



**Facultad Geología y Minas  
Departamento de Geología**

**Trabajo de Diploma  
En opción al Título de  
Ingeniero Geólogo**

**Título: PROYECTO PARA EL MANEJO DE REDIDUOS SÓLIDOS  
PETROLIZADOS DE LA EMPRESA DE PERFORACIÓN Y EXTRACCIÓN DE  
PETRÓLEO MAJAGUA.**

**Autor: Jorge Luis Díaz Segredo**

**Tutores: MSc. Jose A. Carmenate Fernández**

**Moa 2022**



## **Agradecimientos**

A todas las personas e instituciones que dieron apoyo a la realización de este trabajo y a mi formación como ingeniero, a mi familia, amigos, profesores por su apoyo incondicional en toda mi vida estudiantil y personal les estoy eternamente agradecido.

Gracias a mis tutores y a los trabajadores de la Empresa de Exploración y Producción de Petróleo Majagua por su colaboración en la prestación de sus conocimientos, experiencias y documentación clasificada para la realización de esta investigación.

## ***Pensamiento***



**“La mayoría de las personas gastan más tiempo y energía en rondar los problemas que en tratar de resolverlos”.**

***Henry Ford.***



---

## ***Dedicatoria***

A mi tío Abelito por “ocuparse” siempre que lo necesité. A mi novia Eli por ser la mujer más maravillosa que mis ojos han visto. A mi padre por ser la luz que me ha guiado toda la vida, por educarme de la manera más culta y por estar presente en todos mis logros y metas.

Una dedicación especial a mi madre Rita y mi abuela Milagros que donde se encuentra el Señor, puedan ver lo grande que se ha convertido su niño, el que siempre las llevará consigo presentes toda su vida.



## Resumen

La Empresa de Perforación y Extracción de Petróleo Majagua (EPEP) cuenta entre sus pasivos ambientales con residuos sólidos petrolizados, acumulados en las piscinas de descargas de crudo y de recolección de aguas residuales, lodos de tanques de almacenamiento de crudo y volúmenes de suelo contaminado, que requieren de alternativas para su manejo y disposición final. Por ello la presente investigación tiene como objetivo proponer un proyecto para el manejo de los residuos sólidos petrolizados de la EPEP a través de la aplicación de procesos de biorremediación mediante la técnica de *landfarming*, como alternativa en el tratamiento y disminución de la carga contaminante de estos residuos; utilizando la bioestimulación en el fomento de condiciones favorables para la actividad degradadora microbiana. Los resultados del experimento, permitió tasas de biodegradación para todos los contaminantes que oscilaron como promedio entre de 25 y 41 % para las grasas y aceites y entre 31 y 53 % para los hidrocarburos totales del petróleo, con costos para el tratamiento a escala de campo de cada contaminante en \$ 80.56/m<sup>3</sup> (CUP) y \$ 5.41/m<sup>3</sup> (USD), lo que demuestra mediante la propuesta del proyecto, la factibilidad económica como solución al manejo y disposición segura de los residuos sólidos petrolizados y suelos contaminados de la EPEP Majagua así como un plan de acciones y la propuesta de diseño e implementación de un área de biorremediación a escala de campo para el manejo de estos residuos.

**Palabras claves:** biorremediación, *landfarming*, bioestimulación, biodegradación.



## Abstract

The extraction, collection, and treatment of crude oil processes generate from its contaminants oiling sludge and oily water with high content of grease and oils in addition to the permanent risk of soil pollution by the occurrence of spilling and/or environmental accidents in the setting of wells and storage areas. The EPEP Majagua has among its environmentally abilities oiling solid waste accumulated in pools of oil discharges and sewage collection, sewage oil storage tanks and contaminated soil volumes that require options for management and disposal. This paper presents the results by means of a scale, in the application of bioremediation processes throughout the landfarming technique as an alternative in the treatment and reduction of the pollution load of the waste; using bio-stimulation in fostering favorable conditions for microbial degrading activity. As a result, the experiment showed degradation rates for all pollutants ranging on average between 25 and 41% for grease and oils and between 31 and 53% for total petroleum hydrocarbons they were achieved, demonstrating high capacity degradation of the present biota, with a tendency to increase the efficiency in periods longer than 100 days, demonstrating the effectiveness and feasibility of the process. Treatment costs are estimated to field scale of each pollutant in \$ 80.56/m<sup>3</sup> (CUP) and \$5.41 /m<sup>3</sup> (USD), showing that the application of this technology is economically feasible as a solution to the safe management and disposal of oiling solid waste, and also polluted soil of the EPEP Majagua. An action plan was put into practice and the design and implementation of an area of bioremediation field scale for the management of this waste is recommended.

**Keywords:** bioremediation, landfarming, bio-stimulation, biodegradation.



## Índice

Introducción .....	10
<b>Capítulo 1. Estado del arte .....</b>	<b>16</b>
1.2 Petróleo.....	17
1.2.1 Definiciones y características.....	17
1.2.2 Efectos de la contaminación por hidrocarburos. ....	19
1.2.3 Contaminantes generados en la actividad petrolera. ....	22
1.3 Biodegradación. ....	24
1.3.1 Definiciones y generalidades. ....	24
1.3.2 Formas de biodegradación. ....	25
1.3.3 Factores que influyen en la biodegradación.....	26
1.3.4 Biodegradación de hidrocarburos. ....	34
1.4 Tecnologías de tratamientos para la remediación de la contaminación por hidrocarburos. ....	42
1.4.1 Procesos físico – químicos. ....	42
1.4.2 Procesos biológicos. ....	44
1.4.2.3 <i>Bioestimulación – Bioaugmentación</i> .....	45
1.4.3 Intemperismo. ....	52
1.4.4 Surfactantes.....	52
1.4.5 Ensayos de tratabilidad para la evaluación de la biorremediación.....	53
1.4.6 Costos (Lladó, 2012).....	55
1.4.7 Investigaciones precedentes.....	55
1.5 Análisis crítico de la revisión bibliográfica. ....	57
<b>CAPÍTULO II: METODOLOGÍA Y VOLÚMEN DE LA INFORMACIÓN EN EL ÁREA DE ESTUDIO.....</b>	<b>59</b>
2.1 Introducción.....	59
Etapa preliminar: Recopilación y revisión de la información existente. ....	59
Segunda etapa: Elaboración e Interpretación de los resultados.....	59



---

2.1 Caracterización de las fuentes contaminantes. ....	59
2.1.1 Puntualización de las fuentes generadoras de RSP en la EPEP Majagua. ...	62
2.1.2 Toma de Muestras. ....	67
2.1.3 Caracterización químico – microbiológica de los RSP. ....	67
2.2 Experimento a escala de banco. ....	68
2.2.1 Diseño del experimento. ....	68
2.2.2 Seguimiento analítico del experimento. ....	71
2.3 Diseño experimental. ....	73
2.4 Tasa de biodegradación. ....	74
2.5 Normativas ambientales de referencia. ....	74
<b>Capítulo 3. Discusión de Resultados. ....</b>	<b>76</b>
3.1 Resultados de la caracterización de los contaminantes. ....	76
3.2 Montaje de los experimentos. ....	79
3.2.1 Sustrato empleado. ....	79
3.2.2 Conformación de los composteros. ....	80
3.3 Resultados de los experimentos de biorremediación. ....	81
3.4 Análisis e interpretación de los resultados. ....	82
3.4.1 Grasas y Aceites – Hidrocarburos Totales del Petróleo. ....	82
3.4.2 Cuantificación de saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos. ....	84
3.4.3 pH y Conductividad eléctrica. ....	85
3.4.4 Población microbiana. ....	85
3.4.5 Ensayo de respirometría. Determinación de la humedad. ....	90
3.4.6 Contenidos de nutrientes. ....	91
3.4.7 Elementos metálicos. ....	91
3.4.8 Análisis sistémico. ....	91
3.5 Evaluación estadística. ....	92
3.5.1 Grasas y Aceites. ....	92
3.5.2 Análisis para Hidrocarburos Totales del Petróleo. ....	97
3.5.3 Análisis de los resultados estadísticos. ....	103
3.6 Disposiciones y acciones técnicas. Plan de acción. ....	103





---

3.7 Costo estimado para la implementación del tratamiento propuesto. ....	106
Conclusiones .....	111
Recomendaciones .....	113
Bibliografía.....	114



---

## Introducción

Los procesos de biorremediación tienen entre sus características, las ventajas de ser altamente eficientes, de bajos costos de aplicación, niveles estándares de eficacia y la singularidad de que para una misma técnica existen varias alternativas de mejoramiento y optimización de su desempeño, lo que permite la realización de ensayos experimentales previos para determinar la aplicación de la mejor variante para su desarrollo a escala de campo. La tendencia es a que sean cada vez más utilizados debido a que la biodegradación es un proceso natural de remediación que no exige una inversión elevada en reactivos, infraestructura y requerimientos energéticos. Se estima que el costo de tratamiento por tonelada de suelo contaminado con hidrocarburos es casi 100% superior cuando se realiza un tratamiento químico en lugar de biorremediación **(Aldás, 2014)**.

Entre las tecnologías de biorremediación, el *landfarming* (también conocida como disposición sobre suelos), se considera una de las de mayor aceptación dadas sus potencialidades para el tratamiento y manejo de los residuos sólidos petrolizados (RSP) **(Petro y Mercado, 2014)**, su capacidad de adaptabilidad al tipo de contaminante a remediar, fácil diseño, aplicación, atención y seguimiento.

Mediante esta técnica se pueden lograr elevadas tasas de biodegradación en períodos de entre 6 meses y 2 años y se presenta como una opción viable para países y regiones con poca solvencia económica por sus bajos costos de implementación, además de que no genera residuos sólidos tóxicos al final del proceso y los suelos tratados que se obtienen, pueden reincorporarse a las mismas canteras de donde fue extraído o, a actividades agrícolas, pues recuperan y/o preservan sus características, nutrientes y los microorganismos que lo integran.

Cuba, como país subdesarrollado, con una incipiente y vulnerable industria petrolera, es dado su geografía insular; susceptible a daños ecológicos tanto terrestres como marinos a causa de derrames, averías donde intervienen hidrocarburos y por su clima tropical exhibe la fortaleza de contar con las condiciones ambientales ideales para el desarrollo de los procesos biológicos que tienen lugar en la degradación de



hidrocarburos por lo que puede asegurar que la aplicación de la biorremediación como método para el manejo de sus contaminantes, se presenta como una alternativa con altas perspectivas para su fomento, potencialización y el logro de resultados alentadores en este campo.

Es insuficiente la experiencia práctica que se tiene en la isla en este campo y amplias aún las oportunidades de investigación y desarrollo por explorar. Desde inicios de este siglo se han dado pasos en este sentido principalmente orientados a la capacitación de los especialistas y la experimentación en varias áreas, destacándose acciones en la biorremediación de zonas costeras afectadas por derrames de petróleo y en el manejo de RSP de la industria petrolera en los bloques de explotación y desarrollo petrolero del occidente y centro del país, obteniéndose resultados prometedores principalmente en el desarrollo de técnicas de *landfarming* y biopilas, aplicando fundamentalmente la bioestimulación con el desarrollo de algunas experiencias en la utilización de lodos de las plantas de tratamiento de residuales domésticos, para fomentar las cargas de nitrógeno y fósforo necesarias para el proceso **(Romero, 2012)**.

El Ministerio de Energía y Minas (MINEM) se erige en Cuba como el organismo centralizado encargado de controlar y responder por todas las actividades de exploración y explotación de minerales incluido el petróleo y por tanto, tiene la misión de asegurar que todos estos procesos se desarrollen con la requerida seguridad y sostenibilidad que demanda la sociedad y el estado cubano, para lo cual cuenta con el grupo empresarial Unión Cuba Petróleo (CUPET) como gestor ejecutivo de esta industria.

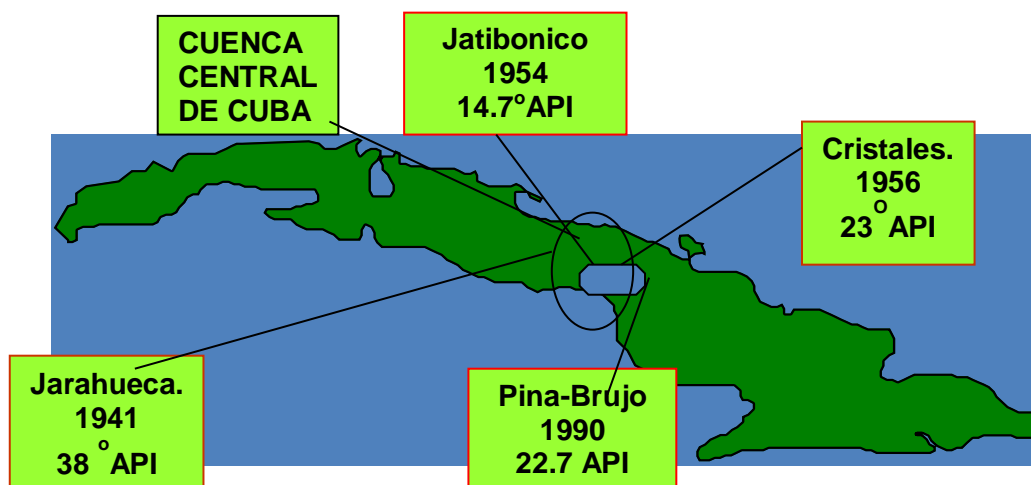
La gestión medioambiental de las empresas de CUPET requiere como necesidad prioritaria, brindar solución a los problemas del manejo y la disposición de los residuales sólidos de origen orgánico que se generan, minimizando el impacto negativo que pudieran producir estos residuos que no son sometidos a algún tipo de tratamiento **(Romero, 2012)**.

En la isla, a partir del año 2000, se diseñó por parte del Centro de Investigación del Petróleo (CEINPET); un proyecto de Investigación y Desarrollo (I+D) titulado



“Biorremediación como alternativa al saneamiento ambiental en la industria del petróleo” que introdujo la ejecución de procesos biológicos mediante la aplicación de la biorremediación por los métodos de bioestimulación y/o bioaumentación en la aplicación del *landfarming*, técnica que proporciona la degradación del contaminante, a través de condiciones favorables del medio, temperatura, humedad; de alta eficiencia y bajo costo, elementos estos últimos considerados por ser Cuba un país subdesarrollado, imposibilitado de adquirir tecnologías de elevados costos para el tratamiento de los contaminantes de la industria (**Romero, 2012**).

Dentro de la Unión CUPET, uno de los sectores caracterizados por sus impactos ambientales significativos es el de Exploración & Producción, a cargo del desarrollo de todas las actividades primarias en la obtención y tratamiento de petróleo crudo. Dentro de este grupo se encuentra la Empresa de Perforación y Extracción de Petróleo de Majagua (EPEP Majagua) que tiene a su cargo la exploración y explotación petrolífera de la llamada Cuenca Central de Cuba que abarca desde la provincia de Villa Clara hasta el extremo más oriental de la isla en Guantánamo. Actualmente opera tres yacimientos principales entre los territorios de Sancti Spiritus y Ciego de Ávila, dos de ellos considerados como “envejecidos” según la terminología de la industria (Jatibonico y Cristales), descubiertos y en explotación desde 1954 y 1956 respectivamente, y un tercero que también ya aportó sus cálculos de reservas iniciales (Pina) descubierto en 1990 (Figura 1).





**Figura 1.** Yacimientos de petróleo explotados por la EPEP Majagua.

Aun cuando estos reservorios se definen como agotados, se mantiene su explotación bajo requerimientos específicos dado la importancia que para el país tiene la producción de este petróleo teniendo en cuenta las condiciones económicas que enfrenta la isla, considerándose por tanto, esta actividad fundamental en la sustitución de importaciones.

El crudo extraído en estos yacimientos resalta además por ser de los de mayor calidad de los que se obtienen en el país, caracterizándose por su baja concentración de sulfhídrico, impurezas, contenido de sedimentos, ser ricos en aceites básicos y oscilar sus grados API entre los niveles medios y ligeros (**Ayllón y col. 2011**), lo que justifica en gran medida la necesidad de mantener las actividades de extracción en esta región.

La EPEP Majagua explota sus yacimientos en zonas rurales caracterizadas por una intensa actividad agrícola – ganadera y cercano a varios asentamientos poblacionales, sensibles a cualquier perturbación en el equilibrio ambiental. Aparejado a esto, la entidad ha tenido que enfrentar el deterioro de sus estructuras, equipos y medios de almacenamiento por más de 6 décadas, lo que unido a la obsolescencia tecnológica, las dificultades para el mantenimiento y reposición de los mismos (por las consabidas adversidades económicas que ha tenido que enfrentar el país a lo largo de todos estos años), y el desarrollo de actividades propias de una industria petrolera subdesarrollada donde no siempre se puede contar con las condiciones y financiamientos necesarios para la preservación del medio ambiente; ha traído como consecuencia que hoy se cuente con varios pasivos ambientales que se manifiestan en la formación y desarrollo de acumulaciones de residuos sólidos petrolizados en piscinas y tanques de recolección, así como la contaminación de suelos debido a la ocurrencia de derrames en las explanadas y líneas de trasiego de petróleo crudo. De ahí la importancia que se le confiere a este trabajo desde el enfoque socio – económico, por encaminar sus resultados a la preservación de los suelos agrícolas, el manto acuífero y la seguridad animal de la masa ganadera de las áreas circundantes, con lo que se asegura no solo la continuidad de los procesos de obtención de petróleo crudo; sino además que se



haga sobre la base de un modelo sostenible en la minimización de sus impactos ambientales, garantizando el adecuado desarrollo de otras formas de producción en equilibrio con la comunidad y el medio. Por lo expuesto anteriormente se plantea el siguiente diseño de investigación:

### **Problema Científico.**

La EPEP Majagua no cuenta hasta el momento con un Proyecto Técnico Ejecutivo para el manejo y disposición adecuada de los contaminantes petrolizados acumulados y la restauración de los suelos impactados.

**Objeto:** Manejo de residuales sólidos petrolizados y de áreas impactadas por petróleo crudo.

**Campo:** Proceso de biorremediación por *landfarming* a residuos sólidos petrolizados y suelos contaminados con hidrocarburos.

Se plantea por tanto como **Objetivo General** de esta investigación:

Proponer un Proyecto Técnico Ejecutivo para el manejo de los residuos sólidos petrolizados de la EPEP a través de la aplicación de procesos de biorremediación mediante la técnica de *landfarming*, como alternativa en el tratamiento y disminución de la carga contaminante de estos residuos

### **Objetivos Específicos**

1. Caracterizar físico-química y microbiológicamente los RSP acumulados en los centros colectores de la EPEP Majagua, así como de muestras de suelos impactados por derrames.
2. Valorar la aplicación del proceso de biorremediación por *landfarming* a escala de banco, en la degradación de 5 contaminantes provenientes de los yacimientos petrolíferos de la EPEP Majagua.
3. Evaluar económicamente la aplicación a mayor escala del método de biorremediación propuesto.



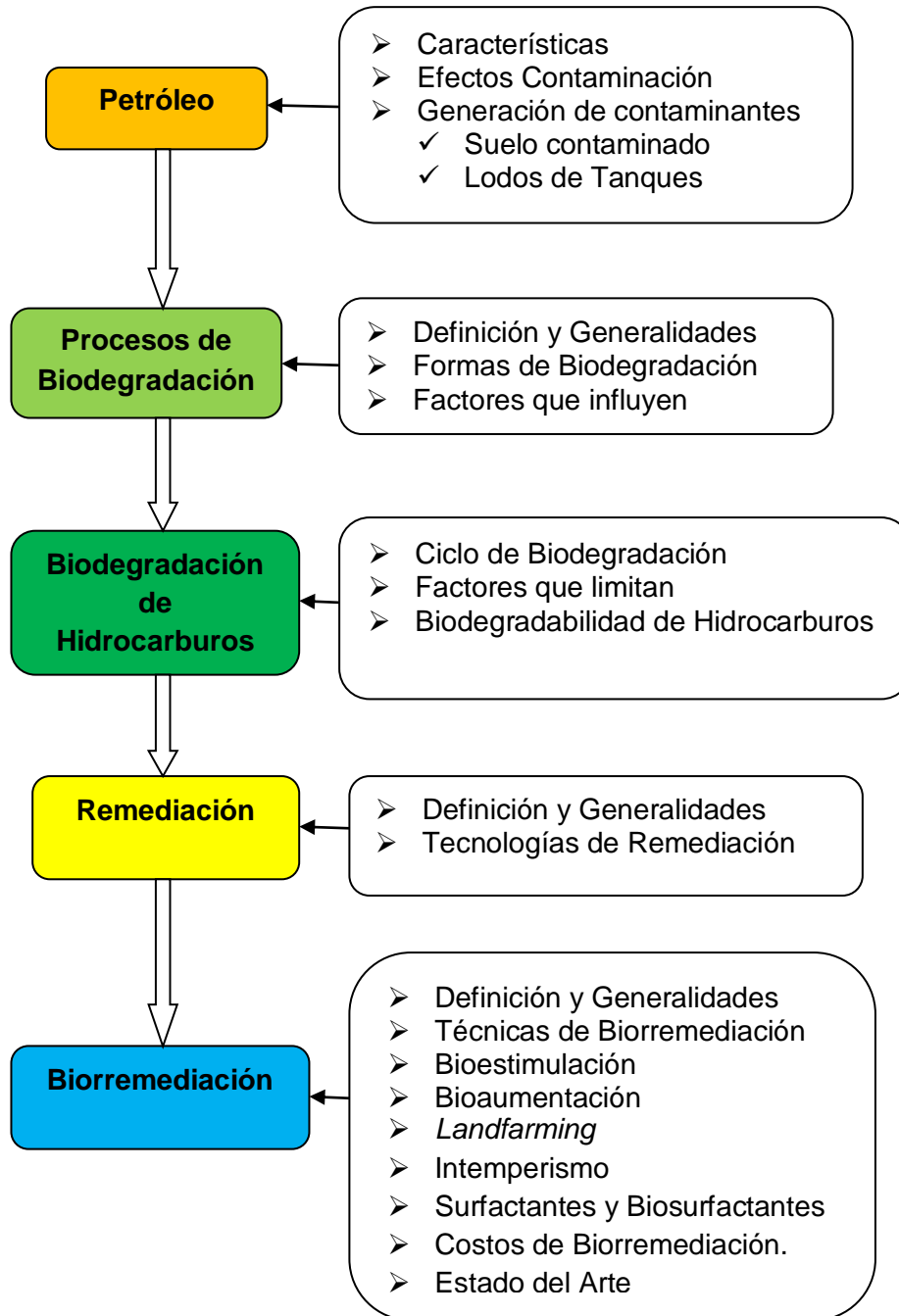
- 
4. Proponer un plan de acciones encaminado a la implementación del proceso a escala de campo en un área para la deposición de estos residuos.

A lo largo de estos últimos años los especialistas de la entidad investigan y analizan diferentes alternativas que podrían diseñarse y aplicarse para darle solución a este problema científico, encontrando en los procesos biológicos de degradación de hidrocarburos un posible recurso a considerar para esta situación por lo que se presenta la **Hipótesis** de que: Si se aplican los procesos de biorremediación por mediante la técnica de *landfarming* para el tratamiento de los RSP acumulados, y el manejo de los suelos y áreas impactadas con petróleo crudo en la EPEP Majagua a través de un Proyecto Técnico-Ejecutivo; se dará solución favorable a la degradación y disposición final de estas cargas contaminantes.

Se considera como **aporte** de este trabajo; el proyecto técnico ejecutivo para la aplicación y evaluación de la técnica de biorremediación por *landfarming* a residuos sólidos petrolizados de la región central de Cuba, a partir de los resultados obtenidos sobre el comportamiento y desarrollo de este proceso en la degradación de hidrocarburos de Cuenca Central, al considerar la diferencia en las propiedades físico – químicas de estos residuos, respecto a los tratados con procesos de biorremediación similares, en la zona occidental del país.

## Capítulo 1. Estado del arte

En esta investigación se sigue el procedimiento metodológico que se muestra a continuación:



**Figura 2.** Procedimiento metodológico para el modelo teórico conceptual.





---

## 1.2 Petróleo.

### 1.2.1 Definiciones y características.

El petróleo es el producto de la degradación anaeróbica de materia orgánica, durante largos períodos de tiempo y bajo condiciones de alta presión y temperatura, que la convierte en gas natural, crudo y derivados del petróleo. Constituye una mezcla extremadamente compleja y variable de compuestos orgánicos, donde la mayoría de los ellos son hidrocarburos, que varían en peso molecular desde el gas metano hasta los altos pesos moleculares de alquitranes y bitúmenes. Estos hidrocarburos pueden presentarse en un amplio rango de estructuras moleculares: cadenas lineales y ramificadas, anillos sencillos, condensados o aromáticos **(Petro y Mercado, 2014)** y sus fuentes son principalmente el gas natural, la hulla y el petróleo, siendo los derivados de este último, los más interesantes por sus efectos perjudiciales en el medioambiente **(Rodríguez, 2013)**. Estos compuestos están formados principalmente por carbono e hidrógeno en una proporción del 90%, mientras que otros componentes que están en menor proporción, son oxígeno, azufre y nitrógeno y se encuentran en asfaltenos, mercaptanos y piridinas, respectivamente **(García y Aguirre, 2015)**.

Mientras mayor sea el contenido de carbono en relación al del hidrógeno, mayor es la cantidad de productos pesados que tiene el crudo. Esto depende de la antigüedad y de algunas características de los yacimientos. No obstante, se ha comprobado que mientras más viejos son, tienen más hidrocarburos gaseosos y sólidos y menos líquidos entran en su composición. Son líquidos insolubles en agua y de menor densidad, comprendida entre 0,75 y 0,95 g/ml. Sus colores varían del amarillo parduzco hasta el negro. Algunas variedades son extremadamente viscosas mientras que otras son bastante fluidas **(Romero, 2012)**.

Según compilación hecha por **Rodríguez (2013)**, en función de su estructura química los hidrocarburos se pueden clasificar en cinco grupos:

- **Saturados:** Incluyen a los alcanos que son cadenas lineales (acíclicas) de carbono unidas por enlaces sencillos. Son la familia más numerosa en el petróleo crudo y se conocen como parafinas.



