

**Biorremediación de suelos contaminados
con hidrocarburos y/o derivados del petróleo**

Sandra Emperatriz Peña Murillo
Eddie Manuel Zambrano Nevárez

Collo**QUIUM**

Editorial - Centro de Formación

Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos y/o derivados del petróleo

Sandra Emperatriz Peña Murillo
Eddie Manuel Zambrano Nevárez

Biorremediación de suelos contaminados
con hidrocarburos y/o derivados del petróleo

Sandra Emperatriz Peña Murillo
Eddie Manuel Zambrano Nevárez

Editado por Colloquium
ISBN: 978-9942-600-30-1
Primera edición 2022

La obra fue revisada por pares académicos antes de su proceso editorial, en caso de requerir certificación debe solicitarla a: sbores@colloquium-editorial.com.

Quedan rigurosamente prohibidas, bajo las sanciones en las leyes, la producción o almacenamiento total o parcial de la presente publicación, incluyendo el diseño de la portada, así como la transmisión de la misma por cualquiera de sus medios, tanto si es electrónico, como químico, mecánico, óptico, de grabación o bien de fotocopia, sin la autorización de los titulares del copyright.

Ecuador 2022



ING. SANDRA PEÑA MURILLO MSc.

DOI: [0000-0002-7848-8021](https://doi.org/10.0000-0002-7848-8021)

La autora nace en 1977, en Guayaquil. Los estudios Universitarios y de Post-grado los cursa en la Facultad de Ingeniería Química, de la Universidad de Guayaquil; obteniendo el título de Ingeniera Química (2000), Magister en Ingeniería Ambiental (2008), Magister en Scientiae de la Ingeniería Química y Doctorante. Laboró en Empresas Públicas y Privadas: SGS del Ecuador, Ministerio de Minas y Petróleos, Ministerio del Ambiente, Pacifpetrol, Quibis, Universidad de Guayaquil; donde se desarrolló profesionalmente como: Asistente de Proyectos y Auditorías Ambientales; Laboratorista Control de Calidad en Combustibles (2001-2002); Delegada Regional de Protección Ambiental (2003-2009); Consultor y Asesor Técnico Ambiental (2010- Actual); Docente de Petróleo (2014 – Actual); además de: Directora del Dep. de Planificación y Acreditación (2015) y Directora Carrera de Ingeniería Química de la Facultad de Ing. Qca de la Universidad de Guayaquil 2015 – 2018; 2021-actual.

E-mail: sandra.penam@ug.edu.ec

Estar preparado es importante, saber esperar lo es aún más, pero aprovechar el momento adecuado es la clave de la vida.



ING. EDDIE ZAMBRANO NEVAREZ, MSc.

DOI: [0000-0003-0358-0402](https://doi.org/10.0000-0003-0358-0402)

Nace en Quevedo 1974 de profesión Ingeniero Químico (2000) Facultad de Ingeniería Química, de la Universidad de Guayaquil. Magister Scientiae en Ingeniería Química de la Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela (2018). Realiza diplomado de seguridad, higiene y salud ocupacional (2008) Facultad de Ingeniería Industrial, de la Universidad de Guayaquil. Se ha desarrollado profesionalmente en la industria de hidrocarburos en Empresas Públicas y Privadas, como Petrobras, Repsol, Quimipac, Solipet y Petroamazonas, desarrollando actividades en las áreas de CSMS (Calidad, seguridad y medio ambiente), tratamientos químicos del petróleo y del gas natural, control de la corrosión, bombeo hidráulico y completación de pozos, Además: Docente de Química en la UPSE (Universidad Península de Santa Elena 2002) y colaborador con la Facultad de Ingeniería Química, dictando cursos de Corrosión (2002 – 2003) Actualmente Docente contratado tiempo completo en la Universidad de Guayaquil, Facultad de Ingeniería Química(Nov-2019); Facultad de Filosofía y Letras 2019-2021

E-mail: Eddie.zambranom@ug.edu.ec

La verdad en toda su desnudez y pobreza es más adorable y santa que la mentira disfrazada y suntuosa.

PRÓLOGO

En este texto de investigación los autores presentan el proceso de la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos.

En la introducción se habla de los distintos ecosistemas que se ha desarrollado en estos últimos años de la contaminación con hidrocarburos, el derivado de petróleo en un gran impacto ambiental por perjuicios que se han producido en los ecosistemas.

Las principales consecuencias ambientales que se producen en el suelo es la contaminación por hidrocarburos es: reducir o inhibir el desarrollo de la cubierta vegetal, ubicación del derrame, cambios en la dinámica de la población animal y contaminación por infiltración a cuerpos de agua subterránea. En los efectos negativos, estas fugas también tienen un impacto económico, social y sanitario público más cercano a la zona afectada.

La biorremediación nace de la necesidad de reducir el impacto ambiental negativo de las pérdidas de hidrocarburos en distintos ambientes (agua y suelo) utilizando microorganismos, plantas o enzimas, de modo estratégico de restaurar la calidad ambiental, según sea necesario.

Este proceso biológico está emergiendo como una tecnología prometedora basada en que la mayoría de los componentes de hidrocarburos sean biodegradables. Conjuntamente de presentar varias ventajas potenciales sobre las técnicas tradicionales, como menor costo, menos invasivo para los sitios contaminados, más amigable con el medio ambiente en estos términos de su producto final, que requieren un procesamiento mínimo o nulo.

Los autores demuestran que el proceso de remediación de suelos, se aplica en la industria Hidrocarburíferas, este instrumento puede darse a conocer a individuos que puedan usarlo como apoyo y de esta manera aumentar el área de aplicación no solo a hidrocarburos y metales pesados, sino que también a pesticidas, herbicida y entre otros contaminantes que se consigan presentar en la obtención económica basada en el uso del suelo.

RESUMEN

Durante los últimos años ha sido objeto de intensa investigación el desarrollo de biotecnologías que complementen los procesos fisicoquímicos ya existentes, basadas en la utilización de microorganismos para la recuperación de los ambientes contaminados con petróleo y otros combustibles, en virtud de la capacidad que poseen estos organismos de oxidar los compuestos hidrocarbonados del petróleo degradándolos hasta metabolitos que pueden ser fácilmente removidos o dispersados del ambiente.

En el Ecuador, existen varios terminales de productos hidrocarbonados, uno de ellos es el Terminal Tres Bocas, lugar donde se almacena y transporta vía poliducto, gas, fuel oil, diesel y gasolina. Existen también lugares como el propanero, donde se almacenan los suelos contaminados con hidrocarburos.

Los hidrocarburos poliaromáticos son constantemente liberados al ambiente principalmente a partir de las actividades antropogénicas, siendo la mayor fuente de liberación, los procesos de quema de combustibles fósiles, la licuefacción del carbón, la gasificación del petróleo y los derrames accidentales de petróleo. Cuando ocurre un derrame de petróleo en el ambiente, los compuestos de bajo peso molecular generalmente se pierden por volatilización, mientras que los hidrocarburos poliaromáticos y heterocíclicos permanecen como remanente, haciéndose de esta manera persistente en el ambiente. Los hidrocarburos poliaromáticos con dos o más anillos, heterocíclicos y sus homólogos alquil sustituidos, que son liberados en los ecosistemas, constituyen un grave problema porque contaminan fuentes de agua y suelos, ocasionando un gran impacto

ecológico, en virtud de los efectos recalcitrantes y tóxicos que ejercen sobre los seres vivos. Es por ello que estos hidrocarburos deben ser removidos o su concentración debe ser sustancialmente reducida del ambiente.

En la presente investigación es el de promover e incrementar es estudio de los tratamientos de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, utilizando microorganismos bacterias pseudomonas, y así optimizar los procesos en mención, proponiendo información confiable que pueda utilizarse posteriormente para un mejor manejo de la técnica de remediación de los suelos.

La gran versatilidad metabólica de las bacterias del género *Pseudomonas* las han hecho candidatas para el tratamiento de contaminaciones ambientales producidas por la acumulación de metales pesados o por la acumulación de compuestos xenobióticos.

Varias especies del *Pseudomonas* contienen plásmidos en los que se encuentran codificadas enzimas capaces de degradar, al menos parcialmente, compuestos orgánicos derivados del petróleo o compuestos organoclorados u organofosfatados. Estas enzimas suelen ser inducibles y la selección de las cepas adecuadas puede permitir reducir los niveles de contaminación por estos compuestos xenobióticos.

La biodegradación de hidrocarburos y de otros compuestos orgánicos es realizada con eficiencia variable dependiendo de la estructura del hidrocarburo (lineal o ramificado, alifático o aromático) y de la presencia de átomos sustituyentes. Algo

similar ocurre con la biodegradación de compuestos insecticidas, herbicidas y detergentes y emulgentes.

Durante los últimos años ha sido objeto de intensa investigación el desarrollo de biotecnologías que complementen los procesos fisicoquímicos ya existentes, basadas en la utilización de microorganismos para la recuperación de los ambientes contaminados con petróleo y otros combustibles, en virtud de la capacidad que poseen estos organismos de oxidar los compuestos hidrocarbonados del petróleo degradándolos hasta metabolitos que pueden ser fácilmente removidos o dispersados del ambiente.

En este sentido, la habilidad que poseen algunas bacterias de metabolizar hidrocarburos aromáticos sencillos tales como tolueno, xileno y naftaleno han sido ampliamente estudiada.

Sin embargo, se han descrito pocos géneros bacterianos capaces de degradar hidrocarburos aromáticos policíclicos y heterocíclicos en particular el antraceno, fenantreno y dibenzotiofeno (DBT). Generalmente las especies señaladas por su capacidad de degradar monoaromáticos no son capaces de metabolizar aromáticos más complejos.

Este tratamiento empleando pseudomonas nativas y comerciales se evaluará midiendo la disminución del contenido de hidrocarburos expresado en TPH y verificar si es factible de reducir su contenido hasta lo exigido en la normativa ambiental que es de 1000mg/kg (TPH) para las áreas sensibles.

TABLA DE CONTENIDOS

PRÓLOGO.....	2
RESUMEN.....	4
GLOSARIO.....	11
UNIDAD 1	16
EL PETRÓLEO	17
1.1 ORIGEN Y COMPOSICIÓN.....	17
1.2 Geometría molecular.....	26
1.2.1 Conformaciones.....	28
1.3 Propiedades químicas.....	30
1.4 Aplicaciones.....	31
1.5 Cicloalcanos	33
1.1.2.1 Nomenclatura.....	33
1.1.2.2 Presencia.....	34
1.1.2.3 Algunos ciclos alcanos	34
Ciclopropano	34
Ciclohexano.....	35
1.1.2.4 Aplicaciones	35
1.1.2.5 Toxicología	36
1.1.3 Hidrocarburo Aromático.....	36
1.1.3.1 Estructura	37
1.1.3.2 Reacciones.....	38
1.1.4 Alquenos	38
1.1.4.1 Nomenclatura.....	39
1.1.4.2 Síntesis	40
1.1.4.3 Propiedades físicas.....	40
1.1.4.4 Reacciones.....	41
1.1.4.5 Aplicaciones	41
1.1.4.6 Analítica	42
1.1.4.7 Estructura electrónica.....	42
1.1.4.8 Catabolismo de hidrocarburos	42
1.1.4.9 Coenzimas de las oxidoreductasas	44

1.2 DERIVADOS DEL PETRÓLEO.....	47
1.3 CRUDOS DE REFERENCIA	49
1.4 CLASIFICACIÓN DEL PETRÓLEO.....	50
1.4.1 Clasificación del Petróleo según la Estructura de los enlaces:.....	51
1.4.2 Clasificación del Petróleo según su gravedad API	52
1.4.3 Grupos Funcionales	52
1.4.4 Refinado del Petróleo	53
UNIDAD 2.....	59
BACTERIA.....	60
2.1 CONCEPTO DE BACTERIA.....	60
2.2 ESTRUCTURA BACTERIANA	62
2.2.1 Estructuras intracelulares.....	63
2.2.2 Estructuras extracelulares.....	65
2.2.2.1 Endosporas	70
2.3 CLASIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS	71
2.3.1 Clasificación e identificación.....	71
2.3.2 Clasificación de las bacterias según su forma - Morfología bacteriana	74
2.3.3 Clasificación de las bacterias por su alimentación	77
2.3.4 Clasificación de las bacterias según su Fuente de Energía.....	78
2.4 FLAGELO.....	81
2.4.1 Movimiento	81
2.4.2 Reproducción	84
2.4.3 Crecimiento Bacteriano	85
2.4.3.1 Fases del crecimiento bacteriano.....	85
2.4.4 Interacciones con otros organismos.....	87
2.4.4.1 Comensales	88
2.4.4.2 Mutualistas	88
2.4.5 Uso de las bacterias en la tecnología y la industria.....	89
2.5 MICROORGANISMOS QUE ACTÚAN EN LA DEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS	90
2.5.1 Microorganismos usados en la biorremediación.....	92
UNIDAD 3.....	96

EL SUELO	97
3.1 INTRODUCCIÓN	97
3.2 CONCEPTOS BÁSICOS	97
3.3 EL SUELO Y SUS CARACTERÍSTICAS	99
3.3.1 Sistemas de clasificación de suelos	100
3.4 SUELOS DE ECUADOR	101
3.4.1 Costa	102
3.4.2 Sierra	103
3.4.3 Oriente	104
3.4.4 Problemas Ambientales y estado actual de los suelos en Ecuador.....	105
3.4.5 Manejo y conservación del suelo	109
3.5 CONTAMINACIÓN DE SUELOS	110
UNIDAD 4	112
4.1 CONTAMINACIÓN DEL SUELO	113
4.2 PROBLEMAS AMBIENTALES	114
UNIDAD 5	122
REMEDIACIÓN DE SUELOS	123
5.1 Generalidades sobre remediación	123
5.2 CLASIFICACIÓN TECNOLOGÍAS DE REMEDIACIÓN	124
UNIDAD 6	148
Diseño Experimental de una celda de Landfarming	149
6.1 Metodología de la investigación	149
6.2 Materiales y Métodos	149
6.3 Sistema de recuperación de lixiviado	154
6.4 Determinación de requerimientos para el tratamiento	156
6.4.1 Cálculos para de requerimientos de nutrientes	157
6.4.2 Determinación de cantidad de agua, para ajustar la humedad en 25%	158
6.5 Protocolo del proceso operativo de construcción de las microceldas ...	159
UNIDAD 7	161
ANÁLISIS EXPERIMENTALES	162
7.1 MUESTREO DE SUELO CONTAMINADO	162

7.2 ANÁLISIS DE LOS SUELOS CONTAMINADOS	163
7.3 IDENTIFICACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS	167
7.4 Materiales y Equipos Utilizados.....	177
7.5 CORRIDAS EXPERIMENTALES DE BIOREMEDIACIÓN	180
UNIDAD 8	185
ELABORACION DE PROGRAMA DE REMEDIACION DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS	186
8.1 ELABORACIÓN DE PROGRAMA DE REMEDIACIÓN UTILIZADO PARA LA DEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS.....	186
UNIDAD 9	189
DISCUSION.....	190
BIBLIOGRAFÍA	192

GLOSARIO

Acopio: acción de reunir los residuos de una o diferentes fuentes para su manejo.

Almacenamiento de residuos peligrosos: acción de retener temporalmente los residuos peligrosos en áreas que cumplen con las condiciones establecidas en las disposiciones aplicables para evitar su liberación, en tanto se procesan para su aprovechamiento, se les aplica un tratamiento, se transportan o se dispone finalmente de ellos.

°API: Es una escala industrial que expresa la gravedad o densidad de los derivados líquidos del petróleo.

Aprovechamiento de los Residuos: Conjunto de acciones cuyo objetivo es recuperar el valor económico de los residuos mediante su reutilización, remanufactura, rediseño, reciclado y recuperación de materiales secundados o de energía.

Bioaumentación: introducción de microorganismos que ayudan a la biodegradación de los contaminantes presentes en el suelo.

Bioestimulación: técnica donde se adicionan macro y micro nutrientes al suelo para estimular el crecimiento microbiano y así aumentar la población de microorganismos.

Biorremediación: es el uso de organismos vivos para eliminar o neutralizar contaminantes del medio ambiente.

Bitumen: Materia orgánica inflamable natural formada a partir del querógeno en el proceso de generación del petróleo, que es soluble en bisulfuro de carbono, incluye hidrocarburos tales como el asfalto y la cera mineral.

Cadena de custodia: documento donde los responsables, ya sea que se trate de generadores o manejadores, registran la obtención de muestras, su transporte y entrega de éstas al laboratorio para la realización de pruebas o de análisis.

Caracterización de Sitios Contaminados: Es la determinación cualitativa y cuantitativa de los contaminantes químicos o biológicos presentes, provenientes de materiales o residuos peligrosos, para estimar la magnitud y tipo de riesgos que conlleva dicha contaminación.

Cédula de operación anual: instrumento de reporte y recopilación de información de emisiones y transferencia de contaminantes al aire, agua, suelo y subsuelo, materiales y residuos peligrosos empleado para la actualización de la base de datos del Registro de Emisiones y Transferencia de Contaminantes.

Centro de acopio de residuos peligrosos: instalación autorizada por la Secretaría para la prestación de servicios a terceros en donde se reciben, reúnen, trasvasan y acumulan temporalmente residuos peligrosos para después ser enviados a instalaciones autorizadas para su tratamiento, reciclaje, reutilización, co-procesamiento o disposición final.

Co-procesamiento: Integración ambientalmente segura de los residuos generados por una industria o fuente conocida, como insumo a otro proceso productivo.

Gestión Integral de Residuos: Conjunto articulado e interrelacionado de acciones normativas, operativas, financieras, de planeación, administrativas, sociales, educativas, de monitoreo, supervisión y evaluación, para el manejo de residuos,

desde su generación hasta la disposición final, a fin de lograr beneficios ambientales, la optimización económica de su manejo y su aceptación social, respondiendo a las necesidades y circunstancias de cada localidad o región.

Hidrocarburos: grupo de compuestos orgánicos que contienen principalmente carbono e hidrógeno.

Lixiviado: Líquido que se forma por la reacción, arrastre o filtrado de los materiales que constituyen los residuos y que contiene en forma disuelta o en suspensión, sustancias que pueden infiltrarse en los suelos o escurrirse fuera de los sitios en los que se depositan los residuos y que puede dar lugar a la contaminación del suelo y de cuerpos de agua, provocando su deterioro y representar un riesgo potencial a la salud humana y de los demás organismos vivos.

Manejo Integral: Las actividades de reducción en la fuente, separación, reutilización, reciclaje, co-procesamiento, tratamiento biológico, químico, físico o térmico, acopio, almacenamiento, transporte y disposición final de residuos, individualmente realizadas o combinadas de manera apropiada, para adaptarse a las condiciones y necesidades de cada lugar, cumpliendo objetivos de valorización, eficiencia sanitaria, ambiental, tecnológica, económica y social.

Material: Sustancia, compuesto o mezcla de ellos, que se usa como insumo y es un componente de productos de consumo, de envases, empaques, embalajes y de los residuos que éstos generan.

Metales: sustancia que forma parte de minerales del subsuelo terrestre.

Pesticidas: sustancia o mezcla de sustancias que previene, destruye o controla plagas.

pH: medida de acidez o alcalinidad que indica la cantidad de iones de hidrógeno presentes en una solución o sustancia.

Prevención de la Contaminación: Utilización de procesos, prácticas, técnicas, materiales, productos, servicios o energía para evitar, reducir o controlar en forma separada o en combinación la generación, emisión o descarga de cualquier tipo de contaminante o residuo, con el fin de reducir impactos ambientales adversos.

Remediación ambiental: tratamiento o conjunto de operaciones que se realizan con el objetivo de recuperar la calidad del subsuelo contaminado.

Remediación: Conjunto de medidas a las que se someten los sitios contaminados para eliminar o reducir los contaminantes hasta un nivel seguro para la salud y el ambiente o prevenir su dispersión en el ambiente sin modificarlos, de conformidad con lo que se establece en esta Ley.

Residuo: Material o producto cuyo propietario o poseedor desecha y que se encuentra en estado sólido o semisólido, o es un líquido o gas contenido en recipientes o depósitos, y que puede ser susceptible de ser valorizado o requiere sujetarse a tratamiento o disposición final conforme a lo dispuesto en esta Ley y demás ordenamientos que de ella deriven.

Residuos de Manejo Especial: Son aquellos generados en los procesos productivos, que no reúnen las características para ser considerados como peligrosos o como residuos sólidos urbanos, o que son producidos por grandes generadores de residuos sólidos urbanos.

Reglamento: el Reglamento de la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos.

Relleno sanitario: instalación destinada a la disposición final de los residuos sólidos urbanos y de manejo especial.

Sitio Contaminado: Lugar, espacio, suelo, cuerpo de agua, instalación o cualquier combinación de éstos que ha sido contaminado con materiales o residuos que, por sus cantidades y características, pueden representar un riesgo para la salud humana, a los organismos vivos y el aprovechamiento de los bienes o propiedades de las personas.

Suelo contaminado con hidrocarburos: se encuentra presente en los hidrocarburos por su cantidad y característica que afectan la naturaleza del suelo.

Tratamiento: Procedimientos físicos, químicos, biológicos o térmicos, mediante los cuales se cambian las características de los residuos y se reduce su volumen o peligrosidad.

UTM: la Proyección Transversal Universal de Mercator, sistema utilizado para convertir Coordenadas geográficas esféricas en coordenadas cartesianas planas.

UNIDAD 1

EL PETRÓLEO

1.1 ORIGEN Y COMPOSICIÓN

El **petróleo** proviene del griego: **πετρέλαιον**, que significa "aceite de roca"; es una mezcla compleja no homogénea de hidrocarburos insolubles en agua.

Es de origen orgánico, fósil, es el resultado de la transformación de la materia orgánica procedente de zooplancton y algas, los mismos que han sido depositados en grandes cantidades en fondos anóxicos de mares o zonas lacustres del pasado geológico, fueron posteriormente enterrados bajo pesadas capas de sedimentos. La transformación química (craqueo natural) debida al calor y a la presión durante la diagénesis produce, en sucesivas etapas, desde betún a hidrocarburos cada vez más ligeros (líquidos y gaseosos). Estos productos ascienden hacia la superficie, por su menor densidad, gracias a la porosidad de las rocas sedimentarias. Cuando se dan las circunstancias geológicas que impiden dicho ascenso (trampas petrolíferas: rocas impermeables, estructuras anticlinales, márgenes de diapiros salinos, etc.) se forman entonces los yacimientos petrolíferos.

Puede presentar gran variación en diversos parámetros como color, densidad (0,75 a 0,95 g/ml), gravedad, viscosidad, capacidad calorífica, etc. (desde amarillentos y líquidos a negros y viscosos).

Estas variaciones se deben a las diversas proporciones presentes de diferentes hidrocarburos. Es un recurso natural no renovable, y actualmente también es la principal fuente de energía en los países desarrollados. El petróleo líquido puede presentarse asociado a capas de gas natural, en yacimientos que han estado

enterrados durante millones de años, cubiertos por los estratos superiores de la corteza terrestre.

Los hidrocarburos son compuestos orgánicos formados únicamente por carbono e hidrógeno. Consisten en un armazón de carbono al que se unen átomos de hidrógeno. Forman el esqueleto de la materia orgánica. También están divididos en abiertas y ramificadas.

El petróleo está formado por hidrocarburos, que son compuestos de hidrógeno y carbono, en su mayoría parafinas, naftenos y aromáticos. Junto con cantidades variables de derivados hidrocarbonados de azufre, oxígeno y nitrógeno. Cantidades variables de gas disuelto y pequeñas proporciones de componentes metálicos. También puede contener, sales y agua en emulsión o libre. Sus componentes útiles se obtienen por destilación fraccionada en las refinerías de petróleo. Los componentes no deseados, como azufre, oxígeno, nitrógeno, metales, agua, sales, etc., se eliminan mediante procesos físico-químicos. El número de compuestos es muy grande. (Peña and Aviles 2017)

La mayoría de los hidrocarburos aislados se clasifican como:

- **Alcanos** o "Serie de las parafinas": Son hidrocarburos saturados homólogos del metano (CH_4). Su fórmula general es $\text{C}_n\text{H}_{2n+2}$.
- **Cicloalcanos** o Cicloparafinas-Naftenos: Son hidrocarburos cíclicos saturados, derivados del ciclo propano (C_3H_6) y del ciclohexano (C_6H_{12}). Muchos de estos hidrocarburos contienen grupos metilo en contacto con cadenas parafínicas ramificadas. Su fórmula general es C_nH_{2n} .
- **Hidrocarburos aromáticos**: Son hidrocarburos cíclicos insaturados constituidos por el benceno (C_6H_6) y sus homólogos. Su fórmula general es C_nH_n .

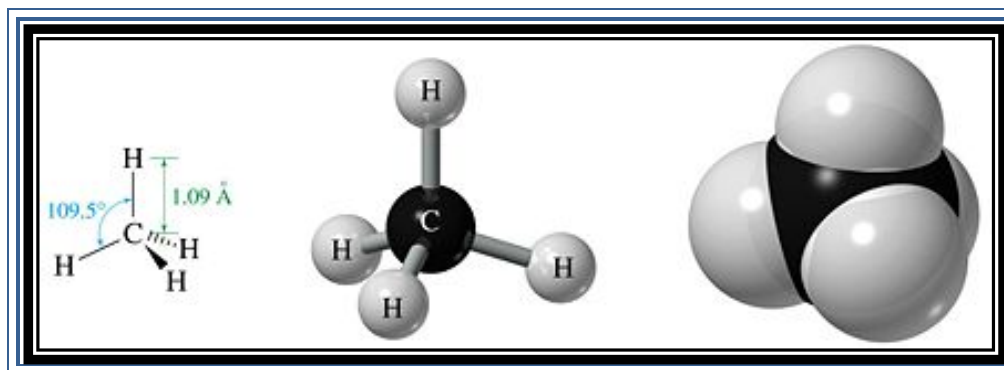
- **Alquenos** u Olefinas: Son moléculas lineales o ramificadas que contienen un enlace doble de carbono (-C=C-). Su fórmula general es C_nH_{2n} . Tienen terminación "-eno".
 - Dienos: Son moléculas lineales o ramificadas que contienen dos enlaces dobles de carbono. Su fórmula general es C_nH_{2n-2} .
- **Alquinos:** Son moléculas lineales o ramificadas que contienen un enlace triple de carbono. Su fórmula general es: C_nH_{2n-2} . Tienen terminación "-ino".
- **Compuestos no hidrocarburos:** Los compuestos más importantes son los sulfuros orgánicos, los compuestos de nitrógeno y de oxígeno. También hay trazas de compuestos metálicos, tales como el sodio (Na), hierro (Fe), níquel (Ni), vanadio (V), plomo (Pb), etc. Así mismo se pueden encontrar trazas de porfirinas, que son especies organometálicas.

1.1.1 Alcanos

1.1.1.2 Estructura

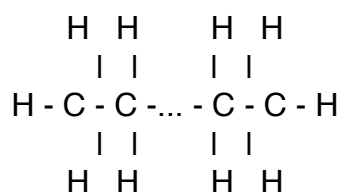
Los **alcanos** son hidrocarburos, es decir que tienen sólo átomos de carbono e hidrógeno. La fórmula general para alcanos alifáticos (de cadena lineal) es C_nH_{2n+2} , y para Cicloalcanos es C_nH_{2n} . También reciben el nombre de **hidrocarburos saturados**. Los "alcanos" son moléculas orgánicas formadas únicamente por átomos de carbono e hidrógeno, Ilustración 1 sin funcionalización alguna, es decir, sin la presencia de grupos funcionales como el carbonilo (-CO), carboxilo (-COOH), amida (-CON=), etc.

Ilustración 1 ESTRUCTURA DEL METANO



el primer alcano

Esto hace que su reactividad sea muy reducida en comparación con otros compuestos orgánicos, y es la causa de su nombre no sistemático: parafinas (del latín, poca afinidad). La relación C/H es de C_nH_{2n+2} siendo n el número de átomos de carbono de la molécula (advertir que esta relación sólo se cumple en alcanos lineales o ramificados **no cíclicos**, por ejemplo, el ciclo butano, donde la relación es C_nH_{2n}). Todos los enlaces dentro de las moléculas de alcano son de tipo simple o sigma, es decir, covalentes por compartición de un par de electrones en un orbital **s**, por lo cual la estructura de un alcano sería de la forma:

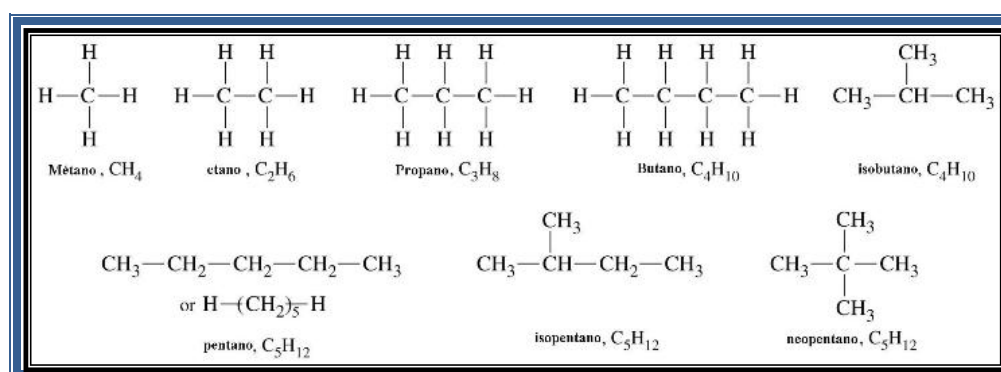


Donde cada línea representa un enlace covalente. El alcano más sencillo es el metano con un solo átomo de carbono. Otros alcanos conocidos son el etano, propano y el butano con dos, tres y cuatro átomos de carbono respectivamente. A partir de cinco carbonos, los nombres se derivan de numerales griegos: pentano, hexano, heptano.

Los alcanos se obtienen mayoritariamente del petróleo, ya sea directamente o mediante cracking o pirolisis, esto es, rotura de térmica de moléculas mayores.

Ilustración 2 Son los productos base para la obtención de otros compuestos orgánicos. Estos son algunos ejemplos de alcanos:

Ilustración 2 **ALCANOS**



Fuente: www.monografias.com/trabajos10/petro/petro.shtml

1.1.1.2 Fischer-Tropsch

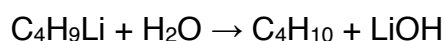
El proceso Fischer-Tropsch es un método para sintetizar hidrocarburos líquidos, incluyendo alcanos, a partir de monóxido de carbono e hidrógeno. Este método es usado para producir sustitutos para los destilados de petróleo.

1.1.1.3 Preparación en el laboratorio

Generalmente hay poca necesidad de sintetizar alcanos en el laboratorio, dado que suelen estar disponibles comercialmente. También debido al hecho de que los

alcanos son, generalmente, poco reactivos química y biológicamente, y no sufren interconversiones *limpias* de grupos funcionales.

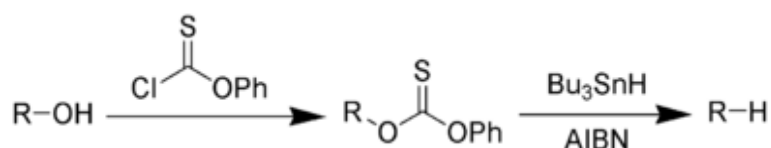
Cuando se producen alcanos en el laboratorio, suele ser un subproducto de una reacción. Por ejemplo, el uso de n-butyllitio como una base produce el ácido conjugado, n-butano como subproducto:



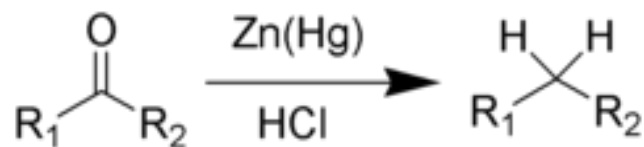
Sin embargo, a veces puede ser deseable convertir una porción de una molécula en una estructura funcionalmente alcánica (grupo alquilo) usando un método como el de arriba o métodos similares. Por ejemplo, un grupo etilo es un grupo alquilo; cuando está unido a un grupo hidroxilo, constituye el etanol, que no es un alcano. Para convertirlo en alcano, uno de los métodos más conocidos es la hidrogenación de alquenos.



Los alcanos o grupos alquilo pueden ser preparados directamente a partir de haloalcanos en la reacción de Corey-House-Posner-Whitesides. La desoxigenación de Barton-McCombie ¹ elimina el grupo hidroxilo de los alcoholes, por ejemplo.



Y la reducción de Clemmensen elimina los grupos carbonilo de los aldehídos y cetonas para formar alcanos o compuestos de sustituidos de alquilo:



1.1.1.4 Propiedades físicas

Punto de ebullición

Los alcanos experimentan fuerzas intermoleculares de van der Waals. Mayores fuerzas intermoleculares de este tipo dan origen a mayores puntos de ebullición de los alcanos. Hay dos agentes determinantes de la magnitud de las fuerzas de van der Waals:

- el número de electrones que rodean a la molécula, que se incrementa con la masa molecular del alcano
- el área superficial de la molécula

Bajo condiciones estándar, los alcanos desde el CH₄ hasta el C₄H₁₀ son gases; desde el C₅H₁₂ hasta C₁₇H₃₆ son líquidos; y los posteriores a C₁₈H₃₈ son sólidos. Como el punto de ebullición de los alcanos está determinado principalmente por el peso, no debería sorprender que los puntos de ebullición tengan una relación casi lineal con la masa molecular de la molécula. Como regla rápida, el punto de ebullición se incrementa entre 20 y 30 °C por cada átomo de carbono agregado a la cadena; esta regla se aplica a otras series homólogas.

Un alcano de cadena lineal tendrá un mayor punto de ebullición que un alcano de cadena ramificada, debido a la mayor área de la superficie en contacto, con lo que hay mayores fuerzas de van der Waals, entre moléculas adyacentes. Por ejemplo, compárese el isobutano y el n-butano, hierven a -12 y 0 °C, y el 2,2-dimetilbutano y 2,3-dimetilbutano que hierven a 50 y 58°C, respectivamente.

En el último caso, dos moléculas de 2,3-dimetilbutano pueden "encajar" mutuamente mejor que las moléculas de 2,2-dimetilbutano entre sí, con lo que hay mayores fuerzas de van der Waals.

Por otra parte, los Cicloalcanos tienden a tener mayores puntos de ebullición que sus contrapartes lineales, debido a las conformaciones fijas de las moléculas, que proporcionan planos para el contacto intermolecular.

Punto de fusión

El punto de fusión de los alcanos sigue una tendencia similar al punto de ebullición por la misma razón que se explicó anteriormente. Esto es, (si todas las demás características se mantienen iguales), a molécula más grande corresponde mayor punto de fusión. Hay una diferencia significativa entre los puntos de fusión y los puntos de ebullición: los sólidos tienen una estructura más rígida y fija que los líquidos. Esta estructura rígida requiere energía para poder romperse durante la fusión. Ilustración 3

Entonces, las estructuras sólidas mejor construidas requerirán mayor energía para la fusión. Los alcanos de longitud impar tienen puntos de fusión ligeramente menores que los esperados, comparados con los alcanos de longitud par. Esto es debido a que los alcanos de longitud par se empacan bien en la fase sólida, formando una estructura bien organizada, que requiere mayor energía para romperse. Los alcanos de longitud impar se empacan con menor eficiencia, con lo que el empaquetamiento más desordenado requiere menos energía para romperse.

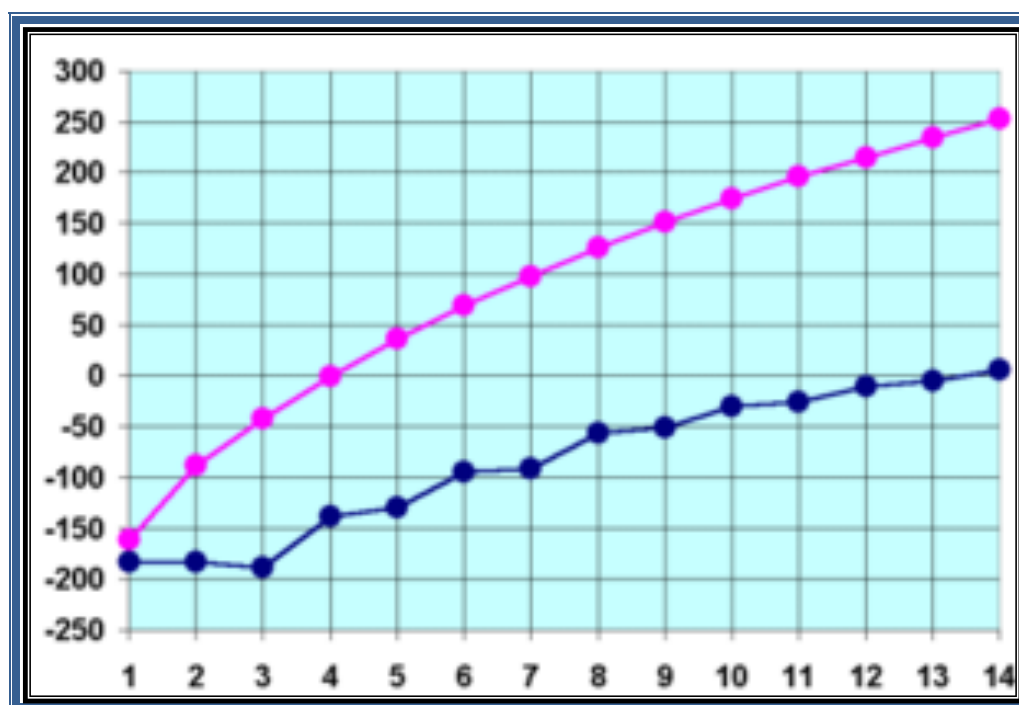
Los puntos de fusión de los alcanos de cadena ramificada pueden ser mayores o menores que la de los alcanos de cadena lineal, dependiendo nuevamente de la habilidad del alcano en cuestión para empaquetarse bien en la fase sólida: esto es

particularmente verdadero para los isoalcanos (isómeros 2-metil), que suelen tener mayores puntos de fusión que sus análogos lineales.

Conductividad

Los alcanos son malos conductores de la electricidad y no se polarizan sustancialmente por un campo eléctrico.

Ilustración 3 PUNTOS DE FUSIÓN (AZUL) Y DE EBULLICIÓN (ROSA) DE LOS PRIMEROS 14 N-ALCANES, EN °C.



Fuente: (Peña and Aviles 2017)

Solubilidad en agua

Por esta razón, no forman enlaces de hidrógeno y son insolubles en solventes polares como el agua. Puesto que los enlaces de hidrógeno entre las moléculas individuales de agua están apartados de una molécula de alcano, la coexistencia de un alcano y agua conduce a un incremento en el orden molecular (reducción de entropía). Como no hay enlaces significativos entre las moléculas de agua y las moléculas de alcano, la segunda ley de la termodinámica sugiere que esta reducción en la entropía se minimizaría al minimizar el contacto entre el alcano y el agua: se dice que los alcanos son hidrofóbicos (repelen el agua).

Solubilidad en otros solventes

Su solubilidad en solventes no polares es relativamente buena, una propiedad que se denomina lipofilicidad. Por ejemplo, los diferentes alcanos son miscibles entre sí en todas las proporciones.

Densidad

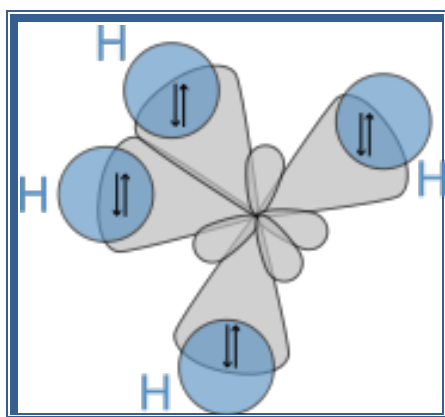
La densidad de los alcanos suele aumentar conforme aumenta el número de átomos de carbono, pero permanece inferior a la del agua. En consecuencia, los alcanos forman la capa superior en una mezcla de alcano-agua.

