportarán hacia las refinerías o hacia los puertos de exportación. En el mejor de los casos se extrae el 50 ó 60 %. Por tal razón, existen métodos de recobro mejorado que permite lograr la mayor extracción posible de petróleo en pozos sin presión natural o en declinación, tales como la inyección de gas, de agua o de vapor a través del mismo pozo productor o por intermedio de pozos inyectoros paralelos a éste. (Venezolana, 2017)

El tiempo de perforación de un pozo dependerá de la profundidad programada y las condiciones geológicas del subsuelo. En promedio se estima entre dos a seis meses. Las medidas que suele tener el petróleo se realizan a través de los barriles, que aproximadamente contienen unos 160.000 litros. Al finalizar la perforación el pozo queda literalmente entubado desde la superficie hasta el fondo, lo que garantiza su consistencia y facilitará posteriormente la extracción del petróleo en la etapa de producción. (Pons-Jiménez, 2011, pp. 1-15)

❖ **Fases de la industria Petrolera**

En la industria Petrolera encontramos distintas fases como podemos ver en la figura 1-2 que nos menciona como el petróleo sigue un ciclo desde la exploración hasta la comercialización del petróleo. La primera fase que es de la exploración que consiste en la búsqueda de los yacimientos para la explotación que es la segunda fase donde se habla de la extracción del petróleo seguida por la fase de refinación donde se le convierte el crudo a combustible y se da el almacenamiento y transporte por los oleoductos o tanques para su comercialización que es la última fase. (Rivera, 2014)



Figura 1-2 Fases de la Industria Petrolera

Fuente: (Rivera, 2014) Fases petroleras

1.3 Petróleo en Ecuador

En 1924 se realizó el primer descubrimiento de petróleo en la península de Santa Elena por la compañía Angla Ecuadorian Oilfields Ltda. Efectuándose la primera producción petrolera en 1925 con 1.226 barriles diarios. Otras exploraciones hidrocarburíferas se realizaron en la región oriental, esto ocasionó un gran número de concesiones con empresas extranjeras, hasta que en 1972 se creó la Corporación Estatal Petrolera Ecuatoriana (CEPE). Para este periodo Ecuador producía miles de barriles y los ingresos económicos del país eran altos (aunque si distribución desigual), en 1973, Ecuador ingresa a la Organización de Países Exportadores de Petróleo OPEP. En 1989 CEPE se convierte en EP-PETROECUADOR con varias empresas filiales. El petrolero en Ecuador es explotado por la empresa nacional Petroecuador, creada en 1989 como un sistema de empresas asociadas. (Elis, 2008, pp. 20-25)

El petróleo es la energía primaria más importante a nivel mundial. Prácticamente todas las actividades económicas del país se sustentan en el petróleo, de manera que alrededor del 40% de las necesidades energéticas mundiales son cubiertas con esta fuente de energía no renovable. (Martínez-Alonso & Gaju, 2005, pp. 81-84)

1.3.1 Principales zonas petroleras

En el Ecuador, las principales zonas de explotación petrolera son en las provincias de Sucumbíos, Pastaza, Morona Santiago, Napo pertenecientes a la región amazónica y la provincia del Guayas de la región costa. Por otra parte, las refinerías se encuentran situadas en Esmeraldas, Guayas, Amazonía y Manabí. (Ruiz, 2016)

La mayor parte de su producción se lleva a cabo principalmente en la región Amazónica, en los yacimientos de Sushufindi, Sacha, Libertador, Cononaco, Cuyabeno, Lago Agrio y Auca.

La mayoría de sus reservas comprobadas, que ascienden a 4.600 millones de barriles, también se encuentran en la parte este de esa región. Influenciando un crecimiento económico en el país y por otra parte un deterioro en las condiciones ambientales debido a las oscuras consecuencias ambientales en el ecosistema en que se realizan: en este caso un bosque tropical lluvioso primario. (Azqueta & Delacámara, 2008, pp. 60-61)

❖ Refinería Estatal Esmeraldas (REE)

La Refinería Estatal de Esmeraldas (REE), ubicada en el sector noroccidental de la provincia de Esmeraldas, fue construida entre los años 1975 y 1977, por el consorcio japonés Sumitomo-Chiyoda, con el aval y diseño de la empresa americana United Oil Products, con el fin de procesar 55.000 barriles de petróleo por día (bpd) y obtener productos blancos o terminados, como gasolinas, diésel, kerosene, fuel oil # 4 y # 6, asfaltos 80/100 y RC-2; además de butano, propano,

azufre sólido, etcétera. Su primera ampliación, a 90.000 BPD se produjo en 1987 y en 1997 se amplió su capacidad de procesamiento a 110.000 BPD, adaptándose para procesar crudos más pesados y de menor calidad e incorporando nuevas unidades para mejorar la calidad de los combustibles y (Ortega, 2014) minimizar el impacto ambiental. (Ortega, 2016)

❖ **La Refinería La Libertad (RLL)**

En 1919, en Londres se fundó la compañía Anglo Ecuadorian Oilfields (AEO) para explorar los yacimientos petrolíferos en Ancón. En 1929, AEO optimizó la explotación con la perforación del pozo N° 4, que superó los 3.000 BPD, al que luego se agregaron decenas de pozos. (Ortega, 2014)

En 1940, AEO decidió construir en el balneario peninsular de La Libertad la primera refinería de crudos en Ecuador para producir derivados –GLP, gasolinas y diésel– para el consumo interno y dejar de importarlos desde Perú: la Foster (1956) y la Stratford (hasta 1968), con una carga de 7.000 BPD provenientes de Ancón transportados por vía férrea, logrando cubrir el 65% del consumo nacional de esa época. En 1956 habilitó una unidad de refinación con dos plantas: la Universal y la Cracking Térmico. En 1968 se instaló la planta Parsons, con capacidad inicial de 20.000 BPD. En 1989 se cumplió el plazo de concesión otorgada a AEO y tuvo que revertir esos activos al Estado, correspondiendo a Petroecuador su manejo. En la actualidad, la Refinería La Libertad (RLL) abastece el 35% del consumo nacional de combustibles, especialmente a la zona centro sur del país. (Ortega, 2014)

La Refinería La Libertad (RLL) está diseñada para procesar 45000 BPDO de petróleo crudo extraído del Oriente ecuatoriano y produce los siguientes derivados: GLP, gasolina, diesel No. 1, diesel No. 2, jet fuel, JP1, Fuel Oil No.6, solvente No.1, solvente No.2 (rubber solvent), spray oil y mineral turpentine. Durante los últimos años han existido varias denuncias, por la contaminación que se deriva de los efluentes que son evacuados directamente al mar en la zona de La Carioca, en La Libertad. Varias son las poblaciones afectadas. (Ruiz, 2016)

❖ **Complejo Industrial Shushufindi (CIS)**

El Complejo Industrial Shushufindi (CIS), ubicado en el corazón del cantón oriental industrial está conformado por la Refinería Amazonas y la Planta de Gas Shushufindi. La Refinería Amazonas inició su operación en 1987 procesando 10.000 BPD. En 1995 se amplió su capacidad de procesamiento a 20.000 BPD. (Ruiz, 2016)

Por otra parte, la planta de GLP fue construida en el año 1984 para procesar 25 millones de ft³. Posteriormente se ejecutaron labores complementarias con el objeto de captar Gas Natural (GN) de los campos petroleros adyacentes. La planta de gas de Shushufindi se construyó con capacidad para procesar 25 millones de pies cúbicos de gas y su operación inició en 1984. Posteriormente se han realizado instalaciones complementarias para captar el gas natural de los campos petroleros y transportarlo conjuntamente con los licuables para su procesamiento en esta planta de gas. (Rosales, 2014)

❖ **PETROAMAZONAS EP**

Es una empresa pública que se dedica a la explotación y producción de reservas de petróleo, desarrolla actividades para el negocio de Hidrocarburos. La empresa opera 20 bloques, 17 ubicados en la cuenca oriente ecuatoriana y 3 en la zona costera del Litoral. Posee 85 campos en producción, concentrando sus actividades en la cuenca amazónica. Petroamazonas fue constituida en 2008 y tiene su sede en Quito, Ecuador. (Petroamazonas, 2015)

Petroamazonas EP asume las operaciones de los campos Lago Agrio, Libertador, Shushufindi, Auca, Cuyabeno y de gas natural en el litoral ecuatoriano, que pertenecían a la Gerencia de Exploración y Producción de EP Petroecuador, dentro del proceso de fusión por absorción iniciado en enero de 2010. (Petroamazonas, 2015)



Figura 1-3: Descripción gráfica de la ubicación de la operación de Petroamazonas EP en la Amazonía ecuatoriana

Fuente: (Petroamazonas EP ,2016) Ubicación Gráfica de Petroamazonas EP

A partir del 2 de enero de 2013, fecha en la que se hizo efectivo el decreto, Petroamazonas EP tiene a cargo la operación de 18 bloques petroleros en el oriente y 3 bloques en la costa. Al momento es operadora de 21 bloques, 18 ubicados en la Cuenca Oriente del Ecuador y tres en la zona del Litoral como se observa en la figura 1-3. (Petroamazonas, 2016)

El campo Libertador es parte de Petroamazonas el cual está ubicado en la provincia de Sucumbíos, fue descubierto por CEPE actualmente Petroproducción en 1982 con la perforación del pozo Secoya Oeste 1; el petróleo originalmente en sitio para Libertador ha sido estimado en 1.28 billones de barriles de petróleo con aproximadamente el 90% contenido en las areniscas. Con 98 pozos perforados, Libertador ha producido hasta Diciembre del 2002, aproximadamente 266 millones de Barriles de petróleo, de gravedad con rango de 22° a 35° API; esto representa un 20% del petróleo originalmente en sitio. (Martínez-Alonso & Gaju, 2005, pp. 81-84)

El campo Libertador está constituido por los siguientes campos: Frontera, Tapi, Tetete, Peña Blanca, Ucano, Shushuqui, Pacayacu, Shuara, Secoya, Pichincha, Carabobo. A partir de 1992 se incluyen dentro de este campo a Parahuaco y a Atacapi que eran hasta esa fecha operados por Texaco. (Almeida & Suárez, 2006)

EMPRESA	BLOQUE	AREA DE OPERACION	POBLACION AFECTADA
Amoco/Mobil	18	Provincia de Sucumbios. Afecta el área protegida del Cayambe-Coca	Quichua y colonos
Arco	10 y 24	Provincia de Pastaza y Morona Santiago. Afecta el Parque Nacional Sangay.	Quichua, Shiwiar Achuar, colonos
BHP	3	En la región de la costa, explota gas en el mar.	Pesquerías locales
City	27	Provincia de Sucumbios. Recerva Faunistica. Afecta al Cuyabeno.	Siona y colonos
CGC	2 y 23	Provincia del Guayas. Pastaza.	Campesinos Quichua
Elf	14 y 17	Provincia del Napo. Afecta el Parque Nacional Yasuni.	Huaorani
Occidental	15	Provincia de Napo y Sucumbios. Reserva de Limoncocha	Secoya y Siona y colonas
Oryx	7 y 21	Provincia de Napo y Pastaza	Quichua y Huaorani colonos
Perez Companc	Sucumbios y Napo	Cofanes, Quichuas, Huaorani y colonos	
Santa Fe	11	Provincia de Sucumbios Parque del Gran Sumaco	Quichuas y colonos
Tripetrol	1,4,28	Provincia del Guayas en la costa y de Pastaza y Napo. Afecta al Parque del Llanganates en la amazonía.	Quichuas y Campesinos
Tritón	19	Provincia de Napo y Sucumbios. Afecta el Parque de Llanganates.	Colonos

Figura 1-4: Empresas petroleras que operan en el Ecuador

Fuente: (Elis, 2008) Población afectada por empresas petroleras

En la Figura 1-4 tenemos diferentes empresas petroleras que operan en el Ecuador junto con el área en donde operan y las afectaciones que causan a la población, como bien sabemos que el petróleo no se extrae en estado limpio ya que viene acompañado de gas, metales pesados, azufre, y otros elementos impuros estos causan afectaciones tanto a la población como al medio ambiente. (Elis, 2008, pp. 20-25)

Los pozos existentes en las diferentes petroleras han generado millones de galones de desechos tóxicos por día, que son descargados en el medio ambiente, contaminando esteros y ríos que proveen de agua para consumo humano.

Los componentes tóxicos sobrepasan en 10 000 veces los niveles de contaminación tolerables. Existen alrededor de 200 piscinas o fosas donde se descargan desechos tóxicos provenientes de la actividad petrolera, así mismo los residuos de crudo son arrojados a las carreteras, se deforesta irracionalmente para la construcción de los pozos. En la última década ya se notan movimientos contestatarios de la sociedad civil, exigiendo indemnizaciones económicas para los pueblos amazónicos más perjudicados. (El Universo, 2013)

1.4 Suelos contaminados por metales pesados

La industria petrolera y actividades asociadas como la minería generan una gran cantidad de residuos pétreos y lodos ricos en metales pesados que son depositados en la superficie del entorno minero. Así, el suelo original de la mina se degrada o se pierde irreversiblemente. El suelo es el medio más estático, donde los contaminantes pueden permanecer durante mucho tiempo. Esta permanencia a largo plazo es especialmente grave en el caso de contaminantes inorgánicos como los metales pesados, que no pueden ser degradados. Su persistencia, acumulación progresiva y su transferencia a otros sistemas supone una amenaza para la salud humana y la de los ecosistemas. (Becerril, 2017)

Los metales pesados están presentes en el suelo como componentes naturales del mismo o como consecuencia de las actividades antropogénicas. (Prieto Méndez, 2009, pp. 29-32)

Las actividades petroleras generan una gran contaminación por metales pesados como Pb,Zn,Cd,Cr,Ni entre otros en el medio ambiente en especial a los suelos afectando su fertilidad y su composición corriendo el riesgo de entrar en contacto con el recurso agua y perjudicando la salud de la población. (Vullo, 2003, pp. 93-104)

Los procesos de adsorción en el suelo hacen que los metales se vayan acumulando y se presentan en altos niveles de concentración. Los problemas de toxicidad de los metales en los seres vivos provocan daños irreversibles en los organismos. Los metales pesados no solo afectan al crecimiento de la planta por el potencial osmótico si no por su propia toxicidad provocando alteraciones físicas, químicas y fisiológicas del suelo entre ellas se encuentran la inhibición del crecimiento de la raíz. (Cuevas, 2004, pp. 59-68)

Las plantas cultivadas representan una importante vía para el movimiento de metales pesados potencialmente tóxicos desde el suelo hacia los humanos, acumulándolos en diferentes cantidades y en sus diferentes órganos vegetales y reproductivos, resultando contribuciones venenosas en la cadena trófica. (Mite, 2010)

Los metales pesados tienen la posibilidad de quedar retenidos en el suelo, pero también pueden ser movilizados mediante diferentes mecanismos biológicos y químicos. Los factores que influyen en la movilización de metales pesados en el suelo son características del suelo como: pH, composición iónica de la solución del suelo, capacidad de intercambio (catiónico o aniónico), presencia de carbonatos, materia orgánica, textura, entre otras. La naturaleza de la contaminación y el origen de los metales y formas de deposición y condiciones medio ambientales producen acidificación, cambios en las condiciones redox, variación de temperatura y humedad en los suelos (Prieto Méndez, 2009, pp. 29-32)

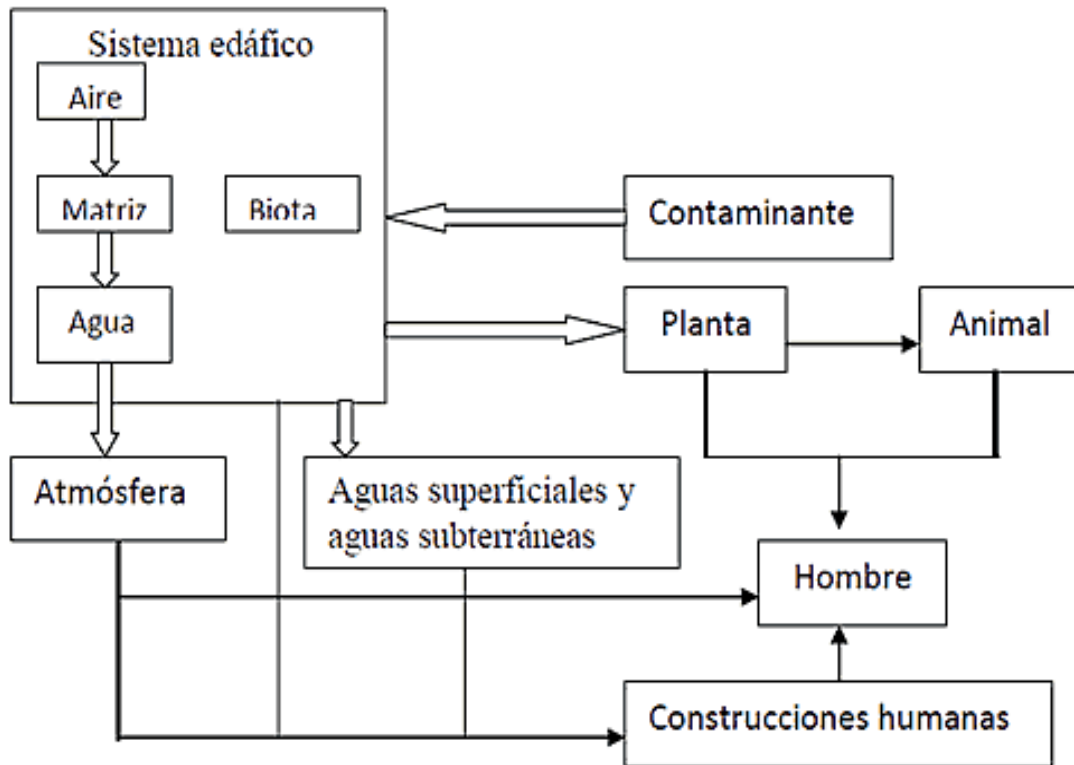


Figura 1-5: Dinámica de los contaminantes en los suelos

Fuente: (Chilon, 2015) La dinámica de los contaminantes en el suelo y las interacciones entre planta-animal-hombre-medioambiente

El suelo es un medio receptor de múltiples sustancias potencialmente contaminantes. La condición de interfase entre la biosfera (biomasa terrestre, biomasa marina y hombre), la litosfera (corteza, suelo y sedimentos), la hidrosfera (agua dulce y agua de mar) y la atmósfera lo convierte en una estación de tránsito de los contaminantes, en la que pueden permanecer retenidos grandes períodos de tiempo, lo que aumenta la posibilidad de que puedan ser degradados y perder su naturaleza contaminante o ser tan móviles que se incorporen a los demás medios, y a las redes tróficas con los consecuentes problemas que ello acarrearía. Como se observa en la Figura 1-5 la dinámica de los contaminantes en el suelo son factores como que se deben tomar en cuenta para evitar la volatilización, adsorción o transformación de los contaminantes que hacen difícil su movilización y degradación. (Chilon, 2015, p. 456)

1.5 Caracterización de suelos

La caracterización de suelos contaminados tiene la finalidad de identificar el grado de afectación y reconocer los agentes responsables de su deterioro. Conocer las características físicas, químicas

y biológicas de un suelo es importante para proponer un adecuado proceso de tratamiento o descontaminación, ya que juegan un papel fundamental para la reducción o aumentación de la toxicidad de los metales pesados. (Colombo L.D., Mangione S.B. & Figlioglia A., 1998, pp. 273-283).

Las propiedades del suelo más importantes para determinar las técnicas de biorremediación son textura, materia orgánica, conductividad eléctrica, capacidad de intercambio catiónico, relación de carbono, nitrógeno y fósforo del suelo. (Braddock, 1997, pp. 2078-2084)

De tal manera es importante realizar la cuantificación de los microorganismos presentes, que incluyen pruebas de biofactibilidad y estudios de biodegradabilidad en laboratorio; información indispensable para predecir el tiempo que tomará la biodegradación en campo y las características y requerimientos para optimizar la depuración. (Finn, 2000, pp. 125-134)

1.5.1 Parámetros físicos, químicos y biológicos

❖ pH

El potencial hidrógeno es una de las propiedades más importantes del suelo ya que afecta la disponibilidad de los nutrientes, controla varias actividades químicas y biológicas e influye de manera indirecta en el desarrollo de las plantas. A pesar de su simplicidad, no sólo indica si el mismo es ácido, neutro o alcalino, sino que aporta información básica para conocer su potencial agrícola, estimar la disponibilidad de nutrientes esenciales y la toxicidad de otros elementos. Permite predecir los cationes dominantes en los coloides del suelo y está involucrado en la retención de plaguicidas, factor importante al momento de evaluar contaminación de suelos y aguas y/o persistencia. Existen distintos tipos de acidez (pH actual, pH potencial) y su evaluación dependerá del objetivo deseado. (Vázquez, 2005, pp. 69-88)

Los metales tienen a ser más disponibles en pH ácidos ya que son menos adsorbidos a excepción de As, Mo, Cr y Se, estos tienen más movilidad en pH alcalino. (Huertos & Romero-Baena, 2008, pp. 48-60)

❖ Conductividad eléctrica CE

La concentración de sales solubles presentes en la solución del sustrato se mide mediante la CE, es la medida de la capacidad de un material para conducir la corriente eléctrica, el valor será más alto a medida que sea más fácil el movimiento de corriente a través del mismo. Depende de la temperatura por lo que, para realizar comparaciones válidas la conductividad eléctrica debe expresarse en relación a una temperatura de referencia, habitualmente esta temperatura es de 25°C. (Ivia, 2014)

❖ Materia orgánica

El suelo es un ecosistema complejo involucrado íntimamente en el ciclo de materia orgánica, nutrientes y humedad. En comparación con el aire y el agua, el suelo es más móvil y complejo en cuanto a su composición y funciona como un degradador para los contaminantes, actúa como un filtro en el cual se retarda el paso de químicos al agua subterránea, y como un biorreactor en la cual algunos contaminantes pueden ser descompuestos o degradados. Es el medio donde los microorganismos heterotróficos son capaces de utilizar contaminantes como fuente de carbono y energía para su crecimiento, produciendo sustancias no tóxicas como el CO₂, agua y biomasa. (Alloway, 2001, pp. 352-376)

La materia orgánica al complejar metales produce un descenso de pH al liberar H⁺, de tal manera que al acidificar el suelo se pueden movilizar metales y provocar que una parte de los mismos pases a formas más solubles. (CCMA-CSIC, 2002)

❖ Nitrógeno Total

La fracción orgánica de un suelo regula los procesos químicos, influye en sus características físicas y es el centro de casi toda su actividad (Loveland & Webb, 2003, p. 1-18). El nitrógeno (N) es uno de los elementos más importantes para la nutrición de las plantas y por ende su relación con

los demás elementos del suelo es determinante para un normal desarrollo de la flora, además su presencia en suelos aporta un medio óptimo para el desarrollo de la vida microbiana. La materia orgánica (MO) y el nitrógeno total (Nt) son dos propiedades fundamentales para evaluar la fertilidad del suelo, y el método Kjeldahl es el más usado para medir la concentración de Nt en el suelo (Bremner & Mulvaney, 1982, p. 595–624).

❖ **Contaminantes orgánicos**

Son considerados los contaminantes más frecuentes en suelos y aguas debido a su uso masivo en la industria. Entre ellos podemos citar los hidrocarburos monoaromáticos, hidrocarburos policíclicos aromáticos, hidrocarburos alifáticos, hidrocarburos policlorados, fenoles, nitroaromáticos, alcoholes, éteres, disolventes clorados, isocianatos, cianuros orgánicos, carbonilos de metales, etc (Ortiz, et al., 2007). La distribución y el comportamiento de los compuestos orgánicos contaminantes en suelos están gobernados por diferentes factores que incluyen las características del suelo (pH, contenido en materia orgánica y arcilla, potencial redox, contenido en nutrientes, actividad microbiológica, etc.), las propiedades específicas de cada compuesto (presión de vapor, solubilidad, estabilidad química, biodegradabilidad, características de sorción, etc.) y factores ambientales como la temperatura y la precipitación. Así, estos compuestos pueden sufrir procesos de lavado, biodegradación, volatilización, fotodescomposición e hidrólisis, inmovilización por adsorción y formación de enlaces con partículas de arcilla, óxidos, oxihidróxidos, etc., y transferencia a organismos. (Jones, 1996, pp. 189-197)

❖ **Microorganismos**

El suelo es el ambiente donde ocurren la mayoría de los procesos microbianos que influyen sobre la nutrición de los cultivos, de los cuales se ocupa la Microbiología Agrícola. (Huertos & Romero-Baena, 2008, pp. 48-60)

Son los verdaderos descomponedores de restos orgánicos transformándolos en compuestos inorgánicos, cerrando el ciclo de los elementos. Constituyen cerca del 85% de la fracción viva del

suelo. Debido a que son microscópicos muchas veces es difícil de estimar la significancia del peso absoluto de microorganismos en un suelo. (Chamorro & Lzeth, 2017, pp. 6-10)

De manera general se puede afirmar que los microorganismos se distribuyen según las condiciones ambientales y la disponibilidad de alimento. En la superficie del suelo existe mayor cantidad de restos orgánicos y oxígeno, por lo que allí se dispone la mayor cantidad de organismos con metabolismos aeróbicos. A mayor profundidad los microorganismos aeróbicos se localizan donde se conjugan condiciones óptimas de humedad y aireación. Exceso de humedad satura los poros y se crean condiciones de falta de Oxígeno. En las capas más profundas del suelo superficial existe mayor cantidad de microorganismos tolerantes a la falta de oxígeno y anaeróbicos que degradan compuestos derivados de la actividad de los microorganismos más superficiales. (Chamorro & Lzeth, 2017, pp. 6-10)

❖ Metales pesados

Denominados así debido a su asociación a problemas de contaminación en el ambiente. Algunos de ellos son esenciales para los organismos en pequeñas cantidades, como el Fe, Mn, Zn, B, Co, As, V, Cu, Ni o Mo, y se vuelven nocivos cuando su concentración se eleva, mientras que otros no desempeñan ninguna función biológica y a lo contrario resultan altamente tóxicos, como es el caso del Cd, Hg o el Pb (Ortiz, et al., 2007). Estos elementos tienen su origen en el substrato litológico, apareciendo bien como elementos nativos o incorporados normalmente en las estructuras de sulfuros, silicatos, carbonatos, óxidos e hidróxidos. Los aportes dominantes se producen por deposición atmosférica y afectan de forma significativa a los primeros centímetros de suelo. Las fuentes más importantes de metales en suelos son las cenizas y escorias de los procesos de combustión de carbón o derivados del petróleo, el aporte directo procedente de actividades agrícolas (adición de fertilizantes, pesticidas, lodos de depuradoras, compost, etc) y su acumulación a partir de residuos industriales, urbanos y mineros (metalurgia, fabricación de pinturas, barnices, disolventes, baterías, textiles, curtidos, etc). (Mulligan, 2001, pp. 193-207)

1.6 Contaminación de suelos por metales pesados

La presencia en los suelos de concentraciones nocivas de algunos elementos químicos y compuestos es un tipo especial de degradación que se denomina contaminación. (Huertos & Romero-Baena, 2008, pp. 48-60)

Al hablar de contaminación por metales en suelos, lo más importante es conocer la especie química bajo la que se encuentra, es decir, su especiación. De tal forma que el resultante de la especiación va a influir decisivamente en su distribución en el suelo, condicionando su solubilidad, su movilidad en el suelo y las aguas superficiales y subterráneas, su biodisponibilidad y toxicidad y, por tanto, su comportamiento como contaminante potencial. (Mulligan, 2003, pp. 497-503.) (Mulligan, C. N., and Yong, R. N., 2004, pp. 587-601).