- **Insaturados:** Incluyen a los alquenos y alquinos que son cadenas lineales de carbono (C) unidas por enlaces dobles y triples, respectivamente.
- **Aromáticos:** Son derivados del benceno, ciclos donde los átomos de carbono se unen por medio de enlaces simples y dobles alternados. Los anillos pueden encontrarse fusionados entre sí, dando lugar a los compuestos aromáticos policíclicos (HAPs), constituyendo entre el 10 y 25% del petróleo crudo y son las fracciones más pesadas.
- **Resinas:** Agregados con una multitud de grupos del tipo sulfoxido, amida, tiofenos, piridinas, quinolinas y carbazones.
- **Asfaltenos:** Están formados por agregados de poli aromáticos, ácidos naftalenos, sulfuros, compuestos polifenólicos, ácidos grasos y metaloporfirinas. Estos últimos son a menudo considerados como no biodegradables o escasamente biodegradables, aunque algunos autores consideran como una posible biodegradación a un mecanismo de co-oxidación, en el cual estos hidrocarburos son oxidados en presencia de otros que si sirven como sustrato de crecimiento microbiano.

En términos generales, de un 70 a un 97% de los hidrocarburos del petróleo son degradables (la fracción de hidrocarburos saturados y aromáticos) y el resto representa los asfaltenos y las resinas esencialmente inertes. Cada una de las categorías agrupa compuestos con características de solubilidad, volatilidad y toxicidad propias (**Ponce, 2014**).

El término Hidrocarburos Totales del Petróleo (HCTP) se usa para describir a un grupo de sustancias químicas, derivadas del petróleo crudo. Debido al gran número de hidrocarburos involucrados, generalmente no es práctico medir cada uno de ellos, sin embargo es útil medir la cantidad total del conjunto de hidrocarburos que se encuentran en una muestra de suelo contaminada, que sirve como indicador general del tipo de contaminación (**Ponce, 2014**).

**Aldás (2014)** referencia que el petróleo se puede clasificar sobre la base de su densidad, la cual se mide en una escala desarrollada por el *American Petroleum Institute* (API) conocida como grados API. Si el crudo tiene una densidad de 10° a 22 °



API aproximadamente, debido a la presencia de hidrocarburos de gran peso molecular como las ceras, se le considera pesado, por lo que es poco soluble en agua y carece de movilidad tanto en agua como en suelo. Por otro lado, si la densidad del crudo está entre 30 y 40° API, puesto que contiene hidrocarburos de bajo peso molecular, se le denomina crudo liviano, y se caracteriza por ser más soluble en agua y tener mayor movilidad que el crudo pesado.

**Romero (2012)** expone que también es habitual clasificar a los petróleos dentro de tres grandes tipos considerando sus atributos específicos y los subproductos que suministran:

- **Petróleos asfálticos:** Negros, viscosos y de elevada densidad: 0,95 g/ml. En la destilación primaria producen poca nafta y abundante fuel oil, quedando asfalto como residuo.
- **Petróleos parafínicos:** De color claro, fluidos y de baja densidad: 0,75-0,85 g/ml. Rinden más nafta que los asfálticos. Cuando se refinan sus aceites lubricantes se separa parafina.
- **Petróleos mixtos:** Tienen características y rendimientos comprendidos entre las otras dos variedades principales antes mencionadas.

### 1.2.2 Efectos de la contaminación por hidrocarburos.

**Ponce (2014)** referenció la investigación de **Cando (2011)**, exponiendo los principales efectos que sobre el suelo, seres vivos y ser humano provoca la contaminación por hidrocarburos.

#### ✓ Efectos sobre el suelo

Los principales efectos que los hidrocarburos causan en el suelo, dependen del tipo, volumen de hidrocarburo, características físicas, químicas y microbiológicas del suelo, y los factores ambientales (humedad, temperatura, factores climatológicos). Todas las variables en su conjunto definen el tamaño en la distribución de la contaminación en una zona específica y entre los efectos más perjudiciales que sufre el suelo se tienen:



- Disminución del rendimiento de los cultivos y pérdida de calidad de los productos obtenidos.
- Impide o retarda el crecimiento de la vegetación en el área contaminada.
- Alteraciones en la población microbiana del suelo.
- Contaminación de aguas superficiales a través de la escorrentía.
- Contaminación de aguas subterráneas a través de lixiviados.
- Contaminación del aire por combustión, evaporación, sublimación o arrastre por el viento.
- Envenenamiento a través de la cadena alimenticia.
- Cuando la concentración de los contaminantes sobrepasa la capacidad de aceptación del suelo, se produce una disminución o anulación de su poder autodepurante.
- Impacto paisajístico en el sector en que se encuentra la matriz contaminada.
- Se impide el intercambio gaseoso con la atmósfera iniciando una serie de procesos físicos químicos simultáneos.
- Los elevados niveles de salinidad pueden destruir la estructura terciaria de las proteínas, desnaturalizar enzimas y deshidratar células.

✓ **Efectos de los hidrocarburos en los seres vivos**

Debido a la variedad de la composición de los hidrocarburos, los efectos en los seres vivos son muy diversos, y dependen de factores como, el tipo de compuesto químico, la cantidad vertida y el tiempo de exposición. Según el tipo de hidrocarburo se puede estimar la intensidad de los daños y efectos. Así, combustibles ligeros como la gasolina y el queroseno resultan más tóxicos que los medianos y pesados como el diesel, fuel oil o petróleo crudo (debido a que contiene grandes cantidades de hidrocarburos saturados y bajo contenido de compuestos polares), ya que su mayor volatilidad aumenta el contacto físico entre el contaminante y las células microbianas.

- **Efectos de la contaminación por hidrocarburos en el ser humano**



Las vías de ingreso de los hidrocarburos al cuerpo de las personas pueden ser, respiratoria cuando se los inhala y cuando se los ingiere con los alimentos (cadena trófica), a través del agua y por contacto directo. Cuando ingresan por vía dérmica los contaminantes son absorbidos más lentamente que cuando son inhalados o ingeridos. Luego de ingresar, estos son ampliamente distribuidos por la sangre y se transforman rápidamente, pudiendo resultar más dañinos así como menos peligrosos, esto en función de factores como el tipo, composición y la cantidad expuesta de hidrocarburos; la mayoría de los hidrocarburos abandonan el cuerpo a través de la orina o con el aire exhalado. Los constituyentes de los hidrocarburos, de bajo peso molecular (benceno, tolueno, xileno) afectan el sistema nervioso central, causan irritación de la piel, dolores de cabeza, náuseas, hormigueos en manos y pies, cuando la exposición es alta pueden provocar la muerte.

Los principales peligros provenientes de elevadas concentraciones de hidrocarburos en general, están relacionados con los HAPs principalmente por sus efectos cancerígenos. Se ha demostrado que el benceno es responsable de causar cáncer (leucemia) en los seres humanos, además la gasolina y los benzopirenos son considerados como cancerígenos para humanos. El *n*-hexano afecta el sistema nervioso central de una forma diferente, causando un desorden nervioso llamado “neuropatía periférica” caracterizada por el entumecimiento de las extremidades y en casos graves, parálisis. Cuando se ingiere gasolina y kerosene, se produce irritación en la garganta y estómago, depresión del sistema nervioso central, dificultad para respirar y neumonía. Compuestos como el antraceno, pireno, fenanteno y benzopirenos causan irritación de la piel y cáncer de piel, testículos y pulmones, siendo los alcanos presentes en las gasolinas depresores del sistema nervioso central. Los metales pesados (cadmio, cromo, plomo, magnesio, cobalto, cobre) pueden originar enfermedades diferentes cada uno, se bioacumulan en los seres vivos y entran a formar parte de las cadenas alimenticias, producen irritación de la piel, problemas reproductivos y cáncer.

#### ➤ **Daños a la fauna y flora**

Cuando los derrames de petróleo son sobre cursos de agua afectan de manera especial a las aves y la fauna acuática, impidiéndoles nadar, alimentarse y con



frecuencia volar. Numerosos estudios realizados tanto en animales de laboratorio como animales libres, demuestran que la exposición al petróleo causa lesiones en distintos órganos, cáncer, defectos en la reproducción e incluso su muerte.

Entre los efectos negativos a la flora y la fauna que se han observado se encuentran:

- En patos que han ingerido crudo; anemia hemolítica.
- Algunos estudios en ratas han confirmado la presencia de tumores en la piel, por la exposición al crudo. Además se han presentado cambios funcionales en las células hepáticas de las ratas.
- Destrucción de los hábitats, de especies endémicas, pérdida de la diversidad de las comunidades faunísticas que habitan cerca de lugares contaminados con hidrocarburos.
- Efectos negativos en la reproducción y propagación de la flora.
- Destrucción de las fuentes alimenticias de las especies superiores.
- Incorporación de carcinógenos en la cadena alimentaria.
- Reducción de la actividad fotosintética de muchas plantas, y también de su función reproductora y la fijación.
- Pérdida de parajes con valor natural, recreativo o vacacional.

### **1.2.3 Contaminantes generados en la actividad petrolera.**

#### ***1.2.3.1 Suelo contaminado con petróleo crudo.***

El suelo natural está compuesto por diferentes elementos. Cuando las cualidades originales del suelo han sido modificadas por la incorporación de agentes físicos, químicos o biológicos, entonces se trata de un suelo contaminado **(Nápoles, Rodríguez, Santiago, y Ábalos, 2015)**.

En el suelo, los hidrocarburos impiden el intercambio gaseoso con la atmosfera, iniciando una serie de procesos físico-químicos simultáneos, como evaporación y penetración, que dependiendo del tipo de hidrocarburo, temperatura, humedad, textura



del suelo y cantidad vertida pueden ser procesos más o menos lentos, lo que ocasiona una mayor toxicidad **(Petro y Mercado, 2014)**.

La contaminación de los suelos por hidrocarburos es consecuencia de los procesos de fabricación, distribución, derrames y el propio uso del petróleo y sus derivados (diesel, kerosina, naftas, gasolinas y petróleo combustible), y ellos trae consigo la pérdida de la fertilidad y capacidad biodegradativa, afectando la flora, la fauna y al propio hombre por la interrelación existente en los ecosistemas **(Nápoles et al., 2015)**.

Cuando la cantidad de hidrocarburos disminuye ya sea por disolución u otro mecanismo de remoción, se reduce la fracción del espacio poroso ocupado por los hidrocarburos, los conductos de comunicación entre los poros se tornan más pequeños y tortuosos, reduciendo la capacidad de la fase orgánica de desplazarse y cuando ya no existe suficiente volumen para que continúe la migración, la fase no acuosa en el suelo se denomina saturación residual. **(Cando, 2011; Ponce, 2014)**.

### ***1.2.3.2 Lodos de tanques de almacenamiento de petróleo crudo.***

Uno de los residuos generados por esta actividad en las plantas de tratamiento y almacenamiento son los llamados fondos de tanques. Se trata de un producto acumulado en el fondo de los tanques de almacenamiento de petróleo y otras instalaciones, formado por la precipitación de las partículas sólidas y fracciones del petróleo. Estos son periódicamente removidos ya que quitan espacio de almacenamiento y suelen contener agua, sedimentos, arenas, grasas, aceites, petróleo, compuestos orgánicos y elementos inorgánicos, como por ejemplo; metales, dependiendo de la cuenca de donde se extraiga el crudo **(Pucci O, Acuña, y Pucci G, 2015)**

Los lodos aceitosos son el resultado de la sedimentación de sólidos en los tanques de almacenamiento de crudo y de la separación de estos sólidos durante la producción. Los principales tipos de sedimentos que se encuentran en este tipo de material son arenas, limos y arcillas y, de las que, las arenas; son en mayor medida las que repercuten negativamente en la producción sin decir que sean las que se encuentren en mayor proporción **(Peña, Heredia, y Sanabria, 2010)**.



---

### **1.2.3.3 Lodos de piscinas, recolección de fluidos y aguas residuales.**

Mantienen características similares a los lodos de los fondajes de tanque pero se pueden considerar de mayor toxicidad atendiendo a la estructura de la piscina ya que algunas pueden permanecer al aire libre y directamente construidas sobre la capa vegetal, lo que acelera los procesos de intemperismo e infiltración por lixiviación al manto freático.

Las piscinas se utilizan generalmente para el almacenamiento temporal de líquidos petrolizados resultantes de varios de procesos de tratamiento y refinación de petróleo crudo. Las piscinas destinadas a la recepción de los residuales provenientes de las etapas donde se produce la ruptura de la emulsión agua – petróleo; acumulan en su fondo (por decantación), una capa sedimentaria muy contaminante debido al escurrimiento de los sedimentos acompañantes del petróleo crudo, así como trazas de hidrocarburos y metales pesados. Si estas acumulaciones no son extraídas periódicamente, esta capa de sedimentos tiende a solidificarse y compactarse, por lo que su posterior remoción y tratamiento se dificulta en extremo.

## **1.3 Biodegradación.**

### **1.3.1 Definiciones y generalidades.**

Biodegradación: se refiere al proceso natural mediante el cual bacterias u otros microorganismos alteran y convierten moléculas orgánicas en otras sustancias, como ácidos grasos y CO<sub>2</sub> (**Ponce, 2014**).

Existen varias clases de microorganismos: mohos, levaduras, bacterias, actinomicetos, protozoos, algas, virus. En gran parte, las bacterias desempeñan el papel de mayor importancia en la biodegradación de contaminantes orgánicos en suelos; los hongos también metabolizan compuestos orgánicos pero no son tan eficientes como las bacterias (**Petro y Mercado, 2014**).

A los procesos de biodegradación que tienen lugar de forma natural en el medio se les conoce como atenuación natural. La atenuación natural transforma el contaminante en formas menos tóxicas, por procesos físicos (evaporación, dispersión, dilución),





químicos (oxidación/reducción) y biológicos (degradación), y reduce la movilidad, la masa y la concentración del contaminante **(Ñustez, 2012)**.

Durante la biodegradación ocurren dos eventos principales: el consumo del sustrato y el crecimiento microbiano, los cuales están estrechamente relacionados. En el proceso se produce una transformación parcial o total de los contaminantes. La transformación parcial es la obtención de un compuesto menos tóxico que el parental, mientras que la mineralización o transformación total es la degradación hasta dióxido de carbono (procesos aerobios), agua y metano (condiciones anaerobias). Es importante destacar que la biorremediación es efectiva solo si el contaminante es biodegradable **(Riojas, Torres, Mondaca, Balderas, y Gortáres, 2010)**.

La biodegradación de hidrocarburos en diferentes ecosistemas (suelo y agua) requiere de la presencia de microorganismos que a través de la actividad bioquímica, oxiden estos. Algunas especies de microorganismos pueden metabolizar un número limitado de hidrocarburos, de manera que la presencia de poblaciones mixtas con diferentes capacidades metabólicas, es necesaria para degradar mezclas complejas de hidrocarburos como el crudo **(Ñustez, 2012)**.

### **1.3.2 Formas de biodegradación.**

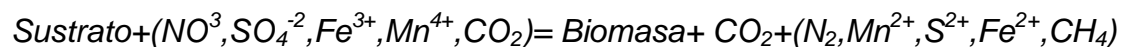
Según **Hernando (2012)**, la biodegradación se puede presentar tanto en condiciones aerobias (bacterias, hongos, algas y plantas superiores) como anaerobias (bacterias):

**Biodegradación aerobia:** en presencia de oxígeno suficiente y otros nutrientes elementales, los organismos degradan los contaminantes orgánicos hasta convertirlos finalmente en dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), agua (H<sub>2</sub>O) y una nueva biomasa celular. En la bioestimulación es común la inyección del agua junto con los nutrientes y oxígeno disuelto, que favorezca el proceso. En algunas ocasiones y para microorganismos concretos se puede añadir peróxido de hidrógeno disuelto, que dará lugar al oxígeno para que éste actúe como aceptor final de electrones.

*Substrato orgánico + O<sub>2</sub> = biomasa + CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O + compuestos inorgánicos*



**Biodegradación anaerobia:** en ausencia de oxígeno (condiciones anaerobias), los contaminantes orgánicos son metabolizados hasta metano (CH<sub>4</sub>) y cantidades limitadas de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e hidrógeno molecular (H<sub>2</sub>). Bajo condiciones sulfato-reductoras, el sulfato es transformado a ión sulfuro o azufre elemental; y bajo condiciones nitrato reductoras se genera como producto final nitrógeno molecular (N<sub>2</sub>). A menudo, los contaminantes son degradados a compuestos intermedios o finales que son más tóxicos que el contaminante inicial.



### 1.3.3 Factores que influyen en la biodegradación.

Uno de los principales problemas de la biodegradación, es que en presencia de altas concentraciones del contaminante en el suelo, pueden existir efectos de toxicidad sobre la población microbiana. Otro, es la insuficiencia de nutrientes en el suelo; sin embargo, la presencia de cantidades mínimas de nitrógeno y fósforo permiten la biodegradación, aunque en tiempos más largos. Los factores ambientales que influyen en la biodegradación son: temperatura, pH, humedad, nutrientes (principalmente nitrógeno y fósforo), aceptores de electrones (oxígeno, nitrato, sulfato) y presencia de microorganismos (Ñustez, 2012).

Ortega (2010) se refirió a los diferentes factores que afectan la biodegradación de los contaminantes y los agrupó y describió de la siguiente forma (el autor ha insertado citas posteriores a estas descripciones a modo de actualización del estado del arte sobre estos temas):

#### 1.3.3.1 Factores medioambientales.

Son aquellos necesarios a la hora de proporcionar las condiciones óptimas para el crecimiento de los microorganismos que llevan a cabo la biorrecuperación. Los microorganismos son muy sensibles a los cambios de temperatura, pH, disponibilidad de nutrientes, oxígeno y humedad. Existen determinadas especies de microorganismos que poseen un rango óptimo característico dentro del cual crecen más rápidamente. En los sistemas no biológicos, las velocidades de reacción generalmente crecen con la



temperatura. Sin embargo, los microorganismos tienen regiones de temperaturas óptimas y temperaturas por encima de las cuales la actividad microbiana se detiene.

✓ **Estructura química y concentración del contaminante.**

La biodegradabilidad de un compuesto orgánico se debe a que es utilizado por los microorganismos como fuente de carbono y ha sido definida como la capacidad intrínseca de una sustancia a ser transformada en una estructura química más simple por vía microbiana. En el mismo sentido una sustancia es biodegradable cuando puede ser descompuesta con cierta rapidez por organismos vivientes (bacterias, hongos, gusanos e insectos) **(Hernando, 2012)**.

Cuando la concentración de contaminante es alta puede ocurrir inhibición de la actividad microbiana por toxicidad de la fuente de carbono. Se han registrado en ensayos de campo procesos biológicos a concentraciones de contaminantes de hasta 30 %. Por encima del 30 % la velocidad de degradación es muy baja aunque no nula. Utilizando la técnica de bioaumentación se ha aumentado la velocidad.

Los compuestos xenobióticos, con el tiempo van modificando su composición por acción de los agentes ambientales, la actividad microbiana y los diferentes procesos físicos químicos que tienen lugar. Como resultado de ello el contaminante se enriquece en compuestos pesados, más difíciles de degradar; por lo que la velocidad de transformación disminuye con el envejecimiento de la contaminación.

✓ **Temperatura.**

Generalmente, las especies de bacterias crecen bien en intervalos de temperatura relativamente reducidos. Las bacterias clasificadas como mesófilas crecen desde los 15 hasta cerca de 45° C, teniendo un intervalo de crecimiento óptimo entre 25 y 35° C. Las psicrófilas se desarrollan mejor a temperaturas entre 45 y 65° C. Dentro de cada división, los diferentes grupos de bacterias tienen diferentes intervalos de temperatura óptima a la cual estas se desarrollan. Por regla general de cálculo aproximado, cada 10° C de incremento en la temperatura, la tasa de bio-transformación incrementa alrededor del doble. Esto es cierto, sin embargo solamente alguna baja en la temperatura óptima causa un decremento en la tasa de reacción. En general, las



temperaturas superiores a 40° C decrece la biodegradación debido a desnaturalización de enzimas y proteínas y a temperaturas aproximadas a 0° C se detiene esencialmente la biodegradación.

✓ **pH.**

El pH puede afectar significativamente la actividad microbiana. El crecimiento de muchos microorganismos normalmente es máximo dentro de un intervalo de pH entre 6 y 8, aunque algunos hongos tienen regiones de crecimiento óptimo a niveles de pH menores que 5.

Condiciones altamente ácidas o alcalinas inhiben la actividad microbiológica y muchas bacterias se benefician de las condiciones neutras. Sin embargo existen bacterias que se adaptan bien a condiciones ácidas o básicas.

El pH también afecta la solubilidad del fósforo, un nutriente importante para los microorganismos. La solubilidad del fósforo se maximiza a valores de pH superiores de 6.5 y el transporte de metales se minimiza a valores de pH superiores a 6.

✓ **Humedad.**

La humedad constituye un factor importante en la biorrecuperación debido a que los microorganismos obtienen todos los nutrientes necesarios para su crecimiento de soluciones. Desafortunadamente, la solubilidad del oxígeno en agua es muy baja y unos contenidos altos de humedad se traducen en una baja disponibilidad de oxígeno. La humedad tiene gran influencia en la actividad microbiana, el agua es el mayor componente del protoplasma bacteriano y su suministro es esencial para el crecimiento y mantenimiento de los microorganismos.

✓ **Nutrientes.**

Los nutrientes son aquellos compuestos químicos necesarios para el crecimiento microbiano que no proporcionan energía o carbono a los organismos. Son regularmente asimilados desde un número limitado de estados elementales y por lo tanto, la cantidad de nutrientes presentes y el estado de los mismos son importantes. Frecuentemente uno o dos nutrientes presentes en el ambiente, limitan el crecimiento microbiano.



Cuando hay un vertido de petróleo en ambientes que presentan una baja concentración de nutrientes inorgánicos se suelen producir elevados cocientes C:N (Carbono y Nitrógeno) y/o C:P (Carbono y Fósforo), los cuales son desfavorables para el crecimiento microbiano. Es bien conocido que la disponibilidad de N y P limita la degradación microbiana de hidrocarburos. De esta manera, el ajuste de estas proporciones mediante la adición de los nutrientes en forma de fertilizantes oleofílicos estimulará la biodegradación.

En general se acepta que las bacterias del suelo necesitan una proporción de C:N:P de 30:5:1 para un crecimiento balanceado (**Izquierdo, 2013**). Sin embargo, a nivel aplicado, las proporciones molares óptimas de C:N:P descritas en la bibliografía respecto al carbono a degradar son muy distintas. La EPA recomienda utilizar proporciones C:N que oscilan entre 100:10 y 1000:10 para la remediación de suelos contaminados por hidrocarburos, mientras que en la bibliografía las proporciones más habitualmente utilizadas oscilan entre 100:10:1 y 300:10:1 (**Romero, 2012**). La estimulación de las bacterias del suelo generalmente se produce cuando se logra esta proporción de nutrientes después de la adición de los mismos (**Izquierdo, 2013**).

Debe tenerse en cuenta que aunque la adición de nutrientes es beneficiosa para estimular los procesos de degradación, existen casos en donde se ha descrito un efecto inhibitorio como consecuencia de la adición de un exceso de nutrientes orgánicos.

#### ✓ **Biodisponibilidad.**

La biodisponibilidad es un punto clave en el destino de los contaminantes en ecosistemas y sus efectos sobre las especies individuales y poblaciones y está notablemente afectada por las propiedades del suelo y su grado de envejecimiento. Se considera un factor crítico para la biodegradación ambiental de los hidrocarburos. Además, es un proceso dinámico, determinado por la tasa de transferencia de masa del sustrato a las células microbianas en relación a su actividad catabólica intrínseca. Para determinadas poblaciones microbianas, la biodisponibilidad de un contaminante puede estar condicionada por factores físicos, como las limitaciones para la difusión del mismo



por la presencia de microporos, la distribución del contaminante, y la baja difusión a través de los agregados del suelo **(Izquierdo, 2013)**.

La biodisponibilidad de un contaminante depende, además de sus propiedades físico químicas (solubilidad en agua, densidad), de las propiedades físico-químicas de la matriz del suelo, como el pH, textura y materia orgánica. Otra limitación son los procesos químicos como la adsorción (sobre todo a partículas de arcilla y materia orgánica) y la presencia de fases líquidas no acuosas, que originan una baja velocidad de reparto a la fase acuosa **(Izquierdo, 2013)**.

El fenómeno de envejecimiento (*aging o weathering*) o secuestro, causa un gran impacto sobre la biodisponibilidad de los contaminantes, y se produce como consecuencia de un largo tiempo de residencia del contaminante en el medio, lo que produce una interacción física o química con componentes del suelo, subsuelo o sedimento, alterándose el comportamiento de la molécula. La formación de fracciones de hidrocarburos resistentes a la desorción, muy poco bioaccesibles, da lugar al secuestro de hidrocarburos, proceso del cual se conoce muy poco, que incluye la absorción a fracciones húmicas condensadas en partículas arcillosas, adsorción a las fracciones del carbón negro presente en sedimentos y fenómenos de difusión dentro de los agregados del suelo **(Izquierdo, 2013)**.

Las poblaciones microbianas han desarrollado una serie de adaptaciones para mejorar la accesibilidad a los contaminantes, en respuesta a biodisponibilidad reducida, entre estas adaptaciones se han descrito la producción de biotensoactivos, o la presencia de fenómenos de quimiotaxis. La insuficiente biodisponibilidad de los hidrocarburos puede ser mejorada con el uso de biosurfactantes **(Izquierdo, 2013)**.

La biodisponibilidad de los hidrocarburos se reduce con el tiempo debido a un proceso de envejecimiento. Entre las posibles causas se mencionan reacciones de oxidación química que incorporan el contaminante dentro de la materia orgánica, difusión lenta dentro de los poros muy pequeños y adsorción en las paredes de los mismos, así como la formación de películas semi-rígidas alrededor de los líquidos en fase no acuosa, con



una alta resistencia a la transferencia de la masa en acuíferos y reactores *slurry* (Rodríguez, 2013).

✓ **Población microbiana.**

La población microbiana es el factor determinante para que ocurra el proceso de biodegradación. Se necesita una población microbiana adaptada, que posea las enzimas necesarias que catalicen las reacciones de degradación. Los microorganismos pueden degradar los contaminantes en forma de cultivos puros, mixtos o consorcios (que siempre es más eficiente que el cultivo puro). En los consorcios se establece una compleja interacción de las especies microbianas.

