

Estudio De Dos Tratamientos A Escala Piloto Para La Biodegradación De Suelos Contaminados Por Hidrocarburos Por El Método De Landfarming

Cabrera M.*; Montenegro L.**

*Escuela Politécnica Nacional, Facultad de Ingeniería Química
Quito, Ecuador (Tel: 593-2-2507-144; e-mail: marcelofabian_cabrerajara@yahoo.com)

**Escuela Politécnica Nacional, Facultad de Ingeniería Química
Quito, Ecuador (Tel: 593-2-2507-144; e-mail: lucia.montenegro@epn.edu.ec)

Resumen: Los derrames de petróleo en el Ecuador han ocurrido desde el momento de su extracción, a partir de los años 30. A lo largo del tiempo se han dado varios incidentes con la exploración, explotación, transporte y manejo del petróleo y sus derivados; en el 2004 se reportó el mayor número de derrames, 178 en total. Dada esta problemática ambiental se ha desarrollado el presente proyecto, en Incinerox (planta Shushufindi), a fin de analizar dos procedimientos a escala piloto para la biodegradación en suelos contaminados por hidrocarburos mediante el método de landfarming. Para esto se dispuso de un terreno de 200 m² dividido en dos partes donde se construyó dos cubetos de aproximadamente 20,0 m de largo, 2,5 m de ancho y 0,5 m de profundidad; a cada cubeto se le denominó hilera A y B. En estas hileras se desarrollaron los dos procedimientos: uno con el uso de bacterias comerciales (AWT – B350) destinadas para la hilera A, y otro con la estimulación de bacterias nativas para la hilera B. Para el primer caso, se siguieron las instrucciones de uso especificadas en la ficha técnica AWT, mientras que para el segundo caso se añadió: 4,2 % de cascarilla de arroz, 0,8 % de estiércol de ganado y 900 kg de abono orgánico elaborado con cascarilla de arroz y estiércol de ganado en una relación 2:1. La tierra contaminada tuvo una concentración de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) de 16230 ppm y se trató 10,20 y 12,70 toneladas de tierra en las hileras A y B, respectivamente. La biodegradación duró cuatro meses y durante este tiempo se monitorearon parámetros indispensables para la biodegradación, los cuales estuvieron dentro de los valores recomendados por Eweis et al. (1999). El pH del suelo estuvo entre 7,21 y 7,90, la temperatura ambiente entre 22 y 40 °C, la humedad relativa entre 20 y 98 %, la humedad del suelo entre 14,90 y 31,83 %, la concentración de microorganismos presentes en la tierra entre 4,03E+05 y 8,52E+05 ufc/g y la concentración de nutrientes (relación nitrógeno-fósforo-potasio óptima de 30,00:6,03:25,33. Además, se monitorearon las concentraciones de los contaminantes en el suelo, las mismas que cumplieron con la reglamentación que exige el RAOHE para uso industrial. En la hilera A se obtuvieron concentraciones de 3170 ppm de TPH, 0,433 ppm de cadmio, 17,0 ppm de níquel y 6,51 ppm de plomo; mientras que en la hilera B se obtuvieron concentraciones de 3736 ppm de TPH, 0,608 ppm de cadmio, 16,1 ppm de níquel y 11,80 ppm de plomo. Las bacterias que degradaron los hidrocarburos en los suelos contaminados fueron de los siguientes tipos: *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus cereus*. La disposición final que se dio para los suelos tratados fue de base para construcciones que se efectúan en INCINEROX. Por su parte, como consecuencia del proceso, se recolectaron 1325,10 litros de lixiviados de la hilera A con una concentración de TPH de 1,0 mg/L, mientras que para la hilera B se recolectaron 830,03 litros de lixiviados con una concentración de TPH de 0,4 mg/L. Con ello se dispuso que los lixiviados generados sean utilizados como material de construcción dentro de la empresa INCINEROX. El proceso desarrollado en la hilera A tuvo una inversión inicial de \$ 17885,10, mientras que la inversión en la hilera B fue de \$ 20738,31. Para ambos casos, se consideró un precio para el proceso de biodegradación de \$ 1,00 por kg de suelo a tratar para cada uno de los métodos antes mencionados con base en la inversión total generada. Con esto se obtuvo una tasa interna de retorno del 23,51% con una utilidad neta en operaciones de \$ 6448,11 en 5 años en la hilera A; y una tasa interna de retorno del 12,27% con una utilidad neta en operaciones de \$ 5791,42 en 5 años en la hilera B.

Palabras claves: Suelos contaminados, biodegradación por landfarming, hileras, hidrocarburos totales de petróleo, lixiviados, microorganismos, disposición final.

Abstract: Oil spills in Ecuador have occurred since the time of his removal from the 30s. Over time there have been several incidents with the exploration, exploitation, transport and oil or its derivatives handling; in 2004 it was reported the largest number of spills, 178 in total. Given this environmental problems has been developed the present draft, in Incinerox (Shushufindi), in order to analyze two procedures to pilot scale for the biodegradation in soil contaminated by hydrocarbons through the landfarming method. There was a field of 200 m² divided in two parts where it was built two rows of

approximately 20.0 m long, 2.5 m wide and 0.5 m depth; each one was called A row and B row . In these rows it developed the two procedures: one with the use of commercial bacteria (AWT - B350) designed to the A row, and another with the stimulation of native bacteria on the B row. In the first case, we followed the instructions of use specified in the AWT technical sheet, whereas in the second case was added: 4.2 per cent of rice husks, 0.8 % of livestock manure and 900 kg of compost prepared with rice husks and livestock manure in a ratio 2:1. The contaminated land had a initial concentration of total petroleum hydrocarbons (TPH) of 16230 ppm and we treatment 10.20 and 12.70 tons of land on A and B rows, respectively. The biodegradation lasted four months and during this time were monitored parameters essential to biodegradation, which were within the recommended values by Eweis et al. (1999). The land's pH was between 7.21 to 7.90 , the ambient temperature between 22 to 40 °C, the relative humidity between 20 to 98 %, the land's moisture between 14.90 to 31.83 %, the concentration of microorganisms present in the soil between 4.03 and 8.52 E+05 cfu/g and the concentration of nutrients (nitrogen-phosphorus-potassium) optimal 30.00:6.03:25.33. In addition, was evaluated the principal contaminants concentrations of the soil, the same that met the regulations requiring the RAOHE for industrial use. In the A row were obtained at concentrations of 3170 ppm TPH, cadmium 0.433 ppm, nickel 17.0 ppm and lead 6.51 ppm; while on the B row concentrations were obtained from 3736 ppm TPH, cadmium 0.608 ppm, nickel 16.1 ppm and lead 11.80 ppm. The bacteria that demeaned the hydrocarbons in the contaminated soils were of the following types: *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus cereus*. The final arrangement was given to the treated soils was basis for constructions that are carried out in INCINEROX. As a result of the process, we collected 1325.10 liters of leachates from the A row with 1.0 mg/L of TPH, whereas for the B row were collected 830.03 liters of leachates with 0.4 mg/L of TPH. With The leachates generated are used as construction material within the INCINEROX Company. The process developed in the A row to had an initial investment of \$ 17885.10 , while the investment in the B row was \$20738.31 . For both cases, it was considered a price for the biodegradation process of \$ 1.00 per each kilogram of trat soil to each of the above-mentioned methods based on the total investment generated. Was obtained 23.51 % to economic rate of return with a net profit from operations of \$ 6448.11 in 5 years in A row; and 12.27 % economic rate of return with a net profit in operations of \$ 791.42 5 in 5 years in B row.