Los contaminantes como plaguicidas, hidrocarburos y metales pueden acumularse en los suelos, sedimentos y las plantas. Los (HAPS), son muy preocupantes por su persistencia en el medio ambiente (especialmente en el suelo) y los potentes efectos carcinogénicos, mutagénicos y teratogénicos que estos compuestos tienen sobre los organismos vivos. (Billiard SM, 2008, pp. 5-23); (Bispo A, 1999, p. 947-952)

Las características del suelo juegan un papel importante en reducir o aumentar la toxicidad de los metales en el suelo, según la investigación de (Colombo L.D., Mangione S.B. & Figlioglia A., 1998, pp. 273-283) donde señalan que la distribución de los metales pesados en los perfiles del suelo, así como su disponibilidad está controlada por parámetros como propiedades intrínsecas del metal y características de los suelos. Los metales tienden a acumularse en la superficie del suelo quedando accesibles al consumo de las raíces de los cultivos. (Baird, 1999)

1.6.1 Metales pesados

Se denomina elementos traza a los metales pesados ya que se conoce que todos los elementos trazas son nocivos si se ingieren o se inhalan en concentraciones altas y por largos periodos de tiempo. Los elementos traza más abundantes en los suelos pueden clasificarse de acuerdo a la forma química en la que se encuentran en el suelo como: cationes (Ag^+ , Cd^{+2} , Co^{+2} , Cr^{+3} , Cu^{+2} , Hg^{+2} , Ni^{+2} , Pb^{+2} , Zn^{+2}), metales nativos (Hg, V), oxianiones (AsO_4^{-3} , CrO_4^{-2} , MnO_4^{-2} , HSeO_3^-

, SeO_4^{-2}), halogenuros (F^- , Cl^- , Br^- , I^-), y organocomplejos (Ag, As, Hg, Se, Te, Tl). Cabe recalcar que algunos elementos pueden aparecer con más de una forma. Normalmente el Cr, Ni, Pb, y Zn varían entre 1 - 1500 mg/ kg, el Co, Cu y As entre 0.1 y 250 mg/kg, y con menores proporciones el Cd y Hg (0.01 - 2 mg/kg). (Huertos & Romero-Baena, 2008, pp. 48-60)

1.6.1.1 Principales metales pesados

❖ **Plomo**

Elemento químico, Pb, número atómico 82 y peso atómico 207.19. El plomo es un metal pesado (densidad relativa, o gravedad específica, de 11.4 s 16°C (61°F)), de color azulado. Es flexible, inelástico, se funde con facilidad a 327.4°C (621.3°F) y hierve a 1725°C (3164°F). Las valencias químicas normales son 2 y 4. (Santos, et al., 2012, pp. 327-349)

El uso del plomo, se encuentra en la fabricación de acumuladores. Otras aplicaciones importantes son la fabricación de tetraetilplomo, forros para cables, elementos de construcción, pigmentos, soldadura suave, refinación de petróleo y municiones. (Santos, 2015, pp. 62-67)

Efectos del plomo en el medio ambiente

El Plomo se encuentra en forma natural en el medio ambiente en su mayoría son como resultado de las actividades humanas. El plomo se encuentra en la gasolina y entra al ambiente a través de los tubos de escape de los autos, donde las partículas grandes se precipitan en el suelo o a las superficies de las aguas mientras que las pequeñas partículas viajan a través del aire y permanecen en la atmosfera haciendo que el plomo caiga sobre la superficie el momento que llueva. Otras actividades humanas, como la combustión del petróleo, procesos industriales, combustión de residuos sólidos, también contribuyen a perjudicar el ambiente. El Plomo tiende a acumularse en los cuerpos de los organismos acuáticos y organismos del suelo. Estos experimentarán efectos en su salud por envenenamiento por Plomo. (Gélvez Gonzpales, 2016, p. 35)

Efectos del plomo en los seres vivos

El plomo tiene efectos neurotóxicos y nefrotóxicos, y puede interferir en la utilización de minerales como calcio, magnesio y zinc. Niveles moderados de exceso de plomo en el organismo puede provocar efectos adversos en la memoria, funciones cognitivas, conducción nerviosa y anemia, entre otros. (Santos, et al., 2012, pp. 327-349)

❖ Cadmio

El cadmio es un elemento químico de símbolo Cd, tiene un número atómico 48 y de peso atómico 112.40, es un metal de color blanco con un ligero matiz azulado. Su densidad relativa es de 8.65 a 20°C (68°F). Su punto de fusión se da a 320.9°C (610°F) y de ebullición de 765°C (1410°F). (Santos, 2015, pp. 62-67)

El cadmio no se encuentra en estado libre en la naturaleza, es obtenido como subproducto de la fundición y refinamiento de los minerales de zinc. (Ruiz, 2016)

Efectos del cadmio en el medio ambiente

Las aguas residuales con Cadmio procedentes de las industrias mayoritariamente terminan en suelos. Las causas de estas corrientes de residuos son por ejemplo la producción de Zinc, minerales de fosfato y las bioindustrias del estiércol. El Cadmio de las corrientes residuales puede entrar en el aire a través de la quema de residuos urbanos y de la quema de combustibles fósiles. Debido a las regulaciones sólo una pequeña cantidad de Cadmio entra ahora en el agua a través del vertido de aguas residuales de casas o industrias. El Cadmio es fuertemente adsorbido por la materia orgánica del suelo. Los suelos que son ácidos aumentan la toma de Cadmio por las plantas. Esto es un daño potencial para los animales que dependen de las plantas para sobrevivir. (Santos, 2015, pp. 62-67)

Efectos del cadmio en los seres vivos

El cadmio trae efectos dañinos que se pueden ver a nivel neuronal, respiratorio, cardiovascular y óseo. La retención de este mineral produce hipertensión, anemia microcítica hipocrómica (que no responde a la administración de hierro) y proteinuria con excreción anormalmente elevada de B-2 microglobulina. (Santos, et al., 2012, pp. 327-349)

❖ Cobre

El cobre es un elemento químico de símbolo Cu, con número atómico 29, es uno de los metales de transición. Su utilidad se debe a la combinación de sus propiedades químicas, físicas y mecánicas, así como a sus propiedades eléctricas y su abundancia. El cobre fue uno de los primeros metales usados por los humanos. El punto de fusión del cobre es de 1083.0 (+/-) 0.1°C (1981.4+/-0.2°F) y su punto de ebullición normal es de 2595°C (4703°F). Las principales aplicaciones de los compuestos de cobre las encontramos en la agricultura, en especial como fungicidas e insecticidas; como pigmentos; en soluciones galvanoplásticas; en celdas primarias; como mordentes en teñido, y como catalizadores. (Santos, et al., 2012, pp. 327-349)

Efectos del cobre en el medio ambiente

El Cobre es encontrado cerca de minas, asentamientos industriales, vertederos y lugares de residuos. Cuando el Cobre termina en el suelo este es fuertemente atado a la materia orgánica y minerales. Como resultado este no viaja muy lejos antes de ser liberado y es difícil que entre en el agua subterránea. En el agua superficial el cobre puede viajar largas distancias, tanto suspendido sobre las partículas de lodos como iones libres. (Martínez-Alonso & Gaju, 2005, pp. 81-84)

El Cobre no se rompe en el ambiente y por eso se puede acumular en plantas y animales cuando este es encontrado en suelos. En suelos ricos en Cobre sólo un número pequeño de plantas pueden vivir. (Santos, 2015, pp. 62-67)

El Cobre puede interrumpir la actividad en el suelo, su influencia negativa en la actividad de microorganismos y lombrices de tierra. La descomposición de la materia orgánica puede disminuir debido a esto. (Huertos & Romero-Baena, 2008, pp. 48-60)

Efectos del cobre en los seres vivos

Exposiciones de largo periodo al cobre pueden irritar la nariz, la boca y los ojos y causar dolor de cabeza, de estómago, mareos, vómitos y diarreas. Una toma grande de cobre puede causar daño al hígado y los riñones e incluso la muerte. (Alberto, 2014, p. 145)

❖ Níquel

El níquel es un elemento químico de Símbolo Ni, número atómico 28 es un metal duro, blanco plateado, dúctil y maleable. La masa atómica del níquel presente en la naturaleza es 58.71. La densidad del níquel es 8.90 veces la del agua a 20°C (68°F); se funde a 1455°C (2651°F) y hierve a 2840°C (5144°F). (Santos, 2015, pp. 62-67)

La aplicación más común del níquel es el uso como ingrediente del acero y otros productos metálicos. Este puede ser encontrado en productos metálicos comunes como es la joyería. (Santos, et al., 2012, pp. 327-349)

Efectos del níquel en el medio ambiente

La mayor parte de todos los compuestos del níquel que son liberados al ambiente se absorberán por los sedimentos o partículas del suelo y llegará a inmovilizarse. En suelos ácidos, el níquel se une para llegar a ser más móvil y a menudo alcanza el agua subterránea. (Martínez-Alonso & Gaju, 2005, pp. 81-84)

Altas concentraciones de níquel en suelos arenosos pueden dañar a las plantas y las altas concentraciones de níquel en aguas superficiales pueden disminuir el rango de crecimiento de las algas. Los microorganismos pueden sufrir una disminución del crecimiento debido a la presencia de níquel, pero ellos usualmente desarrollan resistencia al níquel. (Huertos & Romero-Baena, 2008, pp. 48-60)

Efectos del níquel en los seres vivos

Altas cantidades de níquel trae graves consecuencias como embolia al pulmón, fallos respiratorios, asma, bronquitis, desordenes del corazón, defectos de nacimiento, y puede desarrollarse el cáncer de pulmones, nariz, laringe, próstata. (Alberto, 2014, p. 145)

❖ Zinc

Elemento químico de símbolo Zn, número atómico 30 y peso atómico 65.37. Es un metal maleable, dúctil y de color gris, se encuentra como isótopo de masa atómica 64. Se funde a 420°C (788°F) y hierve a 907°C (1665°F). El zinc es buen conductor del calor y la electricidad. Como conductor del calor, tiene una cuarta parte de la eficiencia de la plata. A 0.91°K es un superconductor eléctrico. La mayoría del zinc es adicionado durante actividades industriales, como es la minería, la combustión de carbón y residuos y el procesado del acero. (Santos, et al., 2012, pp. 327-349)

Efectos del zinc en el medio ambiente

Grandes cantidades de zinc pueden ser encontradas en los suelos. Cuando los suelos son granjas y están contaminados con zinc, los animales absorben concentraciones que causan daños a la salud. El Zinc soluble en agua que está localizado en el suelo puede contaminar el agua subterránea. (Martínez-Alonso & Gaju, 2005, pp. 81-84)

Las plantas a menudo tienen una toma de zinc que sus sistemas no pueden manejar, debido a la acumulación de zinc en el suelo. En suelos ricos en zinc sólo un número limitado de plantas tiene la capacidad de sobrevivir. (Huertos & Romero-Baena, 2008, pp. 48-60)

Efectos del zinc en los seres vivos

Es un elemento traza que es esencial para la salud humana. Cuando la gente absorbe poca cantidad de Zinc estos pueden experimentar una pérdida del apetito, disminución de la sensibilidad, el sabor y el olor. Pequeñas llagas, y erupciones cutáneas. La acumulación del Zinc puede incluso producir defectos de nacimiento. (Alberto, 2014, p. 145)

1.6.2 Fuentes de Contaminación

Entre las más importantes sobresalen las explotaciones de minas, quemaduras de basuras urbanas, uso de lodos urbanos en la agricultura, agroquímicos, gases provenientes de las industrias, quema de combustibles fósiles, entre estos el carbón, los derivados del petróleo, etc. (Mite, et al., 2010, pp. 4-16)

- **Grandes Instalaciones de Combustión**

Se define como instalación de combustión a cualquier dispositivo técnico en el que se oxiden productos combustibles a fin de utilizar así el calor producido. La combustión se puede definir como una combinación del oxígeno con los elementos del combustible, que en los combustibles fósiles son fundamentalmente tres: carbono, hidrógeno y, en menor medida como fuente de producción de calor, azufre. Las emisiones de contaminantes a la atmósfera derivada de la combustión de combustibles fósiles más importantes son las de SO₂, NO_x, CO, partículas y gases de efecto invernadero, como el CO₂. También se emiten otras sustancias en pequeñas cantidades como, por ejemplo, metales pesados, compuestos de haluros y dioxinas. (Mite, et al., 2010, pp. 4-16)

- Cementeras

Una refinería se puede definir como un complejo de instalaciones en el que el petróleo crudo es separado en fracciones ligeras y pesadas, a partir de las cuales se obtendrán insumos, es decir, productos para posterior aprovechamiento. También se incluyen en este sector las instalaciones para la producción de gas combustible distinto del gas natural y gases licuados del petróleo. (Chamorro & Lzeth, 2017, pp. 6-10)

Los focos principales canalizados procedentes de una gran cantidad de unidades utilizadas en este tipo de instalaciones en las cementeras pueden ser:

- ✓ Calderas y hornos
- ✓ Unidades de desulfuración y recuperación de azufre (SRU), donde se reduce el contenido en azufre (y así cumplir especificaciones, por ejemplo, para uso en diesel de automoción).
- ✓ Unidades de destilación, que separan fracciones de petróleo crudo de diferente volatilidad.
- ✓ Unidades de cracking catalítico en lecho fluido (FCC), donde se “rompen” las fracciones de petróleo crudo pesadas en fracciones más ligeras con ayuda de alta temperatura y catalizadores.
- ✓ Unidades de cogeneración, en las cuales se aprovecha la alta temperatura de los gases de salida de la combustión para conseguir energía en forma de calor.

- Instalaciones de incineración y coincineración de residuos

El tratamiento térmico de residuos es una respuesta a las amenazas medioambientales planteadas por corrientes de residuos mal gestionadas o sin gestionar. El objetivo del tratamiento térmico es proporcionar una reducción global de impacto ambiental que de otro modo podría derivarse de los residuos. En el curso del funcionamiento de instalaciones de incineración se generan emisiones y consumos cuya existencia y magnitud se ve influenciada por el diseño y el funcionamiento de la instalación. (Mite, et al., 2010, pp. 4-16)

❖ **Movilidad de metales pesados en el suelo**

La movilidad de un metal depende su especiación química, y de los parámetros de suelos tales como pH, materia orgánica, carbonatos, minerales de la arcilla, Conductividad eléctrica, etc. De tal forma que los cationes de cambio están disponibles y depende del mineral o minerales de los que están formando parte como complejo de cambio. Cuando el metal está precipitado, no se comportará igual si lo hace como carbonato, sulfato o fosfato. Tampoco será lo mismo que el metal se encuentre formando parte de un sulfuro (oxidable y solubilizable) que de un silicato (Chamorro & Lzeth, 2017, pp. 6-10). En general, la movilidad de los metales pesados es muy baja, quedando acumulados en los primeros centímetros del suelo, siendo lixiviados a los horizontes inferiores en muy pequeñas cantidades. Por eso la presencia de altas concentraciones en el horizonte superior decrece drásticamente en profundidad cuando la contaminación es antrópica. Esto sucede precisamente porque la disponibilidad de un elemento depende también de las características del suelo en donde se encuentra. (Ivia, 2014)

• **Parámetros Físicos y Químicos que dependen en la movilidad de metales**

pH: La mayoría de los metales tienden a estar más disponibles a pH ácido porque son adsorbidos con menor fuerza, excepto As, Mo, Se y Cr, que son más móviles a pH alcalino. (Chilon, 2015, p. 456)

Textura: Los suelos arcillosos retienen más metales por adsorción o en el complejo de cambio de los minerales de la arcilla. Por el contrario, los arenosos carecen de capacidad de fijación y puede contaminarse el nivel freático. (Martínez-Alonso & Gaju, 2005, pp. 81-84)

Materia orgánica: Reacciona con los metales formando complejos de cambio o quelatos. La adsorción puede ser tan fuerte que queden estabilizados, como el caso del Cu, o formen quelatos también muy estables, como puede pasar con el Pb y Zn. En muchos casos se forman complejos

organometálicos lo que facilita la solubilidad del metal, la disponibilidad y dispersión porque pueden degradarse por los organismos del suelo. Esto conduce a una persistencia de la toxicidad. (Chilon, 2015, p. 456)

Salinidad: El aumento de la salinidad puede incrementar la movilización de metales y su retención por dos mecanismos. Los aniones cloruro y sulfato pueden formar compuestos más estables con metales tales como Pb, Zn, Cu, Cd y Hg. Por otra parte, las sales normalmente dan pH alcalino. (Martínez-Alonso & Gaju, 2005, pp. 81-84)

1.6.3 Métodos de detección

❖ Análisis Total de metales pesados en el suelo

Para obtener la concentración Total de un elemento en el suelo es necesario extraer todas las formas que se puede presentar el mismo. Para ello se puede llevar a cabo mediante métodos cuantitativos como:

- Método semicuantitativo: Fluorescencia de Rayos X (FRX)

La técnica de Fluorescencia de Rayos X (FRX) se encuentra basada en el principio de que si un átomo es bombardeado con fotones de alta energía, mientras que otros electrones rellenan niveles de energía de electrones que han sido expulsados los cuales emiten radiación que es característica de estos átomos; cada elemento tienen una serie propia de emisión o líneas de fluorescencia por rayos X. Para los análisis de elementos de suelos se pueden determinar metales como Cu, Mn, Zn, As, Pb, Ni, Cr a concentraciones normales y para los metales Cd, Hg, Sn se requiere una pre-concentración de la muestra. (Caballero Vanegas & Mejía Zambrano, 2015, pp. 13-15)

Tienen una gran presión y rapidez en el procedimiento.

- Método cuantitativo: Espectrometría de Masas-Plasma (ICP-MS)

Para el análisis de las muestras este método se debe tomar en cuenta los componentes ya sean orgánicos e inorgánicos ya que se necesita diferente tratamiento para su dilución. Generalmente los metales en un suelo contaminado están presentes en formas de traza lo que dificulta cuantificar su concentración, así mismo es necesario conocer a que niveles llega esta concentración tras haberse realizado un tratamiento de depuración biológico. (Torres & Sosa, 2016, pp. 21-30)

1.6.3.1 ICP-AES

En la actualidad el método más empleado para su análisis es el plasma de acoplamiento inductivo (ICP). Mediante la espectroscopia de emisión con plasma de acoplamiento inductivo es posible determinar de forma cuantitativa la mayoría de los elementos de la tabla periódica a niveles de traza y ultratrazas, partiendo de muestras en disolución acuosa. (Torres & Sosa, 2016, pp. 21-30)

La técnica de espectroscopia de emisión atómica de plasma acoplado por inducción (ICP-AES) se basa en la radiación emitida cuando un átomo o ión excitado por absorción de energía de una fuente caliente, se relaja a su estado fundamental. La cantidad de energía emitida dependerá de la cantidad de átomos presentes del metal correspondiente. (LABTE, 2016)

Fundamento Teórico

Los componentes de la muestra se ionizarán por efecto de un plasma de argón (plasma: volumen de gas con parte de sus átomos o moléculas ionizados). Estos iones producidos serán separados en base a su relación masa/carga en un espectrómetro de masas y posteriormente cuantificados por un detector multiplicador de electrones. Esta técnica tiene una amplia aplicación en la determinación de elementos de interés medioambiental, pudiendo analizar más de 70 elementos de forma simultánea. (Chamorro & Lzeth, 2017, pp. 6-10)

Preparación de la muestra

Antes de realizar el análisis, la muestra se somete a un tratamiento de digestión donde se encuentran los metales para favorecer la disolución de todos los componentes de las muestras sólidas a analizar. El método de extracción que se utiliza es empleado por la Agencia para Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA-United States Environmental Protection Agency) es el método EPA-SW-846-3051, en el cual se habla sobre la oxidación de la materia orgánica empleando ácido nítrico y sometiendo a las muestras a condiciones elevadas de temperatura y presión. (Caballero Vanegas & Mejia Zambrano, 2015, pp. 13-15)

Funcionamiento

El primer paso, es la atomización de la muestra. Para excitar los átomos se utiliza plasma de argón a 10.000 K, constituido por una mezcla gaseosa conductora de argón, electrones y cationes de la muestra a analizar. Para determinar la concentración, esencialmente, se necesita un nebulizador para conseguir un aerosol de partículas y un atomizador que mediante calentamiento (plasma o llama) produce átomos o iones independientes. Así, basta con un sistema de excitación térmico (la propia fuente de atomización) y un detector. Para determinar la concentración de los metales se realizan en primer lugar las curvas de calibración correspondientes a cada metal en el intervalo de concentración comprendido entre 0 y 10 mg/L, permitiendo así no solo analizar la concentración inicial de los metales de un suelo contaminado sino también comprobar si los métodos de remediación son positivos y logran eliminar estos contaminantes. (Torres & Sosa, 2016, pp. 21-30)

Principio del método:

La técnica utiliza básicamente el principio de que los átomos libres generados en un atomizador pueden absorber radiación a una frecuencia específica. La absorción atómica cuantifica la absorción de átomos de estado fundamental en estado gaseoso.

Los átomos absorben luz ultravioleta o visible y hacen transiciones a niveles de energía electrónicos más altos. La concentración de analitos se determina a partir de la cantidad de absorción. (Caballero Vanegas & Mejia Zambrano, 2015, pp. 13-15)

Las mediciones de concentración generalmente se determinan a partir de una curva de trabajo que calibra el instrumento con el estándar de concentración conocida. (Torres & Sosa, 2016, pp. 21-30)

Partes Del Equipo

A continuación, se detalla las partes principales del ICP según (Torres & Sosa, 2016, pp. 21-30)

Nebulizador: Se introduce la muestra líquida en la corriente de gas en forma de aerosol. La función del nebulizador es crear un aerosol con gotitas pequeñas para que sean transportadas al plasma. (Caballero Vanegas & Mejia Zambrano, 2015, pp. 13-15)

Existen diferentes tipos de nebulizadores en función de sus características:

- ✓ Eficacia según caudal de la muestra
- ✓ Tolerancia a sólidos suspendidos o disueltos
- ✓ Tolerancia a ácidos y bases fuertes y a solventes orgánicos.
- ✓ Diferentes posibilidades de que las muestras puedan causar efecto memoria.
- ✓ Capacidad de aspiración.

Spray chambers: Permite separar y desechar grandes gotas de disolución que se forman para que las pequeñas se encuentren en suspensión en el flujo de gas y alcancen el plasma.

Antorcha: Consiste en tres tubos concéntricos de cuarzo a través de los cuales fluyen corrientes de argón. La antorcha está rodeada por una espiral de 2-4 vueltas, la cual genera una radiofrecuencia, un campo electromagnético. En ella se genera el plasma y se produce la ionización de la muestra.

Un plasma: denominado como cualquier volumen de gas con parte de sus moléculas o átomos ionizados, es una mezcla gaseosa conductora de la electricidad que contiene cationes y electrones. Se produce porque una chispa de alto voltaje provoca iones de Ar^+ y e^- en las paredes del tubo más externo de la antorcha creando el plasma. La radiofrecuencia origina colisiones no elásticas entre Ar^+ y e^- , dando lugar a más iones de Ar. La interacción campo-iones-electrones genera movimiento de las especies en juego. La resistencia al movimiento genera calentamiento. En el núcleo del plasma se alcanzan temperaturas de 10.000K. El plasma de Ar excita los iones positivos de los átomos de la muestra. Conociendo la temperatura en el canal central y los valores de las primeras energías de ionización, se sabe que la mayoría de los elementos se ionizarán.

Sistema de vacío: Los espectrómetros de masas trabajan a baja presión (alto vacío). El mantenimiento de una alta presión en la región del analizador es esencial para reducir el fondo y los efectos de dispersión que causarían altos niveles de moléculas residuales de gas.

Interfase Plasma/Vacío: La interfase comprende una etapa de bajo vacío localizada entre dos placas cónicas de metal conocidas como Cono Sampler (cono de muestreo) y Cono Skimmer (cono de separación) que llevan perforados un pequeño orificio. El término interfase es aplicado a estos conos y al espacio formado entre ellos.

El papel de la interfase es extraer una porción representativa de la población de iones del plasma y transferirla eficientemente a las regiones de alto vacío, donde se encuentran las lentes de enfoque, el espectrómetro de masas y el detector.

Lentes Iónicas: Las lentes iónicas son placas electrostáticas situadas en la zona intermedia, que enfocan el haz de iones que proviene del skimmer, se les aplica un voltaje que hará que los iones positivos del plasma sean atraídos y puedan ser manipulados en la trayectoria requerida. Además de dirigir y enfocar los iones, el sistema de lentes iónicas es responsable de separar los iones de las especies neutras y de los fotones gracias a los campos electrostáticos creados.

Celda de Colisión Reacción: La celda de colisión/reacción consiste en un octopolo (ORS) en el que se eliminarán las interferencias poliatómicas por el efecto del:

- Hidrógeno: gas reactivo, que reacciona con las interferencias
- Helio: gas inerte que colisiona con los interferentes.

Cuadrupolo: Son cuatro barras de metal que se encuentran paralelas y equidistantes, a las cuales se les aplica un potencial de corriente continua y un potencial de radiofrecuencia. La combinación de estos campos hace que solo aquellos iones de una determinada relación m/z tengan una trayectoria estable y lleguen al detector. Por lo tanto, el cuadrupolo separa los iones en base a su relación m/z .

Detector: Cuando los iones chocan con su superficie se originan electrones secundarios que se moverán, debido al cambio de potencial, hacia otras zonas donde originarán más electrones secundarios, los cuales provocarán una señal eléctrica.

1.7 Biorremediación

La biorremediación es una tecnología que usa el potencial metabólico de los organismos como bacterias, hongos y también de plantas que alteran, convierten y metabolizan aeróbicamente los hidrocarburos, metales pesados y contaminantes orgánicos usando como fuente de nutrientes y energía transformándolos a compuestos más simple y menos tóxicos como CO_2 , agua, metano, masa microbiana (Ñustez, 2012) . En todo estudio de biorremediación, en el que se estime hacer uso

de la técnica de aumentación, se requiere la incorporación de nutrientes esenciales que garanticen el desempeño microbiano favoreciendo niveles de depuración de contaminantes (Becerril, 2017). La biorremediación se basa en la capacidad natural que tienen algunos microorganismos para incorporar contaminantes en sus procesos metabólicos y utilizarlos como fuente de energía o carbono. (Alexander, 1994)

Son procesos que consisten en el uso de microorganismos como plantas, hongos, bacterias naturales o modificadas genéticamente con la finalidad de neutralizar sustancias tóxicas, transformándolas en sustancias menos tóxicas, asimilables por el ambiente e inocuas para la salud humana (W, 2000) (Plaza G, 2001, pp. 163-167) .Las bacterias son las más empleadas en el proceso de biorremediación, aunque también se han empleado otros microorganismos como hongos, algas, Cianobacterias y Actinomicetes para la degradación de compuestos tóxicos en el suelo. (Plaza G, 2001, pp. 163-167)

Las tecnologías biológicas se han utilizado para el tratamiento de varios tipos de contaminantes del suelo y del agua, como: hidrocarburos, plaguicidas, sustancias radiactivas y otro tipo de contaminantes orgánicos; sin embargo, su uso en la remediación de suelos contaminados con EPTs (elementos potencialmente tóxicos), como son los metales pesados y metaloides, es de reciente aplicación (Bollag, 1995, pp. 1-12); (Bollag, 1994, pp. 2-10). La biorremediación in situ es la más aplicada y utiliza microorganismos autóctonos, estos en el suelo pueden degradar un gran número de constituyentes de lodo, pero su eficacia y su población son afectadas cuando algunos contaminantes tóxicos están presentes en altas concentraciones. La reintroducción de microorganismos aislados de un sitio contaminado ayuda a resolver este problema ya que los microorganismos pueden degradar los constituyentes y tiene una gran tolerancia a la toxicidad (Drydale G, 1999, pp. 357-362). Bacterias como *Azoarcus*, presente en medios carentes de oxígeno son capaces de resistir concentraciones altas de hidrocarburos aromáticos, llegando a usar estos elementos como fuente de carbono y energía, la biorremediación utiliza estas características microbianas para dar solución a problemas de contaminación y así mermar la degradación ambiental a nivel global. (Caballero Vanegas & Mejia Zambrano, 2015)

Los diferentes factores que dependen en la biorremediación son las propiedades que tiene el contaminante ya que se encuentra relacionado con la biodegradabilidad del mismo, así como también la presencia microbiana y la capacidad enzimática de la misma para el metabolismo del contaminante y por último el medio y la disponibilidad del contaminante. (Alexander, 1994, pp. 5-9)

Las bacterias son las más utilizadas en la biorremediación aunque también se han empleado otros microorganismos como hongos, algas, Cianobacterias y Actinomicetes para la degradación de compuestos tóxicos en el suelo que han sido eficaces para estos procesos. (Mesa, 2006, pp. 82-90). Tal es el caso de algunas bacterias sulfatorreductoras de los géneros *Aspergillus*, *Pseudomonas*, *Bacillus* y de algunas microalgas, que han demostrado tolerar altas concentraciones de metales pesados o incluso requerirlos para sus procesos biológicos. (Bollag, 1995, pp. 1-12)

Desde hace años se han aislado microorganismos de ambientes contaminados con arsénico, que son capaces de asimilarlo a través de sus rutas metabólicas logrando un efecto detoxificador.

1.7.1 Tipos de biorremediación

La biorremediación puede clasificarse acorde al organismo que efectúe la degradación del compuesto xenobiótico.