Diversos estudios demuestran que los microorganismos autóctonos degradan con mayor facilidad los contaminantes locales, que los provenientes de otras regiones. Cuando las poblaciones microbianas se encuentran en bajas densidades, se puede retardar o no llevar a cabo la degradación del contaminante. Sin embargo, la bioaumentación con la microflora nativa acelera la degradación (Tirado, Acevedo, Romo, Marmolejo, y Gayosso, 2015).

El número de microorganismos heterótrofos totales en suelo, considerado como típica se encuentra en una cuenta total de  $10^7$  a  $10^9$  UFC/g de suelo; para degradadoras potenciales en suelos no contaminados entre  $10^5$  y  $10^6$  UFC/g; y entre  $10^6$  y  $10^8$  UFC/g en suelos contaminados (Rodríguez, 2013).

✓ **Cometabolismo.**

El cometabolismo es el proceso a través del cual algunos componentes orgánicos (que los microorganismos no pueden degradar si se hallan como única fuente de carbono) son transformados en presencia de otro sustrato natural adicional, por ejemplo azúcares. En hábitats naturales puede suceder la co – utilización simultánea por bacterias aerobias heterótrofas, de muchos sustratos diversos y se puede lograr un incremento importante estimulando la población microbiana existente por incorporación de nutrientes (Lladó, 2012).



Generalmente, los productos del cometabolismo son metabolitos o subproductos parcialmente oxidados o transformados, que pueden ser utilizados por otros microorganismos y de esta forma continuar hasta la degradación completa del compuesto contaminante **(Hernando, 2012)**.

Al contrario de las bacterias, los hongos no asimilan los HAPs como fuente de carbono y energía, así que requieren de cometabolismo para detoxificarlos **(Lladó, 2012)**.

### **1.3.3.2. Factores físicos.**

Los factores físicos de mayor importancia en la biorrecuperación son la disponibilidad del contaminante para los microorganismos, la presencia del agua y la provisión de un aceptor de electrones adecuado, como por ejemplo el oxígeno.

La disponibilidad constituye un concepto complejo, relacionado con la afinidad de los contaminantes por las fases sólida y gaseosa. Muchos de los contaminantes más habituales poseen una baja solubilidad en agua y son absorbidos con gran intensidad por partículas sólidas. Por ejemplo los hidrocarburos derivados del petróleo son apolares, y de entre todas las fases tiende a distribuirse en la fase sólida principalmente, lo que resulta en unas concentraciones del contaminante en la fase líquida muy baja.

### **1.3.3.3. Factores químicos.**

El factor químico más importante en biorrecuperación es la estructura molecular del contaminante, como ésta afecta a sus propiedades químicas y físicas y su capacidad para ser biodegradado. Esta capacidad está relacionada con factores tales como la solubilidad, el grado de ramificación, el grado de saturación, y la naturaleza y el efecto de los constituyentes. La solubilidad constituye una propiedad fundamental, ya que los microorganismos toman los nutrientes de una solución acuosa. Una elevada solubilidad se traduce en una gran disponibilidad, en potencia, de un determinado compuesto. Aunque la rotura de los enlaces carbono - carbono saturados no conlleva dificultad, el grado de saturación está relacionado con la volatilidad y la solubilidad. Los microorganismos degradan con dificultad anillos saturados, o los alcanos muy ramificados.





---

✓ **Salinidad**

Hay una relación inversa entre salinidad y biodegradación de hidrocarburos de petróleo. Se ha visto, que a concentraciones salinas superiores al 2,4% (p/v) de NaCl (cloruro de sodio), el efecto inhibitor es mayor para la degradación de fracciones aromáticas y polares que para la fracción saturada. No obstante, se conocen microorganismos capaces de oxidar hidrocarburos a una concentración salina del 30% (p/v) de NaCl.

La salinidad tiene consecuencias negativas sobre la actividad microbiológica del suelo y la contaminación por hidrocarburos se asocia a tasas moderadas o altas salinidad en los suelos las cuales pueden destruir la estructura terciaria de las proteínas, desnaturalizar enzimas y deshidratar células. Todo esto hace que se destruyan muchos microorganismos indispensables para el mantenimiento de la funcionalidad del suelo, lo cual podría ser perjudicial para la biorremediación de los suelos contaminados con estos compuestos, puesto que la actividad de los microorganismos del suelo es de vital importancia para que se lleve a cabo la degradación de los hidrocarburos presentes en el mismo **(Rodríguez, 2013)**.

✓ **Polaridad y solubilidad.**

Los compuestos apolares suelen ser hidrófugos y tienden a concentrarse en la materia orgánica que se encuentra en el terreno. Como consecuencia, los compuestos apolares tienen menos movilidad en el terreno y en aguas subterráneas, y la difusión de compuestos apolares en acuíferos es normalmente más lenta que la de compuestos polares. La solubilidad tiene un significado similar al de la polaridad, Aunque está más directamente relacionado con la disponibilidad potencial de compuestos en la fase líquida. Los microorganismos, principalmente bacterias y hongos, llevan a cabo la biorrecuperación, por lo que los contaminantes deben estar disueltos para que se produzca el proceso de transformación.

**1.3.3.4. Factores microbiológicos.**

Las transformaciones biológicas de compuestos orgánicos están catalizadas por acción de las enzimas. La biodegradación de un compuesto específico es frecuentemente un



proceso que se realiza paso a paso en el cual hay muchas enzimas y muchos organismos.

Las enzimas son específicas en términos de los compuestos que atacan y las reacciones que catalizan. Más de una enzima es requerida para romper una sustancia orgánica. Frecuentemente, los organismos que tienen las enzimas para degradar el contaminante ya están presentes en el medio a remediar. Por ejemplo éste es el caso para los hidrocarburos de petróleo. Sin embargo la degradación de otros contaminantes, no ocurre debido a imitaciones ambientales tales como oxígeno, nutrientes, humedad y pH.

Las bacterias desempeñan el papel más importante en la biodegradación de contaminantes orgánicos en suelos y aguas subterráneas. Los hongos, similares a las bacterias, metabolizan compuestos orgánicos pero no compiten bien en muchos sistemas ingenieriles de biorrecuperación. En suelos bien aireados, las bacterias y los hongos son muy importantes, pero en suelos pobremente aireados solamente las bacterias son responsables de los cambios.

#### **1.3.4 Biodegradación de hidrocarburos.**

La biodegradación de los hidrocarburos es la degradación biológica del petróleo y sus derivados, llevada a cabo por bacterias y hongos que poseen la capacidad de oxidarlos y metabolizarlos (transformarlos en dióxido de carbono y agua) o transformarlos en biomasa. Dado que los microorganismos requieren de nitrógeno y fósforo para incorporar en la biomasa, el aprovechamiento de éstos en los suelos con derrames es un factor crítico para su posible degradación. Es posible la aceleración del proceso por adición de urea, fosfato, fertilizante del tipo NPK (**Bermúdez, 2009**).

La degradación de hidrocarburos se lleva acabo principalmente por bacterias, seguidas por los hongos, levaduras y algas, entre otros (**Petro y Mercado, 2014**).

Aunque la biomasa microbiana del suelo pueda representar una fracción relativamente pequeña del total de la biomasa en los ecosistemas terrestres, que según algunas estimaciones representa del 1 al 5% de la fracción orgánica del suelo, la actividad de la



misma es de la máxima importancia para la biodegradación, la mineralización y la inmovilización de los constituyentes orgánicos (**Rodríguez, 2013**).

En el proceso de biodegradación los microorganismos utilizan de los hidrocarburos el carbono como única fuente de energía y nutrientes, mediante procesos oxidativos, esta oxidación es progresiva desde los compuestos más susceptibles (saturados, aromáticos) hasta los más resistentes (resinas, asfaltenos) (**Ñustez, 2012**). Este es inversamente proporcional a la concentración inicial del contaminante, probablemente por la inhibición del metabolismo celular y formación de intermediarios tóxicos (**Ferreira, Santos, y Pessoa, 2013**).

Aunque estudios recientes demuestran la degradación de hidrocarburos alifáticos y aromáticos de bajo peso molecular en condiciones de anaerobiosis y en presencia de aceptores de electrones apropiados ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ , algunas moléculas orgánicas, etc.) La degradación en presencia de oxígeno es más rápida y extensa (**Izquierdo, 2013**).

#### ***1.3.4.1 Fundamentación bioquímica de la biodegradación de hidrocarburos.***

El fundamento bioquímico de la biorremediación se basa, principalmente, en la serie de reacciones de oxidación-reducción (cuyo fin es la obtención de energía) que se producen en la cadena respiratoria, o transportadora de electrones de las células. La cadena la inicia un sustrato orgánico (compuestos hidrocarburoados) que es externo a la célula y que actúa como dador de electrones, de modo que la actividad metabólica de la célula acaba degradando y consumiendo dicha sustancia. Los aceptores más comúnmente utilizados por los microorganismos son el oxígeno, los nitratos, el hierro (III), los sulfatos y el dióxido de carbono. Cuando el oxígeno es utilizado como aceptor de electrones la respiración microbiana se produce en condiciones aerobias y los procesos de biodegradación serán de tipo aerobio; sin embargo, si utiliza los sulfatos o el dióxido de carbono se produce en condiciones reductoras o anaerobias, y los procesos de biodegradación serán de tipo anaerobio (**Ponce, 2014**).



---

#### **1.3.4.2 Ciclo de biodegradación de hidrocarburos.**

**García (2015)** expone que (**Das y Chandran, 2011**) observaron que el orden de degradación fue: alcanos-lineales > alcanos-ramificados > aromáticos de bajo peso molecular > ciclo alcanos mientras que (**Petro y Mercado, 2014**) referenciaron que **Ponce (2014)** desde un punto de vista de biodegradabilidad, los hidrocarburos pueden ordenarse de mayor a menor biodegradabilidad en: alcanos lineales > alcanos ramificados > aromáticos ligeros > alcanos cíclicos > aromáticos pesados > compuestos polares.

#### **1.3.4.3 Factores que limitan la biodegradación de hidrocarburos.**

La biodegradación de los hidrocarburos es un proceso natural limitado por el pH, los nutrientes, la aireación y humedad del suelo. La reducción del efecto negativo de los hidrocarburos en el suelo puede no ser debida únicamente a la biodegradación, sino también a su adsorción en compuestos orgánicos y a otros factores abióticos (**Rodríguez, 2013**).

Una característica común de los hidrocarburos es que son biodegradables de forma aerobia y anaerobia. Sin embargo, la tasa de biodegradación aerobia depende de la complejidad de la molécula contaminante y de la disponibilidad de aceptores de electrones. Los hidrocarburos grandes muy ramificados, o que contienen muchos anillos aromáticos son difíciles de degradar. Uno de los aspectos de su escasa biodegradabilidad es su baja solubilidad en agua. El otro es que la compleja estructura hace difícil que los organismos encuentren el lugar para realizar el ataque enzimático inicial. El paso inicial en la degradación de hidrocarburos por bacterias, es generalmente, la introducción de oxígeno en la molécula, que requiere una inversión de energía y oxígeno elemental. El hidrocarburo se oxida mediante dos electrones. La ventaja para los microorganismos es que los productos de las reacciones de oxigenación están más disponibles (**Ñustez, 2012**).

La concentración y composición de la comunidad microbiana y la tasa de transformación de contaminantes está influenciada por diversos factores, entre ellos, necesidad de nutrientes, pH del suelo, temperatura, humedad y la estructura química



del hidrocarburo: que es inherente a la biodegradabilidad y depende en gran medida, de su estructura molecular; siendo los parámetros que más van a afectar; la halogenación, la existencia de ramificaciones, la baja solubilidad en el agua y la diferente carga atómica. La facilidad con que los hidrocarburos pueden ser removidos de los suelos varía inversamente con el intemperismo del contaminante **(Canasa, 2010)**.

**Rodríguez (2013)** expone que según se indica en el trabajo de **García (2012)**, la disponibilidad del contaminante para los microorganismos del suelo juega un papel fundamental para su biodegradación; esta biodisponibilidad puede verse afectada por algunas propiedades del suelo como su textura o el contenido y características de su materia orgánica. Por otra parte, la biodegradación de los hidrocarburos en el suelo no depende únicamente de la presencia de microorganismos degradadores y de nutrientes, sino que también puede verse afectada por la inmovilización de estos hidrocarburos en los agregados del suelo y en la materia orgánica. Esta inmovilización podría ser mayor en los suelos enmendados debido al aporte adicional de materia orgánica que la enmienda conlleva y será mayor cuando esta materia orgánica esté estabilizada, como es el caso del compost de biosólido.

#### ***1.3.4.4 Factores que afectan la biodegradabilidad de los hidrocarburos (Rodríguez, 2013).***

Diversos estudios en la Universidad de Idaho muestran como la degradación de los hidrocarburos por parte de los microorganismos en el medio ambiente está fuertemente influenciada por algunos factores del suelo y según la **(EPA 1993)** los parámetros más importantes en los tratamientos de biorremediación del suelo incluyen: los horizontes del suelo, profundidad, textura, densidad aparente, porosidad, conductividad hidráulica, permeabilidad, labrado, capacidad de cambio de cationes y aniones, contenido en materia orgánica, pH, contenido en agua, capacidad de retención hídrica, contenido de nutrientes, salinidad, potencial redox, color y actividad biológica. Muchos de estos parámetros están relacionados entre sí y dependerán unos de otros.

También se consideran la naturaleza y los niveles de contaminante como factores limitantes para el éxito de los tratamientos de biorremediación.



➤ ***Naturaleza y concentración del contaminante.***

No todos los hidrocarburos son iguales y dependiendo de su estructura y naturaleza serán más o menos fáciles de degradar. La biodegradabilidad de un compuesto orgánico está basada en que pueda ser utilizado por los microorganismos como fuente de carbono, y esta capacidad de ser biodegradado dependerá de factores como la solubilidad, grado de ramificación, grado de saturación, y la naturaleza y el efecto de los sustituyentes. La peligrosidad de la contaminación por hidrocarburos derivados del petróleo depende del tipo y concentración del contaminante, y aunque son moléculas susceptibles al tratamiento de biorremediación, los hidrocarburos de cadena larga (de más de 20 carbonos) y los hidrocarburos poli cíclicos aromáticos de 5-6 anillos, pueden ser considerados como los materiales que se degradan con más lentitud (**EPA, 1993**). De forma genérica los hidrocarburos más sencillos, que son los saturados, de cadena lineal y con enlaces simples, son los más fáciles de degradar, mientras que conforme la molécula se hace más compleja con la presencia de dobles y triples enlaces serán más difíciles de degradar, siendo los hidrocarburos más complejos todavía, como los poli aromáticos, los más persistentes.

➤ ***Propiedades físico - químicas del suelo.***

Son muchas las propiedades del suelo que afectan, de una u otra forma, al éxito de las técnicas de biodegradación. Según indica la (**EPA 1993**); el tipo de horizonte, la profundidad a la que se encuentra el límite de la roca madre o los acuíferos, y la textura (definida como la proporción de arenas, limos y arcillas que posee), determinarán el lugar en el que se encuentre el contaminante, puesto que estos factores afectan de forma directa o indirecta, a la movilidad de dicho contaminante a través del suelo.

La textura del suelo influirá en la porosidad, conductividad hidráulica, permeabilidad, facilidad de labrado, capacidad de cambio, y capacidad de adsorción de contaminantes, lo que intervendrá en la localización y disponibilidad del contaminante.

La porosidad, conductividad hidráulica y permeabilidad, describen las características del suelo y la velocidad de movimiento del agua a través del mismo, lo que influye en la movilidad de agua y gases en el suelo y es de particular importancia en los tratamientos



de biorremediación porque la proporción de gas y agua en el suelo es importante para mantener una adecuada actividad microbiana.

➤ **Aireación.**

La biorremediación de los hidrocarburos es considerada un proceso aerobio. Se ha comprobado que el rendimiento de esta técnica se mejora con una correcta oxigenación, puesto que bacterias y hongos catabolizan los hidrocarburos alifáticos, cíclicos y aromáticos mediante reacciones de oxidación.

Aunque estas serán las reacciones mayoritarias, también existe una pequeña parte de biodegradación de forma anaerobia que se debe tener en cuenta para una descontaminación total del suelo.

➤ **pH del medio.**

Como ocurre en todas las reacciones bioquímicas, el pH del medio es un factor crucial puesto que dependiendo de este parámetro se consigue la velocidad máxima de reacción. En el caso de los microorganismos del suelo se considera que con un pH en torno al neutro (entre 6-8) el metabolismo de las células es óptimo. Los hongos, por el contrario, son capaces de funcionar correctamente con pH más ácidos.

➤ **Presencia de metales pesados y sales.**

La presencia de metales pesados genera un grave estrés a los microorganismos del suelo inhibiendo su desarrollo, o incluso, a elevadas concentraciones, pueden tener un efecto letal, lo que influirá considerablemente en la biodegradación del hidrocarburo por parte de estos microorganismos. Lo mismo ocurre con la presencia de sales, por este motivo, y siempre que sea posible, se deben evitar ambientes contaminados con metales pesados y/o sales para aplicar técnicas de biorremediación de suelos contaminados con compuestos orgánicos.

➤ **Condiciones ambientales.**

La humedad y temperatura también afectan directamente a la biodegradabilidad de los hidrocarburos, puesto que son dos condiciones ambientales indispensables a tener en cuenta para el desarrollo microbiano.



La presencia de agua en el ambiente es fundamental para que los microorganismos sobrevivan y se desarrollen adecuadamente. Además, el agua es indispensable para el transporte de los sustratos y para que los mismos se encuentren biodisponibles para los microorganismos degradadores.

Estudios han determinado valores óptimos de humedad del suelo entre 30 y 90 % de su capacidad de saturación de agua, indicando que se debe mantener en torno al 70 % la humedad del suelo para optimizar la actividad microbiana. Según indica la **EPA (1993)**, la actividad de los microorganismos aerobios, es óptima cuando la humedad del suelo está entre el 70 y 80 % de su capacidad de campo. Tanto la escasez como el exceso de humedad afectarán de forma negativa a la degradación de los hidrocarburos ya que por una parte, en ausencia de agua no se puede desarrollar correctamente la vida microbiana, y por otra, el exceso de agua no permite la presencia de oxígeno en el suelo, lo cual es primordial para la supervivencia de estos microorganismos aeróbicos. Además los suelos relativamente secos, tienden a absorber con más fuerza los contaminantes, puesto que estos contaminantes compiten con el agua por los lugares de absorción.

➤ ***Contenido en nutrientes.***

En el suelo deben existir las condiciones idóneas para el desarrollo microbiano con el fin de que tengan un metabolismo máximo y eficaz para realizar la biorremediación de manera óptima; para ello, necesitarán la presencia de nutrientes básicos como son: una fuente de carbono, que la encontrarán en la propia molécula del hidrocarburo; una fuente de nitrógeno, necesaria para la producción de aminoácidos y enzimas; y una fuente de fósforo, que utilizarán para la formación de compuestos energéticos dentro de la célula, los cuales son indispensables para los procesos de reproducción y degradación.

➤ ***Contenido de materia orgánica.***

Aproximadamente el 65 – 75 % de la materia orgánica del suelo, está compuesta por materiales húmicos, los cuales son mezcla de compuestos orgánicos de alto peso molecular y resistentes a la degradación. Este porcentaje no incluye los compuestos





orgánicos presentes en los contaminantes. Los suelos con elevado contenido en materia orgánica absorberán cantidades significativas de contaminantes orgánicos, como son los hidrocarburos, ya que los compuestos orgánicos tienden a absorberse en la materia orgánica del suelo retardando de esta manera su movimiento **(EPA, 1993)**.

La presencia de materia orgánica, también hace que aumente la capacidad de intercambio catiónico del suelo, incrementando la retención de los contaminantes. Además, los altos niveles de compuestos orgánicos favorecen la actividad microbiana, mejorando así la capacidad degradadora por parte de los microorganismos.

➤ ***Factores biológicos.***

***Presencia de microorganismos***

La presencia de los microorganismos en un suelo afectado por la contaminación por hidrocarburos será crucial para su recuperación puesto que gran parte de las técnicas de biorremediación utilizadas para este fin se fundamentan precisamente en estos microorganismos degradadores de hidrocarburos, siendo las técnicas más exitosas en cuanto a su capacidad degradativa. Se estima que la concentración mínima de microorganismos degradadores específicos de hidrocarburos para poder llevar a cabo la biorremediación del suelo es de  $10^3$  a  $10^4$  unidades formadoras de colonias (UFC). En el caso de que la biomasa del suelo no sea suficiente, se pueden inocular al mismo, microorganismos mediante la técnica de bioaumentación, que consiste precisamente en incentivar la degradación de los contaminantes del suelo con el aporte exógeno de microorganismos.

***Adaptación de los microorganismos al medio con hidrocarburos***

Son muchos y diversos los estudios que hablan de la importancia de la capacidad de adaptación de los microorganismos a las variables condiciones del medio. Se ha observado que la diversidad microbiológica de un suelo con hidrocarburos disminuye, con la consecuente predominancia de aquellos microorganismos bien adaptados a ese tipo de contaminación. De esta adaptabilidad depende en parte el éxito de la biorremediación del suelo, puesto que gracias a ella los microorganismos son capaces de utilizar como fuente de energía las sustancias que se encuentren a su alcance.



---

## 1.4 Tecnologías de tratamientos para la remediación de la contaminación por hidrocarburos.

En la actualidad son varias las tecnologías identificadas y desarrolladas para el tratamiento de la contaminación de suelos por hidrocarburos, las cuales pueden clasificarse en dos grupos principales: procesos físico - químicos y procesos biológicos. Además, en dependencia del tipo de contaminante también pueden ser viables otras como el relleno de seguridad o el confinamiento.

**Rodríguez (2013)** hace alusión también a las clasificaciones de contención y confinamiento para los tratamientos físicos y los define de la siguiente forma:

**Técnicas de contención:** Aíslan el contaminante en el suelo mediante barreras físicas, sin eliminarlo ni actuar sobre él. Estas barreras pueden ser verticales, horizontales, de suelo seco, sellado superficial, sellado profundo y barreras hidráulicas. Son técnicas que se utilizan para prevenir o mitigar la migración de contaminantes orgánicos e inorgánicos en suelos y aguas subterráneas. No requieren la excavación del suelo y son de bajo costo, aunque sí necesitan revisiones periódicas.

**Técnicas de confinamiento:** También llamadas de estabilización/solidificación, reducen la movilidad del contaminante mediante métodos físicos o químicos, ya sea convirtiéndolos en formas menos solubles y tóxicas (estabilización) o encapsulando el material contaminado en una estructura sólida de gran integridad estructural (solidificación). La mayoría de estas técnicas están algo limitadas con contaminantes orgánicos como los hidrocarburos, aunque siempre son una alternativa dependiendo de las características y condiciones del lugar y del vertido.

### 1.4.1 Procesos físico – químicos.

**Romero (2012)** después de una compilación bibliográfica; caracterizó y describió los procesos físico – químicos de la siguiente manera:

- **Incineración:** Transforma los metales pesados en sus óxidos, que son menos tóxicos. Puede ser utilizado para destruir los productos orgánicos y cierto número de productos inorgánicos bajo condiciones controladas, combustibles carcinogénicos y compuestos activos biológicamente. Los productos generados por



la incineración son gases y sólidos inertes. El proceso de combustión puede requerir de suministro de combustible externo o no. Sin embargo los incineradores pueden presentar problemas de contaminación dependiendo de la composición de los desechos originales. Los gases obtenidos en el proceso pueden emitir dióxido de azufre, trióxido de azufre, monóxido de carbono, cloruro de hidrógeno, óxidos de nitrógeno, metales pesados y partículas, requiriéndose en muchos casos de filtros de lavado y precipitadores electrostáticos para reducir las concentraciones de estos contaminantes a valores permisibles.

- **Solidificación o fijación química:** Técnica tradicional de disposición de desechos sólidos que pueden ser solidificados o fijados químicamente siguiendo un proceso de neutralización, desintoxicación o cualquier otro proceso físico-químico orientado hacia la reducción de su volumen. Los lodos precipitados o sólidos resultantes van a un proceso de fijación o solidificación que da como resultado un sólido con integridad estructural. Los procesos de fijación son varios pero todos persiguen el mismo objetivo: producir un sólido adecuado para relleno de tierras. El riesgo de contaminación por el lixiviado es eliminado.
- **Extracción de vapores del suelo:** Consiste en separar los contaminantes mediante la acción de un fluido, a veces aire (arrastre) y en otras ocasiones se usa agua (lavado). Una vez arrastrado el contaminante, se depura el efluente con técnicas apropiadas. Es un procedimiento muy sencillo, aplicable a suelos permeables y cuando las sustancias contaminantes tienen suficiente movilidad. No son métodos válidos cuando el suelo presenta una alta capacidad de adsorción. Son desarrollados específicamente in situ.
- **Desorción térmica:** Es otro proceso en el que se somete al suelo a temperaturas más bajas (250 - 550°C) para conseguir la desorción en vez de la destrucción de los contaminantes. Con esta técnica se puede tratar la contaminación producida por compuestos orgánicos volátiles (con un peso molecular no muy elevado, como los lubricantes, aceites minerales, gasolina, etc.) y determinados metales pesados volátiles como es el caso del mercurio. Con esta técnica hay que controlar el paso de los contaminantes a la fase gaseosa, por ejemplo se pueden eliminar en una



cámara de combustión o fijarlos sobre carbón activado. Estos métodos presentan el inconveniente de que el suelo queda completamente transformado, sin materia orgánica, sin microorganismos, sin disoluciones.

- **Extracción y lavado con solventes:** La extracción es una técnica de tratamiento que consiste en usar un solvente para separar o retirar contaminantes orgánicos peligrosos de fangos residuales, sedimentos o tierra. Este método no destruye los contaminantes, sino que los concentra para que sea más fácil reciclarlos o destruirlos con otra técnica. Esta tecnología tiene como ventaja su reducido tiempo de tratamiento y en comparación con los procedimientos térmicos, sus costos son inferiores.

