

**APROXIMACIÓN PARA LA APLICACIÓN DE PROCESOS DE
BIOREMEDIACIÓN PARA EL MANEJO DE LA CONTAMINACIÓN CON
RESIDUOS HIDROCARBUROS.**

**MARIA CRISTINA VASQUEZ DE DIAZ.
CODIGO: 1981212**

DIRECTOR: JAIRO PUENTE BRUGES.

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER.
FACULTAD DE CIENCIAS.
ESCUELA DE QUIMICA.
ESPECIALIZACION EN QUIMICA AMBIENTAL.
BUCARAMANGA.
2004.**

**APROXIMACIÓN PARA LA APLICACIÓN DE PROCESOS DE
BIOREMEDIACIÓN PARA EL MANEJO DE LA CONTAMINACIÓN CON
RESIDUOS HIDROCARBUROS.**

MARIA CRISTINA VASQUEZ DE DIAZ.

TRABAJO DE TESIS

DIRECTOR: JAIRO PUENTE BRUGES.

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER.
FACULTAD DE CIENCIAS.
ESCUELA DE QUIMICA.
ESPECIALIZACION EN QUIMICA AMBIENTAL.
BUCARAMANGA.
2004.**

TITULO:

APROXIMACIÓN PARA LA APLICACIÓN DE PROCESOS DE BIOREMEDIACIÓN PARA EL MANEJO DE LA CONTAMINACIÓN CON RESIDUOS HIDROCARBUROS*

AUTOR:

VASQUEZ DE DIAZ, Maria Cristina**

PALABRAS CLAVES:

Contaminación, Biorremediación, Aceites Quemados, Microorganismos, Remoción.

DESCRIPCION DEL CONTENIDO.

La indiscriminada disposición de aceites quemados (Residuos Peligrosos) ha provocado un importante deterioro ambiental, así como efectos nocivos en la salud humana. La recuperación de dichos suelos afectados se puede lograr con la aplicación de procesos de Biorremediación (utilizando técnicas de Bioaumentación y Bioestimulación).

El aislamiento de microorganismos autóctonos del sitio contaminado, se logra utilizando técnicas y medios de cultivos modificados. Se realizó la identificación de bacterias con capacidad de remoción de residuos de hidrocarburos, entre los que podemos destacar los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Nocardia*, *Micrococcus*.

Comprobamos la viabilidad de estas cepas aisladas en medios con concentraciones conocidas de aceites quemados y su crecimiento en cultivos axénicos y en consorcios para realizar esta selección se debe tener conocimiento de las concentraciones de los contaminantes, como son TPH, Pb, Fe, Zn, PCB's, grasas y aceites entre otros.

El montaje de pruebas piloto con diferentes inóculos y control de condiciones con un posterior análisis químico del producto final nos permitirá identificar los microorganismos con mayor eficiencia en remoción de contaminantes.

De acuerdo al análisis de los resultados obtenidos de las pruebas piloto el que proporcione mayor eficiencia de remoción será aplicada a la zona contaminada.

* TESIS

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: Jairo Puente Bruges

TITLE:

APPROACH FOR THE APPLICATION OF PROCESSES OF BIOREMEDIACIÓN FOR THE HANDLING OF THE CONTAMINATION WITH REMAINDERS HYDROCARBONS.*

AUTHOR:

VASQUEZ DE DIAZ, Maria Cristina**.

KEY WORDS:

Burned Oils, Contamination, Biorremediación,, Microorganisms, Removal.

DESCRIPTION OF THE CONTENT:

The indiscriminate burned oil disposition (Dangerous Remainers) has caused an important environmental deterioration, as well as injurious effects in the human health. The recovery of these affected grounds can be obtained with the application of processes of Biorremediación (using technical of Bioaumentación and Bioestimulación). The isolation of primitive microorganisms of the contaminated site, profit being used technical and average microorganisms of modified cultures. The identification of bacteria with capacity of removal of hydrocarbon remainders was made, between which we can emphasize the Pseudomonas sorts, Acinetobacter, Nocardia, Micrococcus. We verified the viability of these isolated means stocks with concentrations known burned oils, and its growth in axénicos cultures and partnerships to make this selection is due to have knowledge of the concentrations of the polluting agents, as they are TPH, Pb, Faith, Zn, PCB's, fats and oils among others.

The assembly of tests pilot with different cultures and control from conditions with a later chemical analysis of the end item will allow us to identify the microorganisms with greater efficiency in removal of polluting agents. According to the analysis of the obtained results of the tests pilot the one that provides greater efficiency of removal will be applied to the contaminated zone.

* THESIS.

** Faculty of Sciences, School of Chemical; Director: Jairo Puente Bruges.

AGRADECIMIENTOS

A la Corporación para la Defensa de la Meseta de Bucaramanga CDMB y en especial al Ing. William Gómez Interventor por su apoyo y colaboración.

A la firma D Ingeniería empresa Contratista de la PTAR-Río Frío por su confianza y apoyo.

A los estudiantes Vladimir Duran, Joel Almanza por su dedicación y responsabilidad con los trabajos asignados.

A la Universitaria de Santander UDES, Programa de Bacteriología por su colaboración en cuanto a materiales y su confianza en el Proyecto, al igual que al equipo de trabajo de los laboratorios.

DEDICATORIA

En primer lugar a Dios quien nos brinda las oportunidades en la vida.
A mi familia en especial a Angélica y Pacho por su ejemplo de dedicación y superación.
A Wilson y Ximenita por su presencia y estímulo continuo.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION	14
HIDROCARBUROS	16
1.1. CONTAMINANTES DE ORIGEN INDUSTRIAL.	22
1.2. CONTAMINACIÓN POR HIDROCARBUROS.	25
1.3. TIPOS DE RESIDUOS CONTAMINANTES.	26
1.3.1. CONTAMINACIÓN DE SUELOS POR HIDROCARBUROS.	26
1.4. ACEITES USADOS.	30
1.4.1. EFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN POR ACEITES USADOS	34
1.4.1.1. CONTAMINACION DEL AIRE.	34
1.4.1.2. CONTAMINACION DEL AGUA.	35
1.4.1.3. CONTAMINACION DEL SUELO.	36
1.4.1.4. EN LA SALUD HUMANA.	36
 2. SIGNIFICADO DE LOS MICROORGANISMOS EN EL AMBIENTE.	 39
2.1. HABITATS DE LOS MICROORGANISMOS	39
2.1.1. EL SUELO	39
2.1.1.1. ASPECTOS FÍSICOS DEL SUELO.	39
2.1.1.2. ASPECTOS QUÍMICOS DEL SUELO.	40
2.1.1.3. HUMUS.	41
2.1.1.4. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL SUELO.	41
2.1.1.5. DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS NO CULTIVABLES.	42
2.1.2. LOCALIZACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS EN EL SUELO.	42
2.1.2.1. LA ATMÓSFERA DEL SUELO.	43
2.1.2.2. DISTRIBUCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA MICROFLORA DEL SUELO.	44
2.2. TÉCNICAS DE DESCONTAMINACIÓN.	46
 3. BIOREMEDIACIÓN.	 47
3.1. TIPOS DE BIORREMEDIACIÓN.	54
3.1.1. BIORREMEDIACION IN SITU.	55
3.1.2. BIOVENTEO.	57
3.1.3. RECUPERACIÓN “BIOVENTING”.	58
3.1.4. RECUPERACIÓN “BIOSPARGING”.	59
3.1.5. TECNOLOGÍA DE LAS BIOBARRERAS.	61
3.1.5.1. DESCRIPCIÓN DE LA TECNOLOGÍA.	62
3.1.5.2. CONDICIONES PARA SU APLICACIÓN.	63
3.1.5.3. DISEÑO DE LA BARRERA BIOLÓGICA.	64