La fitorremediación, es el uso de plantas para la remoción de contaminantes de suelo y aguas, es una técnica apropiada para la remoción de metales pesados y radionucleos. Sin embargo, no se conoce sobre la habilidad de esta en el tratamiento de suelos con contaminantes orgánicos persistentes, un ejemplo lo constituye la especie *Thlaspi caurulencens* en suelos contaminados con zinc y cadmio donde se encontró que los eliminaba del suelo agrícola. (Blaz S, 2004, pp. 301-309)

Actualmente, la fitorremediación se considera la única alternativa eco-sustentable para el tratamiento in situ de suelos contaminados con elementos potencialmente tóxicos (EPT). Esta es una tecnología amigable con el ambiente, no invasiva y permite recuperar la estructura y la función del suelo (Becerril, 2017). Se estima que su costo es de 10 a 100 veces más barato en comparación con los métodos físicos y químicos que se usan tradicionalmente, cuyo costo varía de 0.27 a 1.6 millones de dólares por hectárea. (Eweis, 1998)

En el suelo, puede ser dividida en estrategias in situ y ex situ. In situ corresponde a la biorremediación referente a tratamientos que no requieren excavación del suelo contaminado; ex situ es un método donde se excava el suelo o el material a tratar y se le maneja en un sistema controlado como una celda de landfarming o algún tipo de biorreactor. (Bongkeun S, 2000, pp. 3446-3453).

1.7.2 Procesos de biorremediación:

1.7.2.1 Biofiltración

La biofiltración es una de las técnicas biológicas más utilizada para el control o tratamientos de olores, debido a que presenta una tecnología eficiente y económica. En esta técnica los microorganismos son los responsables de la degradación biológica de los contaminantes volátiles y compuestos inorgánicos contenidos en corrientes de aire residual. Ingresa aire contaminado a unos biorreactores en los cuales la flora microbiana degrada los contaminantes volátiles en dióxido de carbono, agua y biomasa (Drydale G, 1999, pp. 357-362). La biofiltración se aplica, por ejemplo, en el tratamiento de amoníaco, sulfuro de hidrógeno, monóxido de carbono, acetona, benceno, butanol, acetato de butilo, dietilamina, disulfuro de dimetilo, etanol, hexano, etilbenceno, butilaldehido, metanol, metiletilcetona, estireno, isopropanol, metano, metilmercaptano, mono-di-triclorometano, óxido de nitrógeno, dióxidos de nitrógeno, pentano, sulfuro de dimetilo, tiofenos, tolueno, tricloroetano, tetracloroetano, 2-etil-hexanol y xileno. (Eve, 1998)

1.7.2.2 Bioventing

Proceso de biorremediación in situ que consiste en la ventilación forzada del suelo mediante la inyección de oxígeno en la zona no saturada mediante pozos de inyección; debido a la aireación se va a favorecer la degradación de los hidrocarburos por volatilización y migración de la fase más volátil del contaminante, y por biodegradación, ya que al incrementar la oxigenación del suelo incrementa y mejora actividad microbiana (Alloway, 2001). En la técnica de Bioventing se realiza una aireación forzada al suelo contaminado, potencializando la biodegradación oxigénica

Dentro de estos procesos naturales se incluyen la degradación biológica, la volatilización, la dispersión, la dilución, la degradación radioactiva y la porción de los contaminantes en la materia orgánica y minerales de arcilla del suelo, (Mulligan, C. N., and Yong, R. N., 2004, pp. 587-601)

1.7.2.3 Biosparging

Es un método in situ que combina el efecto de la ventilación con la utilización de los microorganismos autóctonos para degradar compuestos orgánicos absorbidos por el suelo en la zona saturada. Biosparging es similar al burbujeo de aire con respecto a la mejora del ambiente aeróbico subsuperficial, pero difiere en que el burbujeo de aire también crea una transferencia de fase de contaminantes orgánicos volátiles / semivolátiles de un estado disuelto a un estado de vapor, a veces requiriendo métodos de remediación adicionales (es decir, extracción del vapor de suelo y tratamiento ex-situ). En este el aire y los nutrientes se inyectan en la zona saturada para mejorar la actividad de los microorganismos presentes. A medida que aumentan las burbujas, los contaminantes son separado del agua subterránea por contacto físico con él y llevado a la zona no saturada, donde a menudo eliminado a través de la extracción de vapor del suelo. Los sistemas de burbujeo y biodepuración requieren una evaluación cuidadosa para garantizar que el proceso está optimizado y no crea vías preferenciales o imprevistas para el vapor cargado de contaminantes. Los ajustes de aire el flujo y las presiones en los puntos individuales del pozo pueden conducir a tasas superiores de eliminación del contaminante en menos tiempo. El aire y el bioparvado son más efectivos para contaminantes con mayores constantes de la ley de Henry como benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos. Sin embargo, se puede utilizar para apuntar a compuestos menos volátiles mediante la mejora de la biodegradación de los compuestos. Dependiendo del gas inyectado, una biodegradación mejorada también puede ocurrir. Esta técnica se utiliza para la degradación de compuestos orgánicos en el suelo y aguas subterráneas. (Wilson; Oma, 2000) (Lewandowski; Mikesell, 2017)

1.7.2.4 Atenuación natural

Es una técnica de biorremediación in situ de bajo costo, su característica principal es la utilización de los procesos fisicoquímicos de interacción contaminante suelo y los procesos de biodegradación tienen lugar de forma natural. Estos procesos se conocen como procesos de biotransformación natural, que van a reducir la concentración de los contaminantes. Entre ellos

se encuentra la dilución, la dispersión, volatilización, adsorción, biodegradación y las reacciones químicas que se producen en el suelo (Lee H, 2001, pp. 639-647) . Es una técnica de biorremediación in situ de bajo costo, su característica principal es la utilización de los procesos fisicoquímicos de interacción contaminante suelo y los procesos de biodegradación tienen lugar de forma natural. Estos procesos se conocen como procesos de biotransformación natural, que van a reducir la concentración de los contaminantes. Entre ellos se encuentra la dilución, la dispersión, volatilización, adsorción, biodegradación y las reacciones químicas que se producen en el suelo (Lee H, 2001, pp. 639-647) . La atenuación de contaminantes conforme viajan a través de la zona de suelo (cuando ésta existe), la zona no saturada y la zona saturada es afectada por una variedad de reacciones químicas y procesos biológicos y físicos que ocurren en la naturaleza que con frecuencia hacen que el contaminante cambie su estado físico o forma química. (Baun, Reitzel, Ledin, Christensen, 2003)

Las reacciones y los procesos principales incluyen a procesos geoquímicos (tales como absorción/ desabsorción, solución/precipitación y oxidación/reducción); procesos físicos (advección, dispersión y difusión); procesos bioquímicos (descomposición orgánica y síntesis celular) y procesos biofísicos (filtración y transporte de patógenos). La atenuación de contaminantes conforme viaja a través de la zona de suelo (cuando ésta existe), la zona no saturada y la zona saturada es afectada por una variedad de reacciones químicas y procesos biológicos y físicos que ocurren en la naturaleza que con frecuencia hacen que el contaminante cambie su estado físico o forma química. (Baun, Reitzel, Ledin, Christensen, 2003)

Las reacciones y los procesos principales incluyen a procesos geoquímicos (tales como absorción/ desabsorción, solución/precipitación y oxidación/reducción); procesos físicos (advección, dispersión y difusión); procesos bioquímicos (descomposición orgánica y síntesis celular) y procesos biofísicos (filtración y transporte de patógenos). La atenuación natural puede aprovecharse como un método de remediación que depende de los procesos que ocurren de manera natural para controlar la migración de los contaminantes disueltos en el agua subterránea, tales como dispersión, absorción y biodegradación. (González; Rodríguez, 2017)

1.7.2.5 Bioaumentación

Es la aplicación directa de microorganismos previamente aislados o modificados genéticamente con genes catabólicos adicionales para degradar, es considerada como una de las técnicas más efectiva de biorremediación. Las bacterias adaptadas se pueden aplicar para remediar químicos específicos en condiciones ambientales específicas (Salleh, 2003, pp. 411 - 425). La Bioaumentación se entiende como la introducción de especies de microorganismos que ayuden a la biodegradación de los contaminantes presentes en el suelo. La unión de estos sistemas de múltiples microorganismos conforma lo que se conoce como consorcio microbiano y representa un acercamiento a los modelos naturales (Alloway, 2001) pero con microorganismos especializados en la biodegradación de compuestos como el diésel. Sin embargo, numerosos estudios muestran que los factores bióticos y abióticos influyen en la adaptación del microbiota introducida y por lo tanto influye significativamente en el proceso de biorremediación. (Muskus, Santoyo, Plata, 2013)

1.7.2.6 Biestimulación

La bioestimulación consiste en la adición de nutrientes que estos entran en contacto con el área afectada por el contaminante haciendo que aumente la concentración de la población degradadora de hidrocarburos y metales pesados. En ocasiones será suficiente añadir oxígeno mediante aireación, aunque en otros se podría requerir la adición de nutrientes o ajustes de pH. En todo caso, estas aproximaciones son válidas siempre y cuando los microorganismos autóctonos sean capaces de degradar el contaminante tras un proceso más o menos largo de aclimatación previa (Alexander, 1994). La bioestimulación es la introducción de nutrientes y sustancias químicas que estimulan el crecimiento de los microorganismos nativos del suelo para mejorar el proceso biológico de remediación. Diversos estudios han comprobado que la biorremediación de diésel puede ser inducida por medio de la estimulación de los microorganismos autóctonos, la adición de nutrientes y oxígeno en el suelo o a través de la inoculación de un consorcio microbiano en el suelo. (Seklemova ; Kovacheva, 2001) (Muskus, Santoyo, Plata, 2013).

1.7.2.7 Biopilas

Son un tipo de biorremediación de tipo ex situ en condiciones no saturadas, consiste en la reducción de la concentración de contaminantes derivados del petróleo de suelos excavados mediante el uso de la biodegradación. Uno de los métodos de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos son las biopilas que también se conocen como bioceldas,

biomontículos o pilas de composteo. Se utilizan para reducir las concentraciones de los hidrocarburos totales del petróleo (HTP) en suelos contaminados con hidrocarburos a través de la biodegradación. El proceso estimula la actividad microbiana, aireando y/o adicionando nutrientes y humedad. El incremento de la actividad microbiana es proporcional a la reducción de las concentraciones de HTP. La técnica consiste en la formación de pilas de material biodegradable de dimensiones variables formadas por suelos contaminados y materia orgánica, compost, en esta se aplica una aireación activa volteando la pila o pasiva por tubos de aireación. Este principio se puede aplicar a la mayoría de los compuestos orgánicos siendo más eficaz en los ligeros (Maroto A, 2006, pp. 34-36) . Entre los factores que influyen en la aplicación de esta técnica se destacan los hidrocarburos deben ser no halogenados con concentraciones en suelo menores a 50.000 ppm, superficie de trabajo relativamente grandes, necesidad de una población microbiana mayor a 1000 (Unidades Formadoras de Colonias) por gramo de suelo. (Ulla B, 2002, pp. 1808-1816). La tecnología de biopilas es similar a la biolabranza ya que ambas se llevan a cabo fuera del sitio, utilizan el oxígeno contenido en el aire y estimulan el crecimiento de bacterias aerobias, las cuales degradan los constituyentes del petróleo adsorbido por el suelo; pero su diferencia radica en la forma de suministrar el oxígeno, es decir en la biolabranza se suministra el oxígeno labrando o arando el suelo contaminado, mientras que en la biopilas el aire se inyecta o extrae a través de tubos perforados o ranurados que atraviesan la pila. Una vez formadas o construidas las pilas, éstas deben cubrirse con una cubierta de plástico para evitar la volatilización de HTP y pérdida de calor en el proceso. Si la concentración de compuestos volátiles es significativa, deberá colocarse un filtro a la salida del aireador, para tratar los gases antes de ser liberados a la atmósfera En este trabajo se describe el diseño, construcción y operación de un sistema de biopilas proyectado en los terrenos de una Terminal de Almacenamiento y Distribución cuyos suelos están contaminados con hidrocarburos en concentraciones promedios de HTP de 21 000 mg/Kg. (Maroto A, 2006, pp. 34-36)

Ventajas de las biopilas

- ✓ Los contaminantes se destruyen en vez de pasar a otra condición.
- ✓ El diseño y construcción son relativamente fáciles.
- ✓ El saneamiento del suelo se lleva a cabo en un período entre 3 y 6 meses, dependiendo de las condiciones climáticas, la concentración de hidrocarburos y del tipo de suelo.
- ✓ El suelo saneado mediante biopilas no requiere ser confinado después.

- ✓ Las biopilas ofrecen un costo más competitivo con respecto a otras técnicas de saneamiento de suelos.

1.7.2.8 Compostaje

El compostaje es una técnica biotecnología de estabilización y aprovechamiento de residuos sólidos orgánicos, con el fin de obtener productos aptos para su aplicación al suelo. En el compostaje es necesario establecer condiciones iniciales adecuadas como la relación carbono/nitrógeno (C/N), cuyo valor más conveniente es alrededor de 30:1 (Eweis, 1998, p. 226) .Otros parámetros de diseño importantes son el contenido de humedad inicial en la mezcla (60 %) y la porosidad (1 g/mL). Los productos obtenidos del compostaje deben presentar condiciones aptas para su aplicación en el suelo. (Semple, 2001, pp. 269-283)

Este convierte residuos orgánicos en materia orgánica estable (composta madura), gracias a la acción de diversos microorganismos. Las aplicaciones más comunes incluyen el tratamiento de residuos agrícolas, del hogar, municipales y lodos. No obstante, en la actualidad varias investigaciones a nivel de laboratorio, piloto y a gran escala, han demostrado que los procesos de compostaje son una solución de bajo costo y tecnológicamente eficaz para remediar suelos contaminados por residuos orgánicos peligrosos como los metales pesados, solventes, explosivos, pesticidas y HAP. (Eweis, 1998, p. 226)

❖ Etapas del compostaje

Fase mesófila:

En esta fase los microorganismos inician a degradar la materia orgánica tomando como fuente de energía el carbono y nitrógeno presente en los residuos, desprendiendo energía en forma de calor llegando a obtener temperaturas de hasta 45 °C en días o en pocas horas de haber empezado el proceso. En esta fase se da la descomposición de compuestos más simples transformando los azúcares en ácidos orgánicos por lo tanto el pH puede bajar hasta cerca de 4 o 5. (Román, et al., 2013, pp. 345-350)

Etapa Termófila:

Durante esta etapa se da la mineralización consecuencia de la degradación de la materia orgánica, aumentando los nutrientes asimilables y la actividad microbiana llegando a temperaturas de 60 a 70°C facilitando la descomposición de compuestos más complejos como la celulosa y la lignina. Los microorganismos transforman el nitrógeno en amoníaco ayudando a que el pH del medio suba en esta fase aparecen las bacterias que producen esporas y actinobacterias, que se encargan de la descomposición de los compuestos más complejos, lleva el nombre de etapa de higienización por las altas temperaturas ayudan a la eliminación de patógenos y semillas que pueden afectar el proceso. (Román, et al., 2013, pp. 345-350)

Fase de enfriamiento:

Cuando las fuentes de energía como el carbono y el nitrógeno se agotan la temperatura desciende a 40 ° C aparecen microorganismos mesófilos que se encargan de seguir degradando polímeros como la celulosa, se evidencia la aparición de hongos propios de esta fase la cual necesita de varias semanas para terminar el proceso de degradación. (Negro, 2009, pp. 1-13)

Fase de maduración:

Es cuando la materia orgánica se ha transformado totalmente obteniendo compuestos más simples, esta etapa que puede durar meses a una temperatura ambiente generando reacciones de condensación y polimerización para la formación de ácidos húmicos y fúlvicos a partir de los compuestos simples obtenidos durante las fases anteriores. (Semple, 2001, pp. 269-283)

❖ Parámetros de control:

Aireación:

El proceso de compostaje es un tratamiento aerobio el cual indica la necesidad de oxígeno disponible para que los microorganismos puedan realizar la degradación de la materia orgánica y su adecuado desarrollo en el medio, también es importante pues ayuda a remover el CO₂ producido por el proceso de la pila de compostaje. Los requerimientos de aireación son diferentes según la fase del proceso, siendo bajas en la fase mesófila y altos requerimientos en la fase termófila. (Negro, 2009, pp. 1-13)

Temperatura:

La temperatura es el parámetro de control más importante pues es indicativo de cuando el proceso está en su punto más alto o cuando necesita de otros parámetros de control como la aireación para seguir funcionando adecuadamente nos indica también el final del proceso pues cuando no tenemos un aumento de temperaturas el proceso habría terminado. (Román, et al., 2013, pp. 345-350)

Humedad

La humedad óptima para un proceso de compostaje esta entre 40 a 60% los microorganismos necesitan de agua para poder realizar sus funciones metabólicas, también la usan para el transporte de nutrientes y elementos energéticos a través de su membrana celular. Si la humedad es muy baja la actividad microbiana desciende o no se desarrolla y si es muy excesiva saturara los poros evitando la entrada de oxígeno al proceso, disminuyendo así las bacterias aerobias. (Navarro & de la tierra, 2003, pp. 2-5)

pH:

Durante el proceso de compostaje el pH varía por las diferentes etapas propias del proceso, al principio el pH disminuye por la transformación de azúcares a ácidos grasos, enseguida las bacterias inician a transformar nitrógeno en amoníaco causando que el valor de pH suba hasta 8.5 finalmente en la fase de maduración el pH será entre 7 y 8 debido a las propiedades de amortiguador. (Román, et al., 2013, pp. 345-350)

Nutrientes:

Para el crecimiento microbiano es necesario que exista una adecuada relación de carbono y nitrógeno que son los nutrientes más importantes para el proceso el carbono es utilizado como fuente de energía y el nitrógeno se usa para la síntesis de proteínas. Las dos terceras partes del carbono son quemadas y eliminadas en formas de CO₂ el restante se incorpora al protoplasma celular también es necesario la absorción de otros elementos como el nitrógeno el azufre y fósforo. (Navarro & de la tierra, 2003, pp. 2-5)

❖ Microorganismos presentes en el proceso de compostaje:

Fase mesófila:

En la fase mesófila tenemos predominancia de bacterias acidificantes como *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Enterobacter* *Alcaligenaceae*, *Alteromonadaceae*, *Bacillaceae*, *Burkholderiaceae*, *Bradyrhizobiaceae*, *Caryophanaceae*, *Caulobacteraceae*, *Cellulomonadaceae*, *Clostridiaceae*, *Comamonadaceae*, *Corynebacteriaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Flexibacteraceae*, *Hyphomicrobiaceae*, *Intrasporangiaceae*, *Methylobacteriaceae*, *Microbacteriaceae*, *Micrococcaceae*, *Moraxellaceae*, *Neisseriaceae*, *Nitrosomonadaceae*, *Nocardiopsaceae*, *Paenibacillaceae*, *Phyllobacteriaceae*, *Propionibacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Pseudonocardiaceae*, *Rhodobacteraceae*, *Sphingobacteriaceae*, *Staphylococcaceae*, y *Xanthomonadaceae*. bacterias celulóticas del género *Celullomonas*, hongos filamentosos *streptomyces* *Aspergillus* y *Penicillium*, seguidos de *Trichoderma*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Backusella*, *Ulocladium*, *Acremonium*, *Fusarium*, *Scopulariopsis*, *Geotrichum*. (Laich, 2011, pp. 1-6)

Los Actinomycetes (bacterias filamentosas) se desarrollan a tasas de crecimiento inferiores a la mayoría de las bacterias y hongos, y por tanto compiten ineficientemente cuando el nivel de nutrientes es alto. En esta fase predominan géneros de la familia *Nocardiaceae*. (Flores & Carranza, 2006, pp. 3-7)

Fase termófila:

Los microorganismos mesófilos son parcialmente eliminados a estas temperaturas y las bacterias, hongos y Actinomycetes termófilos o termotolerantes incrementan su población. Las bacterias, en especial las especies mesófilas del género *Bacillus*, sobreviven en estas condiciones a través de la formación de endosporas. (Laich, 2011, pp. 1-6)

Otros géneros bacterianos son capaces de engrosar la pared celular o formar una capsula exterior, protegiéndose de las condiciones adversas y permitiendo su “reactivación” cuando las condiciones sean favorables. Géneros como *Bacillus stearothermophilus*, *B. schlegelii*, *Thermus thermophilus*, *T. aquaticus* e *Hydrogenobacter spp.* (Flores & Carranza, 2006, pp. 3-7)

En esta etapa, los hongos están totalmente inactivos y su subsistencia se mantiene en estructuras de resistencia y esporas. Los Actinomycetes están a baja concentración y no juegan un papel importante en la degradación y mineralización de la materia orgánica. (Laich, 2011, pp. 1-6)

Fase de enfriamiento y maduración:

Durante la fase de maduración la diversidad y el número de Actinomycetes mesófilos/termotolerantes y de hongos filamentosos capaces de degradar polímeros naturales complejos (lignina, hemicelulosa, celulosa), se incrementa significativamente. (Flores & Carranza, 2006, pp. 3-7)

Los estiércoles y los residuos de cosecha han sido utilizados para cambiar las condiciones iniciales de humedad, relación C/N y pH de los residuos iniciales provenientes de la etapa de rivera y mejorar el proceso de compostaje, lo que ha permitido obtener productos de mejor calidad (Contreras et al. 2004) (Pal Vig et al. 2011) encontraron que el uso de estiércol vacuno permitió la sobrevivencia de las lombrices por lo que se obtuvo una mejor calidad de compost proveniente de residuos de curtiembres. Asimismo, (Ravidran et al. 2015) encontraron que la fermentación previa de los residuos antes del compostaje permitió alcanzar un compost con calidad aceptable que no resultó tóxico a las semillas de zanahoria. Hallaron que el compost enmendado con residuos de caña de azúcar y estiércol de ganado incrementó el contenido de nutrientes en los suelos usados para el cultivo de ornamentales. (Silva et al. 2010)

1.8 Microorganismos en metales pesados

El consumo de petróleo por parte de microorganismos como única fuente de carbono y energía fue conocido en los años 40, esta capacidad metabólica de consumir los hidrocarburos es aprovechada en la biorremediación de ambientes terrestres y acuáticos. Actualmente la biorremediación consiste en el uso de diferentes métodos para favorecer la tasa de consumo del petróleo y con eso mitigar el efecto nocivo en el ambiente. Entre los métodos utilizados están: la aplicación de enzimas, nutrientes y el uso de microorganismos genéticamente adaptados para el consumo de petróleo (Salleh, 2003, pp. 411-425)

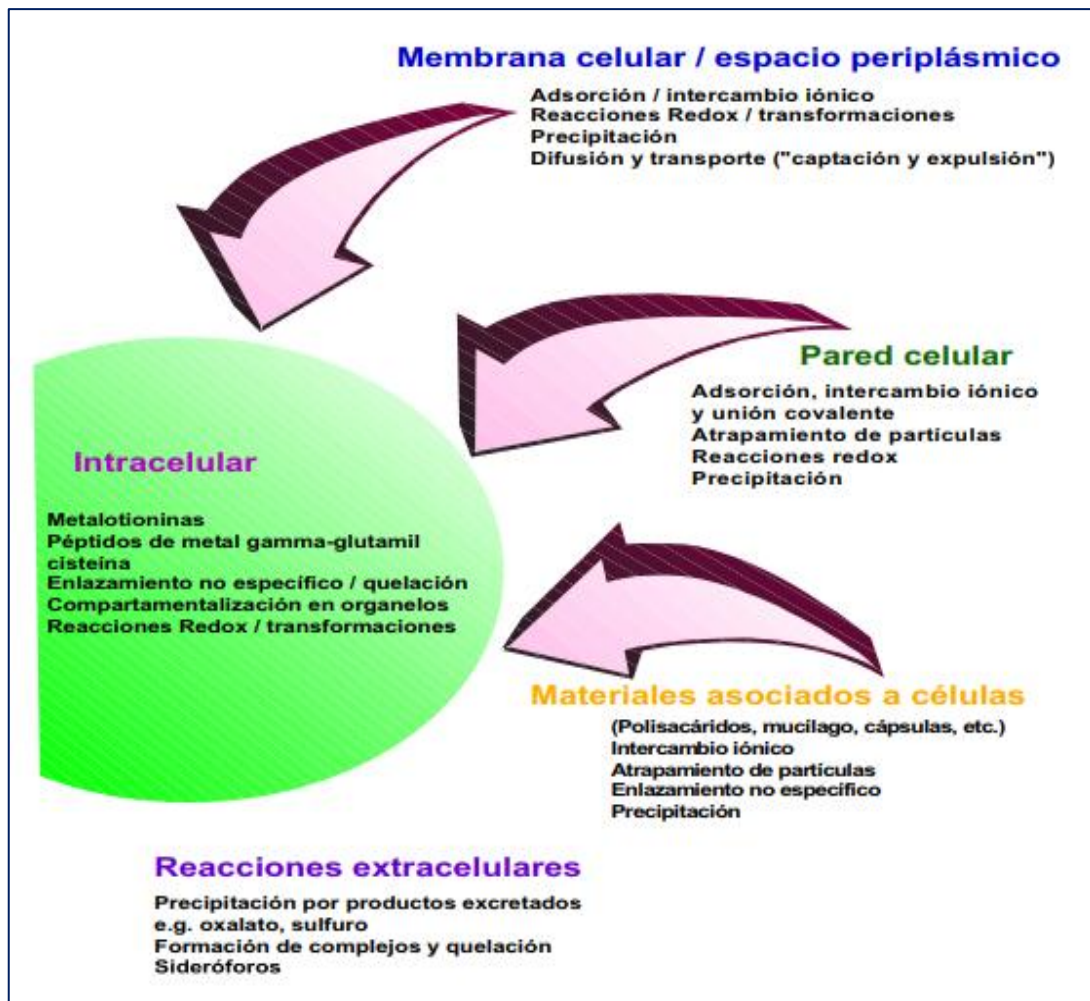


Figura 1-6: Procesos de captación Microbiana.