## 1.4.2 Procesos biológicos.

### 1.4.2.1 Biorremediación. Definiciones y generalidades.

La biorremediación se basa en el uso de microorganismos (bacterias, hongos, levaduras y algas) o enzimas para producir una transformación parcial o total de contaminantes orgánicos. Existen diferentes técnicas de biorremediación de suelos contaminados, entre las que se destacan la bioventilación, biopilas y biolabranza. En todas ellas se busca la estimulación de los procesos degradativos que, de forma natural, tienen lugar en los ecosistemas acuáticos y terrestres (**Pucci O, Acuña, Tonin, Tiedemann, y Pucci G, 2010; Nápoles et al., 2015**)

El objetivo principal del proceso de biorremediación es utilizar el potencial metabólico de los microorganismos para transformar contaminantes orgánicos en compuestos más simples poco o nada contaminantes, y, por tanto se puede utilizar para limpiar terrenos o aguas contaminadas, con el fin de asegurar la calidad de los suelos para proteger la salud humana y el buen funcionamiento de los ecosistemas, evitando así la dispersión de la contaminación de una manera rentable (**Petro y Mercado, 2014**).

### 1.4.2.2 Aplicabilidad (Petro y Mercado, 2014)

Su ámbito de aplicabilidad es muy amplio, pudiendo considerarse como objeto cada uno de los estados de la materia:



- Sólido. Con aplicaciones sobre medios contaminados como suelos o sedimentos, o bien directamente en lodos, residuos, etc.
- Líquido. Aguas superficiales y subterráneas, aguas residuales, mares y océanos.
- Gases. Emisiones industriales, así como productos derivados del tratamiento de aguas o suelos.

También se puede realizar una clasificación en función de los contaminantes con los que se puede trabajar:

- Hidrocarburos de todo tipo (alifáticos, aromáticos, BTEX, HAPs).
- Hidrocarburos clorados (PCBs, TCE, PCE, pesticidas, herbicidas).
- Compuestos nitro aromáticos (TNT y otros).
- Metales pesados. Estos no se metabolizan por los microorganismos de manera apreciable, pero pueden ser inmovilizados o precipitados.
- Otros contaminantes. Compuestos órgano fosforados, cianuros, fenoles, etc

### **1.4.2.3 Bioestimulación – Bioaumentación.**

Como técnicas para potenciar la eficiencia y efectividad de los procesos de biorremediación se utiliza, cuando los requerimientos lo demandan; las técnicas de bioestimulación y bioaumentación.

**Bioaumentación:** Consiste en la inoculación de alguna cepa bacteriana o consorcio bacteriano con buen potencial de degradación con el fin de incrementar la capacidad de biorremediación del sistema (**Álvarez, 2015**).

El proceso puede llevarse a cabo con microorganismos alóctonos o autóctonos (**Álvarez, 2015**) teniendo en cuenta que a veces su cantidad no es lo suficientemente elevada como para que actúen de un modo eficaz, y en ese caso, las inoculaciones pueden ser útiles para descontaminar un ambiente determinado (**Rodríguez, 2013**).

En los últimos años, la bioaumentación con microorganismos autóctonos aislados del lugar a remediar posee mayor grado de aceptación, debido a que no se realiza el aporte de nuevo material genético al ambiente, sino que simplemente se aumenta el número



de células del microorganismo inoculado con el fin de acelerar el proceso de eliminación del contaminante (**Álvarez, 2015**).

**Bioestimulación:** Proceso donde se incrementa el potencial de degradación de las comunidades microbianas naturales del lugar, pero sin modificar la diversidad genética (**Álvarez, 2015**), proporcionando las condiciones ambientales adecuadas mediante el uso de enmiendas tales como adición de nutrientes, regulación de condiciones redox, cambio de pH, u otras condiciones diversas sobre las que se puede influir (**Rodríguez, 2013**).

Como el principio de este proceso radica fundamentalmente en la optimización de las condiciones ambientales, físico – químicas y biológicas para que los microorganismos puedan desarrollarse y degradar con mayor eficiencia los contaminantes; las técnicas y métodos que se empleen en sistemas de biotratamiento para lograr estos requerimientos estarán acorde a las características específicas de los contaminantes, los sustratos de suelo empleado y por tanto necesidades reales que se identifiquen para lograr el equilibrio del proceso.

**Valdés (2013)** llegó a la conclusión de que una de las ventajas de la bioaumentación es que, con la adición del inóculo específico comienza inmediatamente la biodegradación mientras que en la bioestimulación, luego de la inyección de nutrientes hay un periodo lento en el comienzo de una mayor biodegradación. No obstante la bioaumentación es menos predecible y controlable que la destrucción química o biológica de los contaminantes y por ende es la que menos se ha utilizado para incrementar la biorremediación de los contaminantes.

#### ***1.4.2.4 Ventajas y desventajas de la biorremediación.***

**Hernando (2012)** y posteriormente **Rodríguez (2013)** han expuesto las ventajas y desventajas de la aplicación de procesos de biorremediación de la siguiente forma:

#### **Ventajas:**

- Puede ser útil para retirar algunos de los compuestos tóxicos del petróleo



- Ofrece una solución más simple y completa que las tecnologías físicas o químicas.
- Es una técnica de bajo costo, comparada con otras técnicas de remediación.
- Puede ser aplicada *in situ* o *ex situ*.
- Es más efectiva que otros métodos, pudiendo lograr la detoxificación completa.
- Como subproducto se obtiene un suelo útil para la agricultura.
- Es un proceso natural, aceptado por la opinión pública y normativas medioambientales.
- Se transfiere poca contaminación de un medio a otro (gaseoso, líquido y sólido).
- Cuando se utiliza correctamente no produce efectos adversos significativos
- No requiere de equipamiento especializado para su aplicación, es poco invasiva y generalmente no requiere componentes estructurales o mecánicos que signifiquen una amenaza para el medio
- Una gran variedad de compuestos considerados legalmente como peligrosos, pueden ser biodegradados en productos inocuos.

### **Desventajas**

- Para muchos tipos de vertidos su efectividad no ha sido determinada.
- Su implementación es específica para cada lugar contaminado; requiriendo de diversos factores del sitio como la presencia de microorganismos activos y condiciones de crecimiento adecuadas
- Es aplicable casi solo a compuestos biodegradables
- Es difícil predecir el tiempo de requerido para un proceso adecuado.
- La biodegradación incompleta puede generar intermediarios metabólicos inaceptables, con un poder contaminante similar o incluso superior al producto de partida y algunos compuestos contaminantes son tan resistentes que pueden incluso inhibir la biorremediación.
- Requiere investigación multidisciplinaria para determinar y optimizar las condiciones de biorremediación.
- Su optimización requiere información sustancial acerca del lugar contaminado y las características del vertido



- El proceso es altamente sensible a tóxicos y a las condiciones ambientales.
- Es difícil extrapolar los resultados de los estudios de microcosmos en laboratorio a los tratamientos a gran escala en campo.
- Una mayor investigación es necesaria para desarrollar y diseñar tecnologías apropiadas para aquellos lugares con una mezcla de contaminantes
- Una monitorización amplia es necesaria para medir la velocidad de biodegradación
- Es difícil controlar los compuestos orgánicos volátiles durante el proceso de biorremediación *ex situ*.

#### **1.4.2.5 Tecnologías de biorremediación.**

Las técnicas de biorremediación se pueden clasificar en *in situ* o *ex situ*. En los tratamientos *ex situ* el suelo es excavado y transportado hasta la localización donde se implementará la tecnología, mientras que en los *in situ* el suelo es tratado en su emplazamiento natural. Esto conlleva una serie de ventajas como un mayor abanico de tecnologías disponibles, mejor control sobre el proceso y su evolución junto con una mayor velocidad y homogeneidad, que hacen preferibles los tratamientos *in situ* en muchos casos. En cambio, el proceso de excavación y transporte conlleva mayores costos pero las tecnologías asociadas pueden ser más efectivas en relación a contaminantes de elevada persistencia en el ambiente (Lladó, 2012).

Izquierdo (2013) presentó una compilación de los diferentes tratamientos utilizados en la biorremediación y expuso que la selección de la tecnología de biorremediación más adecuada depende de tres principios básicos: la susceptibilidad del contaminante a la transformación biológica, la accesibilidad de los contaminantes a los microorganismos (biodisponibilidad) y la capacidad de optimizar la actividad biológica.

Los tratamientos *in situ* más comunes son:

**Bioventeo (bioventing) aeróbico:** Se aplica en suelos con bajos niveles de oxígeno insuflando aire u oxígeno, para facilitar la biodegradación aeróbica de los contaminantes. En caso que se considere necesario se pueden añadir otros aditivos, como nutrientes o surfactantes. Esta tecnología está diseñada principalmente para





tratar la contaminación del suelo por los combustibles, compuestos orgánicos volátiles (COV) y compuestos orgánicos semi-volátiles (SVOCs), pesticidas y herbicidas no halogenados.

**Tecnologías combinadas:** El *bioventing* se puede combinar con otras tecnologías de remediación de suelos, como la extracción física SVE (*soil vapor extraction*), porque son tecnologías muy similares en cuanto al equipo utilizado, siendo la principal diferencia el flujo de aire.

**Fitorremediación:** Es un concepto relativamente nuevo y la tecnología aún no se ha avalado ampliamente en el mercado. Es el uso de plantas para la recuperación de suelos y aguas subterráneas. La información que se posee acerca de la fitorremediación proviene principalmente de investigaciones de campo y de laboratorio. Sin embargo, posee un gran potencial y genera un gran interés por su bajo costo, su simplicidad y la rapidez de recuperación de suelos y aguas subterráneas.

La fitorremediación es práctica sólo en situaciones donde la contaminación es poco profunda (menos de 5 m), aunque en algunas situaciones de contaminación más profunda puede ser usada en conjunción con otras tecnologías.

Los tratamientos *ex situ* se pueden clasificar según si se implementan en la zona contaminada (*on site*) o en un emplazamiento más o menos alejado (*off site*). Los tratamientos más comunes son:

**Compostaje:** Proceso biológicamente controlado que trata contaminantes orgánicos usando microorganismos en condiciones aeróbicas y termófilas (40 - 50°C). El suelo se excava y se mezcla con compuestos ricos en materia orgánica que aumentan su porosidad. La degradación de estos compuestos añadidos, genera las condiciones termófilas

**Biopilas:** Es un híbrido del *landfarming* y el composteo. La técnica consiste en la formación de pilas de material biodegradable de dimensiones variables, formadas por suelo contaminado y materiales estructurantes. Estos materiales son conocidos como agentes de volumen y se utilizan en el proceso para asegurar la generación del calor necesario para el proceso; mejorar el balance y disponibilidad de nutrientes para la



actividad microbiana, así como aumentar la porosidad de la composta (**Valdés, 2013; Romero, 2012**).

Estas pilas pueden ser aireadas de forma activa, volteando la pila, o bien de forma pasiva, mediante tubos perforados de aireación. Durante la degradación aerobia se produce calor alcanzando temperaturas de 45<sup>0</sup>C.

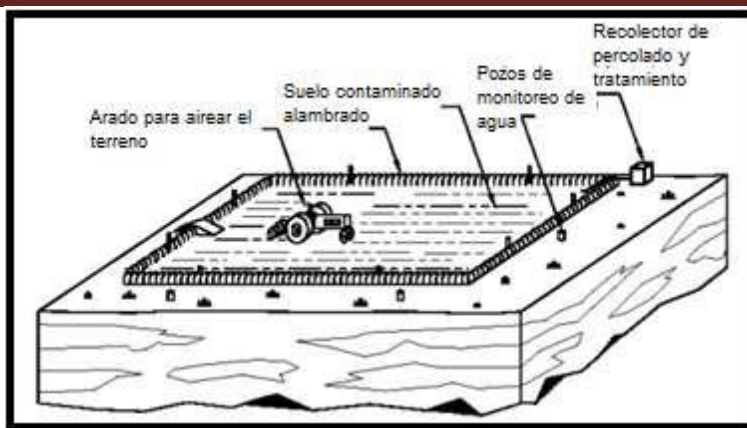
**Landfarming:** Consiste en provocar la oxidación biológica de los hidrocarburos contenidos en el suelo, estimulando la micro flora natural que se encuentra en el mismo (levaduras, hongos o bacterias) mediante la aplicación de fertilizantes, arado y riego superficial. En el fondo, se trata pues, de una bioestimulación de las poblaciones microbianas capaces de utilizar los hidrocarburos como sustratos energéticos, consiguiendo de este modo su degradación (**Rodríguez, 2013**).

Esta tecnología consiste en la aplicación de material contaminado que ha sido excavado sobre una zona de suelo delimitada formando una capa que se ara periódicamente para mezclar y airear el material. Los contaminantes se degradan, transforman y se inmovilizan por medio de reacciones bióticas y abióticas. A veces, en casos de contaminación poco profunda, la capa superior del emplazamiento puede ser simplemente labrada sin requerir ninguna excavación (**Izquierdo, 2013**).

Con la técnica se dispersa el contaminante a biodegradar sobre la capa arable (15 - 20 cm superficiales) de un terreno destinado a tal fin (**Hernando, 2012**).

Antes de extender el suelo contaminado se deben adecuar las condiciones de la superficie para controlar los lixiviados y las aguas de lluvias (**Petro y Mercado, 2014**).

La Figura 3 muestra un esquema de este tratamiento.



**Figura 3.** Esquema de tratamiento de biorremediación por landfarming (Fuente: Contaminación y remediación del suelo, <http://www.ingenieroambiental.com>).

En un estudio en el que se realizó un ensayo de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos por medio de la técnica de *landfarming*, se reportó que luego de once meses, el 80% de HTCP presentes en el suelo fueron degradados en condiciones de lluvia baja y temperaturas elevadas. Este método ha presentado resultados positivos en la degradación de hidrocarburos, en un tiempo aproximado entre seis meses y dos años respectivamente (Aldás, 2014).

La técnica de tipo *landfarming* aprovecha la superficie donde se ha realizado el vertimiento, luego de hacer la remoción de éste, las operaciones principales son, en primer lugar, la promoción de la humificación de manera controlada, mediante la adición de materia orgánica al suelo, y en segundo lugar, el incremento del metabolismo de los microorganismos mediante la agregación de fuentes de carbono de pequeño peso molecular, fácilmente asimilables por los microorganismos, así como otros nutrientes. Se trata de proporcionar poco nitrógeno como nutriente, ya que de esta forma los microorganismos se verán obligados a degradar los contaminantes, utilizándolos como fuente de nitrógeno (Hernando, 2012).

Los parámetros edáficos que determinan y condicionan la elección de un suelo para *landfarming* son: textura, estructura, pH, temperatura, porosidad, velocidad de percolación, capacidad de retención de agua, infiltración, contenido de oxígeno,



contenido de macro y micronutrientes, humedad. La bibliografía existente al respecto indica la necesidad de mantener la relación hidrocarburo - N/P/K de manera que no exceda los valores 100:10:1 (**Hernando, 2012; Romero y Rivas, 2014**).

#### **1.4.3 Intemperismo.**

Los hidrocarburos tienen tendencia a adsorberse rápidamente a superficies minerales, como las arcillas del suelo, y a la materia orgánica, como los ácidos húmicos. Por tanto, cuanto más tiempo pase en contacto el hidrocarburo con el suelo, mayor será su adsorción y menor su extractabilidad, ya sea química o biológica. Este proceso es conocido como envejecimiento o “*ageing*”, en inglés, y es uno de los principales problemas a los que se enfrenta la tecnología de la biorremediación en suelos históricamente contaminados, ya que está íntimamente relacionado con la persistencia de los contaminantes en el medio ambiente (**Lladó, 2012**).

**Ferreria y col. (2013)** exponen que el intemperismo se refiere al resultado de procesos químicos, biológicos y físicos sobre el residuo, que pueden afectar el tipo de compuestos que permanecen en el suelo y referenciaron que varios estudios de biodegradación de petróleo crudo y petróleo crudo intemperizado en suelo tropical verifican que la facilidad con que los hidrocarburos pueden ser removidos de los suelos varía inversamente con el intemperismo del contaminante.

#### **1.4.4 Surfactantes.**

Una posible forma de aumentar la biodisponibilidad de compuestos orgánicos hidrofóbicos, como los hidrocarburos, en un suelo contaminado es mediante el uso de surfactantes (**Lladó, 2012**). Estos mejoran o incrementan la transferencia de masa de los contaminantes hidrofóbicos desde la fase sólida o líquida no acuosa hacia la fase acuosa, mediante la disminución de la tensión interfacial y mediante la acumulación de los compuestos hidrofóbicos dentro de la micelas (**Valdés, 2013**).

El empleo de surfactantes en la biorremediación *in situ* puede llegar a ser una tecnología muy costosa, por lo que debe estar avalada por un incremento significativo en la eficiencia del proceso. Por esta razón, antes de su aplicación práctica deben realizarse ensayos a nivel de laboratorio, para determinar las condiciones óptimas para el diseño



del sistema tecnológico a gran escala. En estos experimentos se deben determinar la concentración de surfactantes que posibilite el mayor incremento en la biodegradación de los contaminantes, la biodegradabilidad del surfactante y su toxicidad hacia los microorganismos autóctonos (**Valdés, 2013**).

#### **1.4.4.1 Biosurfactantes**

La insuficiente biodisponibilidad de los hidrocarburos puede ser mejorada además con el uso de biosurfactantes. Las bacterias que crecen en presencia de hidrocarburos producen una serie de sustancias con propiedades tenso-activas llamadas biosurfactantes capaces de solubilizar compuestos no polares, como los contenidos en el petróleo, además estas moléculas tienen la propiedad de estimular el crecimiento microbiológico ayudando así a acelerar la biorremediación en las zonas contaminadas (**García y Aguirre, 2015**). Debido a su estructura anfifílica, estos biotensoactivos aumentan el área de superficie de sustancias hidrófobas insolubles en agua, aumentando su biodisponibilidad a la célula bacteriana. Su actividad superficial los hace excelentes emulsionantes y agentes dispersantes, con la formación de espuma (**Izquierdo, 2013**).

Existen dos tipos de biosurfactantes, los de bajo peso molecular que están compuestos regularmente por glicolípidos con cadenas largas de lipopeptidos o de ácido alifático y los de alto peso molecular compuestos de polisacáridos, proteínas, lipo polisacáridos, lipoproteínas o una mezcla de dos o más polímeros (**Valdés, 2013; García y Aguirre, 2015**).

Los biosurfactantes son más efectivos que los surfactantes químicos en incrementar la biodisponibilidad de los compuestos hidrofóbicos (**García y Aguirre, 2015**) pues son más selectivos, menos tóxicos, más resistentes a los cambios del medio ambiente y más económicos (**Valdés, 2013**).

#### **1.4.5 Ensayos de tratabilidad para la evaluación de la biorremediación.**

Antes de acometer cualquier proceso de biorremediación en un suelo con presencia de hidrocarburos, es fundamental comprobar que las poblaciones microbianas autóctonas



son adecuadas para conseguir la biorremediación propuesta **(Rodríguez, 2013)**, así como determinar la biodegradabilidad de los contaminantes del suelo **(Ponce, 2014)**.

Para determinar si es adecuado un determinado tratamiento biológico se necesita evaluar el comportamiento de las poblaciones microbianas, la degradación del contaminante y las condiciones medioambientales más favorables para el sistema creado **(Nápoles et al.; 2015)**.

**Ponce (2014)** reportó que debido a que existen una gran variedad de parámetros físico - químicos y biológicos que condicionan el proceso de biorremediación, también es necesario evaluar la influencia de los factores que afectan al proceso de la biodegradación.

Para ello se diseñan los ensayos de tratabilidad, que se definen como un conjunto de experimentos realizados a escala de laboratorio, previos a la implementación de cualquier tecnología de biorremediación a un suelo contaminado **(Ponce, 2014)**.

Primero se debe llevar a cabo una caracterización microbiológica, y determinar la cantidad de población microbiana degradadora de los contaminantes y su proporción respecto a la población total heterótrofa de la microbiota indígena del suelo contaminado. Además, es necesario evaluar si la población microbiana autóctona está metabólicamente activa o es activable en condiciones de bioestimulación. Una vez caracterizado el suelo, los contaminantes y la población microbiana; es necesario determinar la biodegradabilidad de los contaminantes mediante ensayos rápidos de biodegradabilidad (fase I) y en caso afirmativo evaluar los factores físico - químicos y biológicos que afectan a la biodegradación (fase II), mediante ensayos de microcosmos **(Ponce, 2014)**.

Por lo tanto, se hace necesaria antes de la ejecución, una investigación de factibilidad con el fin de determinar si la biodegradación es una opción viable para un sitio específico, tipo de suelo y condiciones del contaminante **(Ponce, 2014)**.



#### 1.4.6 Costos (Lladó, 2012).

Las técnicas biológicas son más rentables económicamente que las técnicas físico - químicas (Tabla 1) y no afectan otros compartimentos ambientales. Una de las limitaciones que presentan las técnicas biológicas respecto a las técnicas físico-químicas es el tiempo necesario para alcanzar una biodegradación aceptable. Durante un proceso de biorremediación se produce una ralentización del proceso de biodegradación, ya sea por un enriquecimiento de componentes más recalcitrantes o por una disminución de la biodisponibilidad de los contaminantes.

**Tabla 1.** Costos económicos de la remediación de suelos contaminados, según diferentes técnicas (datos obtenidos de la empresa Geotecnia 2000 en el año 2011).

Tipo de tratamiento	Coste medio (€/m <sup>3</sup> )
Bioventing/ <i>Biosparging</i>	26-28
Biopila	42-46
<i>Landfarming</i>	40-43
Lavado del suelo	68
Excavar + vertedero	70

Sin embargo, las técnicas físico-químicas, aun pudiendo ser más rápidas y efectivas en la disminución de la concentración de contaminantes, alteran o eliminan por completo la microbiota autóctona del suelo, modifican las características físico químicas del suelo, y además, no eliminan los contaminantes, si no que los trasladan a otro compartimento ambiental. Por lo tanto, no cumplen con los criterios de sostenibilidad en los que se debería basar los principios de protección de los suelos.

#### 1.4.7 Investigaciones precedentes.

La tendencia y enfoques en las investigaciones referentes a los proceso de biorremediación se encaminan a lograr mayor eficiencia en la degradación, potenciando el uso de los microorganismos degradadores de hidrocarburos a través de métodos novedosos de identificación, aislamiento, cultivo e inoculación de estas bacterias ya sea de forma individual o en forma de consorcios microbianos. Se evidencian además, resultados alentadores en el uso de compuestos biológicos naturales en los compostajes para la mezcla con los residuos petrolizados, favoreciendo la bioestimulación bacteriana.



**Cruz y col. (2015)** reportaron éxitos en el aislamiento, caracterización y determinación de dos cepas bacterianas (*Candidatropicalis* y *Stenotrophomonas maltophilia*) con potencialidades en el campo de la biorremediación por *landfarming*.

**Ponce (2014)**, como resultado de su investigación en el diseño de protocolos de ensayos de tratabilidad para evaluar la presencia y potencialidad de la actividad metabólica real de los microorganismos, concluyó que es deseable mejorar la actividad microbiana de organismos indígenas, más que usar microorganismos exógenos porque los microorganismos indígenas están aclimatados al material de desecho.

**Rodríguez (2013)** como resultado de su tesis doctoral demostró que el uso del *landfarming*, seguido de fitorremediación, como técnicas complementarias de biorremediación; resulta eficaz para el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos recalcitrantes procedentes de lodos y que la adición de enmiendas orgánicas como biosólido granulado y compost de biosólido, mejora la eficacia de dichas técnicas debido, principalmente; al aporte de fuentes carbonadas al suelo que incentivan el desarrollo de las poblaciones microbianas autóctonas del mismo. Concluyó además que la presencia de hidrocarburos, es el factor determinante de los cambios que se producen en las poblaciones microbianas del suelo.

En la tabla 2 se exponen algunos resultados obtenidos en Cuba por investigadores de la Unión Cupet en el manejo de sus residuos y contaminantes.

**Tabla 2.** Experiencias y resultados en la biorremediación por *landfarming* en Cuba.

Contaminante	Industria	Empresa/ Lugar	Tipo de Investigación	Días	TB (%)		Año
					HCTP	G y A	
Suelo Impactado, lodos de tanques	Comercialización	ECC Matanzas	Aplicación	75	68	42	2007
Suelo Impactado, lodos de tanques	Refinación	Sergio Soto, Sancti Spiritus	Aplicación	45	92	56	2007
Suelo Impactado, lodos de tanques	Refinación	Ñico López, Habana	Aplicación	30	60	45	2009
Lodos, suelo impactado, cortes de perforación	Perforación - Extracción	EPEP Centro, Matanzas	Aplicación (Inoculación de Hongos)	70	22	46	2010





Lodos, suelo impactado, cortes de perforación	Perforación Extracción	- EPEP Centro, Matanzas	Aplicación (Bioventilación)	90	28	50	2010
Lodos, suelo impactado, cortes de perforación	Perforación Extracción	- EPEP Centro, Matanzas	Aplicación (Adición de lodos residuales)	160	44	56	2011

### 1.5 Análisis crítico de la revisión bibliográfica.

- Los hidrocarburos son compuestos orgánicos susceptibles a los procesos de biodegradación, siendo los saturados y aromáticos los más sensibles, y las resinas y asfaltenos los más recalcitrantes o resistentes a la degradación.
- Los procesos biodegradativos deben desarrollarse bajo el control y seguimiento principalmente del pH, humedad, población microbiana y presencia de nutrientes, siendo necesario tener presente que en todo proceso de biorremediación, la biodisponibilidad constituye un factor clave y que la biodegradabilidad disminuye en los contaminantes envejecidos.
- De acuerdo a la bibliografía consultada se consideran insuficientes las investigaciones y publicaciones referidas a los efectos del intemperismo y el envejecimiento de los residuales sobre la biodegradación de los hidrocarburos, principalmente en condiciones de climas cálidos y húmedos.
- La tendencia en la aplicación de las técnicas de biorremediación se dirige a la potencialización de la bioaumentación sobre el principio del cultivo de microorganismos autóctonos presentes en los contaminantes y en las zonas donde se aplicarán los procesos biodegradativos, por encima de la importación de poblaciones microbianas externas.
- Antes de llevar a efecto proyectos a escala de campo en la aplicación de procesos de biorremediación, se deberán desarrollar ensayos de tratabilidad experimentales para determinar que se cumplen las condiciones necesarias para la biodegradación de los contaminantes.
- Las investigaciones publicadas en la bibliografía a la que se tuvo acceso sobre las experiencias en el estudio y aplicación de las técnicas de biorremediación en



Cuba, evidencian que aún se ha avanzado poco en el conocimiento y caracterización de las poblaciones microbianas autóctonas en los contaminantes de hidrocarburos de la isla, por lo que no se tienen referencias de cuáles son los tipos de microorganismos presentes y de ellos, los que tienen mayor relevancia en la degradación de los hidrocarburos cubanos, teniendo en cuenta las características específicas del clima tropical, no así en el conocimiento y caracterización de los contaminantes, según la experiencia acumulada por los investigadores y especialistas del CEINPET.