Key words: Contaminated Soil, biodegradation by landfarming, rows, total petroleum hydrocarbons, leachates, microorganisms, final arrangement

1. INTRODUCCIÓN

En el Ecuador las actividades petroleras son consideradas como acciones de alto riesgo ambiental debido a que existe una contaminación de agua y suelo, por lo que es muy importante adoptar medidas necesarias para su adecuado manejo, así como también se deben desarrollar políticas y programas ambientales encaminados hacia una mejora continua en las operaciones y producción, con el fin de reducir los riesgos de contaminación así como un mejor manejo de residuos.^[25]

Como consecuencia de la problemática ambiental, el sector petrolero debe tomar conciencia de la necesidad de modificar sus procesos con el objetivo de reducir el uso de recursos naturales y disminuir la contaminación de los mismos. Uno de los métodos más utilizados para contrarrestar la contaminación ambiental, especialmente en suelos, es el biológico, debido a que constituye una de las técnicas más eficaces y económicas. Los contaminantes provenientes del petróleo son degradados fácilmente por la acción de microorganismos en condiciones adecuadas de oxígeno, nutrientes, temperatura, humedad y pH.^[23]

Debido a esta problemática y dada la creciente demanda para el tratamiento de suelos contaminados con petróleo, INCINEROX CIA LTDA, empresa ecuatoriana especializada en la gestión integral y tratamiento de desechos industriales, ha tomado la iniciativa de incursionar en el campo de remediación de suelos al utilizar microorganismos para el tratamiento de tierras contaminadas con petróleo y sus derivados. La empresa incinera los suelos contaminados por derrames de petróleo desde el 2001, pero debido a los altos costos de operación se ha propuesto realizar investigaciones sobre la factibilidad de implementar el proceso de biodegradación por el método de landfarming y las mejores condiciones de biodegradación de los hidrocarburos, con el fin de obtener suelos que se encuentren dentro de la normativa ambiental vigente y que sean aplicables para futuros procesos, para lo cual se desea implementar una planta piloto para el proceso de biodegradación con el uso de bacterias nativas y bacterias comerciales con nativas.

El presente proyecto pretende evaluar las condiciones para que en un futuro se pueda biodegradar una piscina de 1800 m³ ubicada en las instalaciones de INCINEROX de la ciudad de Shushufindi, la cual fue llenada durante los meses de septiembre, octubre y noviembre del 2010 con

lodos contaminados provenientes de diferentes pozos petroleros del Oriente Ecuatoriano, con las características detalladas en la Tabla 1.^[13]

Tabla 1. Características de los lodos contaminados con petróleo provenientes de diferentes campos con su respectivo análisis de TPH y metales pesados

Pozo	TPH (mg/kg)	Cadmio (mg/kg)	Níquel (mg/kg)	Plomo (mg/kg)
Yuca	534400	< 0,100	9,11	0,79
Cononaco	293600	0,100	19,10	68,90
Victoria	232000	0,227	86,70	77,90
Secoya I	684800	< 0,100	7,42	< 0,50
Cuyabeno	266400	0,207	20,80	55,10
Cuyabeno VHR	287 200	0,195	47,90	301,00

Estos datos corresponden a los suelos contaminados que llegaron a la empresa Incinerox; sin embargo, durante varios años en todo el país se han suscitado derrames en el oriente ecuatoriano, que es donde se produce la mayor cantidad de incidentes, como por ejemplo el derrame en el 2008 en los límites de la Reserva Nacional Yasuní^[12] o en el 2010 en el Bloque 21, cerca a la ciudad del Tena^[18]. Además existe contaminación por petróleo en diversas partes del país como Esmeraldas, Ambato, Papallacta, Reventador, Quito, etc., especialmente por donde circula el crudo, es decir, por el Oleoducto de Crudos Pesados (OCP) y el Sistema de Oleoducto Transecuatoriano (SOTE).^[12]

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materiales

Para la adecuación del terreno se utilizaron bacterias comerciales AWT – B350, cascarilla de arroz, estiércol de ganado, abono elaborado con cascarilla de arroz y estiércol, geomembrana para impermeabilización.

Todos los reactivos químicos utilizados fueron de grado analítico y el medio de crecimiento microbiano (Trypticase Soy Agar) con los equipos empleados fueron esterilizados a 121°C y 20,0 psig durante 20 minutos en un autoclave.

Para los análisis físicos como tamaño de partícula, se necesitó una balanza digital, estufa, agitador mecánico y juego de tamices de diferentes tamaños de aberturas; mientras que para la densidad de partícula se utilizó una balanza analítica y una bomba de vacío. Para los análisis químicos como pH se necesitó un medidor de pH junto con soluciones Buffer.

Para el control de la biodegradación, en el contenido de aceites y grasas se utilizó un sistema de extracción Soxhlet, marca P-Selecta, mientras que para el perfil de TPH por cromatografía de gases se utilizó un cromatógrafo de gases, marca Varian Modelo 3 700, con columna empacada y con un detector de ionización de llama.

2.2. Métodos

2.2.1. Diseño de las hileras

En las bodegas de Incinerox, localizadas en el cantón Shushufindi, se dispuso de un terreno de 20 m de largo y 5 m de ancho, el cual fue dividido en dos partes aproximadamente iguales, cada una con 20,0 m de largo y 2,5 m de ancho, a las que se las denominó hilera A y B. La forma de las hileras es como se muestra en la fig. 1:

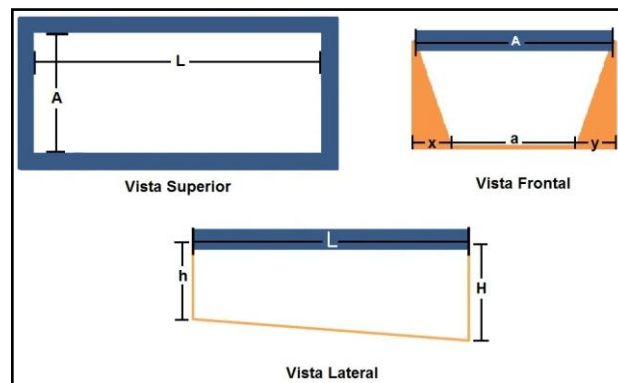


Figura 1. Diseño de las hileras para la biodegradación por el método de landfarming

La cantidad de tierra contaminada, que se obtuvo del análisis de densidad de partícula en la tierra con el volumen de cada una de las hileras, se colocó en ellas sin permitir que la altura de la misma sobrepasara los 50 cm con el objeto de mejorar su aireación al momento de la agitación.^[24, p.74] En la hilera A se llevó a cabo la biodegradación al emplear bacterias nativas y comerciales, mientras que en la hilera B únicamente se emplearon bacterias nativas.

2.2.2. Técnica de muestreo

El muestreo empleado se realizó sobre la base de la ficha técnica de Buduba.^[5] El fundamento de esta técnica se aplicó para realizar tres distintos conjuntos de análisis a diferentes etapas del proceso:

Antes de colocar la tierra en las hileras se analizó el tamaño de partícula, densidad relativa, nutrientes en la tierra y abono. Se tomó aleatoriamente ocho muestras de aproximadamente 0,5 kg cada una, se homogenizó y cuarteó según lo indicado en el Manual on test sieving methods.^[16] Con estas muestras también se analizó la concentración inicial de: aceites y grasas, metales pesados, TPH por infrarrojo y caracterización por cromatografía de gases.

Una vez colocada la tierra en las hileras se marcó aleatoriamente 4 puntos de muestreo en las mismas en forma de zigzag, para abarcar toda la hilera. En cada punto de muestreo se tomó aproximadamente 2 kg de tierra y para cada hoyo se homogenizó la muestra tomada y se cuarteó para obtener una muestra final a la que se realizaron análisis de humedad, pH, cuantificación de microorganismos. Para el resto de análisis de la

concentración de aceites y grasas, concentración de TPH por infrarrojo, metales pesados y cromatografía de gases, se tomó una muestra de tierra de aproximadamente 0,5 kg de cada hoyo y se homogenizó para obtener una muestra por cada hilera.

2.2.3. *Análisis físicos, químicos y microbiológicos*

El análisis de tamaño de partícula se basó en la norma ASTM D 2488 – 75, mientras que el análisis de densidad relativa se basó en la norma ASTM C 127 y el análisis de humedad en el suelo, como parte del control del proceso, estuvo basado en la norma EPA 160,3.

El análisis del pH del suelo estuvo basado en la norma ASTM D 2976-71. Los análisis de nutrientes como nitrógeno, fósforo y potasio en el suelo, se enviaron muestras al Laboratorio CICAM de la EPN.

Para identificar y cuantificar los microorganismos aerobios presentes en la tierra contaminada se envió una muestra al Laboratorio DISerLAB, de la PUCE, el cual se basó en el método de aislamiento en medios selectivos para la identificación de género y especie por pruebas bioquímicas.