Fuente: (Gadd, 1993) Destoxificación de metales

Los procesos por los cuales los organismos interactúan con los metales tóxicos son muy diversos como observamos en la figura 1-6. Sin embargo, existen en la práctica tres categorías generales de procesos biotecnológicos para el tratamiento de residuos líquidos que contienen metales tóxicos: la biosorción; la precipitación extracelular y la captación a través de biopolímeros purificados y de otras moléculas especializadas, derivadas de células microbianas. (Cañizares-Villanueva, 2000, pp. 131-143)

Existe gran afinidad para el consumo de ciertos hidrocarburos por parte de bacterias como *Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas sp.* y *Mycobacterium sp.*, las cuales degradan alcanos, monoaromáticos y poli-aromáticos respectivamente (Salleh, 2003, pp. 411-425) *Bacillus spp* han sido aisladas frecuentemente de suelos contaminados con compuestos petrogénicos, los cuales utilizan como única fuente de carbono y energía. Sin embargo, también se ha visto que pueden participar en sintrofia (actuar en forma conjunta para una realizar una actividad metabólica). En condiciones

anaerobias durante la degradación de alcanos, se ha observado la participación de bacterias sulfatorreductoras y metanogénicas (Morris, 2013, pp. 384 - 406). Las bacterias hidrocarbonoclastas es un grupo de bacterias que se ha descubierto recientemente que tiene la particularidad de alimentarse exclusivamente de petróleo, este lo utilizan como única fuente de carbono y energía. Se ha observado que juegan un papel muy importante en la biodegradación del petróleo ya que conforman hasta un 90% de las especies encontradas en las zonas contaminadas. (Yakimov, 2007, pp. 257-266)

1.9 Relación de los microorganismos y metales

Las interacciones de los microorganismos y metales están sujetas también a relacionarse con otros elementos como el nitrógeno, carbono, fósforos entre otros. La interacción va depender del estado de oxidación que se encuentre el metal para realizar la transformación que permite dar los microorganismos como la movilización del metal es decir que pase de un estado insoluble inicial a un estado soluble final en fase acuosa esta transformación tiene el nombre de Lixiviación microbiana. La otra transformación es la inmovilización del metal es decir lo contrario a la primera transformación (Vullo, 2003, pp. 93-104)

Esta relación permite recupera los metales de materiales sólidos como los suelos aplicando bacterias oxidadoras como las del género *Thiobacillus*; estos microorganismos son acidófilos, es decir, requieren un pH 2,5 para crecer en condiciones óptimas, lo cual resulta adecuado para mantener a los metales en solución, sobre todo al Fe³⁺. Para lograr una solubilidad efectiva se necesita microorganismos con altos rangos de pH así se logrará una solubilización efectiva de metales tales como Mn, Fe, Zn, Cd y Pb. (Gélvez Gonzpales, 2016, p. 35)

Ralstonia eutropha (*Alcaligenes eutrophus*) es una bacteria que tiene una capacidad de acumular metales pesados y permite la solubilidad de los mismos liberando sideróforos. Estos son péptidos capaces de liberar al medio Fe utilizándolo en su metabolismo celular. (Vullo, 2003, pp. 93-104)

Inmovilización de Metales pesados

Dentro de la amplia diversidad microbiana, existen microorganismos resistentes y microorganismos tolerantes a metales. Los resistentes se caracterizan por poseer mecanismos de detoxificación codificados genéticamente, inducidos por la presencia del metal. En cambio, los tolerantes son indiferentes a la presencia o ausencia de metal. Tanto los microorganismos resistentes como tolerantes son de particular interés como captadores de metales en sitios contaminados, debido a que ambos pueden extraer los contaminantes. La resistencia o tolerancia experimentada por microorganismos es posible gracias a la acción de diferentes mecanismos. (Gélvez Gonzpales, 2016, p. 35)

En la figura 1-7 se detalla los mecanismos de interacción de los metales y microorganismos siendo la biosorción el mecanismo donde los microorganismos son usados como biosorbentes los cuales retienen metales pesados en intervalos corto de tiempo. Los fenómenos de biosorción se caracterizan por la retención del metal mediante una interacción físicoquímica del metal con ligandos pertenecientes a la superficie celular. Esta interacción se produce con grupos funcionales expuestos hacia el exterior celular pertenecientes a partes de moléculas componentes de las paredes celulares; (Vullo, 2003, pp. 93-104)

En la bioacumulación este mecanismo celular involucra un sistema de transporte de membrana que internaliza al metal pesado presente en el entorno celular con gasto de energía. Este consumo energético se genera a través del sistema H^+ -ATPasa. Una vez incorporado el metal pesado al citoplasma, éste es secuestrado por la presencia de proteínas ricas en grupos sulfhidrilos llamadas metalotioneínas o también puede ser compartimentalizado dentro de una vacuola, como ocurre en hongos. Por otro lado, tenemos el siguiente mecanismo de biomineralización en donde los microorganismos son capaces de precipitar metales y radionuclidos como carbonatos e hidróxidos, mediante un mecanismo de resistencia codificado en plásmidos. Este mecanismo aparece por el funcionamiento de una bomba que expulsa el metal tóxico presente en el citoplasma hacia el exterior celular en contracorriente a un flujo de H^+ hacia el interior celular. Esto produce una alcalinización localizada sobre la superficie celular externa y por lo tanto la precipitación del metal pesado. Los principales microorganismos son *Klebsiella planticola* y *Pseudomonas aeruginosa*. (Gélvez Gonzpales, 2016, p. 35)

En la biotransformación ocurre un cambio químico sobre el metal que es la transformación biológica de los metales pesados que resultan tóxicos mediada por enzimas microbianas puede dar como resultado compuestos poco solubles en agua o bien compuestos volátiles como se muestra en la figura 1-8. Por último, tenemos el mecanismo quimiosorción dentro de este término se pueden describir aquella clase de reacciones en donde los microorganismos biomineralizan un metal, formando un depósito primario. Este depósito primario funciona como núcleo de cristalización, con la subsecuente deposición del metal de interés, promoviendo y acelerando así el mecanismo de mineralización. (Vullo, 2003, pp. 93-104)

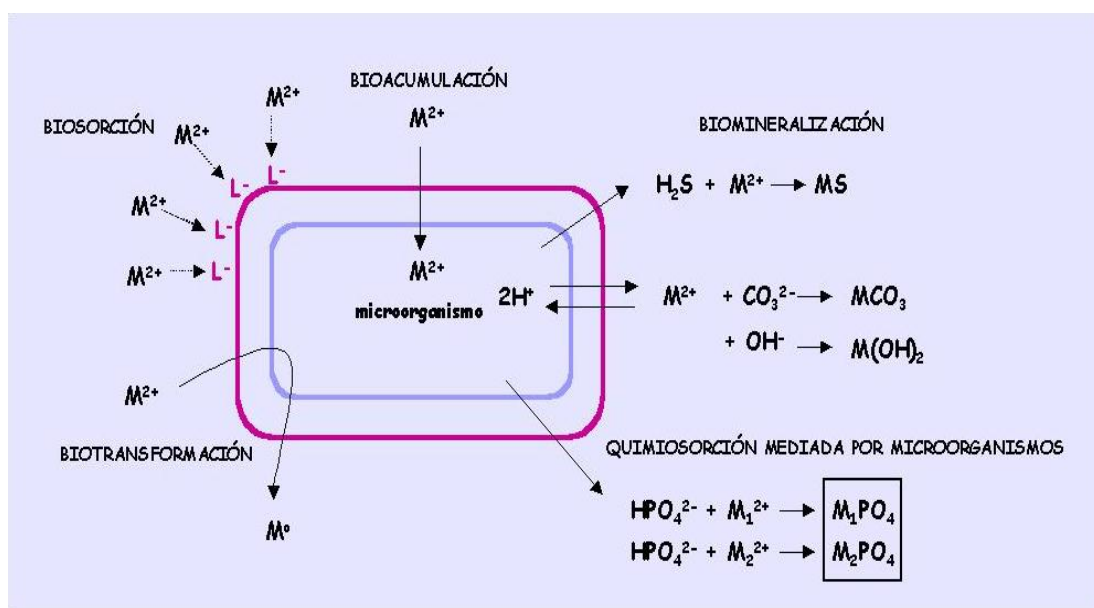


Figura 1-7: Mecanismos de interacción entre metales pesados y microorganismos

Fuente: (Gélvez, 2016) Mecanismos de interacción de microorganismos

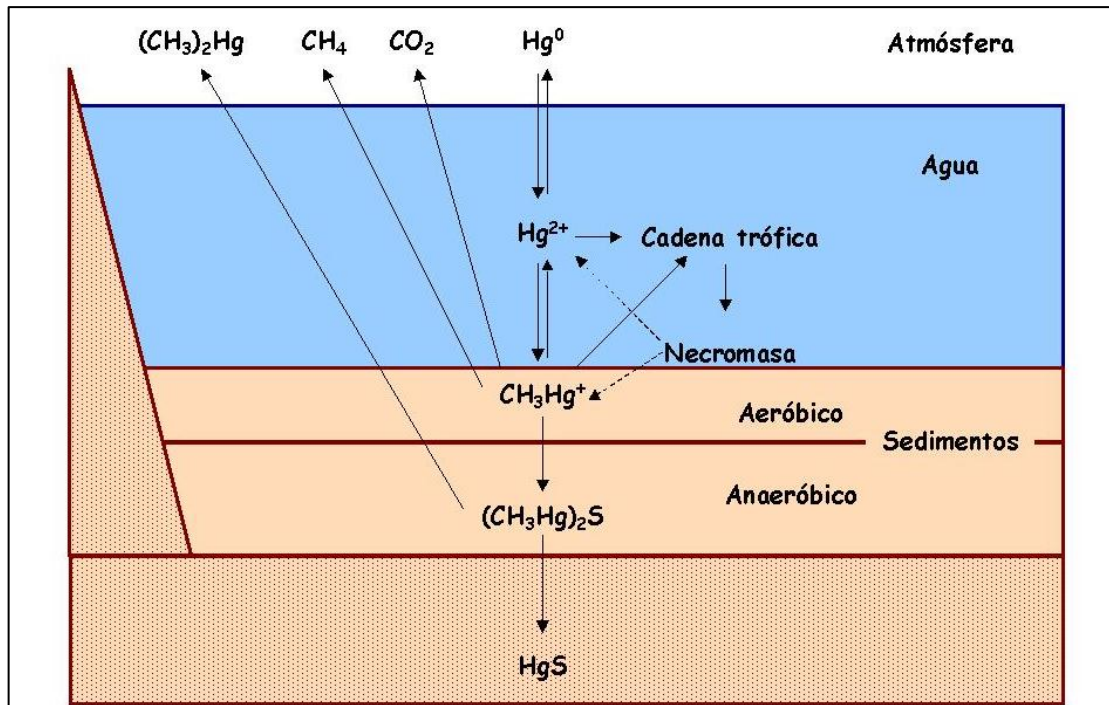


Figura 1-8: Mecanismos de interacción entre metales pesados y microorganismos

Fuente: (Gélvez , 2016) Transformación del metal

1.10 Normativa Legal

La norma legal en la que se ampara esta investigación está basada en:

1. La Constitución de la República del Ecuador
2. Ley Forestal y de Conservación de Áreas Naturales y Vida Silvestre Registro Oficial N° 418; Septiembre 10 de 2004.
3. Reglamento de Aplicación de los mecanismos de participación social establecidos en la ley de Gestión Ambiental
4. Decreto Ejecutivo 1215
5. Acuerdo Ministerial 097-A Refórmese el Texto Unificado de legislación Secundaria
6. Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2266
7. Objetivos Nacionales para el Buen Vivir

En la tabla 1-1 se desglosa los artículos que hacen referencia a este trabajo de investigación.

Tabla 1-1: Marco legal del proyecto

Marco Legal	Descripción
<p>Constitución de la República del Ecuador</p>	<p>TITULO II: DERECHOS:</p> <p>Sección segunda; Ambiente sano; Art. 14.- <i>“Se reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, sumak kawsay. Se declara de interés público la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del país, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados”.</i></p> <p>Art 66-27 <i>El derecho a vivir en un ambiente sano, ecológicamente equilibrado, libre de contaminación y en armonía con la naturaleza.</i></p> <p>Art 83- 6. <i>Respetar los derechos de la naturaleza, preservar un ambiente sano y utilizar los recursos naturales de modo racional, sustentable y sostenible.</i></p> <p>TITULO V: ORGANIZACION TERRITORIAL DEL ESTADO</p> <p>Art 276-4. <i>Recuperar y conservar la naturaleza y mantener un ambiente sano y sustentable que garantice a las personas y colectividades el acceso equitativo, permanente y de calidad al agua, aire y suelo, y a los beneficios de los recursos del subsuelo y del patrimonio natural.</i></p> <p>TITULO VII: REGIMEN DEL BUEN VIVIR</p> <p>Art. 376.- <i>Para hacer efectivo el derecho a la vivienda, al hábitat y a la conservación del ambiente, las municipalidades podrán expropiar, reservar y controlar áreas para el desarrollo futuro, de acuerdo con la ley. Se prohíbe la obtención de beneficios a partir de prácticas especulativas sobre el uso del suelo, en particular por el cambio de uso, de rústico a urbano o de público a privado.</i></p>
<p>Ley Forestal y de Conservación</p>	<p>CAPITULO I Del Patrimonio Forestal del Estado</p>

<p>Áreas Naturales y Vida Silvestre Registro Oficial N° 418; Septiembre 10 de 2004.</p>	<p><i>Art. 1.- Constituyen patrimonio forestal del Estado, las tierras forestales que de conformidad con la Ley son de su propiedad, los bosques naturales que existan en ellas, los cultivados por su cuenta y la flora y fauna silvestres; los bosques que se hubieren plantado o se plantaren en terrenos del Estado, exceptuándose los que se hubieren formado por colonos y comuneros en tierras en posesión.</i></p> <p>CAPITULO III De los Bosques y Vegetación Protectores</p> <p><i>Art. 8.- Los bosques y vegetación protectores serán manejados, a efecto de su conservación, en los términos y con las limitaciones que establezcan los reglamentos.</i></p> <p><i>Art. 45.- Para efecto del cumplimiento de esta Ley, crease la Guardia Forestal bajo la dependencia del Ministerio del Ambiente.</i></p>
<p>Reglamento de Aplicación de los mecanismos de participación social establecidos en la ley de Gestión Ambiental D.E. 1040, 2008/04/22</p>	<p>Art 1. Definiciones</p> <p>TITULO II AMBITO DEL REGLAMENTO</p> <p><i>Art. 5.- El Sistema Nacional Descentralizado de Gestión Ambiental es un mecanismo de coordinación transectorial, interacción y cooperación entre los distintos ámbitos, sistemas y subsistemas de manejo ambiental y de gestión de recursos naturales. En el sistema participará la sociedad civil de conformidad con la Ley de Gestión Ambiental.</i></p>
<p>Decreto Ejecutivo 1215</p>	<p>REGLAMENTO AMBIENTAL DE ACTIVIDADES HIDROCARBURIFERAS</p> <p><i>Art 1. “El presente Reglamento tiene por objeto regular las actividades hidrocarburíferas de exploración, desarrollo y producción, almacenamiento, transporte, industrialización y comercialización de petróleo crudo, derivados del petróleo, gas natural y afines, susceptibles de producir impactos ambientales en el área de influencia directa, definida en cada caso por el Estudio Ambiental respectivo”.</i></p> <p>ART. 16 <i>Monitoreo de programas de remediación.</i></p> <p><i>La Subsecretaría de Protección Ambiental coordinará con las Unidades Ambientales de las compañías los aspectos técnicos del</i></p>

	<p><i>monitoreo y control de programas y proyectos de remediación ambiental que, previo a su ejecución, tienen que presentarse a la Subsecretaría de Protección Ambiental para su respectiva aprobación, sin perjuicio de las acciones a tomarse inmediatamente después de cualquier incidente.</i></p> <p>Tabla 6: Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicios</p>
Acuerdo Ministerial 097-A Refórmese el Texto Unificado de legislación Secundaria	<p>Anexo 2. Del Libro VI del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente:</p> <p>TABLA 1. “Criterios de Calidad del Suelo”</p> <p>TABLA 2. “Criterios de Remediación”</p>
Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2266	<p>NTE INEN 2266:2013</p> <p>TRANSPORTE, ALMACENAMIENTO Y MANEJO DE MATERIALES PELIGROSOS. REQUISITOS</p> <p>LISTA L. Lista de mercancías peligrosas</p>
Objetivos Nacionales para el Buen Vivir	<p>Objetivo 7. Garantizar los derechos de la naturaleza y promover la sostenibilidad ambiental territorial y global</p>

Fuente: Cofre, (2016)

Realizado por: Shirley Jara, 2018

CAPÍTULO II.

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Lugar del desarrollo de la investigación

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en la ciudad de Riobamba, Provincia de Chimborazo en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, en el laboratorio de CESTTA.

2.2. Hipótesis General

El empleo de compost para la reducción de suelos contaminados con petróleo en el campo Libertador disminuye la concentración de metales.

2.3. Variables

2.3.1. Variable Independiente

- Propiedades físicas, químicas del suelo
- Tipo de tratamiento
- Tiempo de incubación
- Recuento Microbiano

2.3.2. Variables Dependientes

- Concentración de metales pesados en función del tipo de tratamiento

2.4. Tipo y Diseño de Investigación

El análisis estadístico para esta investigación es ANOVA de un factor por lo que el tipo de investigación es de tipo experimental.

2.5. Diseño Experimental

2.5.1. Variables

Tipo de tratamientos: 3 tratamientos diferentes denominaciones:

- B: Control-suelo sin tratamiento
- C2: Compost 50% FLOR+15% GG+35% SERR
- RR: Residuos de rosas

2.5.2. Proceso

DOSIS
Compost y Residuos de Rosa (triturado) ↓ 12,5g material seco/250g de suelo
RELACIÓN C/N/P
C/N/P = 100/10/1

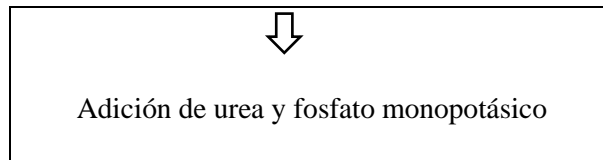


Gráfico 2-1: Preparación del proceso

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

Para el diseño experimental del proceso de biorremediación se usó botes blancos opacos con tapa ancha de 2L de fondo ancho para asegurar el intercambio gaseoso en el suelo. Se introduce los 250g de suelo y 12,5g de compost o residuo de rosas según correspondan, después se coloca la cantidad necesaria de los fertilizantes para el ajuste de C/N/P = 100/10/1 removiendo bien para obtener una mezcla homogénea. Las muestras se llevaron a incubación en condiciones controladas de temperatura y humedad manteniéndose a 25°C y la humedad al 50% de su Capacidad de retención hídrica. Por lo cual se calculó la cantidad necesaria de agua para alcanzar el valor.

Numero de Botes

$$N^{\circ}\text{botes} = \text{tratamientos} * \text{muestreos} * \text{botes}$$

N° botes: 3 tratamientos x 10 muestreos como se indica abajo (incluyendo t=0 aunque se retira el mismo día de la mezcla) x 2 botes (para tener una muestra final de 500 g) = 60 botes

Los botes se etiquetan de la siguiente manera, poniendo dos botes con la misma etiqueta, es decir habrán dos botes con la etiqueta 1, dos con la etiqueta 2, etc.:

Suelo CRH g H₂O/100g suelo g H₂O/250g suelo

Suelo contaminado

- Inicialmente se añadió agua a todos los botes para mantener su humedad a excepción de los botes de $t=0$ ya que estos se retiraron de inmediato para su análisis.
- Se añadió 10ml de agua a cada tratamiento.
- Cada semana se compensaba el agua para adecuarle a sus condiciones iniciales durante 105 días de incubación, se usó un pulverizador para distribuir de una manera adecuada la superficie del suelo. Por lo que fue importante pesar los botes con los tratamientos sólidos, y el agua.
- A los botes que se les acabo su tiempo de incubación no se les añadió el agua el día de su retirada.

Durante cada uno de los muestreos, se retiraban los recipientes correspondientes. El suelo contenido en los dos botes con la misma etiqueta se echará en una cubeta para su mezcla homogénea. De esta manera, se evitará que no haya correspondencia entre los parámetros analizados en un bote u otro, sobre todo en el caso de los parámetros biológicos. Esta mezcla de 500g de suelo se separará en dos fracciones, una húmeda para el análisis inmediato de los parámetros biológicos (microorganismos) que se almacenará dentro de bolsas herméticas en el frigorífico a 4°C y otra, que se secará al aire y se almacenará para los posteriores análisis. Los análisis que se realicen se harán por triplicado.

Unidad de Análisis

Cada unidad experimental consta de 250g de suelo por lo que se tiene un total de 12 unidades experimentales.

Población de Estudio

La población de estudio está representada por las 12 unidades experimentales.

Tamaño de Muestra

El tamaño de la muestra constituye las 60 unidades experimentales.

Selección de la muestra

La muestra se seleccionó mediante el método de cuarteo.

Etapas de Investigación

Primera Etapa:

- ❖ Geotopografía del lugar y muestreo.

Segunda Etapa:

- ❖ Análisis iniciales del suelo y de los tratamientos.
- ❖ Análisis de la Relación C/N/P
- ❖ Implementación del Diseño Experimental

Tercera Etapa:

- ❖ Determinación de Parámetros Fisicoquímicos, Químicos y Microbiológicos de los diferentes tratamientos.
- ❖ Análisis e interpretación de resultados.

2.6. Recuento Microbiano Aerobios Totales

Materiales

- Probeta de 100ml
- Espátula
- Cajas Petri
- Asa
- Tubos de ensayo
- Pipetas de 100 uL y 1 mL

Reactivos

- Agar Nutritivo
- Peptona bufferada
- Agua Bidestilada

Equipos

- Balanza analítica
- Agitador Mecánico
- Incubadora a 37 °C
- Autoclave

Procedimiento

Para el análisis microbiológico se realizó un conteo de aerobios totales donde se inoculó diluciones hasta la 10^{-10} , Por lo cual se pesó 10g de Suelo y se mezcló con agua de peptona bufferada agitándose por 15 min a 5RPM; posteriormente se inoculo en cajas petri las cuales contenían 20ml de agar nutritivo, se realizó una siembra de superficie colocando 100ul de cada dilución a las placas, y se incubó por 48 horas para realizar el conteo. (AOAC 990.12)

2.7. pH

Materiales

- Balón Aforo 50 mL
- Espátula
- Tubos de ensayo
- Frascos estériles

Reactivos

- Agua Bidestilada

Equipos

- Agitador
- pH metro
- Balanza analítica

Procedimiento

Para determinar el pH se homogenizó la muestra y se tomó 10g en un frasco estéril al cual se le añadió 50 mL de agua bidestilada y se agito durante 5 minutos, terminada la agitación se dejó reposar durante 1 hora para luego colocarle en un tubo de ensayo el sobrante del filtrado y se procede con la colocación del electrodo previamente calibrado para la medición del pH. (EPA 9045D)

2.8. Conductividad Eléctrica

Materiales

- Balón Aforo 50 mL
- Espátula
- Tubos de ensayo
- Frascos estériles

Reactivos

- Agua Bidestilada

Equipos

- Agitador
- Balanza analítica
- Conductímetro

Procedimiento

Para determinar la conductividad eléctrica se homogenizó la muestra y se tomó 10g en un frasco estéril al cual se le añadió 50 mL de agua bidestilada y se agito durante 5 minutos, terminada la agitación se dejó reposar durante 1 hora para luego colocarle en un tubo de ensayo el sobrante del

filtrado y se procede con la colocación del conductímetro previamente calibrado para la medición del pH. (EPA 9045D)

2.9. Materia Orgánica

Materiales

- Cápsulas de porcelana
- Espátula
- Frascos estériles

Reactivos

- Agua Bidestilada

Equipos

- Estufa 105°C
- Mufla 550°C
- Balanza analítica
- Desecador

Procedimiento

Para la determinación de la materia orgánica se usó cápsulas previamente taradas las cuales se dejaron en el desecador durante 1 hora, luego se pesó y se anotó su pesaje como (co).

Se añadió a la cápsula 10g de suelo y se colocó en la estufa de 105°C por 5 horas, después se llevó al desecador durante una hora, luego se pesó y se anotó su pesaje como (ci). Por último, se llevó la cápsula pesada a la mufla por 3 horas para la calcinación de la muestra y se llevó al desecador por 1 hora para después pesarle y anotar su peso como (cii). (NEN5754, 2005)

Se realizó el cálculo con la siguiente fórmula:

$$W_{pc}(\%) = \frac{C_i - C_{ii}}{C_i - C_o}$$

Dónde:

W_{pc}: Pérdida de calcinación

C_o: Masa de la cápsula vacía

C_i: Masa de la cápsula con la muestra seca a 105°C

C_{ii}: Masa de la cápsula con la muestra calcinada a 550°C

2.10. Metales asimilables

Materiales

- Tubos de 50 mL
- Espátula
- Mortero y pistilo
- Tamiz
- Filtro de celulosa 0,45 µm

Reactivos

- Agua Bidestilada
- Solución Extractora (HCl, H₂SO₄)

Equipos

- Agitador
- Balanza Analítica
- Estufa
- Equipo de filtración al vacío.
- ICP-AES

Procedimiento

Para determinar los metales asimilables en suelo se utilizó una solución extractora compuesta por HCl 0,05M - H₂SO₄ 0,0125 M, luego de tomar la muestra se homogenizó y se secó en una estufa a 105° C, para después triturarla y se tamizarla.

En una balanza analítica se pesó 2 gramos de suelo y se colocó en tubos plásticos se adicionó 50ml de la solución extractora y se agitó vigorosamente durante 20min.

Transcurrido este tiempo se filtró la muestra con ayuda de un equipo de filtración al vacío y con filtros de celulosa de 0,45µm. El filtrado se analizó en el equipo ICP-AES. (EPA 6010D)

2.11. Humedad

Materiales

- Cápsula de porcelana
- Espátula

Equipos

- Balanza Analítica
- Estufa

Procedimiento

Para determinar el grado de humedad que presenta un suelo, se colocó 1g de muestra fresca en la estufa a 105°C, la diferencia de pesos entre el inicial y el final fue multiplicado por 100 y es el porcentaje de humedad. (geotecnia, 2015)

Para ello se usó la siguiente Fórmula:

$$w\% = \frac{W1}{W2} * 100$$

w = contenido de humedad expresado en %

W 1 = Peso inicial muestra fresca

W2 = Peso final muestra seca

Ws = Peso de muestra en Kg

2.12. Nitrógeno total KJELDANL

Materiales

- Tubo Kjeldahl
- Pipetas de 10 y 25 ml
- Vaso de precipitado de 250 ml
- Bureta

Reactivos

- Ácido sulfúrico 0,1N
- Catalizador Kjeldahl
- Hidróxido sódico en solución 0,1N
- Fenolftaleina
- Ácido Bórico en solución al 4%
- Ácido sulfúrico 0,005 N
- HCl 0,01N

Equipos

- Balanza analítica
- Unidad de Destilación
- Spped digester
- Scrubber

Procedimiento

Se pesó 1 gramo de suelo en un tubo Kjeldahl, se agregó 2 gramos del catalizador Kjeldahl y 10 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se calentó en la unidad de digestión a 100°C hasta que la

mezcla sea clara y haya terminado la ebullición. Se dejó enfriar para poder agregar 20 ml de agua bidestilada y unas gotas de fenolftaleína colocándole al tubo en el destilador Kjeldahl. Se colocó en la salida del destilado un vaso de precipitación con 25 ml de ácido bórico.

Se Destiló hasta recoger entre 40 ml de destilado en el vaso de precipitado y se suspende para empezar con la titulación en una bureta y titulando con HCl 0,01N hasta que se dé el viraje de color de verde a rosado. (MÉTODO KJELDAHL)

a) Valoración del NaOH

Para la valoración de NaOH se pesó 0,0426 aproximadamente de Ftalato y se disolvió en 25mL de agua bidestilada, después se colocó 4 gotas de fenolftaleína y se tituló.

Para la determinación de la N real se usó la siguiente fórmula:

$$N_{real}(eq/L) = \frac{w_{Ftalato}}{Vt. \left(\frac{204,221}{1000} \right)}$$

Dónde:

w Ftalato: Peso del Ftalato

Vt: Volumen de NaOH Utilizado

2.13. Capacidad de retención hídrica

Materiales

- Embudo
- Kitasato 1000mL
- Papel filtro
- Vaso de precipitación 250 mL

Reactivos

- Agua Bidestilada

Equipos

- Balanza analítica

Procedimiento

Para la determinación de la CRH del suelo se lo realiza gravimétricamente tomando en cuenta tres pesos fundamentales, el primer peso es del papel filtro remojado con agua bidestilada y el embudo con el kitasato, para el segundo peso de debe saturar el embudo más el filtro con el suelo y se coloca agua hasta cubrir los poros y se deja reposar por 24 horas para el peso final.

CAPÍTULO III.

3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1 Ubicación del Lugar de estudio

En el gráfico 3-1 se muestra los campos petroleros que conforman PETROAMAZONAS EP siendo uno de ellos el campo Libertador, en el gráfico 3-2 observamos al campo Libertador se encuentra en el bloque 57 18M 0329171 m E /9998917 m S con una elevación 289m, Se caracteriza por tener un clima promedio de 23°C en el año se da alrededor de 3000mm precipitaciones; su suelo es arenoso y tiene una gran vegetación a su alrededor. El Campo libertador está estructurado por la falla oriental denominada Carabobo Pacayacu y la falla occidental que delimita a Secoya y Shushuqui, tiene una longitud de 21 km de extensión y de ancho 6-6,5 Km que cubre un área de 100Km² aproximadamente. El río Aguarico se encuentra cerca del lugar.

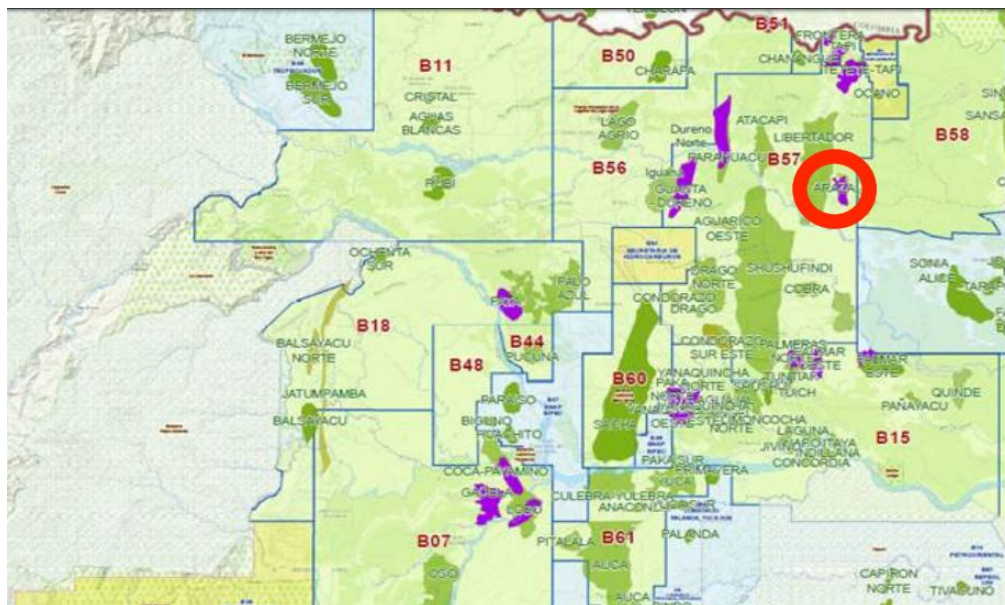


Gráfico 3-1: Ubicación geográfica del Petroamazonas.