- No se encontró evidencia en la bibliografía consultada de avances en la aplicación en Cuba de las novedosas técnicas de bioaumentación predominantes hoy en el mundo donde se aíslan y desarrollan poblaciones autóctonas de microorganismos teniendo en cuenta el tipo específico de contaminante que se quiere biorremediar para su posterior inoculación.
- En Cuba se manifiestan dos frentes principales de investigación con avances en la biorremediación: la protección marina en el tratamiento de derrames en el mar o en los ecosistemas marinos y el biotratamiento a residuos y contaminantes del petróleo y sus derivados generados en los procesos de la Unión Cuba Petróleo (perforación, extracción, tratamiento, almacenamiento, refinación y obtención de aceites y grasas).
- Teniendo en cuenta los factores económicos, capacidad tecnológica, características de los contaminantes, frecuencia de averías y accidentes ambientales, se evidencia que la aplicación de procesos de biorremediación (principalmente *landfarming* y biopilas) es una opción viable para Cuba y específicamente para las actividades que se desarrollan en la Unión Cupet.
- De acuerdo a la bibliografía consultada, se puede definir el proyecto de investigación objeto de este trabajo como un proceso de biodegradación de hidrocarburos utilizando la bioestimulación con la tecnología de biorremediación *ex situ* por *landfarming*.



## **CAPÍTULO II: METODOLOGÍA Y VOLÚMEN DE LA INFORMACIÓN EN EL ÁREA DE ESTUDIO.**

### **2.1 Introducción**

El presente capítulo describe la metodología aplicada en la investigación que consta de dos etapas fundamentales:

#### **Etapla preliminar: Recopilación y revisión de la información existente.**

En esta etapa se realiza el análisis de toda la información existente sobre la temática, donde se revisa y recopila la información útil para la investigación, definiendo la situación problemática del área de estudio y conformando el estado del arte a partir de las investigaciones precedentes y elaborando el modelo teórico conceptual.

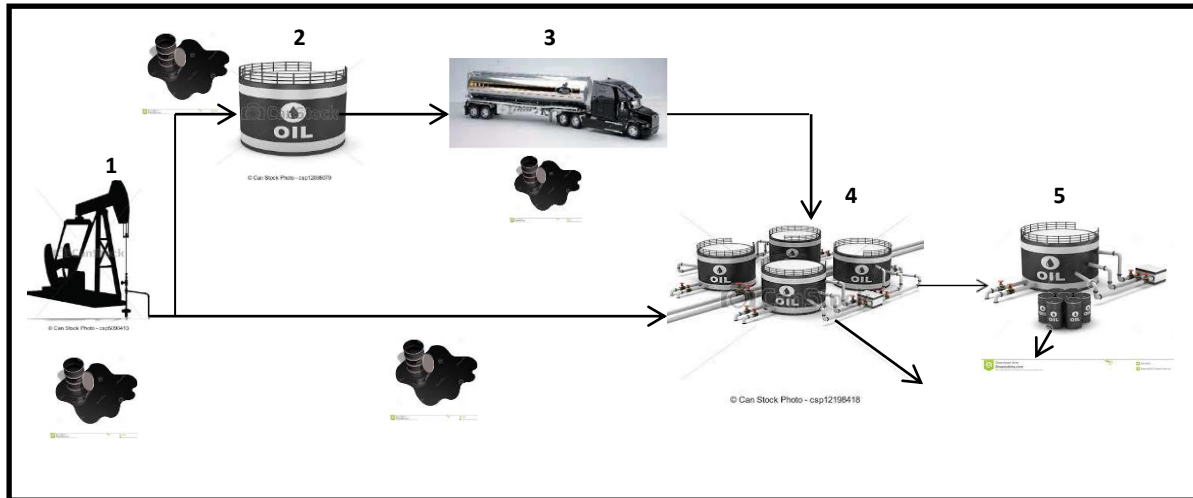
#### **Segunda etapa: Elaboración e Interpretación de los resultados**

En esta etapa a partir de la elaboración de los resultados obtenidos en investigaciones precedentes se procede a caracterizar físico-química y microbiológicamente los RSP acumulados en los centros colectores de la EPEP Majagua, así como de muestras de suelos impactados por derrames, se valora la aplicación del proceso de biorremediación por la técnica landfarming a escala de banco, en la degradación de 5 contaminantes provenientes de los yacimientos petrolíferos de la EPEP Majagua y por último con la interpretación de los resultados se evalúa la factibilidad económica y ambiental del proyecto técnico ejecutivo a realizar por interés de la entidad .

### **2.1 Caracterización de las fuentes contaminantes.**

La EPEP Majagua explota 3 yacimientos fundamentales (Jatibonico, Cristales y Pina).

El proceso para la obtención de petróleo crudo listo para la entrega a refinería, pasa por 5 etapas esenciales (Figura 4) en las cuales se forman los contaminantes de mayor relevancia. Estas etapas son:



**Figura 4.** Proceso tecnológico de extracción – recolección y tratamiento de petróleo crudo.

- (1) Extracción de fluido (agua + hidrocarburos + sedimentos) por bombeo mecánico o *swab*: en esta operación existe riesgo permanente de derrames en las explanadas de pozos debido a accidentes tecnológicos o de otra índole que pueden provocar contaminación al suelo de capa vegetal.
- (2) Recolección temporal de fluidos (en los casos donde el pozo está muy alejado de los centros colectores, se ubican tanques cercanos a este, para almacenar el líquido antes de ser transportado a las baterías para su procesamiento); aquí se manifiesta el riesgo de contaminación de suelos si ocurren derrames en los tanques por averías o mala manipulación.
- (3) Transportación hacia los centros colectores (puede ser por pailas que cargan directamente de los tanques colectores y luego se dirigen y descargan en las piscinas de las baterías, o por medio de líneas de trasiego que van directo desde el pozo hasta el centro colector): de igual manera aquí persiste el riesgo de contaminación de suelos por derrames a causa de roturas en las líneas o vertimiento desde las pailas.



**Nota:** Si se producen averías o accidentes que desencadenen en un derrame sobre suelos, toda el área impacta debe ser recogida y dispuesta en zonas destinadas a este fin, por lo que se transforman de inmediato en residuos sólidos petrolizados (RSP) que deben ser manejados como contaminantes.

- (4) Procesamiento; aquí se adicionan tenso-activos (*Vyscosin* o *Disolvan*) a los fluidos, con el objetivo de romper la emulsión agua - petróleo a partir de un determinado tiempo en reposo en los llamados tanques de procesamiento. Como resultado; se obtienen aguas oleosas que se drenan a una piscina, y el petróleo crudo, libre de aguas y sedimentos (< 1.5 % BSW); se trasiega hacia los tanques de venta. Este proceso es el mayor generador de contaminantes dado los grandes volúmenes de residuales líquidos que son vertidos a la piscina que posteriormente se vuelven a re-inyectar a los yacimientos mediante un proceso de recuperación mejorada. El grado de significancia del impacto de estos contaminantes estará dado por el diseño de la piscina pues si esta es de hormigón, puede limpiarse con relativa facilidad pero hay casos en que la piscina no es más que una fosa rudimentaria excavada sobre el mismo suelo sin impermeabilización, que al entrar en contacto con los residuales sólidos, forma una mezcla semi-sólida de elevada compactación (agravada por los elevados períodos de explotación y vertimiento), muy difícil de remover y tratar.
- (5) Almacenamiento de petróleo crudo (en depósitos de mediano y gran volumen, en dependencia del nivel de producción y del tiempo de espera requerido para ser transportado hacia las refinerías). Estos tanques generalmente no son vaciados completamente durante las entregas, dejando un stock de seguridad en el paño inferior de los mismos, que unido a los períodos de decantación que sufren los crudos debido a que los tenso-activos siguen incidiendo en los fluidos almacenados; forman igualmente lodos de significativa relevancia que deben ser extraídos de forma periódica para mantener la operatividad del tanque (puede abarcar períodos de 5 a 10 años entre intervenciones).

Por tanto, de manera general; los principales tipos de contaminantes formados son:



- Suelos contaminados en áreas impactadas por derrames en explanadas de pozos de extracción, tanques, líneas de trasiego y vías de acceso.
- Sedimentos petrolizados en piscinas de descarga de fluidos y recolección de aguas residuales.
- Lodos de tanques de almacenamiento de petróleo crudo.

### 2.1.1 Puntualización de las fuentes generadoras de RSP en la EPEP Majagua.

#### ✓ Yacimiento Jatibonico:

Campo petrolero descubierto y explotado desde 1954. De él se extrae el crudo de menor grado API de la Cuenca Central, por lo que denota su viscosidad cercana a la de los petróleos pesados, es un crudo muy rico en aceites básicos con tendencia al coque. En el centro colector de este yacimiento nunca se desarrolló un sistema de tratamiento de residuales petrolizados para el manejo y disposición de los contaminantes que allí se generan. La piscina de recolección de aguas oleosas (Figura 5) se construyó sobre la misma capa de suelo y se ha estado utilizando desde los últimos 40 años, por lo que su fondo lo constituye una mezcla semi-sólida casi homogenizada entre hidrocarburos y terreno arcilloso de un alto grado de compactación muy difícil de remover.



**Figura 5.** Piscina de recolección de aguas residuales del Centro Colector Jatibonico.

Los tanques que hoy se utilizan en el Centro Colector de Jatibonico son los mismos que fueron construidos al inicio de la operación del yacimiento y han sido intervenidos para mantenimiento en muy pocas ocasiones, por lo que presentan un avanzado estado de

deterioro. Esto ha provocado la necesidad impostergable de sustituirlos y en el proceso de limpieza de los mismos para su posterior desmantelamiento; se ha sustraído de su interior un considerable volumen de lodos petrolizados (Figura 6).



**Figura 6.** Tanque 70 del Centro Colector Jatibonico, sometido a limpieza para su reparación.

#### ✓ Yacimiento Cristales

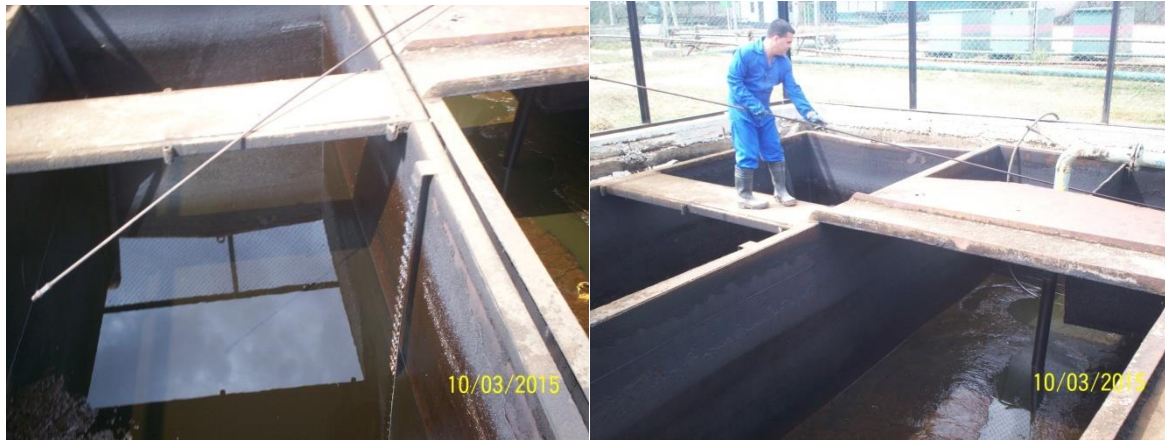
Yacimiento descubierto en 1956, caracterizado por petróleos semi-ligeros. La totalidad de los fluidos entra al centro colector mediante pailas y son vertidos en una piscina de descargue (Figura 7) construida en base a un recipiente metálico y descubierta al medio (sin tapa) por lo que dentro caen residuos de suelo que se mezclan formando engrudos de contaminantes petrolizados.





**Figura 7.** Vista de una porción de la piscina de recolección de fluidos del Centro Colector Cristales.

La piscina de aguas residuales de este centro colector (Figura 8) también es metálica sin techo, pero mantiene una acumulación importante de lodos debido al largo período de tiempo transcurrido sin someterse a labores de mantenimiento.



**Figura 8.** Piscina de recolección de aguas residuales del Centro Colector Cristales.

#### ✓ Yacimiento Pina

Reservorio que se explota desde 1990. La infraestructura del centro colector ofrece mayor fiabilidad pues las piscinas de descarga de crudo y de recepción de los residuales líquidos son de hormigón y techadas, sin embargo el Tanque 3 de producto terminado (Figura 9), con una capacidad de 3000 m<sup>3</sup>; nunca se ha sometido a un proceso de reparación y luego de 25 años de explotación requiere ser intervenido por lo que se le debe dar manejo y disposición a todo el volumen de los RSP contenidos



dentro de él.

**Figura 9.** Tanque 3 de producto terminado Centro Colector Pina.





Este yacimiento tiene la característica además, de que la mayoría de las unidades de bombeo que se instalaron en él ya habían tenido vida productiva en otros reservorios por lo que el desgaste de sus componentes (por más de dos décadas de explotación después), ha comenzado a ocasionar la ocurrencia con mayor frecuencia; de derrames en explanadas (ver ejemplo Figuras 10 y 11), por lo que el impacto ambiental provocado por este factor es considerado de significativo dado el volumen de área contaminada que anualmente que necesita ser tratada.



**Figura 10.** Derrame en explanada del pozo P-32. **Figura 11.** Derrame en explanada del pozo P-20

De manera resumida, en la Tabla 3 se muestran los principales focos contaminantes que mantienen volúmenes de RSP, a los cuales es necesario dar un manejo y disposición final adecuado.

**Tabla 3.** Tipos y volúmenes de RSP inventariados por la EPEP Majagua.

Yacimiento	Fuente Contaminante	Características RSP	Volumen de los RSP (m <sup>3</sup> )
Jatibonico	Piscina de recolección de aguas residuales.	Lodos semi – sólidos con alto grado de compactación y formación casi homogénea entre hidrocarburos y suelos arcillosos.	100
	Residuales Tanque 70 centro colector.	Lodos semi – líquidos con alto contenido de hidrocarburos y sedimentos	10
Cristales	Piscina de descarga de crudo centro colector.	Lodos semi – sólidos con alto contenido de hidrocarburos y	15



		sedimentos.	
	Piscina de recolección de aguas residuales	Lodos semi – líquidos con alto contenido de hidrocarburos y sedimentos.	20
Pina	Residuales Tanque 3 de producto terminado centro colector.	Lodos semi – líquidos con alto contenido de hidrocarburos y sedimentos.	150
	Áreas impactadas en explanadas de pozos por derrames.	Composición sólida heterogénea de hidrocarburos, agua, suelo capa vegetal, y suelo arcilloso.	80

Adicionalmente se estiman potenciales de manejo de RSP en los próximos 5 años (ver Tabla 4) atendiendo al desmantelamiento de instalaciones, la aplicación de acciones de mantenimiento y la predicción de posibles averías teniendo en cuenta el estado actual de las unidades de bombeo. Para ninguno de estos contaminantes se cuenta en la actualidad con alternativas para su manejo y tratamiento.

**Tabla 4.** *Potencial de generación de RSP en la EPEP Majagua 2016 - 2020.*

Yacimiento	Fuente Contaminante	Volumen de los RSP (m <sup>3</sup> )
Jatibonico	Residuales Tanques 66, 67, 68, 69 y 71 centro colector.	70
	Áreas impactadas en explanadas de pozos por derrames.	5
Cristales	Residuales Tanques 76, 77, 78, 79 y 80 centro colector.	90
	5 tanques colectores de pozos que deberán ser reparados*.	15
	Áreas impactadas en explanadas de pozos por derrames.	60
Pina	Piscina de aguas residuales centro colector.	20
	Piscina de descarga de crudo centro colector.	15
	10 tanques colectores de pozos que deberán ser reparados*.	30
	Áreas impactadas en explanadas de pozos por derrames	120



---

***\*Se estima un volumen aproximado de 3 m<sup>3</sup> de RSP generado por cada tanque reparado.***

### **2.1.2 Toma de Muestras.**

Para la caracterización inicial se tomaron 5 muestras puntuales atendiendo al grado de contaminación y teniendo en cuenta la representatividad de las mismas para una caracterización general del universo de fuentes contaminantes presentes en las áreas de actividad de la entidad. El servicio fue contratado al CEINPET, mediante Contrato Marco de servicio científico técnico-ejecutivo (SCT) entre las dos empresas. Las muestras fueron tomadas por especialistas de la EPEP Majagua en las áreas de contaminación (acorde a lo estipulado en la norma **ISO 5667, 1994**). Posteriormente se trasladaron al Laboratorio de Química Ambiental y Biotecnología del CEINPET y se preservaron para su procesamiento y análisis.

Como parte de los requerimientos del laboratorio, se codificaron las muestras para la solicitud de los ensayos analíticos de la siguiente manera:

- Residuo Tanque 3 Centro Colector Pina (98-348-1).
- Residuo Piscina Centro Colector Cristales (98-348-2).
- Residuo Tanque 70 Centro Colector Jatibonico (98-348-3).
- Residuo Pozo 203 (Suelo impactado Yacimiento Pina) (98-348-4).
- Residuo Piscina agua de capa Centro Colector Jatibonico (98-348-5).

### **2.1.3 Caracterización químico – microbiológica de los RSP.**

Para la realización de los análisis fueron subcontratados los ensayos a los laboratorios de Química Ambiental (grasas y aceites, hidrocarburos totales de petróleo, cuantificación de las fracciones de hidrocarburos saturados, aromáticos, resinas y asfáltenos, conductividad eléctrica y pH); y Química y Biotecnología (bacterias heterótrofas aerobias totales, hongos y levaduras, microorganismos degradadores de hidrocarburos y conteo de bacterias) del CEINPET; y además el Laboratorio Central de Minerales LACEMI (determinación de metales y sustancias tóxicas). En la Tabla 5 se resumen los métodos de ensayos empleados.



**Tabla 5.** *Métodos de ensayo aplicados para la caracterización de las fuentes contaminantes.*

<b>Análisis</b>	<b>Método de Ensayo</b>
Grasas y Aceites (G y A)	APHA 5520
Hidrocarburos Totales del Petróleo (HCTP)	APHA 5520
Conteo de microorganismos totales (MOT)	ISO 8199:2005
Conteo de microorganismos biodegradadores de hidrocarburos (MBDH)	MBH Medium
Conteo de Bacterias (CB)	ISO 8199:2005
Conteo de Hongos y levaduras (H y L).	ISO 7954:1987
Determinación de metales pesados	ICP: Digestión con HNO <sub>3</sub>

## **2.2 Experimento a escala de banco.**

### **2.2.1 Diseño del experimento.**

Se diseña un experimento a escala de banco para evaluar la factibilidad de la aplicación de un proceso de biorremediación (por el método de bioestimulación y la técnica de *landfarming*) como solución al manejo seguro y disposición de los contaminantes presentes en la EPEP Majagua.

Los experimentos se desarrollaron en composteros por triplicado para cada uno de los 5 residuos sólidos petrolizados previamente caracterizados.

Para la determinación de la concentración de nutrientes a utilizar, se tiene en cuenta la fuente de nitrógeno, la cual proporciona el elemento necesario para la producción de aminoácidos y enzimas; así como la fuente de fósforo que interviene en la formación de compuestos energéticos; que se utilizan en procesos de degradación y reproducción de los microorganismos. Debido a que la utilización de estos compuestos es muy rápida por los microorganismos, los suelos no alcanzan a cubrir todas las necesidades del



proceso y deben de ser incorporados en forma de fertilizantes (Romero, 2012; Valdés, 2013). Se utilizan fertilizantes nacionales como el Fosfato Diamónico (DAP) y la UREA.

La dosificación de nitrógeno y fósforo se realiza en función de la concentración del contaminante de acuerdo a las relaciones que vinculan al carbono (C), el nitrógeno (N) y el fósforo (P).

$$\frac{C}{N} = 60(1)$$

Despejando:

$$N = \frac{C*100}{60*\%N}(2)$$

$$\frac{C}{P} = 800(3)$$

$$P = \frac{C*100}{800*\%P}(4)$$

$$\text{Donde } C = \frac{\% \frac{G}{A} * 0.78 * m}{100}(5)$$

C: Cantidad de carbono orgánico expresado en g.

G/A: Contenido de Hidrocarburos (grasa y aceites) expresado en por ciento.

m: Cantidad de total de suelo contaminado expresado en g.

En la Tabla 6 se exponen los códigos pre-establecidos para el análisis de las muestras en las diferentes etapas del proceso.

**Tabla 6.** Codificación asignada para los análisis a las muestras durante el seguimiento al proceso.

Experimento	Compostero	Código asignado/tiempo de proceso (días)			
		0	45	75	100
1	C-1-1	95-95-1	95-95-17	95-95-32	95-207-47
	C-1-2	95-95-2	95-95-18	95-95-33	95-207-48
	C-1-3	95-95-3	95-95-19	95-95-34	95-207-49
2	C-2-1	95-95-4	95-95-20	95-95-35	95-207-50
	C-2-2	95-95-5	95-95-21	95-95-36	95-207-51
	C-2-3	95-95-6	95-95-22	95-95-37	95-207-52
3	C-3-1	95-95-7	95-95-23	95-95-38	95-207-53
	C-3-2	95-95-8	95-95-24	95-95-39	95-207-54



	C-3-3	95-95-9	95-95-25	95-95-40	95-207-55
4	C-4-1	95-95-10	95-95-26	95-95-41	95-207-56
	C-4-2	95-95-11	95-95-27	95-95-42	95-207-57
	C-4-3	95-95-12	95-95-28	95-95-43	95-207-58
	C-5-1	95-95-13	95-95-29	95-95-44	95-207-59
5	C-5-2	95-95-14	95-95-30	95-95-45	95-207-60
	C-5-3	95-95-15	95-95-31	95-95-46	95-207-61

La caracterización química –microbiológica permite establecer las relaciones de mezclas suelo capa vegetal, suelos contaminados y nutrientes para el montaje y mejor efectividad del proceso (**Romero, 2012**).

El suelo limpio capa vegetal que se empleó para la mezcla también fue objeto de análisis en los laboratorios de Química Ambiental y Química y Biotecnología del CEINPET con el objetivo de conocer las características físico – químicas – microbiológicas y su complementariedad con los requisitos de la investigación en cuestión. Los análisis practicados al suelo se muestran en la Tabla 7.

**Tabla 7.** *Métodos de ensayo empleados para los análisis al suelo limpio capa vegetal.*

<b>Análisis</b>	<b>Método de Ensayo</b>
Grasas y Aceites (G y A)	APHA 5520
Hidrocarburos Totales del Petróleo (HCTP)	APHA 5520
Nitrógeno Total (Nt)	ISO 10048
Fósforo Total (Pt)	APHA 4500
Conteo de microorganismos totales (MOT)	ISO 8199:2005
Conteo de microorganismos biodegradadores (MBDH)	MBH Medium
Conteo de Bacterias (CB)	ISO 8199:2005
Conteo de Hongos y levaduras (H y L).	ISO 7954:1987



PH (T 25°C) y Conductividad Eléctrica	NC 32: 2009
Determinación de Humedad	Sensor medidor de Humedad VIZIN,2002

### 2.2.2 Seguimiento analítico del experimento.

Se realizó un seguimiento analítico a los procesos y/o experimentos ejecutados. El diseño; así como los métodos de ensayo empleados, se muestran en la Tabla 8.

**Tabla 8.** Seguimiento analítico del proceso de biorremediación en composteros. Métodos de ensayo empleados.

Análisis	Tiempo (días)				Método de Ensayo
	0	45	75	100	
Grasas y Aceites (G y A)	x	x	x	x	APHA 5520
Hidrocarburos Totales del Petróleo (HCTP)	x	x	x	x	APHA 5520
Saturados, Aromáticos, Resinas y Asfaltenos (SARA)	x			x	Abboud, 2000
Nitrógeno Total (Nt)	x	x	x	x	ISO 10048
Fósforo Total (Pt)	x	x	x	x	APHA 4500
Conteo de microorganismos totales (MOT)	x	x	x	x	ISO 8199:2005
Conteo de microorganismos biodegradadores (MBDH)	x	x	x	x	MBH Medium
Conteo de Bacterias (CB)	x	x	x	x	ISO 8199:2005
Conteo de hongos y levaduras (H y L).	x	x	x	x	ISO 7954:1987



PH (T 25°C) y Conductividad Eléctrica	x	x	x	x	NC 32: 2009
Ensayo de Respirometría (Determinación de CO <sub>2</sub> )*	x	x		x	Viale e Infante, 1997
Determinación de metales a Lixiviados (Co, Cr, Cu, Ni, Pb, V, Zn).	x		x		ICP: Digestión con HNO <sub>3</sub>
Determinación de Humedad	x	x	x	x	Sensor medidor de Humedad VIZIN,2002

\*Para este ensayo, necesario en la determinación del CO<sub>2</sub> producido; se colocó un recipiente plástico conteniendo hidróxido de potasio (KOH) al 0.1 N cubierto por otro recipiente de mayor tamaño, de forma tal de evitar cualquier intercambio con el ambiente exterior (Figura 12). Estos permanecieron durante 18 horas, tiempo en el cual el CO<sub>2</sub> desprendido por la actividad biológica es adsorbido por el KOH. Posteriormente se valoró con solución de ácido clorhídrico (HCl) al 0.1 N con indicador fenolftaleína (Figura 13).

Mediante la diferencia entre esta valoración y la obtenida de un blanco, se determinan los miligramos de CO<sub>2</sub> producidos por cm<sup>2</sup> por hora (**Viale e Infante, 1997; Romero, 2012; Valdés, 2013**).



**Figura 12.** Ensayo de respirometría.





**Figura 13.** Valoración del ensayo.

### 2.3 Diseño experimental.

Se ajustaron los datos a una distribución normal.