3.1.5.4. IMPLANTACIÓN DE BIOBARRERAS.	64
3.2 BIOFILTRACION.	65
3.2.1. FACTORES A TENER EN CUENTA CON LA BIOFILTRACIÓN	66
3.3. BIORREMEDIACIÓN EX SITU.	66
3.3.1 BIOPILAS.	68
3.3.2. ASPECTOS IMPORTANTES EN LA BIORREMEDIACION.	69
4. RESULTADOS DEL TRABAJO REALIZADO BAJO CONVENIO CDMB – UDES.	72
4.1. LODOS CONTAMINADOS CON ACEITES QUEMADOS (LODOS DE LA VACTOR).	72
4.2.1. TOMA DE MUESTRA.	76
4.2.2. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA.	76
4.2.3. RESULTADOS PRIMER MUESTREO.	77
4.2.4. ANALISIS DE RESULTADOS DEL PRIMER MUESTREO.	77
4.2. RESULTADOS SEGUNDO MUESTREO.	77
4.2.4. ANALISIS DE RESULTADOS DEL SEGUNDO MUESTREO.	80
4.3. RESULTADOS DEL TERCER MUESTREO.	80
4.4. RESULTADOS DEL CUARTO MUESTREO.	80
4.4.1 ANÁLISIS DE RESULTADOS DEL CUARTO MUESTREO.	83
4.4.1.1. MANTENIMIENTO DE CEPAS AISLADAS.	83
4.4.1.2. PRUEBAS DE COMPATIBILIDAD BACTERIANA.	83
4.4.1.2.1. ENSAYOS PRELIMINARES.	83
4.4.1.2.1.1. PRIMER ENSAYO.	83
5. METODO DE BIOREMEDIACIÓN PARA EL MANEJO DE LA CONTAMINACIÓN CON ACEITES QUEMADOS.	85
5.1. DISEÑO DEL MÉTODO.	86
5.1.1. CARACTERIZACIÓN DE LOS CONTAMINANTES.	86
5.1.2. ANÁLISIS FÍSICOS QUÍMICOS REALIZADOS.	86
5.2. ANÁLISIS Y ELECCIÓN DE LAS MEDIDAS BIOCORRECTIVAS.	87
5.2.1. IDENTIFICACION DE LOS FACTORES QUE INFLUYEN EN LA TRANSFORMACIÓN BIOLÓGICA DE LOS CONTAMINANTES.	87
5.2.2. DESIGNAR LAS MEDIDAS BIOCORRECTIVAS.	87
5.3. DISEÑO Y EVALUACIÓN DEL SISTEMA.	88
5.4. CONTROL Y SEGUIMIENTO.	88
5.5. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.	89
5.6. RECOMENDACIONES.	89
6. CONCLUSIONES.	89
7. BIBLIOGRAFÍA.	89

LISTADO DE TABLAS

	Pág.
TABLA 1. CALIDAD DEL CRUDO	17
TABLA 2. SUBPRODUCTOS DEL CRUDO.	20
TABLA 3. TIPOS DE FUEL OIL	21
TABLA 4. SOLUBILIDAD DE HIDROCARBUROS Y DERIVADOS	29
TABLA 5. COMPOSICIÓN ACEITE USADO	31
TABLA 6. MICROORGANISMOS ÚTILES EN BIORREMEDIACIÓN.	51
TABLA 7. ALGUNOS MICROORGANISMOS UTILIZADOS PARA CAPTURAR METALES PESADOS.	52
TABLA 8. BIODEGRADACIÓN AEROBIA Y ANAEROBIA DE COMPUESTOS ORGÁNICOS.	53
TABLA 9. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA GRAM NEGATIVOS.	77
TABLA 10. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA GRAM NEGATIVOS.	77
TABLA 11. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA GRAM NEGATIVOS.	78
TABLA 12. RESULTADOS DE LAS REACCIONES BIOQUÍMICAS CON EL SISTEMA BBL CRYSTAL PARA GRAM POSITIVOS.	78
TABLA 13. PRUEBAS ADICIONALES PARA LA COLONIA V3-5.	79
TABLA 14. DESCRIPCIÓN DE LAS COLONIAS AISLADAS.	80
TABLA 15. RESULTADOS DE LAS REACCIONES BIOQUÍMICAS CON EL SISTEMA BBL CRYSTAL PARA GRAM POSITIVOS.	81
TABLA 16. RESULTADOS DE LAS REACCIONES BIOQUÍMICAS CON EL SISTEMA BBL CRYSTAL GRAM POSITIVOS.	82
TABLA 17: MICROORGANISMOS SELECCIONADOS PARA EL TRATAMIENTO.	85

LISTADO DE FIGURAS

	Pág.
FIGURA 1: PROCESOS DE BIORREMEDIACIÓN.	55
FIGURA 2. BIORREMEDIACIÓN IN SITU.	57
FIGURA 3: TECNICA BIOVENTING.	58
FIGURA 4: MÉTODO DE APLICACIÓN DEL DISEÑO DE SPARGING.	60
FIGURA 5. DISEÑO DEL BIOFILTRO.	66
FIGURA 6. TRATAMIENTO EX SITU. A BIOREACTOR: B. LAGUNA.	67
FIGURA 7. TÉCNICA DE BIORREMEDIACIÓN EX SITU. A. UNIDADES DE TRATAMIENTO SUELO. B. PILAS DE COMPOSTEO.	68
FIGURA 8. EQUIPO VACTOR.	73
FIGURA 9. DESCARGUE DE RESIDUOS ACEITOSOS.	74
FIGURA 10. CARACTERÍSTICAS DE LOS RESIDUOS DE LA VACTOR.	75
FIGURA 11. RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS.	75
FIGURA 12. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS	76
FIGURA 13. ESQUEMA DE SIEMBRA PARA PRUEBAS DE COMPATIBILIDAD MICROBIANA.	84
FIGURA 14. DIAGRAMA DEL SISTEMA DE BIOREMEDIACIÓN.	88