2.2.4. *Elaboración de abono natural*

El abono natural empleado en la hilera B fue elaborado con cascarilla de arroz y estiércol de ganado en una proporción de 2:1.^[2] Para la elaboración de este abono se colocó una geomembrana sobre una superficie plana para evitar que el suelo nativo absorbiera los nutrientes del abono; allí se colocó la cascarilla de arroz en forma de montículo. Posteriormente, se añadió el estiércol de ganado sobre la cascarilla de arroz, se añadió agua de manera paulatina y mezcló todo el material para una mejor distribución del estiércol. Una vez elaborado el abono se lo mantuvo tapado con un plástico transparente durante 2 meses para evitar que el agua de lluvia arrastre los nutrientes y las bacterias presentes. El ingreso de aire al abono se realizó a través de 5 mangueras de PVC ubicadas en varios puntos de tal manera que conecte el centro del montículo con el medio exterior, con esto se garantizó que el proceso de degradación sea aerobio.^[2]

Durante el proceso de formación del abono se lo removió constantemente para mejorar la aireación y se adicionó agua para mantenerlo húmedo. Una vez transcurridos los 2 meses, se tomó una muestra de dicho abono y se envió al CICAM, donde se identificó el nitrógeno total. A fin de determinar la cantidad de abono que debería haber sido añadida a la hilera B para obtener la relación de NPK de 30:10:10 se realizó un balance de masa de dichos nutrientes. Para este balance se emplearon los resultados de los nutrientes de la tierra, cascarilla de arroz y abono obtenidos. Para estimar la cantidad de abono a añadir a la tierra se empleó el método de prueba y error.

2.2.5. *Análisis de la biodegradación*

El abono elaborado fue utilizado para mejorar las condiciones al suelo contaminado proveyendo de los nutrientes necesarios, además, Montenegro recomienda que para mejorar la permeabilidad del suelo a tratar fue necesaria la adición de 4,2% en peso de cascarilla de arroz y 0,8 % en peso de estiércol de ganado.^[17, p.74]

Durante todo el proceso que duró la biodegradación se removió la tierra 2 veces por semana para mejorar la aireación así como también se controló el ingreso de agua de lluvia, con esto se pudo ahorrar en el consumo de agua potable. Cada semana se recolectó lixiviado proveniente de la acumulación de agua y se lo colocó en tanques de plástico para su posterior análisis y disposición final. Para el análisis de la biodegradación en cada una de las hileras se siguieron los siguientes procedimientos:

Temperatura ambiente y humedad relativa

Con el fin de registrar las condiciones meteorológicas del ambiente en el cual se desarrollaron las bacterias encargadas de biodegradar el suelo contaminado, se midió la temperatura y la humedad relativa con un termohidrómetro. Las medidas de temperatura ambiente y de humedad relativa fueron tomadas cada hora, desde las 07:00 hasta las 18:00.

Siembra a profundidad para determinar el número de ufc

Este análisis se realizó al inicio y durante todo el proceso, con el fin de determinar la concentración de microorganismos y verificar que se encuentren sobre el valor mínimo recomendado por Eweis *et al.*, que es de $1,0E+05$ ufc/g.^[8] Para ello se siguió lo descrito en el método de recuento de microorganismos viables totales.

Contenido de Aceites y grasas

Este análisis es importante para obtener una medida indirecta de la concentración de HC totales del petróleo; con base en la norma APHA 5520 B, se aplicó a dos muestras por hilera, tomadas cada 15 días durante el desarrollo del proyecto.

Concentración de TPH y metales pesados

Las muestras para este análisis fueron enviadas a “Laboratorios ANNCY, Control Ambiental de Aguas y Suelos”, los cuales se basaron en las normas EPA 418.1: Petroleum Hydrocarbons (Spectrophotometric Infrared) para concentración de TPH y norma APHA 3120 B: Inductively Coupled Plasma (ICP) Method para concentración de metales pesados como cadmio, níquel y plomo. Los resultados del análisis de concentración de TPH fueron los que limitaron el tiempo del proceso, puesto que la normativa ambiental vigente (RAOHE) se basa en este parámetro para considerar un suelo descontaminado, según el uso posterior.

Análisis del perfil de TPH

Con el fin de determinar el perfil de TPH para la caracterización cualitativa de las muestras y con base en el procedimiento descrito por Zambrano, se aplicó dicha técnica a tres tipos de muestras: Al inicio del proceso, luego de dos meses de biodegradación y las muestras finales.^[29] Las condiciones del cromatógrafo de gases fueron los descritos en la Tabla 2:

Tabla 2. Condiciones de operación del cromatógrafo de gases para determinar el perfil de TPH

Equipo o Parámetro	Especificación
Columna Empacada	OV 101 3% Chromosorb – W – AW, 6 ft x 1/8 in
Detector y gas portador	Ionización de llama y N ₂
Volumen de muestra	1 µL
T inicial de columna	120 °C
Razón de programación	8 °C/min
T final de columna	240 °C
T del inyector y detector	250 °C
Sensibilidad y P de entrada	32E-11, 17 psi

Además, se inyectó al cromatógrafo una muestra estándar conformada por la mezcla de tres HC: dodecano, tetradecano y hexadecano. Del cromatograma obtenido se determinó los tiempos de retención de cada uno de los picos, se calculó el logaritmo de estos valores y se procedió a graficar el logaritmo del tiempo de retención versus el número de carbono para obtener la curva de calibración. Esta curva permitió determinar cualitativamente los componentes de los cromatogramas de las muestras de suelos.

Análisis de lixiviados

Cada vez que se removía la tierra en tratamiento, se recogía del fondo de la misma cierta cantidad de lixiviados por cada hilera, los cuales eran almacenados en tanques de plástico con tapa para su posterior análisis en la concentración de TPH. Al final del proceso se mezclaron los lixiviados provenientes de la hilera A así como también los lixiviados de la hilera B, con el objetivo de homogenizar a cada uno de ellos para su cuantificación y toma de muestra. Las dos muestras obtenidas - una por la hilera A y una por la hilera B - fueron enviadas a “Laboratorios ANNCY” para el análisis de la concentración de TPH, el cual se basó en la norma EPA 418.1: PetroleumHydrocarbons (SpectrophotometricInfrared).

2.2.6. Análisis del costo – beneficio del proyecto

Con el fin de determinar el costo – beneficio de cada uno de los procesos de biodegradación, fue necesario tener varios parámetros previos, propios de cada proceso. Dichos parámetros son:

- ✓ Económicos, que incluye la inversión inicial, % de aportación al IESS de los trabajadores (11,15 %), duración de capital (4 meses) e impuesto a la renta sobre utilidades (45 %).

- ✓ De mantenimiento de maquinaria y equipos (5 %), construcciones (2 %) y reparaciones de maquinaria (2 %).
- ✓ De tasas de seguro de: transporte, maquinaria y equipo e inmuebles.
- ✓ De amortizaciones de: edificios, maquinaria y equipos, muebles de oficina y otros (5 % cada uno).

Luego se cuantificaron los costos que se tuvo para la ejecución de cada proceso de biodegradación; los cuales tuvieron un tiempo de duración de cuatro meses, pero se extrapoló a un año; estos costos son los generados por:

- ✓ Materia prima: Bacterias comerciales, estiércol de ganado y cascarilla de arroz.
- ✓ Reactivos adquiridos: Nutrient Agar, Trypticase Soy Agar, ciclo hexanona.
- ✓ Análisis de laboratorio: Nutrientes, concentración de aceites y grasas, TPH, metales pesados, perfil de HC, identificación de bacterias, tamaño de partícula, densidad relativa, pH, conteo de microorganismos.
- ✓ Terreno y construcciones: Bodega, cuartos de alojamiento, oficinas.
- ✓ Equipos y muebles de oficina: escritorios, sillones, camas, estanterías y repisas, sillas, mesa de conferencia.
- ✓ Suministros como agua potable, luz eléctrica y tanques de gas
- ✓ Maquinaria y equipos empleados: geomembrana, palas, termohidrómetro, tanques de almacenamiento, fumigadora manual.
- ✓ Nómina de fuerza laboral: 2 obreros y jefe de proceso.

Para compensar todos los gastos generados en cada uno de los procesos de biodegradación, fue necesario el cobro por el tratamiento de los suelos. Para ello, se determinó un costo por cada kilogramo de tierra a biodegradar (el mismo para los dos procesos) y se determinó los ingresos percibidos por cuatrimestre y se extrapoló a un año por cada tipo de estudio realizado.