Prueba de Shapiro-Wilk: Se utilizó para comprobar que los datos de las concentraciones de Grasas y Aceites y de los Hidrocarburos Totales del Petróleo cumplan una distribución normal y no vayan a interferir en el análisis experimental.

Test de Kolmogorov-Smirnov: Fue desarrollada con el objetivo de verificar que los datos pueden modelarse adecuadamente con una distribución normal con la Prueba de Bondad de Ajuste de modo que demuestre confiabilidad para el análisis

ANOVA Multifactorial mediante la prueba de Rangos Múltiples y el método de Diferencia Mínima Significativa (LSD de Fisher): Determinar si los factores *Experimento* y *Tiempo* tienen un efecto estadísticamente significativo sobre los valores de concentración de Grasas y Aceites e Hidrocarburos Totales del Petróleo y para cada uno de estos factores; establecer cuales medias son significativamente diferentes de



otras analizando la influencia de estos en los resultados obtenidos.

VARIABLES DEPENDIENTES: Grasas y Aceites - Hidrocarburos Totales del Petróleo

FACTORES: Experimentos (1, 2, 3, 4, 5) - Tiempo (45, 75 y 100 días).

PRUEBA DE LEVENE'S: Verificación de la Varianza.

## 2.4 Tasa de biodegradación.

Las tasas de biodegradación (TB) obtenidas para los HCTP y las G y A en los ensayos ejecutados, se calculó según la siguiente expresión:

$$TB = \frac{CI - CF}{CI} * 100$$

Donde:

TB: tasa de biodegradación, expresada en %

CI: Concentración Inicial de hidrocarburos totales y/o grasas y aceites, expresados en mg/kg.

CF: Concentración Final de hidrocarburos totales y/o grasas y aceites, expresados en mg/kg.

## 2.5 Normativas ambientales de referencia.

Con la aplicación del proceso se logra el manejo y disposición de la masa contaminante hasta lograr los parámetros establecidos por regulación y/o normativas vigentes.

Para el control de las operaciones de manejo de lodos de tanques, existe la norma cubana **NC 819:2010 “Manejo de fondaje de tanques de almacenamiento de petróleo y sus derivados”**, aportando los datos tecnológicos y la aplicación de un procedimiento acertado, que constituyen elementos claves para el almacenamiento de petróleo crudo y de productos derivados del petróleo, en condiciones que no generen peligro a la salud o al ambiente. Además establece los valores de referencia en cuanto



---

a concentración de grasas y aceites que deben tener los residuales para ser considerados seguros para disponer (10000 mg/kg ó 1 % en peso).

La **Regulación Ambiental 01/95** de CUPET, “**Manejo y disposición de residuales generados en las operaciones en tierra de pozos de petróleo y gas natural**”, establece los procedimientos y conductas a seguir para la disposición ambientalmente segura de los residuales que se generan durante las operaciones de exploración, perforación, y producción de petróleo y gas natural.



## Capítulo 3. Discusión de Resultados.

### 3.1 Resultados de la caracterización de los contaminantes.

En la Tabla 9 se muestran los resultados obtenidos de la caracterización químico - microbiológica de los contaminantes identificados como pasivos ambientales en la EPEP Majagua.

**Tabla 9.** Caracterización químico –microbiológica de los RSP.

Muestra (Código)	G y A <sup>(1)</sup> (mg/kg) ó %	HCTP <sup>(2)</sup> (mg/kg) ó %	MOT <sup>(3)</sup> UFC/g suelo	MBDH <sup>(4)</sup> UFC/g suelo	H y L <sup>(5)</sup> UFC/g suelo	CB <sup>(6)</sup> UFC/g suelo
98-348-1	466980 ±70 ó 47%	311590 ±47 ó 31%	1.5 x 10 <sup>5</sup>	<1	<1	1.5 x 10 <sup>5</sup>
98-348-2	252440 ±38 ó 25%	183290 ±27 ó 18%	8.5 x 10 <sup>7</sup>	<1	1 x10 <sup>5</sup>	8.5 x 10 <sup>7</sup>
98-348-3	475000 ±71 ó 47%	313660 ±47 ó 31%	3.5 x 10 <sup>4</sup>	<1	1 x10 <sup>2</sup>	3.5 x 10 <sup>4</sup>
98-348-4	291030 ±44 ó 29%	162410 ±24 ó 16%	3 x 10 <sup>9</sup>	<1	1 x10 <sup>7</sup>	3 x 10 <sup>9</sup>
98-348-5	119780 ±18 ó 12%	79190 ±12 ó 8 %	9 x 10 <sup>9</sup>	4.4 x 10 <sup>9</sup>	<1	9 x 10 <sup>9</sup>
<b>NC 819:2010</b>	<b>10000 ó 1%</b>					
<b>(Ercoli, 2000)</b>			<b>10<sup>5</sup> – 10<sup>6</sup></b>	<b>10<sup>3</sup> - 10<sup>4</sup></b>		-

(1) Grasas y Aceites.

(2) Hidrocarburos Totales del Petróleo.

(3) Microorganismos Totales.

(4) Microorganismos Degradadores de Hidrocarburos.

(5) Hongos y Levaduras.

(6) Conteo de Bacterias.



Se observan concentraciones elevadas de Grasas y Aceites (desde un 12 % hasta un 47 %) y de Hidrocarburos Totales del Petróleo (entre 8 y 31 %). En todas las muestras de RSP caracterizadas, las concentraciones se encuentran por encima de los niveles permitidos en la regulación ambiental tomada como referencia en esta tesis (1 % por la **NC 819:2010**), lo que demuestra el grado de contaminación que reportan dichas muestras y el peligro que representan para el medio si no se desarrolla una alternativa de manejo adecuada para su tratamiento y disposición. Los mayores niveles de concentración de contaminantes se detectaron en los lodos de los tanques de almacenamiento de crudo (tanques 3 y 70 de los centros colectores Pina y Jatibonico, respectivamente). Los valores obtenidos para las piscinas de los centros colectores de Cristales y Jatibonico pueden estar determinados por la volatilización de algunos compuestos aromáticos y la interacción de procesos degradativos que estarían desarrollándose debido a que estos contaminantes están expuestos y en contacto directo con el medio, por lo que se presentan condiciones favorables para la degradación aerobia y el consiguiente desarrollo microbiano que lo metaboliza y/o mineraliza.

Las concentraciones de microorganismos totales, bacterias, hongos y levaduras, demuestran la activa biota existente en las muestras analizadas. Las bacterias degradadoras de hidrocarburos sólo se reportan para los RSP de la Piscina del Centro Colector Jatibonico (muestra 98-348-5), sin embargo esto no implica que los residuos pertenecientes al resto de las muestras no puedan ser degradados por las bacterias, pues varias investigaciones han demostrado la capacidad de adaptabilidad de los microorganismos y la formación por estos de colonias degradadoras de hidrocarburos. Para lo cual se necesita el establecimiento de mejores condiciones, mediante el uso de suelo (sustrato) y fuentes nutritivas (N, P, K).

En la Tabla 10 se exponen las concentraciones de Co, Cr, Cu, Ni, Pb, V y Zn. Como se aprecia, para la mayoría de las muestras no se exceden los límites permisibles para los elementos señalados según la legislación vigente.

Resultan interesantes los niveles de Zn reportados para los RSP del tanque 3 del Centro Colector Pina y de la piscina del Centro Colector Cristales, los que superan el



valor de referencia de la norma. Esto pudiera estar relacionado con la contribución de otros materiales asociados a los lugares y/o sitios donde se encuentran dispuestos o almacenados los residuales. Este resultado no es limitante para la aplicación y buen desempeño de biotratamientos. Se deben establecer condiciones específicas y controladas que faciliten el desarrollo de bacterias degradadoras de hidrocarburos y el manejo y disposición final adecuados de cada una de las cargas contaminantes evaluadas (Romero y Rivas, 2014).

**Tabla 10.** Niveles de elementos metálicos presentes en las muestras (mg/Kg).

Muestra	Co	Cr	Cu	Ni	Pb	V	Zn
98-348-7	34.48	155.45	1148.37	76.07	7.17	57.82	503.23
	34.55	149.89	952.95	75.69	10.66	57.19	522.56
	X=34.52	X=152.89	X=1050.66	X=75.88	X=8.91	X=57.23	X=512.89
98-348-8	16.56	83.09	312.09	56.53	7.52	37.70	907.42
	15.89	72.20	204.62	50.12	6.65	34.95	824.87
	X=16.23	X=77.64	X=258.35	X=53.32	X=7.08	X=36.32	X=866.14
98-348-9	26.15	23.96	518.41	35.42	39.64	18.03	97.15
	28.35	26.68	573.80	38.24	34.40	19.89	99.03
	X=34.52	X=25.32	X=546.10	X=36.83	X=37.02	X=18.96	X=98.09
98-348-10	5.40	73.11	22.05	42.12	91.30	38.73	38.13
	4.97	70.73	20.34	37.96	116.46	35.94	43.23
	X=5.19	X=71.92	X=21.19	X=40.04	X=103.88	X=37.33	X=40.68
98-348-11	5.94	31.93	35.88	21.98	12.99	33.53	42.85
	6.81	33.59	26.97	20.08	14.01	34.55	48.40
	X=6.38	X=32.76	X=31.42	X=21.03	X=13.5	X=34.04	X=54.62
<b>NC:819/2010</b>		<b>300</b>			<b>150</b>		<b>300</b>
<b>Método de Ensayo</b>	<b>ICP: Digestión con HNO<sub>3</sub> (EPA 3050 B)</b>						



### 3.2 Montaje de los experimentos.

Dado los resultados de la caracterización de los RSP, se estableció como premisa la creación de condiciones favorables para el desarrollo de los procesos de biodegradación y el diseño y ejecución de experimentos a escala de banco para evaluar el comportamiento de la técnica de biorremediación seleccionada (*landfarming*).

#### 3.2.1 Sustrato empleado.

Se utilizó un suelo limpio de capa vegetal para lograr la mezcla de los RSP con un sustrato que mejore las condiciones de biotratabilidad de los contaminantes.

En las Tablas 11 y 12 se muestran los resultados químico - microbiológicos de la caracterización del suelo seleccionado.

**Tabla 11.** Caracterización química del suelo limpio.

Muestra (Código)	G y A (mg/kg)	PH (25 <sup>o</sup> C)	Conductividad Eléctrica (25 <sup>o</sup> C) ( $\mu$ S/cm)	HCTP (mg/kg)	Nt <sup>(1)</sup> (%)	Pt <sup>(2)</sup> (mg/kg)
Suelo Limpio 95-95-16	700 $\pm 0.11$	7.68 $\pm$ 0.65	3111 $\pm$ 7.9 ( $\mu$ S/cm)	0	2.73	0.003
<b>NC 819:2010</b>	<b>10000</b>	<b>6-8</b>	<b><math>\leq</math>200 (mS/cm)</b>	<b>10000</b>		

(1) Nitrógeno Total.

(2) Fósforo Total.

**Tabla 12.** Caracterización microbiológica del suelo limpio.

Muestra (Código)	MOT UFC/g	MBDH UFC/g	H y L UFC/g	CB UFC/g
Suelo Limpio 95-95-16	1.7 x 10 <sup>9</sup>	3 x 10 <sup>4</sup>	<1	1.7 x 10 <sup>9</sup>
<b>(Ercoli, 2000)</b>	<b>10<sup>5</sup> -10<sup>6</sup></b>	<b>10<sup>3</sup> -10<sup>4</sup></b>		



Se observan bajas concentraciones de grasas y aceites y la presencia nula de hidrocarburos totales del petróleo en el suelo limpio. Además, los niveles de pH y conductividad eléctrica cumplen los requisitos de la norma vigente. Por otra parte, resalta la presencia de una población microbiana significativa, incluso con niveles de microorganismos degradadores de hidrocarburos en el orden de  $10^4$  UFC/g, valores recomendados como idóneos en procesos de biodegradación, lo cual puede contribuir a estimular la degradación de los contaminantes identificados en los RSP caracterizados.

Teniendo en cuenta estos resultados, se puede afirmar que este suelo presenta las características óptimas para cumplir con los objetivos y requerimientos de la investigación. Ello, unido al enriquecimiento de las concentraciones de nutrientes y la adecuada atención para lograr la aireación y humectación necesaria; deben garantizar la evolución adecuada de los procesos experimentales a escala de banco que se propusieron.

### **3.2.2 Conformación de los composteros.**

En la conformación de los composteros se tuvo en cuenta los resultados obtenidos de la caracterización del suelo a emplear como sustrato para la experimentación. Para ello se estableció una base de cálculo de 10 kg para relaciones de 3:1 (7.5 kg de suelo limpio capa vegetal: 2.5 kg de RSP) para aquellos contaminantes con mayor porcentaje de grasas y aceites (Tanque (TK) 3 Centro Colector Pina y Tanque 70 Centro Colector Jatibonico) y 3:2 (6 kg de suelo limpio capa vegetal: 4 kg de RSP) para los de menor porcentaje (Piscina Centro Colector Cristales, Área impactada pozo P- 203 y Piscina Centro Colector Jatibonico). Se añadieron fuentes de nitrógeno y fósforo, mediante la incorporación de cantidades específicas de Urea y Fosfato Diamónico (DAP). En la Tabla 13 se muestra la codificación utilizada para cada uno de los experimentos y sus réplicas; así como las concentraciones de nutrientes suministradas.





**Tabla 13.** Identificación y relación suelo/contaminante de los composteros. Nutrientes suministrados.

Experimento	Compostero	Procedencia (Relación establecida)	Fosfato Diamónico (DAP) (P - 18%)	UREA (N - 46%)
1	C-1-1	Residuo TK-3 Centro Colector Pina	0.0168	0.09
	C-1-2	((3:1) (7.5 kg de suelo limpio capa vegetal: 2.5 kg de RSP))	0.0168	0.09
	C-1-3		0.0168	0.09
2	C-2-1	Residuo Piscina Centro Colector Cristales	0.0098	0.05
	C-2-2	((3:2) (6 kg de suelo limpio capa vegetal: 4 kg de RSP))	0.0098	0.05
	C-2-3		0.0098	0.05
3	C-3-1	TK-70 Centro Colector Jatibonico	0.0168	0.09
	C-3-2	((3:1) (7.5 kg de suelo limpio capa vegetal: 2.5 kg de RSP))	0.0168	0.09
	C-3-3		0.0168	0.09
4	C-4-1	Pozo 203 Suelo impactado Yacimiento Pina	0.0087	0.05
	C-4-2	((3:2) (6 kg de suelo limpio capa vegetal: 4 kg de RSP))	0.0087	0.05
	C-4-3		0.0087	0.05
5	C-5-1	Piscina agua de capa Centro Colector Jatibonico	0.0428	0.22
	C-5-2	((3:2) (6 kg de suelo limpio capa vegetal: 4 kg de RSP))	0.0428	0.22
	C-5-3		0.0428	0.22

### 3.3 Resultados de los experimentos de biorremediación.

En los Anexos; A (Experimento 1), B (Experimento 2), C (Experimento 3), D (Experimento 4) y E (Experimento 5) se exponen en tablas; los resultados de los

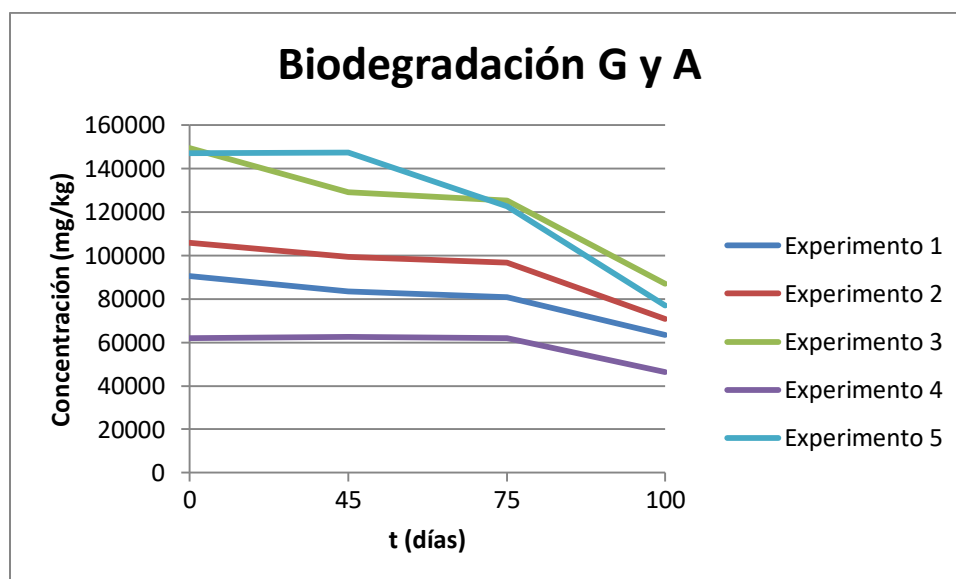


análisis químico – microbiológicos; contenido de hidrocarburos saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos; así como de los ensayos de respirometría, resultados del seguimiento microbiológico y concentración de elementos metálicos en lixiviados, para los 5 experimentos, durante los 100 días de proceso.

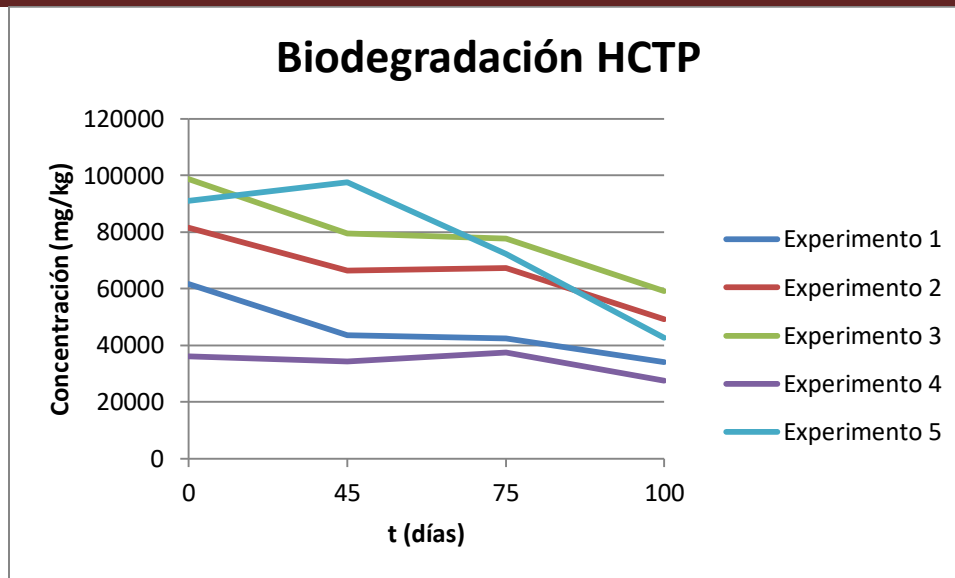
### 3.4 Análisis e interpretación de los resultados.

#### 3.4.1 Grasas y Aceites – Hidrocarburos Totales del Petróleo.

En las Figuras 14 y 15 se exponen las curvas de comportamiento de los procesos degradativos de G - A e HCTP para los 5 experimentos respectivamente.



**Figura 14.** Gráfico de biodegradación de G y A.



**Figura 15.** Gráfico de biodegradación de HCTP.

Al comparar las concentraciones iniciales de G - A y HCTP en los RSP, con las determinadas en los composteros después de mezclarse los contaminantes con el suelo limpio de capa vegetal (tiempo 0 días); se evidencia una reducción como promedio de aproximadamente 70 % para los contaminantes del Centro Colector Pina y las muestras de suelo impactado del pozo P-

203, y entre un 40 y 50 % para los residuales del Centro Colector Cristales y los residuos del tanque 70 del Centro Colector Jatibonico. En el caso de los RSP de la piscina del Centro Colector Jatibonico, prácticamente se mantuvieron iguales los niveles de contaminación lo cual puede ser explicado si se tiene en cuenta el alto grado de intemperización que sufren estos residuos lo que es agravado por la elevada compactación de los mismos. Esto provocó que no se lograra inicialmente una muestra completamente homogénea en los composteros de este experimento, observándose una gran cantidad de sólidos granulados muy difíciles de desintegrar.

Los resultados de los ensayos correspondientes al seguimiento químico demostraron poco avance en el desarrollo de los procesos degradativos en los períodos de 45 y 75 días para los experimentos 1, 2 y 3 y degradación nula para los experimentos 4 y 5, determinándose para este último, diferencias en los niveles de concentración obtenidos



(en algunos casos por encima del valor inicial), pudiendo ser parte de la heterogeneidad de la matriz durante la toma de las muestras. Este comportamiento pudo estar condicionado con etapas de adaptabilidad u otros procesos bióticos de los microorganismos que intervienen en la degradación de los hidrocarburos.

Para el caso específico del experimento 4, las bajas tasas de degradación pueden deberse a la presencia de arcillas formando parte de la masa contaminante ya que es práctica en la entidad verter materiales arcillosos en las explanadas de pozos ante la ocurrencia de derrames. Esto limita considerablemente la acción microbiana y por tanto la degradación de los hidrocarburos, por su tendencia adsorberse a superficies minerales como las arcillas **(Lladó, 2012; Izquierdo 2013)**.

A 100 días de iniciado el proceso se evidencian tasas de degradación que oscilan entre 25 y 41 % para las G y A, y entre 31 y 53 % para los HCTP, las que son comparables con resultados reportados en el Capítulo 1, Epígrafe 1.4.6, Tabla 2; y las experiencias acumuladas por el colectivo de autores del grupo de Ingeniería Ambiental del CEINPET **(Romero y col. 2014)**. En general, los resultados se valoran de favorables debido a que se observa una disminución gradual de los contenidos de cada componente del petróleo evaluados en el tiempo.

### **3.4.2 Cuantificación de saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos.**

Los resultados de la cuantificación de las fracciones de saturados; aromáticos; resinas y asfaltenos (SARA) a tiempo 0 días y 100 días respectivamente; expresan que existió degradación de cada una de estas fracciones a partir de los niveles de concentración obtenidos durante el tiempo del proceso, aunque vale señalar que la fracción de asfaltenos demuestra inestabilidad, siendo esta última, junto a la fracción de resinas; las más recalcitrantes ante los procesos biológicos. La fracción de resinas sufrió mejor transformación, resultando ser la que inicialmente fue metabolizada por las bacterias, después de no existir fuentes de carbono disponibles para la biota, a partir de la fracción de saturados y aromáticos.

Analizando este comportamiento no debe descartarse que en procesos de mayor duración se comience a observar una degradación efectiva de los asfaltenos teniendo



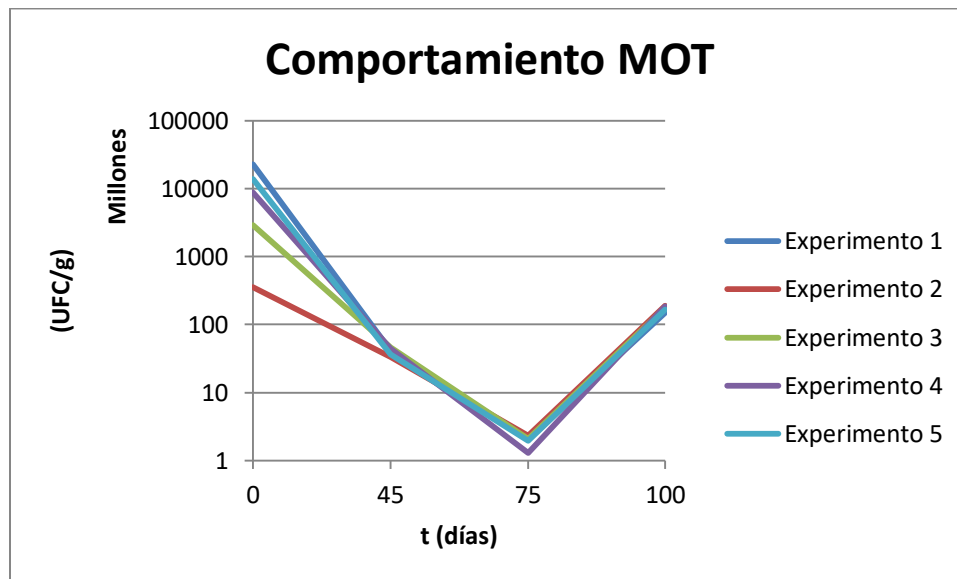
en cuenta el aumento de la población microbiana de organismos degradadores de hidrocarburos y la mejor adaptación de estos al medio.

### 3.4.3 pH y Conductividad eléctrica.

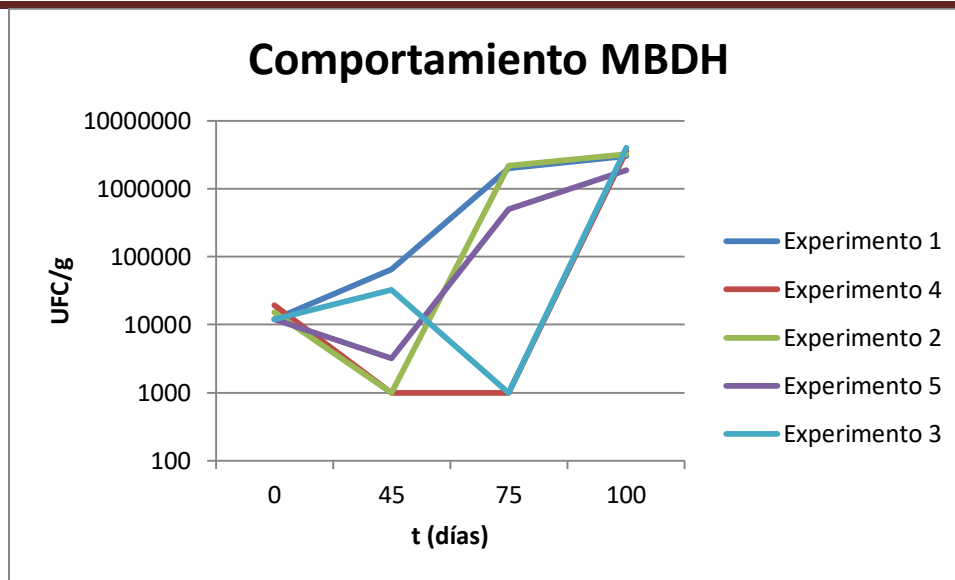
El pH y la conductividad eléctrica se encontraron dentro de los rangos establecidos por la norma (NC 32: 2009) durante todo el período de seguimiento de los experimentos, lo que denota que se mantuvo una vigilancia estricta de los parámetros técnico-ejecutivos y de control del proceso.