1.2 Geometría molecular

La estructura molecular de los alcanos afecta directamente sus características físicas y químicas. Se deriva de la configuración electrónica del carbono, que tiene cuatro electrones de valencia. Los átomos de carbono en los alcanos siempre

tienen **Hibridación sp^3** Ilustración 4, lo que quiere decir que los electrones de valencia están en cuatro orbitales equivalentes, derivados de la combinación del orbital 2s y los orbitales 2p. Estos orbitales, que tienen energías idénticas, están orientados espacialmente en la forma de un tetraedro, con un ángulo de $\cos^{-1}(-\frac{1}{3}) \approx 109.47^\circ$ entre ellos. (Peña, Baquerizo, et al. 2019)

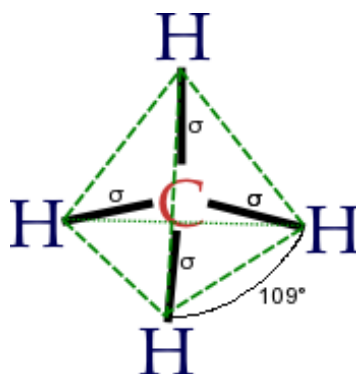
Ilustración 4 **HIBRIDACIÓN sp^3 EN EL METANO**



Longitudes de enlace y ángulos de enlace

Una molécula de alcano tiene sólo enlaces simples C – H y C – C. Los primeros resultan del traslape de un orbital sp^3 del átomo de carbono con el orbital 1s de un átomo de hidrógeno; los últimos del traslape de dos orbitales sp^3 en átomos de

carbono diferentes. La longitud de enlace es de $1,09 \times 10^{-10}$ m para un enlace C – H y $1,54 \times 10^{-10}$ m para un enlace C – C.

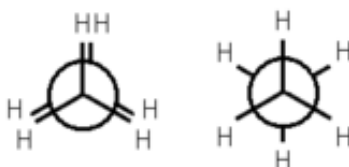


Estructura tetraédrica del metano.

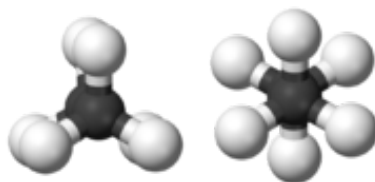
La disposición espacial de los enlaces es similar a la de cuatro orbitales sp^3 ; están dispuestos tetraédricamente, con un ángulo de $109,47^\circ$ entre ellos. La fórmula estructural que representa a los enlaces como si estuvieran en ángulos rectos unos con otros, aunque común y útil, no corresponde con la realidad.

1.2.1 Conformaciones

La fórmula estructural y los ángulos de enlace no suelen ser suficientes para describir la geometría de una molécula. Hay un grado de libertad para cada enlace carbono – carbono: el ángulo de torsión entre los átomos o grupos unidos a los átomos a cada extremo de un enlace. El arreglo espacial descrito por los ángulos de torsión de la molécula se conoce como su conformación.



Proyecciones de Newman de las dos conformaciones límite del etano: eclipsada a la izquierda, alternada a la derecha.



Modelos de bolas y palitos de los dos rotámeros del etano

El etano constituye el caso más simple para el estudio de las conformaciones de los alcanos, dado que sólo hay un enlace C – C. Si se ve a lo largo del enlace C – C, se tendrá la denominada proyección de Newman. Los átomos de hidrógeno tanto en el átomo carbono anterior como en el átomo de carbono posterior tienen un ángulo de 120° entre ellos, resultante de la proyección de la base del tetraedro en una superficie plana. Sin embargo, el ángulo de torsión entre un átomo de hidrógeno dado del carbono anterior y un átomo de hidrógeno dado del carbono posterior puede variar libremente entre 0° y 360° . Esto es una consecuencia de la rotación libre alrededor del enlace carbono – carbono. A pesar de esta aparente libertad, sólo hay dos conformaciones limitantes importantes: conformación eclipsada y conformación alternada.

Las dos conformaciones, también conocidas como rotámeros, difieren en energía: la conformación alternada es $12,6 \text{ kJ/mol}$ menor en energía (por tanto, más estable) que la conformación eclipsada (menos estable).

La diferencia en energía entre las dos conformaciones, conocida como la energía torsional es baja comparada con la energía térmica de una molécula de etano a temperatura ambiente. Hay rotación constante alrededor del enlace C-C. El tiempo tomado para que una molécula de etano pase de la conformación alternada a la siguiente, equivalente a la rotación de un grupo CH_3 en 120° relativo a otro, es del orden de 10^{-11} segundos.

El caso de alcanos mayores es más complejo, pero se basa en los mismos principios, con la conformación antiperiplanar siendo más favorecida alrededor de

cada enlace carbono-carbono. Por esta razón, los alcanos suelen mostrar una disposición en zigzag en los diagramas o en los modelos. La estructura real siempre diferirá en algo de estas formas idealizadas, debido a que las diferencias en energía entre las conformaciones son pequeñas comparadas con la energía térmica de las moléculas: las moléculas de alcano no tienen una forma estructura fija, aunque los modelos así lo sugieran.

1.3 Propiedades químicas

En general, los alcanos muestran una reactividad relativamente baja, porque sus enlaces de carbono son relativamente estables y no pueden ser fácilmente rotos. A diferencia de muchos otros compuestos orgánicos, no tienen grupo funcional. Sólo reaccionan muy pobremente con sustancias iónicas o polares. La constante de acidez para los alcanos tiene valores inferiores a 60, en consecuencia, son prácticamente inertes a los ácidos y bases. Su inercia es la fuente del término *parafinas* (que significa "falta de afinidad"). En el petróleo crudo, las moléculas de alcanos permanecen químicamente sin cambios por millones de años.

Sin embargo, es posible reacciones redox de los alcanos, en particular con el oxígeno y los halógenos, puesto que los átomos de carbono están en una condición fuertemente reducida; en el caso del metano, se alcanza el menor estado de oxidación posible para el carbono (-4). La reacción con el oxígeno conduce a la combustión sin humo; con halógenos, a la reacción de sustitución. Además, los alcanos interactúan con, y se unen a, ciertos complejos de metales de transición.

Los radicales libres, moléculas con un número impar de electrones, juegan un papel importante en la mayoría de reacciones de los alcanos, tales como el cracking y el reformado, donde los alcanos de cadena larga se convierten en alcanos de cadena corta, y los alcanos de cadena lineal en los isómeros ramificados, respectivamente. En los alcanos altamente ramificados, el ángulo de enlace puede diferir significativamente del valor óptimo ($109,47^\circ$) para permitir a los diferentes grupos

suficiente espacio. Esto origina una tensión en la molécula conocida como impedimento estérico, y puede aumentar sustancialmente la reactividad.

1.4 Aplicaciones

Las aplicaciones de un cierto alcano pueden ser determinadas bastante bien de acuerdo al número de átomos de carbono. Los cuatro primeros alcanos son usados principalmente para propósitos de calefacción y cocina, y en algunos países para generación de electricidad. El metano y el etano son los principales componentes del gas natural; pueden ser almacenados como gases bajo presión. Sin embargo, es más fácil transportarlos como líquidos: esto requiere tanto la compresión como el enfriamiento del gas.

El propano y el butano pueden ser líquidos a presiones moderadamente bajas, y son mejor conocidos como gas licuado de petróleo (GLP). Por ejemplo, el propano se usa en el quemador de gas propano, el butano en los encendedores descartables de cigarrillos. Los dos alcanos son usados como propelentes en spray aerosol. (Peña, Sandra; Zambrano 2017)

Desde el pentano hasta el octano, los alcanos son líquidos razonablemente volátiles. Se usan como combustibles en motores de combustión interna, puesto que pueden vaporizarse rápidamente al entrar en la cámara de combustión, sin formar gotas, que romperían la uniformidad de la combustión. Se prefieren los alcanos de cadena ramificada, puesto que son menos susceptibles a la ignición prematura, que causa el cascabeleo en los motores, que sus análogos de cadena lineal. Esta propensión a la ignición prematura es medida por el índice de octano del combustible, donde el 2,2,4-trimetilpentano (*isooctano*) tiene un valor arbitrario de 100, y heptano tiene un valor de cero. Además de su uso como combustible. Además de su uso como combustibles, los alcanos medios son buenos solventes para las sustancias no polares.

Los alcanos desde el nonano hasta, dígame, el hexadecano (un alcano con dieciséis átomos de carbono) son líquidos de alta viscosidad, cada vez menos aptos para su uso en gasolinas. Por el contrario, forman la mayor parte del diesel y combustible de aviones. Los combustibles diesel están caracterizados por su índice de cetano (el cetano es un nombre antiguo para el hexadecano). Sin embargo, el alto punto de fusión de estos alcanos puede causar problemas a bajas temperaturas y en regiones polares, donde el combustible se vuelve demasiado espeso para fluir adecuadamente.

Los alcanos a partir del hexadecano en adelante constituyen los componentes más importantes del aceite combustible y aceite lubricante. La función de los últimos es también actuar como agentes anticorrosivos, puesto que su naturaleza

Muchos alcanos sólidos encuentran uso como cera de parafina, por ejemplo, en vela. Ésta no debe confundirse con la verdadera cera, que consiste principalmente de esterres. Los alcanos (**Tabla 1**) con una longitud de cadena de aproximadamente 35 o más átomos de carbono se encuentran en el betún, que se usa, por ejemplo, para asfaltar los caminos. Sin embargo, los alcanos superiores tienen poco valor, y se suelen romper en alcanos menores mediante cracking. Algunos polímeros sintéticos tales como el polietileno y el polipropileno son alcanos con cadenas que contienen cientos de miles de átomos de carbono.

Tabla 1 LISTADO DE ALCANOS

Nombre	Fórmula	B.P./°C	B.P./°C	Densidad/g cm ⁻³ (20°C)
Metano	CH ₄	-162	-183	Gas
Etano	C ₂ H ₆	-89	-172	Gas
Propano	C ₃ H ₈	-42	-188	Gas
Butano	C ₄ H ₁₀	-0,5	-135	Gas

Pentano	C ₅ H ₁₂	36	-130	0,626
Hexano	C ₆ H ₁₄	69	-95	0,659
Heptano	C ₇ H ₁₆	98	-91	0,684
Octano	C ₈ H ₁₈	126	-57	0,703
Nonano	C ₉ H ₂₀	151	-54	0,718
Decano	C ₁₀ H ₂₂	174	-30	0,730
Undecano	C ₁₁ H ₂₄	196	-26	0,740
Dodecano	C ₁₂ H ₂₆	216	-10	0,749
Triacotano	C ₃₀ H ₆₂	343	37	Sólido

Riesgos

El metano es explosivo cuando está mezclado con aire (1 – 8% CH₄) y es un agente muy fuerte en el efecto invernadero. Otros alcanos menores también forman mezclas explosivas con el aire. Los alcanos líquidos ligeros son altamente inflamables, aunque este riesgo decrece con el aumento de la longitud de la cadena de carbono. El pentano, hexano, heptano y octano están clasificados como *peligrosos para el medio ambiente y nocivos*. El isómero de cadena lineal del hexano es una neurotoxina.

1.5 Cicloalcanos

Los Cicloalcanos son hidrocarburos saturados, cuyo esqueleto es formado únicamente por átomos de carbono unidos entre ellos con enlaces simples en forma de anillo. Su fórmula genérica C_nH_{2n}. Su reactividad (con excepción de los anillos muy pequeños ciclo pentano y ciclo butano) es casi equivalente a la de los compuestos de cadena abierta. También existen compuestos que contienen varios anillos, los compuestos Policíclicos.

1.1.2.1 Nomenclatura

La nomenclatura de los ciclos alcanos simples deriva del nombre del alcano con el mismo número de átomos de carbono poniendo el prefijo "ciclo-" delante.

El número de anillos se indica con los prefijos "di", "tri", etc. El número de átomos en eventuales puentes que unen los anillos se pone en paréntesis angular delante del nombre.

Los policiclos que comparten sólo un átomo en sus anillos se llaman compuestos espiránicos. Su denominación se realiza del mismo modo que el de los Cicloalcanos con el prefijo "espiro".

Si alguno de los átomos de los anillos porta un sustituyente diferente a hidrógeno se nombra el número del átomo sustituido seguido del nombre del grupo funcional y el nombre del ciclo alcano.

Para los sistemas más importantes suelen existir además nombres no sistemáticos.

1.1.2.2 Presencia

Los Cicloalcanos aparecen de forma natural en diversos petróleos. Los terpenos, a que pertenecen una gran cantidad de hormonas como el estrógeno, el colesterol, la progesterona o la testosterona y otras como el alcanfor, suelen presentar un esqueleto policíclico.

Monociclos con anillos mayores (14 - 18 átomos de carbono) están presentes en las segregaciones de las glándulas del Almizcle utilizado en perfumería.

1.1.2.3 Algunos ciclos alcanos

Ciclopropano

El ciclo alcano más simple es el ciclo propano. Se genera por una reacción de Wurtz intramolecular a partir de 1,3-dibromopropano con sodio o zinc. Se trata una sustancia reactiva debido a la elevada tensión del anillo. De forma parecida a los alquenos puede reaccionar en una reacción de adición (p. ej. con bromo) con apertura del anillo.

Sus derivados se encuentran en algunas sustancias biológicamente activas. Se generan convenientemente a partir del alqueno correspondiente mediante adición de un carbono.

Ciclohexano

Probablemente el ciclo alcano más importante es el ciclohexano. Se puede obtener por hidrogenación del benceno.

Para conservar el ángulo tetraédrico de $109,5^\circ$ entre los sustituyentes en los átomos de carbono el ciclohexano no es plano, sino que posee varias conformaciones. Una tiene forma de silla, la otra de bote. La forma de bote está ligeramente más elevada en energía que la forma de silla, por lo que no es tan estable.

Los Cicloalcanos de ciclo grande

Los Cicloalcanos de tamaño mayor se generan a menudo a partir de las sales de torio de los ácidos di carboxílicos correspondientes $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$. El torio fuerza los dos extremos del ácido a unirse y luego calentando se produce bajo decarboxilación el cierre del anillo. El ciclo cetona así generada puede ser reducida al correspondiente Cicloalcanos.

1.1.2.4 Aplicaciones

Algunos ciclos alcanos como el ciclohexano forman parte de la gasolina. Además se utiliza como intermedio en la síntesis de la caprolactama (monómero que resulta de la síntesis del nylon, a partir del Tolueno) y por lo tanto en la obtención de las poliamidas.

El ciclo hexano, la decalina (perhidronaftalina), el metilciclohexano y el ciclo pentano se utilizan también como disolventes.

1.1.2.5 Toxicología

La toxicología de los Cicloalcanos suele ser parecida a la de los alcanos correspondientes. El ciclohexano es menos tóxico que el hexano

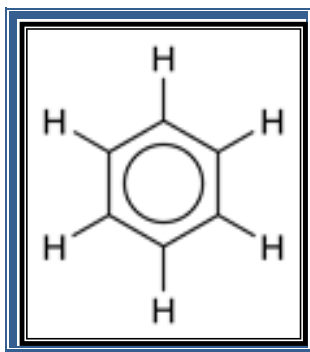
1.1.3 Hidrocarburo Aromático

Se define como **hidrocarburo aromático** al polímero cíclico conjugado que cumple la Regla de Hückel, es decir, que tienen un total de $4n+2$ electrones **π** en el anillo. Los Hidrocarburos Aromáticos pueden ser cancerígenos. Se clasifican como 2A o 2B. Para que se de la aromaticidad, deben cumplirse ciertas premisas, por ejemplo que los dobles enlaces resonantes de la molécula estén conjugados y que se den al menos dos formas resonantes equivalentes. La estabilidad excepcional de estos compuestos y la explicación de la regla de Hückel han sido explicados cuánticamente, mediante el modelo de "partícula en un anillo" (Estabilidad de los anillos aromáticos).

Originalmente el término estaba restringido a un producto del alquitrán mineral, el benceno, y a sus derivados, pero en la actualidad incluye casi la mitad de todos los compuestos orgánicos; el resto son los llamados compuestos alifáticos.

El máximo exponente de la familia de los hidrocarburos aromáticos es el benceno (C_6H_6) Ilustración 5 pero existen otros ejemplos, como la familia de anulenos, hidrocarburos mono cíclicos totalmente conjugados de fórmula general $(CH)_n$.

Ilustración 5 MOLÉCULA DE BENCENO



el compuesto aromático más reconocido.

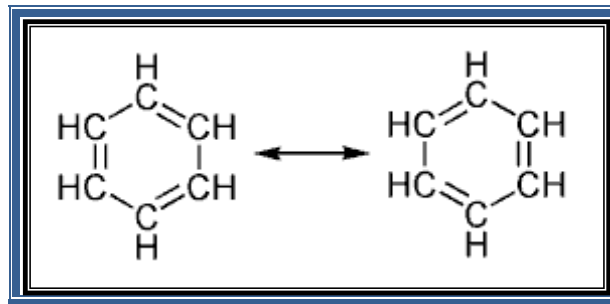
1.1.3.1 Estructura

Una característica de los hidrocarburos aromáticos como el benceno, anteriormente mencionada, es la coplanaridad del anillo o la también llamada resonancia, debida a la estructura electrónica de la molécula. Al dibujar el anillo del benceno se le ponen tres enlaces dobles y tres enlaces simples.

Dentro del anillo no existen en realidad dobles enlaces conjugados resonantes, sino que la molécula es una mezcla simultánea de todas las estructuras, que contribuyen por igual a la estructura electrónica. En el benceno, por ejemplo, la distancia interatómica C-C está entre la de un enlace σ (sigma) simple y la de uno π (pi) (doble).

Todos los derivados del benceno, siempre que se mantenga intacto el anillo, se consideran aromáticos. Ilustración 6 La aromaticidad puede incluso extenderse a sistemas policíclicos, como el naftaleno, antraceno, fenantreno y otros más complejos, incluso ciertos cationes y aniones, como el pentadienilo, que poseen el número adecuado de electrones π y que además son capaces de crear formas resonantes.

Ilustración 6 Resonancia del Benceno



Cada carbono tiene tres electrones enlazados y el cuarto localizado en gira alrededor del anillo.

Estructuralmente, dentro del anillo los átomos de carbono están unidos por un enlace sp^2 entre ellos y con los de hidrógeno, quedando un orbital π perpendicular al plano del anillo y que forma con el resto de orbitales de los otros átomos un orbital π por encima y por debajo del anillo.

1.1.3.2 Reacciones

Químicamente, los hidrocarburos aromáticos son compuestos por regla general bastante inertes a la sustitución electrófila y a la hidrogenación, reacciones que deben llevarse a cabo con ayuda de catalizadores. Esta estabilidad es debida a la presencia de orbitales degenerados (comparando estas moléculas con sus análogos alifáticos) que conllevan una disminución general de la energía total de la molécula.

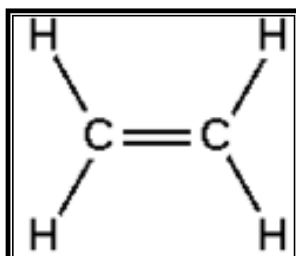
1.1.4 Alquenos

Los Alquenos no existen en el petróleo se forman en los procesos de refinación. Los alquenos son hidrocarburos que tienen doble enlace carbono-carbono en su molécula, y por eso son denominados insaturados. La fórmula general es C_nH_{2n} . Se puede decir que un alqueno no es más que un alcano que ha perdido un hidrógeno produciendo como resultado un enlace doble entre dos carbonos.

Al igual que ocurre con otros compuestos orgánicos, algunos alquenos se conocen todavía por sus nombres no sistemáticos, en cuyo caso se sustituye la terminación **-eno** sistemática por **-ileno**, como es el caso del eteno que en ocasiones se llama

etileno, o propeno por propileno. Los alquenos cíclicos reciben el nombre de ciclo alquenos. Ver Ilustración 7 también la Producción de Olefinas a nivel industrial.

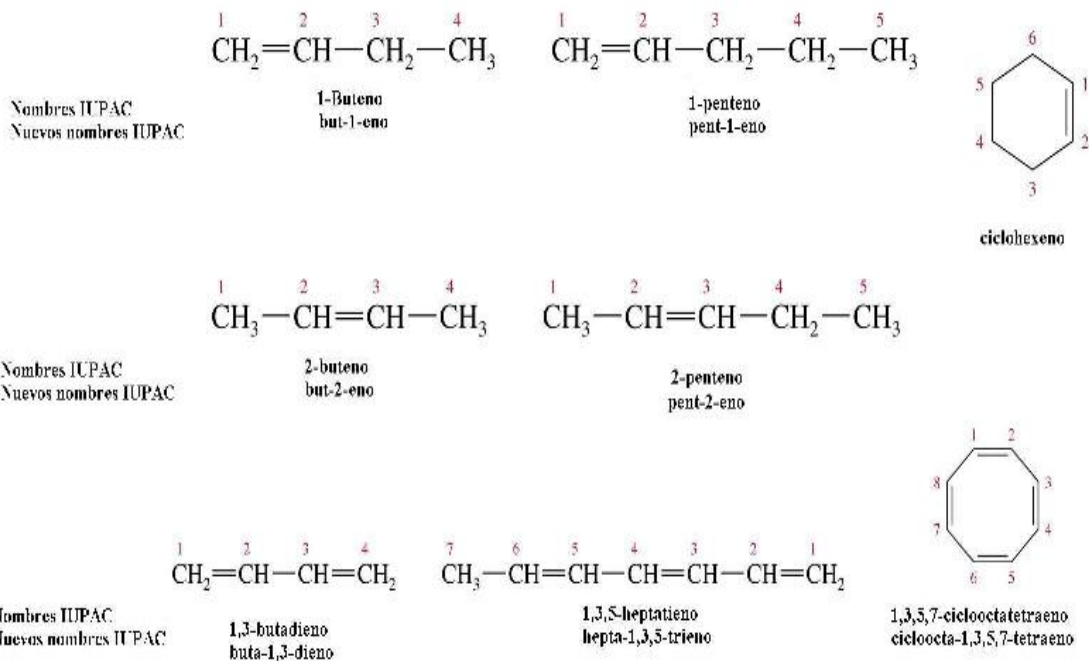
Ilustración 7 Alqueno



El alqueno más simple es el eteno o etileno

1.1.4.1 Nomenclatura

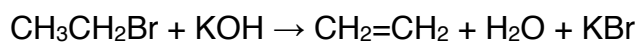
1. El Sufijo correspondiente al enlace doble es **eno** y sustituye a **ano** cuando se da el alcano correspondiente.
2. El sufijo correspondiente al enlace triple es **ino** y sustituye a **ano** cuando se da el alcano correspondiente.
3. Se escoge la cadena carbonada más larga que contenga la función doble ligadura.
4. Las posiciones de los enlaces con número menor de carbono las forma el doble enlace.
5. Las posiciones se separan del nombre con un guión y entre sí con comas.



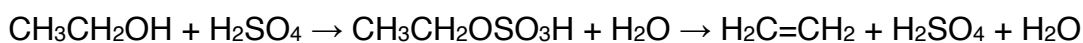
1.1.4.2 Síntesis

Los alquenos se pueden sintetizar de una de cuatro reacciones:

Deshidrohalogenación

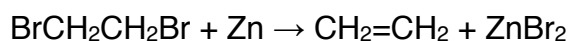


Deshidratación.- La eliminación de agua a partir de alcoholes, por ejemplo:



También por la reacción de Chugaev y la reacción de Grieco.

Deshalogenación



Pirólisis (con calor)

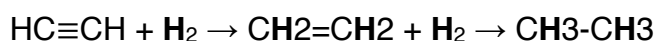


1.1.4.3 Propiedades físicas

La presencia del doble enlace modifica ligeramente las propiedades físicas de los alquenos frente a los alcanos. De ellas, la temperatura de ebullición es la que menos se modifica. La presencia del doble enlace se nota más en aspectos como la polaridad y la acidez.

1.1.4.4 Reacciones

Los alquinos pueden ser hidrogenados por dar los *cis*-alquenos correspondientes con hidrógeno en presencia de un catalizador de paladio sobre sulfato de bario o sobre carbonato cálcico parcialmente envenenado con óxido de plomo. Si se utiliza paladio sobre carbón activo el producto obtenido suele ser el alcano correspondiente.



Aunque la densidad de electrones y con esto de carga negativa en el triple enlace es elevada pueden ser atacados por nucleófilos. La razón se encuentra en la relativa estabilidad del anión de vinilo formado.

Frente a bases fuertes como el sodio en disolución amoniaca, el bromo magnesiano de etilo etc. reacciona como ácidos débiles. Ya con el agua sus sales se hidrolizan para dar de nuevo el alquino libre.

Así como los alquenos, los alquinos participan en halogenación e hidrohalogenación.

1.1.4.5 Aplicaciones

La mayor parte de los alquinos se fabrica en forma de acetileno. A su vez, una buena parte del acetileno se utiliza como combustible en la soldadura a gas debido a las elevadas temperaturas alcanzadas.

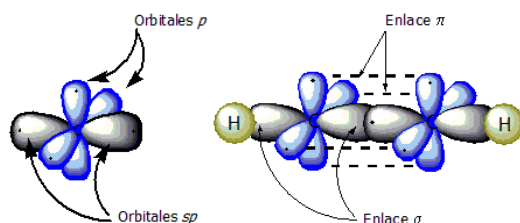
En la industria química los alquinos son importantes productos de partida por ejemplo en la síntesis del PVC (adición de HCl) de caucho artificial etc. El grupo alquino está presente en algunos fármacos citostáticos. Los polímeros generados a partir de los alquinos, los poli alquinos, son semiconductores orgánicos y pueden ser dotados parecidos al silicio aunque se trata de materiales flexibles.

1.1.4.6 Analítica

Los alquinos decoloran una solución ácida de permanganato de potasio y el agua de bromo. Si se trata de alquinos terminales (con el triple enlace a uno de los carbonos finales de la molécula) forman sales con soluciones amoniacales de plata o de cobre. (Estas sales son explosivas)

1.1.4.7 Estructura electrónica

El triple enlace entre los carbonos es formado por dos orbitales sp y cuatro orbitales p . Los enlaces hacia el resto de la molécula se realizan a través de los orbitales sp restantes. La distancia entre los dos átomos de carbono es de típicamente de 120 pm. La geometría de los carbonos del triple enlace y sus sustituyentes es lineal.



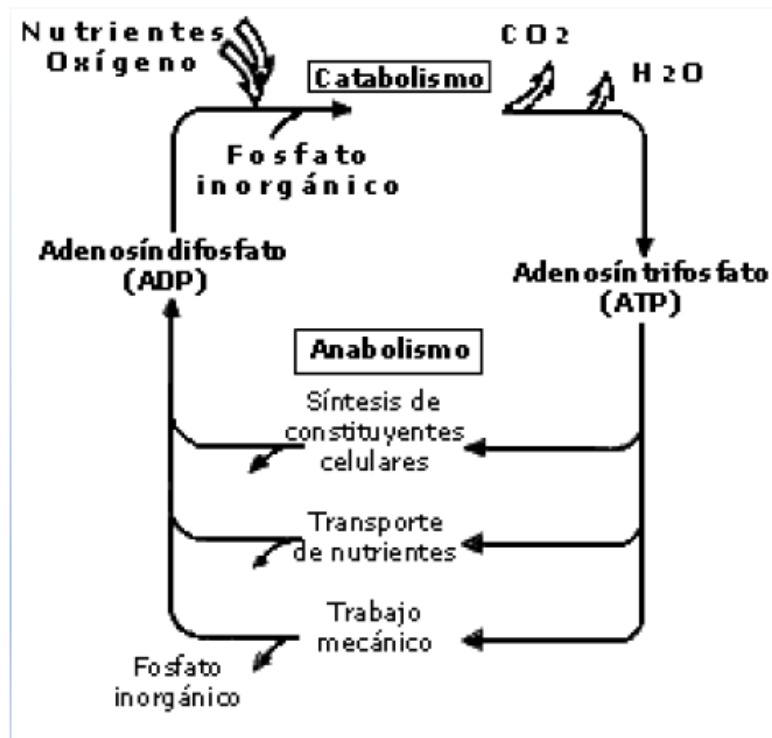
1.1.4.8 Catabolismo de hidrocarburos

En levaduras y hongos filamentosos, el catabolismo de hidrocarburos se ha asociado con cambios en las características ultra estructurales,

Ilustración 8, es decir, a cambios inducidos por los alcanos, como la aparición de micro cuerpos los cuales han sido identificados como peroxisomas (Álvarez 2019). Las mono oxigenasas no están relacionadas a dichas estructuras, sino con microsomas. En suma, a estos organelos que albergan el metabolismo levaduras y los hongos filamentosos que crecen en hidrocarburos, han mostrado que contienen uniones a membrana e inclusiones electro densas ausentes durante el crecimiento en glucosa. Estos micro cuerpos no han sido identificados, aunque se especula que funcionen como almacenes intracelulares de alcanos no metabolizados (Lindley, 1992).

Esta hipótesis es casi correcta ya que la aparición de tales estructuras coincide con cantidades de hidrocarburos recuperadas no alterados de dentro de la célula. Una posible explicación de tales estructuras puede ser la propuesta basada en la formación de vesículas membranosas que contienen alcanos en la membrana celular de *Cándida tropicalis* formadas durante el proceso de pinocitosis (Lindley, 1992; Kappeli y col., 1977). Una reacción propuesta para la degradación de hidrocarburos alifáticos (Brock, 1991), utiliza un alcohol deshidrogenasa que produce NAD(P)H y que es específica para alcoholes de cadena larga y aldehídos.

Ilustración 8. Catabolismo

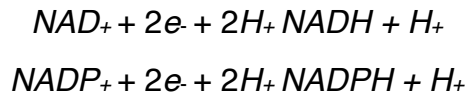


1.1.4.9 Coenzimas de las oxidoreductasas

El NADPH funciona como deshidrogenasas como acarreador soluble de electrones. Nicotinamida adenina dinucleótido (NAD^+ en su forma oxidada) y su análogo cercano Nicotinamida adenina dinucleótido fosfatado (NADP^+) están compuestos de dos nucleótidos unidos a través de grupos fosfato por un enlace fosfoanhidrido. Debido a que el anillo de Nicotinamida tiene una piridina, esos compuestos son llamados piridina-nucleótidos.

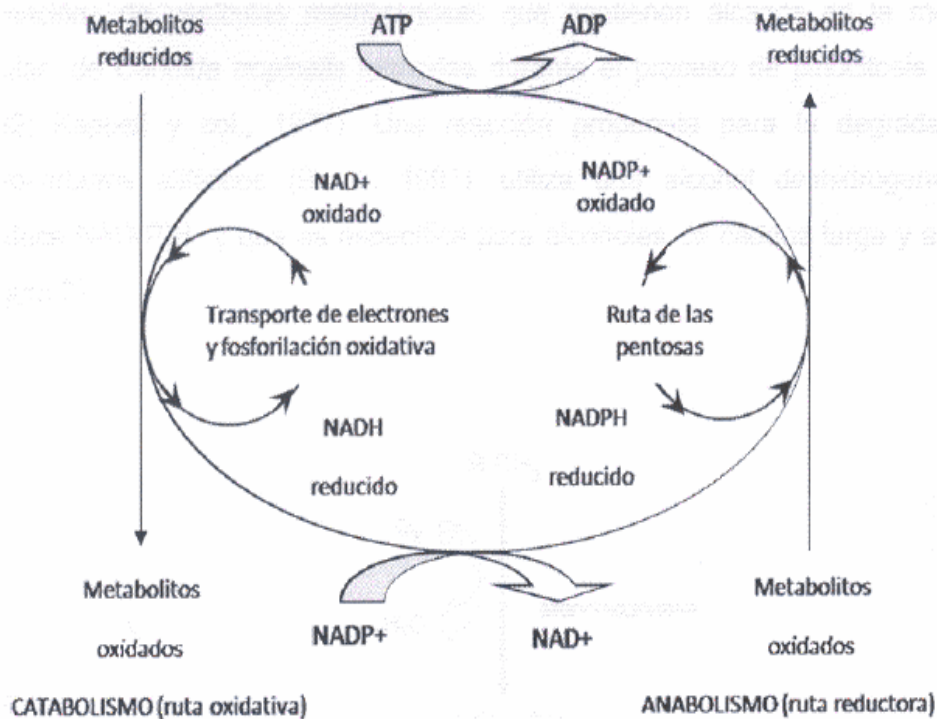
Ambas coenzimas experimentan una reducción reversible del anillo Nicotinamida. Como sustrato la molécula experimenta oxidación (deshidrogenación), dando dos átomos de hidrogeno, la forma oxidada del nucleótido (NAD^+ o NADP^+) acepta un

ion hidronio (:H-, el equivalente de un protón y dos electrones) y es transformada a la forma reducida (NADH o NADPH). El segundo protón retirado del sustrato es liberado en el solvente acuoso. La reacción-media para cada uno de los nucleótidos es como sigue:



El NADPH es un transformador de electrones. La molécula tiene dos formas dependiendo si está o no transportando electrones (Ilustración 9). El NADPH es la forma reducida de la molécula (tiene electrones). Mientras NADP+ es la forma oxidada de la molécula (sin electrón). El NADPH es producido en las células principalmente por la vía de la pentosa fosfato. En las plantas la fotosíntesis es la fuente de producción de NADPH. En contraste con el NADH que dona electrones al sistema de transporte de electrones para la generación de energía, el NADPH dona electrones para las reacciones de biosíntesis.

Ilustración 9. **RUTAS METABÓLICAS**



Fuente: (PÍREZ and MOTA 2006)

Alcohol deshidrogenasa (ADH)

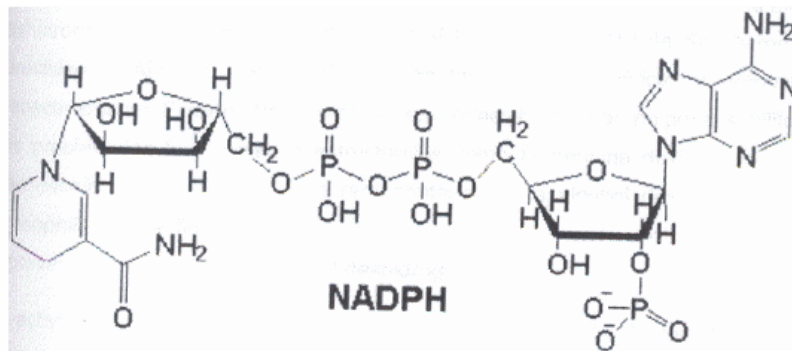
La ADH es una enzima que cataliza la conversión de los alcoholes a aldehídos o cetonas. La reacción es reversible reduciendo compuestos carbonilos a alcoholes y requiere NAD⁺ o NADP como coenzima. Entre los substratos que en esta enzima pueden utilizar como substrato, se cuentan desde alcoholes aromáticos, alifáticos de cadena lineal o ramificada.

Las enzimas alcohol deshidrogenasas se dividen en tres grupos:

1. ADH's de cadena larga (aprox. 350 residuos/subunidad) las cuales son dependientes del zinc.
2. ADH's de cadena corta (250 residuos/subunidad) y no dependen del zinc.
3. ADH's actividades por hierro, el tamaño de cada subunidad consta aproximadamente de 385 residuos.

Las enzimas alcohol deshidrogenasas del grupo 1 están representadas por el alcohol deshidrogenasa del hígado de caballo (HLADH) y por la ADH I de *Saccharomyces* respectivamente. Existen otras proteínas relacionadas a este grupo por la similitud en sus propiedades funcionales o estructurales como la treonina deshidrogenasa de *Escherichia coli*. El grupo 2 está representado por el alcohol deshidrogenasa de *Drosophila ssp*. Y finalmente la isoenzima II de *Zymomonas mobilis* (ZMADH II), representa al grupo 3 del alcohol deshidrogenasas.

La actividad de ADH se ha detectado en muy diversos géneros de hongos, como, por ejemplo: *Rhizopus sp*; *Mucor sp*; *Thamnidium sp*; *Chuanaphora sp*. Y *Helicostylum sp*. (Gleason, 1971), tanto en hongos patógenos para el hombre, como para plantas. Entre los géneros en los cuales se encuentra actividad de ADH está *Mucor circinelloides*.



Molécula de nicotinamida adenin dinucleótido fosfatado (NADP⁺).

1.2 DERIVADOS DEL PETRÓLEO

De acuerdo a estudios realizados por el American Petroleum Institute, (API) reveló que se fabrican por encima de los 2000 productos, según especificaciones individuales. Para determinar si ciertas fracciones del crudo deben ser vendidas como tales (es decir, como fracciones del primer destilado) o procesarse posteriormente para producir productos con un valor más alto hay que hacer estudios económicos. En general, el valor más bajo de un hidrocarburo es el valor de su poder calorífico o su equivalente en fuel-óleo (EFO siglas anglosajonas FOE). Este valor siempre se establece por la localización, demanda, disponibilidad, características de combustión, contenido en azufre, y previos de los combustibles tendientes.

Un **derivado del petróleo** es un producto procesado en refinerías usando como materia prima el petróleo. Según la composición del crudo y la demanda, las refinerías pueden producir distintos productos derivados del petróleo.

La mayor parte del crudo es usado como materia prima para obtener energía, por ejemplo, la gasolina. También producen sustancias químicas, que se puede utilizar en procesos químicos para producir plástico y/o otros materiales útiles. Debido a que el petróleo contiene un 2% de azufre, también se obtiene grandes cantidades

de éste. Hidrógeno y carbón en forma de coque de petróleo pueden ser producidos también como derivados del petróleo.

El hidrógeno producido es normalmente usado como producto intermedio para otros procesos como el hidrocracking o la hidrosulfuración.

En las refinerías de petróleo se agregan aditivos a los productos de forma que sean posibles de almacenar a corto plazo, y de forma de ser aptos para su carga y transporte en camiones, barcas, buques y ferrocarriles.

Dentro de los productos especiales que se generan a partir del petróleo tenemos:

- Combustibles gaseosos tales como el propano, el cual es almacenado y transportado licuado bajo presión en ferrocarriles o barcos a los distribuidores especializados.
- Gasolinas líquidas (fabricadas para automóviles y aviación, en sus diferentes grados; queroseno, diversos combustibles de turbinas de avión, y el gasóleo, detergentes, compuestos oxigenados, entre otros). Se transporta por barcas, ferrocarril, y en buques cisterna. Pueden ser enviadas en forma local por medio de oleoductos a ciertos consumidores específicos como aeropuertos y bases aéreas como también a los distribuidores.
- Lubricantes (aceites para maquinarias, aceites de motor, y grasas. Estos compuestos llevan ciertos aditivos para cambiar su viscosidad y punto de ignición), los cuales, por lo general son enviados a granel a una planta envasadora.
- Ceras (parafinas), utilizadas en el envase de alimentos congelados, entre otros. Pueden ser enviados de forma masiva a sitios acondicionados en paquetes o lotes.
- Azufre (o ácido sulfúrico), subproductos de la eliminación del azufre del petróleo que pueden tener hasta un dos por ciento de azufre como

compuestos de azufre. El azufre y ácido sulfúrico son materiales importantes para la industria. El ácido sulfúrico es usualmente preparado y transportado como precursor del óleum o ácido sulfúrico fumante.

- Brea se usa en alquitrán y grava para techos o usos similares.
- Asfalto - se utiliza como aglutinante para la grava que forma asfalto concreto, que se utiliza para la pavimentación de carreteras, etc. Una unidad de asfalto se prepara como brea a granel para su transporte.
- Coque de petróleo, que se utiliza especialmente en productos de carbono como algunos tipos de electrodo, o como combustible sólido.
- Petroquímicos de las materias primas petroquímicas, que a menudo son enviadas a plantas petroquímicas para su transformación en una variedad de formas. Los petroquímicos pueden ser olefinas o sus precursores, o diversos tipos de químicos aromáticos. Los Petroquímicos tienen una gran variedad de usos. Por lo general, son utilizados como monómero o las materias primas para la producción de monómero. Olefinas como alfa-olefinas y tiene se utilizan con frecuencia como monómeros, aunque también pueden ser utilizados como precursores de los monómeros. Los monómeros son entonces polimerizados de diversas maneras para formar polímero. Materiales de polímero puede utilizarse como plástico, elastómero, o fibra, o bien algún tipo de estos tipos de materiales intermedios. Algunos polímeros son también utilizados como geles o lubricantes. Los Petroquímicos se puede utilizar también como disolventes, o como materia prima para la producción de disolventes, también se pueden utilizar como precursores de una gran variedad de sustancias químicas tales como los líquidos limpiadores de los vehículos, surfactante de la limpieza, etc.