INTRODUCCION

La aplicación de procesos biotecnológicos durante las últimas décadas ha permitido un gran avance en el manejo de la contaminación producida por el desarrollo industrial y en la gestión de los residuos de la Industria Petrolera. Es importante utilizar o aprovechar los procesos de biodegradación ya que permiten el uso de microorganismos que mediante procesos naturales convierten moléculas orgánicas en otras sustancias como biomasa, H_2O y CO_2 . También en el caso de moléculas inorgánicas o las llamadas recalcitrantes que antes se tenían dentro del grupo de no degradables hoy en día se han desarrollado investigaciones donde se han desarrollado procesos biotecnológicos para obtener moléculas menos tóxicas al ambiente y a la salud humana.

La Biorremediación es una tecnología que permite disminuir o manejar los contaminantes generados por el desarrollo industrial el cual esta afectando de una manera considerable el deterioro ambiental tanto del suelo, aire y agua generando productos menos tóxicos o más amigables con el ambiente. Otro aspecto importante es la parte económica, ya que se reporta la gran diferencia de costos de la aplicación de esta tecnología comparada con los tradicionales tratamientos físico-químicos.

El trabajo realizado en conjunto con los estudiantes del programa de BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO Clínico dentro del Convenio CDMB- UDES permitió estandarizar técnicas para aislamiento, identificación y mantenimiento de cepas de gran importancia en los procesos de Biorremediación. A la vez se verifican que se cuenta con cepas de gran importancia para el tratamiento de los contaminantes en estudio, como son los residuos de los aceites quemados Hidrocarburos totales, ácidos orgánicos, metales pesados, etc.

La necesidad de una adecuada recolección, transporte, manejo, tratamiento y disposición de los residuos de aceites quemados es de vital importancia por los graves daños que ocasionan al suelo, aire, agua y a la salud humana

donde si no son manejados o tratados con el tiempo se van transformando en compuestos mas difíciles de degradar.

A nivel mundial y en el caso de Colombia existen reglamentaciones establecidas por el Convenio de Basilea acerca de "Los Residuos peligrosos" dentro de los que están clasificados estos aceites quemados.

Es de gran importancia lograr un acercamiento al tratamiento de estos residuos por medio de los procesos de Biorremediación el cual ya se ha iniciado al contar con las cepas aloctonas o sea adaptadas a las condiciones ambientales del sitio contaminado. La metodología planteada es la establecida por la mayoría de grupos de investigación que han desarrollado estas tecnologías. Realizando el seguimiento adecuado se permitirá tener un buen resultado y adaptarlo a condiciones locales.

Después de obtener estos primeros resultados, se realizará un análisis de las variables establecidas para evaluar los métodos trabajados y en caso tal realizar las respectivas recomendaciones para la aplicación de estos procedimientos biotecnológicos para favorecer al hombre y al ambiente.

1. HIDROCARBUROS

El Petróleo materia prima y principal energético para el desarrollo actual de la civilización, siendo utilizado en diferentes facetas de la vida diaria como lo son transporte, alimentos, fármacos, fertilizantes, pinturas, textiles, etc. Por lo tanto se ha convertido en un material cuyo procesamiento, recuperación, fraccionamiento y descontaminación adquiere una gran importancia por parte de diferentes entidades, empresas y gobiernos, quienes manifiestan su preocupación por la descontaminación del ambiente a causa del petróleo y sus derivados.

Los hidrocarburos están formados por carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y azufre. La composición media del petróleo sería 85%C, 12%H y 3%S+O+N, además de varios elementos metálicos. La composición de los crudos varía dependiendo del lugar donde se han formado. Las diferencias entre unos y otros se deben, a las distintas proporciones de las diferentes fracciones de hidrocarburos y a la variación en la concentración de azufre, nitrógeno y metales.

Son miles los compuestos químicos que constituyen el petróleo y entre muchas otras propiedades estos compuestos se diferencian por su volatilidad (dependiendo de la temperatura de ebullición). Al calentarse, el petróleo se evaporan preferentemente los compuestos ligeros (de estructura química sencilla y bajo peso molecular), de tal manera que conforme aumenta la temperatura los componentes más pesados van incorporándose al vapor.

Las curvas de destilación TBP (del inglés “true boiling point”, temperatura de ebullición real) distinguen a los diferentes tipos de petróleo y definen los rendimientos que se pueden obtener de los productos por separación directa.

La industria mundial de hidrocarburos líquidos clasifica el petróleo de acuerdo a su densidad API (Parámetro Internacional del Instituto Americano del Petróleo, que diferencia las calidades del crudo).

TABLA 1: CALIDAD DEL CRUDO

ACEITE CRUDO	DENSIDAD (G/ CM3)	DENSIDAD GRADOS API
EXTRAPESADO	>1.0	10.0
PESADO	1.0 - 0.92	10.0 - 22.3
MEDIANO	0.92 - 0.87	22.3 - 31.1
LIGERO	0.87 - 0.83	31.1 - 39
SUPERLIGERO	< 0.83	> 39

Fuente: Parámetro Internacional del Instituto Americano del Petróleo. 1998

Tal tipo de clasificación presenta suma importancia a la hora de implementar el procesamiento del petróleo el cual consiste principalmente en:

- ♦ La eliminación de compuestos ácidos (H_2S y CO_2) mediante el uso de tecnologías que se basan en sistemas de absorción-agotamiento utilizando un solvente selectivo. El gas alimentado se denomina “amargo”, el producto “gas dulce” y el proceso se conoce generalmente como “endulzamiento”.
- ♦ La recuperación de etano e hidrocarburos licuables mediante procesos criogénicos (uso de bajas temperaturas para la generación de un líquido separable por destilación fraccionada) previo proceso de deshidratación para evitar la formación de sólidos.
- ♦ Recuperación del azufre de los gases ácidos que se generan durante el proceso de endulzamiento.
- ♦ Fraccionamiento de los hidrocarburos líquidos recuperados, obteniendo corrientes ricas en etano, propano, butanos y gasolina; en ocasiones también resulta conveniente separar el isobutano del n-butano para usos muy específicos.