### 3.4.4 Población microbiana.

En los Figuras 16 y 17 se muestra el comportamiento y desarrollo de la actividad microbiana tanto para los MOT como para los MBDH en los 5 experimentos, durante los 100 días de proceso.



**Figura 16.** Gráfico de comportamiento de la población de MOT.



**Figura 17.** Gráfico de comportamiento de la población de MBDH.

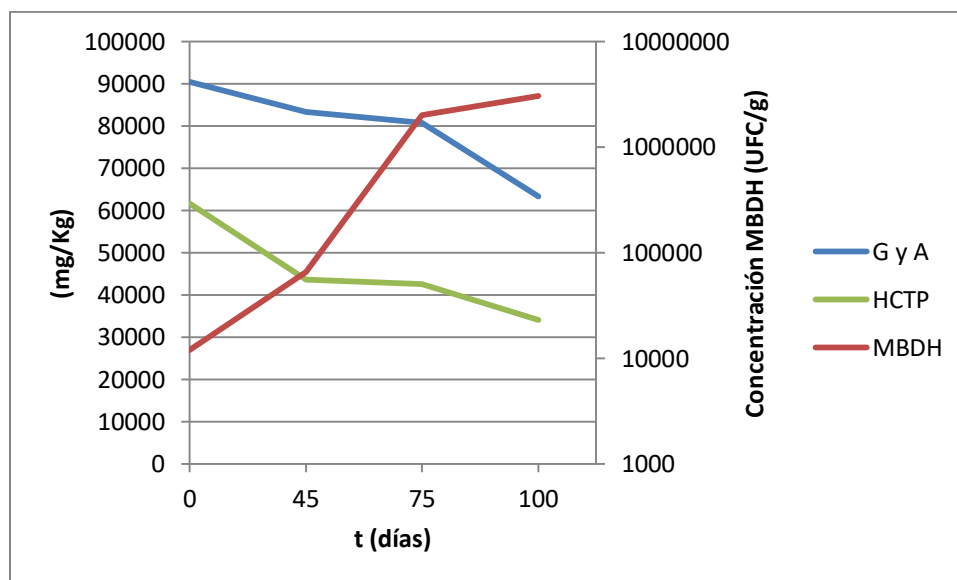
El contenido de microorganismos totales al inicio del tratamiento de los 5 experimentos ( $10^6 - 10^9$  UFC/g), se correspondía con los intervalos reportados como idóneos para lograr la efectividad requerida en procesos de biotratamiento, los que oscilan en el orden de  $10^5 - 10^6$  UFC/g (Ercoli, 2000). De igual manera; inicialmente se reportaron poblaciones de microorganismos degradadores de hidrocarburos para todos los experimentos en cantidades suficientes ( $10^3 - 10^4$  UFC/g), lo cual favorece el desarrollo de los procesos biológicos. Esto valida la importancia de mezclar los RSP con los sustratos de suelo limpio si se tiene en cuenta que la caracterización inicial de los contaminantes arrojó presencia de este tipo de microorganismos sólo en los residuales de la piscina del Centro Colector Jatibonico.

Además, se contabilizó el contenido de hongos y levaduras, que forman parte de la biota general presente en los experimentos y que contribuye a la degradación de la carga contaminante (Romero, 2012), determinándose presencia significativa de los primeros sólo en los composteros correspondientes al experimento del tanque 70 del Centro Colector Jatibonico y a los del suelo impactado del pozo P-203 del Yacimiento Pina.

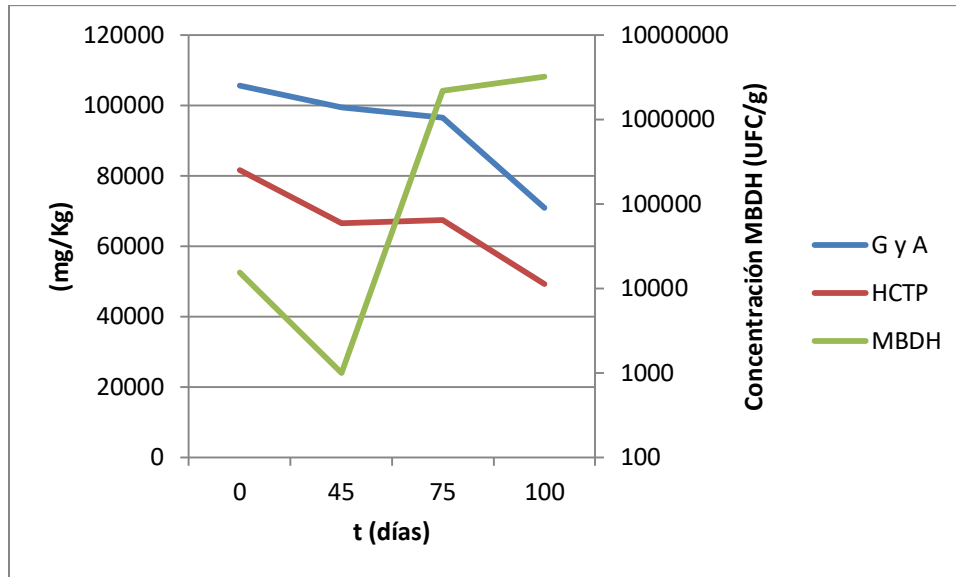


A los 45 y 75 días continúan existiendo contenidos elevados de microorganismos totales que abarcan en mayor medida las bacterias y en menor grado los hongos y levaduras; pero no fue posible cuantificar concentraciones de microorganismos degradadores de hidrocarburos para la mayoría de las muestras objeto de estudio, cuando solo se reporta que es menor que 1 (<1), lo que no quiere decir que no existiera esta biota específica degradadora de hidrocarburos, sino que la misma ha disminuido a partir de la alta acción metabólica en 45 y 75 días de proceso; o posible canibalismo bacteriano, a partir de que la fuente de carbono no está lo suficientemente disponible, y la alta toxicidad de la contaminación en los experimentos.

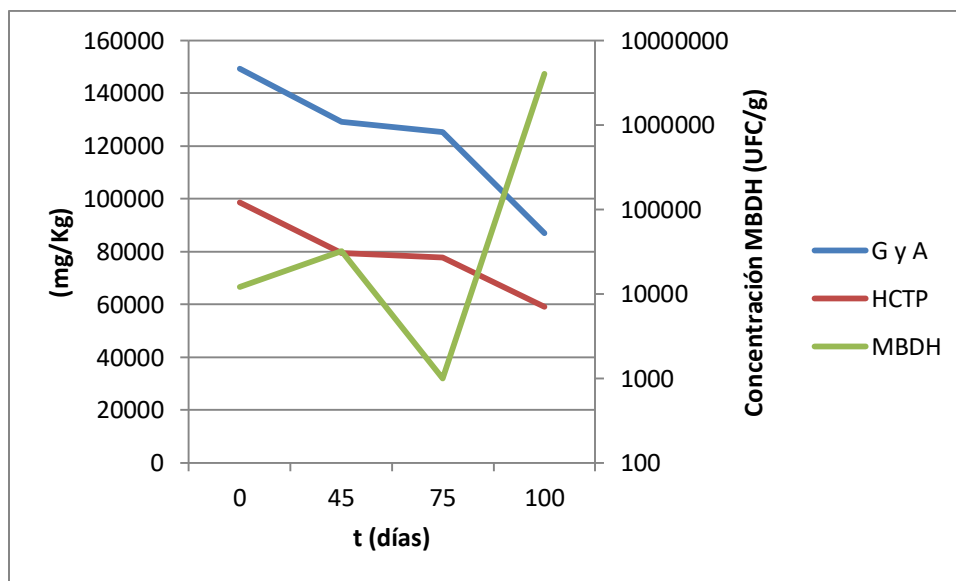
A tiempo 100 días se observa crecimiento de la biota presente en los experimentos, lo que indica la efectividad en la degradación del contaminante por el proceso, evidenciándose que la población microbiana ya está completamente adaptada al medio y cuenta con los nutrientes, y condiciones óptimas de biodegradabilidad para desarrollar su gestión metabólica. Lo anteriormente explicado indica que podrían esperarse tasas de mayor eficacia en períodos posteriores a 100 días de tratamiento (ver Figuras de la 18 a la 22).



**Figura 18.** Gráfico de relación: degradación G-A y HCTP/desarrollo MBDH. Experimento 1.

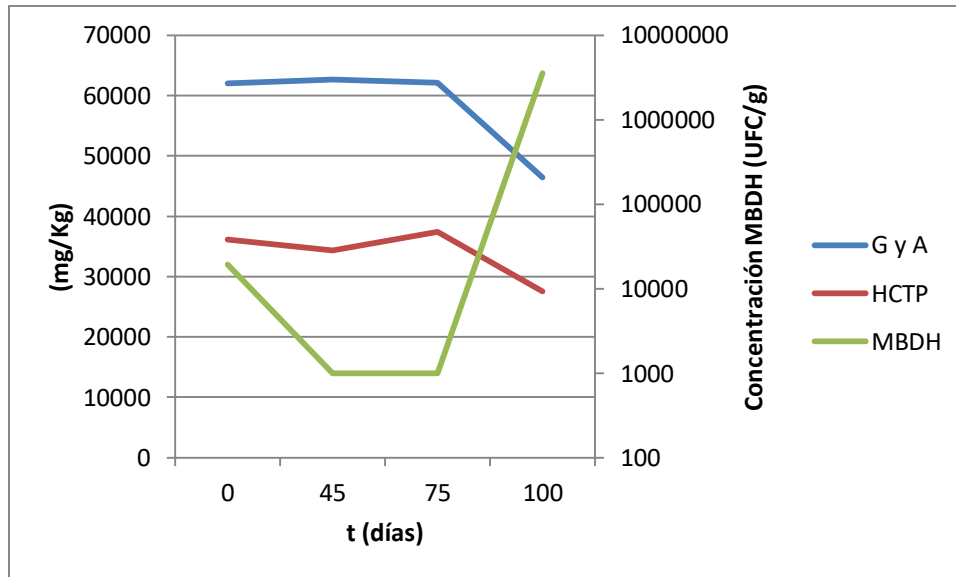


**Figura 19.** Gráfico de relación: degradación G-A y HCTP/desarrollo MBDH. Experimento 2.

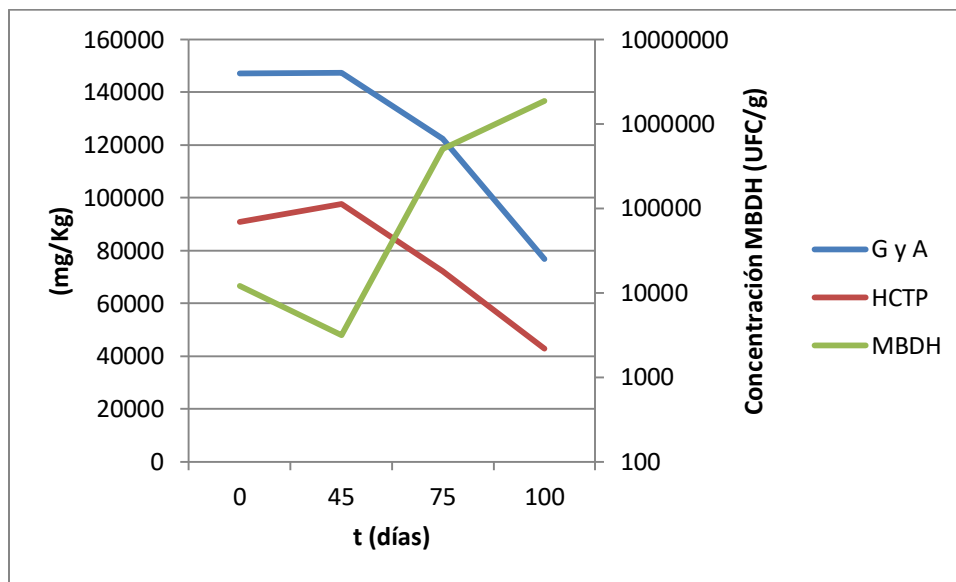


**Figura 20.** Gráfico de relación: degradación G-A y HCTP/desarrollo MBDH. Experimento 3.





**Figura 21.** Gráfico de relación: degradación G-A y HCTP/desarrollo MBDH. Experimento 4.



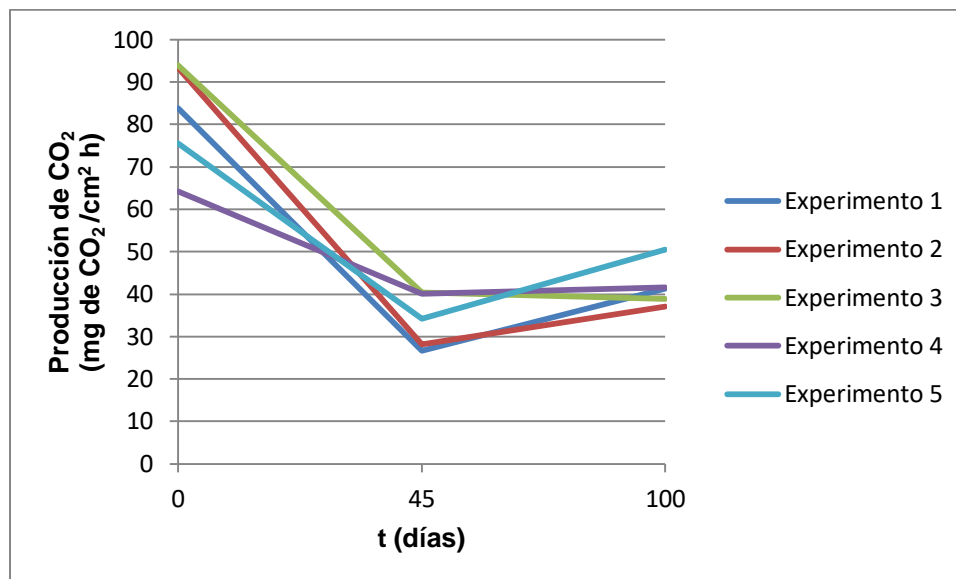
**Figura 22.** Gráfico de relación: degradación G-A y HCTP/desarrollo MBDH. Experimento 5.



### 3.4.5 Ensayo de respirometría. Determinación de la humedad.

Atendiendo a los resultados obtenidos en los ensayos respirométricos (Figura 23), se observan concentraciones entre 60 y 80 mg de CO<sub>2</sub> /cm<sup>2</sup> h al inicio del proceso para todos los experimentos; valores que se consideran acordes a los patrones típicos tomados como referencia para esta investigación (20 - 40 mg de CO<sub>2</sub> /cm<sup>2</sup>) (Romero, 2012), evidenciando que en esta etapa se contaba con las condiciones aerobias favorables para la acción microbiana.

A los 45 días se manifiesta un deterioro de estos indicadores, lo que es compatible con el comportamiento mantenido en las poblaciones de MDBH y las bajas tasas de biodegradación que se obtuvieron en el mismo período. A partir de aquí, comienza una tendencia al aumento de la producción de CO<sub>2</sub> (según los datos obtenidos en el ensayo de 100 días), siendo esto indicativo de la recuperación de los requerimientos necesarios para el desarrollo de la acción degradativa de los microorganismos, concordando así con el comportamiento observado para el resto de los factores en esta etapa (concentración de MOT, MBDH, tasas de biodegradación de HCTP y G-A).



**Figura 23.** Gráfico de resultados de las pruebas respirométricas a tiempo 0, 45 y 100 días.



Las mediciones de humedad practicadas a 45, 75 y 100 días, reportaron valores que oscilaron entre 45 y 75 %, los que resultaron suficientes para mantener esta condición en el proceso de biorremediación a escala de banco **(Romero, 2012; Valdés, 2013)**.

#### **3.4.6 Contenidos de nutrientes.**

Los contenidos de nitrógeno y fósforo totales determinados al inicio del tratamiento fueron adecuados para que existiera la estimulación necesaria para la biota presente en los experimentos, proporcionando las fuentes de energía necesarias. Durante el seguimiento del proceso se observó una disminución de los niveles de concentración, lo que se debe al uso de estos por la biota existente y pérdidas que pudieran ocurrir por la lixiviación durante el proceso.

El contenido de nutrientes disminuye considerablemente a los 100 días, teniendo en cuenta que al inicio, estos elementos (que son necesarios para la producción de aminoácidos y enzimas de compuestos energéticos dentro de la célula), resultaban suficientes para cubrir todas las necesidades del biotratamiento, lo que es apreciable en el comportamiento de los microorganismos durante el proceso, demostrándose que se encontraron en las proporciones adecuadas garantizando las fuentes de energía necesarias para los microorganismos y para lograr la efectividad del proceso.

#### **3.4.7 Elementos metálicos.**

Los niveles de concentración de Cd, Cr y Pb en las muestras de lixiviados a tiempo 0 y 75 días se encuentran dentro de los límites establecidos para la normativa reflejada en esta tesis **(EPA, 1996)**. Para el resto de los elementos, sus concentraciones oscilan entre los valores cuantificados por otros investigadores del CEINPET a iguales cargas contaminantes.

#### **3.4.8 Análisis sistémico.**

Aplicando un enfoque sistémico a los fenómenos que se manifestaron durante el desarrollo y seguimiento de los experimentos, se observa una repetitividad en el comportamiento y tendencias similares de los diferentes factores que intervinieron en los procesos que son objeto de esta investigación.



De forma generalizada se constató una primera etapa de meseta de bajas tasas de degradación en todos los experimentos, caracterizada por un período de “adaptación” de la población microbiana al entorno contaminante, lo cual se argumenta si se tiene en cuenta que las poblaciones de MBDH provenían del sustrato y estaban inicialmente ausentes en 4 de los 5 contaminantes, lo que los condujo (al producirse el contacto e interacción luego del compostaje); a someterse a condiciones de estrés ante la presencia de los contaminantes, situación que se atenúa al ser estimulados los procesos metabólicos de los microorganismos por el enriquecimiento de los contenidos de nutrientes, favoreciendo así, la asimilación de la degradación de los hidrocarburos. Esto constituyó sin dudas el factor limitante en la reducción de las concentraciones de HCTP y G-A hasta tanto se logró al equilibrio, al adaptarse los MBDH, comenzar a alimentarse, y por tanto, a desarrollarse y multiplicarse; a la vez que otros MOT también pudieron haber pasado a tomar como nutrientes las fuentes de carbono de los hidrocarburos y por tanto, a accionar en la degradación de estos.

Entre los 45 y 75 días se destaca el punto de inflexión, momento en el cual comienzan a hacerse efectivos los procesos de biodegradación condicionados a partir de aquí; por las concentraciones específicas de los contaminantes, sus fuentes de formación, el grado de intemperización, condiciones de biodegradabilidad y características de las mezclas, lo que a la postre constituyeron los factores que condicionaron los niveles finales de concentración de los contaminantes y tasas de biodegradación obtenidas.

### **3.5 Evaluación estadística.**

#### **3.5.1 Grasas y Aceites**

##### **➤ Ajuste de Datos.**

**Datos/Variable:** Concentración (Grasas y Aceites).

45 valores con rango desde 0.0 a 379.684



**Tabla 14. Distribuciones Ajustadas.**

<b>Normal</b>		
<b>Media = 121.092</b>		
<b>Desviación</b>	<b>Estándar</b>	<b>=</b>
82.4913		

**Tabla 15. Pruebas de Normalidad (Grasas y Aceites).**

<b>Prueba</b>	<b>Estadístico</b>	<b>Valor-P</b>
	<b>o</b>	
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.954561	0.119529

**Pruebas de Bondad-de-Ajuste (Grasas y Aceites).**

**Tabla 16. Prueba de Kolmogorov-Smirnov.**

	<b>Normal</b>
<b>DMAS</b>	0.0816594
<b>DMENOS</b>	0.0710603
<b>DN</b>	0.0816594
<b>Valor-P</b>	0.925021

Debido a que el valor-P más pequeño de las pruebas realizadas es mayor o igual a 0.05, no se puede rechazar la idea de que los valores de Grasas y Aceites provienen de una distribución normal con 95% de confianza.

➤ **ANOVA Multifactorial (Grasas y Aceites).**

**Variable dependiente:** Concentración (Grasas y Aceites).

**Factores:**

- Experimento
- Tiempo (días)



Número de casos completos: 45

**Tabla 17. Análisis de Varianza (Grasas y Aceites) - Suma de Cuadrados Tipo III.**

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:Experimento	72079.8	4	18019.9	5.58	0.0018
B:Tiempo	117649.	2	58824.3	18.21	0.0000
<b>RESIDUOS</b>	96928.2	30	3230.94		
<b>TOTAL (CORREGIDO)</b>	299412.	44			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Puesto que los valores-P son menores que 0.05, estos factores (Experimento y Tiempo) tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la concentración de Grasas y Aceites con un 95.0% de nivel de confianza.

#### **Pruebas de Rangos Múltiple (Grasas y Aceites) por Experimento.**

**Tabla 18. Método: 95.0 porcentaje LSD (G y A).**

<b>Experimento</b>	<b>Casos</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
Experimento 4	9	57.1452	18.9471	X
Experimento 1	9	112.494	18.9471	X
Experimento 2	9	119.002	18.9471	X
Experimento 5	9	135.429	18.9471	XX
Experimento 3	9	181.39	18.9471	X

Se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas.



No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado finalmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher.

**Tabla 19. Método: 95.0 porcentaje LSD (G y A).**

<b>Contraste</b>	<b>Sig</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/- Límites</b>
Experimento 1 - Experimento 2		-6.50744	54.7234
Experimento 1 - Experimento 3	*	-68.8954	54.7234
Experimento 1 - Experimento 4	*	55.3493	54.7234
Experimento 1 - Experimento 5		-22.9345	54.7234
Experimento 2 - Experimento 3	*	-62.388	54.7234
Experimento 2 - Experimento 4	*	61.8567	54.7234
Experimento 2 - Experimento 5		-16.4271	54.7234
Experimento 3 - Experimento 4	*	124.245	54.7234
Experimento 3 - Experimento 5		45.9609	54.7234
Experimento 4 - Experimento 5	*	-78.2838	54.7234

\* indica una diferencia significativa.

El asterisco que se encuentra al lado de los 6 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza.

➤ **ANOVA Simple - (Grasas y Aceites) por Tiempo.**

**Variable dependiente:** Concentración (Grasas y Aceites)



**Factor:** Tiempo (días)

**Número de observaciones:** 45

**Número de niveles:** 3

**Tabla 20.** ANOVA para (Grasas y Aceites) por Tiempo.

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
Entre grupos	117649.	2	58824.3	13.59	0.0000
Intra grupos	181763.	42	4327.69		
Total (Corr.)	299412.	44			

Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de Grasas y Aceites entre un nivel de Tiempo y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

**Pruebas de Múltiple Rangos para Grasas y Aceites por Tiempo.**

**Tabla 21.** Método: 95.0 porcentaje LSD (G y A) por tiempo.

<b>Tiempo</b>	<b>Casos</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
0 - 45	15	73.421	14.6764	X
45 - 75	15	97.8403	14.6764	X
75 - 100	15	192.015	14.6764	X

*Análisis Idem. al factor anterior.*

**Tabla 22.** Método: 95.0 porcentaje LSD (G y A) por tiempo.





<b>Contraste</b>	<b>Sig.</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/- Límites</b>
(0 - 45) - (75 - 100)	*	118.594	42.3885
(45 - 75) - (75 - 100)	*	94.1747	42.3885
(0 - 45) - (45 - 75)		-24.4193	42.3885

\* indica una diferencia significativa.

El asterisco que se encuentra al lado de los 2 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza.

**Tabla 23.** Verificación de Varianza (G y A).

	<b>Prueba</b>	<b>Valor-P</b>
Levene's	0.218121	0.804933

Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

### 3.5.2 Análisis para Hidrocarburos Totales del Petróleo.

#### ➤ Ajuste de Datos.

**Datos/Variable:** Concentración (Hidrocarburos Totales del Petróleo).

45 valores con rango desde 0.0 a 296.142



**Tabla 24. Distribuciones Ajustadas.**

<b>Normal</b>		
<b>Media = 119.673</b>		
<b>Desviación</b>	<b>Estándar</b>	<b>=</b>
69.0039		

**Tabla 25. Pruebas de Normalidad (Hidrocarburos Totales del Petróleo).**

<b>Prueba</b>	<b>Estadístico</b>	<b>Valor-P</b>
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.946301	0.0561719

**Pruebas de Bondad-de-Ajuste (Hidrocarburos Totales del Petróleo).**

**Tabla 26. Prueba de Kolmogorov-Smirnov (HCTP).**

	<b>Normal</b>
<b>DMAS</b>	0.0919001
<b>DMENOS</b>	0.0961152
<b>DN</b>	0.0961152
<b>Valor-P</b>	0.80008

Debido a que el valor-P más pequeño de las pruebas realizadas es mayor o igual a 0.05, no se puede rechazar la idea de que los valores de concentración de



Hidrocarburos Totales del Petróleo provienen de una distribución normal con 95% de confianza.

➤ **ANOVA Multifactorial (Hidrocarburos Totales del Petróleo).**

**Variable dependiente:** (Hidrocarburos Totales del Petróleo).

**Factores:**

- Experimento
- Tiempo (días)

**Número de casos completos:** 45.

*Tabla 27. Análisis de Varianza (Hidrocarburos Totales del Petróleo) - Suma de Cuadrados Tipo III.*

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:Experimento	72814.3	4	18203.6	12.29	0.0000
B:Tiempo	57373.4	2	28686.7	19.37	0.0000
RESIDUOS	44425.9	30	1480.86		
TOTAL (CORREGIDO)	209508.	44			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Puesto que 2 valores-P son menores que 0.05, estos factores (Experimento y Tiempo) tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la concentración de Hidrocarburos Totales del Petróleo con un 95.0% de nivel de confianza.