Fuente: (Ronda Campos menores, 2017) Araza

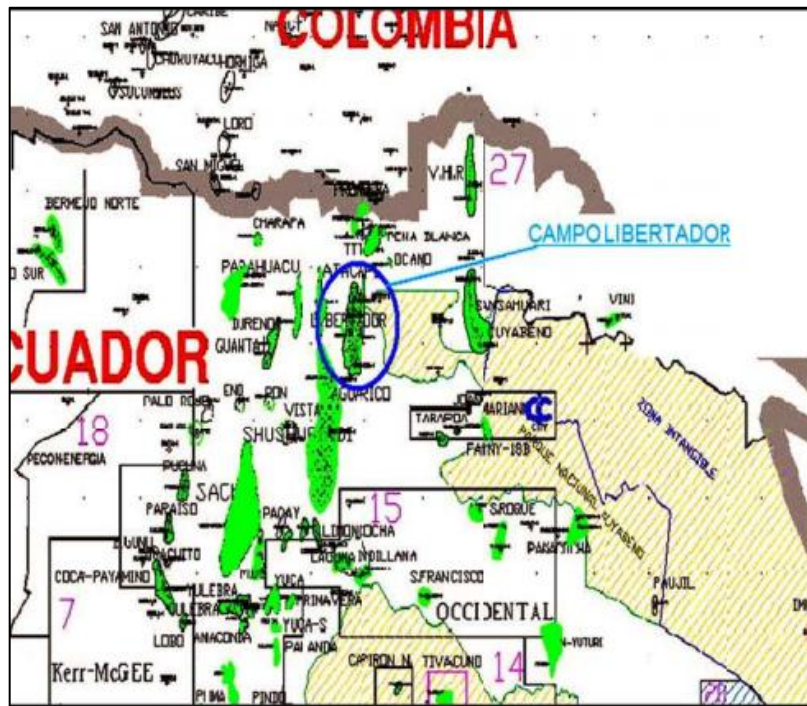


Gráfico 3-2: Ubicación geográfica del Campo Libertador.

Fuente: (Caceres.S, 2015) Ubicación campo Libertador

En el campo libertador encontramos una gran biodiversidad como se muestra en el gráfico 3-3, PETROAMAZONAS EP se interesa por aportar al medio ambiente por los que es esencial darles un tratamiento biológico a los suelos contaminados.



Gráfico 3-3: Campo Libertador

Fuente: (Petroamazonas, 2015) Amazonía Viva

3.2 Análisis Iniciales del suelo, compost, residuo de rosas

En las tablas 3-1, 3-2, 3-3 se observan los resultados de los análisis que se realizaron al suelo inicialmente es decir de los parámetros físicos, químicos y microbiológicos que nos permiten caracterizar al suelo del campo Libertador.

Tabla 3-1: Análisis de Parámetros Químicos del suelo

Parámetros	Unidad	Promedio	
Nitrógeno Total	%	0,11	
Carbono Orgánico total	%	9,93	
Materia orgánica	%	17,08	
Potasio	mg/Kg	194,40	
Fosforo	mg/Kg	618,93	
METALES	Níquel	mg/Kg	38,74
	Cobre	mg/Kg	4,36
	Zinc	mg/Kg	162,12
	Plomo	mg/Kg	4,80
	Cadmio	mg/Kg	1,11

Realizado por: Shirley Jara,2018

Tabla 3-2: Análisis de Parámetros Físicos del suelo

Parámetros	Unidad	PROMEDIO
pH	Unidades de pH	5,78
Conductividad eléctrica	uS/cm	1049
Humedad	%	10,67
Materia seca	%	89,33

Realizado por: Shirley Jara,2018

Tabla 3-3: Análisis Microbiológicos del suelo

Parámetros	Unidad	PROMEDIO
Aerobios Totales	UFC/g	4000000

Realizado por: Shirley Jara, 2018

A continuación, en la tabla 3-4 observamos los análisis fisicoquímicos y químicos de los diferentes tratamientos que se adicionarán al suelo, estas enmiendas orgánicas son las responsables de disminuir la concentración de metales pesados al transcurrir el tiempo.

Tabla 3-4: Análisis iniciales de Parámetros Fisicoquímicos,

Químicos de los tratamientos

Parámetros	Unidad	Compost	Residuos de Rosas
pH	Unidades de pH	8,2	6,5
Conductividad eléctrica	uS/cm	2,09	3,16
Materia Orgánica	%	54,60	34,20
Carbono orgánico/Nitrógeno Total	-	11,40	21,00
Nitrógeno Total	%	2,80	2,16
Cobre	mg/Kg	32,00	-
Cadmio	mg/Kg	0,24	-
Zinc	mg/Kg	148,00	-
Cromo	mg/Kg	14,00	-
Plomo	mg/Kg	0,07	-
Níquel	mg/Kg	15,00	-
P ₂ O ₅	%	2,37	-

K ₂ O	%	2,48	-
Fósforo	g/Kg	-	2,47
Sodio	g/Kg	-	0,83
Potasio	g/Kg	-	19,8

Realizado por: Shirley Jara,2018

Fuente: Idrovo Julio, 2018 Composting as a method to recycle renewable plant resources back to the ornamental plant industry: Agronomic and economic assessment of composts.

Para la lograr una relación de C/N/P adecuada para el proceso de biorremediación del suelo fue fundamental realizar el análisis de la relación C/N/P inicial, como observamos en la tabla 3-5 inicialmente el suelo tenía una relación de C/N/ P de 100:1,2:0,6 que al aplicar 4,76g/250g suelo de urea y 0,41 g/250g suelo de MKP se logró una relación de 100:10:1 ; En el caso del suelo con el compost la C/N/ P era inicialmente 100:1,9:0,6 por lo cual se aplicó 5,24 g/250g suelo y 0,55 g/250g logrando la relación C/N/P 100:10:1 finalmente para el suelo con residuo de rosas se aplicó 5,8 g/250g suelo de urea y 0,24 g/250g suelo de MKP ya que su relación inicial de C/N/P era de 100:1,8:0,8 .

Tabla 3-5: Relación C/N/P

Muestra	C (%)	N (%)	P (%)	C/N/P (inicial)			Urea (%)	MKP (%)	C/N/P (final)			Urea (g / 250 g)	MKP (g / 250 g)
				100	1,2	0,6			100	10	1		
B	9,93	0,12	0,062	100	1,2	0,6	1,9	0,16	100	10	1	4,76	0,41
S+C2	11,91	0,23	0,069	100	1,9	0,6	2,09	0,22	100	10	1	5,24	0,55
S+RR	12,98	0,23	0,099	100	1,8	0,8	2,32	0,14	100	10	1	5,8	0,34

Realizado por: Shirley Jara,2018

Para conocer la cantidad de agua que se aumentó en los tratamientos durante el tiempo de incubación se realizó el análisis de capacidad de retención hídrica del suelo como se muestra en la tabla 3-6 y se realizó el cálculo según los gramos de suelo como observamos en la tabla 3-7.

Tabla 3-6: Capacidad de Retención Hídrica (CRH) del suelo

Muestra	F+EMB (g)	F+Emb+agua+Muestra (g)	F+Emb+agua+Muestra(24h) (g)	CRH
Suelo	914	1393	1378	15

Realizado por: Shirley Jara,2018

Tabla 3-7: Cálculo de la cantidad de Agua para cada tratamiento

Muestra	CRH prom	(g) Agua/100(g) de suelo	(g)Agua/250(g) de suelo
Suelo	15,00	18,75	18,80

Realizado por: Shirley Jara,2018

Para conocer la cantidad de compost y residuo de rosas en gramos en masas seca que se colocó al suelo se realizó el análisis de humedad de ambas enmiendas como se muestra en la tabla 3-8.

Tabla 3-8: Cálculo de la cantidad de compost y residuos de rosas

para el suelo

Muestra	Humedad (%)	Masa Seca (g)	Masa Húmeda (g)
Compost	12,41	12,5	14,27
Residuos Rosas	8,41	12,5	13,65

Realizado por: Shirley Jara,2018

En el gráfico 3-4 se muestra el conteo de los aerobios totales del blanco con las diluciones más representativas que son a la 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} en la primera semana con baja concentración de carga microbiana.

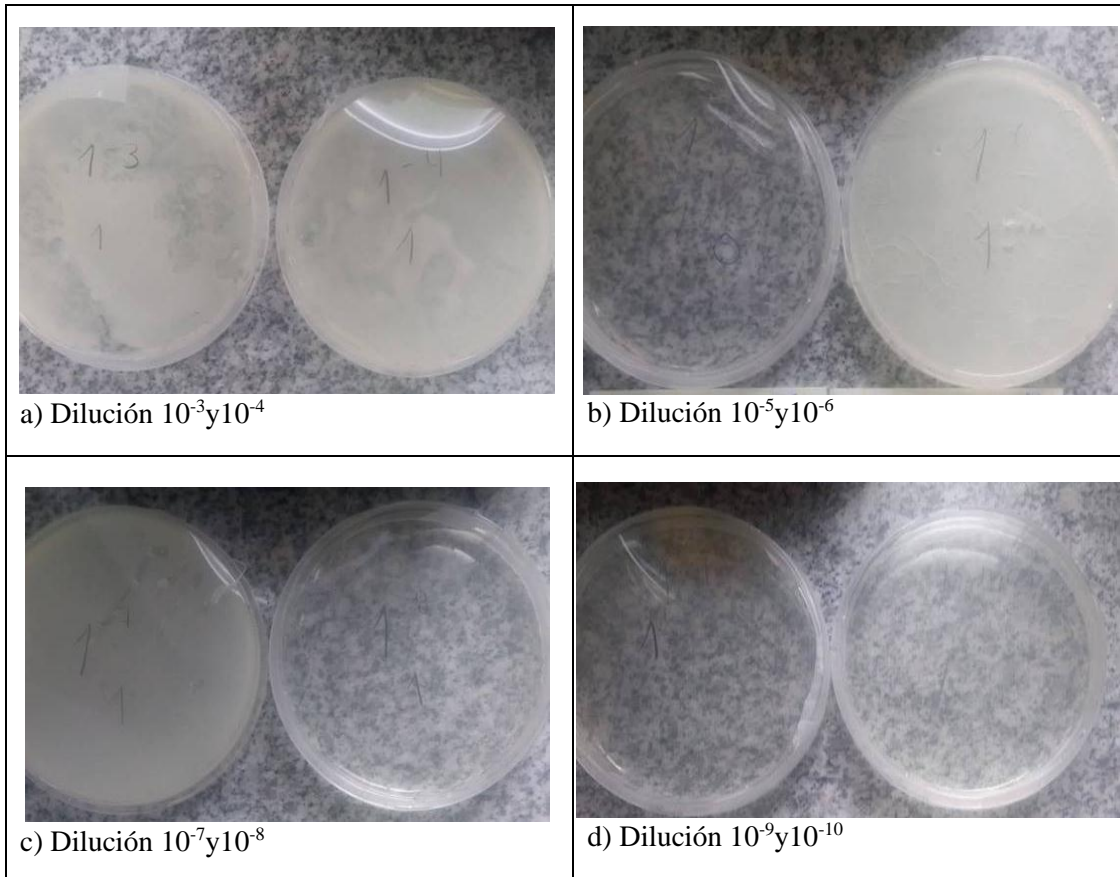
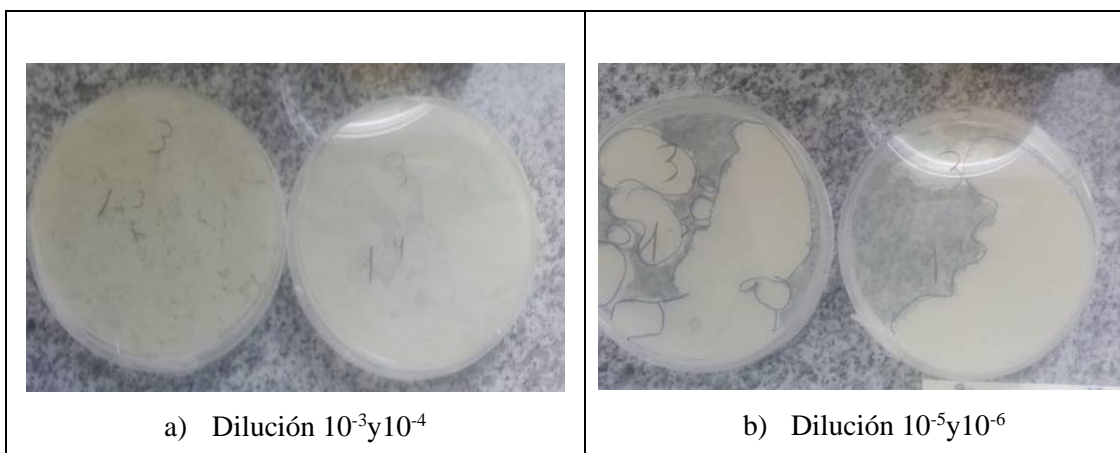


Gráfico 3-4: Resultados microbiológicos suelo B correspondiente a la primera semana.

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

En el gráfico 3-5 se observa el conteo de los aerobios totales del tratamiento: suelo con compost con las diluciones más representativas que son a la 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , en las primeras diluciones se encuentra una mayor carga microbiana debido a que la adición de compost bioaumenta de manera significativa.



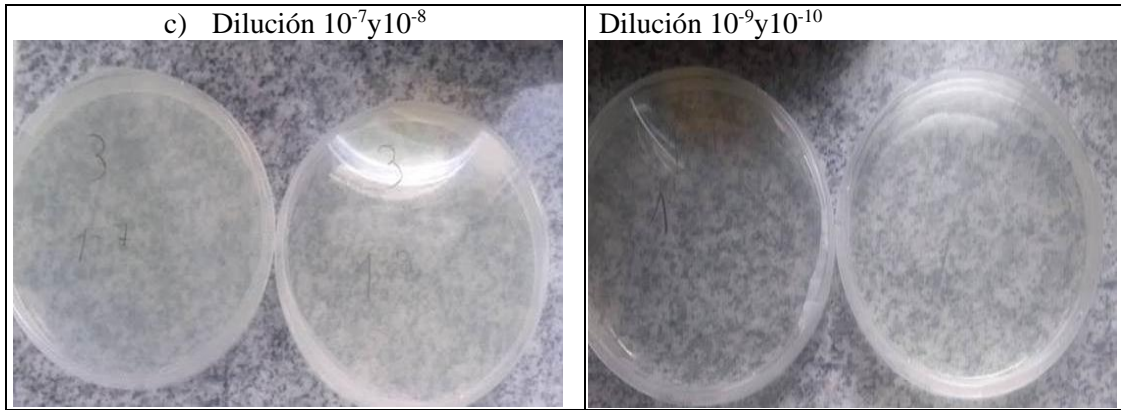


Gráfico 3-5: Resultados microbiológicos suelo C correspondiente a la primera semana.

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

En el gráfico 3-6 se muestra el conteo de los aerobios totales del tratamiento: suelo con residuo de rosas con las diluciones más representativas que son a la 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} en la primera semana, encontrándose una mayor carga microbiana, inclusive en la dilución a la 10^{-10} debido a la adición de la enmienda orgánica.

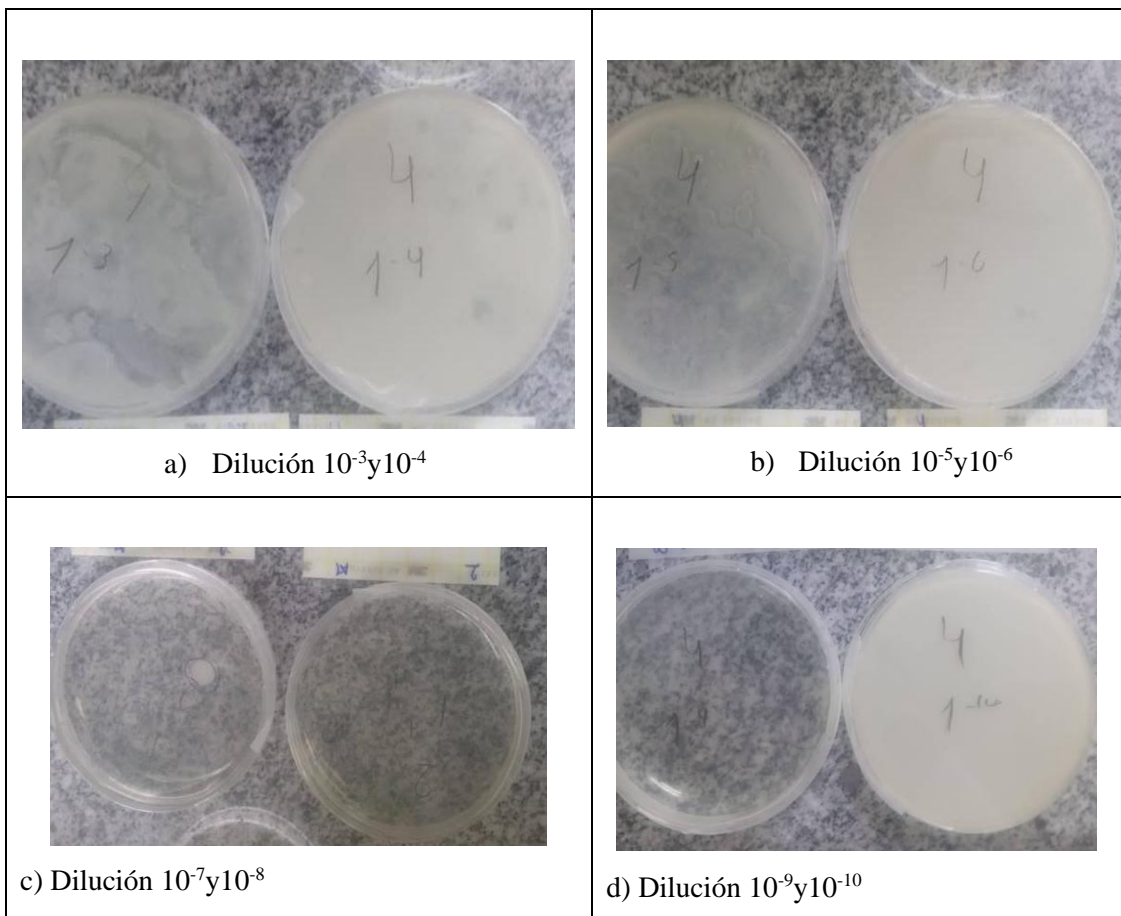


Gráfico 3-6: Resultados microbiológicos suelo RR correspondiente a la primera semana.

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

En el gráfico 3-7 se observa el conteo de aerobios totales a la cuarta semana en el blanco con las diluciones que se encontró carga microbiana que son a la 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , se evidencia un incremento de microorganismos con respecto a la primera semana debido a que el suelo al estar en condiciones de temperatura y humedad controladas permite que los microorganismos se reproduzcan y consuman los nutrientes con los que el suelo contaba.

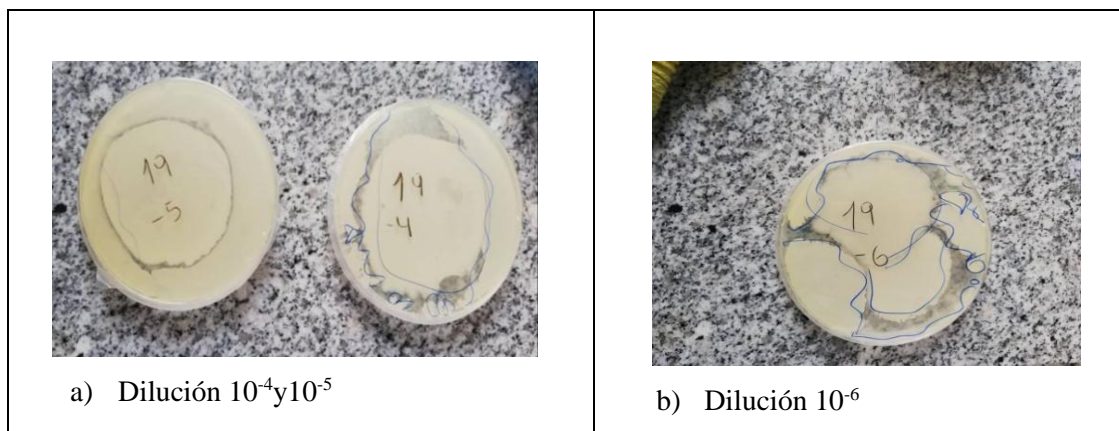


Gráfico 3-7: Resultados microbiológicos suelo B correspondiente a la cuarta semana.

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

En el gráfico 3-8 se muestra el conteo de aerobios totales del tratamiento: suelo con compost en el cual se observa que los microorganismos están presentes en altas concentración de disolución como es a la 10^{-6} , esto quiere decir que la enmienda orgánica aporta al suelo los nutrientes suficientes para que los microorganismos se desarrollen y se puede evidenciar que se ha incrementado la carga microbiana con respecto a la primera semana.

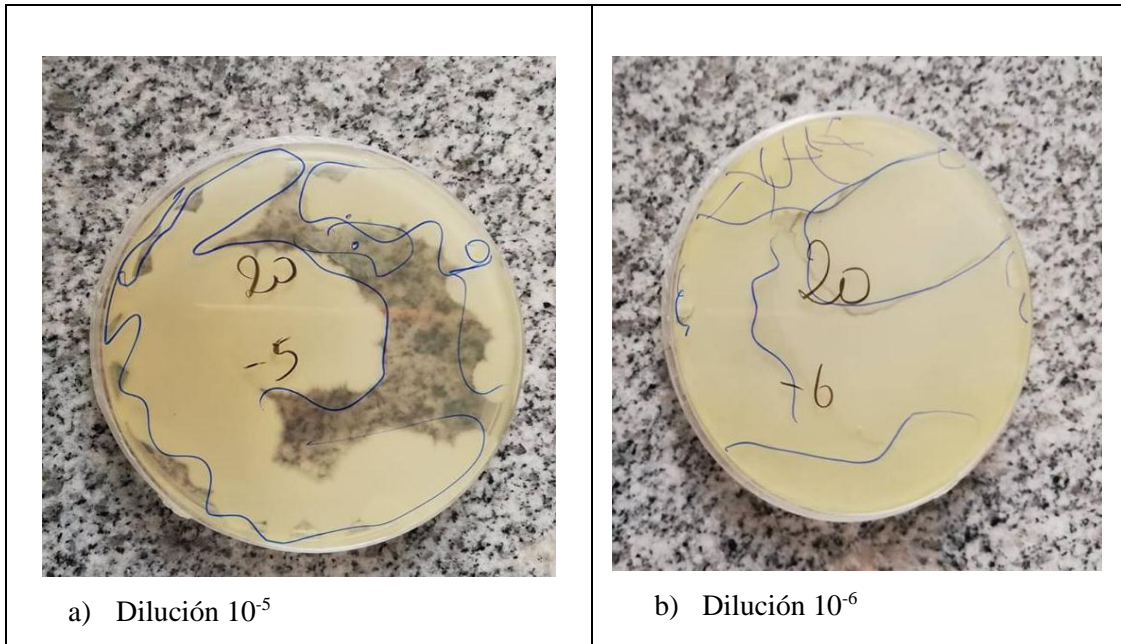
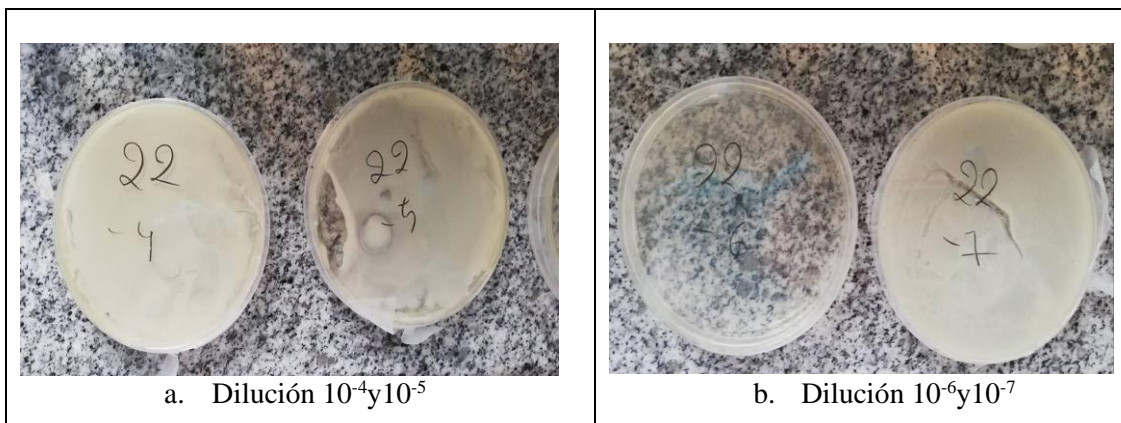


Gráfico 3-8: Resultados microbiológicos suelo C correspondiente a la cuarta semana.

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

En el gráfico 3-9 se muestra el conteo de aerobios totales en el tratamiento: suelo con residuo de rosas, el cual tuvo un incremento con respecto a la primera semana, encontrándose carga microbiana hasta la dilución 10^{-7} .



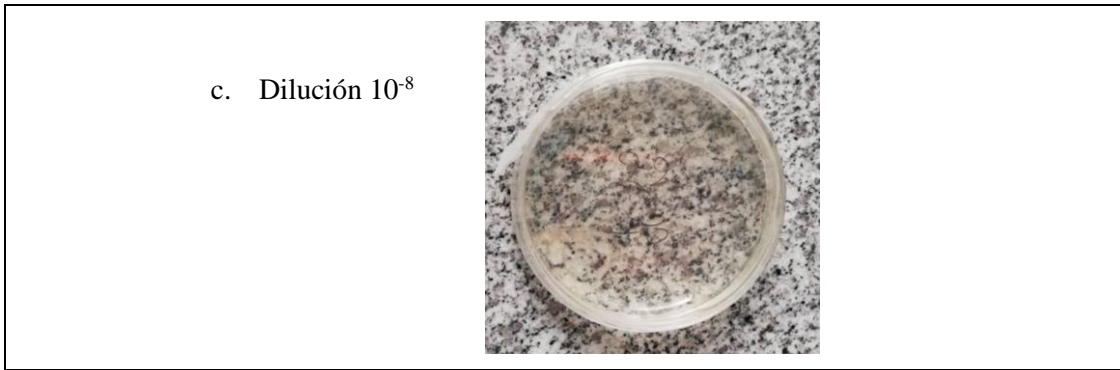


Gráfico 3-9: Resultados microbiológicos suelo RR correspondiente a la cuarta semana.

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

En el gráfico 3-10 se muestra el conteo de los aerobios totales del suelo, encontrándose poca carga microbiana debido a que los microorganismos al no tener suficientes nutrientes entran a la fase de latencia.

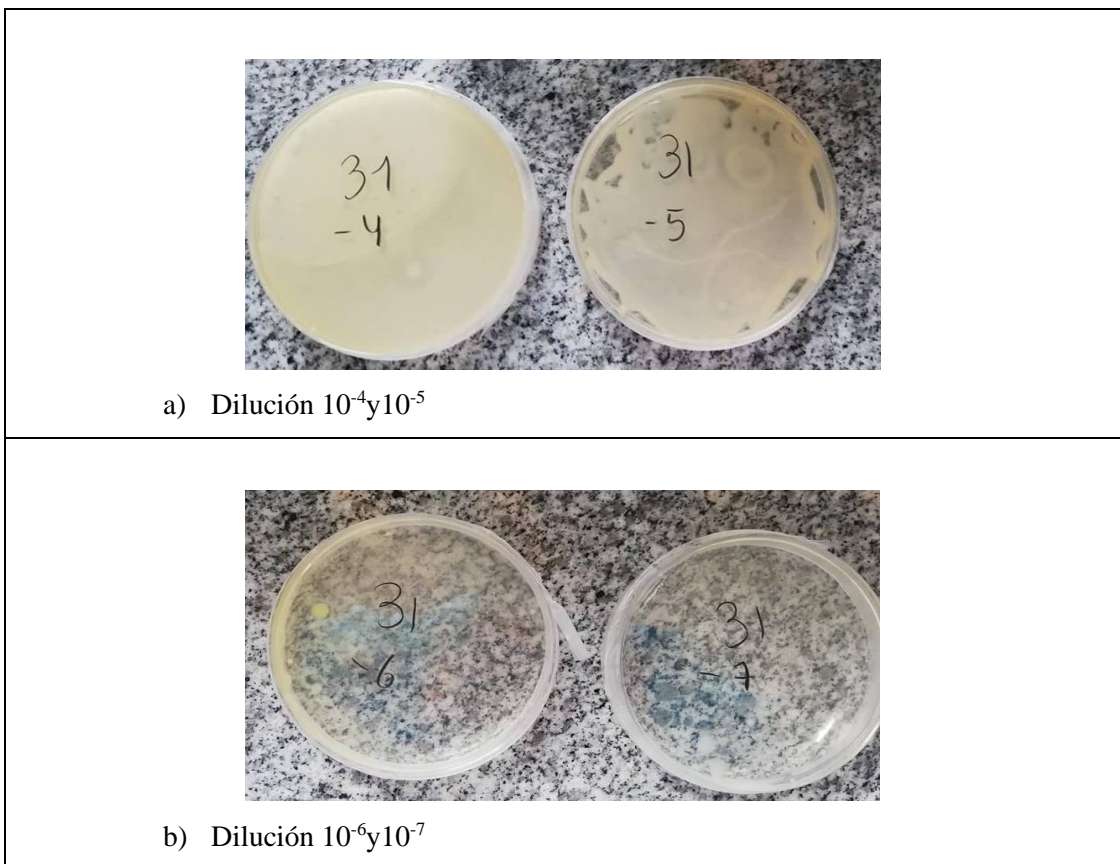


Gráfico 3-10: Resultados microbiológicos suelo B correspondiente a la sexta semana.