El gas natural que se obtiene principalmente en baterías de separación está constituido por metano con proporciones variables de otros hidrocarburos (etano, propano, butanos, pentanos y gasolina natural) y de contaminantes diversos. Así la petroquímica se deriva del metano y etano contenido en el gas, de ahí la importancia de este recurso como energético y como petroquímico.

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

- ♦ Las cadenas lineales de carbono asociadas a hidrógeno, constituyen las parafinas.

- ♦ Cuando las cadenas son ramificadas se tienen las isoparafinas.
- ♦ Al presentarse dobles uniones entre los átomos de carbono se forman las olefinas.
- ♦ Las moléculas en las que se forman ciclos de carbono son los naftenos.
- ♦ Cuando estos ciclos presentan dobles uniones alternas (anillo bencénico) se tiene la familia de los aromáticos.

Además hay hidrocarburos con presencia de azufre, nitrógeno y oxígeno formando familias bien caracterizadas, y un contenido menor de otros elementos. Al aumentar el peso molecular de los hidrocarburos las estructuras se hacen verdaderamente complejas y difíciles de identificar químicamente con precisión. Un ejemplo son los asfaltenos que forman parte del residuo de la destilación al vacío; estos compuestos además están presentes como coloides en una suspensión estable que se genera por el agrupamiento envolvente de las moléculas grandes por otras cada vez menores para constituir un todo semicontinuo.

La destilación es un proceso fundamental en la industria de refinación del petróleo, pues permite hacer una separación de los hidrocarburos aprovechando sus diferentes puntos de ebullición (temperatura a la cual hierve una sustancia). El primer proceso que aparece en una refinería es la destilación atmosférica y al vacío.

El petróleo se separa en fracciones que después de procesamiento adicional, darán origen a los productos principales que se venden en el mercado: el gas LP (utilizado en estufas domésticas), gasolina para los automóviles, turbosina para los aviones jet, diesel para los vehículos pesados y combustóleo para el calentamiento en las operaciones industriales.

Las características del crudo, así como la cantidad y calidad de productos que se desean obtener determinan los procesos que deben incorporarse a la refinería:

- ♦ La mayor parte de los productos obtenidos en el proceso de destilación primaria se someten a hidrotratamiento para eliminar principalmente azufre y nitrógeno.
- ♦ Para la generación de las gasolinas se incorporan procesos como reformación catalítica, síntesis de éteres (MTBE y TAME), alquilación e isomerización de pentanos-hexanos, balanceados de tal forma que la mezcla resultante cumplan con la especificación establecida.
- ♦ Los gasóleos de vacío se someten a desintegración catalítica fluida para generar mayor cantidad de destilados ligeros, principalmente gasolina.
- ♦ El residuo de vacío puede también someterse a hidrodesintegración o a coquización para aumentar el rendimiento de destilados, o a procesos de hidrotratamiento o reducción de viscosidad para generar combustóleo.

Existen muchas operaciones en los procesos de la industria del petróleo basadas en la separación física de componentes aprovechando diversos principios (separación física de componentes).

Así del petróleo se obtienen determinados compuestos que son la base de diversas cadenas productivas que determinan en una amplia gama de productos denominados petroquímicos que se utilizan en las industrias de fertilizantes, plásticos, alimenticia, farmacéutica, química y textil, entre otras. Las principales cadenas petroquímicas son las del gas natural, las olefinas ligeras (etileno, propileno y butanos) y la de los aromáticos.

A partir del gas natural se produce el gas de síntesis que permite la producción a gran escala de hidrógeno, haciendo posible la producción posterior de amoníaco por su reacción con nitrógeno, y de metanol, materia prima en la producción de metil-terbutil-éter, entre otros compuestos.

Del etileno se producen un gran número de derivados, como las diferentes clases de polietileno, cloruro de vinilo, compuestos clorados, óxidos de etileno, monómeros de estireno entre otros que tienen aplicación en plásticos, recubrimientos, moldes, etc.

Del propileno se producen compuestos como alcohol isopropílico, polipropileno y acrilonitrilo, que tienen gran aplicación en la industria de solventes, pinturas y fibras sintéticas.

Por deshidrogenación de butanos, o como subproducto del proceso de fabricación de etileno se obtiene el 1.3-butadieno que es una materia prima fundamental en la industria de los elastómeros, para la fabricación de llantas, sellos, etc.

Una cadena fundamental en la industria petroquímica se basa en los aromáticos (benceno, tolueno y xilenos). El benceno es la base de producción de ciclohexano y de la industria del nylon; así como del cumeno para la producción industrial de acetona y fenol. Los xilenos son el inicio de diversas cadenas petroquímicas, principalmente las de las fibras sintéticas.

En las refinerías el crudo pasa a convertirse en un derivado del petróleo. El proceso de refinado pretende de esta manera:

- ♦ Separar el crudo en fracciones diferentes mediante destilación fraccionada o fraccionamiento del crudo.
- ♦ Convertir las fracciones que tienen una menor demanda en el mercado en otras de mayor demanda. Esto se realiza gracias a la técnica de ruptura térmica o catalítica (craqueo).
- ♦ Craqueo térmico: Consiste en la ruptura de las cadenas carbonadas y acción de calor a una temperatura de entre 400 – 650° C. De esta ruptura se obtienen parafinas cortas, olefinas, naftalenos o aromáticos. Craqueo catalítico: Mejoras en el craqueo térmico mediante el empleo de catalizadores.

♦ Modificar las cadenas de carbono de las gasolinas para aumentar la calidad del carburante (reformado) y elevando el poder antidetonante de la gasolina.

♦ Los catalizadores de reformado tienen dos funciones químicas diferentes:

Función metálica: Las reacciones que catalizan los metales (Pt, Re, Ir) en este proceso son las de hidrogenación y deshidrogenación. Función ácida: Esta función la realiza el cloro, y tiene como misión llevar a cabo las reacciones de isomerización de n-parafinas, así como catalizar algunas etapas del proceso de reformado.

♦ Realizar un refinado adicional para eliminar los componentes no deseados, como el azufre.

En la siguiente tabla se muestran los diferentes productos que se pueden obtener del crudo:

TABLA 2: SUBPRODUCTOS DEL CRUDO.