1.3 CRUDOS DE REFERENCIA

El crudo de petróleo es muy complejo y de acuerdo al punto de ebullición se efectúa análisis para los componentes del crudo y éstas se comparan con otras materias disponibles, cuyas propiedades son: Densidad API°, contenido de azufre, punto de fluidez, residuo de carbón, contenido en sales, factores de caracterización, contenido de nitrógeno, intervalo de destilación, contenido en metales. De acuerdo a su composición puede variar sus propiedades físicas y el procesado requerido para la producción de productos vendibles, de ahí que los hidrocarburos presentes en el crudo se clasifican en tres tipos: parafinas, naftenos y aromáticos además de olefinas, que se forma durante el proceso de deshidrogenación de parafinas y naftenos.

- Brent Blend, compuesto de quince crudos procedentes de campos de extracción en los sistemas Brent y Ninian de los campos del Mar del Norte, este crudo se almacena y carga en la terminal de las Islas Shetland . La producción de crudo de Europa, África y Oriente Medio sigue la tendencia marcada por los precios de este crudo.
- West Texas Intermediate (WTI) para el crudo estadounidense. Sirve como referencia del Crudo Ecuatoriano.
- Dubai se usa como referencia para la producción del crudo de la región Asia-Pacífico.
- Tapis (de Malasia), usado como referencia para el crudo ligero del Lejano Oriente.
- Minas (de Indonesia), usado como referencia para el crudo pesado del Lejano Oriente.

1.4 CLASIFICACIÓN DEL PETRÓLEO

La industria petrolera clasifica el petróleo crudo según su lugar de origen (p.e. "West Texas Intermediate" o "Brent"), según el número de átomos de carbono y también relacionándolo con su gravedad API *American Petroleum Institute*("ligero", "medio", "pesado", "extra pesado"); los refinadores también lo clasifican como "dulce", que significa que contiene relativamente poco azufre, o "ácido", que contiene mayores cantidades de azufre y, por lo tanto, se necesitarán más operaciones de refinamiento para cumplir las especificaciones actuales de los productos refinados.

1.4.1 Clasificación del Petróleo según la Estructura de los enlaces:

Según la estructura de los enlaces entre los átomos de carbono, se clasifican en:

- **Hidrocarburos acíclicos**, alifáticos o de cadena abierta: estos a su vez se dividen en:
 - Hidrocarburos saturados (alcanos o parafinas), que no tienen enlaces dobles, triples, ni aromáticos.
 - Hidrocarburos insaturados, que tienen uno o más enlaces dobles (alquenos u olefinas) o triples (alquinos o acetilénicos) entre sus átomos de carbono;
- **Hidrocarburos cíclicos**, que a su vez se subdividen en:
 - **Hidrocarburos nafténicos**, que tienen cadenas cerradas de 3, 4, 5, 6, 7 y 8 átomos de carbono saturados o no saturados
 - **Hidrocarburos aromáticos**, no saturados, que poseen al menos un anillo aromático además de otros tipos de enlaces.

Los hidrocarburos extraídos directamente de formaciones geológicas en estado líquido se conocen comúnmente con el nombre de petróleo, mientras que los que se encuentran en estado gaseoso se les conoce como gas natural.

Los hidrocarburos constituyen una actividad económica de primera importancia, pues forman parte de los principales combustibles fósiles (petróleo y gas natural), así como de todo tipo de plásticos, ceras y lubricantes.

1.4.2 Clasificación del Petróleo según su gravedad API

El Instituto Americano de Petróleo (API), define a la densidad API del petróleo mediante la siguiente forma:

$$API = \frac{141.5 - 150}{GE} \quad \text{donde,} \quad GE = \frac{\rho_{\text{liquido}}}{\rho_{\text{agua}}}$$

Donde: GE: Gravedad Específica a 15.6°C

Según los grados API, se clasifican en:

°API +-	TIPO DE CRUDO
• > 40 -	Condensado
• 30-39.9 -	Liviano.
• 22-29.9 -	Mediano.
• 10-21.9 -	Pesado.
• < 9.9 -	Extra pesado.

1.4.3 Grupos Funcionales

Los compuestos halogenados pertenecen al grupo funcional de los átomos de halógeno. Tienen una alta densidad. Son usados en refrigerantes, disolventes, pesticidas, repelentes de polillas, en algunos plásticos y en funciones biológicas: hormonas tiroideas. Por ejemplo: cloroformo, diclorometano, tiroxina, Freón, DDT, PCBs, PVC. La estructura de los compuestos halogenados es: R-X, en donde X es Flúor (F), Cloro (Cl), Bromo (Br) y Yodo (I)

1.4.4 Refinado del Petróleo

Para mejor comprensión de la naturaleza química de los diferentes derivados del petróleo que pueden ser contaminantes al ambiente, hay que entender el proceso de refinado del crudo utilizado para la obtención de los hidrocarburos. En la refinación se inicia por el proceso de destilación, con el objetivo de eliminar el color y olor, así como también, los compuestos del azufre. Esta destilación se realiza a temperaturas crecientes obteniendo cuatro fracciones principales: gasolina, queroseno, destilados medios (querosenos, gasoil, aceites lubricantes) y un residuo. Este residuo se destila al vacío obteniéndose otros aceites lubricantes (más pesados), ceras y parafinas y betunes asfálticos (alquitranes). (Tabla 2)

Tabla 2. Fracciones que se pueden obtener durante el refinado por destilación de un crudo de petróleo.

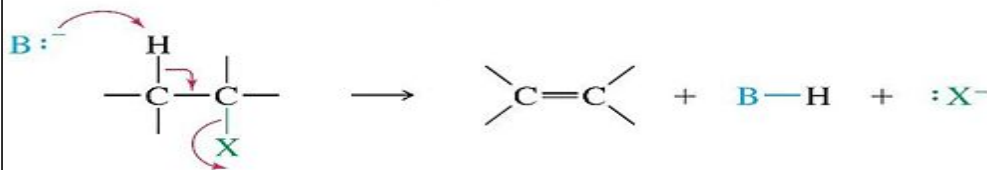
Fracción	T° Ebullición (°C)	Comp aproximada	Usos
Gasolina ligera	20-100	C5H12-C7H16	Disolvente
Bencina	70-90	C6-C7	Limpieza en seco
Ligroína	80-120	C6-C8	Disolvente
Gasolina	20-180	C6-C11	Carburante de motores
Queroseno, Jet Fuel	200-300	C12-C16	Alumbrado y carburante
Gasoil. Diesel	200-350	C13-C18	Carburante de motores
Aceite Lubricante	200-350	C16-C20	Lubricantes
Grasas, vaselinas	250-400	C18-C22	Farmacéutica
Cera de parafina	245-540	C20-C45	Velas
Betum asfáltico (35% peso)	>540	C30-C45	Alquitrán asfáltico coque de petróleo

1.4.5 Clasificación de los Derivados del Petróleo Según su Gravedad API:

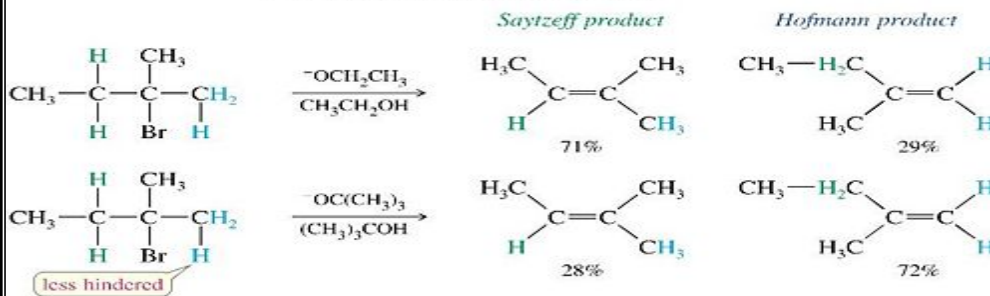
- GLP (Gas Licuado de Petróleo)	>70° API
- GASOLINAS	50 – 62° API
- KEROSENE	40 – 42° API
- JET FUEL	30 – 34° API
- DIESEL	35 - 38° API
- BUNKER	< 20°
- ASFALTO	< 10°

Los hidrocarburos sustituidos son compuestos que tienen la misma estructura que un hidrocarburo, excepto que otros átomos participan en lugar de una parte del hidrocarburo. La parte de la molécula que tiene un ordenamiento específico de átomos, que es el responsable del comportamiento químico de la molécula base, recibe el nombre de grupo funcional.

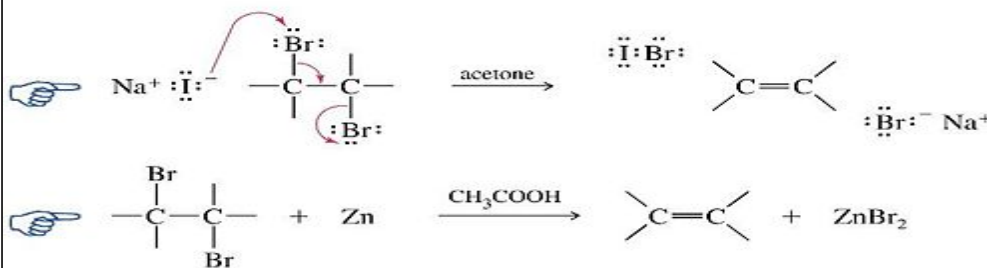
1 Deshidrohalogenación



2 Productos Saytzeff y Hofman

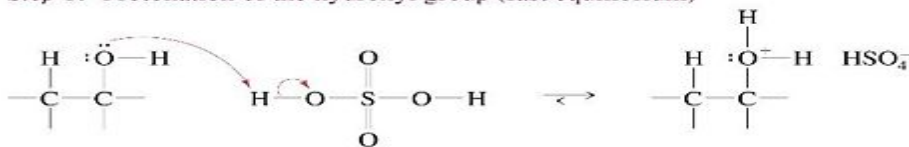


3. Deshalogenación

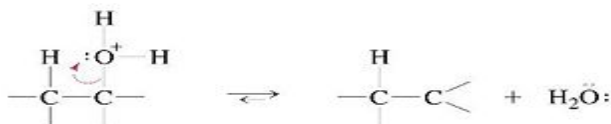


4. Deshidratación de alcoholes

Step 1: Protonation of the hydroxyl group (fast equilibrium)



Step 2: Ionization (slow; rate limiting)



Step 3: Proton abstraction (fast)



CLASES DE HIDROCARBUROS

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. El petróleo crudo es 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. Dentro de los compuestos saturados están los de cadena lineal n-alcanos o n-parafinas, en las ramificadas algunos alcanos con cadenas alquílicas, las cicloparafinas cicloalcanos o naftenos y los hopanos. Los dos grupos principales de hidrocarburos aromáticos son los monocíclicos, el benceno, tolueno y xileno (BTEX) y los hidrocarburos policíclicos (HAPs) tales como el naftaleno, antraceno y fenantreno.

El estudio más detallado de los hidrocarburos de un crudo de petróleo agrupa estos compuestos en las siguientes familias:

- Parafinas volátiles: representan hasta un 30% del crudo de petróleo. Son n – alcanos e isoprenoides (alcanos ramificados) de un tamaño C1 a C10. Es la fracción más volátil del crudo y por lo tanto la más susceptible de pérdidas abióticas por volatilización. La fracción gas natural contiene, principalmente C1 a C5. Los isoprenoides volátiles, están representados principalmente por el isobutano e isopentano. Los isoprenoides volátiles también pueden llegar hasta C10 (2,6 dimetil octano)[8].
- Parafinas no volátiles: se definen como aquellos n – alcanos e isoprenoides entre C11 y C40. Los n – alcanos oscilan entre C11 y C40, aunque se han

descrito cadenas más largas y pueden constituir entre el 15 y 20% de crudos no degradados; mientras que los isoprenoides varían de C12 a C22 y constituyen entre 1-2% del crudo, llegando a 15% en crudos degradados. Los componentes entre C11 y C15 son de volatilidad intermedia[9].

- Naftenos: esta familia está compuesta por las cicloparafinas o cicloalcanos. Los compuestos más abundantes de esta familia son los ciclopentanos alquilados (fundamentalmente metilados), que pueden llegar a representar un 31% del crudo. Los compuestos mono y dicíclicos corresponden entre el 50 y 55% de esta fracción, los tricíclicos al 20% y los tetracíclicos al 25%. Esta familia engloba a los hopanos [10].
- Oleofinas: son alquenos, los cuales están poco presentes en el crudo de petróleo, encontrándose en concentraciones traza. Adquieren importancia en los productos resultantes del refinado, ya que se generan durante el proceso de cracking, existiendo hasta un 30% en gasolinas y un 1% en fueles.
- Aromáticos: el crudo de petróleo contiene una mezcla muy compleja de hidrocarburos aromáticos. Esta fracción la componen moléculas que contienen uno o varios anillos bencénicos en su estructura. Así se encuentran hidrocarburos monoaromáticos (un anillo bencénico), diaromáticos (2 anillos bencénicos) y poliaromáticos (HAPs, con más de dos anillos bencénicos).
- Hidrocarburos monoaromáticos: se encuentran el benceno y sus alquilados (monoalquilados como el tolueno y dialquilados como los xilenos), formando la familia de los BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xileno) de gran importancia ambiental debido a su volatilidad y toxicidad.
- Hidrocarburos poliaromáticos: entre los hidrocarburos diaromáticos, encontramos el naftaleno y sus alquilados (mono, di, tri y tetrametilnaftalenos). Constituyen la familia mayoritaria de hidrocarburos aromáticos presentes en un crudo. Entre los hidrocarburos poliaromáticos

de tres anillos, encontramos el fenantreno, antraceno, fluoreno, y sus derivados alquilados. El fenantreno y los metilfenantrenos, representan los componentes mayoritarios de los triaromáticos. Entre los hidrocarburos poliaromáticos de más de tres anillos, encontramos el fluoranteno (3 anillos bencénicos y uno no 58enzo58ico), pireno y criseno (4 anillos aromáticos), pireno y 58enzo(a)pireno (5 anillos aromáticos) y coroneno (un HAP pericondensado con 6 anillos).

- Resinas y asfaltenos: se trata de mezclas complejas, integradas por núcleos policíclicos o naftenoaromáticos. Contienen cadenas hidrocarbonadas con heteroátomos de oxígeno, nitrógeno y azufre (componentes NOS del petróleo) y a veces están asociadas con pequeñas concentraciones de metales como el vanadio y el níquel. Constituyen entre un 10% en crudos poco degradados o ligeros, hasta un 60% en crudos muy degradados. Es la fracción que presenta una mayor recalcitrancia de un crudo de petróleo. Se trata de agregados de piridinas, quinolinas, carbazoles, tiofenos, sulfóxidos, amidas, HAP, sulfuros, ácidos nafténicos, ácidos grasos, metaloporfirinas y fenoles polihidratados.

UNIDAD 2

BACTERIA

2.1 CONCEPTO DE BACTERIA

Las **bacterias** conocidas como microorganismos unicelulares presentan un tamaño de algunos micrómetros de largo (entre 0,5 y 5 μm , por lo general) y diversas formas incluyendo esferas, barras y hélices. Las bacterias son procariotas y, por lo tanto, a diferencia de las células eucariotas (de animales, plantas, etc.), no tienen núcleo ni orgánulos internos. Generalmente poseen una pared celular compuesta de peptidoglicano. Muchas bacterias disponen de flagelos o de otros sistemas de desplazamiento y son móviles. Del estudio de las bacterias se encarga la bacteriología, una rama de la microbiología.

Las bacterias son los organismos más abundantes del planeta. Son ubicuas, encontrándose en todo hábitat de la tierra, creciendo en el suelo, en manantiales calientes y ácidos, en desechos radioactivos, en las profundidades del mar y de la corteza terrestre. Algunas bacterias pueden incluso sobrevivir en las condiciones extremas del espacio exterior. Se estima que hay en torno a 40 millones de células bacterianas en un gramo de tierra y un millón de células bacterianas en un mililitro de agua dulce.

Las bacterias son imprescindibles para el reciclaje de los elementos, pues muchos pasos importantes de los ciclos biogeoquímicos dependen de éstas. Como ejemplo cabe citar fijación del nitrógeno atmosférico. Sin embargo, solamente la mitad de los filos conocidos de bacterias tienen especies que se pueden cultivar en el laboratorio, por lo que una gran parte (se supone que cerca del 90%) de las especies de bacterias existentes, todavía no ha sido descrita.

En el cuerpo humano hay aproximadamente diez veces tantas células bacterianas como células humanas, con una gran cantidad de bacterias en la piel y en el tracto digestivo. Aunque el efecto protector del sistema inmune hace que la gran mayoría de estas bacterias sea inofensiva o beneficiosa, algunas bacterias patógenas pueden causar enfermedades infecciosas, incluyendo cólera, sífilis, lepra, tifus, difteria, escarlatina, etc. Las enfermedades bacterianas mortales más comunes son las infecciones respiratorias, con una mortalidad sólo para la tuberculosis de cerca de dos millones de personas al año.

En todo el mundo se utilizan antibióticos para tratar las infecciones bacterianas. Los antibióticos son efectivos contra las bacterias ya que inhiben la formación de la pared celular o detienen otros procesos de su ciclo de vida. También se usan extensamente en la agricultura y la ganadería en ausencia de enfermedad, lo que ocasiona que se esté generalizando la resistencia de las bacterias a los antibióticos.

En la industria, las bacterias son importantes en procesos tales como el tratamiento de aguas residuales, en la producción de queso, yogur, mantequilla, vinagre, etc., y en la fabricación de medicamentos y de otros productos químicos.

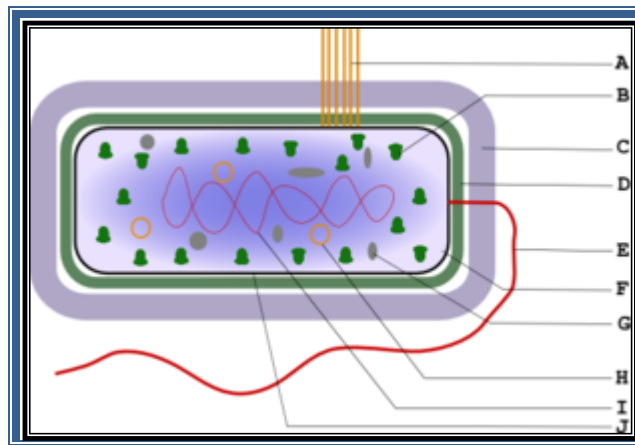
Aunque el término bacteria incluía tradicionalmente a todos los procariotas, actualmente la taxonomía y la nomenclatura científica los divide en dos grupos. Estos dominios evolutivos se denominan Bacteria y Archea (arqueas). La división se justifica en las grandes diferencias que presentan ambos grupos a nivel bioquímico y en aspectos estructurales.

2.2 ESTRUCTURA BACTERIANA

Las bacterias son organismos relativamente sencillos. Sus dimensiones son muy reducidas, unos 2 μm de ancho por 7-8 μm de longitud en la forma cilíndrica (bacilo) de tamaño medio; aunque son muy frecuentes las especies de 0,5-1,5 μm .

Como se puede apreciar en la Ilustración 11, las bacterias carecen de un núcleo delimitado por una membrana, aunque presentan un nucleoide, una estructura elemental que contiene una gran molécula circular de ADN. El citoplasma carece de orgánulos delimitados por membranas y de las formaciones protoplasmáticas propias de las células eucariotas. En el citoplasma se pueden apreciar plásmidos, pequeñas moléculas circulares de ADN que coexisten con el nucleoide, contienen genes y son comúnmente usados por las bacterias en la conjugación. El citoplasma también contiene vacuolas (gránulos que contienen sustancias de reserva) y ribosomas (utilizados en la síntesis de proteínas).

Ilustración 11. ESTRUCTURA DE LA CÉLULA BACTERIANA.



Fuente. <http://es.wikipedia.org/wiki/estructura>

**A-Pili; B-Ribosomas; C-Cápsula; D-Pared celular; E-Flagelo; F-Citoplasma;
G-Vacuola; H-Plásmido; I-Nucleoide; J-Membrana citoplasmática.**

Una membrana citoplasmática compuesta de lípidos rodea el citoplasma y, al igual que las células de las plantas, la mayoría posee una pared celular, que en este

caso está compuesta por peptidoglicano (mureína). Algunas bacterias, además, presentan una segunda membrana lipídica (membrana externa) rodeando a la pared celular.

2.2.1 Estructuras intracelulares

La membrana citoplasmática bacteriana tiene una estructura similar a la de plantas y animales. Es una bicapa lipídica compuesta fundamentalmente de fosfolípidos en la que se insertan moléculas de proteínas. En las bacterias realiza numerosas funciones entre las que se incluyen las de barrera osmótica, transporte, biosíntesis, transducción de energía, centro de replicación de ADN y punto de anclaje para los flagelos.

A diferencia de las membranas eucarióticas, generalmente no contiene esteroides (son excepciones micoplasmas y algún proteo bacterias), aunque puede contener componentes similares denominados hopanoides.

Muchas importantes reacciones bioquímicas que tienen lugar en las células se producen por la existencia de gradientes de concentración a ambos lados de una membrana. Este gradiente crea una diferencia potencial análoga a la de una batería eléctrica y permite a la célula, por ejemplo, el transporte de electrones y la obtención de energía.

La ausencia de membranas internas en las bacterias significa que estas reacciones tienen que producirse a través de la propia membrana citoplasmática, entre el citoplasma y el espacio periplásmico.




Puesto que las bacterias son procariotas no tienen orgánulos citoplasmáticos delimitados por membranas y por ello presentan pocas estructuras intracelulares. Carecen de núcleo celular, mitocondrias, cloroplastos y de los otros orgánulos presentes en las células eucariotas, tales como el aparato de Golgi y el retículo endoplasmático. Como excepción, algunas bacterias contienen estructuras

intracelulares rodeadas por membranas que pueden considerarse primitivos orgánulos. Ejemplos son los tilacoides de las cianobacterias, los compartimentos que contienen amonio monooxigenasa en Nitrosomonadaceae y diversas estructuras en Planctomycetes. Como todos los organismos vivos, las bacterias contienen ribosomas para la síntesis de proteínas, pero éstos son diferentes a los de eucariotas y arqueas. La estructura de los ribosomas de arqueas y bacterias es similar, pues ambos son de tipo 70S mientras que los ribosomas eucariotas son de tipo 80S. Sin embargo, la mayoría de las proteínas ribosomiales, factores de traducción y ARNt arqueanos son más parecidos a los eucarióticos que a los bacterianos.

Muchas bacterias presentan vacuolas, gránulos intracelulares para el almacenaje de sustancias, como por ejemplo glucógeno, polifosfatos, azufre o polihidroxicarbohidratos. Ciertas especies bacterianas fotosintéticas, tales como las cianobacterias, producen vesículas internas de gas que utilizan para regular su flotabilidad y así alcanzar la profundidad con intensidad de luz óptima y/o unos niveles de nutrientes óptimos. Otras estructuras presentes en ciertas especies son los carboxisomas (que contienen enzimas para la fijación de carbono) y los magnetosomas (para la orientación magnética).

Elementos del cito esqueleto de *Caulobacter crescentus*. En la Ilustración 12, estos elementos procarióticos se relacionan con sus homólogos eucariotas y se hipotetiza su función celular. Debe tenerse en cuenta que las funciones en la pareja FtsZ-MreB se invirtieron durante la evolución al convertirse en tubulina-actina.

Ilustración 12. DIVISIÓN EUCARIOTAS - PROCARIOTAS

	División	Polaridad	Forma
Eucariotas	Actina	Tubulina	Filamentos intermedios
Procariotas	FtsZ	MreB	CreS
<i>Caulobacter</i>			

Fuente. http://es.wikipedia.org/wiki/Caulobacter_crescentus

Las bacterias no tienen un núcleo delimitado por membranas. El material genético está organizado en un único cromosoma situado en el citoplasma, dentro de un cuerpo irregular denominado nucleoide. La mayoría de los cromosomas bacterianos son circulares, si bien existen algunos ejemplos de cromosomas lineales, por ejemplo, *Borrelia burgdorferi*. El nucleoide contiene el cromosoma junto con las proteínas asociadas y ARN. El orden Planctomycetes es una excepción, pues una membrana rodea su nucleoide y tiene varias estructuras celulares delimitadas por membranas.

Anteriormente se pensaba que las células procariotas no poseían cito esqueleto, pero desde entonces se han encontrado homólogos bacterianos de las principales proteínas del cito esqueleto de los eucariontes. Estos incluyen las proteínas estructurales FtsZ (que se ensambla en un anillo para mediar durante la división celular bacteriana) y MreB (que determina la anchura de la célula). El cito esqueleto bacteriano desempeña funciones esenciales en la protección, determinación de la forma de la célula bacteriana y en la división celular.

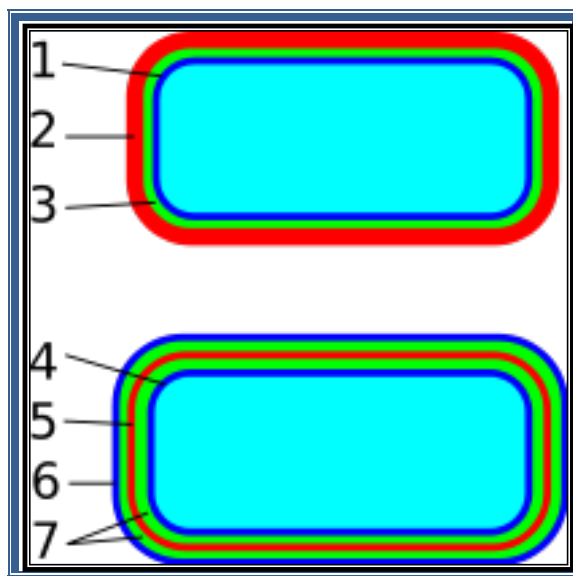
2.2.2 Estructuras extracelulares

Las bacterias disponen de una pared celular que rodea a su membrana citoplasmática. Las paredes celulares bacterianas están hechas de peptidoglicano

(llamado antiguamente mureína). Esta sustancia está compuesta por cadenas de polisacárido enlazadas por péptidos inusuales que contienen aminoácidos D. Estos aminoácidos no se encuentran en las proteínas, por lo que protegen a la pared de la mayoría de las peptidasas.

En la Ilustración 13, las paredes celulares bacterianas son distintas de las que tienen plantas y hongos, compuestas de celulosa y quitina, respectivamente. Son también distintas a las paredes celulares de Archaea, que no contienen peptidoglicano. El antibiótico penicilina puede matar a muchas bacterias inhibiendo un paso de la síntesis del peptidoglicano.

Ilustración 13. **PAREDES CELULARES BACTERIANAS.**



Fuente. http://es.wikipedia.org/wiki/Imagen:Bacteria_envelope.svg

1-membrana citoplasmática, 2-pared celular, 3-espacio periplásmico. Arriba: bacteria gram positiva Abajo: Bacteria Gram negativa.

4-membrana citoplasmática, 5-pared celular, 6-membrana externa, 7-espacio periplásmico.

Existen dos diferentes tipos de pared celular bacteriana denominadas Gram-positiva y Gram-negativa, respectivamente. Estos nombres provienen de la

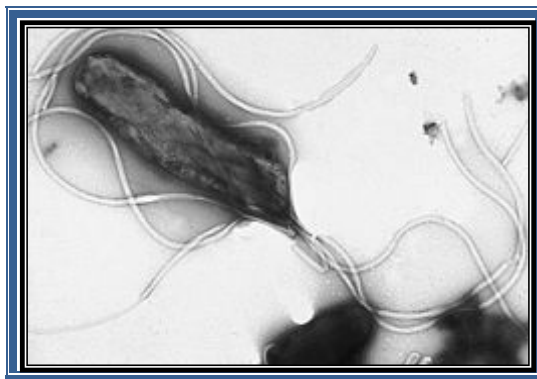
reacción de la pared celular a la tinción de Gram, un método tradicionalmente empleado para la clasificación de las especies bacterianas. Las bacterias Gram-positivas tienen una pared celular gruesa que contiene numerosas capas de peptidoglicano en las que se inserta ácido teicoico. En cambio, las bacterias Gram-negativas tienen una pared relativamente fina, consistente en unas pocas capas de peptidoglicano, rodeada por una segunda membrana lipídica (la membrana externa) que contiene lipopolisacáridos y lipoproteínas.

Las micoplasmas son una excepción, pues carecen de pared celular. La mayoría de las bacterias tienen paredes celulares Gram-negativas; solamente son Gram-positivas Firmicutes y Actinobacteria. Estos dos grupos eran antiguamente conocidos como bacterias Gram-positivas de contenido GC bajo y bacterias Gram-positivas de contenido GC alto, respectivamente. Estas diferencias en la estructura de la pared celular dan lugar a diferencias en la susceptibilidad antibiótica. Por ejemplo, la vancomicina puede matar solamente a bacterias Gram-positivas y es ineficaz contra patógenos Gram-negativos, tales como *Haemophilus influenzae* o *Pseudomonas aeruginosa*. Dentro del filo Actinobacteria cabe hacer una mención especial al género *Mycobacterium*, el cual, si bien se encuadra dentro de las Gram-positivas, no parece serlo desde el punto de vista empírico, ya que su pared no retiene el tinte. Esto se debe a que presentan una pared celular poco común, rica en ácidos micólicos, de carácter hidrófobo y ceroso y bastante gruesa, lo que les confiere una gran resistencia.

Muchas bacterias tienen una capa S de moléculas de proteína de estructura rígida que cubre la pared celular. Esta capa proporciona protección química y física para la superficie celular y puede actuar como una barrera de difusión macromolecular. Las capas S tienen diversas (aunque todavía no bien comprendidas) funciones. Por ejemplo, en el género *Campylobacter* actúan como factores de virulencia y en la especie *Bacillus stearothermophilus* contienen enzimas superficiales.

En la Ilustración 14 se muestra un ejemplo de flagelos, los mismos que largos apéndices filamentosos compuestos de proteínas y utilizados para el movimiento. Tienen un diámetro aproximado de 20 nm y una longitud de hasta 20 μm . Los flagelos son impulsados por la energía obtenida de la transferencia de iones. Esta transferencia es impulsada por el gradiente electroquímico que existe entre ambos lados de la membrana citoplasmática.

Ilustración 14. **HELICOBACTER PYLORI**



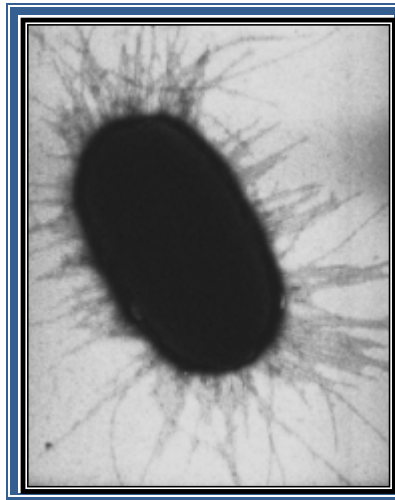
Fuente. http://es.wikipedia.org/wiki/Helicobacter_pylori

Visto al microscopio electrónico, posee numerosos flagelos sobre la superficie celular.

Las fimbrias son filamentos finos de proteínas que se distribuyen sobre la superficie de la célula. Tienen un diámetro aproximado de 2-10 nm y una longitud de hasta varios μm . Cuando se observan a través del microscopio electrónico se asemejan a pelos finos, tal como se muestra en la Ilustración 15. Las fimbrias ayudan a la adherencia de las bacterias a las superficies sólidas o a otras células y son esenciales en la virulencia de algunos patógenos. Los pili son apéndices celulares

ligeramente mayores que las fimbrias y se utilizan para la transferencia de material genético entre bacterias en un proceso denominado conjugación bacteriana.

Ilustración 15. **ESCHERICHIA COLI**

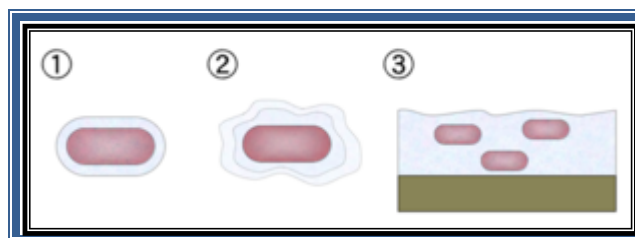


Fuente. http://es.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli

Presenta unas 100-200 fimbrias que utiliza para adherirse a las células epiteliales o al tracto urogenital

Muchas bacterias son capaces de acumular material en el exterior para recubrir su superficie. Dependiendo de la rigidez y su relación con la célula se clasifican en cápsulas y glicocalix. En la Ilustración 16 indica la cápsula, que es una estructura rígida la cual se une firmemente a la superficie bacteriana, en tanto que el glicocalix es flexible y se une de forma de haza. Estas estructuras protegen a las bacterias pues dificultan que sean fagocitadas por células eucariotas tales como los macrófagos. También pueden actuar como antígenos y estar implicadas en el reconocimiento bacteriano, así como ayudar a la adherencia superficial y a la formación de biopelículas.

Ilustración 16. **ESTRUCTURAS EXTRACELULARES BACTERIANAS:**



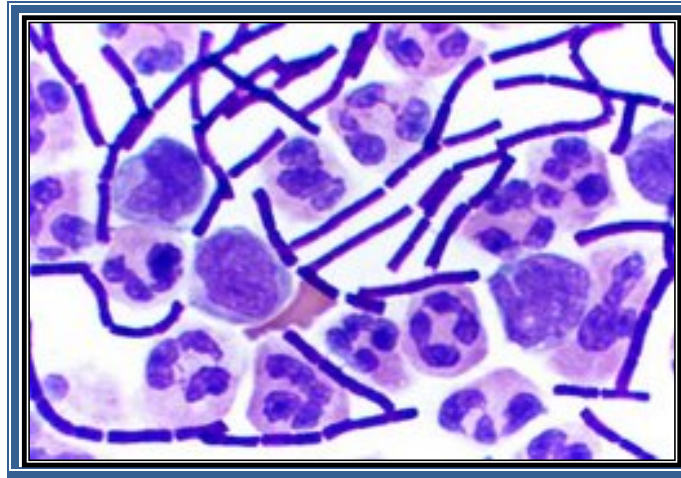
Fuente: http://es.wikipedia.org/wiki/Imagen:Bacterial_mucoid_diagram.png
1-cápsula, 2-glicocalix (capa mucosa), 3-biopelícula.

2.2.2.1 Endosporas

Ciertos géneros de bacterias Gram-positivas, tales como *Bacillus*, *Clostridium*, *Sporohalobacter*, *Anaerobacter* y *Heliobacterium*, pueden formar endosporas. Las endosporas son estructuras durmientes altamente resistentes cuya función primaria es sobrevivir cuando las condiciones ambientales son adversas. En casi todos los casos, las endosporas no forman parte de un proceso reproductivo, aunque *Anaerobacter* puede formar hasta siete endosporas a partir de una célula. Las endosporas tienen una base central de citoplasma que contiene ADN y ribosomas, rodeada por una corteza y protegida por una cubierta impermeable y rígida.

Las endosporas no presentan un metabolismo detectable y pueden sobrevivir a condiciones físicas y químicas extremas, tales como altos niveles de luz ultravioleta, rayos gamma, detergentes, desinfectantes, calor, presión y desecación. En este estado durmiente, las bacterias pueden seguir viviendo durante millones de años, e incluso pueden sobrevivir en la radiación y vacío del espacio exterior. Las endosporas pueden también causar enfermedades. Por ejemplo, en la Ilustración 17, puede contraerse carbunco por la inhalación de endosporas de *Bacillus anthracis* y tétanos por la contaminación de las heridas con endosporas de *Clostridium tetani*.

Ilustración 17. **BACILLUS ANTHRACIS**



Fuente: http://es.wikipedia.org/wiki/Imagen:Gram_Stain_Anthrax.jpg
(Teñido púrpura) desarrollándose en el líquido cefalorraquídeo. Cada pequeño segmento es una bacteria.

2.3 CLASIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS

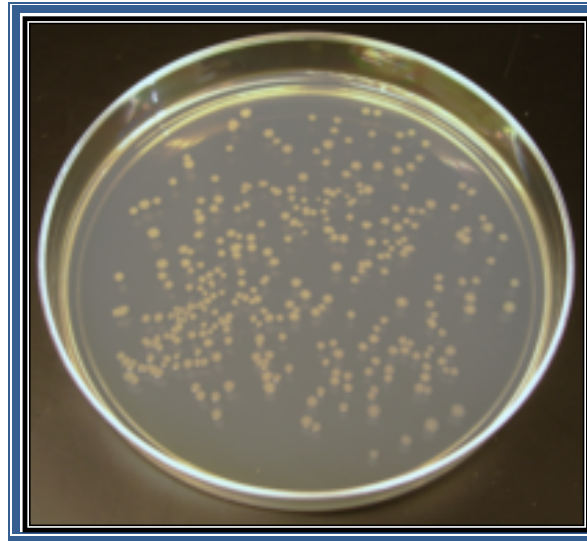
2.3.1 Clasificación e identificación

La clasificación taxonómica busca describir y diferenciar la amplia diversidad de especies bacterianas poniendo nombres y agrupando organismos según sus similitudes. Las bacterias pueden clasificarse en base a diferentes criterios, como estructura celular, metabolismo o en base a diferencias en determinados componentes como ADN, ácidos grasos, pigmentos, antígenos o quinonas. Sin embargo, aunque estos criterios permitían la identificación y clasificación de cepas bacterianas, aún no quedaba claro si estas diferencias representaban variaciones entre especies diferentes o entre distintas cepas de la misma especie. En la Ilustración 18 se puede identificar las colonias de bacterias.

Esta incertidumbre se debía a la ausencia de estructuras distintivas en la mayoría de las bacterias y a la existencia de la transferencia horizontal de genes entre especies diferentes, la cual da lugar a que bacterias muy relacionadas puedan llegar a presentar morfologías y metabolismos muy diferentes. Por ello, y con el fin de superar esta incertidumbre, la clasificación bacteriana actual se centra en el uso de técnicas moleculares modernas (filogenia molecular), tales como la

determinación del contenido de guanina/citosina, la hibridación genoma-genoma o la secuenciación de ADN ribosómico, el cual no se ve involucrado en la transferencia horizontal.

Ilustración 18. CULTIVO DE E. COLI



Fuente: (Leahy and Colwell 1990)http://es.wikipedia.org/wiki/Imagen:Ecoli_colonies.png

Donde cada punto es una colonia.

El Comité Internacional de Sistemática de Procariotas (ICSP) es el organismo encargado de la nomenclatura, taxonomía y las normas según las cuales son designados los procariotas. El ICSP es responsable de la publicación del Código Internacional de Nomenclatura de Bacterias (lista de nombres aprobados de especies y taxones bacterianos). También publica la Revista Internacional de Bacteriología Sistemática (International Journal of Systematic Bacteriology). En contraste con la nomenclatura procariótica, no hay una clasificación oficial de los procariotas porque la taxonomía sigue siendo una cuestión de criterio científico.

La clasificación más aceptada es la elaborada por la oficina editorial del Manual Bergey de Bacteriología Sistemática como paso preliminar para organizar el contenido de la publicación. Esta clasificación, conocida como "The Taxonomic Outline of Bacteria and Archaea" (TOBA), está disponible en Internet. Debido a la

reciente introducción de la filogenia molecular y del análisis de las secuencias de genomas, la clasificación bacteriana actual es un campo en continuo cambio y plena expansión.

La identificación de bacterias en el laboratorio es particularmente relevante en medicina, donde la determinación de la especie causante de una infección es crucial a la hora de aplicar un correcto tratamiento. Por ello, la necesidad de identificar a los patógenos humanos ha dado lugar a un potente desarrollo de técnicas para la identificación de bacterias. La técnica de tinción de membranas de bacterias de Gram, se la puede observar en la Ilustración 19, desarrollada por Hans Christian Gram en 1884, ha supuesto un antes y un después en el campo de la medicina, y consiste en teñir con tintes específicos diversas muestras de bacterias en un portaobjetos para saber si se han teñido o no con dicho tinte.