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

En el gráfico 3-11 encontramos alta carga microbiana en el tratamiento: suelo con compost a la sexta semana posiblemente a que los microorganismos se encuentran en su fase exponencial.

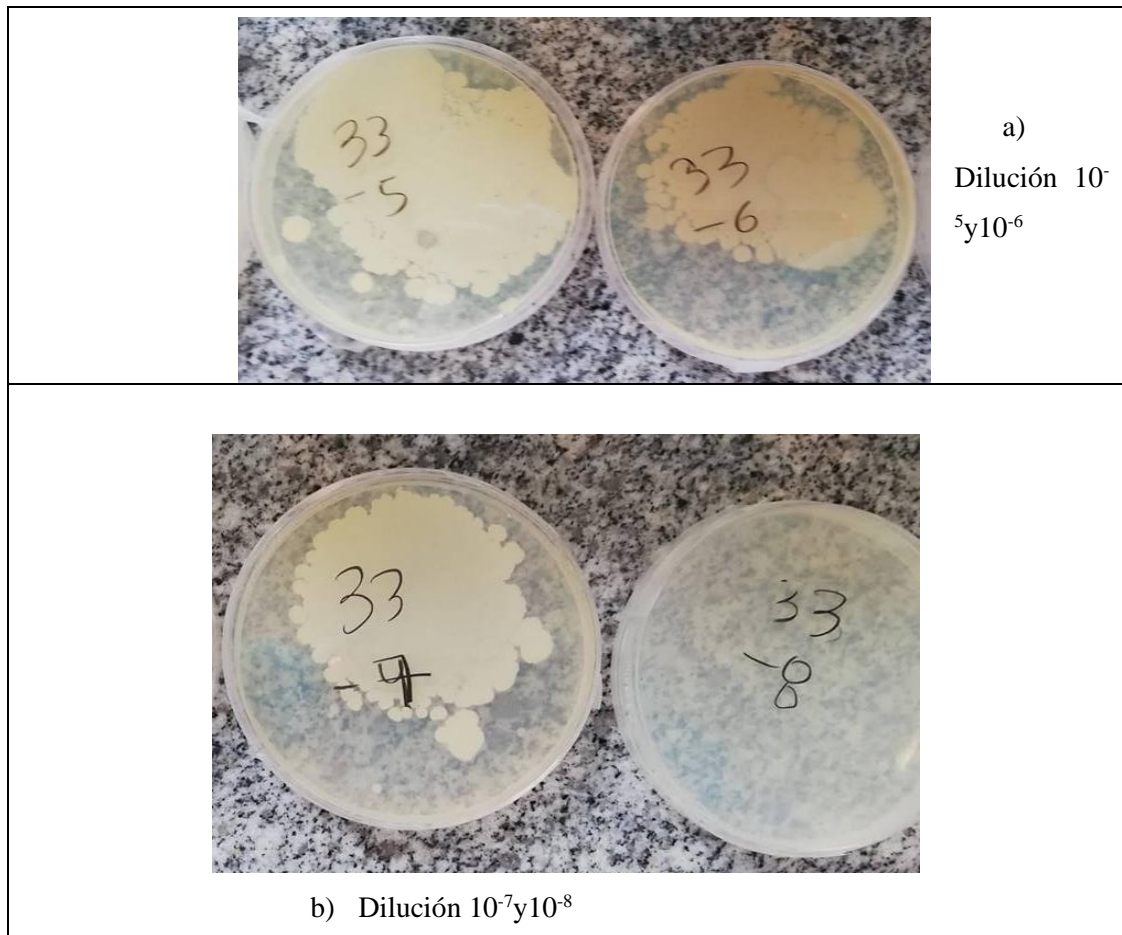


Gráfico 3-11: Resultados microbiológicos suelo C correspondiente a la sexta semana.

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

En el gráfico 3-12 tenemos el conteo de los aerobios totales del tratamiento: suelo con residuo de rosas con las diluciones más representativas las cuales mantienen su carga microbiana con respecto a la anterior semana.

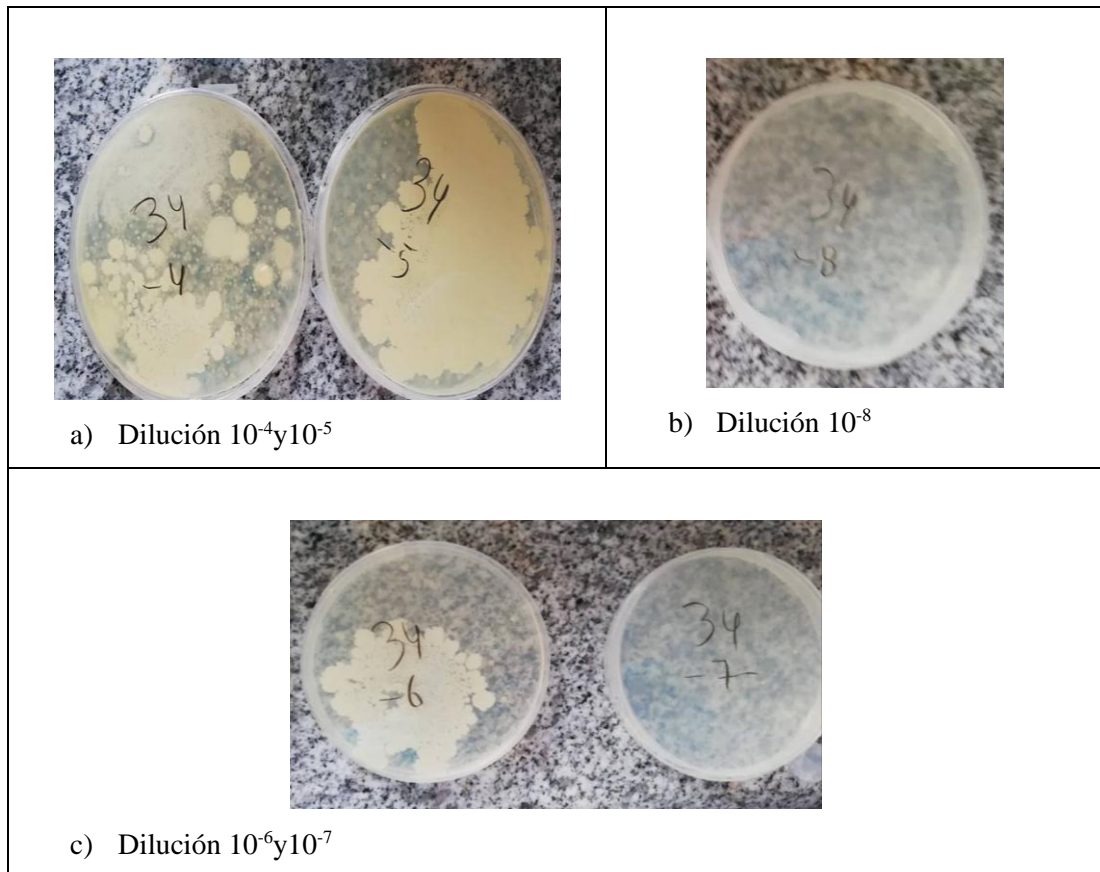


Gráfico 3-12: Resultados microbiológicos suelo RR correspondiente a la sexta semana.

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

En el gráfico 3-13 tenemos el conteo de los aerobios totales del blanco con la dilución más representativa que fue a la 10^{-5} , en la séptima semana donde se observó que la carga microbiana disminuyó.

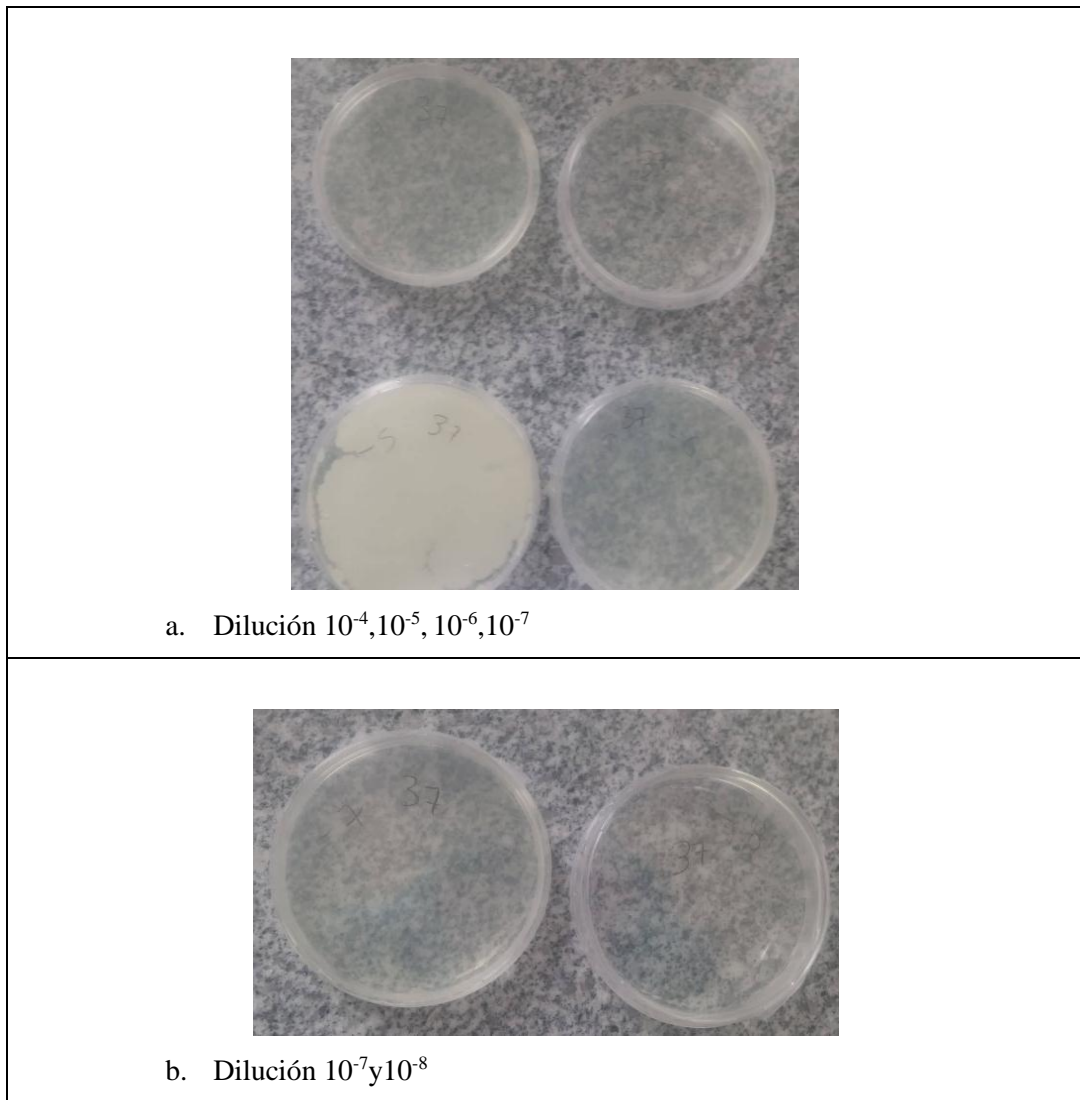


Gráfico 3-13: Resultados microbiológicos suelo B correspondiente a la séptima semana.

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

En el gráfico 3-14 tenemos el conteo de los aerobios totales del tratamiento: suelo con compost con las diluciones más representativas que son a la 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , en la séptima semana donde se observa que la carga microbiana se mantiene posiblemente a que los microorganismos se encuentran en su fase de latencia.

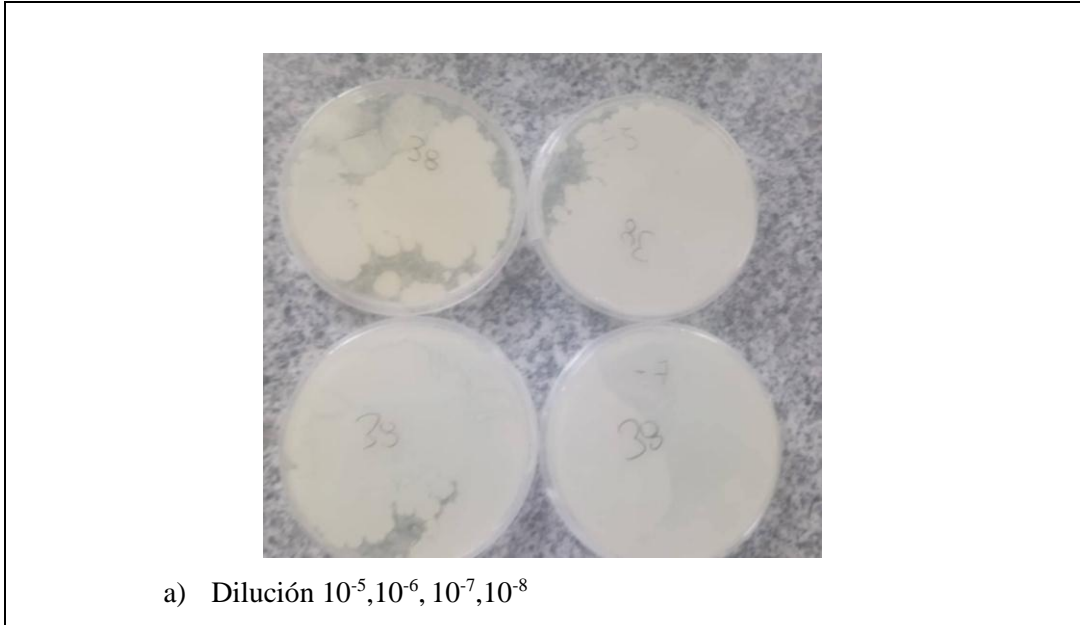


Gráfico 3-14: Resultados microbiológicos suelo C correspondiente a la séptima semana.

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

En el gráfico 3-15 tenemos el conteo de los aerobios totales del tratamiento con el residuo de rosas con las diluciones más representativas que son a la $10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8}$, en la séptima semana donde se observa que la carga microbiana se mantiene posiblemente a que los microorganismos se encuentran en su fase de latencia.

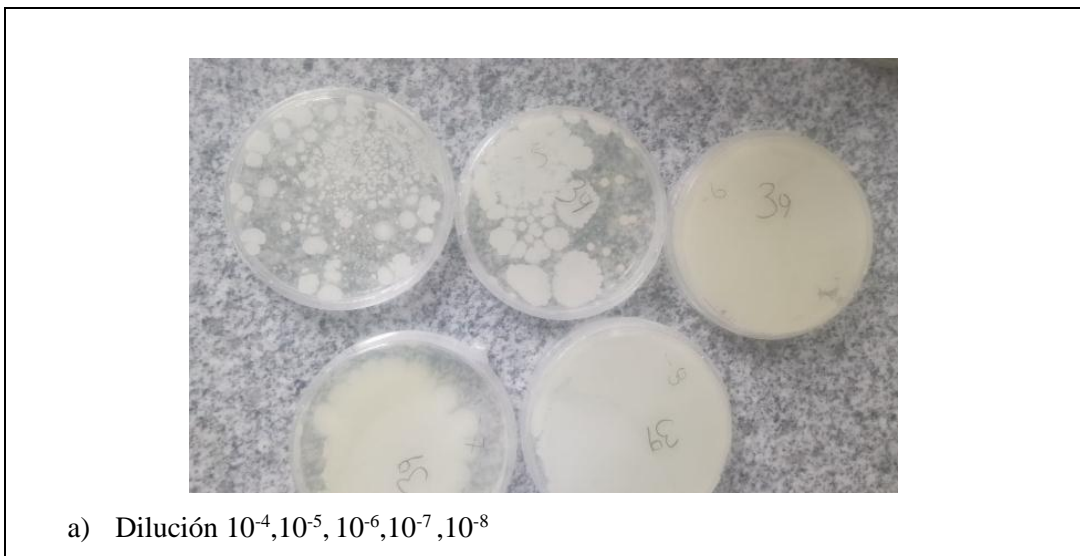


Gráfico 3-15: Resultados microbiológicos suelo RR correspondiente a la séptima semana.

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

En el gráfico 3-16 se muestra el conteo de aerobios totales del blanco en la octava semana con una carga microbiana menor a la de la anterior semana debido a que los microorganismos para sobrevivir tienden a comerse entre ellos.

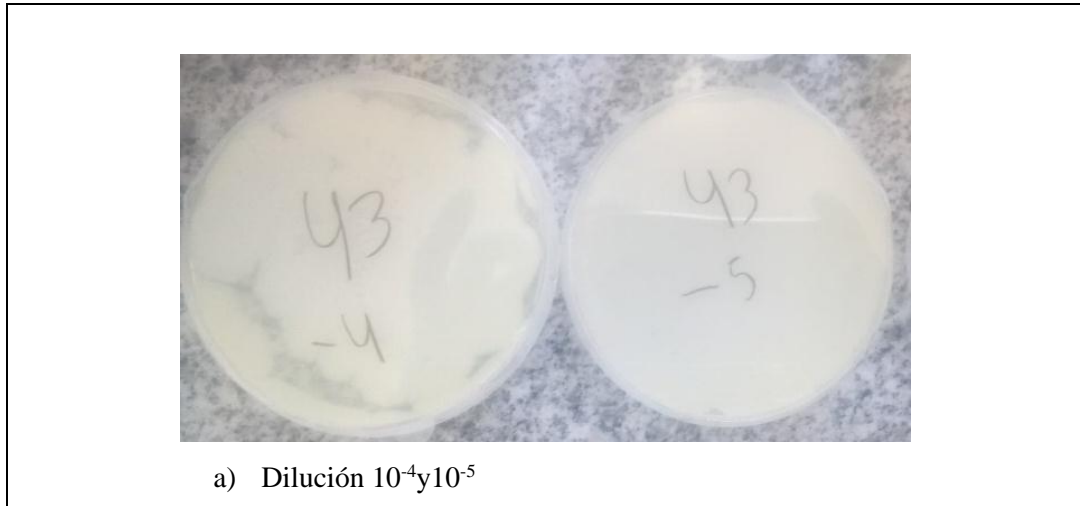
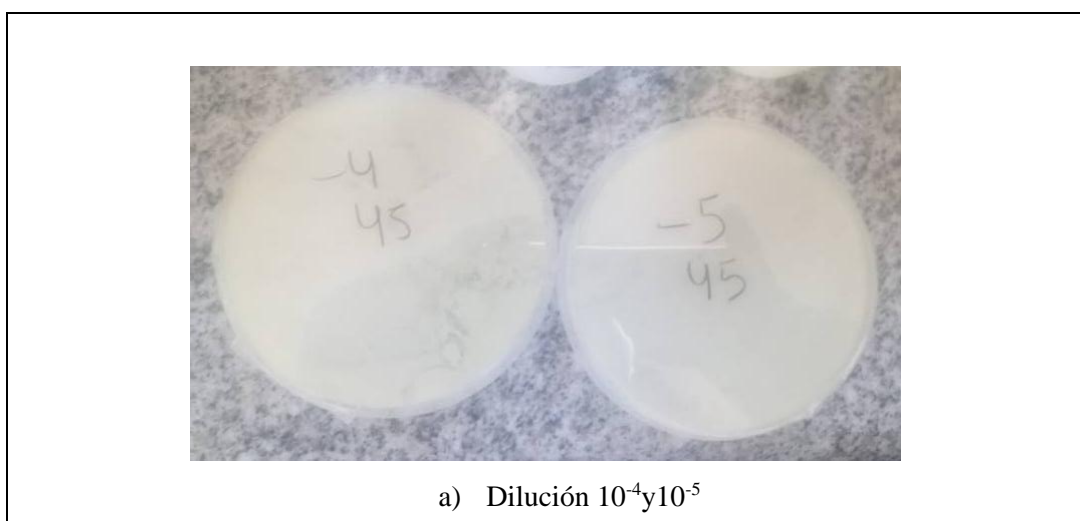


Gráfico 3-16: Resultados microbiológicos suelo B correspondiente a la octava semana.

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

En el gráfico 3-17 tenemos el conteo de los aerobios totales del tratamiento: suelo con compost con las diluciones más representativas que son a la 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} y 10^{-8} , en la octava semana donde se observa que existe carga microbiana sin embargo disminuyó con respecto a la anterior semana debido a que los microorganismos tienen a morir por la escasez de alimento.



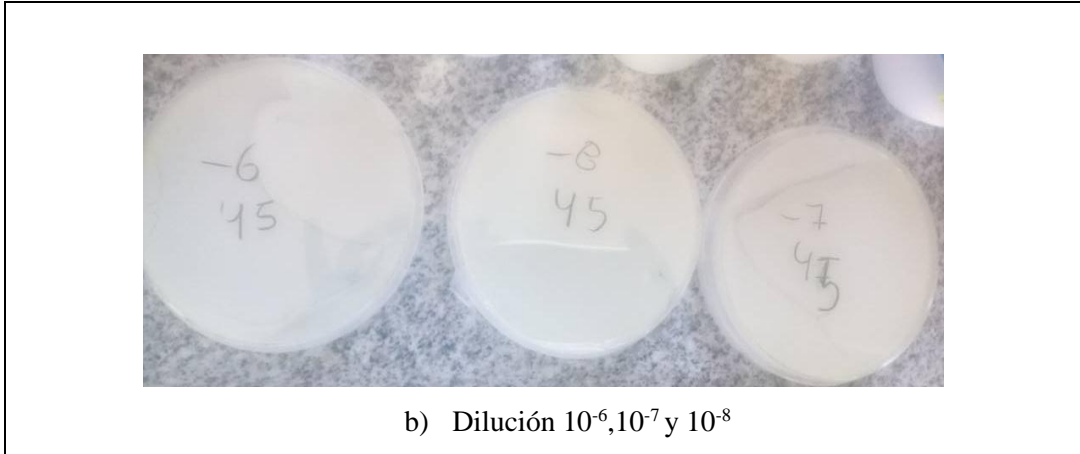


Gráfico 3-17: Resultados microbiológicos suelo C correspondiente a la octava semana.

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

En el gráfico 3-18 encontramos el conteo de los aerobios totales del tratamiento: suelo con residuo de rosas de rosas con las diluciones más representativas que son a la 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} y 10^{-8} , en la octava semana donde se observa que la carga microbiana va disminuyendo.

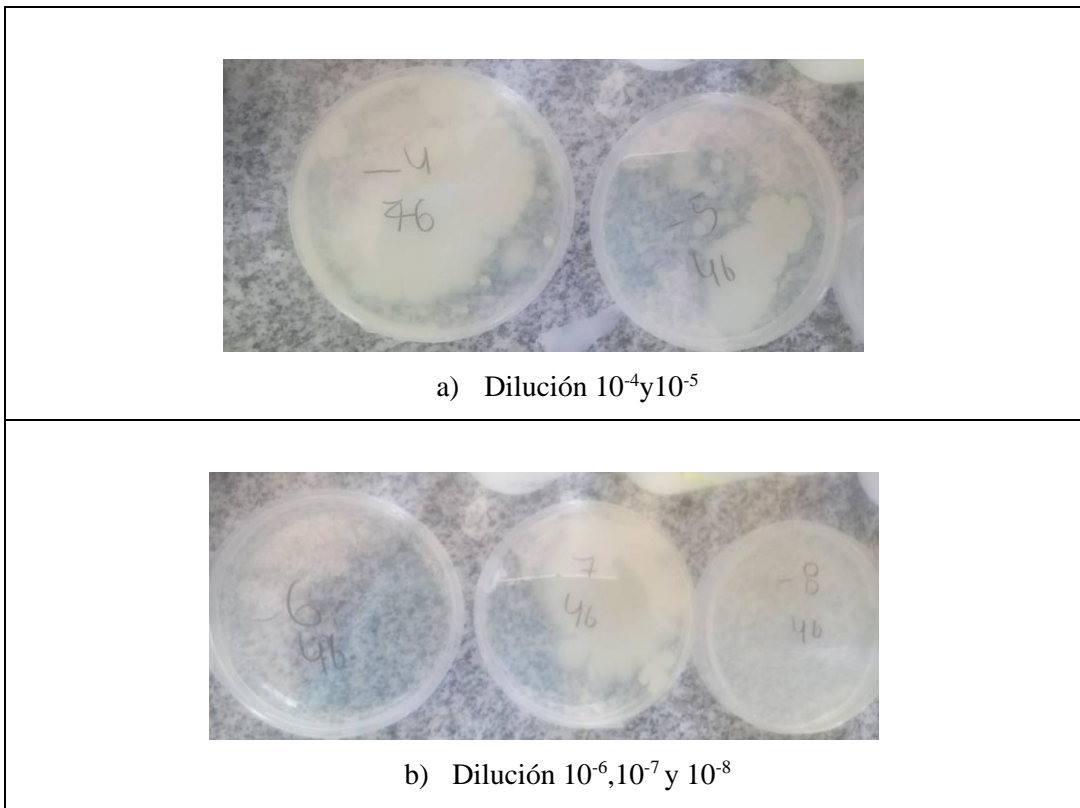


Gráfico 3-18: Resultados microbiológicos suelo RR correspondiente a la octava semana.

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

3.3 Análisis Estadístico

En la tabla 3-9 se muestra la evolución del proceso de todos los tres tratamientos con respecto al tiempo y se observa en que grupos se encuentran los parámetros analizados.

Tabla 3-9: Evolución del proceso de los tratamientos según el tiempo.

Tiempo (días)	Ni (ppm)		Cu (ppm)		Zn (ppm)		Cd (ppm)		Pb (ppm)		Microorganismos UFC/g	
Tratamiento: Blanco												
0	5,0200	e	6,5433	f	283,7900	g	0,5867	ef	3,4233	f	2000000000	b
7	4,9733	e	6,4667	f	276,7833	fg	0,5900	f	3,0467	e	2000000000	b
14	4,5300	d	6,0667	e	264,3233	ef	0,5533	def	2,8800	d	2000000000	b
21	4,3200	d	5,8400	e	257,5867	e	0,5467	de	1,8467	c	2000000000	b
28	3,4700	c	5,2933	d	225,3500	d	0,5467	de	1,4100	b	2000000000	b
49	2,4867	b	4,5667	c	198,2833	c	0,5200	d	1,3900	b	2000000000	b
63	1,2833	a	4,2100	b	178,1333	b	0,4233	c	0,000	a	99999999,67	a
77	1,1500	a	3,9567	b	168,7133	ab	0,3867	bc	0,000	a	10000000,00	a
91	1,1267	a	3,9333	b	165,9367	ab	0,3633	b	0,000	a	10000000,00	a
105	1,1033	a	2,7033	a	156,2167	a	0,3033	a	0,000	a	10000000,00	a
ANOVA	***		***		***		***		***		***	
Tratamiento: Compost												
0	5,0967	g	6,4233	f	285,9933	f	0,5767	g	3,4667	g	2000000000	b
7	5,0633	g	6,3833	f	246,7100	e	0,5533	fg	2,9367	f	3000000000	c
14	4,1633	f	5,9500	e	220,9100	d	0,5300	f	2,2900	e	5000000000	d
21	3,8533	e	5,0500	d	186,5200	c	0,5000	e	1,6567	d	5000000000	d
28	2,8933	d	3,8833	c	164,5600	b	0,4900	e	1,3667	c	3000000000	c
49	0,9667	c	3,7033	c	153,3100	ab	0,4767	e	0,9900	b	2000000000	b
63	0,8633	bc	3,2667	b	148,5600	Ab	0,4133	d	0,0000	a	10000000,00	a
77	0,8100	bc	3,1700	b	145,8167	A	0,3633	c	0,0000	a	10000000,00	a
91	0,7467	b	3,1033	b	141,1333	a	0,3033	b	0,0000	a	10000000,00	a
105	0,5600	a	2,7900	a	136,2000	a	0,2300	a	0,0000	a	10000000,00	a
ANOVA	***		***		***		***		***		***	
Tratamiento: Residuo de rosas												
0	5,1300	f	6,5067	e	281,5900	g	0,5833	g	3,4567	f	2000000000	b
7	4,9633	f	5,0367	d	249,7367	f	0,5733	f	3,0200	f	4000000000	d
14	3,0667	e	4,8200	d	214,6033	e	0,5333	e	2,5867	e	4000000000	d
21	2,7367	d	3,0333	c	192,1900	d	0,5033	de	1,7033	d	5000000000	e
28	1,9300	c	2,8233	c	165,1467	c	0,4867	d	1,3867	c	4000000000	d
49	0,9167	b	2,5500	b	153,6333	b	0,3933	c	1,0500	b	3000000000	c
63	0,7367	ab	2,1533	a	147,4167	b	0,3767	c	0,0000	a	10000000,00	a
77	0,7200	ab	2,0133	a	135,2433	a	0,2567	b	0,0000	a	50000000,00	a

91	0,7033	ab	2,0400	a	132,7967	a	0,2233	ab	0,0000	a	40000000,00	a
105	0,4567	a	1,9067	a	125,7000	a	0,2167	a	0,0000	a	20000000,00	a
ANOVA	***		***		***		***		***		***	

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

*** Diferencia significativa

a,b,c,d,e,f,g Letras pertenecientes a cada grupo

En la tabla 3-10 se muestra los valores medios de cada parámetro analizado en cada tratamiento con su análisis estadístico.