Con todos los valores establecidos, se realizó una matriz en MS Excel™ para cada uno de los procesos de biodegradación y con ello se determinó su factibilidad sobre la base de los parámetros TIR y VAN. Además se estimó el punto de equilibrio en cada uno de los tratamientos.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis físicos

3.1.1. Densidad de partícula

El valor de la densidad relativa obtenido fue de 1,62 + 0,10 Ton/m³. Con este valor y el volumen operacional de cada hilera (hilera A: 6,29 m³ e hilera B: 7,83 m³) fue posible

determinar que la cantidad de tierra contaminada a tratar fue de 10,20 y 12,70 Ton en la hilera A y B, respectivamente, de esto se puede decir que con este proyecto fue posible biorremediar 22,90 Ton de suelos contaminados.

3.1.2. Tamaño de partícula

Del análisis granulométrico de la muestra inicial se obtuvo que el suelo a estaba compuesto por grava, arena, limo y arcilla, en los porcentajes descritos en la Tabla 3.

Tabla 3. Análisis de tamaño de partícula de la tierra a procesar

Tipo de suelo	Tamiz ASTM	Promedio (%)	Porcentaje del Tipo de suelo ¹ (%)
Grava	3 in.	4,42	18,18 ± 0,81
	2 in.	2,45	
	1 in.	3,74	
	3/8 in.	4,31	
	N° 4	3,26	
Arena	N° 10	9,07	16,64 ± 1,06
	N° 40	7,57	
Limo	N° 60	14,06	30,16 ± 1,44
	N° 200	16,10	
Arcilla	< Malla N°200	35,02	35,02 ± 0,08

¹ $\bar{x} \pm \sigma$ (n = 2)

De los resultados presentados en la Tabla 3, el limo y la arcilla suman 65,18%, más de la mitad de la composición total del suelo a tratar; por lo que se puede decir que la tierra a biorremediar contenía en su mayoría partículas finas, lo que según Martín, García y Maza, permite considerar a esta tierra como un suelo cohesivo, con alta retención de agua y baja permeabilidad.^[10] Por esta razón fue necesaria la adición de cascarilla de arroz en la hilera B, para poder dar una textura más permeable al suelo. A la hilera A no fue necesaria la adición, puesto que el proveedor de las bacterias comerciales AWT – B350 expuso que dichas bacterias son capaces de trabajar sobre suelos relativamente húmedos.

3.1.3. Humedad del suelo

La fig. 2 muestra el porcentaje de humedad de las hileras a lo largo del tiempo que duró el proyecto, comparado con los valores mínimo y máximo que recomienda Eweis et al., para un adecuado desarrollo bacteriano en la biodegradación por el método de landfarming.^[8]

La humedad de la hilera A fue mayor que la de la hilera B, lo que se debió a la presencia de un 4,2 % de cascarilla de arroz en la hilera B, que actuó como agente permeabilizante, lo que evitó que al agua se quedara retenida en el suelo.

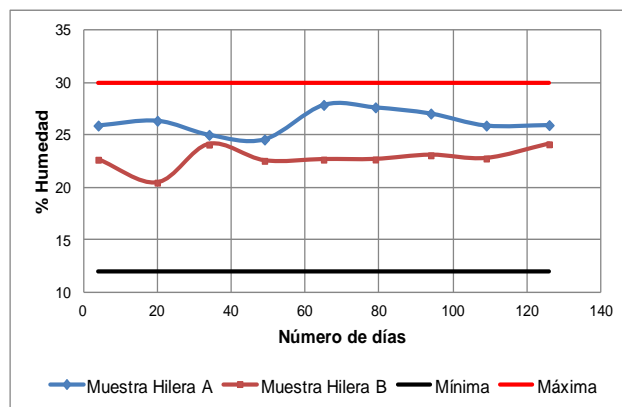


Figura 2. Humedad de la Tierra contaminada con hidrocarburos de las hileras A y B en función del tiempo comparadas con los valores mínimo y máximo

3.2. Análisis químicos

3.2.1. pH

Los resultados del pH para cada una de las muestras tomadas se presentan en la fig. 3, comparándolos con los valores mínimo (6,0) y máximo (8,0) recomendados por Eweis et al.^[8]

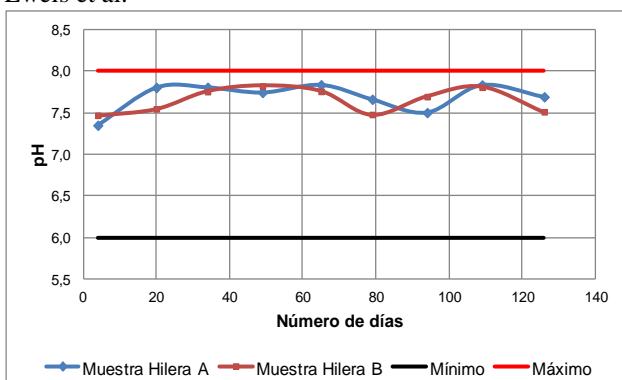


Figura 3. pH de la Tierra contaminada con hidrocarburos de las hileras A y B en función del tiempo comparadas con los valores mínimo y máximo

Como se puede observar, el pH tanto de la hilera A como de la hilera B se mantienen dentro del rango recomendado, por lo no fue necesaria la adición de sustancias que regulen el pH del suelo.

3.2.2. Nutrientes

Con los resultados obtenidos por el CICAM de la EPN y con la cantidad de masa presente en cada una de las hileras se estimó la cantidad de nutrientes NPK, como se puede observar en la Tabla 4.

Tabla 4. Cuantificación de Nutrientes en cada una de las hileras

Parámetro	Hilera A	Hilera B
Masa de Suelo contaminado, kg	10198,044	12703,261
Masa de Nitrógeno, kg	11,258	14,023
Masa de Fósforo, kg	0,035	0,044
Masa de Potasio, kg	35,081	43,699

Con estos resultados se pudo determinar que la tierra contaminada poseía una relación de NPK de 3,20:0,01:10,00, por lo que dicha tierra tenía una deficiencia de nitrógeno y fósforo. Para compensar esta deficiencia, fue necesaria la elaboración de un abono para la hilera B, mientras que a la hilera A no se le hizo ninguna adición de nutrientes, puesto las bacterias comerciales AWT – B350 ya venían provistas de los nutrientes para su desarrollo.

3.3. Análisis microbiológicos

Los resultados obtenidos del análisis de la muestra de tierra original realizado por el laboratorio DISerLAB de la Pontífice Universidad Católica del Ecuador indican que las bacterias nativas predominantes en el suelo fueron del tipo *Pseudomonasfluorescens* y *Bacilluscereus*. Este tipo de bacterias son las más importantes para el desarrollo de la biodegradación según lo descrito por Atlas y Chaineau,^{[4][7]}

3.3. Elaboración de abono natural

Para compensar la deficiencia de nutrientes del suelo se elaboró 900 kg de abono con 600 kg de cascarilla de arroz (66,41%) y 303,5 kg de estiércol de ganado (33,59 %). El nitrógeno total existente en este abono fue analizado por el CICAM y reportó un valor de 7565,10 mg/Kg. A fin de determinar la cantidad de abono que debería haber sido añadida a la hilera B para obtener la relación de NPK de 30:10:10 se realizó un balance de masa de estos nutrientes, estimando varias cantidades de abono a utilizar (método de prueba y error).

A mayor cantidad de abono utilizado, mayor es la relación NPK obtenida, al mantener constante la relación de nitrógeno en 30. Por lo tanto, no es posible determinar la cantidad óptima de abono ya que se obtendría una mayor relación de fósforo, pero la relación de potasio se incrementaría demasiado, es por eso que no existe una cantidad máxima de abono a utilizar para obtener las relaciones deseadas.