Ilustración 19. STREPTOCOCCUS MUTANS



Fuente: (PÍREZ and MOTA 2006)/Imagen:Streptococcus_mutans_Gram.jpg

Una vez se han adicionado los tintes específicos en las muestras, y se ha lavado la muestra pasados unos minutos para evitar confusiones, hay que limpiarlas con unas gotas de alcohol etílico. La función del alcohol es la de eliminar el tinte de las bacterias, y es aquí donde se reconocen las bacterias que se han tomado: si la bacteria conserva el tinte, es una Gram positiva, las cuales poseen una pared más gruesa constituida por varias decenas de capas de diversos componentes proteicos; en el caso de que el tinte no se mantenga, la bacteria es una Gram

negativa, la cual posee una pared de una composición diferente. La función biológica que posee esta técnica es la de fabricar antibióticos específicos para esas bacterias.

2.3.2 Clasificación de las bacterias según su forma - Morfología bacteriana

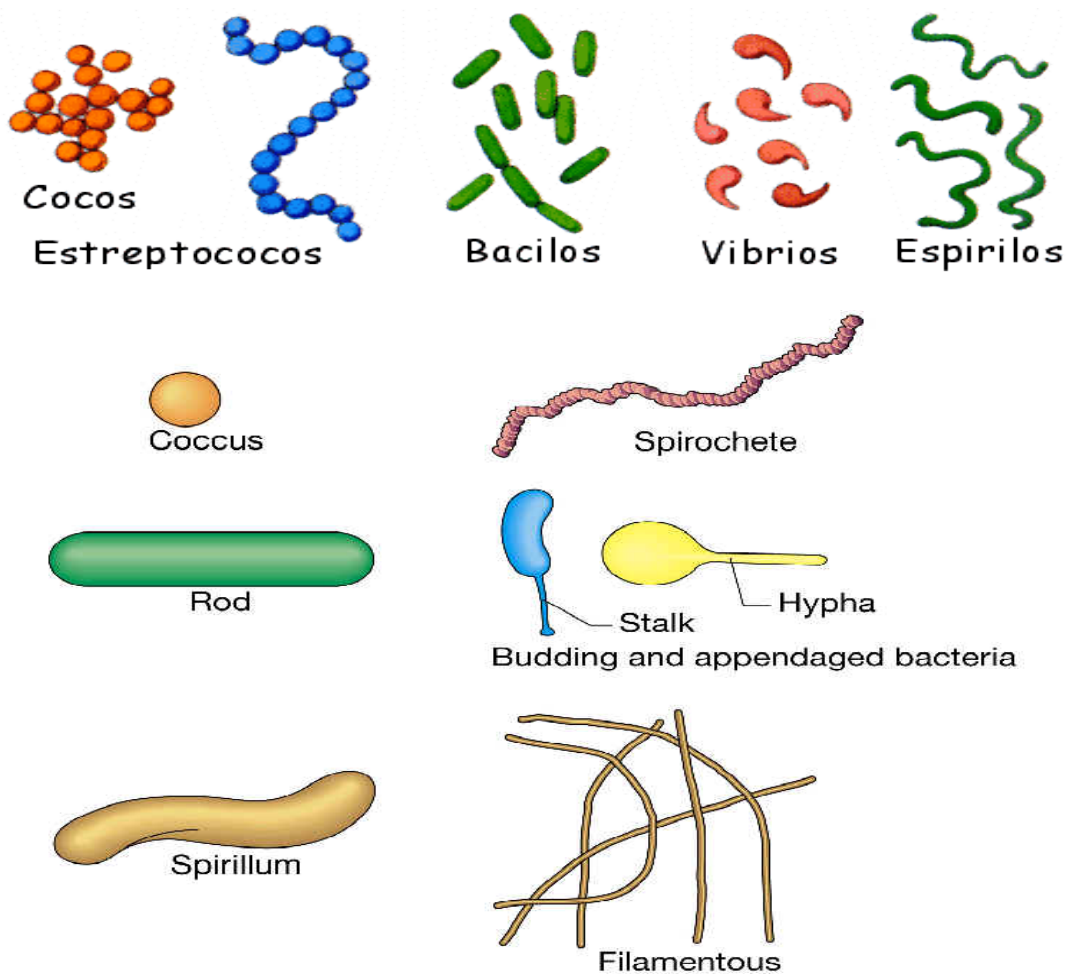
Las bacterias presentan una amplia variedad de tamaños y formas. La mayoría presentan un tamaño diez veces menor que el de las células eucariotas, es decir, entre 0,5 y 5 μm . Sin embargo, algunas especies como *Thiomargarita namibiensis* y *Epulopiscium fishelsoni* llegan a alcanzar los 0,5 mm, lo cual las hace visibles al ojo desnudo. En el otro extremo se encuentran bacterias más pequeñas conocidas, entre las que cabe destacar las pertenecientes al género *Mycoplasma*, las cuales llegan a medir solo 0,3 μm , es decir, tan pequeñas como los virus más grandes.

La forma de las bacterias es muy variada y, a menudo, una misma especie adopta distintos tipos morfológicos, lo que se conoce como **pleomorfismo**. De todas formas, podemos distinguir tres tipos fundamentales de bacterias:

- Coco (del griego *kókkos*, grano): de forma esférica.
 - *Diplococo*: cocos en grupos de dos.
 - *Tetracoco*: cocos en grupos de cuatro.
 - *Streptococo*: cocos en cadenas.
 - *Estafilococo*: cocos en agrupaciones irregulares o en racimo.
- Bacilo (del latín *baculus*, varilla): en forma de bastoncillo.
- Formas helicoidales:
 - Vibrio: ligeramente curvados y en forma de coma, judía o cacahuete.
 - Espirilo: en forma helicoidal rígida o en forma de tirabuzón.
 - Espiroqueta: en forma de tirabuzón (helicoidal flexible).

Algunas especies presentan incluso formas tetraédricas o cúbicas. Esta amplia variedad de formas se la indica en la Ilustración 20, y es determinada en última instancia por la composición de la pared celular y el cito esqueleto, siendo de vital importancia, ya que puede influir en la capacidad de la bacteria para adquirir nutrientes, unirse a superficies o moverse en presencia de estímulos.

Ilustración 20. **COCOS, BACILOS, OTROS**



Fuente: (PÍREZ and MOTA 2006) http://es.wikipedia.org/wiki/Imagen:Morfologica_bacteriana.jp

A continuación, se citan diferentes especies con diversos patrones de asociación:

- *Neisseria gonorrhoeae* en forma diploide (por pares).
- *Streptococcus* en forma de cadenas.
- *Staphylococcus* en forma de racimos.
- *Actinobacteria* en forma de filamentos. Dichos filamentos suelen rodearse de una vaina que contiene multitud de células individuales, pudiendo llegar a ramificarse, como el género *Nocardia*, adquiriendo así el aspecto del micelio de un hongo.

Las bacterias presentan la capacidad de anclarse a determinadas superficies y formar un agregado celular en forma de capa denominado biopelícula o biofilme, los cuales pueden tener un grosor que va desde unos pocos micrómetros hasta medio metro. Estas biopelículas pueden congregarse diversas especies bacterianas, además de protistas y arqueas, y se caracterizan por formar un conglomerado de células y componentes extracelulares, alcanzando así un nivel mayor de organización o estructura secundaria denominada *micro colonia*, a través de la cual existen multitud de canales que facilitan la difusión de nutrientes. En ambientes naturales tales como el suelo o la superficie de las plantas, la mayor parte de las bacterias se encuentran ancladas a las superficies en forma de biopelículas. Dichas biopelículas deben ser tenidas en cuenta en las infecciones bacterianas crónicas y en los implantes médicos, ya que las bacterias que forman estas estructuras son mucho más difíciles de erradicar que las bacterias individuales.

Por último, cabe destacar un tipo de morfología más compleja aún, observable en algunos microorganismos del grupo de las mixobacterias. Cuando estas bacterias se encuentran en un medio escaso en aminoácidos son capaces de detectar a las células de alrededor, en un proceso conocido como quorum sensing, en el cual todas las células migran hacia las demás y se agregan, dando lugar a cuerpos

fructíferos que pueden alcanzar los 0,5 mm de longitud y contener unas 100.000 células.

Una vez formada dicha estructura las bacterias son capaces de llevar a cabo diferentes funciones, es decir, se diferencian, alcanzando así un cierto nivel de organización pluricelular. Por ejemplo, entre una y diez células migran a la parte superior del cuerpo fructífero y, una vez allí, se diferencian para dar lugar a un tipo de células latentes denominadas *mixosporas*, las cuales son más resistentes a la desecación y, en general, a condiciones ambientales adversas.(PÍREZ and MOTA 2006)

2.3.3 Clasificación de las bacterias por su alimentación

Las bacterias de acuerdo a su alimentación se clasifican en:

Bacterias autótrofas: Pueden fabricar sustancia orgánica a partir de la energía de la luz del sol, pues poseen una sustancia parecida a la clorofila, y de materia inorgánica, como las plantas. Son de color verdeazulado, por eso también se les llama cianofíceas.

Bacterias heterótrofas: Estas bacterias subsisten a partir de sustancias fabricadas por otros seres vivos, tal como hacen los animales. Estas sustancias se pueden conseguir de varias formas:

Bacterias saprofitas: Estas bacterias se alimentan de sustancias en descomposición. Tienen una gran importancia en la naturaleza, ellas realizan la putrefacción de los restos de otros seres vivos.

Bacterias parásitas: Estas bacterias viven a costa de otro organismo, causando numerosas enfermedades (meningitis, tétanos, lepra)

Bacterias simbióticas: Estas bacterias se asocian con otros organismos intercambiando funciones necesarias para la vida. Algunas viven en el aparato vivo de los rumiantes y les ayudan a digerir la celulosa. Otras viven en las raíces de las plantas y les consiguen nutrientes.

Bacterias de la fermentación: Estas bacterias transforman sustancias orgánicas por medio de un proceso llamado fermentación. Así se obtiene el queso y el yogur de la leche o el vino del mosto de uva.

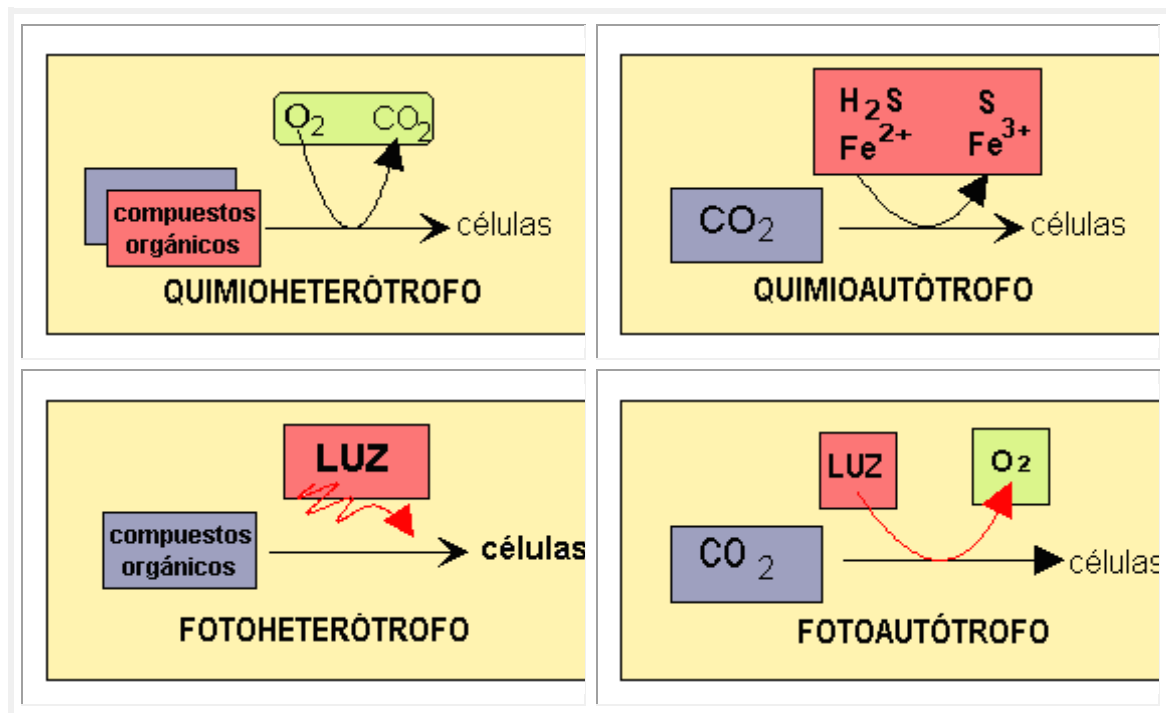
2.3.4 Clasificación de las bacterias según su Fuente de Energía

El origen de esta fuente de carbono sirve como criterio de clasificación para las bacterias. Además, se necesita una fuente de energía que sirva para poder construir sus propias moléculas; el tipo de fuente de energía utilizada también sirve como criterio de clasificación. El éxito evolutivo de las bacterias se debe en parte a su versatilidad metabólica. Todos los mecanismos posibles de obtención de materia y energía podemos encontrarlos en las bacterias.

Según la fuente de carbono que utilizan, los seres vivos se dividen en autótrofos, cuya principal fuente de carbono es el CO₂, y heterótrofos cuando su fuente de carbono es materia orgánica.

Por otra parte, según la fuente de energía, Ilustración 21 los seres vivos pueden ser fotótrofos, cuya principal fuente de energía es la luz, y los organismos quimiotrofos, cuya fuente de energía es un compuesto químico que se oxida.

Ilustración 21. CLASIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS SEGÚN SU FUENTE DE ENERGÍA



Fuente: (PÍREZ and MOTA 2006) <http://www.wikipedia.org/wiki/bacteria-Energia>

Atendiendo a las anteriores categorías, entre las bacterias podemos encontrar las siguientes formas, como puede apreciarse en el esquema:

- ✓ Las bacterias *quimio heterótrofas*, utilizan un compuesto químico como fuente de carbono, y a su vez, este mismo compuesto es la fuente de energía. La mayor parte de las bacterias cultivadas en laboratorios y las bacterias patógenas son de este grupo.
- ✓ Las bacterias *quimio autótrofas*, utilizan compuestos inorgánicos reducidos como fuente de energía y el CO_2 como fuente de carbono. Como, por ejemplo, *Nitrobacter*, *Thiobacillus*.
- ✓ Las bacterias *foto autótrofas*, utilizan la luz como fuente de energía y el CO_2 como fuente de carbono. Bacterias purpureas.
- ✓ Las bacterias *foto heterótrofas*, utilizan la luz como fuente de energía y biomoléculas como fuente de carbono. Ejemplos como *Rhodospirillum* y *Cloroflexus*.

Las bacterias necesitan de un aporte energético para desarrollarse.

- ✓ Se distinguen distintos tipos nutricionales según la fuente de energía utilizada: las bacterias que utilizan la luz son fotótrofas y las que utilizan los procesos de oxirreducción son quimiótrofas. Las bacterias pueden utilizar un sustrato mineral (litótrofas) u orgánico (organótrofas). Las bacterias patógenas que viven a expensas de la materia orgánica son quimioorganótrofas.
- ✓ La energía en un sustrato orgánico es liberada en la oxidación del mismo mediante sucesivas des hidrogenaciones. El aceptor final del hidrógeno puede ser el oxígeno: se trata entonces de una respiración. Cuando el aceptor de hidrógeno es una sustancia orgánica (fermentación) o una sustancia inorgánica, estamos frente a una anaerobiosis.
- ✓ Además de los elementos indispensables para la síntesis de sus constituyentes y de una fuente de energía, ciertas bacterias precisan de unas sustancias específicas: los *factores de crecimiento*. Son estos unos elementos indispensables para el crecimiento de un organismo incapaz de llevar a cabo su síntesis.
- ✓ Las bacterias que precisan de factores de crecimiento se llaman "autótrofas". Las que pueden sintetizar todos sus metabolitos se llaman "protótrofas". Ciertos factores son específicos, tal como la Nicotinamida (vitamina B₃) en *Proteus*. Existen unos niveles en la exigencia de las bacterias. Según André Lwoff, se pueden distinguir verdaderos factores de crecimiento, absolutamente indispensables, factores de partida, necesarios al principio del crecimiento y factores estimulantes. El crecimiento bacteriano es proporcional a la concentración de los factores de crecimiento. Así, las vitaminas, que constituyen factores de crecimiento para ciertas bacterias, pueden ser dosificadas por métodos microbiológicos (*B12* y *Lactobacilluslactis Doraren*).

Otro criterio de clasificación de bacterias hace referencia al consumo de oxígeno

Bacterias aerobias: son aquellas que necesitan oxígeno para su metabolismo. Realizan la oxidación de la materia orgánica en presencia de oxígeno molecular, es decir, realizan la respiración celular.

Bacterias anaerobias: son aquellas que no utilizan oxígeno molecular en su actividad biológica. La obtención de energía la realizan mediante catabolismo fermentativo. Se pueden distinguir dos grupos dentro de ellas:

Bacterias anaerobias facultativas: Pueden vivir en ambientes con oxígeno o sin él.

Bacterias anaerobias estrictas: sólo pueden sobrevivir en ambientes carentes de oxígeno.

2.4 FLAGELO

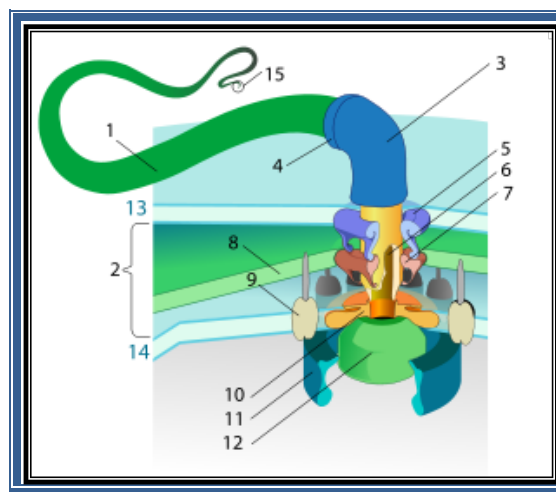
Los flagelos están compuestos por cerca de 20 proteínas, con aproximadamente otras 30 proteínas para su regulación y coordinación. Dado el tamaño de la bacteria, el agua les resulta muy viscosa y el mecanismo de propulsión debe ser muy potente y eficiente. Los flagelos bacterianos se encuentran tanto en las bacterias Gram-positivas como Gram-negativas y son completamente diferentes de los eucarióticos y, aunque son superficialmente similares a los arqueanos, se consideran no homólogos.

2.4.1 Movimiento

Algunas bacterias son inmóviles y otras limitan su movimiento a cambios de profundidad. Las bacterias móviles pueden desplazarse por deslizamiento, mediante contracciones o más comúnmente usando flagelos. Algunas bacterias pueden deslizarse por superficies sólidas segregando una sustancia viscosa, pero el mecanismo que actúa como propulsor es todavía desconocido. En el movimiento

mediante contracciones, la bacteria usa su pilus de tipo IV como gancho de ataque, primero lo extiende, anclándolo y después lo contrae con una fuerza notable (>80 pN). El flagelo bacteriano que se muestra en la Ilustración 22, es un largo apéndice filamentoso helicoidal propulsado por un motor rotatorio (como una hélice) que puede girar en los dos sentidos. El motor utiliza como energía un gradiente electroquímico a través de la membrana.

Ilustración 22 **EL FLAGELO BACTERIANO**

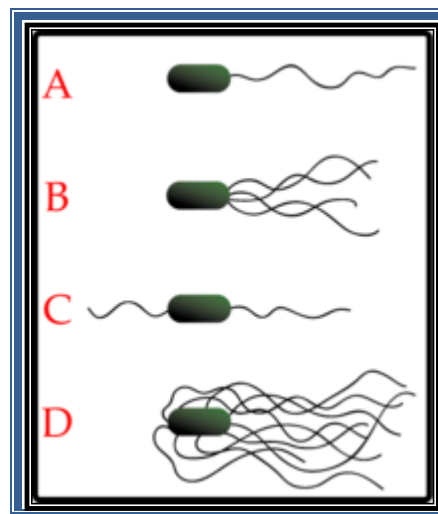


Fuente: (Pedrique de Aulacio 2009) http://es.wikipedia.org/wiki/Imagen:Flagellum_bacterial_numbered.svg. El flagelo es un apéndice movido por un motor rotatorio. El rotor puede girar a 6.000-17.000 rpm, pero el apéndice usualmente sólo alcanza 200-1000 rpm. 1-filamento, 2-espacio periplásmico, 3-codo, 4-juntura, 5-anillo L, 6-eje, 7-anillo P, 8-pared celular, 9-estator, 10-anillo MS, 11-anillo C, 12-sistema de secreción de tipo III, 13-membrana externa, 14-membrana citoplasmática, 15-punta.

Según el número y disposición de los flagelos en la superficie de la bacteria se distinguen los siguientes tipos (Ilustración 23): un solo flagelo (*monotrico*), un flagelo en cada extremo (*anfitríco*), grupos de flagelos en uno o en los dos extremos (*lofotrico*) y flagelos distribuidos sobre toda la superficie de la célula (*peritricos*). En un grupo único de bacterias, las espiroquetas, se presentan unos flagelos especializados, denominados *filamentos axiales*, localizados intracelularmente en el espacio periplásmico, entre las dos membranas. Estos producen un movimiento rotatorio que hace que la bacteria gire como un sacacorchos desplazándose hacia delante.

Muchas bacterias (tales como *E. coli*) tienen dos tipos de movimiento: en línea recta (carrera) y aleatorio. En este último, se realiza un movimiento tridimensional aleatorio al combinar la bacteria carreras cortas con virajes al azar. Las bacterias móviles pueden presentar movimientos de atracción o repulsión determinados por diferentes estímulos.

Ilustración 23 **TIPOS DE DISPOSICIÓN DE LOS FLAGELOS BACTERIANOS**



Fuente:(PÍREZ and MOTA 2006) <http://es.wikipedia.org/wiki/Imagen:Flagella.png>.

A-Monotrico; **B**-Lofotrico; **C**-Anfitrico; **D**-Peritrico.

Estos comportamientos son denominados *taxis*, e incluyen diversos tipos como la quimiotaxis, la fototaxis o la magnetotaxis. En el peculiar grupo de las mixobacterias, las células individuales se mueven juntas formando ondas de células, que terminarán agregándose para formar los cuerpos fructíferos característicos de este género. El movimiento de las mixobacterias se produce solamente sobre superficies sólidas, en contraste con *E. coli*, que es móvil tanto en medios líquidos como sólidos.

Varias especies de *Listeria* y *Shigella* se mueven dentro de las células huésped apropiándose de su cito esqueleto, que normalmente movería los orgánulos. La

polimerización de actina crea un empuje en un extremo de la bacteria que la mueve a través del citoplasma de la célula huésped.

2.4.2 Reproducción

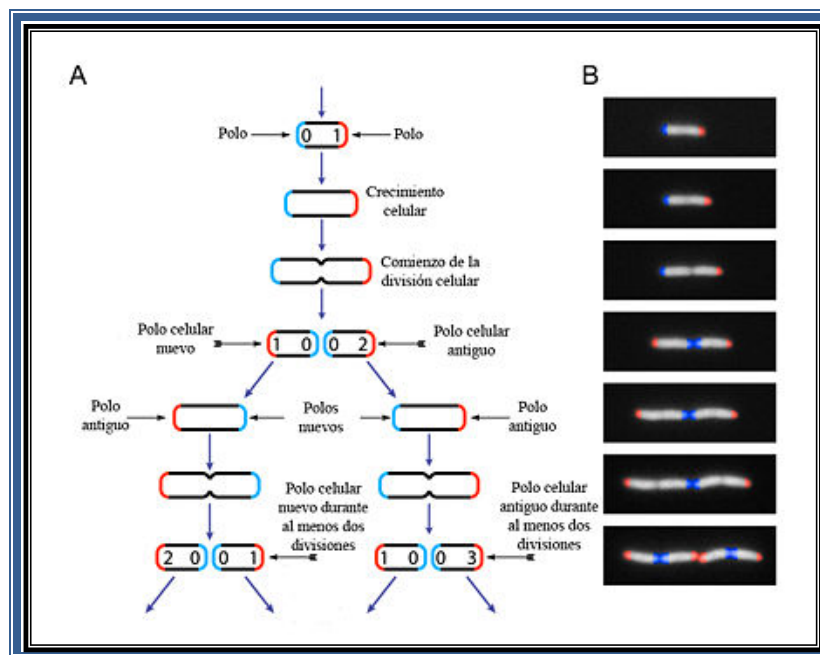
En las bacterias, el aumento en el tamaño de las células (crecimiento) y la reproducción por división celular están íntimamente ligados, como en la mayor parte de los organismos unicelulares. Las bacterias crecen hasta un tamaño fijo y después se reproducen por fisión binaria, tal como se indica en la Ilustración 24, una forma de reproducción asexual. En condiciones apropiadas, una bacteria Gram-positiva puede dividirse cada 20 – 30 minutos y una Gram-negativa cada 15 – 20 minutos, y en alrededor de 16 horas su número puede ascender a unos 5.000 millones (aproximadamente el número de personas que habitan la Tierra). Bajo condiciones óptimas, algunas bacterias pueden crecer y dividirse extremadamente rápido, tanto como cada 9,8 minutos. En la división celular se producen dos células hijas idénticas.

Algunas bacterias, todavía reproduciéndose asexualmente, forman estructuras reproductivas más complejas que facilitan la dispersión de las células hijas recién formadas. Ejemplos incluyen la formación de cuerpos fructíferos (esporangios) en las mixobacterias, la formación de hifas en *Streptomyces* y la gemación. En la gemación una célula forma una protuberancia que a continuación se separa y produce una nueva célula hija.

Por otro lado, cabe destacar un tipo de reproducción sexual en bacterias, denominada parasexualidad bacteriana. En este caso, las bacterias son capaces de intercambiar material genético en un proceso conocido como conjugación bacteriana. Durante el proceso una bacteria donante y una bacteria receptora llevan a cabo un contacto mediante pelos sexuales huecos o pili, a través de los cuales se transfiere una pequeña cantidad de ADN independiente o plásmido conjugativo. El mejor conocido es el plásmido F de *E. coli*, que además puede integrarse en el

cromosoma bacteriano. En este caso recibe el nombre de episoma, y en la transferencia arrastra parte del cromosoma bacteriano. Se requiere que exista síntesis de ADN para que se produzca la conjugación. La replicación se realiza al mismo tiempo que la transferencia.

Ilustración 24. MODELO DE DIVISIONES BINARIAS SUCESIVAS EN EL MICROORGANISMO ESCHERICHIA COLI.



Fuente: (Pedrique de Aulacio 2009) http://es.wikipedia.org/wiki/Imagen:Ciclo_celular_de_Escherichia_coli.jp

2.4.3 Crecimiento Bacteriano

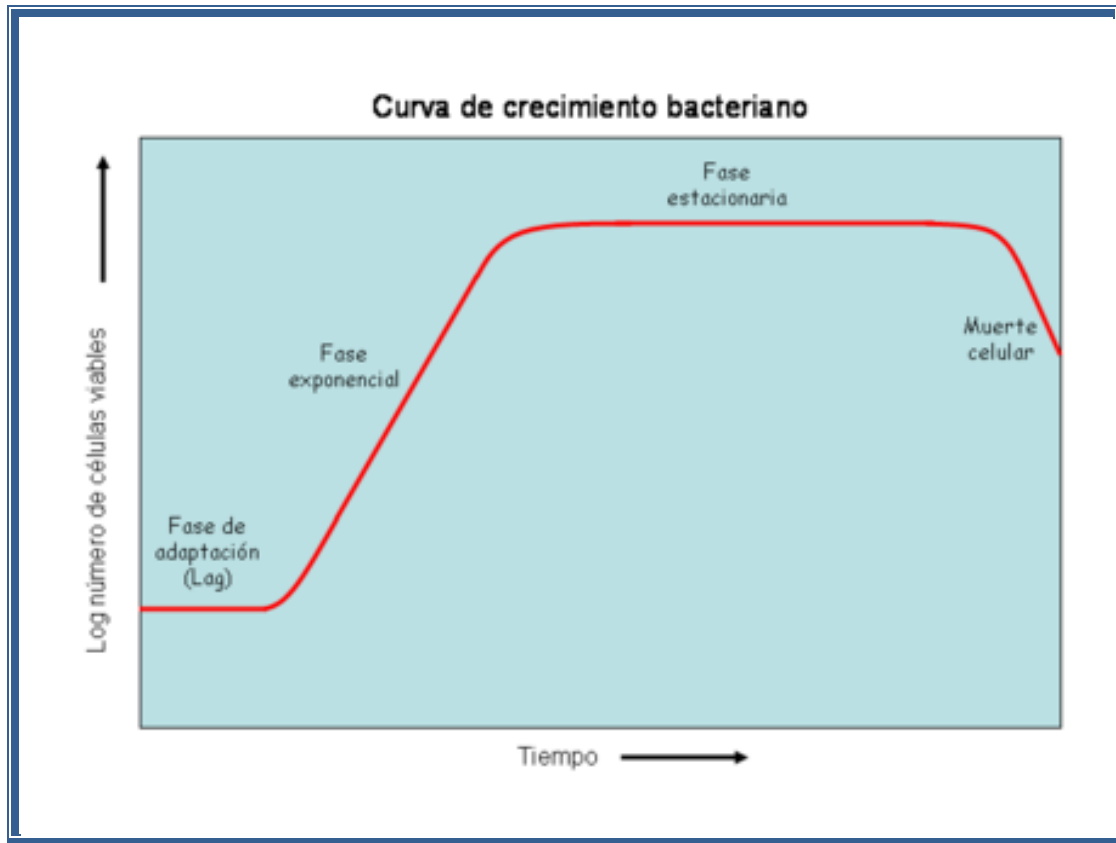
2.4.3.1 Fases del crecimiento bacteriano.

El crecimiento bacteriano sigue tres fases, según se observa en la Ilustración 25; cuando una población bacteriana se encuentra en un nuevo ambiente con elevada concentración de nutrientes que le permiten crecer necesita un período de adaptación a dicho ambiente. Esta primera fase se denomina fase de adaptación o fase lag y conlleva un lento crecimiento, donde las células se preparan para comenzar un rápido crecimiento, y una elevada tasa de biosíntesis de las proteínas necesarias para ello, como ribosomas, proteínas de membrana, etc.

La segunda fase de crecimiento se denomina fase exponencial, ya que se caracteriza por el crecimiento exponencial de las células. La velocidad de crecimiento durante esta fase se conoce como la *tasa de crecimiento k* y el tiempo que tarda cada célula en dividirse como el *tiempo de generación g* . Ilustración 25

Durante esta fase, los nutrientes son metabolizados a la máxima velocidad posible, hasta que dichos nutrientes se agoten, dando paso a la siguiente fase. La última fase de crecimiento se denomina fase estacionaria y se produce como consecuencia del agotamiento de los nutrientes en el medio. En esta fase las células reducen drásticamente su actividad metabólica y comienzan a utilizar como fuente energética aquellas proteínas celulares no esenciales. La fase estacionaria es un período de transición desde el rápido crecimiento a un estado de respuesta a estrés, en el cual se activa la expresión de genes involucrados en la reparación del ADN, en el metabolismo antioxidante y en el transporte de nutrientes.

Ilustración 25 **CRECIMIENTO BACTERIANO**



Fuente:(Pedrique de Aulacio 2009) http://es.wikipedia.org/wiki/Imagen:Curva_de_crecimiento.png

$$K = \frac{\ln X - \ln X_0}{0,693t}$$

$$X = X_0 \cdot 2^{ut}$$

$$0,693t$$

K= Tasa Constante de crecimiento

$$K = \frac{\log_{10} X_t - \log_{10} X_0}{0,301t}$$

$$0,301t$$

2.4.4 Interacciones con otros organismos

A pesar de su aparente simplicidad, las bacterias pueden formar asociaciones complejas con otros organismos. Estas asociaciones se pueden clasificar como parasitismo, mutualismo y comensalismo.

2.4.4.1 Comensales

Debido a su pequeño tamaño, las bacterias comensales son ubicuas y crecen sobre animales y plantas exactamente igual a como crecerían sobre cualquier otra superficie. Así, por ejemplo, grandes poblaciones de estos organismos son las causantes del mal olor corporal y su crecimiento puede verse aumentado con el calor y el sudor.

2.4.4.2 Mutualistas

Ciertas bacterias forman asociaciones íntimas con otros organismos, que les son imprescindibles para su supervivencia. Una de estas asociaciones mutualistas es la transferencia de hidrógeno entre especies. Se produce entre grupos de bacterias anaerobias que consumen ácidos orgánicos tales como ácido butírico o ácido propiónico y producen hidrógeno, y las Archaea metanógenas que consumen dicho hidrógeno.

Las bacterias en esta asociación no pueden consumir los ácidos orgánicos cuando el hidrógeno se acumula a su alrededor. Solamente la asociación íntima con las Archaea mantiene una concentración de hidrógeno lo bastante baja para permitir que las bacterias crezcan. En el suelo, los microorganismos que habitan la biósfera (la zona que incluye la superficie de la raíz y la tierra que se adhiere a ella) realizan la fijación de nitrógeno, convirtiendo el nitrógeno atmosférico (en estado gaseoso) en compuestos nitrogenados. Esto proporciona a muchas plantas, que no pueden fijar el nitrógeno por sí mismas, una forma fácilmente absorbible de nitrógeno.

Muchas otras bacterias se encuentran como simbioses en seres humanos y en otros organismos. Por ejemplo, en el tracto digestivo proliferan unas mil especies bacterianas. Sintetizan vitaminas tales como ácido fólico, vitamina K y biotina. También fermentan los carbohidratos complejos indigeribles y convierten las proteínas de la leche en ácido láctico (por ejemplo, *Lactobacillus*). Además, la

presencia de esta flora intestinal inhibe el crecimiento de bacterias potencialmente patógenas (generalmente por exclusión competitiva). Muchas veces estas bacterias beneficiosas se venden como suplementos dietéticos probióticos. (PÍREZ and MOTA 2006)

2.4.5 Uso de las bacterias en la tecnología y la industria

Muchas industrias dependen en parte o enteramente de la acción bacteriana. Gran cantidad de sustancias químicas importantes como alcohol etílico, ácido acético, alcohol butílico y acetona son producidas por bacterias específicas. También se emplean bacterias para el curado de tabaco, el curtido de cueros, caucho, algodón, etc. Las bacterias (a menudo *Lactobacillus*) junto con levaduras y mohos, se han utilizado durante miles de años para la preparación de alimentos fermentados tales como queso, mantequilla, encurtidos, salsa de soja, chucrut, vinagre, vino y yogur.

Las bacterias tienen una capacidad notable para degradar una gran variedad de compuestos orgánicos, por lo que se utilizan en el reciclado de basura y en bioremediación. Las bacterias capaces de degradar los hidrocarburos son de uso frecuente en la limpieza de los vertidos de petróleo. Así por ejemplo, después del vertido del petrolero Exxon Valdez en 1989, en algunas playas de Alaska se usaron fertilizantes con objeto de promover el crecimiento de estas bacterias naturales. Estos esfuerzos fueron eficaces en las playas en las que la capa de petróleo no era demasiado espesa. Las bacterias también se utilizan para la bioremediación de basuras tóxicas industriales. En la industria química, las bacterias son utilizadas en la síntesis de productos químicos enantioméricamente puros para uso farmacéutico o agroquímico.

Las bacterias también pueden ser utilizadas para el control biológico de parásitos en sustitución de los pesticidas. Esto implica comúnmente a la especie *Bacillus thuringiensis* (también llamado BT), una bacteria de suelo Gram-positiva. Las subespecies de esta bacteria se utilizan como insecticidas específicos para

lepidópteros. Debido a su especificidad, estos pesticidas se consideran respetuosos con el medio ambiente, con poco o ningún efecto sobre los seres humanos, la fauna y la mayoría de los insectos beneficiosos, como por ejemplo, los polinizadores.

Las bacterias son herramientas básicas en los campos de la biología, la genética y la bioquímica moleculares debido a su capacidad para crecer rápidamente y a la facilidad relativa con la que pueden ser manipuladas. Realizando modificaciones en el ADN bacteriano y examinando los fenotipos que resultan, los científicos pueden determinar la función de genes, enzimas y rutas metabólicas, pudiendo trasladar posteriormente estos conocimientos a organismos más complejos. La comprensión de la bioquímica celular, que requiere cantidades enormes de datos relacionados con la cinética enzimática y la expresión de genes, permitirá realizar modelos matemáticos de organismos enteros. Esto es factible en algunas bacterias bien estudiado. Por ejemplo, actualmente está siendo desarrollado y probado el modelo del metabolismo de *Escherichia coli*. Esta comprensión del metabolismo y la genética bacteriana permite a la biotecnología la modificación de las bacterias para que produzcan diversas proteínas terapéuticas, tales como insulina, factores de crecimiento y anticuerpos.

2.5 MICROORGANISMOS QUE ACTÚAN EN LA DEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS

Un grupo de compuestos tóxicos muy abundante son los hidrocarburos. Halden *et al.* (1999) demostraron la eficiencia de bacterias del género *Pseudomonas* en la degradación del ácido 3-Phenoxybenzoico en suelos. Este experimento sirvió también para evaluar el papel biodegradativo de dos *Pseudomonas* que habían sido manipuladas genéticamente. Las bacterias resultaron ser efectivas en todos los casos; sin embargo, las bacterias modificadas genéticamente tuvieron una mayor capacidad para sobrevivir a factores ambientales adversos. Este resultado es alentador, dado que uno de los factores que muchas veces impide la

bioremediación de suelos *in situ* son las condiciones ambientales desfavorables para el crecimiento bacteriano.

Otra especie de bacteria que ha sido usada para la degradación de hidrocarburos es *Sphingomonas wittichii* RW1, la cual en condiciones anaeróbicas es capaz de transformar el 2,7 diclorobenceno, produciendo el metabolito 4 clorocatenol y el 1, 2, 3,4 tetraclorodibenceno (Hong *et al.*, 2002).

Los hongos también han sido evaluados para la degradación de hidrocarburos. Boldu *et al.* (2002) estudiaron el papel del hongo *Cladophialophora sp.* Sobre la degradación de benceno, tolueno, etilbenceno y xileno. El hongo no fue capaz de degradar el benceno, pero degradó los compuestos alcalinizados (tolueno, etilbenceno y xileno). El mecanismo de degradación fue una combinación de asimilación y cometabolismo. El tolueno y el etilbenceno fueron usados como fuente de carbono y energía. En el proceso degradativo actúa la enzima monooxigenasa la cual se encargó de la degradación del tolueno, etilbenceno y el xileno.

Otros microorganismos, menos estudiados pero que también contribuyen a la degradación de agentes contaminantes en el suelo, son las cianobacterias. Abed *et al.* (2002) estudiaron el papel de las especies *Phormidium* y *Oscillatoria* sobre la degradación de hidrocarburos. Los resultados señalan que en 7 días se había degradado el n-octadecano y el ristiano en un 25 y 34%, respectivamente. Estos valores demuestran el potencial de estas cianobacterias para el desarrollo de futuras técnicas de biodegradación en suelos contaminados con hidrocarburos.

Las algas también juegan un papel importante en los procesos de biodegradación. Lai *et al.* (2002) estudiaron el proceso de biotransformación del esteroide estrógeno por acción de *Chlorella vulgaris*. Con luz esta especie metabolizó el 50% del estradiol, transformándolo a un compuesto desconocido, aunque otros

estrógenos como el estriol hidroxiestrona y el etinil estradiol se mantuvieron estables en el cultivo del alga.

2.5.1 Microorganismos usados en la biorremediación

El suelo es el lugar más adecuado para el desarrollo de microorganismos, los mismos aportan a los ciclos biogeoquímicos de algunos elementos como el carbono, el azufre, el fósforo; y otros metales que se encuentran en el suelo. Entre los microorganismos más comunes están las bacterias y los hongos; pero se conoce a las bacterias como un degradador primario por su eficiencia en la degeneración de hidrocarburos. Por otra parte, los hongos también son capaces de degradar ciertos compuestos, sin embargo, crecen muy lento, a diferencia de las bacterias que se caracterizan por su rápido crecimiento y su alta velocidad para replicarse. Tabla 2. Dentro de los microorganismos más usados se encuentran: Ilustración 26

Tabla 3. Bacterias y hongos usados en biorremediación.