	PRODUCTO	INTERVALO DE TEMPERATURA A EBULLICIÓN	APLICACIONES
FRACCIONES LIGERAS	Gas de refinería	<20° C	Combustible para la refinería
	GLP	<20° C	Calefacción doméstica e industrial
	Gasolina	40-150° C	Carburante para automóviles
	Nafta pesada	150-200° C	Materia prima para productos químicos, disolventes.
FRACCIONES MEDIAS	Queroseno	170-250° C	Lámpara de alumbrado carburante para turborreactores
	Gas Oil	250-320° C	Carburantes para motores diesel, calefacción doméstica
FRACCIONES PESADAS	Fuel Oil ligero	340-400°C	Combustible para buques, locomotoras, etc.
	Fuel Oil	400-500° C	Materia prima para

	pesado		lubricantes, ceras, cremas y aceites.
	Asfalto	>500° C	Pavimentación, techado, impermeabilización, etc.

Fuente: Instituto Mexicano del Petróleo.
<http://www.imp.mx/petroleo/apuntes/tipos.htm>

El Fuel Oil es una mezcla de hidrocarburos alifáticos y aromáticos del petróleo (benceno y derivados del benceno). Puede contener también añadidos como el nitrógeno o azufre. La composición química exacta de cada uno de los Fuel Oil variará dependiendo del origen y de otros factores. El Fuel Oil, según las normas AFNOR (Asociación Francesa de Normalización) NF M 15-010 octubre 1976 se puede clasificar en:

- ◆ Fuel Oil n°1 o fuel oil doméstico
- ◆ Fuel Oil n°2 (contenido máximo en azufre: 4%) o fuel de bodega
- ◆ Fuel Oil n°2 BTS, bajo contenido de azufre (contenido máximo en azufre: 2%)
- ◆ Fuel Oil n°2 TBS, muy bajo contenido de azufre (contenido máximo en azufre: 1%)

Otra clasificación sobre los diferentes tipos de Fuel Oil es:

TABLA 3. TIPOS DE FUEL OIL

<u>FUELOIL</u>	Fuel Oil, General	Fuel Oil, General
<u>FUELOI2G</u>	Fuel Oil Número 2, General	Fuel Oil Number 2, General
<u>FUELOI2H</u>	Fuel Oil Número 2 – Calefacción	Fuel Oil Number 2 - Heating Oil
<u>FUELOIL4</u>	Fuel Oil Número 4	Fuel Oil Number 4
<u>FUELOIL5</u>	Fuel Oil Número 5	Fuel Oil Number 5
<u>FUELOIL6</u>	Fuel Oil Número 6	Fuel Oil Number 6
<u>FUEL6LAP</u>	LAPIO (Fuel Oil de baja densidad)	LAPIO (Low-API gravity fuel oil, a Heavy Type of #6 Fuel Oil)

Fuente: Enciclopedia de contaminantes ambientales (Roy J. Irwin, National Park Service) /1.997

Las características que determinan los usos que se le darán al Fuel Oil son principalmente¹:

- ◆ Viscosidad: Mide la resistencia de un líquido al flujo.
- ◆ Poder calorífico: Representa la cantidad de energía liberada por unidad de masa o volumen del fuel oil durante la reacción química para lograr una combustión completa.
- ◆ Punto de escurrimiento: Es la temperatura más baja a la cual el fuel oil fluirá bajo condiciones de ensayos estándar.
- ◆ Contenido de azufre: El contenido de azufre depende del crudo, del proceso de refinación y del tipo de fuel oil. El bajo contenido de azufre del fuel oil, minimiza los efectos de la corrosión generada por los residuos de la combustión, garantizando un mínimo de depósitos y escoria adherida en los componentes de la caldera.
- ◆ Contenido de agua y sedimentos: La presencia de agua en el fuel oil se debe, generalmente, a la condensación de esta en los tanques de almacenaje, pérdidas de vapor cuando se lo utiliza para la calefacción de los tanques, etc. La presencia de agua y sedimentos puede causar problemas en filtros y quemadores, a su vez puede causar problemas de corrosión en tanques y líneas. La composición química del fuel oil nos permite conocer, además de la toxicidad del compuesto y los posibles efectos sobre el ambiente, el comportamiento del vertido en el mar.

1.1. CONTAMINANTES DE ORIGEN INDUSTRIAL.

Se denomina contaminación a la aparición de una nueva sustancia en un sistema natural (atmósfera, aguas, suelos) o al aumento de la concentración de una sustancia del sistema superando las variaciones típicas y naturales.

La contaminación puede ser química (mediante elementos o compuestos químicos en estado sólido, líquido o gaseoso), física (calor, ruido, radioactividad), o biológica (bacterias, virus y otros microorganismos)².

La contaminación de las aguas superficiales y subterráneas, ya sea debido a residuos urbanos o industriales, puede realizarse a través de una serie de agentes: bacterias, virus y otros microorganismos, materia orgánica, metales pesados (mercurio, cadmio, arsénico, cobre, zinc, cromo y vanadio),

¹ Estos análisis los han realizado el Instituto Cedre de Francia y el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), tras el accidente del petrolero Prestige en las costas gallegas.

² RUZA,T.F., V.B.MARQUES, B.F.FUENTES, A.ALVAREZ, C.TORRALBA, A.GOMEZ, F.SARDA, F.SALCEDO, M.VILLAYERDE, F.MARTIN, M.MONTERO, J.M.SANZ. 1984. Tratado del Ambiente. Tomos I y II. Ed. E.R. LAFER. 437 págs.

detergentes, insecticidas, fungicidas, alguicidas, etc. Los principales contaminantes que llegan a los mares son: aguas residuales de origen urbano, metales pesados, herbicidas, pesticidas, desechos y productos industriales, sustancias radioactivas, petróleo y sus derivados. Los suelos pueden contaminarse con los desechos urbanos (basuras), industriales y radioactivos. Entre los contaminantes más frecuentes emitidos a la atmósfera se hallan los propelentes de aerosoles (propano, butano), óxidos de azufre (principalmente anhídrido sulfuroso), monóxido de carbono, óxidos de nitrógeno (óxido nítrico y dióxido de nitrógeno), hidrocarburos (ej. etileno), compuestos halogenados (cloro, fluoruro de hidrógeno, cloruro de hidrógeno y ciertos haluros), metales tóxicos como el plomo y el mercurio.

La combustión de los combustibles fósiles, carbón, petróleo y gas, libera su energía en forma de calor. La contaminación térmica afecta a la atmósfera y en los casos en que la refrigeración se hace en circuito abierto, afecta al medio receptor de las aguas (río o mar) elevando su temperatura por encima de lo normal, dando lugar a alteraciones en los ecosistemas acuáticos próximos al lugar de vertido.