Se decidió utilizar todo el abono elaborado, es decir, los 900 kg, para evitar el desecho de abono elaborado; con ello, se pudo definir que la relación NPK para el suelo a tratar en la hilera B fue de 30,00:6.03:25,33. No se añadió mayor cantidad de fósforo debido a que el crecimiento microbiano se ve influido directamente por la cantidad de nitrógeno en el suelo, y el fósforo solo ayuda a que el nitrógeno sea absorbido de mejor manera por los organismos vivos presentes en los suelos.^[14]

3.3. Análisis de la biodegradación

3.3.1. Temperatura ambiente y humedad relativa

La fig. 4 indica la tendencia de la temperatura a lo largo del tiempo, comparándoles con el valor mínimo (20 °C), máximo (50 °C) y óptimo (30 °C) para su crecimiento, según lo recomendado por Eweis et al.^[8]

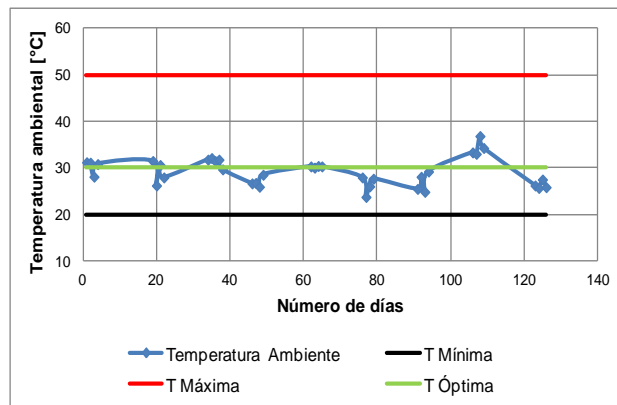


Figura 4. Monitoreo de la temperatura ambiente al compararla con los valores: mínimo, máximo y óptimo para su crecimiento

Como se puede observar, la temperatura ambiente monitoreada esta cercana al valor óptimo de temperatura ambiente para crecimiento bacteriano; de igual manera, no se llega a los valores críticos para su crecimiento. Para ello, fue importante cubrir las hileras con la geomembrana por las noches, ya que de esta manera, además de haber evitado el ingreso de agua de lluvia nocturna, se evitó el descenso de la temperatura ambiente dentro de las hileras.

La fig. 5 indica la tendencia de la humedad relativa a lo largo del tiempo

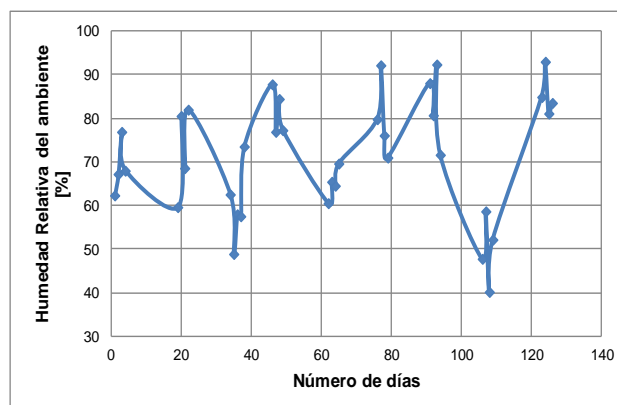


Figura 5. Medidas de humedad relativa en el lugar donde se desarrollan las bacterias

La humedad relativa del lugar es muy variada y presenta oscilaciones muy marcadas. No obstante, este es un parámetro que no influye directamente sobre el crecimiento de las bacterias, por lo cual no existen valores mínimos ni máximos recomendados para la biodegradación; pero es muy importante su evaluación ya que permite tener una idea de las precipitaciones que existieron en la zona donde se desarrolló el proyecto, tal y como se discutió anteriormente con el porcentaje de HR y la temperatura ambiente.

3.3.2. Siembra a profundidad para determinar el número de ufc

Este es uno de los parámetros más importantes a ser evaluados, ya que el crecimiento microbiano permitió determinar si era necesario añadir más nutrientes al suelo. Por tal motivo, este fue uno de los controles más estrictos

que se tuvo durante el proceso, para que en función de estos resultados y del avance de la biodegradación, se tomen decisiones para la mejora del proceso.

Como se puede observar en la fig. 6, la concentración de bacterias de la hilera A fue superior a la concentración de las bacterias de la hilera B, lo que se debió a que en la hilera A se adicionaron bacterias comerciales. A pesar de que la concentración de las bacterias de la hilera B fue menor en comparación con la obtenida en la hilera A, esta estuvo muy por encima del valor límite recomendado por Eweis et al., en el que señala una cantidad mínima de $1,0E+05$ ufc/g.^[8]

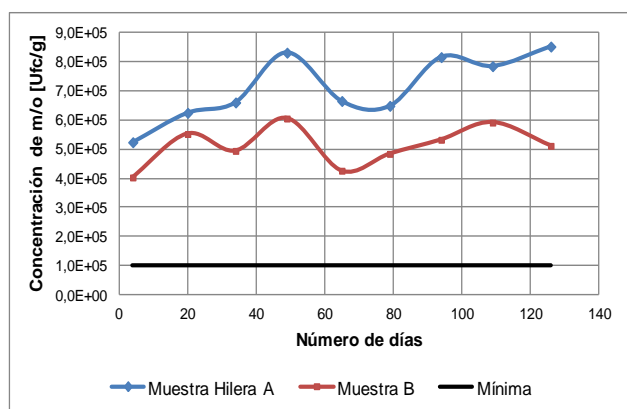


Figura 6. Concentración de microorganismos de las hileras A y B en función del tiempo y comparándolas con el valor mínimo requerido

3.3.3. Contenido de Aceites y grasas

Para una mejor visualización del decrecimiento en la C_{ag} de las muestras, se presenta la fig. 7.

El descenso en C_{ag} durante el proceso fue exponencial, es decir, aproximadamente hasta los 60 días de iniciado el proceso la disminución de la concentración fue importante y pasado este tiempo la variación fue pequeña.

Sin embargo, fue necesario monitorear este parámetro durante todo el proyecto ya que permitió determinar cuando el decrecimiento en dicha concentración sería poco significativo.

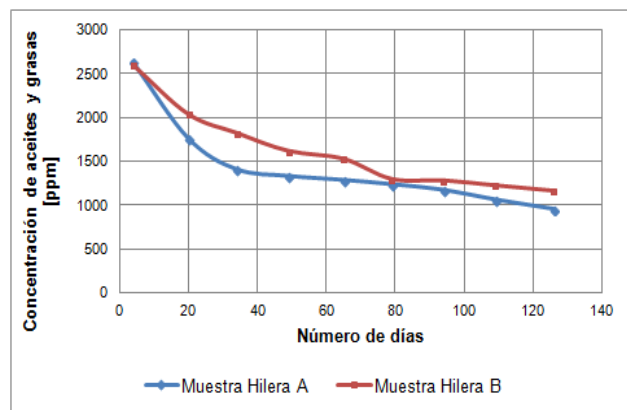


Figura 7. Concentración de Aceites y grasas de las hileras A y B en función del tiempo

3.3.4. Concentración de TPH

La Tabla 5 muestra los valores de concentración de TPH en las muestras de las hileras A y B, comparándolos con los valores norma que regula el RAOHE en lo referido a un suelo industrial (mínimo 4000 ppm).

Tabla 5. Concentración de TPH para cada una de las muestras de las hileras A y B durante el proceso de biodegradación

Día	Concentración Hilera A (ppm)	Concentración Hilera B (ppm)	Valor Norma ¹
4	16230	16230	4000 ppm
65	5200	5220	
126	3170	3736	

¹ Según el RAOHE, en suelos para uso industrial

Cabe recalcar, que en ambas hileras se alcanzó valores inferiores a los límites permisibles para suelos industriales establecidos por la RAOHE, por lo que se puede decir que las bacterias nativas fueron aptas para la biodegradación del suelo y el uso de bacterias comerciales no es imprescindible.

3.3.5. Concentración de metales pesados

La concentración de los metales cadmio, níquel y plomo se analizaron únicamente al inicio del proceso y a los dos meses del mismo, ya que la concentración alcanzada de dichos metales en ambas hileras cumplió con la normativa que exige el RAOHE, tal y como se detalla en la Tabla 6.