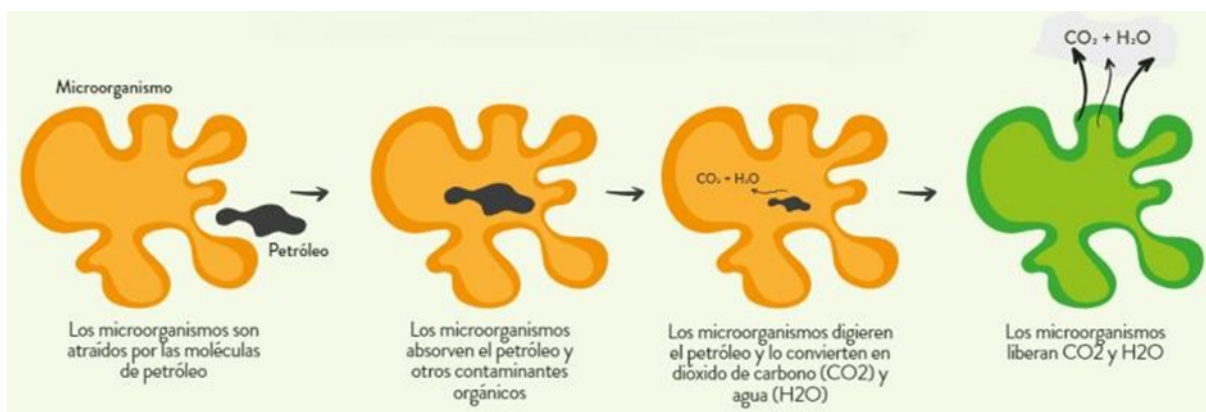
BACTERIAS	HONGOS	ALGAS
Rhodococcus	Trametes versicolor	Prototeca zopfii
Pseudomonas	Stereum hirsutum	Ankistrodesmus braunii
Acinetobacter	Bjerkandera adusta	Selenastrum capricornutum
Comamonas acidovorans	Phellinus pini	Scenedesmus acutus
Acinetobacter calcoaceticus	Lentinus edodes	Chlamydomonas ulvaensis
Achromobacter sp.	Hypholoma fasciculare	Chlorella pyrenoidosa
Flavobacterium devorans	Pleurotus ostreatus	Scenedesmus Brasiliensis
Bacillus lentus	Phanerochaete chrysosporium	
Bacillus mascerans	Aspergillus niger	
Bacillus thuringensis	Rhodosporidium	
Arthrobacter	Saccharomycopsis	
Achromobacter	Trichoderma	
Actinomyces	Rhodotorula	

Alcaligenes	Saccharomyces
Corynebacterium	Paecilomyces
Erwinia	Penicillium
Flavobacterium	Oidiodendron
Lactobacillus	Hansenula
Nocardia	Fusarium
Peptococcus	Cladosporium
Sarcina	Candia
Spirillum	Botrytis
Streptomyces	
Vibrio	

Fuente: (Castillo Rodríguez Inés 2019)(Morales Julián, Moreno Andrés, et al., Biorremediacion de suelos contaminados con Hidrocarburos, 2019)

Lo que permite la oxidación del petróleo son las actividades oxigenasas y peroxidasas que contienen los microorganismos del suelo, y es este proceso de oxidación que hace posible su degradación.

Ilustración 26. Transformación de hidrocarburos en fuente de energía para los microorganismos teniendo como resultado vapor de agua y CO₂



Entre los microorganismos más importantes están:

- ✓ **Rhodococcus:** Es una bacteria que posee una gran diversidad metabólica lo que facilita el proceso de degradación de compuestos aromáticos. También tiene la capacidad de crecer con pocos nutrientes y es persistente en el ambiente, lo que la convierte en una de las candidatas más apropiadas para los tratamientos de biorremediación. Existen nuevas mutaciones de Rhodococcus como Rhodococcus sp. El cual es caracterizado por su posibilidad de descomponer compuestos alifáticos con enlaces dobles (alquenos).
- ✓ **Pseudomonas:** Son bacterias Gram negativas, son obicuas y pertenecen a las Proteobacterias. Son capaces de producir biosurfactantes que son los que aportan en los procesos de remoción de aceites y otros productos derivados. Referente a la contaminación por metales pesados, esta bacteria presenta una alta capacidad biorremediativa, lo que evita que estos metales, sean perjudiciales para el suelo. La Pseudomona aeruginosa, forma parte de los microorganismos más utilizados en la biorremediación. Varios estudios la identifican como una bacteria capaz de degradar una gran cantidad de sustratos como el n-hexadecano y también degradar hidrocarburos aromáticos y poli aromáticos.
- ✓ **Phanerochaete chrysosporium:** Es un hongo que libera enzimas las cuales aportan en la biorremediación ya que estas enzimas son agentes oxidantes y contribuyen al proceso de remediación del suelo. Estas enzimas pueden ser bifenilos policlorados, TNT, entre otros.
- ✓ **Aspergillus niger:** Este es un microorganismo propicio para la realización de los procesos de biorremediación. Según estudios; en 100 ml de solución de

fenol, con 1g/L de *Aspergillus*, se obtuvieron resultados en los que se logró eliminar el fenol por completo y en un periodo de tiempo de 21 horas; mientras que al añadir quitosán el cual se conoce como un polisacárido, disminuye los niveles de eliminación a un 60 %, de esta manera se demuestra la eficacia del microorganismo en la remoción de contaminantes.

UNIDAD 3

EL SUELO

3.1 INTRODUCCIÓN

El suelo es uno de los recursos naturales más importantes y más productivos, por lo que a través de él y las prácticas agrícolas adecuadas se establece un equilibrio entre la producción de alimentos y el acelerado incremento del índice demográfico. El suelo es esencial para la vida, como lo es el aire y el agua, y cuando es utilizado de manera prudente puede ser considerado como un recurso renovable. Es un elemento de enlace entre los factores bióticos y abióticos y se le considera un hábitat para el desarrollo de las plantas.

Gracias al soporte que constituye el suelo es posible la producción de los recursos naturales, por lo cual es necesario comprender las características físicas y químicas para propiciar la productividad y el equilibrio ambiental (sustentabilidad). (Ibrahim et al. 2020)

3.2 CONCEPTOS BÁSICOS

La palabra suelo se deriva del latín solum, cuyo significado es: suelo, tierra o parcela.

Por tanto, podemos decir que el suelo es:

“La capa superior de la tierra que sirve de sustento para el crecimiento y desarrollo de las plantas”

Los suelos se forman por la combinación de cinco factores interactivos: material parental, clima, topografía. Organismos vivos y tiempo.

Los suelos poseen cuatro componentes: materia mineral, materia orgánica, agua y aire; la composición volumétrica aproximada es de 45, 5, 25 y 25%, respectivamente.

Los constituyentes minerales (inorgánicos) de los suelos normalmente están compuestos de pequeños fragmentos de roca y minerales de varias clases. Las cuatro clases más importantes de partículas inorgánicas son: grava, arena, limo y arcilla.

La materia orgánica del suelo representa la acumulación de las plantas destruidas y pre sintetizada parcialmente y de los residuos animales. La materia orgánica del suelo se divide en dos grandes grupos:

- a) Los tejidos originales y sus equivalentes más o menos descompuestos.
- b) El humus, que es considerado como el producto final de descomposición de la materia orgánica.

Para darse una idea general de la importancia que tiene el agua para el suelo es necesario resaltar los conceptos:

- a) El agua es retenida dentro de los poros con grados variables de intensidad, según la cantidad de agua presente.
- b) Junto con sus sales disueltas el agua del suelo forma la llamada solución del suelo; ésta es esencial para abastecer de nutrimentos a las plantas que en él se desarrollan.

El aire del suelo no es continuo y está localizado en los poros separados por los sólidos. Este aire tiene generalmente una humedad más alta que la de la atmósfera. Cuando es óptima, su humedad relativa está próxima a 100%. El contenido de anhídrido carbónico es por lo general más alto y el del oxígeno más bajo que los hallados en la atmósfera.

La arcilla y el humus son el asiento de la actividad del suelo; estos dos constituyentes existen en el llamado estado coloidal. Las propiedades químicas y físicas de los suelos son controladas, en gran parte, por la arcilla y el humus, las

que actúan como centros de actividad a cuyo alrededor ocurren reacciones químicas y cambios nutritivos.

3.3 EL SUELO Y SUS CARACTERÍSTICAS

Un perfil de suelo es la exposición vertical, de horizontes o capas horizontales, de una porción superficial de la corteza terrestre. Los perfiles de los suelos difieren ampliamente de región a región, en general los suelos tienen de tres a cinco horizontes y se clasifican en horizontes orgánicos (designados con la letra O) y horizontes minerales (con las letras A, B, C).

Algunas veces es difícil establecer claramente el número de capas del suelo, pero en general se observan tres y son llamadas horizontes A, B, C. siendo el horizonte A el que se encuentra cerca de la superficie, el B el intermedio y el C el más profundo del suelo.

Estos horizontes aparecen en suelos totalmente formados. El suelo se forma a partir de la roca madre gracias a la acción del agua, viento, variaciones de temperatura y la presencia de algunos seres vivos. La profundidad a la que actúan estos factores determina la presencia de los horizontes que se diferencian por su color, textura y la presencia de carbonatos (estos se comprueban ya que al agregar un ácido salen burbujas).

Las características de cada horizonte son:

A Contiene mucha materia orgánica

B Presenta acumulación de materiales finos provenientes de la formación del suelo junto con productos orgánicos procedentes del horizonte A.

Formado por mucha roca y material que no se ha visto modificado por los factores que forman el suelo.

Los suelos en formación no suelen presentar el horizonte B y el A es muy pequeño. Por lo que para que un suelo sea apto para actividades agrícolas debe haberse

formado completamente. Las características de ese suelo dependerán del tipo de roca madre del cual se formó.

3.3.1 Sistemas de clasificación de suelos

De acuerdo a los materiales que lo forman el suelo puede ser de tres tipos: Arenoso, Franco y arcilloso, aunque hay suelos intermedios entre estos. **Tabla 4**

Los suelos arenosos tienen alto contenido de arena, absorben agua rápidamente pero no la retienen por mucho tiempo, esta agua que se escurre, arrastra los nutrientes. Son de fácil labrar, pero necesitan riego constante y que se le agregue materia orgánica.

Los suelos francos, tienen alto contenido de humus, que da porosidad a la arcilla y cohesión a la arena; por lo tanto, tienen un buen drenaje, almacenan suficiente agua y permiten la aireación del suelo, son los mejores para los cultivos.

Los suelos arcillosos retienen mucha agua por lo que al no escurrirse no se lleva los nutrientes. Son difíciles de labrar pues se compactan con mayor facilidad y se vuelven duros.

Los suelos son clasificados de acuerdo con su estructura y composición en órdenes, subórdenes, grandes grupos, subgrupos, familias y series. Se ha visto que las características del suelo varían enormemente de un lugar a otro; los científicos han reconocido estas variaciones en los diferentes lugares y han establecido distintos sistemas de clasificación.

Las diferencias que presentan los suelos se utilizan para clasificarlos en diez órdenes principales, como se observa en el siguiente cuadro. Los alfisoles (suelos ricos en hierro y aluminio) y molisoles (suelos de pastizales) son los mejores suelos agrícolas.

Tabla 4. TIPOS DE SUELO VS PORCENTAJE DE SUP. EN EL MUNDO

Tipo de Suelo	Porcentaje de superficie en el mundo
Aridisoles	19.2
Inceptisoles	15.8
Alfisolos	14.7
Entisoles	12.5
Oxisoles	9.2
Molisolos	9
Ultisoles	8.5
Espodosoles	5.4
Vertisoles	2.1
Histosoles	0.8
Suelos diversos	2.8
Total	100

Fuente: (Vera et al. 2019) <http://www.wikipedia.org/wiki/suelos>.

3.4 SUELOS DE ECUADOR

El suelo Ecuatoriano se encuentra dividido en cuatro regiones naturales: Costa, Sierra, Oriente y Galápagos. En cada región existe un suelo característico que junto con sus condiciones climáticas especiales determinan una variedad de productos, en especial agrícola muy grande.

De acuerdo a cada región se encuentran suelos de diferente tipo; es así, que los suelos de los páramos son de tipo volcánico, ya sea por roca volcánica meteorizada (parte sur del Ecuador) o por ceniza volcánica reciente (Norte y centro).

Los suelos del norte y centro se denominan Andosoles, son suelos jóvenes, con horizontes poco diferenciados y, por su gran riqueza en materia orgánica, tienen un

color negro. Poseen una elevada tasa de retención de agua y una gran permeabilidad, lo que permite un buen desarrollo de las raíces y una notable resistencia a la erosión.

Pero una vez que se ha perdido la estructura porosa por pisoteo o desecación, el suelo ya no puede guardar tanta agua y se vuelve hidrofóbica o repelente del agua.

En la parte sur del Ecuador, donde la cordillera es diferente, los suelos también son diferentes (Inceptisoles). La roca metamórfica meteorizada originalmente también era de origen volcánico, pero de una edad mucho mayor que los volcanes que dominan el paisaje en el norte.

Los volcanes del sur emitieron su material antes de que se levantaran los Andes, en un ambiente tropical. Después, estas rocas volcánicas fueron levantadas a la altitud actual, pasando por una serie de alteraciones que las transformaron en roca metafóricas.

En general, los suelos formados en este material son más superficiales y menos fértiles.

En el extremo Sur de la distribución de cenizas volcánicas recientes, se encuentra una zona con una capa muy delgada de cenizas volcánicas sobre lavas más antiguas.

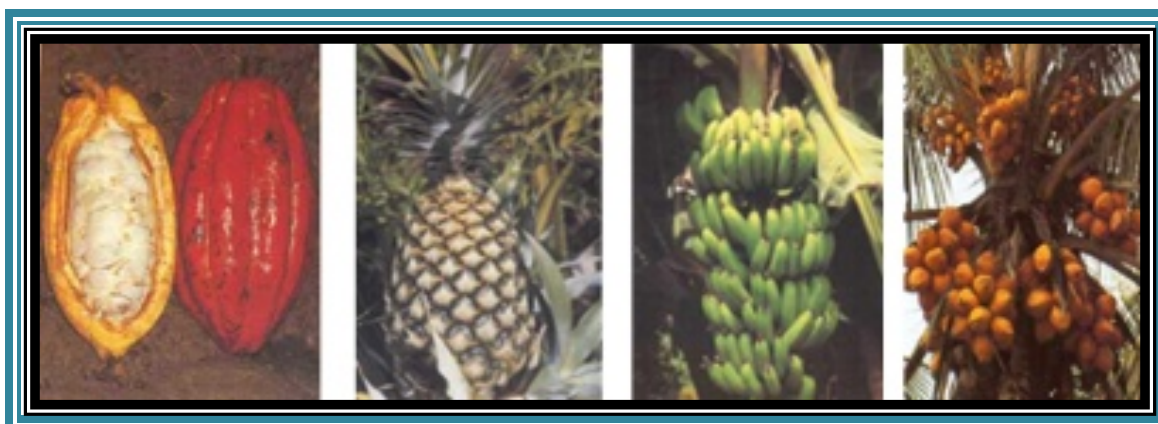
Aquí los suelos son similares a los del Norte, pero muy delgados. La vegetación, a partir aproximadamente de Alausí, es un tanto diferente a la del norte.(Vera et al. 2019)

3.4.1 Costa

En nuestro país el banano es un producto muy importante, existen grandes plantaciones donde producen este fruto para exportar.

La zona costera posee muy buenas tierras para cultivar, posee grandes llanuras bañadas por ríos que traen los nutrientes desde la cordillera Ilustración 27. La parte central de la costa tiene un clima seco que debe ser compensado con riego artificial, en muchos casos el agua proviene de embalses artificiales que la almacenan. Existen grandes cultivos de plátano, cacao, palma africana, arroz y caña de azúcar. También se cultivan frutas tropicales como piña, papaya, mango, naranja y mandarinas entre otras. Es posible encontrar plantaciones de yuca, algodón y café.

Ilustración 27 **PRODUCTOS DE LA COSTA**



Fuente: (Vera et al. 2019) http://www.edufuturo.com/productos_costa

3.4.2 Sierra

Nuestra serranía ecuatoriana se caracteriza por presentar un terreno irregular. Los valles interandinos en su mayoría son lugares con suelos muy fértiles aptos para muchos tipos de cultivos, pero las pendientes de las montañas presentan problemas de erosión. Aquí se cultiva gran cantidad de productos. Ilustración 28 Actualmente, se han incrementado los cultivos de flores destinadas principalmente para la exportación.

Hay grandes zonas de pastizales dedicados al ganado vacuno en miras a la producción de leche. Se cultivan también cereales como el trigo, la cebada y el

centeno; hortalizas como col, brócoli, cebolla, acelga, zanahoria entre otras; maíz, papas mellocos y algunas frutas como: manzanas, peras, duraznos y otras.

Ilustración 28 **PRODUCTOS DE LA SIERRA**



Fuente: http://www.edufuturo.com/productos_sierra

3.4.3 Oriente

La zona oriental siempre nos parece la más fértil de todas ya que se contemplan sus extensos bosques (que por cierto están siendo destruidos) y se piensa que toda esa exuberancia se debe a su suelo. Ilustración 29 Es el error más grande que existe. La riqueza de este bosque está en sus árboles, ellos con los que al caerse sus hojas o al morir alimentan al suelo. Una vez que los árboles desaparecen, se pierde la riqueza de ese suelo. A pesar de esto se cultiva naranjilla, palmito, palma africana

y madera. Es muy probable que estas tierras se conviertan en un desierto ya que su suelo no es apto para el cultivo y sin los árboles, la lluvia dejará de caer.

Ilustración 29 PRODUCTOS DEL ORIENTE



Fuente: <http://www.edufuturo.com/productos Oriente>

3.4.4 Problemas Ambientales y estado actual de los suelos en Ecuador

En los cultivos se realizan actividades previas para la siembra como es la tala indiscriminada de bosques enteros, esto es en el Oriente Ecuatoriano, las mismas que nos son aptas para cultivos ya que su riqueza radica en el bosque, sus suelos son pobres y por lo tanto al talarlos se pierde la riqueza.

- ✓ En cultivos grandes se requiere agua, por lo que se utiliza en grandes cantidades dejando sin ella a las comunidades cercanas. Para los monocultivos suelen utilizarse semillas de plantas que han sido manipuladas para tener una o varias características específicas, estas modificaciones por lo general se hacen en los países desarrollados y no están hechas para las

condiciones ambientales que tendrán en un país como el nuestro, por ejemplo serán resistentes a plagas de otros países pero no a las nuestras o necesitarán un fertilizante o plaguicida especial, que es muy caro o que no es apto para ser utilizado aquí, inclusive se utilizan insecticidas.

- ✓ Un cultivo tan grande requiere de mucha maquinaria agrícola que por sus vibraciones, peso, contaminación etc., puede llegar a deteriorar en gran medida el suelo. Este tipo de manejo de suelo puede llevar a la erosión del mismo y la pérdida de sus nutrientes de ese ambiente.
- ✓ Los suelos agrícolas contaminados por agentes externos, como son: derrames, rupturas de poliductos, oleoductos, fumigaciones, ocasionan que los pequeños agricultores cosechen esos productos contaminados y los vendan a los ecuatorianos.
- ✓ Los suelos de las riberas de los ríos, de los mares, esteros, son contaminados por la excesiva presencia de materia orgánica, por la falta de alcantarillado; además por los derrames de crudo o de derivados del petróleo.

En realidad. Se pueden seguir enumerando un montón de problemas ocasionados por los monocultivos, solo quiero exponer uno más. Se trata de las plagas, encuentran un monocultivo es su paraíso, será muy difícil acabar con todos los animales que lleguen, se usarán plaguicidas a montones (es decir, un veneno), morirán algunos, pero otros serán resistentes y transmitirán su resistencia a sus hijos y a sus nietos y así sucesivamente y no se habrá sacado nada con los plaguicidas; además de que envenenarán los alimentos. A la larga los monocultivos llevan a eso. La Sigatoka negra, un hongo que ataca al banano, quién sabe si no sea un problema asociado al monocultivo. ¿Qué podemos hacer?

Existen algunos CULTIVOS AGROFORESTALES Y ECOLOGICOS; Estos métodos tratan de aplicar el conocimiento que se tiene sobre ECOLOGIA Y FISILOGÍA VEGETAL, en un mejor desarrollo de los cultivos evitando severos daños al ambiente, además de que se pretende hacer a la agricultura SUSTENTABLE, es decir, que no produzca ganancias sólo en el presente, sino que su producción esté diseñada para durar muchísimo tiempo. Piensa no sólo en el ambiente sino en las personas y eso es lo que la hace más interesante. Los cultivos agroforestales combinan los bosques con cultivos agrícolas de varios tipos para lograr varios objetivos: “Obtener leña y madera al mismo tiempo que hortalizas o frutas. “ Mantener flores para que con la presencia de abejas se produzca miel junto con un cultivo de hortalizas. “Proteger a los cultivos del viento mediante cortinas hechas con árboles. “Reducir el impacto del agua sobre el suelo ya que los árboles ayudan a sostener y mantener el suelo. “Reciclar nutrientes para el suelo.

Tabla 5. SUELOS ADECUADOS Y NO ADECUADOS PARA EL CULTIVO

Se	Características	Usos Principales	Usos Secundarios	Medidas de conservación
Tierras adecuadas para el cultivo				
I	Tierra excelente, plana y bien drenada	Agricultura	Recreación, vida silvestre, pastura	Ninguna
II	Buena tierra con limitaciones menores, como pendiente ligera, suelo arenoso o drenaje deficiente	Agricultura, pastura	Recreación, vida silvestre, pastura	Cultivo de franjas, labranza en contorno
III	Terreno moderadamente bueno con limitantes importantes en suelo pendiente o drenaje	Agricultura, pastura, cuenca colectora	Recreación, vida silvestre, industria urbana	Labranza en contorno, cultivo de franjas, vías fluviales, terrazas
IV	Tierra regular, limitaciones severas en suelo, pendiente o drenaje	Pastura limitada, huertos, agricultura urbana	Pastura, industrias silvestre	Labranza en contorno, cultivo de franjas, vías fluviales, terrazas
Tierras no apropiadas para el cultivo				
V	Rocosa, suelo somero, humedad o pendiente alta imposibilitan la agricultura	Apacentamiento, silvicultura, colectora	Recreación, vida silvestre	Sin precauciones especiales, si se pastorea o tala de manera apropiada, no debe ararse
VI	Limitaciones moderadas para apacentamiento (ganadería) y silvicultura	Apacentamiento, silvicultura, colectora, urbana	Recreación, vida silvestre, industrias	El apacentamiento y la tala deben limitarse a determinadas épocas
VII	Limitaciones severas para apacentamiento (ganadería) y silvicultura	Apacentamiento, silvicultura, colectora, paisaje estético, vida silvestre	recreación, vida silvestre	Si requiere una administración cuidadosa cuando se utiliza para apacentamiento o tala
VIII	Inadecuada para apacentamiento y silvicultura a causa de fuertes pendientes, suelo somero, carencia de agua o demasiada agua	Recreación, paisaje estético, vida silvestre, industria urbana	paisaje silvestre,	No se usa para apacentamiento o tala

La Rotación de cultivos reduce el ataque de las plagas y además puede contribuir al enriquecimiento del suelo si se utilizan cada vez plantas con diferentes requerimientos nutricionales o se cultivan plantas fijadoras de nitrógeno apto para ser absorbido por las raíces como son el fréjol, la soya, etc. La Asociación de cultivos ayuda en gran medida al control de plagas y al mejoramiento del suelo. Es más difícil que una plaga que es específica dañe un cultivo mixto, además, que algunas plantas son repelentes naturales de insectos. Al cultivar maíz y fréjol al mismo tiempo, se aprovecha el suelo con dos productos y el fréjol que puede fijar nitrógeno le provee de este nutriente al maíz.

Cada vez resulta más evidente que diversas actividades del hombre han derivado en una situación en que la tasa de pérdida de suelo supera por mucho al de su formación, desestabilizando peligrosamente su equilibrio natural.

Algunos de los procesos que influyen en mayor o menor grado en el deterioro de los suelos son:

- a) Deforestación: es el desmonte de terrenos con el fin de utilizarlos para cultivos, explotaciones madereras o zonas de pastoreo para ganado.
- b) Erosión: proceso físico que consiste en el desprendimiento y arrastre de las partículas del suelo por los agentes del intemperismo. La erosión causada por el agua se llama erosión hídrica y la causada por el viento erosión eólica.
- c) Salinización: deterioro de los suelos por el incremento en el nivel de sales solubles que reduce su capacidad productiva.
- d) Degradación física: se produce como consecuencia de procesos como el encostramiento, la reducción de permeabilidad, la compactación, la cementación y la degradación de la estructura.
- e) Degradación biológica: Consiste en el aumento de la velocidad de mineralización de la materia orgánica, como consecuencia del continuo paso del arado que aumenta la intemperización y afecta la estructura de ésta.
- f) Degradación química: es la pérdida de nutrientes por lixiviación.
- g) Asentamientos humanos: la expansión urbana puede conducir al más fuerte cambio de uso del suelo; la sustitución de la cobertura vegetal por la cubierta

asfáltica reduce la filtración de agua, afectando la cubierta vegetal aledaño y, con ello, acelera el proceso de degradación del suelo.

3.4.5 Manejo y conservación del suelo.

Para el manejo y conservación del suelo se ofrecen diversas alternativas, como la labranza de conservación, el manejo de residuos, la labranza limitada o agricultura sin labranza. A continuación, se describen algunos métodos de conservación de suelos.

- a) Terrazas: son los terraplenes formados entre los bordos de tierra, o la combinación de bordos y canales construidos en sentido perpendicular a la pendiente del terreno.
- b) Surcado al contorno: es el trazado de los surcos en forma perpendicular a la pendiente natural del terreno, siguiendo las curvas de nivel.
- c) Franjeado: consiste en sembrar franjas de cultivos alternados (por ejemplo, maíz y alfalfa), variando así la velocidad de infiltración del agua, con lo que se evita su pérdida por escurrimientos y se disminuye la erosión del suelo.
- d) Agrosilvicultura: se basa en los mismos principios que el franjeado, pero alterna cultivos herbáceos con franjas de arbustos o árboles para reducir la erosión tanto hídrica como eólica, con lo que se estabiliza física y químicamente el suelo, se proporciona sombra (que reduce la pérdida de agua por evaporación), se retiene y libera con lentitud la humedad del suelo y se logra producir alimento para ganado, además de frutos y leña.
- e) Rotación de cultivos: es la sucesión de cultivos diferentes en ciclos continuos sobre un área de terreno determinada.
- f) Setos vivos: así se llama a las cortinas, generalmente de árboles. Que rodean un área de cultivo, fungiendo como rompe vientos.
- g) Reforestación: es la reposición de la vegetación arbórea que existió en un área determinada, ya sea por reposición natural o artificial.
- h) Aplicación de mejoradores del suelo: la aplicación adecuada de residuos orgánicos naturales y algunos compuestos químicos pueden ayudar a restituir parte de los nutrientes que se extraen durante los cultivos.

3.5 CONTAMINACIÓN DE SUELOS

El daño que se causa a los suelos es de la misma magnitud que el que se causa al agua y al aire, aunque en realidad algunas veces es menos evidente para nosotros; sin embargo, es importante conocer los lugares donde es más probable que se contamine el suelo. Algunos de estos sitios son los parques industriales, los basureros municipales, las zonas urbanas muy pobladas y los depósitos de químicos, combustibles y aceites, etc., sin dejar de mencionar las zonas agrícolas donde se utilizan los fertilizantes o pesticidas de manera excesiva. Ilustración 30

Dentro de los contaminantes de suelos se encuentran los residuos antropogénicos, cuyo origen puede ser doméstico, industrial, de hospitales o de laboratorios. Independientemente de su origen, los residuos pueden ser peligrosos o no peligrosos. Los peligrosos son aquellos que, por sus características corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas, inflamables o biológicas, representan un riesgo para la salud de las personas y el ambiente, mientras que los residuos no peligrosos se denominan residuos sólidos.

Los residuos sólidos pueden ser clasificados como degradables o no degradables, considerándose un residuo degradable aquel que es factible de descomponerse físicamente; por el contrario, los no degradables permanecen sin cambio durante periodos muy grandes.

Es importante mencionar que la deposición de los residuos sólidos (degradables y no degradables) implica responsabilidad y cuidado por parte de los ciudadanos de este planeta.

Algunos problemas se originan con los desmontes que se han realizado para dotar de tierras cultivables a los ejidatarios, dejando desprovista de protección una gran superficie.

El impacto ecológico que ha tenido el suelo ha sido adverso, debido a que la mayor parte fue desmontada y cambiada al uso del suelo agrícola para la siembra de los cultivos anuales; sin embargo, no se tomaron en cuenta las medidas necesarias para hacer frente a los factores climáticos como son la lluvia de poca duración y alta

intensidad, y el viento con altas velocidades en épocas prolongadas de sequía, lo que ha ocasionado un deterioro del suelo y de la producción.

Los problemas generados por la erosión eólica e hídrica rebasan los efectos in situ, extendiéndose a la agricultura productiva, las comunicaciones y las poblaciones de la región, por lo que es urgente generar alternativas del uso de la tierra para reducir la erosión y la contaminación del aire, disminuir la evaporación del agua, mejorar la productividad agrícola y difundir las estrategias tecnológicas y organizativas para lograrlo.

En algunas zonas se registran vientos con velocidades erosivas que, al encontrarse con la superficie desprovista de vegetación, después de haber cosechado y aprovechado la soca, ocasiona que se lleve a cabo el proceso de erosión eólica. Ante esta situación, hace varios años, en algunos ejidos se inició la reforestación en las vías de acceso y en los linderos de algunas parcelas, creando cortinas que atenúan el problema. Sin embargo, esto no es suficiente debido a las condiciones de la región, por lo que es urgente que se utilicen medidas de protección y restauración que permitan conservar el recurso suelo.

Ilustración 30. CONTAMINACIÓN DE SUELOS



Fuente: www.opinar.net/2005/octubre/igyo05.htm

UNIDAD 4

4.1 CONTAMINACIÓN DEL SUELO

El daño que se causa a los suelos es de la misma magnitud que el que se causa al agua y al aire, aunque en realidad algunas veces es menos evidente para nosotros; sin embargo, es importante conocer los lugares donde es más probable que se contamine el suelo. Algunos de estos sitios son los parques industriales, los basureros municipales, las zonas urbanas muy pobladas y los depósitos de químicos, combustibles y aceites, etc., sin dejar de mencionar las zonas agrícolas donde se utilizan los fertilizantes o pesticidas de manera excesiva.

Dentro de los contaminantes de suelos se encuentran los residuos antropogénicos, cuyo origen puede ser doméstico, industrial, de hospitales o de laboratorios. Independientemente de su origen, los residuos pueden ser peligrosos o no peligrosos.

Los peligrosos son aquellos que, por sus características corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas, inflamables o biológicas, representan un riesgo para la salud de las personas y el ambiente, mientras que los residuos no peligrosos se denominan residuos sólidos.

El impacto ecológico que ha tenido el suelo ha sido adverso, debido a que la mayor parte fue desmontada y cambiada al uso del suelo agrícola para la siembra de los cultivos anuales; sin embargo, no se tomaron en cuenta las medidas necesarias para hacer frente a los factores climáticos como son la lluvia de poca duración y alta intensidad, y el viento con altas velocidades en épocas prolongadas de sequía, lo que ha ocasionado un deterioro del suelo y de la producción.

Los problemas generados por la erosión eólica e hídrica rebasan los efectos in situ, extendiéndose a la agricultura productiva, las comunicaciones y las poblaciones de la región, por lo que es urgente generar alternativas del uso de la tierra para reducir la erosión y la contaminación del aire, disminuir la evaporación del agua, mejorar la productividad agrícola y difundir las estrategias tecnológicas y organizativas para lograrlo.

4.2 PROBLEMAS AMBIENTALES

4.2.1 CONSECUENCIAS DE LOS DERRAMES DE COMBUSTIBLES

Los derrames de combustibles son la principal fuente de contaminación del suelo, ya que el hidrocarburo impide el intercambio gaseoso con la atmósfera, 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 puede ser más o menos lentos por lo que esto ocasiona una mayor toxicidad, además de tener una moderada, alta o extrema salinidad, y esto hace que se dificulte su tratamiento; ya que la alta salinidad puede llegar a destruir la estructura terciaria de las proteínas, desnaturalizar enzimas y deshidratar células, lo que es letal para muchos microorganismos usados para el tratamiento de suelos contaminados.

Algunos estudios han identificado que la contaminación del suelo con hidrocarburos, dificulta la germinación y crecimiento vegetativo en diferentes especies de pastos; así mismo otros estudios evaluaron el efecto de los compuestos poli aromáticos en ecosistemas forestales y planta madereras, demostrando necrosis foliar.

4.2.2 PRINCIPALES FUENTES DE CONTAMINACIÓN EN TERMINALES DE ALMACENAMIENTO DE COMBUSTIBLES

En los Terminales de Transferencia y de almacenamiento de combustibles, existen lugares que pueden verse afectados mayormente, como son: El área de tanques de combustibles, el área de bombas, el sumidero, el separador Api, el paso de las tuberías de poliducto, almacenamiento de desechos peligrosos y de lubricantes.

Pero donde han ocurrido los derrames de combustibles son: tuberías de poliducto, separador Api y el área de tanques de combustibles-sumidero. De estos alrededores se obtuvo 5 mt³ aproximadamente de tierra contaminada con gasolina y Diesel.

4.2.3 Caracterización y monitoreo del sitio contaminado con Hidrocarburo

El monitoreo del suelo contaminado con hidrocarburo se realizó en tres etapas: inicio, tratamiento y finalización del programa de tratamiento.

En el inicio, se procedió a la excavación y recolección de todo el suelo contaminado, que en su mayoría se encontró contaminado con hidrocarburos livianos (Gasolina y Diesel).

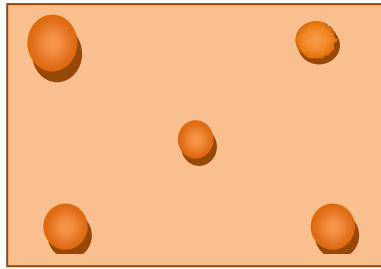
Al haber realizado la excavación y recolección de la tierra contaminada se procedió a homogeneizarla totalmente, para poder tomar una sola muestra del suelo contaminado y poder llevarla a analizar al laboratorio del CESTTA, Centro de Especialidades Tecnológicas de la Escuela Superior Politécnica del Chimborazo-ESPOCH. De tal modo que luego de transcurridos siete días laborables, me enviaron los primeros resultados analíticos del suelo contaminado.

Con estos primeros resultados se procedió a realizar los cálculos de requerimiento de nutrientes para el tratamiento inicial. En el tratamiento del suelo, se realizó la toma de muestra utilizando el método del cuarteto, por cada celda, este método comprende que se toma la muestra en las cuatro esquinas de la celda, tal como se interpreta en Ilustración 31.

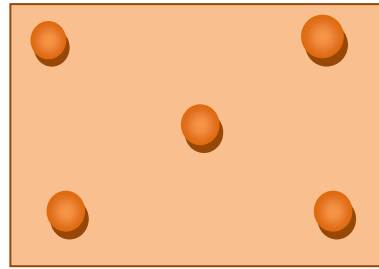
Principio general del muestreo:

La muestra representativa debe estar compuesta del mayor número posible de porciones de sustancias tomadas de la manera absolutamente arbitraria de diversos lugares de la partida estudiada.

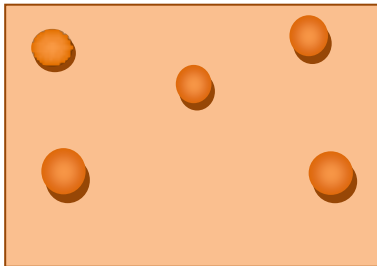
Ilustración 31 Método del Cuarteo



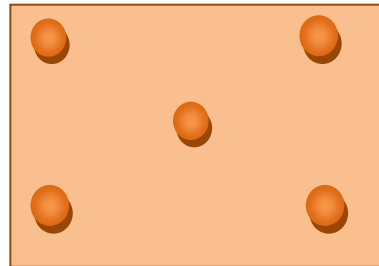
Celda 0 - Sin Bacterias



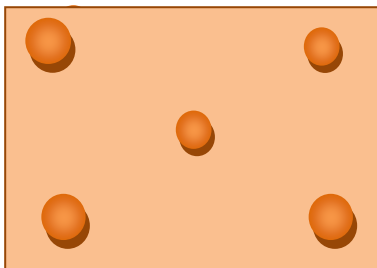
Celda 1 - Con Bacterias



Celda 2 - Con Bacterias



Celda 3 - Con Bacterias



celda 4 – Con bacterias

Fuente: ((Severiche, Castillo, and Acevedo 2013)(Espinoza 2017)

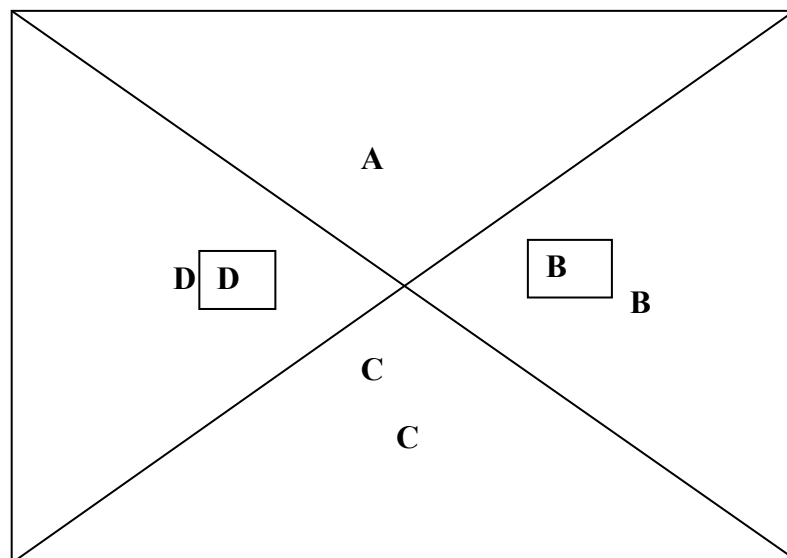
Consideraciones

- Materia prima heterogénea
- Cuanto mayor sea el número de porciones de la sustancia escogidas de diferentes partes o pedazos, mayor probabilidad de que la muestra tenga las características promedio de la sustancia a analizar.
- Muestra representativa primaria no se puede usar por ser grande y heterogénea
- Trituración para homogenizar (si hablamos de materiales de gran tamaño, se trituran hasta el tamaño de una nuez).

- Realizar trituración rápidamente (evitar oxidación o deshidratación)
- Muestreo de metales y aleaciones se toma en forma de virutas o limadura por métodos adecuados.
- Tamaño de muestra
- El número de análisis replicados
- Muestras repetidas: proporciones de aproximadamente el mismo tamaño, de un material en las que simultáneamente y bajo las mismas condiciones se lleva a cabo un procedimiento analítico. Ilustración 32

Ilustración 32 Diagrama del Método del Cuarteo

Fuente: (Severiche et al. 2013) (APHA/AWWA/WEF 2001) (Espinoza 2017)



- Extender uniformemente en cuatro triángulos (Figura 1.2),
- Eliminar los opuestos, por ejemplo, A y C ó D y B.
- Unir los dos restantes, se trituran de nuevo y se cuarteo hasta obtener una muestra menor de 25 g (repetiendo trituración y cuarteado)
- Guardar muestra en recipientes herméticamente cerrados y etiquetados.

El monitoreo del tratamiento se realizó de lunes a viernes, el mismo que fue en cada una de las cinco celdas, de igual manera se determinaron los análisis del conteo de bacterias, humedad y pH; para el análisis de TPH, fue dos veces por semana.

4.2.3.1 MARCO LEGAL

CONSTITUCIÓN DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR

En la constitución política del Ecuador aprobada el 20 de octubre del 2008, se reconocen los siguientes principios ambientales:

Capitulo II: DERECHOS DEL BUEN VIVIR

Sección segunda ambiente sano

Art. 14.- Se reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, *sumak kawsay*. Se declara de interés público la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del país, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados.