Otra fuente de contaminación (en ciudades) es el ruido producido por el tránsito y por las actividades de los habitantes: mercados, bares, etc.

El crecimiento industrial y urbano de los últimos años, ha llevado consigo un gran aumento en las cantidades de productos descargados sobre el ambiente, llevando a la toma de medidas de prevención y tratamiento de productos residuales en defensa del ambiente.

El planeamiento de la defensa del ambiente contra la contaminación puede resumirse en algunas acciones de tipo general:

- ◆ Evitar que el contaminante se forme (acción preventiva), mediante la aplicación de técnicas poco contaminantes o sin desechos, que aborden el problema en el origen.
- ◆ Impedir que el contaminante sea descargado al medio receptor en forma incontrolada (acción curativa). Para lograr este objetivo se puede recurrir a dos medidas:
- ◆ Concentrar y retener los contaminantes producidos mediante equipos adecuados de depuración.
- ◆ Tratar de expulsar el contaminante al medio receptor de forma que su dilución sea máxima con el fin de que no produzca efectos nocivos sobre los receptores.

La mayor o menor agresión que una industria haga sobre el ambiente va a depender no solo de aquello que sea objeto de fabricación, de la tecnología y del proceso adoptado para ello, sino también de otro buen número de factores como son las materias primas, la envergadura del centro productivo, las medidas preventivas y correctoras dispuestas, etcétera. No obstante, hablando de forma muy global, algunos subsectores tienen a priori mayor

incidencia en el riesgo de ataque al ambiente que otros; por ello en lo que sigue, y siempre tomando como base informaciones confeccionadas por la Agencia Europea del Ambiente, y de alguna otra fuente adicional; tradicionalmente existen sustancias que generan mayores daños y efectos medioambientales como lo son³:

- Sector Papelero: Emisiones a la atmósfera de partículas, SO₂, NO_x, CH₄, CO₂, SH₂, dioxinas, CO, compuestos clorados, etcétera.
Vertidos de aguas residuales con sólidos en suspensión, materia orgánica, compuestos órgano-clorados, etcétera.
Consumo de agua (no olvidemos que este es un recurso natural limitado) para los procesos industriales.
- Químico, generalmente con: Emisiones a la atmósfera de partículas, SO₂, NO_x, CO, CFCs y olores.
Eventualidades de incendios y explosiones.
Vertidos de aguas residuales con sólidos en suspensión, compuestos y materia orgánica, cadmio, mercurio, cianuros, etcétera.
Consumo de agua para los procesos industriales y la refrigeración.
Contaminación del suelo por residuos químicos, lodos derivados de los tratamientos de gases y aguas, cianuros, etcétera.
- Petroquímico, generalmente con:
Emisiones a la atmósfera de partículas, SO₂, NO_x, benceno, CO, CO₂, SH₂, hidrocarburos aromáticos, olores, etcétera.
Eventualidades de incendios y explosiones.
Vertidos de aguas residuales con hidrocarburos, aceites, fenoles, cromo, efluentes del tratamiento de gases, etcétera.
Consumo de recursos naturales muy limitados.
Contaminación del suelo por residuos peligrosos, lodos derivados de tratamientos, alquitranes, etcétera.
- Metales férreos, generalmente con:
Emisiones a la atmósfera de partículas, SO₂, NO_x, CO, CO₂, SH₂, algunos metales pesados, nieblas ácidas, dioxinas, etcétera.
Eventualidades de incendios y explosiones.
Exposición a determinadas radiaciones.
Vertidos de aguas residuales con sólidos en suspensión, materia orgánica, aceites, ácidos, cianuros, NH₃, fluoruros, metales, etcétera.
Consumo de agua para los procesos industriales.
Contaminación del suelo por lodos, residuos aceitosos, metales pesados, escorias, etcétera.
- Metales no férreos, generalmente con:

³ El ambiente y la industria. En: Reportajes. Diario El Comercio, GIJÓN (Asturias, España). 22-abril-2001.

Emisiones a la atmósfera de partículas SO₂, NO_x, CO, SH₂, ClH, FH, metales (tanto de los llamados 'pesados' como de los 'no pesados'), cloro, hidrocarburos, sílice, etcétera.

Vertidos de aguas residuales con sólidos en suspensión, fluoruros, hidrocarburos y metales, derivados del tratamiento de gases por vía húmeda.

Consumo de agua para los procesos industriales.

Contaminación de suelos por lodos procedentes del tratamiento de aguas y por revestimientos de celdas electrolíticas.

- Cemento, generalmente con: Emisiones a la atmósfera de partículas, CO₂, NO_x, CO y algunos metales pesados.

Vertidos de aguas residuales provenientes de los procesos, contaminada con metales pesados y aceites.

Consumo de materias primas (impacto sobre el suelo).

Contaminación de suelos con residuos y metales.

- Vidrio, generalmente con:

Emisiones a la atmósfera de SO₂, CO, FH, plomo, arsénico, vanadio, hidróxidos, etcétera.

Vertidos de aguas residuales provenientes de proceso, contaminada con metales pesados y aceites.

Consumo de materias primas (impacto sobre el suelo).

Contaminación de suelos con metales y residuos.

- Curtidos, generalmente con:

Emisiones a la atmósfera de SH₂, CO₂, plomo y compuestos de cromo.

Vertidos de aguas residuales formados por efluentes de las soluciones tóxicas utilizadas (con sólidos en suspensión, sulfatos, cromo, etcétera).

Consumo de agua para los procesos industriales.

Contaminación del suelo con lodos de componente crómico.

1.2. CONTAMINACIÓN POR HIDROCARBUROS.

La contaminación por petróleo se produce por su liberación accidental o intencionada en el ambiente, provocando efectos adversos sobre el hombre o sobre el medio, directa o indirectamente.

La contaminación involucra todas las operaciones relacionadas con la explotación y transporte de hidrocarburos, que conducen inevitablemente al deterioro gradual del ambiente. Afecta en forma directa al suelo, agua, aire, fauna y flora.

Además se producen efectos sobre el suelo, en donde las zonas ocupadas por pozos, baterías, playas de maniobra, piletas de purga, ductos y red

camionera comprometen una gran superficie del terreno que resulta degradada.

Esto se debe al desmalezado y alisado del terreno y al desplazamiento y operación de equipos pesados. Por otro lado los derrames de petróleo y los desechos producen una alteración del sustrato original en que se implantan las especies vegetales dejando suelos inutilizables durante años.

Se producen también efectos sobre el agua, como viene a ser el vertido de petróleo u otros desechos sobre aguas superficiales que produce disminución del contenido de oxígeno, aporte de sólidos y de sustancias orgánicas e inorgánicas.