**Pruebas de Múltiple Rangos (Hidrocarburos Totales del Petróleo) por**



**Experimento.**

**Tabla 28.** Método: 95.0 porcentaje LSD (HCTP).

<b>Experimento</b>	<b>Casos</b>	<b>Media LS</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
Experimento 4	9	45.9883	12.8273	X
Experimento 5	9	108.835	12.8273	X
Experimento 2	9	140.428	12.8273	XX
Experimento 1	9	145.239	12.8273	XX
Experimento 3	9	157.873	12.8273	X

*Idem. variable anterior.*

**Tabla 29.** Método: 95.0 porcentaje LSD (HCTP).

<b>Contraste</b>	<b>Sig.</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/- Límites</b>
Experimento 1 Experimento 2	-	4.81072	37.0481
Experimento 1 Experimento 3	-	-12.6341	37.0481
Experimento 1 Experimento 4	*	99.2504	37.0481
Experimento 1 Experimento 5	-	36.4032	37.0481



Experimento 2	-		-17.4448	37.0481
Experimento 3				
Experimento 2	-	*	94.4397	37.0481
Experimento 4				
Experimento 2	-		31.5925	37.0481
Experimento 5				
Experimento 3	-	*	111.884	37.0481
Experimento 4				
Experimento 3	-	*	49.0373	37.0481
Experimento 5				
Experimento 4	-	*	-62.8472	37.0481
Experimento 5				

\* indica una diferencia significativa.

El asterisco que se encuentra al lado de los 5 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza.

➤ **ANOVA Simple – (Hidrocarburos Totales del Petróleo) por Tiempo.**

**Variable dependiente:** Concentración Hidrocarburos Totales del Petróleo (mg/kg)

**Factor:** Tiempo (días)

**Número de observaciones:** 45

**Número de niveles:** 3

**Tabla 30.** ANOVA para (Hidrocarburos Totales del Petróleo) por Tiempo.

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadros</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
Entre grupos	57373.4	2	28686.7	7.92	0.0012



Intra grupos	152134.	42	3622.24		
Total (Corr.)	209508.	44			

Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la concentración de Hidrocarburos Totales del Petróleo entre un nivel de tiempo y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

### Pruebas de Rangos Múltiple para (Hidrocarburos Totales del Petróleo) por Tiempo.

**Tabla 31.** Método: 95.0 porcentaje LSD (HCTP) por tiempo.

<b>Tiempo</b>	<b>Casos</b>	<b>Media</b>	<b>Sigma LS</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
0 - 45	15	84.8029	9.936	X
45 - 75	15	105.477	9.936	X
75 - 100	15	168.739	9.936	X

*Idem. Factor anterior.*

**Tabla 32.** Método: 95.0 porcentaje LSD (HCTP) por tiempo.

<b>Contraste</b>	<b>Sig.</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/- Límites</b>
(0 - 45) - (75 - 100)	*	83.9357	28.6973
(45 - 75) - (75 - 100)	*	63.262	28.6973
(0 - 45) - (45 - 75)		-20.6737	28.6973

\* indica una diferencia significativa.

El asterisco que se encuentra al lado de los 2 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza.



**Tabla 33.** Verificación de Varianza (HCTP).

	<b>Prueba</b>	<b>Valor-P</b>
Levene	0.44533	0.643602
's	1	

Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

### **3.5.3 Análisis de los resultados estadísticos.**

Teniendo en cuenta la información aportada como resultado de la aplicación de las pruebas estadísticas para el comportamiento de las concentraciones de G-A e HTCP; se verifican las diferentes teorías manejadas en la discusión de los resultados, cuando se analizaron las tasas de degradación logradas en las 3 etapas del experimento, su relación con el desarrollo de la población microbiana y los procesos biológicos asociados; teniendo en cuenta las diferencias entre lo reportado para los primeros 75 días del proceso y lo alcanzado en el período de 75 a 100 días.

Así mismo se demuestra la incidencia que tienen las características de los contaminantes tratados, sobre el comportamiento y los resultados de los procesos de biorremediación, lo que refuerza la tesis de que cada tratamiento debe diseñarse y prepararse acorde al tipo de residuo y su fuente generadora.

### **3.6 Disposiciones y acciones técnicas. Plan de acción.**

Se entrega un procedimiento a seguir para la ejecución de celdas de tratamiento en la aplicación del proceso de biorremediación por *landfarming* y su manutención en el área que sea escogida por la empresa. Estas acciones se establecen a partir de los resultados alcanzados en el proceso ejecutado a escala de banco y de las operaciones y requisitos establecidos por la normativa vigente (**NC 819:2010**), y constituyen una herramienta necesaria para la continuación de los trabajos a ejecutar por la empresa.

- Diseño y selección del área: Terreno nivelado con pendiente menor que 3 %, alejado de cuerpos de aguas (a no menos de 100 m) y de fácil acceso. Nivel mínimo de 2 - 3 m de las aguas subterráneas **(NC 819:2010)**.
- En este caso, se propone la construcción del sitio de biorremediación en un área que colinda al norte con el Centro Colector Cristales (ver Figura 24) por cumplir con los requerimientos determinados y ser este un punto geográficamente intermedio entre los yacimientos de Pina y Jatibonico.



**Figura 24.** Vista aérea del Centro Colector Pina

- Contar con un sistema de drenaje que recolecte las aguas de escurrimiento y lixiviados, conectado algún sistema de tratamiento o diseñar trampa de grasas para la unidad o celdas de tratamiento.
- Crear celdas de tratamiento que abarquen 1 ha, distribuidas según lo previsto de acuerdo a los resultados de la caracterización inicial.
- Vertido controlado de las mezclas a tratamiento, mediante camiones de volteo y esparcimiento mediante buldócer (propio de la entidad) acoplado a ruster (ganchos). Se deben verter  $230 \text{ m}^3/\text{ha}$ .





- Ejecución de acciones para lograr la homogenización, aireación, humectación y fertilización adecuadas, según proceda para cada caso en específico.
- El área debe estar cercada perimetralmente y debidamente señalizada.
- Selección de operario para el control de los aspectos antes mencionados y posteriormente para el control del proceso (Se recomienda la utilización de los propios operarios del centro colector para las labores de atención general).
- El tiempo para nuevas incorporaciones de material contaminado, a las celdas de tratamiento para la degradación de los residuos, se contempla luego de que se alcance como mínimo un 2- 3 % de concentración de G y A e HCTP en los residuos dispuestos en las celdas. Para la disposición final del contaminante se requiere que se obtenga el valor del 1% para dichas concentraciones.
- La aireación se realizará al menos dos veces por semana por una hora de laboreo cada vez, mediante la utilización de equipos mecánicos. En este caso se recomienda un tractor con arado (el utilizado por los operadores de recolección del yacimiento para los recorridos a pozos).
- La humectación podría garantizarse con la ocurrencia periódica de lluvias. En época de seca se realizará mediante mangueras acopladas a carros cisternas y/o con la implementación de un sistema de regadío. Se requiere mantener la humedad de retención del campo entre 60 y 80 %.
- La fertilización se realizará manualmente, utilizando como fuentes de nitrógeno y fósforo fertilizantes agrícolas disponibles en el país.
- El Grupo de Ingeniería Ambiental de la Unidad Científico Tecnológica de Base de Ambiental y Corrosión del CEINPET brindará la asesoría técnica necesaria para la implementación de este procedimiento por parte de la empresa.

Previamente al tratamiento de los RSP, se deberán desarrollar acciones previas para proporcionar las condiciones necesarias en aras de optimizar la eficiencia del proceso:

- Modificar los procedimientos de respuesta ante derrames, estableciendo los requerimientos para que, ante un vertido de petróleo crudo en explanadas de pozo u otras áreas; las mezclas que se hagan sean con porciones de suelo limpio de capa vegetal, limitando al mínimo el uso de arcillas en estas



operaciones.

- Proceder lo antes posible a la mezcla de suelo limpio capa vegetal, en las proporciones requeridas, con los contaminantes residuales petrolizados almacenados como pasivos ambientales en la entidad.
- Habilitar un área de disposición previa al sitio de biorremediación, donde se situarán estos residuos contaminados en espera de ser tratados en las celdas de biotratamiento.

### 3.7 Costo estimado para la implementación del tratamiento propuesto.

Seguidamente se presenta un análisis económico para la determinación aproximada de los costos asociados al tratamiento de biorremediación propuesto.

En la Tabla 34 se muestra el costo de los análisis (según ficha de costo del propio centro) que se requerirá para el seguimiento químico y microbiológico del proceso de biorremediación, los cuales serán contratados al CEINPET.

**Tabla 34.** Costos y valor de los análisis ejecutados, expresados en CUP y USD

Denominación del Análisis	Cantidad de muestras	Precio/u		Costo	
		CUP	USD	CUP	USD
HC suelos(HCTP y G-A)	5	92.54	14.36	462.7	71.8
SARA(saturados, Aromáticos, asfáltenos y resinas)	2	174.23	22.70	348.46	45.4
Microorganismos Heterótrofos Totales	5	76.43	4.92	382.15	24.6
Microorganismos degradadores de hidrocarburos	5	54.16	6.53	270.8	32.65
Hongos y Levaduras	5	41.79	12.22	208.95	61.1
Conteo de Bacterias	5	49.75	10.58	248.75	52.9
Determinación de Fósforo Total	5	41.95	2.24	209.75	11.2



Determinación de Nitrógeno Total	5	63.40	17.80	317	89
Determinación de CO <sub>2</sub>	3	21.39	1.47	64.17	4.41
Determinación de metales pesados	2	91.59	12.68	183.18	25.36
Ph, Conductividad y Temperatura	5	8.25	0.55	41.25	2.75
<b>Total</b>				<b>2274.46</b>	<b>349.37</b>

La Tabla 35 muestra el gasto por concepto de fuerza de trabajo que se requiere por parte del CEINPET para la ejecución de los ensayos contratados.

**Tabla 35.** Costos por concepto de utilización de fuerza de trabajo del CEINPET.

<b>Gasto Fuerza Trabajo CEINPET</b>						
<b>CATEGORÍA</b>	<b>Cant.</b>	<b>Salario</b>	<b>Salario</b>	<b>Horas</b>	<b>IMPORTE</b>	
		<b>Mes</b>	<b>Hora</b>	<b>Trab.</b>	<b>CUP</b>	<b>USD</b>
Técnico-ejecutivo II	3	585.00	3.07	571.8	5265.00	
Investigador II	1	754.00	3.96	95.3	377.00	
<b>SALARIO BASICO</b>					<b>5642.00</b>	
Otros Gastos Indirectos FT					2346.51	28.77
<b>Total Gasto FT</b>					<b>7988.51</b>	<b>28.77</b>

Para la atención y seguimiento al tratamiento, la entidad no pretende contratar nueva fuerza de trabajo por lo que en el área de biorremediación laborarán los mismos operadores del yacimiento a los cuales se les ajustará la carga de trabajo para que dediquen parte de su jornada semanal a las actividades que requiere el sitio tanto para el esparcimiento inicial como la aireación periódica, el control de la humedad y demás parámetros. Se planifica así mismo, tiempo del especialista de Gestión Ambiental de la empresa para visitas al área y la toma de muestras correspondientes a los ensayos de



seguimiento. El costo por concepto de pago por la utilización de recursos humanos propios de la entidad se muestra en la Tabla 36.

**Tabla 36.** Costos por concepto de utilización de fuerza de trabajo de la EPEP Majagua.

<b>Gasto Fuerza de Trabajo EPEP Majagua</b>				
<b>CATEGORÍA</b>	<b>Cant.</b>	<b>Salario</b>	<b>Salario</b>	<b>Importe</b>
		<b>Tarifa</b>	<b>Horas</b>	<b>M.Nac.</b>
Especialista MA	1	28.2	5.00	141
Operador Buldocer	1	20.2	4.00	80.8
Operador Recolección y Tratamiento de Crudo.	1	20.65	50.00	1032.5
Operador de Extracción	1	21.05	50.00	1052.5
<b>SALARIO BASICO</b>				<b>2308.8</b>

Los costos de la utilización de materiales, equipos y combustibles se muestran en las Tablas 37 y 38. (Los equipos que serán utilizados son propios de la entidad por lo que no se requiere pagos de facturas de servicios a terceros para estas actividades).

**Tabla 37.** Costos por concepto de gasto de combustible.

<b>Equipo</b>	<b>Días/ Sema na</b>	<b>h/día s</b>	<b>Cant. accione s en el período</b>	<b>Hora s</b>	<b>Índice de Consu mo</b>	<b>Cant. Comb (l)</b>	<b>Preci o (\$/l)</b>	<b>Import e USD</b>
Tractor	2	1	50	50	6	300	0.73	219.00
Buldocer	2	2	2	4	12	48	0.73	35.04
<b>Total</b>								<b>254.04</b>



**Tabla 38.** Costos por concepto de compra y utilización de fertilizantes como fuentes de nutrientes.

Fertilizante	Cantidad (Kg)	Precio (\$/kg)	Importe USD
UREA	2436.44	0,09/Kg	219.28
DAP	462.44	0,4/Kg	184.98
<b>Sub Total</b>			<b>404.26</b>

En la Tabla 39 se expone la sumatoria de todos los elementos de gastos que intervendrán en el tratamiento de los contaminantes, así como el valor final aproximado expresado en  $\$/m^3$  de lo que costará tratar cada tipo de contaminante. Estos cálculos están desarrollados sobre la base de  $230 m^3/ha$ , que es lo establecido en la norma cubana **NC 819:2010**.

**Tabla 39.** Determinación del costo aproximado de tratamiento de un contaminante.

Elemento de Costo	Importe		MT
	CUP	USD	
Costo Análisis CEINPET	2274.46	349.37	
Otros Gastos Materiales y Margen Comercial CEINPET	7804.18	207.06	
Gasto Fuerza Trabajo CEINPET	7988.51	28.77	
Gasto Fuerza Trabajo EPEP Majagua	461.4		
Combustible		254.04	
Fertilizante		404.26	
<b>Total</b>	<b>18528.55</b>	<b>1243.5</b>	<b>19772.05</b>
<b>Costo/m<sup>3</sup></b>	<b>80.56</b>	<b>5.41</b>	<b>85.97</b>



Teniendo en cuenta los valores obtenidos se estima que el costo de tratamiento por m<sup>3</sup> de cada uno de estos contaminantes estará aproximadamente en el orden de los \$ 80.56 CUP y \$ 5.41 USD, valor este inferior al que reportan otros países (Tabla 40). Por tanto, es económicamente factible aplicar esta tecnología en la entidad para el manejo de sus contaminantes.

**Tabla 40.** Costo de la tecnología de landfarming según fuentes consultadas

Precio	Fuente	Año
£40.00-£43.00 (Euro)	LLadó	2012
\$150.00	Hernando	2012
\$30.00-\$70.00 (USD)	Petro y Mercado	2014
\$32.00-\$197.00 (USD)	Romero	2014



---

## Conclusiones

1. Como resultado de la caracterización química de los contaminantes, se reportaron en todas las muestras; niveles de concentración de Hidrocarburos Totales del Petróleo y Grasas y Aceites por encima de los valores normados por la NC 819:2010 (10000 mg/kg), lo que evidencia el grado de contaminación de estos residuales, la amenaza que representa para el ecosistema y la necesidad de lograr un manejo y disposición final adecuados. Así mismo, se observó que desde el punto de vista microbiológico; aunque se determina una activa biota de microorganismos totales, son insuficientes de forma general las concentraciones de las bacterias degradadores de hidrocarburos, por lo que para lograr la reducción de la carga contaminante se necesita el establecimiento de mejores condiciones para garantizar la biodegradabilidad de los mismos.
2. Como resultado de la aplicación, experimentación y seguimiento del proceso de biorremediación a escala de banco por *landfarming*, a los residuos sólidos petrolizados de la EPEP Majagua; se lograron tasas de biodegradación para los contaminantes que oscilaron como promedio entre 25 y 41 % para las Grasas y Aceites y entre 31 y 53 % para los Hidrocarburos Totales del Petróleo, y aun cuando no se logró la reducción de la carga contaminante hasta los niveles requeridos por la legislación (1 %), se demuestra la alta capacidad de degradación de la biota presente, con una tendencia al aumento de la eficiencia del proceso en períodos mayores a 100 días.
3. El costo de \$ 80.56/m<sup>3</sup> (CUP) y \$ 5.41/m<sup>3</sup> (CUC), determinado para el tratamiento de cada contaminante en un área de biorremediación a escala de campo; demuestra que es económicamente factible la aplicación de esta tecnología como solución al manejo y disposición de los residuos sólidos petrolizados y los suelos contaminados de la EPEP Majagua.
4. El plan de acciones elaborado, establece los requerimientos necesarios para la implementación de la biorremediación por *landfarming* a escala de campo en la EPEP Majagua y contribuye a la optimización del proceso, planteando pautas previas a



---

seguir, con el propósito de establecer mejores condiciones de biodegradabilidad para los contaminantes de antes ser tratados.





---

## Recomendaciones

1. Implementar un área de biorremediación por *landfarming* a escala de campo para el manejo y disposición segura de los RSP acumulados en la EPEP Majagua, dando cumplimiento al plan de acciones elaborado.
2. Desarrollar un estudio para valorar la aplicación de biosurfactantes a los residuales de la piscina del Centro Colector Jatibonico, en aras de fomentar las condiciones de biodegradabilidad de los mismos.
3. Diseñar la ejecución del proyecto para la implementación del proceso a escala de campo, para un período de biorremediación de los residuos sólidos petrolizados mayor a 100 días.



---

## Bibliografía

1. Abboud, S. A. (2000). Comunicación Personal. Alberta Research Council. Canadá.
2. Aldás Vargas, A. B. (2014). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos a escala de laboratorio. Quito, Ecuador: Universidad San Francisco de Quito.
3. Álvarez, H. M. (2015). Biorremediación de ambientes contaminados con hidrocarburos: un proceso complejo que involucra múltiples variables. *Química Viva*.
4. APHA-AWWA- WEF. (2005). Standard Methods for the examination of water and waste water. 20th ed.
5. Ayllón Torre, R. (2011). *Monitoreo y Calidad Actual de los Compósitos de Petróleos de la Franja Norte de los yacimientos de las EPEP Occidente –Centro*. La Habana: Centro de Investigaciones del Petróleo.
6. Bermúdez Rincones, R. M. (2009). Optimización de la degradación de hidrocarburos en el área de biotratamiento de suelo de la empresa petrolera "Petrozuata C.A". Cumaná, Venezuela: Universidad de Oriente.
7. Canasa Calvo, A. (2010). Remediación de suelos contaminados en operaciones de perforación y manejo del petróleo crudo en la selva peruana. Lima, Perú: Universidad Nacional de Ingeniería.
8. Cando Rodríguez, M. A. (2011). Determinación y análisis de un proceso de biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos. Cuenca, España: Universidad Politécnica Salesiana.
9. Cañete Pérez, C., Romero Silva, R., & Fuentes Quevedo, E. (2014). *Evaluación de alternativas de uso de residuales petrolizados y de tratamiento de residuales sólidos petrolizados. Proyecto 407050*. La Habana: CEINPET.



10. Cruz Sánchez, D., Fosados Osorio, C., Trejo del Ángel, V., & Zavala San Agustín, E. (2015). Aislamiento y caracterización de candida tropicalis y stenotrophomonas maltophilia de suelos contaminados con hidrocarburos. Guadalajara, Mexico: XVI Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería.
11. EPA. (1993). Bioremediacion using the land treatment concept. Office of Research and Development. Washintong, DC 20480: EPA/600/R-92/164.
12. EPA 3050 B. (1996). Digestión ácida de sedimentos, lodos y suelos. USA.
13. Ercoli, E., Di Paola, M., & Cantero, J. (2000). Análisis y Evaluación de parámetros críticos en biodegradación de hidrocarburos en suelo. Argentina: Universidad Nacional de Cuyo.
14. Ferreira do Nascimento , T. C., Santos Oliveira, F. J., & Pessoa de Franca, F. (2012). Biorremediación de un suelo tropical contaminado con residuos aceitosos intemperizados. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*.
15. Finnerty, N. R. (1994). Biosurfactants in enviromental Biotechnology. *Curr. Opin. Biotechnol*, 291-295.
16. García Cruz, N. U., & Aguirre Macedo, M. L. (2015). Biodegradación de petróleo por bacterias: algunos casos de estudio en el Golfo de México. *Golfo de México. Contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias*, 641-652.
17. ISO 10048 E. (1991). Determinación de Nitrógeno Total en suelos.
18. ISO 5657. (1994). Calidad de Agua. Muestreo.
19. ISO 6887. (1993). International Standard. Microbiology: General guidance for the preparation of dilutions for microbiological examination.
20. ISO 7954. (1987). con medio Agar Extracto de Malta con Cloruro de Sodio al 5 %, utilizando la técnica de esparcimiento en placa.
21. ISO 8199. (2005). con medio Agar Triptona Soya, utilizando la técnica de siembra de esparcimiento en placa.



22. Izquierdo Romero, A. R. (2013). Biodegradación de HAPs durante la biorremediación aeróbica de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo. Análisis de poblaciones bacterianas y genes funcionales. Barcelona, España: Universitat de Barcelona.
23. Jain, P.K, Gupta, V.K y cols.(2011). Bioremediation of petroleum oil contaminated soil and water. University Lakshmangarh, Rajasthan, India.
24. Lladó Fernández, S. (2012). Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos pesados y caracterización de comunidades microbianas implicadas. Barcelona, España: Universitat de Barcelona.
25. MBH Medium (Modified Bushnell and Hass solution) . (1981). *Appl. Environ.*
26. Mena González, Y. (2015). *Diagnóstico Ambiental*. EPEP Majagua.
27. Mercado Montero, G. D., & Petro Cardona, P. H. (2014). Biorremediación de suelos contaminados por derrames de hidrocarburos derivados del petróleo en Colombia. Cartagena de Indias, Colombia: Universidad de San Buenaventura seccional Cartagena.
28. Nápoles, J., Rodríguez, S., Santiago, L., & Ábalos, A. (2015). Disminución del extracto orgánico total en suelos contaminados con hidrocarburos. *Tecnología Química*.
29. NC 32. (2009). Calidad de Suelo. Determinación del pH y la conductividad eléctrica en el extracto. Cuba.
30. NC 819. (2010). Manejo de fondaje de tanques de almacenamiento de crudo y sus derivados. La Habana, Cuba.
31. Ñustez Cuartas, D. C. (2012). Biorremediación para la degradación de hidrocarburos totales presentes en los sedimentos de una estación de servicio de combustible. Pereira, Colombia: Universidad Tecnológica de Pereira.
32. Ortega Alvarado, M. A. (2010). Remoción de hidrocarburos en efluentes de una planta de tratamiento de aguas petrolizadas. Maracaibo, Venezuela: Universidad de Zulia.



33. Peña Prieto, L. E., Heredia Martín, J. P., & Sanabria, M. I. (2010). Tratamiento y disposición final de lodos aceitosos resultantes de los procesos de producción y extracción de crudo. Bogotá, Colombia: Universidad Distrital Francisco José de Caldas.
34. Ponce Contreras, D. S. (2014). Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos. Concepción, Chile: Universidad Bio - Bio.
35. Posada, R. H. (2012). *Procesos de Biorremediación*. Bogotá: Universidad Nacional Abierta y a Distancia - UNAD.
36. Pucci, G., Acuña, A., & Pucci, O. (2015). Biodegradación de hidrocarburos en fondos de tanques de la industria petrolera. *Revista peruana de biología*.
37. Pucci, G., Pucci, O., Tiedemann, M., Tonnin, N., & Acuña, A. (2010). Diversidad de bacterias cultivables con capacidad de degradar hidrocarburos de la playa de Caleta Córdova, Argentina. *Revista Peruana de Biología*.
38. RA 01. (1995). Manejo y disposición de residuales generados en las operaciones en tierra de pozos de petróleo y gas natural. CUPET.
39. Riojas González, H. H., Torres Bustillos, L. G., Mondaca Fernández, I., Balderas Cortes, J. J., & Gortáres Moroyoqui, P. (2010). Efectos de los surfactantes en la biorremediación de suelos. *Química Viva*.
40. Rodríguez Alhama, I. (2013). Reciclado en suelo de lodos de refinería: nuevas aproximaciones para la biodegradación de hidrocarburos mediante el manejo de enmiendas orgánicas. Murcia, España: Universidad de Murcia.
41. Romero Silva, R. (2012). Aplicación del proceso de biorremediación mediante la técnica biopila a los residuos sólidos petrolizados de la Empresa comercializadora de combustibles de Villa Clara. La Habana, Cuba: ISPJAE.
42. Romero Silva, R., & Campos, R. (2007). *Aplicación de la biorremediación para tratar los residuos sólidos petrolizados y suelos contaminados con hidrocarburos de la Refinería "Sergio Soto" y ECC Matanzas Proyecto 2416*. La Habana: CEINPET.



43. Romero Silva, R., & Campos, R. (2011). *Aplicación del proceso de biorremediación a suelos contaminados con residuos sólidos petrolizados de la cantera de Birama, proveniente de la actividad petrolera*. Matanzas: Centro de Investigaciones del Petróleo.
44. Romero Silva, R., & Rivas Trasancos, L. (2014). *Curso de aspectos básicos de la biorremediación*. La Habana, Cuba: Centro Politécnico-ejecutivo del Petróleo.
45. Romero Silva, R., Campos Rodríguez, R., & Rivas Trasancos, L. (2009). *Propuestas de diseño tecnológico de manejo y disposición final de los residuos sólidos petrolizados y suelos contaminados de la Empresa de Gas Manufacturado "Evelio Rodríguez Curbelo" Proyecto 2416*. La Habana: CEINPET.
46. Romero Silva, R., Sánchez Reyes, A., & Campos Rodríguez, R. (2010). *Biodegradación de residuos sólidos petrolizados mediante la aplicación de cepas de Hongos, en la Cantera Birama (EPEP Centro)" Proyecto 2416*. La Habana: CEINPET.
47. Tapia Barrón. (2004). *Biorremediación de suelos impactados por hidrocarburos*. La Habana, Cuba: ISPJAE.
48. Tirado Torres, D., Acevedo Sandoval, O., Romo Gómez, C., Marmolejo Santillán, Y., & Gayosso Canales, M. (2015). *Participación de consorcios microbianos en la biodegradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos*. *Revista Iberoamericana de Ciencias*.
49. Valdés Martínez, M. T. (2013). *Biorremediación mediante técnica de cultivo de tierra a suelos contaminados con aceites lubricantes*. La Habana, Cuba: ISPJAE.
50. Viale, R., & Infante, C. (1997). *Protocolo para medir producción de CO<sub>2</sub> en suelo*. Documento Técnico-ejecutivo. INTEVEP. INT- STE – 0966.