Capitulo VII: REGIMEN DEL BUEN VIVIR BIODIVERSIDAD Y RECURSOS NATURALES

Sección primera Naturaleza y ambiente

Art. 395.- La Constitución reconoce los siguientes principios ambientales:

2. El Estado garantizará un modelo sustentable de desarrollo, ambientalmente equilibrado y respetuoso de la diversidad cultural, que conserve la biodiversidad y la capacidad de regeneración natural de los ecosistemas, y asegure la satisfacción de las necesidades de las generaciones presentes y futuras.

Art. 396.- El Estado adoptará las políticas y medidas oportunas que eviten los impactos ambientales negativos, cuando exista certidumbre de daño. En caso de duda sobre el impacto ambiental de alguna acción u omisión, aunque no exista evidencia científica del daño, el Estado adoptará medidas protectoras eficaces y oportunas. Todo daño al ambiente, además de las sanciones correspondientes, implicará también la obligación de restaurar integralmente los ecosistemas e indemnizar a las personas y comunidades afectadas. Cada uno de los actores de los procesos de producción, distribución, comercialización y uso de bienes o servicios asumirá la responsabilidad

directa de prevenir cualquier impacto ambiental, de mitigar y reparar los daños que ha causado, y de mantener un sistema de control ambiental permanente.

Art. 397.- En caso de daños ambientales el Estado actuará de manera inmediata y subsidiaria para garantizar la salud y la restauración de los ecosistemas. Además de la sanción correspondiente, el Estado repetirá contra el operador de la actividad que produjera el daño las obligaciones que conlleve la reparación integral, en las condiciones y con los procedimientos que la ley establezca. Para garantizar el derecho individual y colectivo a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, el Estado se compromete a:

Establecer mecanismos efectivos de prevención y control de la contaminación ambiental, de recuperación de espacios naturales degradados y de manejo sustentable de los recursos naturales.

Sección quinta Suelo

Art. 409.- Es de interés público y prioridad nacional la conservación del suelo, en especial su capa fértil. Se establecerá un marco normativo para su protección y uso sustentable que prevenga su degradación, en particular la provocada por la contaminación, la desertificación y la erosión.

LEY DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL

Registro Oficial Suplemento 418 de 10-sep.-2004. Se pueden considerar los siguientes artículos:

De la prevención y control de la contaminación de los suelos

Art. 10.- Queda prohibido descargar, sin sujetarse a las correspondientes normas técnicas y regulaciones, cualquier tipo de contaminantes que puedan alterar la calidad del suelo y afectar a la salud humana, la flora, la fauna, los recursos naturales y otros bienes.

Art. 11.- Para los efectos de esta Ley, serán consideradas como fuentes potenciales de contaminación, las sustancias radioactivas y los desechos sólidos, líquidos o gaseosos de procedencia industrial, agropecuaria, municipal o doméstica.(Tigmasa 2020)

TULAS (TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACIÓN AMBIENTAL SECUNDARIO)

La siguiente norma establece los principios para los procesos de remediación de suelos contaminados en centrales de generación eléctrica:

LIBRO VI ANEXO 2A

Criterio para la remediación de suelos contaminados

Las instalaciones de generación eléctrica donde se evidencie y detecte contaminación causada por el inadecuado manejo, disposición, abandono, vertido, derrame, o filtración de productos químicos, hidrocarburos de petróleo, residuos de estos u otro tipo de sustancias que puedan afectar la calidad del recurso suelo y fuentes, procederán a la remediación de las áreas contaminadas (Norma de calidad Ambiental para el recurso suelo y criterios de remediación).

Los causantes por acción u omisión de contaminación del recurso suelo a causa de derrames, vertidos, fugas, almacenamiento o abandono de productos o desechos peligrosos infecciosos o hidrocarbúferos, deberán llevar registros, donde indiquen las acciones de monitoreo, mitigación y remediación llevadas a cabo.

De Los Límites de calidad y monitoreo de suelos contaminados.

La frecuencia del muestreo de análisis y parámetros de monitoreo de suelos contaminados en instalaciones de generación termoeléctrica será establecida en el plan de manejo con que cuente la instalación. Se consideran además las disposiciones establecidas en el Art 72 del RLGAPCCA “En la toma de muestras además de las disposiciones establecidas en el plan de manejo ambiental del regulado, se consideran las disposiciones sobre tipo y frecuencia de muestreo, procedimientos o métodos de muestreo, tipos de envases y procedimientos de preservación para la muestra de acuerdo a los parámetros a analizar ex situ”.

Los valores máximos permisibles para suelos contaminados por hidrocarburos en centrales de generación eléctrica serán los establecidos en la tabla 8. Los valores a alcanzar durante la remediación dependerán del uso del suelo que se tuviere el sitio afectado por la contaminación. La autoridad ambiental de control podrá requerir el análisis de otros parámetros. (MAE 2015)

4.2.4 LÍMITES PERMISIBLES PARA LA REMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS.

Tabla 6 **REGLAMENTO AMBIENTAL PARA LAS OPERACIONES HIDROCARBURÍFERAS EN EL ECUADOR**

Ensayo	Unidad	Uso agrícola	Uso industrial	Ecosistemas sensibles
Hidrocarburos Totales (TPH)	mg/kg	<2500	<4000	<1000
Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos	mg/kg	<2	<5	<1
Cadmio	mg/kg	<2	<10	<1
Níquel	mg/kg	<50	<100	<40
Plomo	mg/kg	<100	<500	<80

Fuente: (Noboa 2001)(RAOHE 2001)

De acuerdo con el Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas, el valor de los hidrocarburos totales se presenta en unidades mg/kg el mismo que indica las cantidades de mg de hidrocarburos que se encuentran por cada kilo de suelo, es así; que para el uso agrícola la norma indica que el límite es 2500, para el uso industrial su límite máximo permisible es 4000 y para ecosistemas sensibles como es el caso de este estudio, el límite máximo permisible es 1000.

En lo que se refiere a Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos el RAOHE, indica que para uso agrícola el límite máximo permisible es 2 mg/kg; para uso industrial el límite máximo permisible es 5 mg/kg y para ecosistemas sensibles el límite máximo permisible es 1 mg/kg. Los valores para Cadmio, Níquel y Plomo, el RAOHE, indica que el límite máximo permisible para el suelo en uso agrícola debe ser 2, 50 y 100 mg/kg; para el uso industrial el límite máximo permisible es 10, 100, 500 mg/kg; y para ecosistemas sensibles el LMP es 1, 40 y 80 mg/kg; en el caso de la tesis en estudio los valores de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos, desde el inicio el valor de los análisis se encuentra dentro del límite máximo permisible.(RAOHE 2001)

UNIDAD 5

REMEDIACIÓN DE SUELOS

5.1 Generalidades sobre remediación

En los países productores de petróleo, la contaminación de suelos por hidrocarburos es el mayor problema que poseen. La superficie del suelo es espacialmente variable y está demostrado que las propiedades químicas, juegan un papel importante en la adsorción del contaminante, tales como pH, textura y materia orgánica, muestran una distribución altamente variable.

La actividad de los microorganismos presentes en el suelo se puede favorecer mejorando determinadas condiciones edáficas, añadiendo nutrientes, agua, oxígeno y modificando el pH. Otra forma es la introducción de nuevas especies para aumentar la concentración de microbiota presente. La medición del CO₂ producido por unidad de tiempo en un área determinada es una medida indirecta del proceso biodegradable ya que tiene como objetivo evaluar la actividad respiratoria de los microorganismos del suelo durante el proceso de degradación de los compuestos orgánicos.

Los componentes del petróleo son generalmente agrupados en cuatro clases de acuerdo a su solubilidad en solventes orgánicos: saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos. No todos los componentes del crudo son rápidamente degradables, las parafinas de cadenas cortas son los sustratos fácilmente degradables por los microorganismos seguidos en orden descendiente por las parafinas de cadena larga, isoparafinas, cicloparafinas, aromáticos, heterocíclicos, resinas y asfaltenos. Los compuestos polares y los asfaltenos son generalmente considerados resistentes a la biodegradación.

El material remanente se denomina “hidrocarburos totales de petróleo” (TPH, total petroleum hydrocarbon) y es considerado biodegradable. La fracción polar y los hidrocarburos totales de petróleo, juntamente, se nombran petróleo total, el cual puede ser estimado gravimétricamente por evaporación de los solventes usados para la extracción (Ortiz 2021).

5.2 CLASIFICACIÓN TECNOLOGÍAS DE REMEDIACIÓN

Se puede realizar una clasificación de las diferentes tecnologías según el proceso utilizado en cada una de ellas y que dependerá sobre todo del tipo de contaminante presente. Una clasificación sería la siguiente:

5.2.1 Tecnologías térmicas

Un ejemplo es la Incineración que consiste en quemar los contaminantes y la materia orgánica natural del suelo contaminado. Con esta tecnología el suelo queda biológicamente inerte y alterado de forma irreversible.

5.2.2 Tecnologías físico-químicas:

Extracción con disolventes, consiste en añadir al suelo agua para obtener un fango que se mezcla con disolvente a bajas temperaturas. El disolvente extrae los contaminantes orgánicos adsorbidos en las partículas de suelo.

Son técnicas que se realizan con el suelo excavado pero que son muy caras y solo se utilizan cuando los contaminantes son muy tóxicos y es necesario eliminarlos del suelo. Se utilizan para suelos contaminados con aceites y PCBs.

Lavado con agua como el lavado in situ, consiste en inyectar, mediante un sistema de rociadores o pozos de inyección, agua limpia por encima de la zona contaminada. De esta forma el agua se infiltra a través del suelo contaminado y lo va lavando. Para que pueda realizarse es necesario que el suelo sea permeable y tener la garantía de que no se produce migración de contaminantes a aguas subterráneas.

El Método de Extracción de dos Fases es una innovación tecnológica que permite la remediación integral de predios contaminados, tratando simultáneamente los suelos y el agua subterránea, con menores costos y un equipamiento más flexible que los tratamientos convencionales. La Extracción de dos Fases utiliza un alto caudal de vacío para remover simultáneamente los agentes contaminantes presentes en el subsuelo y en la capa freática.

El nombre surge de las dos fases de agentes contaminantes que el sistema extrae: la fase líquida (encontrada por encima y/o disuelta en el agua subterránea) y la fase gaseosa (vapores ocluidos en suelo). Partiendo de concentraciones de hidrocarburos en el agua extraída de hasta un 10%, logra un efluente final con un contenido inferior a 30 mg/litro, apto para vertido a conductos cloacales. Remueve eficientemente VOC's, BTEX, 1,1,1-tricloroetano, tetracloroetileno, tricloroetileno y los productos derivados de éstos, tanto en agua como en suelo. (Villagomez and Vasconez 2021)

Solidificación/Estabilización, consiste en reducir la movilidad de los contaminantes mediante su incorporación a materiales sólidos con baja permeabilidad. El mecanismo de fijación puede ser físico o químico, y los materiales variados como cemento, silicatos, termoplásticos y polímeros orgánicos

Utilización de residuos industriales ricos en yeso para la retención in situ de metales pesados. La utilización de residuos industriales ricos en yeso, tales como el fosfoyeso y el yeso rojo, para aumentar la retención de metales pesados en suelos, sedimentos y otros materiales contaminados, con el fin de reducir la movilidad de los metales, impidiendo su incorporación a la cadena trófica y la contaminación de las reservas hídricas. Asimismo, se brinda la opción de reutilizar los subproductos yesíferos generados a partir de distintos procesos de producción industrial y cuyo almacenamiento supone un problema medioambiental para las empresas. Estos productos yesíferos pueden ser empleados para controlar la contaminación ambiental, prevenir los procesos de contaminación en zonas de riesgo, tratar suelos y sedimentos contaminados, así como para el tratamiento de otros subproductos como son los lodos de depuradora y los purines.

Vitrificación, está basada en un calentamiento eléctrico con el que los residuos se funden en una matriz vítrea, muy resistente, que impide la fuga de los lixiviados

Arrastre in situ con aire, se fuerza un flujo de aire a través del suelo mediante vacío o presión. Los componentes volátiles son arrastrados por la corriente de aire. Continuamente se extrae el aire contaminado de los poros del suelo y se introduce aire limpio. Se utiliza para compuestos orgánicos volátiles (COVs).

Arrastre con vapor, se inyecta vapor y aire caliente a profundidades de hasta 10 metros. Esta mezcla calienta el suelo y causa la evaporación de los componentes químicos.

Electromigración, consiste en aplicar un campo eléctrico al suelo lo que provoca la migración de los contaminantes iónicos hacia los electrodos. Los electrodos están llenos de disoluciones químicas y conectadas a dos sistemas separados de circulación. En esas disoluciones se separan los contaminantes.

Biopilas, Las biopilas consisten en pilas o acopios regulares de suelo situados sobre una cama de grava de 10 a 15 cm de espesor, y que contienen en su interior tuberías de aireación de PVC que son colocadas durante la construcción.

Estas cañerías están interconectadas a un soplador de presión negativa, que fuerza el pasaje del oxígeno atmosférico a través de la pila de suelo. De esta manera se tiene un alto control sobre las condiciones de remediación y el medio. Las biopilas se utilizan cuando la sustancia contaminante es demasiado volátil como para ser tratada con la metodología de Landfarming (ya que las emisiones gaseosas serían elevadas), o cuando se quiere acelerar el proceso de remediación). (Álvarez 2019) (Joaquín et al. 2006)

2.2.3 Tratamiento biológico

La Bioremediación es considerada como la vía más efectiva para la remediación de suelos contaminados, en contraste a alternativas más costosas como la incineración. Los tratamientos biológicos de degradación en suelos pueden ser eficientes y económicos si las condiciones de biodegradación son optimizadas. (Merino 2002)

Se define como *Bioremediación al* proceso de aceleración de la tasa de degradación natural de hidrocarburos por adición de fertilizantes para provisión de nitrógeno y fósforo. El proceso de degradación requiere control de variables operacionales tales como nutrientes, humedad y oxígeno.(Helena et al. 2014)

Esta técnica puede ser aplicada in-situ, en el lugar donde se encuentra el suelo contaminado, o ex-situ, cuando el suelo se traslada a una instalación para su tratamiento. El tratamiento ex-situ de suelos, sedimentos y otros sólidos contaminados con hidrocarburos se puede realizar en un variado número de procesos en fase sólida y en fase lodo. Los procesos en fase sólida son aquellos en donde el suelo se trata con un contenido de agua mínima. En los casos de los procesos en fase lodo se suspende el suelo en agua, Con o sin incorporación de microorganismos. (Castillo Rodríguez Inés 2019)

Existen dos métodos de bioremediación: aumentada y no aumentada.

2.2.3.1 En la bioremediación aumentada el proceso de tratamiento consiste en estar continuamente añadiendo microorganismos que eliminen los residuos contaminantes.

2.2.3.2 En la no aumentada se utilizan sustancias químicas para activar a los microorganismos locales que ya estén presentes en el suelo y que la biorremediación como solución a problemas de contaminación. Se presenta como una alternativa altamente recomendable debido a su bajo impacto al ambiente, producción mínima de residuos y por lo general son residuos menos problemáticos que los tratados, por utilizar a la célula como máquina de transformación y operación.(Perez et al. 2015)(Castillo 2009)

Estos procesos se basan en la capacidad de determinados microorganismos para eliminar del medio o degradar enzimáticamente gran número de compuestos tóxicos y peligrosos.

Estas tecnologías consisten en el uso de microorganismos naturales (levaduras, hongos o bacterias) para descomponer o degradar sustancias peligrosas en sustancias menos tóxicas o que no sean tóxicas. Los microorganismos, igual que los seres humanos, comen y digieren sustancias orgánicas, de las cuales obtienen nutrientes y energía. Ciertos microorganismos pueden digerir sustancias orgánicas peligrosas para los seres humanos, como combustibles o solventes. Los microorganismos descomponen los contaminantes orgánicos en productos inocuos,

principalmente dióxido de carbono y agua. Una vez degradados los contaminantes, la población de microorganismos se reduce porque ha agotado su fuente de alimentos.

Las poblaciones pequeñas de microorganismos sin alimentos o los microorganismos muertos no presentan riesgos de contaminación.(Álvarez 2019)

Algunos microorganismos pueden utilizar hidrocarburos para su crecimiento como única fuente de carbono, entre ellos se incluyen bacterias, actinomicetos, levaduras y mohos. Los gérmenes producen una serie de catalizadores biológicos denominados enzimas, que se liberan al exterior de la célula y atacan las moléculas de hidrocarburo transformándolas en formas más fácilmente asimilables.

Solo unas pocas especies son capaces de degradar hidrocarburos gaseosos, mientras que los hidrocarburos parafínicos líquidos son atacados por un mayor número de especies.

La degradación de hidrocarburos alifáticos saturados es un proceso básicamente aeróbico, el oxígeno es necesario para iniciar el ataque microbiano a la molécula, mientras que la degradación de hidrocarburos alifáticos insaturados puede efectuarse en forma aeróbica y anaeróbica, al igual que los aromáticos.(Trujillo and Ramírez 2012)

Las técnicas de biorremediación generalmente son aplicadas en suelos con concentraciones de hidrocarburos totales del orden del 5 a 8 %, extendiéndose estos valores a rangos mayores para suelos fácilmente aireables; debe destacarse que la determinación cuantitativa de hidrocarburos en suelo es compleja ya que la mayor parte de las técnicas se basan en la extracción de las diversas fracciones por solventes, según sea el método utilizado para determinación de hidrocarburos se obtendrán valores diferentes, que para determinados tipos de suelos e hidrocarburos pueden ser muy marcados. De esto surge la importancia de especificar el método analítico a utilizar¹⁷. (Ongom, Andama, and Lukubye 2017)(Perez et al. 2015)

Las efectividades de esta metodología dependen de innumerables factores, entre ellos se encuentran: tipo y concentración de contaminante, concentración de

microorganismos, concentración de nutrientes, aireación, condiciones macroambientales, presencia de inhibidores, biodisponibilidad del contaminante, características agronómicas, topográficas y microbianas del suelo receptor, etc. (Lladó Fernández 2012)

En la actualidad con estos tratamientos solo se han conseguido buenos resultados en campos reducidos, pero los estudios van encaminados a crear en el laboratorio bacterias, levaduras y enzimas específicos para conseguir la degradación de los residuos mediante otras técnicas como la rotura de enlaces, absorción de metales pesados. La bioremediación de suelos no es un proceso instantáneo, es decir, el suelo no queda descontaminado nada más aplicarle los microorganismos precisos. Los resultados de su aplicación varían dependiendo del nivel de contaminación, del tipo y duración de los contaminantes implicados y de las propias condiciones ambientales del terreno, como son la temperatura, el clima y la presencia de sustancias químicas, tanto sólidas como líquidas. (Peña, Zambrano, et al. 2019)

Estas tecnologías están condicionadas por factores como los siguientes:

- biodegradabilidad de los contaminantes presentes
- presencia de componentes inhibidores de esta degradación
- temperatura del suelo
- cantidad de oxígeno en el suelo
- pH del suelo
- concentración de nutrientes en el suelo
- solubilidad de los contaminantes presentes

Una expectativa realista, por ejemplo, para conseguir una reducción razonable en los niveles de contaminación producida por hidrocarburos, sería de un período comprendido entre 90 y 150 días, aunque dependiendo de los factores anteriormente citados ese período podría alargarse hasta los 18 meses.

Se utiliza para suelos contaminados con plaguicidas, gasóleo, gasolina, aceites y ciertos compuestos orgánicos halogenados.

Se puede resumir que, en el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos, la biorremediación es un de las mejores alternativas por sus diversas ventajas como son:

- Posibilidad de aplicarse in situ o ex – situ.
- Bajo costo de operación.
- Como subproducto se obtiene un suelo útil para la agricultura debido a la adición de nutrientes.
- No requiere de equipamiento especializado para su aplicación.

Sus desventajas fundamentales son:

- Tiempo de proceso largo.
- Aplicación efectiva a suelos con concentraciones de hidrocarburos < 30 %.
- Contaminantes no tóxicos para los microorganismos.

2.3 TÉCNICAS Y MÉTODOS DE BIOREMEDIACIÓN

Las tecnologías conocidas como Landfarming, Land Treatment o Land Application, son métodos de remediación de hidrocarburos de petróleo a través de la biodegradación. Una de las técnicas de Biorremediación más difundidas es el Landfarming que consiste en un vertido controlado de hidrocarburos sobre una superficie de terreno, el cual se somete a un proceso de remoción mediante arado y riego superficial con agregado de fertilizantes, eliminarán los residuos no deseados, es decir, los contaminantes.

Este método está en fase experimental y aún no se conocen bien sus resultados. Entre los problemas que presenta este nuevo método se pueden citar: que los microorganismos necesarios no se encuentren en el suelo afectado y que las sustancias químicas aplicadas sean dañinas tanto para ese suelo como para las personas que lo manipulan. La aplicación de sustancias químicas para la limpieza de suelos contaminados se utilizó en el desastre ecológico producido por el vertido de

petróleo del buque petrolero Exxon Valdez en las costas de Alaska, desafortunadamente algunos trabajadores de las tareas de limpieza sufrieron quemaduras en sus brazos y caras debido a esas sustancias químicas.

Uno de los más importantes aspectos de esta técnica es su bajo costo. La biorremediación tiene un costo estimado entre el 30 y 50% más bajo que otras técnicas convencionales de limpieza. Hay también otro importante factor ambientalmente hablando: la biorremediación ofrece una mejor solución en la limpieza efectiva y completa de residuos contaminantes que el simple transporte a otro lugar de las tierras afectadas o la liberación de las sustancias tóxicas a la atmósfera.(Peña et al. 2020)

Con los actuales avances en ingeniería genética pronto se podrán crear "súper microorganismos" que aumenten la velocidad de limpieza y sirvan de estándar a esta biotecnología.

Los diferentes métodos utilizados son:

2.3.1 Lavado del suelo consiste en el uso de líquidos, generalmente agua combinada con aditivos químicos, y un procedimiento mecánico para depurar el suelo. Con este procedimiento se retiran contaminantes peligrosos y se los concentra, reduciendo su volumen. Con este proceso se obtienen buenos resultados cuando el suelo no contiene mucho limo o arcilla, en algunos casos resulta necesario combinar el lavado del suelo con otras técnicas de tratamiento. Se utiliza principalmente para tratar una amplia gama de contaminantes como metales, gasolina, fuel oil y plaguicidas. El uso de esta técnica presenta varias ventajas:

- Crea un sistema cerrado que no es afectado por las condiciones externas, permitiendo el control de las condiciones, como pH y la temperatura, en las cuales se tratan las partículas del suelo.
- Permite excavar los desechos peligrosos y tratarlos in situ.
- Ofrece la posibilidad de retirar una gran variedad de contaminantes del suelo.
- Es eficaz en función del costo porque puede usarse como tratamiento preliminar.

TERRALAVAR, de la firma alemana UMWELTSCHUTZ NORD, es un procedimiento de lavado de suelos para el tratamiento físico - químico de suelos contaminados. Esta tecnología tiene como ventaja su reducido tiempo de tratamiento y en comparación con los procedimientos térmico sus costos son inferiores.

2.3.2 Enjuague del suelo in situ es una técnica de tratamiento innovadora que consiste en inundar suelos contaminados con una solución que lleva los contaminantes hasta un lugar donde pueden extraerse. El tipo de solución que se necesita para el tratamiento depende de los contaminantes que se hallen en el suelo en un lugar determinado. La solución de enjuague generalmente es uno de los siguientes líquidos: agua solamente, agua con aditivos tales como ácidos, ácido nítrico o ácido clorhídrico para pH bajo, bases, hidróxido de sodio para pH alto, o agentes tensoactivos.

El agua se usa para tratar contaminantes que se disuelven fácilmente en el agua; las soluciones acídicas se usan para extraer metales y contaminantes orgánicos, como los que se encuentran generalmente en el reciclaje de baterías o en procesos de cromado industrial. Por ejemplo, la contaminación con zinc, una de las posibles consecuencias de las operaciones de cromado, se trataría con una solución acídica. Las soluciones básicas se usan para tratar fenoles y algunos metales mientras que las soluciones tensoactivas son eficaces para retirar contaminantes oleosos. También se está investigando el uso de agua con solventes orgánicos como solución de enjuague. Los solventes orgánicos, como el etanol, se usan para disolver ciertos contaminantes que el agua sola no puede disolver. (Peña, Zambrano, et al. 2019)

Con el enjuague del suelo in situ se obtienen resultados óptimos en lugares donde hay espacios en el suelo que permiten el paso de la solución de lavado. Si el suelo tiene un alto porcentaje de limo o arcilla, por ejemplo, la solución de enjuague no puede desplazarse fácilmente en su interior, de modo que no puede entrar en contacto fácilmente con los contaminantes. Eso limita la eficacia general del proceso de enjuague del suelo. Además, algunos líquidos de enjuague contienen aditivos que podrían contaminar el agua subterránea si no se retiran por completo.

La remoción de contaminantes hidrocarbonados del suelo con surfactantes utilizando la movilidad del hidrocarburo atrapado capilarmente, mediante la disminución de la tensión interfacial agua/hidrocarburo, es un método que se puede combinar con la inyección de microorganismos y nutrientes para acelerar la biodegradación del contaminante.

Un sistema de lavado transportable para tratar suelos contaminados que utiliza surfactantes consiste de un tanque spray, un tanque de lavado, un tanque de surfactante, un tanque de agua de enjuague, un separador agua/ hidrocarburo y un sistema de tratamiento de soluciones con un filtro de tierra diatomácea, una columna de carbón activado y una de intercambio iónico. La solución surfactante y el agua de enjuague usadas se neutralizan a pH con H₂SO₄ concentrado y se pasan por las columnas de carbón e intercambio iónicos.

La tecnología de lavado de suelos Biogénesis ha sido desarrollada para remover compuestos orgánicos de suelos finos y gruesos. Transfiere los compuestos orgánicos de la matriz suelo a una fase líquida. Incluye mezclado de alta energía de suelos contaminados excavados en una unidad móvil de lavado. Una mezcla de surfactantes es degradada rápidamente por microorganismos del suelo.

El método para emulsificar un producto de petróleo derramado en una porción de suelo superficial desarrollado por Riley (WO 01/47817, 2001), está basado en el uso de un surfactante primario no iónico, que contiene oleato de sorbitol etoxilado y un surfactante secundario no iónico que es capaz de estabilizar y solubilizar el surfactante primario, de forma tal que la composición emulsificante resultante tiene un balance hidrofílico/ lipofílico entre aproximadamente 12.0 y 13.5. (Peña 2018)

2.3.3 Extracción con Solventes 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.

En un tanque se pone en contacto la tierra contaminada con el solvente, separándose en tres componentes o fracciones: solvente con contaminantes disueltos, sólido y agua, en las cuales se concentran los distintos contaminantes. Cada una de estas

fracciones puede ser tratada o eliminada individualmente en una forma más eficaz en función del costo.

Es eficaz para tratar sedimentos, fangos residuales y tierra que contienen principalmente contaminantes orgánicos, como bifenilos, policlorados, compuestos orgánicos volátiles, solventes halogenados y desechos de petróleo. No es aplicable para extraer contaminantes inorgánicos debido a que estos materiales no se disuelven fácilmente en la mayoría de los solventes.

En este proceso pueden ser utilizados los siguientes solventes: dióxido de carbono líquido, butano, propano, metanol, acetona, etc. Dentro de las limitaciones de esta técnica se encuentra que la presencia de plomo y de otros contaminantes inorgánicos podría interferir en la extracción de materiales inorgánicos. En algunos casos es necesaria la aplicación de un tratamiento preliminar extenso de los desechos para sacar o desmenuzar los terrones grandes y mediante este proceso no se reduce la toxicidad de los contaminantes por lo que el producto final del proceso debe ser sometido a un tratamiento ulterior o eliminado.

La extracción con solvente en una unidad móvil es un medio de remediación de suelos en el sitio. Se realiza con una mezcla de solventes en lazo cerrado, el proceso a contracorriente recircula los solventes. Usa hasta 14 solventes combinados que pueden disolver los contaminantes específicos en el suelo y mezclarse con agua. Los solventes se calientan para extraer los contaminantes del suelo.

El Proceso BEST de extracción con solvente²⁴ es similar y utiliza una o más aminas secundarias o terciarias (generalmente trietilamina) para separar orgánicos del suelo y lodos. Se basa en que la TEA es completamente soluble en agua por debajo de 20 °C.

Un proceso a escala piloto que remedia contaminación orgánica en suelos combina la extracción con fluido (remueve orgánicos de sólidos contaminados), separación que transfiere los contaminantes del extracto a un solvente biológicamente compatible, y tratamiento biológico que degrada los contaminantes a productos finales inocuos. Fue efectivo para extraer HAP a baja temperatura y presión moderada. Concentraciones de 1925 mg/kg. La biodegradación se realizó en biorreactores aeróbicos.(Trujillo and Ramírez 2012)(Merino 2002)

2.3.4 Desorción Térmica es otro proceso térmico en el que se somete al suelo a unas 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 carbono activado. Estos métodos presentan el inconveniente de que el suelo queda completamente transformado, sin materia orgánica, sin microorganismos, sin disoluciones.(Álvarez 2019)

La AAE, siglas en alemán, ha desarrollado un proceso térmico móvil THERMOSOIL para la limpieza de los suelos contaminados con hidrocarburos, grasas y aceites lubricantes. El procedimiento está diseñado para limpiar suelos en los que la granulometría o la falta de biodisponibilidad adjunto con aspectos económicos y de tiempo ponen límites a los procedimientos convencionales.

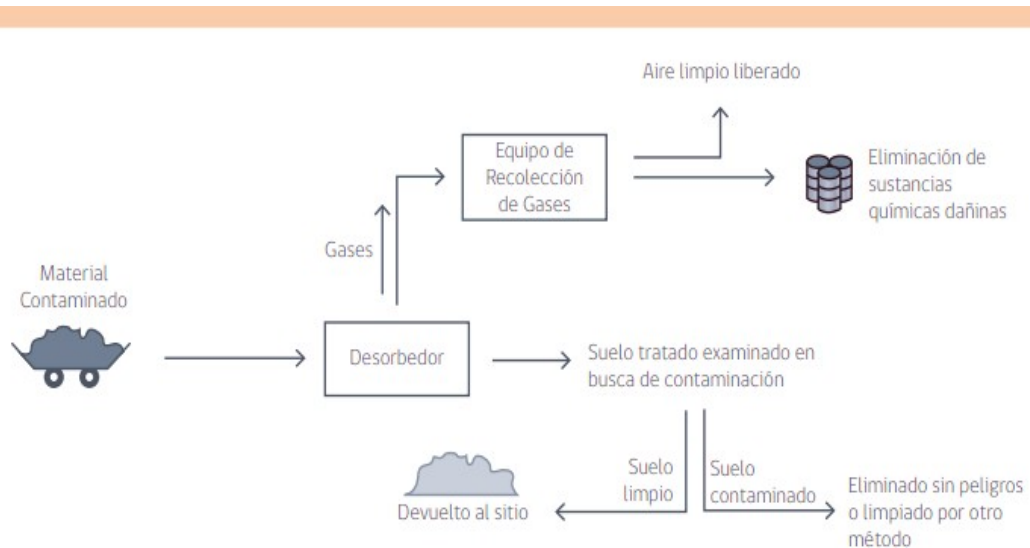
El suelo es acondicionado previamente y transportado a un horno rotativo tubular donde es calentado hasta 350°C, debido a las altas temperaturas, se produce la desorción de los productos contaminantes que pasan a la fase gasificada. El suelo limpiado es refrigerado y evacuado y reutilizado en múltiples aplicaciones tales como preparación de paisajes, cubrir depósitos, etc.; esto es posible ya que el suelo mantiene su estructura intacta debido a que la desorción de los contaminantes se realiza a bajas temperaturas. Su desventaja es su alto costo de operación (AAE, 2000).

El proceso de desorción térmica anaeróbica Soil Tech (de Percin, 1992) calienta y mezcla los suelos contaminados, lodos y líquidos en un horno rotatorio especial que desorbe, recoge y recondensa hidrocarburos en sólidos. Se puede usar en conjunto con un proceso de dehalogenación para destruir halogenados por procesos químicos y térmicos.

Un proceso térmico de baja temperatura ha sido aplicado (de Percin, 1993) en 6 sitios para remover suelos contaminados. Remueve órganodorados, órganofosforados,

COV e hidrocarburos totales de suelos, sedimentos y lodos. El proceso desorbe térmicamente los contaminantes orgánicos por calentamiento hasta 425 °C en un secador.

Ilustración 33. Desorción térmica



2.3.5 Medidas Fitocorrectivas consisten en el uso de plantas y árboles para limpiar agua y suelo contaminados (Rock y Jackson, 1997). Cultivar plantas en un lugar contaminado, y en algunos casos cosecharlas, como método correctivo es una técnica pasiva estéticamente agradable que aprovecha la energía solar y se puede usar junto con métodos de limpieza mecánicos y/o en algunos casos en lugar de los métodos mecánicos. Estas pueden usarse para limpiar metales, plaguicidas, solventes, explosivos, petróleo crudo, hidrocarburos poliaromáticos y lixiviados de vertederos. La fitocorrección se combina con otros métodos de limpieza en la etapa de "acabado." Aunque las medidas fitocorrectivas son mucho más lentas que los métodos mecánicos y llegan solamente a la profundidad hasta la cual llegan las raíces, pueden eliminar los últimos restos de contaminantes atrapados en el suelo que a veces quedan con las técnicas mecánicas de tratamiento.

Generalmente, las medidas fitocorrectivas se usan en lugares con baja concentración de contaminantes y en suelos, cursos de agua y agua subterránea poco profundos (EPA, 1996).

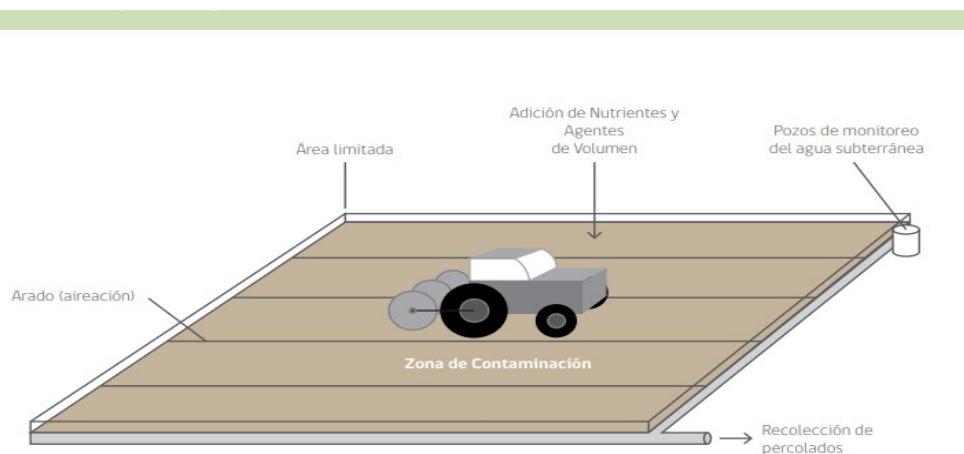
Cuando los hidrocarburos de origen petrolífero entran en el ambiente, una variedad de microorganismos participa en su biodegradación. En los suelos, las bacterias son las degradadoras predominantes seguidas por los hongos. En la descomposición de hidrocarburos en agua dulce, participan tanto bacterias como hongos, levaduras y mohos. Existen más de 25 géneros de bacterias y hongos que degradan hidrocarburos (Leahy and Colwell 1990) (United in Science 2019) (UNEP, 1992).

La degradación microbiana del petróleo en los trópicos ocurre más rápido que en ambientes árticos y atemperados, aunque se conoce poco de la descomposición en zona anaeróbica o cuando hay limitación severa de nutrientes.

2.3.6 “LANDFARMING” ó Biorremediación Ex-Situ " o laboreo, los suelos contaminados son **excavados** y tratados en espacios abiertos. Las capas del suelo son **aireadas** mediante volteo y los **lixiviados son filtrados** y recogidos. Es un sistema que permite tener el control en el proceso de la degradación biológica, mediante la construcción de una celda en la cual se coloca el material contaminado y en seguida se aplica un riego y productos especialmente desarrollados para acelerar el ciclo de vida de los microorganismos y por consecuencia la degradación del (los) contaminante(s) en un periodo de tiempo relativamente menor. “Landfarming” se lleva a cabo sobre una celda la cual se construye sobre la superficie de un terreno previamente acondicionado, donde se colocan liners de polietileno de alta densidad (HDPE) y un sistema de recolección de lixiviados.

Ilustración 34 Algunas veces se opta por colocar una cama de arena, para proteger el liner contra rasgaduras y evitar así la migración del contaminante.

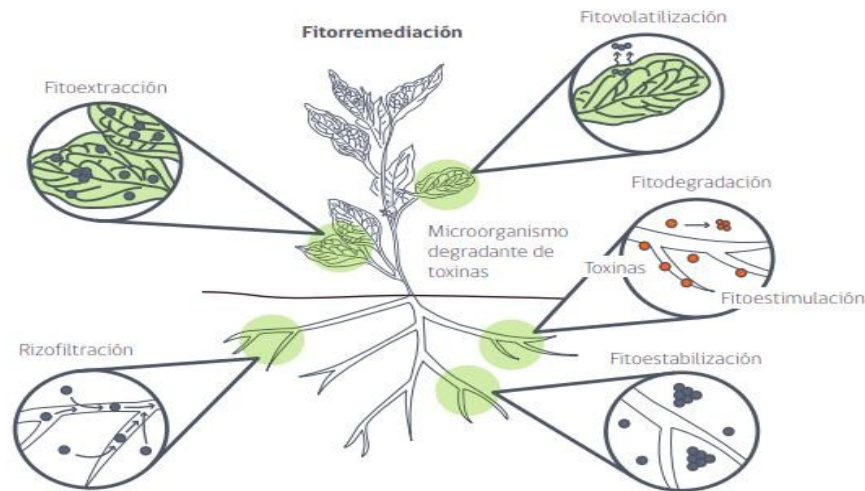
Ilustración 34. Landfarming



2.3.7 Fitoremediación se basa en el empleo de plantas para extraer la contaminación del ambiente. Algunas plantas tienen la capacidad de concentrar metales en sus tejidos y en algunos casos son capaces de capturar y degradar plaguicidas, explosivos o hidrocarburos del suelo y las aguas subterráneas sea por sí mismas o por la *acción de las bacterias* que viven en sus raíces. Además, las plantas contribuyen a reducir la acción del viento y la lluvia sobre las zonas contaminadas por lo que evitan que la contaminación se extienda a otras zonas.

La fitoremediación es eficaz en aquellos lugares en los que la concentración de contaminantes es reducida y requiere que éstos se encuentren en la rizosfera, profundidad a la que pueden llegar los sistemas radiculares de los vegetales. Ilustración 35 Gracias al sistema de captación de nutrientes de las plantas, éstas pueden extraer del subsuelo los contaminantes que son introducidos en sus tejidos junto al agua y las sales necesarias para el desarrollo de los vegetales.

Ilustración 35. Fitorremediación



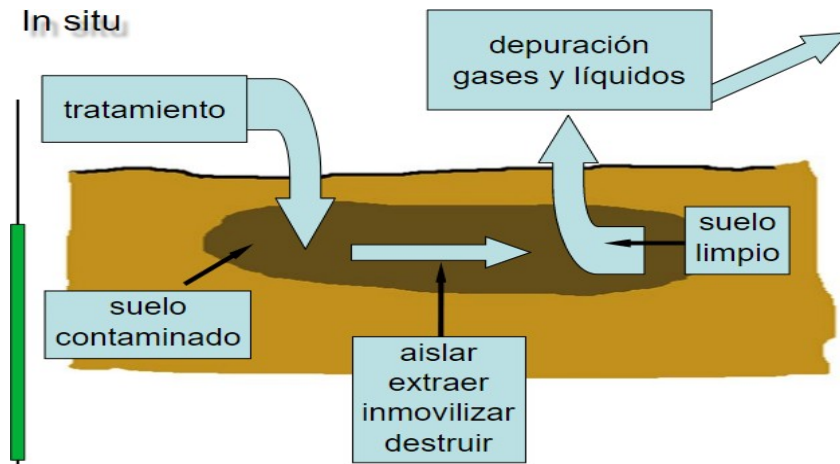
Tipos de biorremediación

La biorremediación es también conocida como biocorrección. Dependiendo de sus características y necesidades la biorremediación se divide en distintas categorías. Por el lugar de realización del proceso se clasifica en: biorremediación in situ y biorremediación ex situ.