En el caso de las aguas subterráneas, el mayor deterioro se manifiesta en un aumento de la salinidad, por contaminación de las capas con el agua de producción de petróleo de alto contenido salino.

Los efectos sobre el aire, en donde por lo general, se deben a que conjuntamente con el petróleo producido se encuentra gas natural. La captación del gas está determinada por la relación gas/petróleo, si este valor es alto, el gas es captado y si es bajo, es venteado y/o quemado por medio de antorchas.

El gas natural está formado por hidrocarburos livianos y puede contener dióxido de carbono, monóxido de carbono y ácido sulfídrico. Si el gas producido contiene estos gases se quema. Si el gas producido es dióxido de carbono, se lo ventea. Si bien existen reglamentaciones, el venteo y la quema de gases contaminan extensas zonas en la dirección de los vientos.

Otros efectos sobre la flora y la fauna se deben a la fijación en las pasturas, depende de la presencia de arbustos y matorrales, que son los más afectados por la contaminación con hidrocarburos. A su vez estos matorrales proveen refugio y alimento a la fauna adaptada a ese ambiente. Dentro de la fauna, las aves son las más afectadas, por contacto directo con los cuerpos de agua o vegetación contaminada, o por envenenamiento por ingestión. El efecto sobre las aves puede ser letal.

Si la zona de explotación es costera o mar adentro el derrame de hidrocarburos produce daños irreversibles sobre la fauna marina.

Por ultimo se producen efectos por el transporte de petróleo, en donde el transporte de hidrocarburos es el que ha producido los mayores accidentes con graves consecuencias ecológicas, debido a fugas, accidentes en la conducción, atentados terroristas o fallas en el sistema de transporte.

1.3. TIPOS DE RESIDUOS CONTAMINANTES.

1.3.1. CONTAMINACIÓN DE SUELOS POR HIDROCARBUROS.

La extrema dependencia alcanzada hacia los hidrocarburos por el mundo actual y su elevado consumo, han traído aparejados problemas ambientales expresados en términos de contaminación atmosférica por sus productos de

combustión contaminación de aguas, derrames de petróleo y producción y acumulación de residuos no biodegradables (plásticos). Por otra parte, siendo el petróleo, el gas natural y el carbón un recurso natural no renovable, su consumo debería racionalizarse y muchas de sus aplicaciones, sobre todo la energética, sustituirse paulatinamente por fuentes ambientalmente más limpias y duraderas.⁴

La contaminación en suelos y aguas como producto de distintas actividades humanas es un problema crucial de la sociedad moderna. Por ello, científicos argentinos desarrollaron técnicas que constituyen una alternativa para determinar contaminación de manera rápida.

En el Instituto de Geocronología y Geología Isotópica (INGEIS), es un equipo de investigadores de Argentina el cual preocupado por la contaminación en suelos y aguas, implementó una de las técnicas más modernas para su detección, con resultados verificables rápidamente y a bajo costo.

Este análisis de los gases presentes en el suelo incluye técnicas colorimétricas, cromatografía gaseosa y determinaciones isotópicas, al tiempo que se puede dar un monitoreo rápido para comprobar e identificar la existencia de contaminantes volátiles orgánicos en el suelo y en la capa freática, y determinar áreas pasibles de investigación de detalle.

Esta investigación de detalle implica no solo localizar fuentes subterráneas de contaminantes, sino delinear su distribución espacial y establecer la dirección de migración, así como determinar la presencia de subproductos de biodegradación y medir el potencial de migración dentro de edificios e identificar la necesidad de barreras. Es un método probado para reconocimiento de compuestos como PCB's, que frecuentemente se encuentran en los suelos por debajo de los transformadores eléctricos.

Las técnicas empleadas en el INGEIS también permiten detectar anomalías generadas por la presencia natural de hidrocarburos, lo que la convierte en una excelente herramienta para la prospección geoquímica en áreas de interés petrolero o establecer niveles base de concentración de hidrocarburos para el rastreo de potenciales derrames.

Además desde ese instituto se realiza el monitoreo y la evolución de rellenos sanitarios, los cuales pasan a través de una serie de estados que implican la generación de gases. La técnica "permite seguir la evolución, determinar la eventual presencia de compuestos nocivos y establecer criterios correctivos en el diseño y desarrollo de estos rellenos".

El INGEIS⁵, considera que, de esta manera, la Argentina cuenta con una excelente herramienta para la detección rápida y efectiva de la

⁴ DOMENECH, X. Química Ambiental. El impacto ambiental de los residuos. 2ª Edic., Miraguano Ediciones, Madrid. 1994.

⁵ Instituto de Geocronología y Geología Isotópica de Argentina.

contaminación en suelos y aguas, que ayuda a delimitar las áreas afectadas y facilita la planificación de las tareas de remediación.

En Colombia la contaminación de suelos por hidrocarburos se acentuó desde febrero de 1984 cuando se presentó el primer atentado contra los oleoductos donde se dio inicio a un flagelo que le ha costado grandes pérdidas económicas, materiales, humanas y ambientales al país.

Luego de 20 años desde aquel primer atentado la situación tiende a empeorar; los ataques se han incrementado sin límites, motivados especialmente por el conflicto armado que vive el país del que son protagonistas las guerrillas de las FARC, el ELN y paramilitarismo de las AUC. Además del robo de combustible perpetrado por estos mismos grupos insurgentes y por la delincuencia común.

En informes presentados Instituto Colombiano de Petróleo acerca de los derrames de petróleo en ecosistemas tropicales⁶, se contempla "lo que suceda en el suelo, va a repercutir en el aire y a partir de la atmósfera, cualquier cambio que suceda afectará bosques y ríos, y lo que sucede en los ríos repercute en las ciénagas, esteros y lagunas, verdaderas 'salacunas' de miles de especies de plantas y animales que cumplen las primeras etapas de su ciclo de vida en sus aguas".

Según el informe, más del 70% de los derrames de hidrocarburos en el país afectan a ríos y caños, de estos cerca del 30% están asociados a sistemas de ciénagas. Cuando la mancha de crudo flota en el agua, se forma una película de crudo que obstruye la entrada de los rayos solares y restringe el proceso de fotosíntesis, lo que evita la producción natural del oxígeno.

La primera comunidad biológica afectada es el plancton que es alcanzado por lo tóxico del hidrocarburo y muere por asfixia; misma suerte corren las demás plantas responsables de la producción de alimento y oxígeno para el resto de los animales.