Tabla 3-10: Valores medios de los diferentes parámetros en cada tratamiento.

Tratamiento	Ni (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Cd (ppm)	Pb (ppm)	Microorganismos UFC/g		
Blanco	2,9463	4,9580	b	217,512	b	0,4820	1,3997	1213000000
Compost	2,5017	4,3723	b	182,971	a	0,4437	1,2707	2013000000
Residuo	2,1360	3,2883	a	179,806	a	0,4147	1,3203	2221000000
ANOVA	NS	***		**		NS	NS	NS

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

*** Diferencia significativa alta

** Diferencia Significativa media

NS No significativo

a,b, Letras pertenecientes a cada grupo

3.4 Discusión de Resultados

En la tabla 3-10 observamos que los valores medios de los metales son menores en los suelos adicionados las enmiendas orgánicas de compost y residuo de rosas. En el caso del Cu y Zn estas diferencias son altamente significativas, lo cual indica que la adición de compost y residuo de rosas al suelo reduce significativamente la concentración de estos metales. Para los valores medios de los metales Ni, Cd, Pb no existen diferencias significativas sin embargo se puede evidenciar que la adición de las enmiendas orgánicas si disminuye la concentración de estos metales a lo largo del tiempo. (Zubillaga et al. 2006) Menciona que el Zn y el Cd son intercambiables en el suelo cuando se lo trata con compost durante el tiempo de incubación por lo que va disminuyendo su concentración mientras que en esta investigación el Cd no tuvo un cambio significativo sin embargo llego a una concentración menor a la del blanco debido a que el compost y el residuo de rosas permitió dar al medio los nutrientes necesarios y las condiciones adecuadas para que los microorganismos actúen y permitan desarrollar los procesos biológicos haciendo que los metales sean inmovilizados o transformados en otros compuestos menos tóxicos (Rajendran et

al, 2003). Por otro lado (Manzano R, 2016) menciona que los suelos con las enmiendas orgánicas se mantienen y disminuyen las concentraciones de los metales cobre, plomo, níquel, zinc potencialmente comparados con los suelos sin enmendar. También (ROSAL, 2007, pp. 75-82) menciona que las concentraciones de metales pesados como Ni, Cu, Cd, Cr, Pb, Zn presentes en el suelo disminuyen de manera significativa al tratarlo con compost a lo largo del tiempo por lo que en esta investigación a pesar de que no hubo una significancia se evidencia que los metales disminuyen su concentración.

No existen diferencias del número promedio de microorganismos entre los tres tratamientos. Posiblemente se debe a que el suelo ya contaba con carga microbiana, sin embargo los microorganismos que se bioaumentaron en los tratamientos de compost y residuo de rosas aprovecharon estos nutrientes para disminuir la concentración de metales pesados rápidamente. (Rojas,2016) Al adicionar nutrientes al suelo son considerados para el crecimiento de los microorganismos.

En el Gráfico 3-19 se observa la concentración de níquel en el tiempo que duró la investigación, mostrando que la concentración de níquel en el residuo de rosas y el compost es menor que la del blanco. La concentración de níquel se mantiene a partir del día 49.

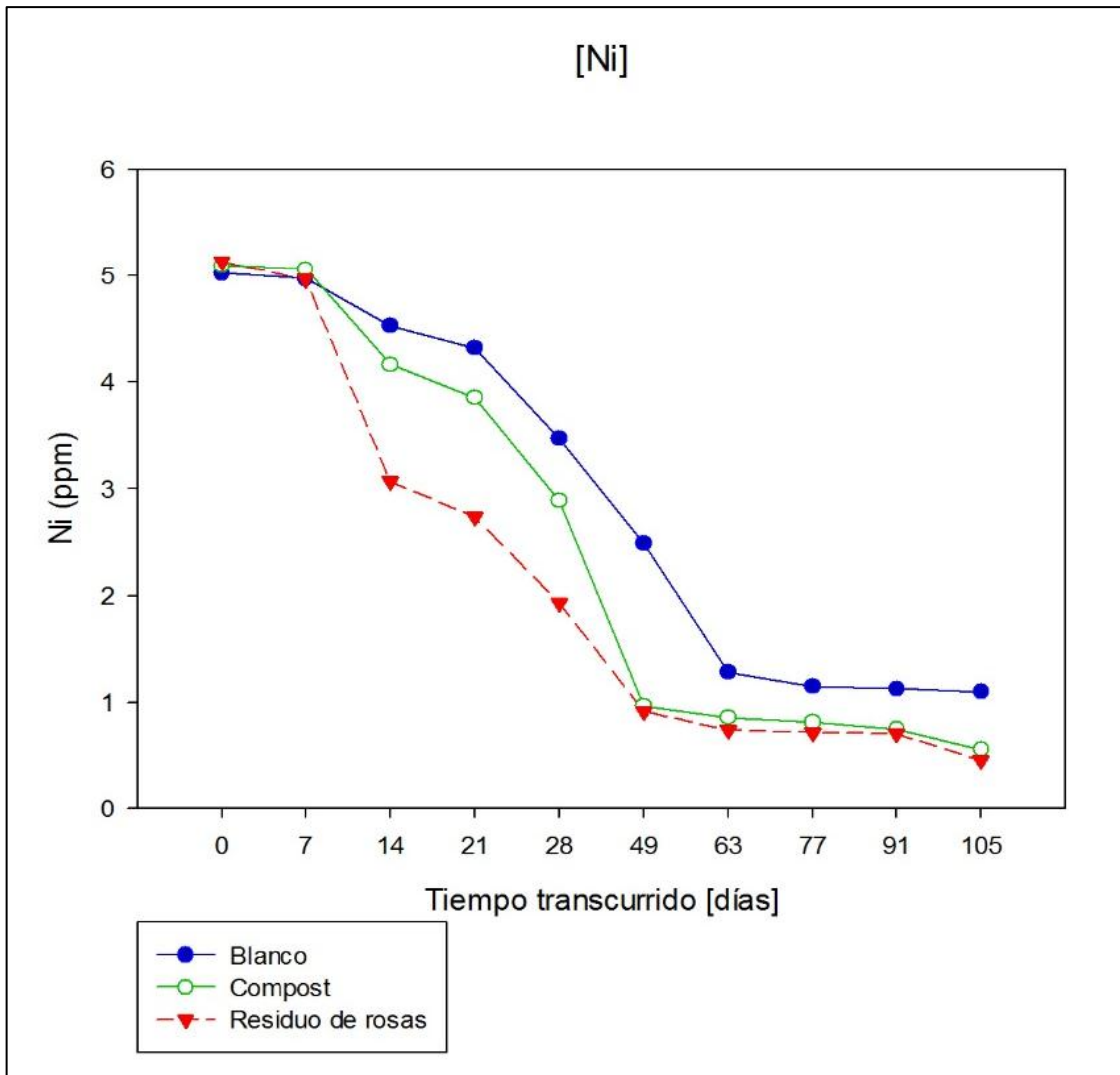


Gráfico 3-19: Concentración del metal Ni (ppm) en función del tiempo en los diferentes tratamientos.

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

En el Gráfico 3-20 se encuentra la concentración de plomo a la cual no se puede evidenciar una gran diferencia significativa entre los tres tratamientos, sin embargo, se puede mostrar que el blanco tiene mayor concentración de plomo.

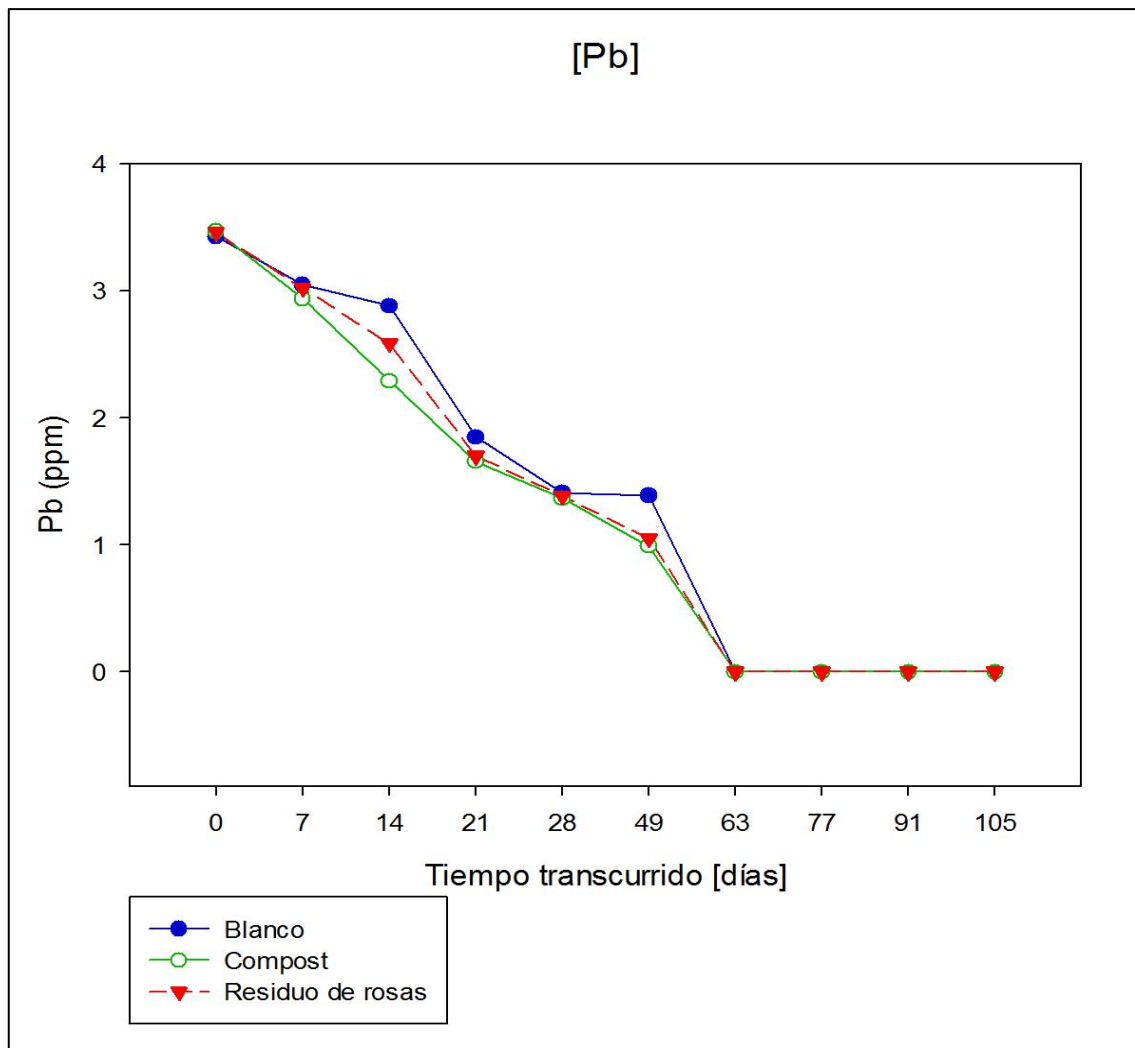


Gráfico 3-20: Concentración del metal Pb (ppm) en función del tiempo en los diferentes tratamientos.

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

En el Gráfico 3-21 se observa que la concentración de cadmio en los tratamientos del suelo con el compost y del suelo con el residuo de rosas son parecidas, mientras que la del blanco tiene mayor concentración de cadmio. Los tres tratamientos siguen una tendencia suave.

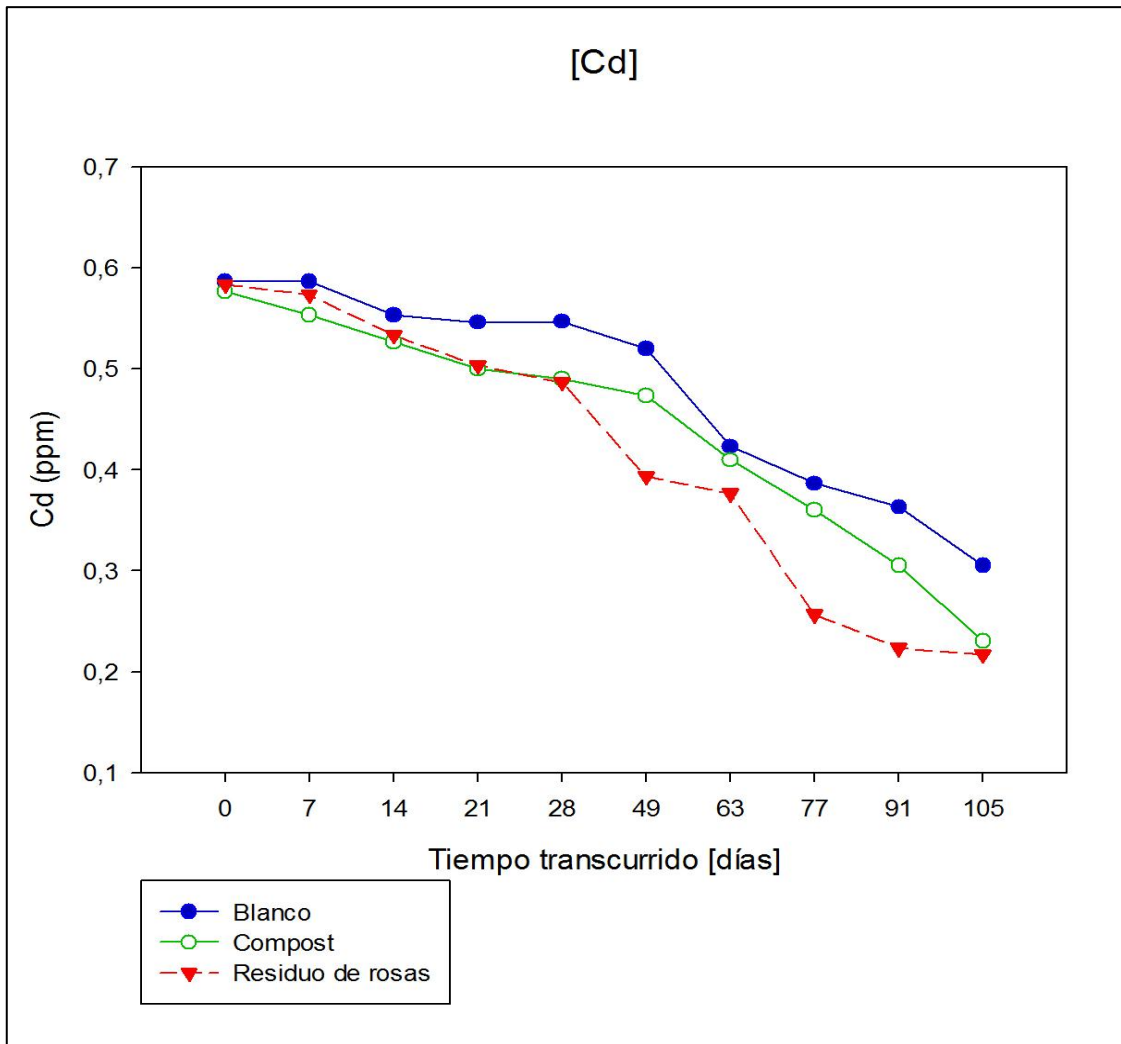


Gráfico 3-21: Concentración del metal Cd (ppm) en función del tiempo en los diferentes tratamientos.

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

En el Gráfico 3-22 se observa que las concentraciones de cobre entre los tres tratamientos son altamente significativas las cuales siguen una tendencia a lo largo del tiempo. Es importante recalcar que la concentración de cobre en el blanco es mayor a la de los tratamientos con el compost y el residuo de rosas.

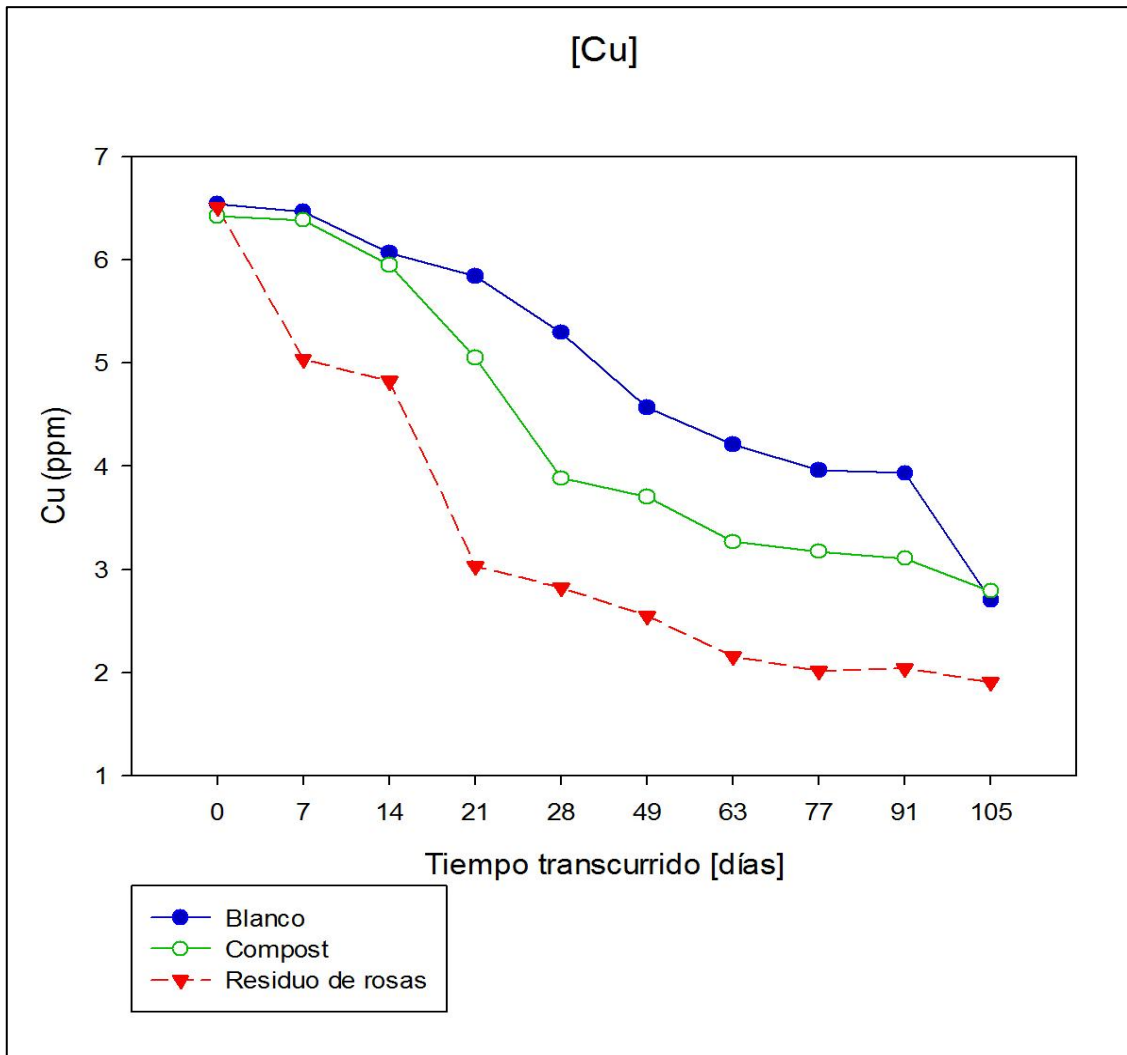


Gráfico 3-22: Concentración del metal Cu (ppm) en función del tiempo en los diferentes tratamientos.

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

En el Gráfico 3-23 se muestra que la concentración de zinc en los tres tratamientos es significativa en especial con el blanco ya que la concentración del zinc en los tratamientos con el compost y el residuo de rosas son similares. Sin embargo, la concentración de zinc en el blanco tiene un valor mayor.

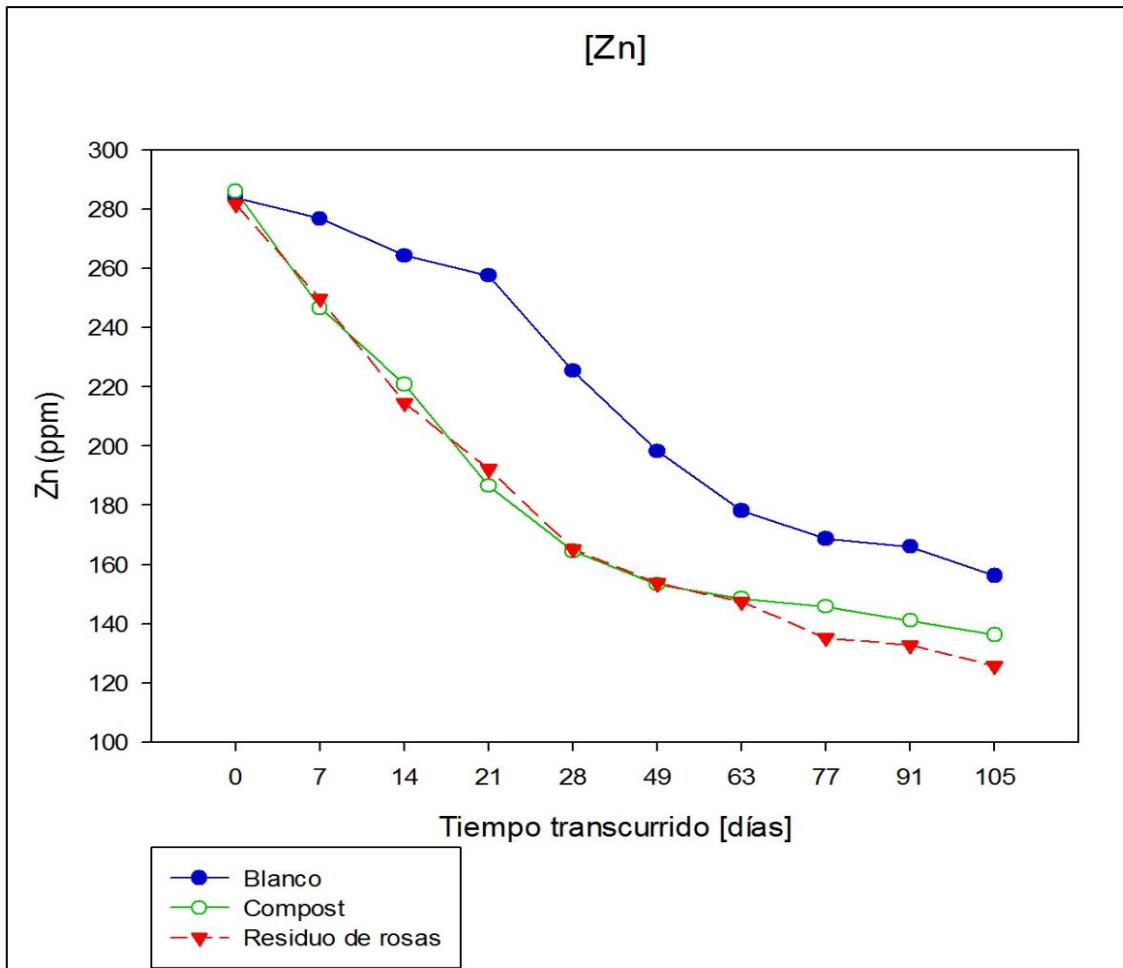


Gráfico 3-23: Concentración del metal Zn (ppm) en función del tiempo en los diferentes tratamientos.

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

En el Gráfico 3-24 se observa el número de microorganismos, donde se evidencia que en el tratamiento del compost y del residuo de rosas a lo largo del tiempo incrementó cumpliendo la curva de crecimiento microbiano mientras que para el blanco los microorganismos se mantuvieron hasta consumir los nutrientes y fueron disminuyendo con los días.

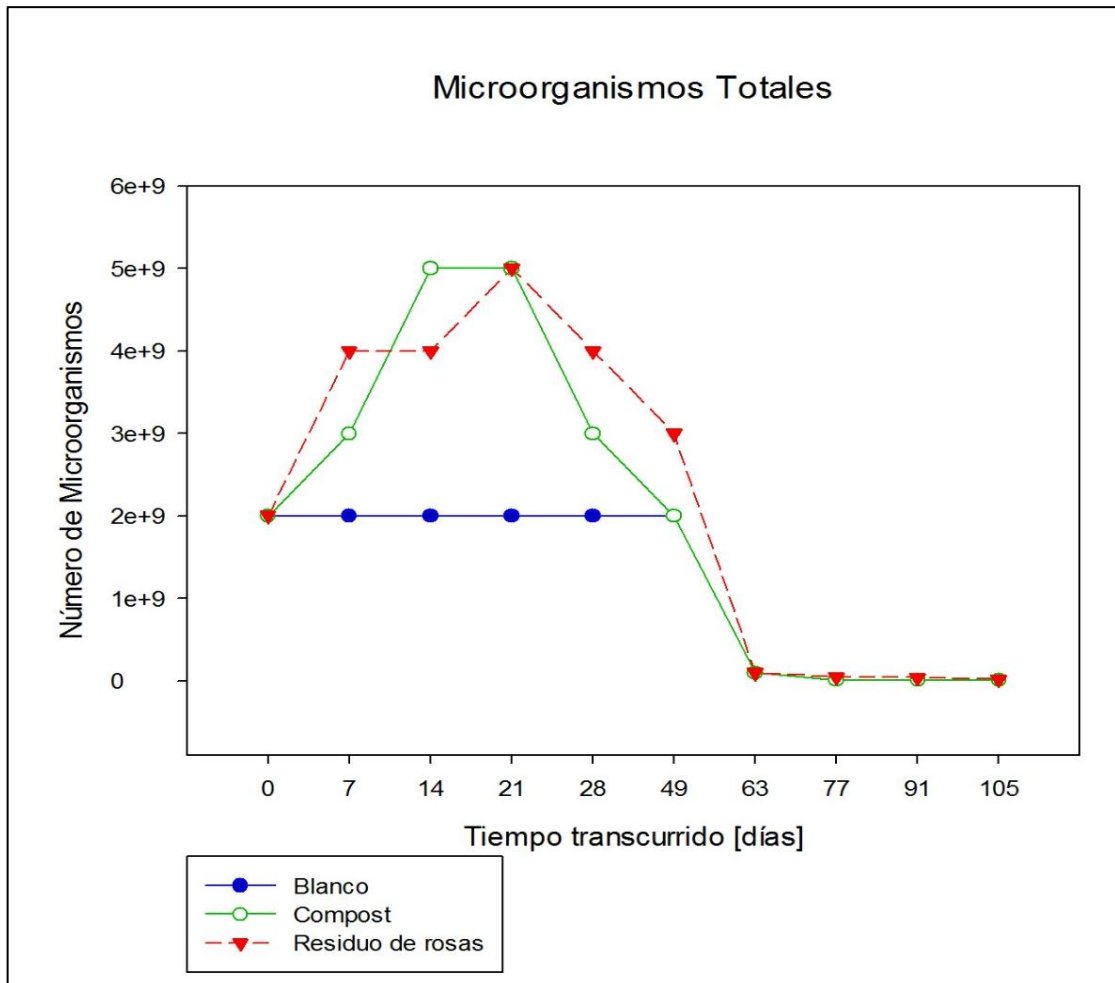


Gráfico 3-24: Números de microorganismos (Aerobios Totales (UFC/g)) en función del tiempo en los diferentes tratamientos.