Biorremediación in situ

Esta técnica es generalmente más utilizada para la recuperación de suelos, ya que además de no ser necesaria la excavación del suelo contaminado, utiliza para su desarrollo microorganismos autóctonos, ya que son los que estimulan el desarrollo de un ambiente propicio para el crecimiento microbiano. La técnica de biorremediación in situ es de gran utilidad en lugar donde la contaminación del suelo sea a grandes profundidades, incluye adecuaciones del sitio a tratar, especialmente en suelos arcillosos o en lugares donde el contaminante sea muy viscoso.

Ilustración 36. Proceso de biorremediación in situ



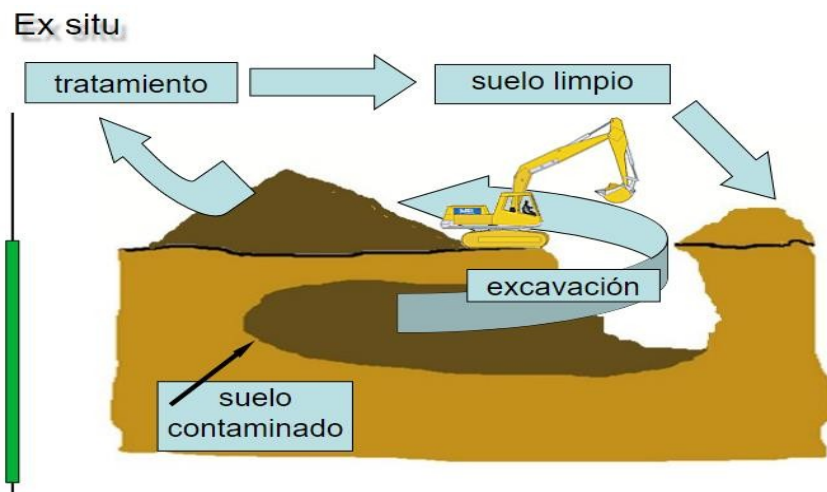
Los métodos más utilizados dentro de la biorremediación in situ son:

- Bioaireación: Este método es usado normalmente en la remediación de suelos orgánicos volátiles y no volátiles, ya que, mediante condiciones anaerobias, aplicando gases como metano y oxígeno logra estimular la biodegradación natural de cualquier compuesto que se pueda encontrar en suelos contaminados. Para llevar a cabo este tratamiento no se requiere de un alto costo económico, ya que no son necesarias las maquinarias pesadas ni grandes excavaciones.
- Bioestimulación: Este método puede ser aeróbico o anaeróbico, y se realiza para estimular los microorganismos del suelo mediante la aplicación de agua, oxígeno y nutrientes, para de esta manera activar y acelerar la actividad de degradación de los contaminantes. Dentro de los principales nutrientes aplicados en la bioestimulación, están el fósforo que ayuda en la formación de compuestos energéticos; los mismos que son utilizados para el proceso de degradación; y el nitrógeno que ayuda a la producción de aminoácidos y enzimas.
- Bioaugmentación: Este método es caracterizado por la adición de microorganismos modificados, los que logran la descomposición de las sustancias contaminantes que se encuentren en el suelo. Como ventaja esta técnica no requiere de maquinarias pesadas; y como desventaja puede tener sus limitaciones causadas por el clima o el sitio donde sea tratado.

- Atenuación natural: Este método consiste en el uso de los procesos fisicoquímicos del suelo con relación al contaminante y los procesos de biodegradación, que tienen lugar de manera natural en el medio; es conocido también como procesos de biotransformación natural. Este proceso reduce la concentración de los contaminantes y puede darse en presencia o ausencia de oxígeno, es decir mediante condiciones anaeróbicas o aeróbicas. (Martínez Sepúlveda et al. 2019)

Biorremediación ex situ

Ilustración 37 *Proceso de biorremediación ex situ*



Fuente. (Buendía R. 2012)

Para realizar este tipo de tecnología es necesario realizar una excavación o dragado, ya que se requiere de la remoción del suelo contaminado para llevar a cabo el tratamiento. Este tratamiento requiere de un costo más elevado a diferencia de la biorremediación in situ, ya que se requiere de movilizar el material contaminado a un lugar especializado para realizar el respectivo tratamiento.

Dentro de esta tecnología se encuentran los siguientes métodos:

- Biolabranza o Landfarming: Son métodos de biorecuperación vía sólida, se realiza llevando el suelo contaminado a unas celdas de tratamiento, estimulando así su actividad microbiológica e impulsando a que los contaminantes entren en proceso de biodegradarse. Este tratamiento lleva un control adecuado en la humedad, el pH (debe de estar entre 6 y 8) y en los

nutrientes; puesto que gracias a estos factores las bacterias que se encuentran en el suelo contaminado van a crecer y multiplicarse y así transformar al contaminante en dióxido de carbono y agua, disminuyendo de esta manera su contaminación.

- **Biopilas:** Este método se realiza mediante cápsulas que permiten la degradación del suelo a través de un sistema cerrado, esta técnica se realiza en pilas donde se mezcla el suelo contaminado con sustancias sólidas biodegradables como aserrín, virutas o desechos agrícolas, balanceando de esta manera los nutrientes para que se produzca correctamente la actividad microbiana y también para otorgar el calor que necesita dicho proceso para su realización.
- **Tratamiento de biosuspensión:** También llamado biorreactor, es aquel tratamiento donde el suelo que fue excavado es introducido en un reactor y se le añade; oxígeno y nutrientes para degradar al contaminante. Este método es mucho más rápido a diferencia de los otros métodos de biorremediación ex situ y es utilizado generalmente en la descontaminación de suelos que contienen insecticidas, herbicidas, entre otros contaminantes.

Ventajas y desventajas de la Biorremediación Ventajas

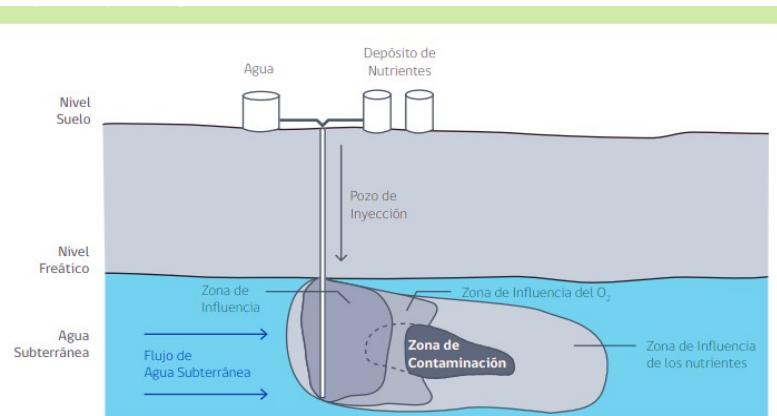
- En comparación a otras tecnologías para la remediación de suelos, la biorremediación es de bajo costo y además proporciona un mínimo daño al ecosistema cuando se procede a la destrucción de los compuestos contaminantes.
- La biorremediación es una técnica que puede realizarse en el propio lugar, evitando de este modo gastos en movilización y transporte.
- Tiene la capacidad de complementarse con otras tecnologías, colaborando así en los tratamientos de residuos más complejos; además de esto puede desintegrar o minimizar de una manera rápida y segura los compuestos contaminantes que dan como resultado de un proceso de recuperación de suelos.

- Hace uso de materias que son renovables como son los subproductos y los residuos, se relaciona con cascaras, tallos, caña, madera, aserrín, papel de desecho, entre otras.
- Es una tecnología poco invasiva y no necesita de maquinaria ya que estas generalmente provocan contaminación al medio.

Desventajas

- Existen limitaciones en ciertos compuestos, por ejemplo, los metales pesados o los compuestos clorados; los cuales son más resistentes a la degradación biológica.
- Existen ciertos productos químicos que en conjunto con la biorremediación pueden provocar la composición de sustancias tóxicas o mucho más volátiles que el producto inicial. Por este motivo, en caso de aplicar la biorremediación es necesario conocer todos los procesos microbianos implicados, ya que podrían causar una contaminación mucho más elevada a la ya existente.
- Generalmente los procesos biológicos son más lentos, por lo que la tecnología de biorremediación no es la apropiada en casos de una descontaminación rápida de algún lugar específico.
- Esta tecnología conlleva una gran complejidad y es necesario una alta precaución en su gestión y conocimiento en el uso de técnicas apropiadas.
- Para la aplicación de biorremediación en suelos contaminados se debe contar con un respaldo científico, sin embargo, existe la comercialización de productos con formulación desconocida que puede provocar un alto riesgo de contaminación.

Ilustración 38. Bioestimulación



Factores para aumentar la biodegradación de hidrocarburos

Los hidrocarburos forman parte de una gama de compuestos que se clasifican en altamente biodegradables y difícilmente biodegradables, tomando como referencia sus variaciones en la longitud de cadena, presencia de anillos, ramificaciones, la mezcla con otros componentes; entonces podemos argumentar que son fácilmente biodegradables aquellos hidrocarburos que dispongan de una estructura molecular simple.

El petróleo es una mezcla compleja y su degradación se lleva a cabo gracias a una gran variedad de microorganismos con alta capacidad enzimática; puesto que su degradación inicia mediante la acción de las enzimas oxigenasas, dependen principalmente de la presencia de oxígeno. Por tanto, podemos decir que la presencia de oxígeno o condiciones aerobias son necesarias para iniciar el rompimiento de los hidrocarburos.

Para favorecer la bioestimulación del suelo se requiere de una variedad de factores los cuales son: una humedad óptima, la adición adecuada de oxígeno, adición de nutrientes; entre otros. Pero, en caso de disponer de condiciones diferentes a estas, los resultados respecto al tratamiento de biorremediación podrían ser distintos a lo esperado, o incluso causar cierto nivel de desventaja al suelo en tratamiento. Si esto ocurre, se puede utilizar surfactantes ya sean biológicos o químicos; también cosustratos que adiciona una fuente de carbono; y además la utilización de hongos de podredumbre, beneficiando la actividad metabólica del bioaumentado.

Ecotoxicidad en biorremediación de suelos contaminados

La reducción de contaminantes es el objetivo principal de la recuperación de los suelos contaminados. Durante los últimos años se ha hecho gran uso de los llamados ensayos de ecotoxicidad, estos se los puede realizar tanto en el lugar de estudio como en un laboratorio; y facilita a tener un seguimiento en los métodos de biorremediación de suelos que se encuentren contaminados con hidrocarburos u otros derivados. Estos ensayos de ecotoxicidad se realizan mediante la aplicación de bacterias, protozoos, algas, entre otras, en el suelo contaminado a tratarse. Entre los ensayos de ecotoxicidad más usados están:

Ensayos de toxicidad aguda

- ✓ Microtox® (*Vibrio fischeri*): Este ensayo se basa en la bioluminiscencia de una bacteria conocida como *Vibrio fischeri*, la que hemos mencionado en la [Error! No se encuentra el origen de la referencia. Según estudios, la bioluminiscencia de esta bacteria en presencia de sustancias tóxicas se ve claramente afectada; de esta manera es que mediante este ensayo se permite conocer la concentración toxicológica de una muestra problema. Este tipo de ensayo era empleado normalmente para conocer la toxicidad del agua, pero actualmente también se lo utiliza para interpretar resultados toxicológicos de suelo.
- ✓ Lumbrícolas (*Eisenia foetida*): En este ensayo se utiliza el invertebrado *Eisenia foetida*, la cual ayuda a determinar o conocer como un suelo contaminado afecta la letalidad y reproducción de dicha bacteria. Es decir que según la supervivencia de esta bacteria en presencia de suelos contaminados es que podemos analizar los contaminantes del suelo a tratar.

Ensayos de genotoxicidad

- ✓ Comet test: Este ensayo se caracteriza por su capacidad de descubrir lesiones en el DNA que son provocadas por la oxidación o por agentes alquilantes. [20]. Este ensayo es aplicado en distintas áreas como de radiología, genética y como ya se mencionó en la ecotoxicidad ambiental.
- ✓ Ensayos de mutagénesis en bacterias: Este ensayo se basa en el análisis luego de tener contacto con agentes fisicoquímicos; causando cambios fenotípicos; es decir cambios en la supervivencia de la bacteria o cambios en su

bioluminiscencia. Los organismos idóneos para este tipo de ensayo son las células procariotas, ya que se caracterizan por tener una capacidad de crecimiento más elevada y su manipulación genética es mucho más sencilla que otras.

2.4 ELEMENTOS QUE DEFINEN EL ÉXITO DE LA REMEDIACIÓN

Estudios previos Marín et al., (2005) han puesto de relieve que la técnica de landfarming resulta eficaz para la degradación de hidrocarburos, particularmente los de tipo alifático; hecho éste ya observado por otros autores en ambientes no semiáridos (Litchfield, 1991). Como es lógico, la velocidad de degradación de los hidrocarburos estará condicionada por el carácter más o menos aromático de los mismos. No obstante, se puede generalizar que esta degradación es muy rápida durante los primeros 4 meses, y se va ralentizando conforme los hidrocarburos más ligeros (alifáticos) van desapareciendo del medio y éste se va enriqueciendo en los más aromáticos. Por ello, dentro de la técnica de biorecuperación propuesta se plantea la conveniencia de realizar una estimulación de las poblaciones microbianas justo en este punto del “landfarming” en que la velocidad de degradación de los hidrocarburos remanentes es escasa.

Entre los elementos que definen el éxito de la remediación de suelos, se encuentran: las propiedades del contaminante como las del sitio contaminado y dentro de los factores que inciden se encuentran: procesos químicos (reacciones de oxidación, reducción, pirólisis), procesos físicos y de transporte (desorción, dispersión, volatilización y solubilización), y procesos biológicos o biodegradables (biodegradación, biotransformación, toxicidad). (Udom et al. 2014).

Entre las técnicas más empleadas hasta ahora para la eliminación de los hidrocarburos contenidos en suelos se pueden citar la extracción de hidrocarburos por vacío, el lavado del suelo contaminado con agua, la incineración, la recuperación electrocinética, etc. (Trujillo and Ramírez 2012).

Con algunas de estas técnicas se han conseguido efectos positivos, pero su elevado costo económico constituye hoy en día un obstáculo muy a tener en cuenta para su

empleo. Por ello, se ha planteado la posibilidad de buscar alternativas viables para la eliminación de los hidrocarburos contenidos en los suelos que sean ambientalmente correctas, simples y económicas.

Aparecen así las técnicas de biorrecuperación, que consisten en hacer uso de los microorganismos o plantas para conseguir eliminar mediante biodegradación una contaminación por orgánicos (Ibrahim, Mansour, and El-Boughdady 2020), y constituye una tecnología en clara expansión y muy competitiva, capaz de conseguir la biodegradación de los hidrocarburos contenidos en los suelos. (Peluffo 2016)

UNIDAD 6

Diseño Experimental de una celda de Landfarming

6.1 Metodología de la investigación

La investigación se desarrolló considerando un mismo tipo de suelo contaminado, con una concentración inicial de 31129 TPH, el cual se le adicionó un concentrado bacteriano con un contenido del 50% pseudomonas pútidas y pseudomonas fluorescentes.

A efectos de evaluar la eficiencia de este tipo de microorganismos, se construyeron micro celdas de landfarming, con la finalidad de dosificar diferentes concentraciones y en capacidad para degradar el contenido de TPH.

Es práctica conocida en el desarrollo de estas investigaciones, verificar el proceso con réplicas del mismo, por lo cual cada celda tenía su réplica.

Con el objeto de evaluar la capacidad de degradación de los hidrocarburos por parte de productos en base a pseudomonas comerciales, la investigación se realizó empleando concentraciones de 78 ppm y 130 ppm en base a las recomendaciones del fabricante; por esta razón se construyeron cuatro microceldas de aplicación de bacterias y nutrientes, con una microcelda adicional, como testigo del tratamiento.

6.2 Materiales y Métodos

Para el desarrollo de la parte experimental de la presente investigación “Determinación de la Eficiencia de las Bacterias Pseudomonas en suelo contaminado con hidrocarburos de la Estación de Bombeo de Tres Bocas”; las microceldas se confeccionaron en madera en las siguientes medidas: 2mx1,5mx0,60m y una de menor capacidad: 0,5mx0,5mx0,60m; estas microceldas fueron recubiertas internamente con una lámina plástica negra resistente de espesor 0,5 mm (similar a la geomembrana), en su interior se instalaron tuberías y llaves para la salida de los lixiviados. Microceldas de landfarming (Figura 1).



Figura 1 **Micro celdas de landfarming**

Se identificó el sitio donde existía suelo contaminado y se procedió a su extracción, transporte y disposición en el interior de las microceldas.

En las Figura 2, Figura 3, Figura 4 se puede observar el lugar de donde se extrajo el suelo contaminado.

Con el personal de la cuadrilla se mezcló manualmente de todo el suelo contaminado, para obtener una mezcla homogénea en todas las microceldas. Antes de verter la tierra contaminada en las microceldas, se colocó una capa de 15 cm de arena seca, la misma que serviría como capa de separación entre el suelo contaminado y los lixiviados.

En las Figura 5, Figura 6 se observan las celdas en el momento que se coloca la capa de arena. Luego se llenaron las microceldas con el suelo contaminado, cuatro de ellas contenían 1,2 m³ y la más pequeña 0,80 m³, la misma que sirvió de celda testigo del tratamiento sin la adición de bacterias.

Las cuatro celdas de las mismas dimensiones, fueron identificadas como C1, C2, C3, C4 y la celda en blanco se la identificó como C0; las celdas del 1 al 4 se utilizaron en

el tratamiento con adición de bacterias y nutrientes; mientras que la celda 0 se utilizó como celda testigo, es decir sólo se adicionaron nutrientes y agua.

Se tomó una muestra de suelo, la misma que fue enviada al CESTTA – ESPOCH el día 31 de agosto del 2009, para que se realicen los análisis correspondientes de acuerdo a la Tabla N°6 del Anexo 2 del Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas; los resultados de este análisis fueron reportados por el CESTTA en el informe de ensayo N° 0983 del 10 de agosto del 2009, registrando la muestra enviada una concentración de 31129 ppm de TPH y un contenido de humedad del 1%. (Anexo 1)

En base a esta concentración de TPH, se efectuaron los cálculos para determinar la cantidad requerida de bacteria comercial y los nutrientes, tal como se muestra en la tabla 6.1.



Figura 2 Lugar de tierra contaminada en la Estación de Transferencia de Tres Bocas



Figura 3 **Extracción de la tierra contaminada**



Figura 4 **Extracción de la tierra contaminada**



Figura 5 Ubicación de las microceldas antes de agregar arena



Figura 6 Colocación de la capa de arena y/o filtro de arena para lixiviados

6.3 Sistema de recuperación de lixiviado

Para la recuperación del lixiviado, se instaló en cada una de las celdas un sistema de recolección en base a tuberías de PVC de 1,25 cm de diámetro, de acuerdo a la distribución que se observa en la figura 6.7. Las tuberías tenían perforaciones de 5mm de diámetro y la distancia entre ellas de 2,54 cm, para facilitar el paso del lixiviado y la salida del recipiente de recolección de cada celda (Figura 7), empleando una válvula instalada en la parte final del sistema.

En esta investigación el sistema de recolección de lixiviados se lo realizaba en forma continua, es decir se recolectaban los lixiviados en recipientes para luego colocarlos en la misma microcelda de la que provenía, realizando una recirculación y aprovechando los nutrientes y bacterias del mismo. La recolección de los lixiviados

Figura 9



Figura 7 *Tuberías para el sistema de recolección de lixiviados*



Figura 8 Llaves para la salida de lixiviados



Figura 9 Recolección de los lixiviados

6.4 Determinación de requerimientos para el tratamiento

Se utilizaron cinco celdas, la primera la Celda 0, es la celda testigo, las otras cuatro celdas poseen las mismas dimensiones. De acuerdo a esto se realizaron los respectivos cálculos teniendo en cuenta como se mencionó anteriormente que las celdas se identificaron desde la 0 a la 4. Es necesario mencionar que el suelo utilizado para el tratamiento fue producto de diferentes derrames de diesel ocurridos junto al sumidero de la Estación Tres Bocas.

Para determinar la cantidad de nutrientes, primero se realizó los cálculos de los volúmenes de las microceldas, de la arena y del suelo contaminado a tratar, los mismos que se muestran en la **Tabla 7**.

Tabla 7. VOLÚMENES DE LAS MICROCELDAS, ARENA Y SUELO

Microcelda	Volumen m ³	Volumen de arena(f) m ³	Volumen del suelo m ³
0	0,15	0,11	0,30
1	1,80	0,45	1,20
2	1,80	0,45	1,20
3	1,80	0,45	1,20
4	1,80	0,45	1,20

(f)= Arena utilizada para filtrar los lixiviados

La densidad del suelo es el resultado del ensayo realizado en el laboratorio; el mismo que se realizó tomando una muestra de suelo contaminado y realizando varias repeticiones, al final dio como resultado la densidad promedio de del mismo de 1,28 gr/cm³ o 1280 Kg/m³ a 25°C.

La masa del suelo a tratar se la determina multiplicando la densidad del suelo 1280 Kg/m³ por el volumen del suelo contenido en las microceldas que es 1,2 m³, donde como resultado 1536 Kg de suelo contaminado en cada microcelda.

Luego se calcula la masa en kilos de hidrocarburos que poseen las celdas, en base el valor de TPH del suelo contaminado, de 31129 mg de TPH/kg suelo.

$$\text{Kg(d)} = \text{TPH} \left(31129 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) * \text{ms} (1536 \text{ Kg})$$

$$\text{m(d)} = 47,81 \text{ Kg}$$

El valor de la densidad del Diesel es un valor promedio de los análisis que realizan en laboratorio de Petrocomercial, 33°API (G.E. 0,88)

El volumen del diesel que contiene el suelo contaminado, usando la fórmula de densidad. Factor de conversión 1m³ = 264,2 gal.

$$Vd = \frac{md}{Dd}$$

$$Vd = \frac{md(47,81kg)}{Dd 880 kg/m^3}$$

$$Vd = 0,054 m^3 = 14,35 Gal$$

En un volumen correspondiente de 1,2 m³ de suelo contaminado con una concentración de THP de 31129 mg/kg, cuyo producto contaminante es el diesel con una densidad específica 0,88. Se determina que en ese volumen de suelo con esa concentración de TPH, tenemos 14,35 galones de diesel derramado o contenido.

6.4.1 Cálculos para de requerimientos de nutrientes

Para el tratamiento de la degradación de hidrocarburos, los requerimientos de nutrientes se toman de la relación C:N:P (Carbono, Nitrógeno y fósforo), la misma que contiene el 100% de carbono, 10% de Nitrógeno y el 1% de Fósforo y esta base se utiliza para determinar los valores requeridos en el sistema de remediación biológica, iniciando que el contenido de hidrocarburos es de 31129 $\frac{mg}{kg}$ de suelo contaminado.

$$TPH 31129 mg \frac{C}{kg(s)} * 10 mg \frac{N}{100mg C} = 3112,9 \frac{mg N}{kg(s)}$$

$$3112,9 mg \frac{N}{kg(s)} * 1536 kg(s) * \frac{1gr}{1000mg} = 4781, 4 gr N = 4,78 Kg N$$

Como fuente de N se usó Urea CO(NH₂)₂, la cual tiene una concentración de 46% de N.

$$4781,4 \text{ gr N} * 100 \text{ gr} \frac{\text{Urea}}{46 \text{ gr N}} * \frac{1 \text{Kg}}{1000 \text{ gr}} = 10,39 \text{ Kg de Urea} \rightarrow 10390 \text{ gr de Urea}$$

De fósforo se requieren

$$4781,4 \text{ gr N} * \frac{1 \text{ gr P}}{10 \text{ gr N}} = 478,1 \text{ gr de P} \rightarrow 0,478 \text{ Kg P}$$

Como fuente de P se utilizó la roca fosfórica la cual tiene una concentración del 25% de P₂O₅

$$\text{PM}(\text{P}_2\text{O}_5) = 142$$

$$\text{PM}(\text{P}) = 31$$

$$478,1 \text{ gr de P} * 142 \text{ gr} \frac{\text{P2O5}}{62 \text{ gr P}} * 100 \text{ gr Roca} \frac{\text{Fosfórica}}{25 \text{ gr P2O5}} = 4380 \text{ gr Roca Fosfórica}$$

4,38 Kg de Roca Fosfórica

Según datos del fabricante de las bacterias comerciales de la empresa proveedora, para tratar 300 gal de diesel se requieren 5 lb de bacterias

$$14,35 \text{ gal d} * \frac{5 \text{ lb bact}}{300 \text{ gal d}} * \frac{454 \text{ gr}}{1 \text{ lb bact}} = 108,58 \text{ gr de bacterias}$$

Tabla 8. CÁLCULOS DE BACTERIAS Y NUTRIENTES

Celdas	Volumen de Tierra (m3)	Agua (gal)	Urea (kg)	Bacterias Teóricas (gr)	Bacterias tratamiento (gr)	RF (kg)
Celda 0	0,1	8	0,87	0	0	0,37
Celda 1	1,2	97	10,3	108,58	120	4,3
Celda 2	1,2	97	10,3	108,58	120	4,3
Celda 3	1,2	97	10,3	108,58	200	4,3
Celda 4	1,2	97	10,3	108,58	200	4,3
Total	4,8	388	41,2	434,32	640	17,2

6.4.2 Determinación de cantidad de agua, para ajustar la humedad en 25%

La retención de humedad es un parámetro físico, que se refiere la capacidad que tiene el suelo para retener agua. En la investigación realizada se obtuvo del 18 al 25% de humedad, esto es adecuado de acuerdo a investigaciones realizadas y literatura que

recomiendan mantener un nivel de humedad de aproximadamente 12 al 35% en relación en peso.

Hs = Humedad del suelo: Hs = 1%

15,36 Kg agua en el suelo con humedad determinada

1520,64 Kg suelo seco (sin humedad)

368,64 Kg agua se requiere para obtener 25% de humedad en el suelo

97,39 gal de agua

6.5 Protocolo del proceso operativo de construcción de las microceldas

Las celdas de landfarming, se construyeron de madera, de acuerdo con lo detallado anteriormente, fueron recubiertas con geomembrana y luego colocado las respectivas tuberías para la recolección del lixiviado.

Para la utilización de las celdas de landfarming, se procedió a:

1. Instalación de las celdas en el sitio, las mismas fueron ubicadas con cierta inclinación, para facilitar la salida de los lixiviados hacia las respectivas válvulas.
2. Se procedió a cubrir con una malla fina a las tuberías y conexiones de lixiviado, para evitar la obstrucción de las perforaciones de las tuberías con la arena.
3. Filtro de arena; se rellenó las celdas de landfarming con una capa de 15 cm de arena seca, para el respectivo colchón o filtro de arena antes de la salida del lixiviado.
4. Tierra contaminada; luego del colchón de arena, se ubicó los 1,2 m³ de tierra contaminada en cada una de las celdas. (Figura 10, Figura 11)



Figura 10 **Ubicación de la tierra contaminada en las microceldas de landfarming**



Figura 11 **Microceldas de landfarming con tierra contaminada**

UNIDAD 7

ANÁLISIS EXPERIMENTALES

Para el desarrollo experimental de esta investigación se tomaron muestras diarias del suelo contaminado sujeto a tratamiento en cada una de las micro celdas; realizándose los análisis de conteo bacteriano, pH, humedad y TPH.

7.1 MUESTREO DE SUELO CONTAMINADO

La toma de muestra del suelo contaminado con hidrocarburos, fue realizado antes de trasladar el suelo homogenizado a las micro celdas; ésta muestra fue enviada al Laboratorio de la Epoch - CESTTA, acreditado en el OAE, el mismo que está ubicado en Riobamba.

El seguimiento del proceso de biodegradación, se lo realizó dos veces por semana, para la determinación de TPH y para los restantes parámetros, la toma de muestra (Figura 12), fue a diario (5 días por semana), utilizando el método del cuarteo, descrito en el capítulo 1.

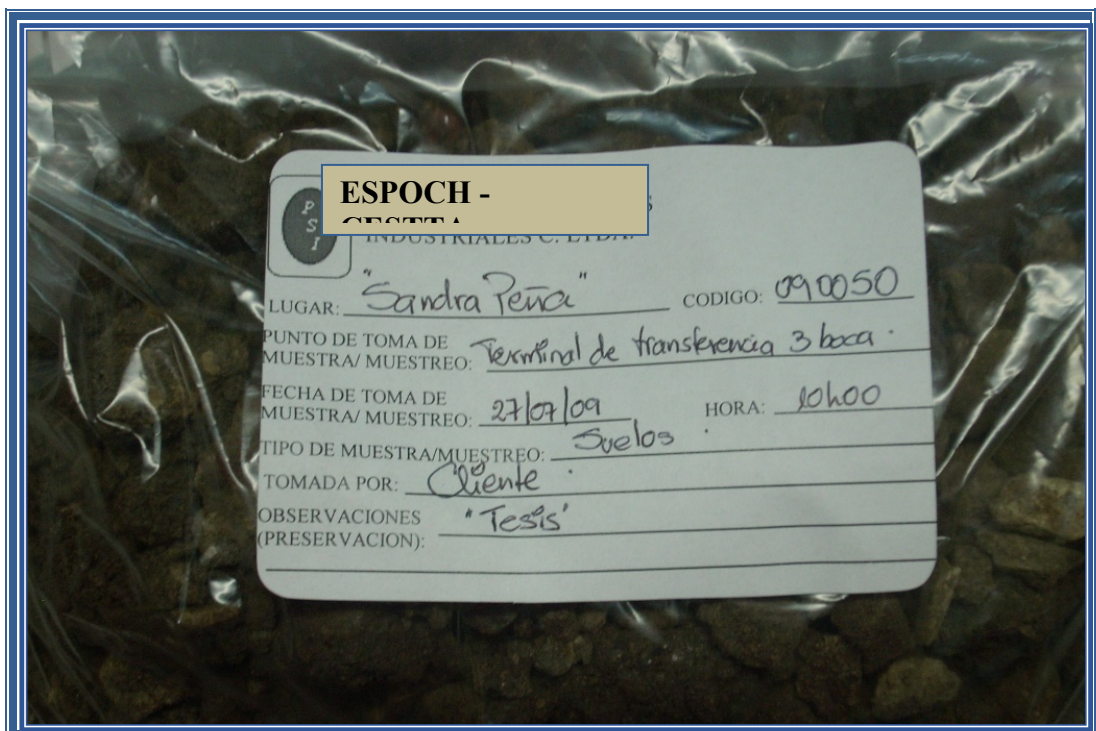


Figura 12. Etiquetado de la Muestra para el análisis de TPH

7.2 ANÁLISIS DE LOS SUELOS CONTAMINADOS

Las técnicas de biorremediación de suelos en escala exigen un intenso monitoreo y control de variables operacionales, aunque no todas poseen la misma importancia, pero algunas resultan críticas para la obtención de resultados exitosos. En la presente investigación se presentan algunos criterios para monitorear y controlar variables de proceso críticas en la degradación de hidrocarburos.

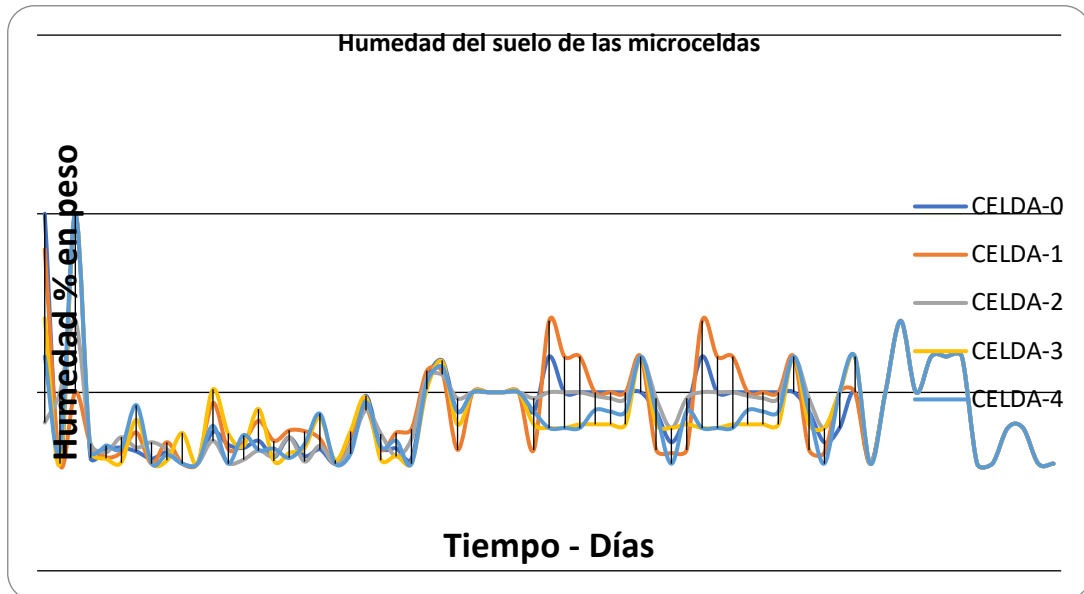
La selección de técnicas de muestreo y técnicas analíticas también resulta de fundamental importancia, ya que estos sistemas en fase sólida, son intrínsecamente heterogéneos y por tanto no siempre fáciles de evaluar; para obtener la información requerida del suelo contaminado, se estimó básico realizar los siguientes análisis: Humedad, pH, Conteo de Bacterias y TPH.

7.2.1 Humedad

La humedad es una propiedad dependiente del grado de porosidad de los suelos, la textura del mismo y por ende el grado de saturación. Los requerimientos de agua varían de acuerdo al tipo de suelos y de acuerdo a la ubicación del terreno. En el proceso operativo del tratamiento biológico realizado se mantuvo el nivel de humedad de 18 hasta el 25% en relación a peso, Ilustración 39 Anexo 2 (tablas y gráficos).

El requerimiento de agua fue suplido en el Terminal de transferencia de Tres Bocas, por tanqueros; es recomendable, que para el caso extremo de falta de agua dulce, se tome agua de cualquier otra fuente y se debe caracterizar la misma, realizando mediciones que incluya: pH, contenido de sodio, cloruros y salinidad o conductividad; por cuanto la salinidad o bien conductividad del agua podría afectar muy negativamente al biotratamiento. Valores de salinidad superiores a los 3000 mg/l (ppm) nunca deben ser considerados para condiciones de riego.

Ilustración 39 HUMEDAD

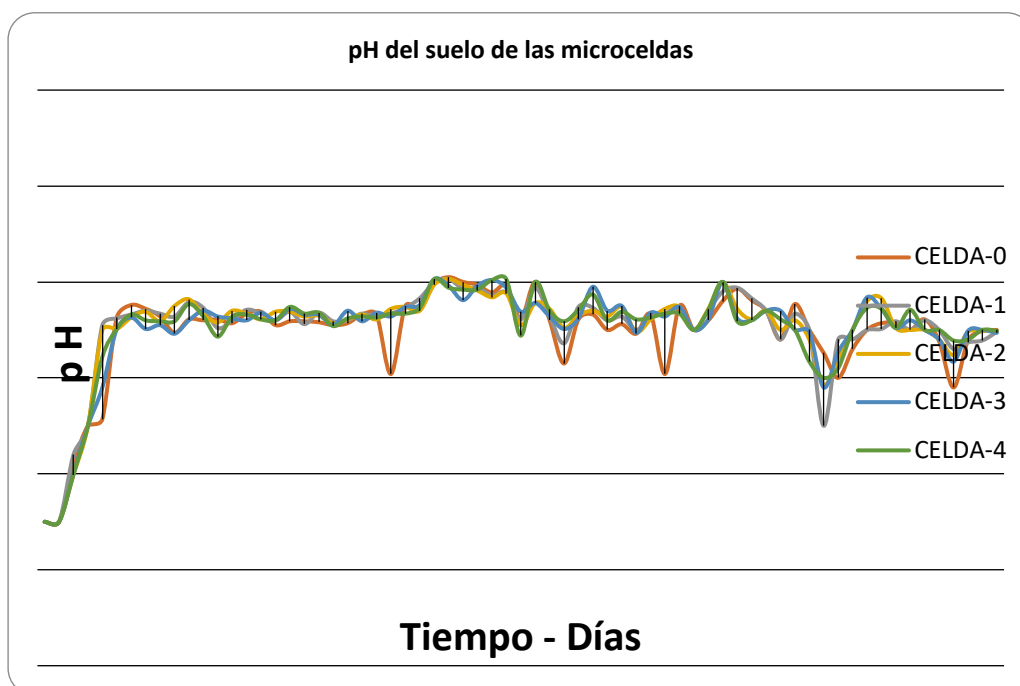


7.2.2 pH

Este parámetro es de indispensable medición para el buen desenvolvimiento del proceso de biotratamiento. Los microorganismos del suelo pueden verse altamente afectados por este parámetro, siendo el rango promedio mantenido durante todo el tratamiento en la mezcla suelo/desecho de 9. Ilustración 40 Anexo 3 (tablas y gráficos).

El intervalo de pH recomendado en el desecho es de 5-10; de manera que al ser mezclado con el suelo virgen, se acerque a la neutralidad (es decir, pH 7); condición que favorece el tratamiento. Si el pH determinado al inicio del tratamiento sale fuera del intervalo recomendado, se puede acondicionar el suelo para mejorar dichas condiciones, siendo la cal hidratada y azufre elemental, dos acondicionadores para ajustar un exceso de acidez o de alcalinidad, respectivamente. Sin embargo, no hay que dejar de considerar la adición de suelo de préstamo, el cual, mezclado con el suelo tratado, puede ejercer los efectos deseados, dependiendo del pH del suelo importado.

Ilustración 40. MEZCLA SUELO/DESECHO



7.2.3 TPH

La concentración de hidrocarburos totales de petróleo (TPH, del inglés Total Petroleum Hydrocarbons) es un parámetro que vincula directamente al suelo con las concentraciones de fracciones saturadas y aromáticas del petróleo u otros residuos de la actividad petrolera vertidos sobre el suelo afectado; su importancia no sólo se debe a que mide directamente el nivel de contaminación del área por hidrocarburos, sino también por la implicación directa que tiene este parámetro sobre el seguimiento y éxito del biotratamiento.

En el seguimiento del biotratamiento, la concentración de TPH se fue reduciendo a medida que transcurría el tiempo, **Tabla 9**, así como en el Anexo 4 (tablas y gráficos); las fracciones residuales (asfaltenos) del crudo, se fueron incorporando al suelo y formando parte de la materia orgánica del mismo, las fracciones degradables (por biodegradación, evaporación, fotólisis, etc.) se transformaron y disminuyeron.

En ésta práctica se demuestra, que al inicio del tratamiento el área presentó tonalidades oscuras y olor penetrante a mercaptanos y sulfuros, estas condiciones iban cambiando con el tiempo, se notó la eventual desaparición de los olores y una paulatina atenuación del color original, hacia una tonalidad de colores marrones, lo

cual es una evidencia cualitativa de que existía la incorporación de nueva materia orgánica al sistema y transformaciones físico-químicas que fueron sucediéndose, a partir del hidrocarburo procesado.