Tabla 6. Resultados del análisis de cadmio, níquel y plomo en las muestras de suelo contaminado con hidrocarburos

Metal	Día	Concentración (ppm) – Muestra A	Concentración (ppm) – Muestra B	Valor Norma ¹ (ppm)
Cadmio	4	0,63	0,63	10
	65	0,433	0,608	
Níquel	4	16,9	16,9	100
	65	17	16,1	
Plomo	4	9,44	9,44	500
	65	6,51	11,8	

¹ Según el RAOHE, en suelos para uso industrial

Debido a los bajos porcentajes de disminución en la concentración de cadmio, plomo y níquel durante los dos meses de biodegradación, se puede decir que las bacterias presentes en la hilera B tuvieron dificultades para movilizar, volatilizar y/o solubilizar los metales pesados en los lixiviados, en comparación con las bacterias comerciales, a excepción de lo ocurrido con el níquel.

3.3.6. Análisis del perfil de TPH

Los cromatogramas obtenidos al inicio y al finalizar el proceso son los que se muestran a continuación:

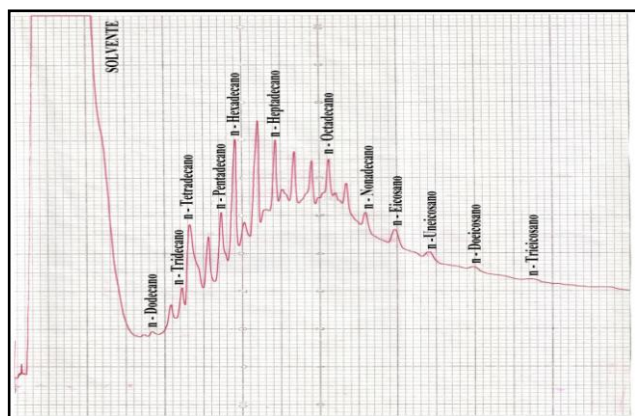


Figura 8. Cromatograma obtenido de la muestra inicial de tierra contaminada con hidrocarburos

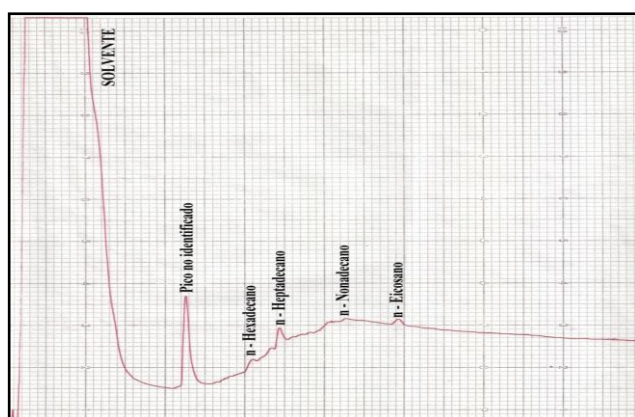


Figura 9. Cromatograma obtenido de la muestra de tierra contaminada con hidrocarburos de la hilera A a los 4 meses de proceso

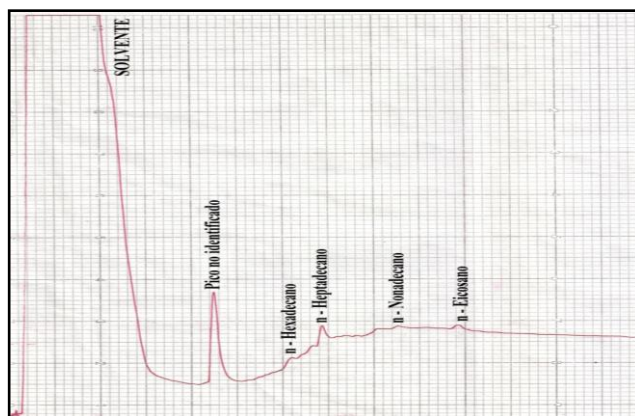


Figura 10. Cromatograma obtenido de la muestra de tierra contaminada con hidrocarburos de la hilera B a los 4 meses de proceso

La muestra inicial de la fig. 8 contiene una gran cantidad de cadenas lineales de HC identificados en la mayoría de los picos del cromatograma, las cadenas encontradas fueron desde n-dodecano (12 carbonos lineales) hasta n-tricosano (23 carbonos lineales). La tendencia de la línea base del cromatograma demuestra que existen una gran cantidad de HC pesados, como son los de naturaleza alifática y aromática.

Las cadenas de hidrocarburos, n-Hexadecano, n-Heptadecano, n-Nonadecano y n-Eicosano son los que limitaron el proceso de biodegradación ya que tanto las

bacterias AWT – B350 como las bacterias nativas no pudieron degradar por completo estas cadenas de HC. Además, como se observa en la fig. 9 y en la fig. 10, existe un pico no identificado, el cual probablemente corresponda a un HC aromático, ya que su altura es más elevada que los otros HC identificados, por lo que se descarta la posibilidad de que sea lineal.

3.3.7. Análisis de lixiviados

Al término del proceso se recolectaron en total 2155 litros de lixiviados provenientes de ambas hileras, a los cuales se realizó un análisis de TPH y cuyos resultados se muestran en la Tabla 7:

Tabla 7. Resultados finales de los lixiviados de las hileras A y B

Parámetro	Hilera A	Hilera B
Volumen (l)	1325,10	830,03
Concentración de TPH (mg/l)	1,0	0,4
Valor Norma ¹ (mg/l)	20	

¹ Según el RAOHE, en suelos para agua contaminada con HC en descarga a continente

Cabe señalar que no se analizó la concentración de metales pesados como cadmio, plomo y níquel en las muestras de lixiviado debido a que la concentración de estos metales en el suelo inicial estaban muy por debajo del límite que exige el RAOHE, por lo que no existía el peligro de que al disminuir la concentración de estos metales en el suelo se contaminara el agua con valores no permisibles.

3.3. Disposición final

Sobre la base de los resultados presentados en la Tabla 5 de la concentración de TPH de las muestras de suelos contaminados para los dos procesos, y dado a que para ambas hileras se cumplió con los valores que exige el RAOHE en lo referido a tierras contaminadas de uso industrial, se decidió colocar esta tierra como base para las diferentes construcciones que realiza INCINEROX en el lugar donde se desarrolló el proyecto. Para ello solo fue necesaria la extracción de la geomembrana que separaba el suelo nativo de las tierras contaminadas, y se niveló el suelo con la ayuda de una gallineta, el terreno quedó en condiciones para la elaboración de bodegas de material que recoge la empresa INCINEROX.

En la Tabla 7 se observa que la concentración de TPH de los lixiviados de las muestras de las hileras A y B, estaba muy por debajo del valor norma exigido por el RAOHE para agua contaminada con HC, por lo que a los 2155,13 litros de lixiviado se empleó en las construcciones que se lleva a cabo en la empresa INCINEROX.

Cabe recalcar que tanto los suelos ya tratados por el método de landfarming como el agua proveniente de lixiviados del proceso, cumplen con las regulaciones que exige el RAOHE, por tanto, la disposición antes descrita

fue solo una alternativa de solución que se dio a dicho material.

3.4. Análisis del costo – beneficio del proyecto

Sobre la base de la matriz en MS Excel™ con los costos de cada uno de los parámetros indicados anteriormente, se tiene la Tabla 8 que muestra los diferentes costos anuales que genera tratar una cierta cantidad de tierra contaminada en la hilera A (con un costo fijo anual de \$ 11993,49), mientras que la Tabla 9 muestra las cantidades de suelo por tratar en la hilera B (con un costo fijo anual de \$ 11978,74):

Tabla 8. Valores para determinar el punto de equilibrio económico del proceso en la hilera A

Masa de tierra por descontaminar al año(kg)	Costos variables (\$)	Costos totales (\$)	Ingresos (\$)
0,00	0,00	11993,49	0,00
6118,83	1159,36	13152,85	6118,83
12237,65	2318,72	14312,21	12237,65
24475,30	4637,44	16630,93	24475,30
30594,13	5796,80	17790,29	30594,13

Tabla 9. Valores para determinar el punto de equilibrio económico del proceso en la hilera B

Masa de tierra por descontaminar al año(kg)	Costos variables (\$)	Costos totales (\$)	Ingresos (\$)
0	0,00	11978,74	0,00
7621,96	2904,24	14882,97	7621,96
22865,87	8712,71	20691,45	22865,87
30487,83	11616,95	23595,69	30487,83
38109,78	14521,18	26499,92	38109,78

Los puntos de equilibrio obtenidos se muestran en la fig. 11 y la fig. 12.