Realizado por: Shirley L Jara E. 2018

CONCLUSIONES

- El área de estudio se encuentra ubicada en la provincia de Sucumbíos, cantón Lago Agrio, Parroquia Pacayacu al norte del Río Aguarico, situado en el bloque 57 el cual es susceptible a la contaminación ambiental por metales pesados principalmente al recurso suelo debido a la actividad petrolera; tiene una longitud de 21 km de extensión y de ancho 6-6,5 Km que cubre un área de 100Km² aproximadamente (Figura 3-2). Tiene una gran biodiversidad a su alrededor por lo que es fundamental darles un tratamiento a los suelos contaminados.
- El análisis inicial del suelo se lo realizo de forma inmediata después de su muestreo para conocer las condiciones en las que se encontraba y por ende determinar la carga contaminante de metales pesados presentes en el mismo, los análisis realizados fueron fundamentales para la relación C/N/P que de acuerdo a lo obtenido se tuvo que añadir fertilizantes como la Urea y MKP de tal manera que se logró un relación de 100/10/1.El suelo contaba con 618,93mg/Kg de Fósforo, 38,74 mg/Kg de Níquel 4,36 mg/Kg de Cobre, 162,12 mg/Kg de Zinc, 4,80 mg/Kg de Plomo y 1,11 mg/Kg de Cadmio. Teniendo el 17,08% de materia orgánica y 4000000 UFC/g de aerobios totales.
- La adición de enmiendas orgánicas como el compost y residuo de rosas permitieron que la concentración de metales pesados presentes en el suelo disminuya de una forma significativa para los metales de cobre y zinc, mientras que para los metales cadmio, níquel y plomo la disminución no fue significativa se pudo evidenciar que la concentración de los tratamientos con el compost y residuo tuvieron valores menores a los del blanco. Por otro lado, el número de microorganismo aportó de manera esencial en la disminución de la concentración de los metales gracias a la bioinmovilización de los mismos por el compost permitiendo que el suelo retome características aptas como para el uso agrícola e industrial.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda aplicar las enmiendas orgánicas para tratamiento de suelos contaminados por hidrocarburos.
- Triturar las enmiendas orgánicas antes de aplicar al suelo para tener una mejor homogenización en los tratamientos.
- Se recomienda utilizar el compost y el residuo en peso seco.

BIBLIOGRAFÍA

Alvaro, D. Normas y valores de metales pesados en los alimentos en varios países e instituciones. *Catice de Valencia Secretaría de Estado de Comercio.*, 2014. p. 145.

Alloway, B. Soil pollution and land contamination.. *The Royal Society of Chemistry*, 2001,pp. 352-376.

Almeida, A. TOXITUR:Recorrido por el campo Libertador en la provincia de Sucumbíos en Ecuador. Disponible en :

<http://www.oilwatchesudamerica.org/petroleo-en-sudamerica/ecuador/632-toxitour-recorrido-por-el-campo-libertador-en-la-provincia-de-sucumbios-en-ecuador.html>

Arroyo, E. Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos. *Geocisa. División de Protección ambiental de suelos.* 2002,

Azqueta, D. El costo ecológico de la extracción de petróleo: una simulación. *Revista de la Cepal*, Abril, Issue 94, 2008. pp. 60-61.

Baby, P. Style and timing of deformation in the Oriente Basin of Ecuador. *4nd International Symposium on Andean Geodynamics (ISAG99)* , 1999. pp. 68-72.

Baird, C. *Environmental Chemistry.* 2 ed. s.l.:W.H. Freeman & Company. 1999.

Becerril, J. Especies nativas de suelos contaminados por metales: aspectos ecofisiológicos y su uso en fitorremediación. *Revista Ecosistemas*, 16(2), 2017. pp. 80-84.

Billiard S. Nonadditive effects of PAHs on early vertebrate development: mechanisms and implications for risk assessment. *Toxicol Sci*, 1(105), 2008. pp. 5-23.

Bispo A. Toxicity and genotoxicity of industrial soils polluted by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Organic Geochemistry*, 8(30), 1999. p. 947–952.

Blaz S. Nitrous oxide reductase (nosZ) gene fragments differ between native and cultivated Michigan soils. *Applied and Environmental Microbiology*, Volumen 70, 2004. pp. 301-309.

Bollag, J. Bioremediation through rhizosphere technology. *American Chemical Society.*, 1994. pp. 2-10.

Bollag, J.eat. Soil contamination and the feasibility of biological remediation. *Bioremediation: Science and applications*, Issue 43, 1995. pp. 1-12.

Bongkeun S,eat. Isolation and characterization of diverse halobenzoate - degrading denitrifying bacteria from soils and sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 8(66), 2000. pp. 3446-3453.

Botello, A. Características composición y propiedades fisicoquímicas del petróleo. Golfo de México. *Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias*, 1(1), 2005. pp. 261-268.

Braddock, J.eat. Enhancement and inhibition of microbial activity in hydrocarbon-contaminated arctic soils: implications for nutrient-amended bioremediation. *Environment Science Technology* , Issue 31, 1997,pp. 2078-2084.

Bremner, J.eat. Nitrogen total, (eds). *Methods of Soil Analysis. Part II. Am. Soc. Agron. No 9 in Agronomy Series*, 1982. p. 595–624.

Caballero, J, eat. Actividades enzimáticas en suelos de agroecosistemas cafeteros (Ecológicos y convencionales) en Anolaima, Cundinamarca. 2015. 13-15.

Cañizares, R, eat. Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología-Mexico*, 42(3), 2000. pp. 131-143.

Castejón, M. Diagnóstico y estudio de soluciones de la captación y tratamiento de escorrentías pluviales en la Universidad de Lund (Suecia). 2017

CCMA-CSIC. *Ciencia y Medio Ambiente*. 2002. s.l.:s.n.

Chamorro, F. Influencia Del Calentamiento De Dos Tipos De Suelo En Quemadas Experimentales Realizadas En Laboratorio Simulando Incendios Forestales, Sobre Grupos Bacterianos Edáficos. *Tesis de Licenciatura.*, 2017. pp. 6-10.

Chilon, E. El Compost altoandino como sustento de la Fertilidad del suelo frente al cambio climático. *Journal de ciencia y tecnologia agraria*, Volumen 2, 2015. p. 456.

Colombo, L, eat. Soil profile distribution of heavy metals in soil atended with sewage sludge for eight years. *Agr. Med. Inter. J. of Agric. Sci.*, Issue 128, 1998. pp. 273-283.

Cuevas, G. Metales pesados en maíz (*Zea mays* L.) cultivado en un suelo enmendado con diferentes dosis de compost de lodo residual. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 20(2), 2004. pp. 59-68.

Días, N, eat. Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: An Overview. *Biotechnolo Reserch Internal* , Volumen 2011, 2011. p. 13.

Donagh, M, eat. Field evaluations of marine oil spill biorremediation. *Microbiological review*, june, 60(2), 1996. pp. 342-365.

Dryidale, G. *Denitrification bacteria during activated sludge treatment*. 1999.s.l.:Water S.A.

El Universo. Derrames de crudo,problema recurrente en el norte del país. *Derrames de crudo,problema recurrente en el norte del país*, 14 Abril. 2013.

Elis, R. El impacto de China en Ecuador y América Latina. *Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano*, 2008. pp. 20-25.

Eve, R. Remediation of petroleum contaminated soils:Biological,physical and chemmical processes. 1998.

Eweis, J. *Bioremediation principles*. 1998. s.l.:McGraw-Hill International Edition.

Finn, J. Phytoremediation of hydrocarbon-contaminated soil. *Technology design/evaluation. Performance and potential application*, 2000. pp. 125-134.

Flamfer, F. Production of biosurfactant by hydrocarbon degrading Rhodococcus ruber and Rhodococcus erythropolis. *Revista de Microbiología*, 3(30), 1990.

Flores, M ,eat.Estudio comparativo para la elaboración de compost por técnica manual. *Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalurgica y Geográfica*. 9(17), 2006. pp. 3-7.

Fontaine, G. *Petróleo y desarrollo sostenible en Ecuador*. 1ra ed. Quito(Pichincha): FLACSO. 2004.

Gajda, A, eat. *Microbial Biomass C and N and Activity of Enzymes in Soil under Winter Wheat Grown in Different Crop Management Systems.* 14 ed. s.l.:Polish Journal of Environmental Studies. 2005.

Gélvez, R, eat. *Análisis Ambiental del Ciclo de Vida de las Baterías Plomo-Ácido.* 2016. p. 35.

Geotecnia, *Determinación contenido de humedad.*2015.

Disponible:

http://icc.ucv.cl/geotecnia/03_docencia/02_laboratorio/manual_laboratorio/humedad.pdf

Gil, F, eat. *Different approaches to evaluating soil quality sing biochemical properties.* 5 ed. s.l.:Soil Biology and Biochemistry. 2005.

González, M. Recuperación de suelos contaminados con metales pesados utilizando plantas y microorganismos rizosféricos. *Terra Latinoamericana*, 23(1), 2016. pp. 29-37.

Huertos, E,eat. Contaminación de suelos por metales pesados. *Revista de la Sociedad Española de Mineralogía*, Issue 10, 2008. pp. 48-60.

Idrovo, J. Composting as a method to recycle renewable plant resources back to the ornamental plant industry: Agronomic and economic assessment of composts. 2018. *Process Safety and Environmental Protection*, Volumen 116, pp. 388-395..

Ivia, A. Factores que influyen en la salinidad del suelo. *Instituto Valenciano de investigaciones agrarias.* 2014.

Jones, K. Organic chemicals in contaminated land: analysis, significance and research priorities. *Land Contamination and Reclamation* , Issue 3, 1996, pp. 189-197.

LABTE, *Universidad Rey Juan Carlos*. 2016.

Laich, F. El papel de los microorganismos en el proceso de compostaje. Jornada Técnica: Fertilidad y Calidad del Suelo. Experiencias de fertilización orgánica en platanera. *Instituto Canario de Investigaciones Agrarias. ICIA*, Volumen 21, 2011, pp. 1-6.

Lee, H. Attenuation of Petroleum Hydrocarbons in Smear Zones: A Case Study. 2001. *Journal of Environmental Engineering*, 7(127), pp. 639-647.

Lee, S, eat. Effect of vaious amendments on heavy mineral oil bioremediation and soil microbial activity. *Bioresource technology*, 99(7), 2008. pp. 2578-2587.

Loveland, P, eat. Is there a critical level of organic matter in the agricultural soils of temperate regions: a review. *Soil Tillage Res*, Volumen 70, 2003. pp. 1–18.

Maroto, A. Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos. *Geocisa. División de protección ambiental de suelos.*, 2006. pp. 34-36.

Moreno, A. Biodegradation and Biorremedation. 1994. pp. 5-9.

Martínez, A, eat. El papel de los tapetes microbianos en la biorrecuperación de zonas litorales sometidas a la contaminación por vertidos de petróleo. *Revista Ecosistemas*, 14(2), 2005. pp. 81-84.

Mesa, J, eat. Bioremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. *Nova*, 4(5), 2006. pp. 82-90.

Mite, F. *Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Estación Experimental Tropical Pichilingue*. 2010.

Disponible:

fmitev@gye.satnet.net

Mite, F, eat. Avances del monitoreo de presencia de cadmio en almendras de Cacao, suelos y aguas en Ecuador. *En XII Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo.*, 2010. pp. 4-16.

Morris, B. Microbial syntrophy: interactions for the common good. *FEMS Microbiology Reviews*, Issue 37, 2013. pp. 384 - 406.

Mulligan, C, eat. Natural attenuation of contaminated soils. *Environment International*. Issue 30, 2004. pp. 587-601.

Mulligan, C. *An overview of in situ bioremediation processes*, Montreal: s.n. 2001.

Mulligan, C, eat. Bioleaching of copper and other metals from low-grade oxidized mining ores by *Aspergillus niger*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, Issue 78, 2003. pp. 497-503.

Mulligan, C. Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: an evaluation. *Engineering Geology*, Issue 60, 2001. pp. 193-207.

Navarro, R. Manual para hacer composta aeróbica. CESTA. *Amigos de la Tierra El Salvador*. 2003. pp. 2-5.

Negro, M, eat. Producción y gestión del compost.. 2009. pp. 1-13.

Ñustez, D. *Biorremediación para la degradación de hidrocarburos totales resentes en los sedimentos de una estación de servicio de combustible*. 2012. s.l.:s.n.

Olmedo, F. *Biodisol.com*, 2010.

Disponible:

<http://www.biodisol.com/contaminacion-ambiental/derrame-de-petroleo-catastrofe-ecologica-efecto-sobre-los-seres-vivos-y-el-ecosistema-medio-ambiente-contaminacion-ambiental/>

Ortega, R. El Universo, 2014

Disponible:

<https://www.eluniverso.com/opinion/2014/06/16/nota/3109356/refineria-libertad>

Ortega, R. El Universo, 2016

Disponible:

<https://www.eluniverso.com/opinion/2016/01/04/nota/5325361/refineria-estatal-esmeraldas>

Ortiz, I, eat. *Técnicas de recuperación de suelos contaminados*, 2007. s.l.: s.n.

Pinos, A. Biorremediación de suelos y sedimentos contaminados por el derrame de la línea de flujo del pozo shushuqui 13 mediante la técnica de lanfarming,campo Libertador,Sucumbios-E. 2010.

Disponible:

<http://www.oilwatchesudamerica.org/petroleo-en-sudamerica/ecuador/632-toxitour-recorrido-por-el-campo-libertador-en-la-provincia-de-sucumbios-en-ecuador.html>

Plaza, G, eat. Biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos. *Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente*, Issue 5, 2001. pp. 163-167.

Pons, M. Extracción de hidrocarburos y compuestos derivados del petróleo en suelos con características físicas y químicas diferentes. *Universidad y ciencia*, 27(1), 2011. pp. 1-15.

Prieto, J. Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 1(10), 2009. pp. 29-32.

Restrepo, R. Derrame de hidrocarburos. Impacto en los ecosistemas tropicales. *ECOPETROL* . 2001.

Rich J, Community composition and functioning of denitrifying bacteria from adjacent meadow and forest soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 10(69), 2000. pp. 5974 - 5982.

Rivera, D. *Monografias.com.S.A.*, 2014.

Disponible:

<https://www.monografias.com/trabajos102/petroleo.../petroleo-ecuatoriano.shtm>

Rojas, A. Evaluación de compost con presencia de metales pesados en el crecimiento de *Azospirillum brasilense* y *Glomus intraradices*. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(8), 2016. pp. 2047-2054.

Román, P. Manual de compostaje del agricultor. *Experiencias en América Latina.*, 2013. pp. 345-350.

Rosal, A. Incidencia de metales pesados en compost de residuos sólidos urbanos y en su uso agronómico en España. *Información tecnológica*, 18(6), 2007. pp. 75-82.

Rosales, E. El Universo, 2014.

<https://www.eluniverso.com/opinion/2014/05/26/nota/3015966/complejo-industrial-shushufindi>

Ruiz, W. *Ambiente Económico*, 2016.

Disponible:

<http://ambitoeconomico.blogspot.com/2013/06/la-produccion-petrolera-en-el-ecuador.html>

Salleh, A. Bioremediation of petroleum hydrocarbon pollution. *Indian Journal of Biotechnology*, Issue 2, 2003. pp. 411 - 425.

Santos, E, eat. Assesment of daily intake of trace elements due to consumption of foodstuffs by adult inhabitants of Rio de Janeiro city. *Scienceof the Total Environment*, 2012. pp. 327-349.

Santos, O. Contaminación con metales pesados alrededor de la Empresa de Cerámica Blanca “Adalberto Vidal”, San José de las Lajas. Percepción del riesgo. *Revista de Gestión del Conocimiento y el Desarrollo Local*, 2(1), 2015. pp. 62-67.

Semple, K. Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. *Environ. Pollution*, Volumen 112, 2001. pp. 269-283.

Sermarnat, L. *Aumentó la descarga de contaminantes por PEMEX.* 2004.
Disponible:

<http://www.gob.mx/semarnat>

Siva, S. Bioremediation of soils contaminated with organic compounds. 2004.

Torres, E. Espectrometría de emisión atómica. En: *Análisis Instrumental Avanzado.* 2016. s.l.:s.n., pp. 21-30.

Ulla, B, eat. Method for spiking soil samples with organic compounds. *Applied and Environmental Microbiology*, 4(68), 2002. pp. 1808-1816.

Universo, E. Derrames de crudo, problema recurrente en el norte del país. 14 ABRIL, 2013. pp. 2-4.

Vanhamme J, et. Recent advances in petroleum Microbiology. *Microbiol Mol Biol Rev*, 4(67), 2000. pp. 503-549.

Vázquez, M. Acidez del suelo. *Tecnologías en análisis de suelos*, 2005. pp. 69-88.

Venezolana, E., *Geología Venezolana*. 2017.

Disponible:

<http://geologiavenezolana.blogspot.com/2017/05/metodos-de-extraccion-del-petroleo.html>

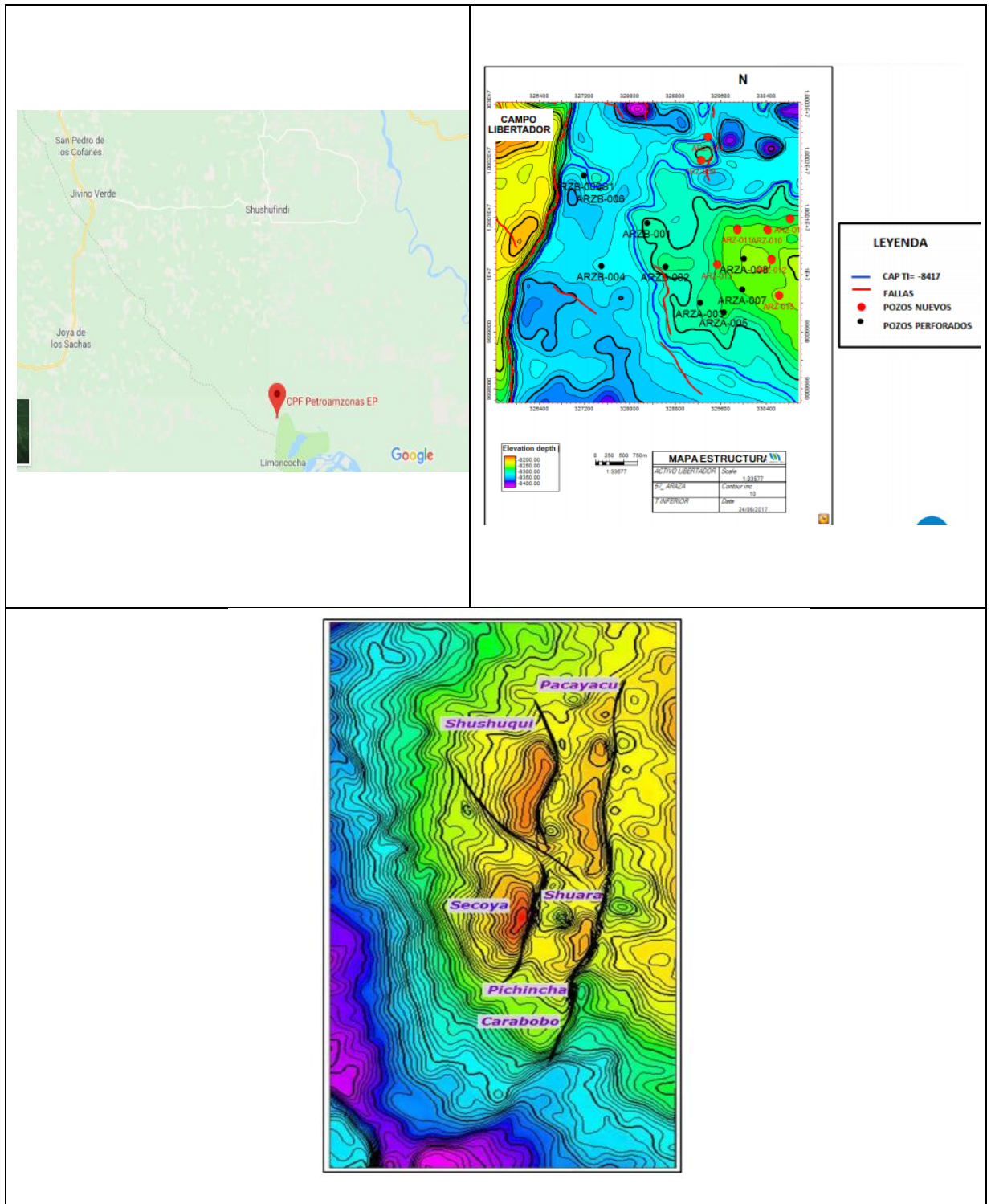
Vullo, D. Microorganismos y metales pesados: una interacción en beneficio del medio ambiente. *Química Viva*, 2(3), 2003 pp. 93-104.

Wilson, D. *Technical bulletin of sparging y biosparging*,. Washington DC: s.n. 2000.

Yakimov, M. Obligate oil-degrading marine bacteria. *Current opinion of biotechnology*, 3(18), 2007. pp. 257-266.

ANEXOS

Anexo A. Área de Estudio



Anexo B. Implementación del diseño experimental



Anexo C. Etapas de la Investigación



1. Normativa

AM 097

ANEXO 2 DEL LIBRO VI DEL TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACION SECUNDARIA DEL MINISTERIO DEL AMBIENTE: NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL DEL RECURSO SUELO Y CRITERIOS DE REMEDIACIÓN PARA SUELOS CONTAMINADOS

TABLA 1.- CRITERIOS DE CALIDAD DEL SUELO

Parámetro	Unidades*	Valor
Parámetros Generales		
Conductividad	uS/cm	200
pH		6 a 8
Relación de adsorción de Sodio (Índice SAR)		4*
Parámetros inorgánicos		
Arsénico	mg/kg	12
Azufre (elemental)	mg/kg	250
Bario	mg/kg	200
Boro (soluble en agua caliente)	mg/kg	1
Cadmio	mg/kg	0.5
Cobalto	mg/kg	10
Cobre	mg/kg	25
Cromo Total	mg/kg	54
Cromo VI	mg/kg	0.4
Cianuro	mg/kg	0.9
Estaño	mg/kg	5
Fluoruros	mg/kg	200
Mercurio	mg/kg	0.1
Molibdeno	mg/kg	5
Níquel	mg/kg	19
Plomo	mg/kg	19
Selenio	mg/kg	1
Vanadio	mg/kg	76
Zinc	mg/kg	60
Parámetros orgánicos		
Benceno	mg/kg	0.03
Clorobenceno	mg/kg	0.1
Etilbenceno	mg/kg	0.1
Estireno	mg/kg	0.1
Tolueno	mg/kg	0.1
Xileno	mg/kg	0.1
PCBs	mg/kg	0.1
Clorinados Alifáticos (cada tipo)	mg/kg	0.1
Clorobencenos (cada tipo)	mg/kg	0.05
Hexaclorobenceno	mg/kg	0.05
Hexaclorociclohexano	mg/kg	0.01
Fenólicos no clorinados (cada tipo)	mg/kg	0.1
Clorofenoles (cada tipo)	mg/kg	0.05
Hidrocarburos totales (TPH)	mg/kg	<150
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) cada tipo	mg/kg	0.1

*Concentración en peso seco de suelo


TABLA 2: CRITERIOS DE REMEDIACIÓN
(VALORES MÁXIMOS PERMISIBLES)

Parámetro	Unidades*	USO DEL SUELO			
		Residencial	Comercial	Industrial	Agrícola
Parámetros Generales					
Conductividad	uS/cm	200	400	400	200
pH	-	6 a 8	6 a 8	6 a 8	6 a 8
Relación de adsorción de Sodio (Índice SAR)	-	5	12	12	5
Parámetros inorgánicos					
Arsénico	mg/kg	12	12	12	12
Sulfuro	mg/kg	-	-	-	500
Bario	mg/kg	500	2000	2000	750
Boro (soluble en agua caliente)	mg/kg	-	-	-	2
Cadmio	mg/kg	4	10	10	2
Cobalto	mg/kg	50	300	300	40
Cobre	mg/kg	63	91	91	63
Cromo Total	mg/kg	64	87	87	65
Cromo VI	mg/kg	0.4	1.4	1.4	0.4
Cianuro	mg/kg	0.9	8	8	0.9
Estaño	mg/kg	50	300	300	5
Fluoruros	mg/kg	400	2000	2000	200
Mercurio	mg/kg	1	10	10	0.8
Molibdeno	mg/kg	5	40	40	5
Níquel	mg/kg	100	100	50	50
Plomo	mg/kg	140	150	150	60
Selenio	mg/kg	5	10	10	2
Talio	mg/kg	1	1	1	1
Vanadio	mg/kg	130	130	130	130
Zinc	mg/kg	200	380	360	200
Parámetros orgánicos					
Aceites y grasas	mg/kg	500	<2500	<4000	<4000
Benceno	mg/kg	0.08	5	5	0.03
Etilbenceno	mg/kg	0.1	20	20	0.1
Estireno	mg/kg	5	50	50	0.1
Tolueno	mg/kg	0.37	0.8	0.8	0.08



ANEXO 2 DEL LIBRO VI DEL TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACION SECUNDARIA DEL MINISTERIO DEL AMBIENTE: NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL DEL RECURSO SUELO Y CRITERIOS DE REMEDIACIÓN PARA SUELOS CONTAMINADOS

Xileno	mg/kg	2.4	11	20	0.1
PCBs	mg/kg	1.3	33	33	0.5
Clorofenoles (cada tipo)	mg/kg	0.5	5	5	0.05
Fenoles (total)	mg/kg	3.8	3.8	5	3.8
Clorinados alifáticos (cada tipo)	mg/kg	5	50	50	0.1
Hidrocarburos totales (TPH)	mg/kg	230	620	620	150
Clorobencenos (cada tipo)	mg/kg	2	10	10	0.05
Tetracloroetilenos	mg/kg	0.2	0.5	0.6	0.1
Tricloroetileno	mg/kg	3	30	30	0.1
Atrazina	mg/kg	0.005	0.005	0.005	0.005
Carbofuran	mg/kg	0.01	0.01	0.01	0.01
Alifáticos no clorinados (cada tipo)	mg/kg	-	-	-	0.3
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs)					
Antraceno	mg/kg	-	-	100	0.1
Benzo(a)antraceno	mg/kg	1	1	10	0.1
Benzo(a)pireno	mg/kg	0.7	10	0.7	0.1
Benzo(b)fluoranteno	mg/kg	1	0.7	10	0.1
Benzo(k)fluoranteno	mg/kg	1	10	10	0.1
Dibenzo(a,h)antraceno	mg/kg	1	10	10	0.1
Indeno(1,2,3-cd)pireno	mg/kg	1	10	10	0.1
Fluoranteno;	mg/kg	-	10	100	0.1
Naftaleno;	mg/kg	0.6	-	22	0.1
Pireno;	mg/kg	10	22	100	0.1
Criseno;	mg/kg	-	-	100	0.1
Fenantreno;	mg/kg	5	50	50	0.1
Pesticidas organoclorados					
Alfa BCH	mg/Kg	0.01	0.01	0.01	0.01
Beta BCH	mg/Kg	0.01	0.01	0.01	0.01
*Gamma BCH	mg/Kg	0.01	0.01	0.01	0.01
Delta BCH	mg/Kg	0.01	0.01	0.01	NA
Heptacloro	mg/Kg	0.01	0.01	0.01	0.01
Aldrin	mg/Kg	0.1	0.1	0.1	0.1
Heptacloro epoxido isomero B	mg/Kg	0.1	0.01	1	0.01

VP 

ANEXO 2 DEL LIBRO VI DEL TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACION SECUNDARIA DEL MINISTERIO DEL AMBIENTE: NORMA DE CALIDAD AMBIENTAL DEL RECURSO SUELO Y CRITERIOS DE REMEDIACIÓN PARA SUELOS CONTAMINADOS

Endosulfan I	mg/Kg	0.1	0.1	0.1	0.1
4,4 DDE	mg/Kg	0.1	0.1	0.1	0.1
4,4 DDD	mg/Kg	0.1	0.1	0.1	0.1
4,4 DDT	mg/Kg	0.1	0.1	0.1	0.1
Dieldrin	mg/Kg	0.1	0.1	0.1	0.1
Endrin	mg/Kg	0.01	0.01	0.01	0.01
Endosulfan II	mg/Kg	0.1	0.1	0.1	0.1
Endrin aldehído	mg/Kg	0.01	0.01	0.01	0.01
Endosulfan sulfato	mg/Kg	0.1	0.1	0.1	0.1

*Concentración en peso seco de suelo

RAOHE 12-15

Tabla 6: Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicios.

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

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

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

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

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

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

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

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

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