**Tabla 9 VARIACIÓN DEL CONTENIDO DE TPH EN LAS
CELDAS DE TRATAMIENTO**

Dias Tratam.	TPH DEL TRATAMIENTO DE REMEDIACION DE SUELOS				
	Celda 0	Celda 1	Celda 2	Celda 3	Celda 4
20 dias	15943	11654	13897	11231	10743
65 dias	8076	8004	7969	7462	7342
103 dias	5944	4231	4045	2575	2439
127 dias	3631	952	985	894	731

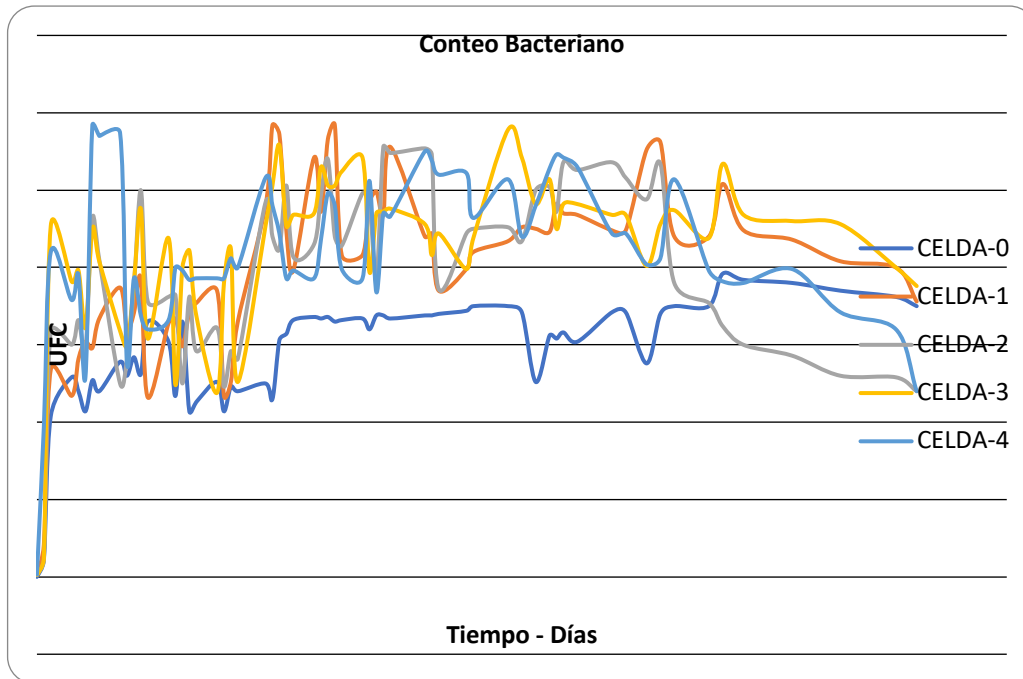
7.2.4 Conteo de Bacterias

Cuando se habla de microorganismos, debe enfatizarse que no se tratan sólo de bacterias, como suele ser la creencia. Además de bacterias, ese medio contiene otros microorganismos como hongos, levaduras, cianobacterias y asociaciones complejas de vida microbiana, que puede estar influenciada por insectos, lombrices y otros seres multicelulares que pudiesen llegar a ejercer su propia contribución en diversas etapas del proceso de biodegradación a través de la cadena alimentaria. En esta investigación hubo dos procesos estacionarios, mismos que se atribuye a la influencia de hongos y levaduras presentes en las zonas litorales tropicales habitadas por manglar. Anexo 5 (tablas y gráficos).

En las microceldas C1 y C2 que se dosificó las bacterias comerciales en concentraciones iguales, el comportamiento del crecimiento bacteriano fue constante y regular entre un rango de 1 y 3×10^{10} UFC; el desarrollo de las bacterias en las

microceldas C3 y C4 varió entre $1,3$ y $2,8 \times 10^{10}$ UFC, no así la celda patrón C0 que llegó a rangos de 1 a 2×10^{10} UFC.

Ilustración 41. CONTEO BACTERIANO



7.3 IDENTIFICACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS

La identificación de las cepas bacterianas, se la efectuó tomando una muestra al inicio del tratamiento y en el Laboratorio Aquatecnos, para el respectivo conteo y análisis bioquímico e identificación de las bacterias presentes en el suelo contaminado.

Esta tesis busca determinar la eficiencia de las bacterias pseudomonas, por lo que se solicitó a éste laboratorio la identificación de ésta bacteria, pero según indicó la Dra. Lourdes de Barniol, para llegar a determinar una bacteria específica, se debe proceder a identificar a todas las bacterias.

Las muestras llevadas a Acuatecnos fueron dos: una que correspondía al suelo contaminado específicamente y la otra un caldo de cultivo de dos días desarrollado con el mismo suelo, los resultados de los análisis se adjunta en el Anexo 6 y 7, en las cinco primeras identificaciones no se encontraron pseudomonas, esto no indica que no estén presentes, sino que se encuentran pero en concentraciones menores que las otras bacterias, como son: *Vibrio fluvialis* con 1.5×10^4 UFC^A/g; *Serratia odorífera*

en 6.1×10^3 UFC^A/g y *Enterobacter cloacae* con 2.0×10^3 UFC^A/g; sin embargo en la solución del lecho aislado durante dos días, se identificó *Enterobacter cloacae* con 8.5×10^7 UFC^A/g.

Las bacterias son la más utilizadas para el tratamiento de estos contaminantes, pero también existen otros microorganismos como los hongos, algas, cianobacterias y actinomicetos capaces de degradar compuestos tóxicos del suelo.

Las bacterias del género *Pseudomonas* poseen la habilidad para utilizar diversos substratos, incluyendo aquellos creados por el petróleo; son bacterias Gram negativas, obicuas, que pertenecen a la subclase gamma de las Proteobacterias.

Algunas especies de *pseudomonas* son productores de biosurfactantes extracelulares que solubilizan y facilitan la penetración de los hidrocarburos a través de la pared celular hidrofílica; contienen plásmidos, capaces de generar enzimas degradadoras de hidrocarburos en la membrana citoplasmática. La *Pseudomonas aeruginosa*, es otro de los microorganismos más usado y estudiado en biorremediación y presenta una serie de actividades naturales sobre xenobióticos. Lamentablemente, también es conocida por ser un patógeno oportunista en humanos y causante de complicaciones graves en personas inmunosuprimidas, con quemaduras severas o con fibrosis quística. Por estas razones existe mucho interés en el estudio de las relaciones filogenéticas entre serotipos clínicos y ambientales.

La *Pseudomona pútidas* es un saprofito del suelo, oportunista, cosmopolita, metabólicamente versátil, por poseer una dioxigenasa inicial, un tolueno dioxigenasa, aunque no presenta la dioxigenasa específica para los HAPs por lo cual es una buena candidata para las aplicaciones biotecnológicas, tales como agricultura, biocatálisis, biorremediación, biocontrol en protección de las plantas y producción de bioplásticos. La *P. pútidas* posee la capacidad de colonizar la rizosfera de plantas de cosecha y una gran capacidad metabólica que facilita el desarrollo de biopesticidas y promotores de crecimiento de la planta.

La *Pseudomonas fluorescens* es degradadora de naftaleno y fenantreno, ventaja que tiene frente a las otras *Pseudomonas*, que solo metabolizan naftaleno y asfaltenos.

7.3.1 Aislamiento de cepas depredadoras de hidrocarburos

De la primera muestra tomada, se aisló 100 g de suelo contaminado, el mismo que se procedió a disolver en 100 g de melaza con 22 litros de agua con 25 g de NPK (nutriente), todo fue mezclado y aireado (difusión de aire a través de un motor) durante dos días; además de realizar los análisis de: conteo de bacteria y pH; los mismos que fueron registrados en la Tabla N° 7.2 que indica los datos de las muestras: días, conteo bacteriano y el pH, medido y tomado en el laboratorio de la empresa proveedora de las bacterias, con ayuda de la Dra. Tania Varela, Jefe de Laboratorio.

En las figuras 7.1 y 7.2, se observa desde el inicio de la toma de muestra del lecho marino en la Estación de Transferencia de Tres Bocas, en la Figura 13 se observa el pesado de la muestra para realizar el aislamiento y/o cultivo bacteriano en la que se utilizó una balanza eléctrica, descrito al inicio; en las Figura 14, Figura 15, Figura 16, Figura 17, Figura 18, Figura 19 se muestra la metodología del análisis del conteo de bacterias, misma que consistía en la dilución de 1 gr de muestra en 100 ml de agua destilada, luego de esta dilución se toma nuevamente 1 ml de la muestra y se la diluye en 100 ml de agua destilada, de esta última dilución se toma menos de 1ml de la dilución y se la coloca en la celda de new Bauer, para realizar el respectivo conteo bacteriano.

Luego de la adición de 100 gramos de muestra a la mezcla de agua con melaza y nutrientes se agita la mezcla; en la Figura 18 se observa la aireación del cultivo, que para el mismo se utilizó una bomba y dos difusores de aire; en la Figura 20 se observa la medición del pH del cultivo bacteriano, utilizando un pH metro.



Figura 13. Toma de muestra del lecho marino en la Estación de Transferencia de Tres Bocas



Figura 14. Muestra de lecho marino



Figura 15. Pesado de la muestra



Figura 16. Conteo de bacterias



Figura 17. Dilución de muestra para el contaje de bacterias



Figura 18. Diluciones de muestra



Figura 19. Caldo de cultivo bacteriano



Figura 20. Aireación del caldo de cultivo bacteriano



Figura 21. Medición del pH del caldo bacteriano

Tabla 10. OBTENCIÓN DE CALDO BACTERIANO DE CEPAS ENDÉMICAS

Fecha	Muestra	Horas	UFC/ml	pH
20/08/09	0	0	$2,9 \times 10^8$	7.09
21/08/09	1	12	$1,6 \times 10^8$	7.4
21/08/09	2	24	$2,2 \times 10^8$	6.8
21/08/09	3	36	$2,0 \times 10^8$	6.2
22/08/09	4	48	$2,93 \times 10^8$	5.4

De este aislamiento se pudo comprobar que, en el suelo contaminado con hidrocarburos, se generan bacterias endémicas degradadoras de hidrocarburos, en la concentración de $2,9 \times 10^8$ UFC/ml, por lo tanto, en la celda 0 no se adicionó ninguna bacteria comercial, para su tratamiento, la misma que nos servirá para comparar con las otras cuatro celdas la eficiencia de las bacterias pseudomonas.

En el transcurso del tratamiento, se pudo observar la disminución de la concentración de hidrocarburos (TPH) y el aumento o crecimiento bacteriano el mismo que se encontraba con nutrientes adicionados en proporciones distintas tanto para las celdas 1 y 2 así como las celdas 3 y 4, que eran muestras repetidas.

En la Ilustración 42 indica que a los veinte días de iniciado el tratamiento, existe una disminución de un 48% de la concentración de los TPH en la celda 0, misma que no se añadió bacterias comerciales, pero sí se adicionó agua y nutrientes (Urea y roca fosfórica) como alimento para las bacterias endémicas, mientras que en las celdas 1 y 2 (igual concentración de bacteria comercial), la disminución de hidrocarburos fue de 63% y 55% respectivamente; mientras que en las celdas 3 y 4 (igual concentración de bacteria comercial), la eliminación de hidrocarburos fue de 64% y 65% respectivamente.

A los 23 días existió un aumento de TPH, en todas las celdas, mismo que fue reduciéndose paulatinamente hasta los 50 días, donde el tratamiento en las diferentes celdas alcanzó las siguientes proporciones: Celda 0 → 84%, Celda 1 → 81%, Celda 2 → 73%, Celda 3 → 80% y Celda 4 → 83%, momento que demostraba que el tratamiento se encontraba en una disminución general de los TPH del 80% menos que la inicial; pero a los 68 días ocurre un nuevo aumento de los TPH, generados por el desarrollo de los metabolitos, que evolucionan al llegar al punto máximo en estos tratamientos biológicos, que en algunos casos llegan a disminuir hasta un 75% y en otros hasta el 85%, dependiendo de la concentración bacteriana que se utilice y se cuente.

Después de los cincuenta días del tratamiento, donde ya podíamos dar por terminado el mismo, se decidió continuar para verificar si es posible seguir disminuyendo utilizando otra adición de bacterias, a las celdas 1, 2, 3 y 4, pero el tratamiento sufrió una fase estacionaria, donde la concentración de hidrocarburos se eliminaba lentamente, proceso que duró 40 días exactamente, luego de esto; a los noventa días se realizó una segunda adición de bacterias, pero no comerciales, sino que, se generó un caldo de cultivo de bacterias endémicas, el mismo que se lo elaboró tomando una muestra de suelo (100 gr) de la celda patrón C0, a la cual se desarrolló el mismo

procedimiento descrito en el ítem 7.4, y éste caldo de cultivo se añadió a las celdas 1, 2, 3 y 4, y al cabo de treinta días más se logró bajar la concentración de hidrocarburos hasta 900, tal como lo pide la norma ambiental hidrocarburífera RAOH, ya que el suelo remediado se encuentra en área protegida (manglar), y el Reglamento indica que los TPH deben de mantener un mínimo de 1000 mg/kg.

Ilustración 42. TPH

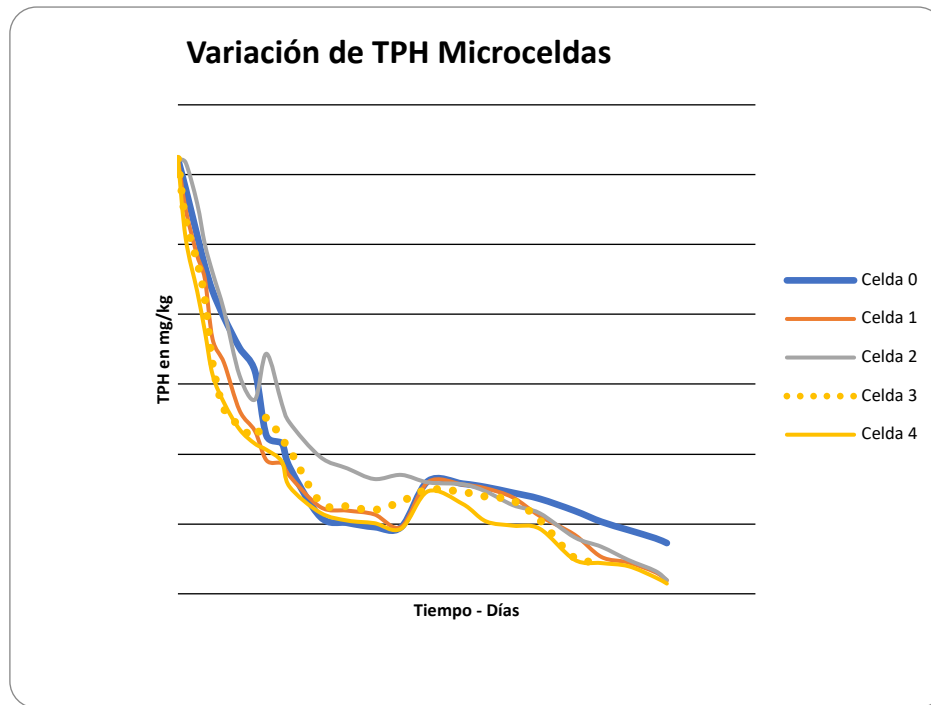


Tabla 11 EFICIENCIA DEL TRATAMIENTO

Días	EFICIENCIA SEGÚN DIAS DE TRATAMIENTO				
	Celda 0	Celda 1	Celda 2	Celda 3	Celda 4
20 días	48,8%	62,6%	55,4%	63,9%	65,5%
65 días	74,1%	74,3%	74,4%	76,0%	76,4%
103 días	80,9%	86,4%	87,0%	91,7%	92,2%
127 días	88,3%	96,9%	96,8%	97,1%	97,6%

7.4 Materiales y Equipos Utilizados

Población y muestra en estudio

Para el tratamiento en estudio estaba representada por toda la población de cepas bacterianas bio remediadoras (degradadoras de hidrocarburos), además de las aisladas en muestras de agua y nutrientes.

7.4.2.1 Muestreo de suelo

- Pala
- Fundas
- Rastrillo
- Guantes
- Suelo
- Etiquetas

7.4.2.2 Laboratorio

- Vasos de precipitación de 25, 50 y 100 ml
- Probetas
- Matraces aforados de 25 ml y 1000 ml
- Agua Destilada
- Piceta
- Cámara de New Bauer
- Crisoles
- Pera
- Tapones
- Pipetas de 1 ml
- Equipo de Laboratorio
- PHmetro
- Balanza
- Microscopio
- Autoclave
- Horno

7.4.2.3 Medio de Cultivo

Caldo de extracto de melaza

7.4.2.3.1 Metodología para la toma de muestra

Para la toma de muestra se utilizó la técnica del cuarteo, a cada una de las celdas se las dividió en partes iguales y se tomó la muestra en los cuatro lugares seleccionados para luego homogenizar la muestra.

7.4.2.3.2 Procesamiento de la muestra

Se tomaron dos muestras por cada celda, ya que el análisis del TPH, debía enviarse a la ciudad de Riobamba al Laboratorio del CESTTA, por lo tanto esta muestra debía ser enviada rotulada y en una hielera, para conservación de la misma. La otra muestra también se rotulaba, se llevaba inmediatamente al laboratorio, para la realización de las pruebas de humedad, pH y conteo bacteriano, los mismos que se realizaban el mismo día de efectuada la toma de muestra.



Figura 22. Tres diluciones para el conteo de bacteria

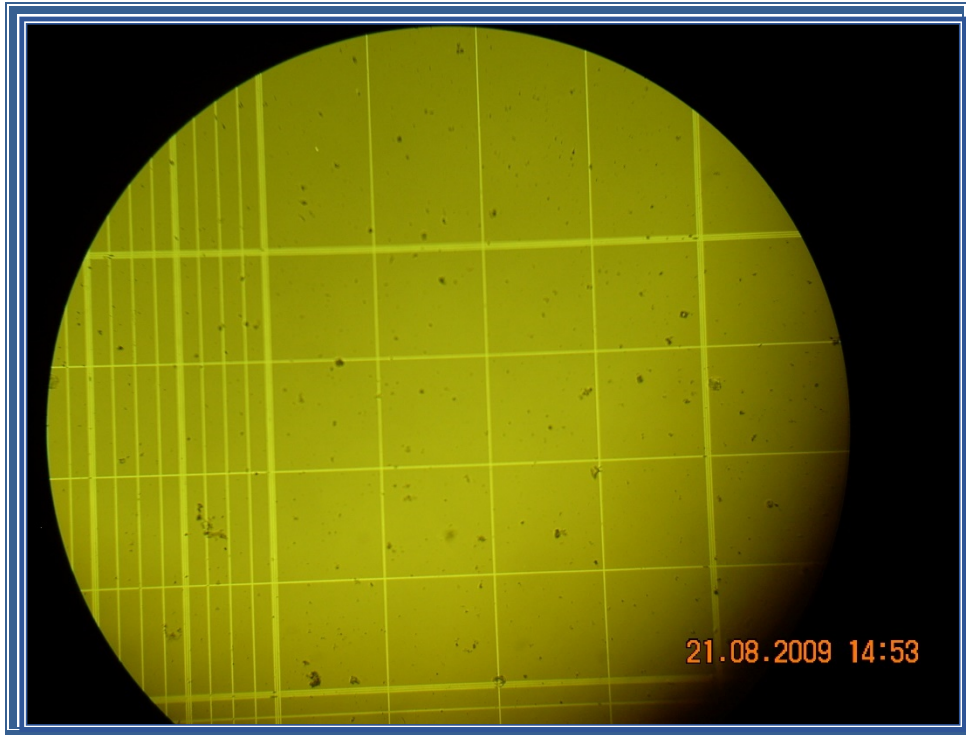


Figura 23. Vista en el microscopio de la cuadrícula en la celda de new Bauer para el conteo de bacteria

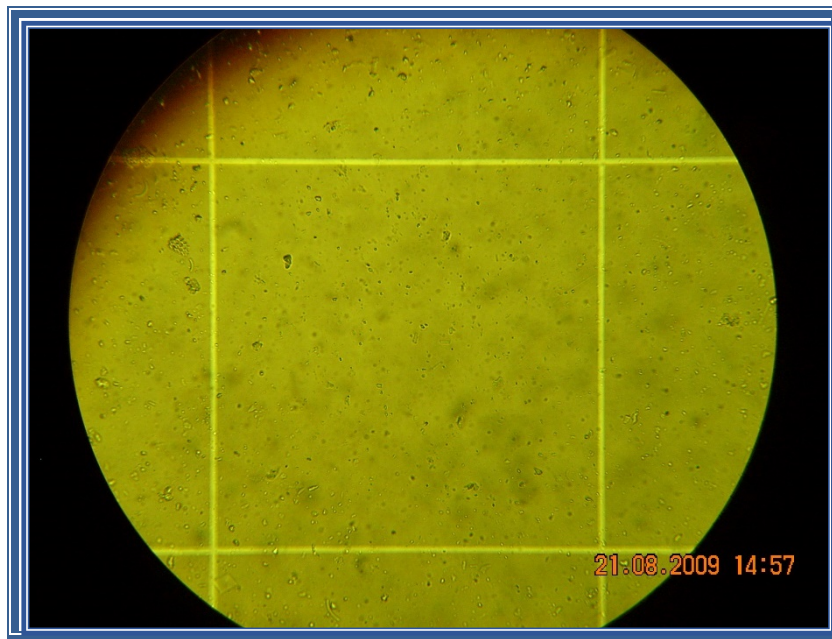


Figura 24. Vista en el microscopio de un recuadro de la cuadrícula en la celda de new Bauer para el conteo de bacteria

7.5 CORRIDAS EXPERIMENTALES DE BIOREMEDIACIÓN

7.5.1 Mediante el uso de productos comerciales con pseudomonas

Se utilizó las bacterias comerciales que contiene las siguientes clases de pseudomonas: *pútidas*, con $3.1 \times 10^3 \text{ UFC}^A/\text{g}$, *aeromonas* con $3.2 \times 10^2 \text{ UFC}^A/\text{g}$; además de *Bacillus ssp.* Con $1,2 \times 10^9 \text{ UFC}^A/\text{g}$. Anexo 7.6 (Identificación de bacterias).

7.5.1.1 Protocolo del proceso experimental del tratamiento de bioremediación del suelo contaminado.

Tal como se describió en unidad 6, en el ítem 6.5 el protocolo del proceso operativo de construcción de las microceldas, luego de que la tierra contaminada, homogenizada y depositada en las microceldas; el 9 de septiembre del 2009, se dio inicio al tratamiento de bioremediación de suelo contaminado con hidrocarburos del Terminal de Transferencia de Tres Bocas, el procedimiento fue el siguiente:

- 1) Activar las bacterias comerciales (pseudomonas). Los microorganismos a utilizar en la bioremediación se encuentran en estado sólido (polvo) esporas; para activarlas se debe diluir el producto con agua y agitar constantemente por el lapso de tres horas; la dilución se realizó en canecas para cada una de las cuatro microceldas C1 y C2 se les añadió 78 ppm de estas bacterias comerciales y para las microceldas C3 y C4 se les añadió 130 ppm de las bacterias según cálculos teóricos descritos en el capítulo anterior. Este procedimiento de lo observa en las figuras 7.14 y 7.15.
- 2) Luego de las tres horas de activación de las bacterias, se procede añadir los nutrientes (Urea 10,3 gr y Roca Fosfórica 4,3 gr).
- 3) Humedad de las celdas. La humedad se mantuvo durante todo el tratamiento, en un porcentaje desde 18 hasta 25 %. Figuras 7.16 y 7.17 (microceldas inicio del tratamiento = humedad 20%).
- 4) Aireación; la mezcla de la tierra con nutrientes y agua, se realizó todos los días por 2 meses y luego se fue realizando pasando un día, para la respectiva aireación de la tierra. Figura 7.18 (aireación de la tierra contaminada).

- 5) Toma de muestras; se realizó el muestreo todos los días laborables, se realizó los análisis de conteo de bacterias, pH y humedad; para el análisis de TPH, se tomó muestras dos días por semana.



Figura 25. Activación de las bacterias con el agua en la Microcelda C1



Figura 26. Agitación de las bacterias con el agua en la Microcelda C3



Figura 27. Humedad de la Microcelda C0



Figura 28. Humedad de la Microcelda C3



Figura 29. Aereación del suelo en las microcelda

7.5.2 Mediante la técnica de bioestimulación

La bioestimulación implica la circulación de soluciones acuosas (que contengan nutrientes y/u oxígeno) a través del suelo contaminado, para estimular la actividad de los microorganismos autóctonos, y mejorar así la biodegradación de contaminantes orgánicos o bien, la inmovilización de contaminantes inorgánicos in situ (Van Deuren y col., 1997).

Aplicaciones. Se ha usado con éxito para remediar suelos contaminados con gasolinas, COVs, COSs, y pesticidas (Alexander, 1994). Estudios a escala piloto, han mostrado la biodegradación de suelos contaminados con desechos de municiones.

Limitaciones. Esta tecnología no es recomendable para suelos arcillosos, altamente estratificados o demasiado heterogéneos, ya que pueden provocar limitaciones en la transferencia de O₂.

Otros factores que pueden limitar su aplicación, incluyen: (i) que el tipo del suelo no favorezca el crecimiento microbiano; (ii) incremento en la movilidad de los contaminantes; (iii) obstrucción en los pozos de inyección provocada por el crecimiento microbiano.

Costos y tiempos de remediación. La limpieza de una pluma de contaminación, puede tomar varios años. Su costo oscila entre 30 y 100 USD/m³. La naturaleza y profundidad de los contaminantes y el uso de bioaumentación puede aumentar sus costos (Van Deuren y col., 1997).

7.5.3 Mediante la incorporación de cepas aisladas

Esta tecnología se utiliza cuando se requiere el tratamiento inmediato de un sitio contaminado, o cuando la microflora autóctona es insuficiente en número o capacidad degradadora. Consiste en la adición de microorganismos vivos, que tengan la capacidad para degradar el contaminante en cuestión, para promover su biodegradación o su biotransformación. El tamaño del inóculo a utilizar, depende del tamaño de la zona contaminada, de la dispersión de los contaminantes y de la velocidad de crecimiento de los microorganismos degradadores (Riser-Roberts, 1998).

Aplicaciones. Se ha usado para tratar suelos contaminados con herbicidas (2,4-D, clorofam), insecticidas (lindano, clordano, paratión), clorofenoles (PCP) y nitrofenoles, BPCs, HTPs y HAPs (Alexander, 1994). También se ha aplicado efectivamente para tratar desechos con concentraciones relativamente altas de metales (Eweis y col., 1998).

Limitaciones. Antes de llevar a cabo la bioaumentación en un sitio, deben realizarse cultivos de enriquecimiento, aislar microorganismos capaces de cometabolizar o utilizar el contaminante como fuente de carbono, y cultivarlos hasta obtener grandes cantidades de biomasa (Alexander, 1994).

UNIDAD 8

ELABORACION DE PROGRAMA DE REMEDIACION DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS

8.1 ELABORACIÓN DE PROGRAMA DE REMEDIACIÓN UTILIZADO PARA LA DEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS

Para el desarrollo del programa de remediación utilizado para la presente investigación se tomó en cuenta la normativa ambiental vigente que es el Reglamento Sustitutivo del Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador (RS-RAOHE).

8.1.1 Diagnóstico

8.1.1.a) Ubicación exacta: La tierra contaminada se encontraba junto a los sumideros del tanque de almacenamiento de Diesel, las coordenadas geográficas y UTM tomadas con el equipo de GPS, Magellan Explorist 600 son:

	COORDENADAS UTM	COORDENADAS GEOGRÁFICAS
<i>Sumidero</i>	17616074 E	02°13'5 S
<i>Suelo contaminado</i>	9753877 N	079°57'22 O

8.1.1.b) Extensión de Tierra

La Tierra contaminada encontrada en el sitio en mención fue de una superficie de 2 mt, con una profundidad de 0,5 mt y un volumen total de 6 mt³.

8.1.1.c) Identificación de impactos

De acuerdo a lo observado en la zona de la contaminación se pudo constatar que el suelo fue el directamente afectado por el derrame de combustible, además, del agua, ya que el nivel freático es alto en la zona.

8.1.1.d) Determinación del tipo de suelo

El tipo de suelo de la zona es limoso - arcilloso, tiene un pH de 7.

8.1.1.e) Caracterización del suelo

Se determinó la contaminación del suelo en base de análisis físico químico, en el que indica que antes del tratamiento el suelo posee de TPH 31295 mg/kg, con una humedad del 1%, un pH de 8.

8.1.2 Metas de Remediación

En función del diagnóstico anterior y considerando la normativa ambiental aplicable, que el Reglamento Sustitutivo del Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador (RS-RAOHE 1215), el uso posterior del suelo tratado es en jardinerías del Terminal y como la normativa lo exige para estas áreas sensibles zona de manglar, la remediación se debe llegar a menos de 1000 ppm de TPH.

8.1.3 Análisis de Alternativas

La selección de la tecnología de remediación que se aplicó fue de acuerdo la información levantada en el diagnóstico, así como de las metas de remediación definidas; además, el proceso de landfarming tiene una serie de ventajas como son: su bajo costo, no dejar residuos posteriores, no provocar riesgos de contaminación, tanto superficial como subterránea, debido a la migración de hidrocarburos, su impacto ambiental es mínimo, cuando el proceso es bien realizado, y puede resultar una técnica susceptible de empleo en una gran variedad de condiciones climáticas. Si el proceso de landfarming se realiza en condiciones óptimas, se consigue degradar máximo 88% de los hidrocarburos contenidos en los suelos, alternativa que tiene mucha importancia para EP PetroEcuador, por cuanto en caso de que ocurra nuevas contingencias, puedan aplicar la técnica de manera confiable y segura.

8.1.4 Diseño del Plan de Monitoreo

El plan de monitoreo para el programa de remediación de suelos contaminados con hidrocarburos contempla los siguientes aspectos:

8.1.4.a) Técnica de muestreo y métodos analíticos de campo y de laboratorio:

La técnica de muestreo para cada uno de los contaminantes identificados, fue el del cuarteo, tal como se indicó detalladamente en el Capítulo 1; la metodología de campo y laboratorio fue descrita en el capítulo 7.

8.1.4.b) Frecuencia de muestreo:

De acuerdo a la mayoría de investigaciones realizadas en los tratamientos de landfarming, por lo general la toma de muestras se la realiza cada quince días, pero, como ésta es una investigación para evaluar la eficiencia de las pseudomonas en este tipo de remediaciones de suelo, el muestreo se lo realizó más frecuentemente en el monitoreo de humedad, pH y conteo bacteriano; mientras que para el análisis de TPH la toma de muestras se lo realizó dos veces por semana.

8.1.4.c) Determinación de parámetros:

TPH, pH, humedad, Identificación y conteo bacteriano.

UNIDAD 9

DISCUSION

El programa de remediación que se realizó para la presente investigación se estructuró en base a requisitos que esquematiza la autoridad ambiental, los mismos que son los siguientes:

- El diagnóstico ambiental, que fue desarrollado en el ítem 8.1.1.
- Descripción de la(s) tecnología(s) de remediación a aplicarse.

La tecnología utilizada en el programa de remediación del suelo contaminado con hidrocarburos fue la de landfarming, en esta investigación se utilizaron cinco microceldas a las mismas que se le colocó un filtro de arena y sistema de recolección de lixiviados, para luego colocar toda la tierra contaminada y homogenizada distribuida en cada una de las cinco celdas. A cuatro de estas celdas se les colocó bacterias comerciales y la otra quedó como patrón.

A los cincuenta días de inicio del tratamiento, se volvió a dosificar bacterias comerciales, para ayudar a la degradación de hidrocarburos, pero surgió una fase estacionaria durante 40 días. Es por esto que a los 90 días, el proceso de degradación se detuvo, motivo por el cual se realizó una bioaumentación utilizando bacterias autóctonas del lugar tomadas de la celda C0, ya que según se observó en el transcurso del tratamiento ha ido bajando los hidrocarburos totales sin adición de bacterias comerciales, de esta manera se logró reanudar las reacciones bioquímicas, y por supuesto la disminución del contenido de TPH en el suelo de todas las microceldas (C1, C2, C3 y C4).

- Análisis de alternativas tecnológicas ítem 8.1.3
- Uso posterior del sitio remediado y técnicas de rehabilitación.

El suelo ya degradado y remediado fue utilizado para realizar un vivero.

- Cronograma de los trabajos de remediación.
- Monitoreo físico-químico y biológico de la remediación inclusive cronograma.

Los Resultados finales del Análisis de TPH se encuentra descrito en el Anexo 9, 10, 11, 12 y 13 de las microceldas C0, C1, C2, C3 y C4.

- Plazo de ejecución del proyecto

Para la Ejecución del proyecto de remediación de suelo contaminado con hidrocarburos se había previsto realizarlo en 8 semanas, es decir 2 meses, pero en realidad se logró disminuir los hidrocarburos totales en tres meses y alcanzar los

límites permisibles de hidrocarburos en el suelo de esta zona de área protegida (manglar) que son 1000 mg/kg de TPH, llevó un mes más, que en total del tratamiento de biorremediación fueron 4 meses exactamente.

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, M. L. 2019. "Tratamiento de Suelos Contaminados Por Metales Mediante Combunación de Técnicas de Fitorremediación Con Adición de Biochar."
- APHA/AWWA/WEF. 2001. "American Public Health Association, American Water Works Asso- Ciation, Water Environment Federation (APHA-AWWA-WEF) .2001. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22nd Edn, Washington, DC." *Anales de Hidrología Medica* 5(2):186.
- Buendía R., Hildebrando. 2012. "Biorremediación de Suelos Contaminados Por Hidrocarburos Mediante El Compost de Aserrín y Estiércol [Biorestauration of Hydrocarbons Contaminated Soils Using Sawdust and Manure Compost]." *Revista Del Instituto de Investigaciones de La Facultad de Geología, Minas, Metalurgia y Ciencias Geográficas* 15(30):1–15.
- Castillo, Paul. 2009. "Aplicación de La Técnica de Landfarming Para La Remediación de Suelos Contaminados Con Hidrocarburos." *Pirhua* 89.
- Castillo Rodríguez Inés. 2019. "Búsqueda de Agentes Biorremediadores de Hidrocarburos: El Género Rhodococcus." Universidad de Almería, Almería.
- Espinoza, Iván. 2017. *Tipos de Muestreo Aleatorio*.
- Helena, Piedad, Petro Cardona, Gabriela Del, and Carmen Mercado. 2014. "Petróleo En Colombia Bioremediation Contaminated Soil Oil Spill in Colombia Petroleum." 28.
- Ibrahim, Mohsen E., Mohamed A. I. Mansour, and Nada A. El-Boughdady. 2020. "Efficiency of Some Egyptian Soil Fungi in Biodegradation of Petroleum Hydrocarbon." *American Journal of Microbiological Research* 8(1):1–6.
- Joaquín, Benavides López de Mesa, Gladys Quintero, Andrea Liliana Guevara Vizcaíno, Diana Carolina Jaimes Cáceres, Sandra Milena Gutiérrez Riaño, and Johanna Miranda García. 2006. "Bioremediación de Suelos Contaminados Con Hidrocarburos Derivados Del Petróleo." *Nova* 4(5):82.
- Leahy, J. G., and R. R. Colwell. 1990. "Microbial Degradation of Hydrocarbons in the Environment." *Microbiological Reviews* 54(3):305–15.
- Lladó Fernández, Salvador. 2012. *Biorremediación de Suelos Contaminados Por Hidrocarburos Pesados y Caracterización de Comunidades Microbianas Implicadas*. Barcelona.
- MAE. 2015. *REFORMA TEXTO UNIFICADO LEGISLACION SECUNDARIA, MEDIO AMBIENTE, LIBRO VI, Decreto Ejecutivo 3516*. Vol. 0.
- Martínez Sepúlveda, José Alejandro, Juan Manuel Sánchez Yáñez, Tania Volke Sepúlveda, Victoria Eugenia Vallejo Quintero, Lina María Pérez Junco, Paola Andrea Duarte Bautista, Merly Umbacía, Liliana Márquez-Benavides, José Villaseñor Camacho, Luis Felipe Castañeda García, and Miguel Reinaldo Casallas. 2019. *Remediación de Suelos Contaminados: Fundamentos y Casos de Estudio*. Bogota, Colombia.
- Merino, Fernando. 2002. "Biodegradación de Crudos de Petróleo En Terrarios."
- Noboa, Gustavo. 2001. *Registro Oficial* 265.
- Ongom, Robert, Morgan Andama, and Ben Lukubye. 2017. "Physico-Chemical Quality of Lake Kyoga at Selected Landing Sites and Anthropogenic Activities." *Journal of Water Resource and Protection* 09(11):1225–43.
- Ortiz, E. ;. 2021. "Biorremediacion de Suelos Contaminados Con Hidrocarburos Item

- Type Journal Contribution.”
- Pedrique de Aulacio, Magaly. 2009. “Reproduccion Y Recimiento Microbiano.” *Cateedrade de Microbiologia - Facultad de Farmacia, UCV* 1–23.
- Peluffo, Marina. 2016. “Remediación de Suelos Contaminados Con Hidrocarburos Policiclicos Aromáticos Mediante Oxidación Química (Tesis de Doctorado).”
- Peña, Sandra; Zambrano, Eddie. 2017. *LA QUIMICA EN LA EDUCACIÓN SUPERIOR*. Compas.
- Peña, Sandra. 2018. “IMPACTO IMPACT OF ATMOSPHERIC CONTAMINATION IN TWO MAIN CITIES OF ECUADOR.” *Universidad y Sociedad* 10(2):284–88.
- Peña, Sandra, Julio Baquerizo, Eddie Zambrano, and Sandra Fajardo. 2019. *QUÍMICA EN LA EDUCACIÓN SUPERIOR II*.
- Peña, Sandra E., and Ana Aviles. 2017. *Manual de Laboratorio de Petróleo*. Ecuador: Compas.
- Peña, Sandra, Eddie Zambrano, Julio Baquerizo, Antón Loor, and Katherine Solórzano. 2019. “Nuevos Sistemas de Tratamientos de Suelo Contaminado Por Hidrocarburos.” *Journal of Information Systems and Technologies* 09(E21):226–36.
- Peña, Sandra, Eddie Zambrano, Sandra Fajardo, Jaime Paez, and Carlos Muñoz. 2020. *EVALUACIÓN ESPECÍFICA DE LOS COMBUSTIBLES EN LA CIUDAD DE GUAYAQUIL*. GUAYAQUIL: Compas.
- Perez, Samia, Ivette Silva, Gustavo Penueña, and Santiago Cardona. 2015. “Evaluación De Biocombustibles E Hidrocarburos Del Petróleo (Gasolina Y Diesel) En Un Suelo: Proceso De Transporte Y Biorremediación.” *Revista EIA* 12(1):21–46.
- PÍREZ, M., and M. MOTA. 2006. “Morfología y Estructura Bacteriana.” *Temas de Bacteriología y Virología Médica* 1(1):1–10.
- RAOHE. 2001. *Reglamento-Ambiental-de-Actividades-Hidrocarburíferas.Pdf*.
- Severiche, Carlos, Marlon Castillo, and Rosa Acevedo. 2013. *Manual de Métodos Analíticos Para La Determinación de Parámetros Fisicoquímicos Básicos En Aguas*. Fundación. edited by Eumed.net. Cartagena de Indias, Colombia: Eumet.
- Tigmasa, Katherine. 2020. *Estudio de Impacto Ambiental Para La Nueva Planta Industrial de Master Fibra*.
- Trujillo, María, and Juan Ramírez. 2012. “Biorremediación En Suelos Contaminados Con Hidrocarburos En Colombia.” *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* 3(2):37.
- Udom, Innocent, Philip D. Myers, Manoj K. Ram, A. F. Hepp, Edikan Archibong, Elias K. Stefanakos, and D. Yogi Goswami. 2014. “Optimization of Photocatalytic Degradation of Phenol Using Simple Photocatalytic Reactor.” *American Journal of Analytical Chemistry* 05(11):743–50.
- United in Science. 2019. “Accion Por El Clima.” *Naciones Unidas*.
- Vera, Leonardo, Alberto Hernández, Freddy Mesías, Ángel Cedeño, Ángel Guzmán, Katty Ormaza, and Geoconda López. 2019. “Principales Suelos y Particularidades de Su Formación Del Sistema Carrizal-Chone, Manabí, Ecuador.” *Cultivos Tropicales* 40(2):06.
- Villagomez, John, and Kleber Vasconez. 2021. “Propuesta de Biorremediación Con Bacterias En Suelos Contaminados Con Hidrocarburos y PCB’s En La Subestación Eléctrica En El Cantón Baba y Babahoyo - Provincia de Los Ríos.”

Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil.

ColloQUIUM

Editorial - Centro de Formación

ISBN: 978-9942-600-30-1



9 789942 600301