El punto de equilibrio se da cuando los costos totales igualan a los ingresos; en la fig. 11 se puede observar que esto ocurre al tratar 15000 kg de tierra contaminada en la hilera A y generan ingresos por \$ 15000,00. En la fig. 12, el punto de equilibrio se da al tratar 19400 kg de tierra contaminada en la hilera B y generan ingresos de \$ 19400,00.

Además de esto, en el proceso de la hilera A se tiene un flujo de capital luego de los impuestos de \$ 6448,11 al año, con una tasa interna de retorno del 23,51%. Por su parte, en el tratamiento en la hilera B, se tiene un flujo de capital luego de los impuestos de \$ 5791,42 anuales, con una tasa interna de retorno del 12,27. Por tal motivo, el tratamiento de biodegradación al usar bacterias comerciales (AWT – B350) es más rentable que el uso de las bacterias nativas con la adición del abono como fuente de nutrientes.

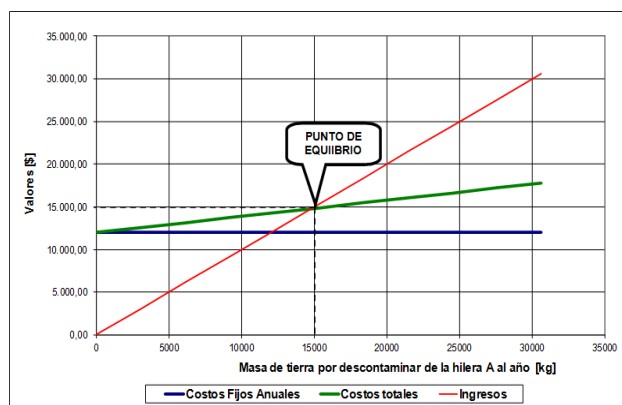


Figura 11. Punto de equilibrio del proceso de biodegradación en la hilera A

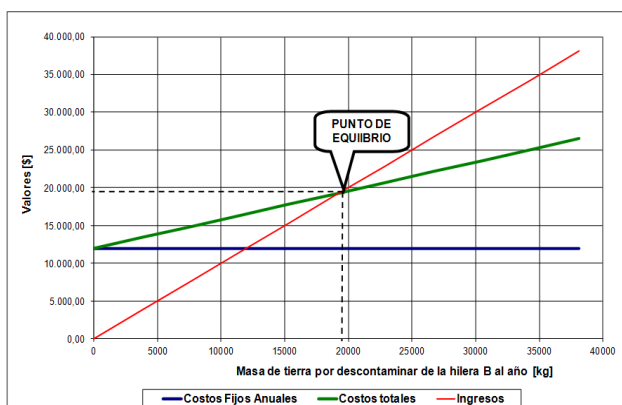


Figura 12. Punto de equilibrio del proceso de biodegradación en la hilera B

Finalmente, en la Tabla 10 se presentan los valores de la utilidad neta anual para la hilera A y en la Tabla 11 se indica la utilidad neta generada en la hilera B:

Tabla 10. Utilidad neta anual generada en el proceso de la hilera A

Designación	Valor (\$)	Porcentaje sobre ventas (%)
<u>Ventas</u>	30594,13	100,00
(-) Costos de producción	18870,29	61,68
Utilidad bruta por ventas	11723,84	38,32
Utilidad neta por ventas	11723,84	38,32
Utilidad bruta en operaciones	11723,84	38,32
(-) Impuesto a la renta	5275,73	17,24
Utilidad neta en operaciones	6448,11	21,08

Tabla 11. Utilidad neta anual generada en el proceso de la hilera B

Designación	Valor (\$)	Porcentaje sobre ventas (%)
<u>Ventas</u>	38109,78	100,00
(-) Costos de producción	27579,92	72,37
Utilidad bruta por ventas	10529,86	27,63
Utilidad neta por ventas	10529,86	27,63
Utilidad bruta en operaciones	10529,86	27,63
(-) Impuesto a la renta	4738,44	12,43
Utilidad neta en operaciones	5791,42	15,20

Como se puede observar en la Tabla 10, el proceso de biodegradación usando bacterias comerciales (AWT – B350) genera una utilidad neta anual de \$ 6448,11, que equivale al 21,08 % del total de las ventas, es decir, de los ingresos obtenidos por biodegradar la tierra contaminada con hidrocarburos. Mientras tanto, como se muestra en la Tabla 11, la biodegradación usando bacterias nativas y el abono elaborado genera una utilidad neta anual de \$ 5791,42, equivalente al 15,20 % del total de las ventas generadas al usar este tipo de proceso.

4. CONCLUSIONES

1. La tierra con la que se trabajó contuvo 64,85 % de partículas finas (limo y arcilla), por lo que se la consideró como un suelo cohesivo, con alta retención de agua y baja permeabilidad. El 35,15 % restante correspondió a partículas gruesas provenientes de grava y arena.
2. En la hilera A se biodegradó 10,20 Ton de tierra contaminada con hidrocarburos al usar las bacterias comerciales AWT – B350, mientras que en la hilera B se logró tratar 12,70 Ton, al usar un abono orgánico elaborado con cascarilla de arroz y estiércol de ganado.
3. La humedad del suelo se mantuvo en los rangos establecidos para una biodegradación por el método de landfarming (entre 12 y 30 %), y fue más notoria la humedad de la hilera A, puesto que para este proceso no se colocó un agente esponjante como cascarilla de arroz, por recomendación del proveedor.
4. El pH de la tierra proveniente de las muestras de las hileras A y B se mantuvieron entre 6,0 y 8,0; por lo tanto, el proceso se desarrolló bajo las condiciones recomendadas para la biodegradación por el método de landfarming y no fue necesaria la adición de sustancias que permitan regular el pH hasta dichos valores.
5. La tierra contaminada tuvo una relación NPK de: 3,20:0,01:10,00, por tal motivo, fue necesaria la adición a la hilera B de 900 kg de abono, hecho con 534 kg de cascarilla de arroz y 102 kg de estiércol de ganado, con lo que se llegó a obtener una relación NPK de 30,00:6,03;25,33; además no fue necesaria la adición de fósforo a la tierra de esta hilera puesto que las bacterias se desarrollaron con normalidad. A la tierra de la hilera A no fue necesaria ninguna adición de nutrientes, puesto que el proveedor de las bacterias comerciales AWT – B350 indicó que dichas bacterias se desarrollan bajo cualquier condición de suelo.
6. Las principales bacterias presentes en las muestras de tierra fueron del tipo *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus cereus*, este tipo de m/o fueron las principales fuentes de biodegradación, ya que además la tierra presentó alto contenido de hongos y levaduras, que se evidenció al momento de la siembra para la identificación de ufc/g.
7. Tanto en la hilera A como en la hilera B, la concentración de bacterias presentes estuvieron sobre los valores recomendados para la biodegradación por el método de landfarming (1,0E+05 ufc/g). Por tal motivo, por un lado se comprueba experimentalmente la eficiencia de las bacterias comerciales AWT – B350, ya que se adaptaron fácilmente al medio en las que se mantuvieron; y por otro lado, no fue necesaria la adición de mayor cantidad de nutrientes en la hilera B, ya que las bacterias presentes en dicha hilera se desarrollaron con normalidad, aunque su concentración fue menor que en la hilera A.
8. Se cumplió con el objetivo de biodegradar los suelos contaminados con hidrocarburos desde 16230 ppm de TPH hasta valores que cumplan lo que exige el RAOHE que es 4000 ppm para suelos industriales, tanto en la hilera A (3170 ppm) como en la hilera B (3736 ppm).
9. La muestra original presentó 16 cadenas de hidrocarburos lineales diferentes, se inició en dodecano (12 carbonos) hasta tricosano (23 carbonos). Conforme avanzó el proceso de biodegradación, algunas de las cadenas desaparecieron por completo y otras llegaron a disminuir en su concentración, se llegó a tener al final del proceso solo 4 cadenas de hidrocarburos lineales diferentes: n-Hexadecano, n-Heptadecano, n-Nonadecano y n-Eicosano.
10. Las muestras de la hilera A y B cumplen desde un inicio con la normativa ambiental que exige el RAOHE para suelos contaminados con hidrocarburos para uso industrial en la concentración de los siguientes metales pesados: cadmio, plomo y níquel. Por tal motivo, las muestras tomadas a la mitad del proceso también lo cumplen y como consecuencia no se analizó la concentración de los metales antes mencionados al final del proceso. Tanto en la tierra de la hilera A como de la hilera B, existió variación en la concentración de los metales pesados: cadmio, plomo y níquel a lo largo del proceso de biodegradación. Esta variación se debió a la movilidad existente en la tierra, a la volatilización a la atmósfera y/o al arrastre en los lixiviados debido a que pueden generarse sales solubles en agua.

11. Se recolectaron 1325,10 litros de lixiviados de la hilera A con una concentración de TPH de 1,0 mg/l, mientras que para la hilera B se recolectaron 830,03 litros de lixiviados con una concentración de TPH de 0,4 mg/l. Con ello se dispuso que los lixiviados generados sean utilizados como material de construcción.
12. Dada las concentraciones de TPH de los suelos contaminados por HC y de los lixiviados de los procesos desarrollados en las hileras A y B, los cuales cumplen con las regulaciones que exige el RAOHE, la disposición que se dio para los suelos y el agua fue de base para construcciones que se efectúan en las instalaciones de INCINEROX, ésta solo una alternativa ya que se pudo dar cualquier solución para los materiales antes mencionados.
13. Se ha considerado un precio para el proceso de biodegradación por el método de landfarming, tanto en la hilera A como en la hilera B, de \$ 1,00 por cada kg de suelo a tratar. Con ello, para el análisis económico del proceso en la hilera A, se obtiene una tasa interna de retorno del 25,51 % y una utilidad neta en operaciones de \$ 6448,11 anuales; mientras que para la hilera B se tiene una tasa interna de retorno del 12,27 % con una utilidad neta en operaciones de \$ 5791,42 anuales.

ABREVIATURAS

σ :	Desviación estándar
APHA:	American Public Health Association
ASTM:	American Section of the International Association for Testing Materials
AWT:	Andean Water Treatment
AyG:	Aceites y grasas
Cag:	Concentración de aceites y grasas
CICAM:	Centro de Investigaciones y Control Ambiental
EPA:	Environmental Protection Agency
EPN:	Escuela Politécnica Nacional
HC:	Hidrocarburos
HR:	Humedad Relativa
m/o:	Microorganismo
NPK:	Nitrógeno – Fósforo – Potasio
OCP:	Oleoducto de crudos pesados
pH:	Potencial de hidrógeno
PUCE:	Pontífice Universidad Católica del Ecuador
RAOHE:	Reglamento Sustitutivo al Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarbúrferas en el Ecuador
SOTE:	Sistema de Oleoducto Transecuatoriano
T:	Temperatura
TIR:	Tasa Interna de Retorno
TPH:	Total Petroleum Hydrocarbons
ufc:	Unidades formadoras de colonias
VAN:	Valor Actual Neto

REFERENCIAS

- [1] M. Albán, M. Barragán, R. Bedón, R. Crespo, H. Echeverría, M. Hidalgo, G. Muñoz y S. Suárez, (2011). Ecuador Ambiental 1996-2011 – Un recorrido propositivo. *Centro Ecuatoriano de Derecho Ambiental*(1), pp.1-138.
- [2] J. A. Alfonso y E. B. Posadas, (2010). Elaboración de abono orgánico. Recuperado de <http://www.gotaverde.org/userfiles/file/D17i%20-%20FHIA%20Manual%20Elaboracion%20de%20abono%20organico%20a%20partir%20de%20cascarrilla%20de%20pinon.pdf> (Diciembre, 2010).
- [3] B. Alloway, “The Mobilization of Trace Elements in Soils”. París: INRA, 1995 pp. 285-298.
- [4] R. Atlas y R. Bartha, “Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental”. Madrid: Pearson Educación, 2002, p. 677.
- [5] C. Buduba. (2004). Muestreo de suelos, criterios básicos. *Patagonia Forestal* (1), pp.9-12.
- [6] M. Buesa. (1981). Bacillus cereus: epidemiología, patogenicidad y patogenia. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 33(2), pp. 121-127.
- [7] C. Chaineau, H. Morel y J. Oudot. (1995). Microbial degradation in soil and water microcosms of fuel oil hydrocarbons from drilling cuttings. *Env. Sci. Technol.* 29(3), pp. 1615-1621.
- [8] D. Chang, S. Ergas, E. Schroeder y J. Eweis, “Principios de Biorrecuperación”. Madrid: McGrawHill, 1999, pp. 34-253.
- [9] M. Evans y J. Fuchs. (1988). Persistence of oiling in mussel beds after the Exxon Valdez oil spill. *Marine Environmental Research*, 51(2), pp. 167-190.
- [10] F. M. García, V. J. Martín, y A. J. Maza, “Ingeniería de ríos: Origen y propiedades de los sedimentos”, 2da ed., Barcelona, España: UPC, 2006, p.328.
- [11] J. Govan y V. Deretic. (1996). Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia*. *Microbiol. Rev.* 60(1), pp. 539-574.
- [12] W. Guaranda, (2010). Acciones judiciales por derrames de petróleo. Recuperado de http://www.inredh.org/index.php?option=com_content&view=article&id=151%3Aac.pdf (Abril, 2013).
- [13] Incinerocía. Ltda. (2010). *Datos de tierras contaminadas por hidrocarburos*, Departamento Comercial Incinerocía Ltda.
- [14] J. P. Irañeta, A. C. Malumbres, L. M. Sánchez, J. F. Torrecilla y E. M. Díaz, (2010). Abonos: Tipos y usos. Recuperado de <http://www.navarraagraria.com/n185/arvulne3.pdf> (Febrero, 2011).
- [15] M. T. Madigan, J. M. Martinko y J. Parker, “Brock, Biología de los microorganismos”, 10a ed., Madrid, España: Pearson Prentice Hall, 2003.
- [16] Manual on test sieving methods, 4ta ed., ASTM, West Conshohocken, Estados Unidos de Norte América, 1998, pp. 1-7.
- [17] L. Montenegro, “Tratamiento de derrames de petróleo en suelos”, Proyecto de titulación previo a la obtención del título de Ingeniera Química, Dept. Ing. Química, Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador, 1996.
- [18] T. Molina y L. Robles, (2012). Quinto derrame de hidrocarburos en Ecuador en el 2012. Recuperado de <http://www.oilwatch.org/doc/paises/ecuador/ecuadorderrames2012.pdf> (Abril, 2013).
- [19] G. Noboa (2001). *Reglamento Sustitutivo del Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarbúrferas en el Ecuador*. Capítulo XII – Límites permisibles, Art. 86 – Parámetros, Anexo 2, Tabla 6, Decreto No. 1215, publicado en el Registro Oficial No. 265.
- [20] R. Novo, “Manual de Microbiología Agrícola”. La Habana, Cuba, 2003.
- [21] Partition-Gravimetric Method, APHA 5520 B, 1997.
- [22] Residue, Total (Gravimetric, Dried at 103-105°C), EPA, 1999.
- [23] E. Riser, “Bioremediation of petroleum contaminated sites”, 1ra ed., Washington D. C., Estados Unidos: C.K. SMOLEY, 1992, pp.1-9.
- [24] S. Romero, “Propuesta de desarrollo del agroturismo para uso de suelos biorremediados, en el Campo Sacha, provincia de Sucumbíos, por Pepda-Petroproducción”, Proyecto de titulación previo a la obtención del título de Ingeniera Agroindustrial, Dpt. Alimentos, Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador, 2010.
- [25] W. Schmidt, (2005). Suelos contaminados con hidrocarburos: la biorremediación como una solución ecológicamente compatible. Recuperado de <http://www.uhu.es/masteria/master/material/405.pdf> (Octubre, 2010).
- [26] Standard Practice for Description and Identification of Soils (Visual-Manual Procedure), ASTM D2488 - 09a, 2009.
- [27] Standard Test Method for pH of Peat Materials, ASTM D2976 – 71, 2004.
- [28] Standard Test Method for Density, Relative Density (Specific Gravity), and Absorption of Coarse Aggregate, ASTM C127 – 12,

2012.

- [29] M.Zambrano, "Tratamiento biológico de los lodos depositados en los tanques de almacenamiento de combustibles en el terminal El Beaterio". Proyecto de titulación previo a la obtención del título de Ingeniera Química, Dept. Ing. Química, Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador, 2002.