Los peces también se ven afectados, pues el hidrocarburo bloquea las estructuras respiratorias y aquellos que se pueden salvar, presentan grados de contaminación que tendría consecuencias en los animales que se alimentan de ellos y hasta en el mismo hombre, aunque, afortunadamente es posible detectar la presencia del hidrocarburo por el olor a petróleo y rechazar su consumo.

Si el derrame del hidrocarburo es en el suelo, éste impide el intercambio gaseoso con la atmósfera. En ese momento se inicia un proceso de evaporación y penetración que depende del tipo del hidrocarburo y las condiciones del terreno.

En este caso sólo aquellos animales invertebrados que habitan en la superficie asociados a las plantas como arañas, ciempiés, tijeretas o

⁶ INFORME DEL INSTITUTO COLOMBIANO DEL PETRÓLEO. "Los derrames de petróleo en ecosistemas tropicales". 2002.

vertebrados como mamíferos, reptiles, pueden huir con más facilidad. "En cambio, aquellos que viven debajo de la superficie del suelo, (los que más participan en el proceso de la formación del suelo), mueren irremediablemente", dice el informe realizado por dos expertos en el tema.

El crudo al secarse forma una capa gruesa y compacta que evita el crecimiento de nuevas plantas y de animales, debido a que evita que el subsuelo tenga contacto con el oxígeno y la luz que ofrece el ambiente exterior. Además, la presencia del hidrocarburo hace más vulnerable al lugar a un incendio. De ello, el país cuenta con una experiencia en donde una chispa provocó un incendio de tal magnitud, que en el caserío Machuca (Antioquia) 46 personas murieron y 70 quedaron heridas como consecuencia del atentado al oleoducto Central en Segovia perpetrado por el ELN el 18 de octubre de 1998.

En los planes de contingencia existen unas medidas de mitigación que inician con el control del derrame para evitar que la mancha avance hasta donde sea posible. Esta medida hace parte del Plan Nacional de Contingencias.

TABLA 4. SOLUBILIDAD DE HIDROCARBUROS Y DERIVADOS

GRUPO DE HIDROCARBUROS	HIDROCARBURO REPRESENTATIVO	SOLUBILIDAD EN AGUA (MGL ⁻¹)
n-Alcanos		
C4	n-butano	61.4
C5	n-pentano	38.5
C6	n-hexano	13.3
C7	n-heptano	2.2
C8	n-octano	0.43
C9	n-nonano	0.12
C10-C14	n-decano	0.05
Alcanos Ramificados		
C4	Isobutano	49
C5	Isopentano	48
C6	2-metilpentano	78
C7	2-metilhexano	2.54
C8	2, 4-dimetilhexano	1.29
C9	2, 2, 4-trimetilhexano	0.53

Cicloalcanos		
C6	Ciclohexano	55
C7	Metilciclohexano	14
C8	1, 2, 4-Trimetilciclopentano	
C9	1, 1, 3-Trimetilciclohexano	1.77
Oleofinas		
C4	1-buteno	222
C5	1-pentano	148
C6	1-hexano	69.7
Monoaromáticos		
Benceno	Benceno	1, 760
Tolueno	Tolueno	470
Xilenos	m-xilenos	172
Etil benceno	Etilbenceno	140
C3-bencenos	1, 3, 4-trimetilbenceno	48.2
C4-bencenos	1, 4-dietilbenceno	15
Fenoles		
Fenol	Fenol	82, 000
C1-fenoles	o-cresol	31, 000
C2-fenoles	2, 4-dimetilfenol	4, 600
C3-fenoles	2, 4, 6-trimetilfenol	14, 000
C4-fenoles	m-etilfenol	

Fuente: Katz y Firoozabadi ("*Predicting Phase Behavior of Condensate/Crude Oil Systems...*", J. Pet. Tech. (Nov. 1978) 1649-1655).

1.4. ACEITES USADOS.

Los aceites usados son mezclas complejas y variables de infinidad de sustancias químicas. Se estima que, por término medio, cerca del 60% de una carga de aceites usados son hidrocarburos en condiciones de reutilización como combustible o como lubricante. La parte restante está constituida por agua, combustible, compuestos metálicos, ácidos y

contaminantes diversos. Por un lado, el lubricante en servicio se degrada, se contamina y son múltiples las reacciones químicas desencadenadas por los compuestos existentes en el aditivo. Por otra parte, la constitución de cargas de aceites usados y su almacenamiento es en general, poco racional, por lo que es frecuente su contaminación adicional (por ejemplo, con PCB s, tintas, disolventes y diversos productos químicos).

Un aceite usado, por su naturaleza y composición, se presta a ser utilizado como medio portador de cualquier producto orgánico tóxico o peligroso que de forma fraudulenta haya sido mezclado con el aceite para eliminarlo a un costo bajo. Esta es una práctica que se da con excesiva frecuencia, ocasionando contaminaciones en los aceites usados.

Los aceites usados son una mezcla muy compleja de los productos más diversos. Un lubricante está compuesto por una mezcla de una base mineral o sintética con aditivos (1-20%). Durante su uso se contamina con distintas sustancias, tales como:

TABLA 5. COMPOSICIÓN ACEITE USADO

Agua	
Partículas metálicas	ocasionadas por el desgaste de las piezas en movimiento y fricción
Compuestos organometálicos	conteniendo plomo procedente de las gasolinas
Acidos orgánicos o inorgánicos	originados por oxidación del azufre de los combustibles
Compuestos de azufre	Provenientes desde su origen
Restos de aditivos	fenoles, compuestos de cinc, cloro y fósforo
Compuestos clorados	Disolventes, PCBs y PCTs
Hidrocarburos polinucleares aromáticos (PNA)	Parecen tener su origen en la oxidación de las gasolinas, Son unos compuestos muy peligrosos puesto que entre ellos se puede encontrar el cancerígeno Benzo(a) pireno (C20H12) Y alguno de sus derivados alquílicos: Naftaleno, Antraceno, Benzo (a) antraceno, Benzo (a) pireno, Pireno,

Fuente: Rehúso - Reciclaje de Aceites Lubricantes. Informe REMAR AR Ing. Hugo L.D.Allevato. Octubre 2001

La experiencia contrastada por la Comisión Europea de Regeneración permite afirmar que los productores de aceites usados, unas veces por ignorancia, otras por negligencia y muchas para desembarazarse de otros

residuos, utilizan los aceites usados como medio de evacuación de aquellos y con ello ahorran cantidades importantes de dinero que les costaría eliminarlos legalmente.

Como contiene innumerables productos venenosos, cancerígenos, tóxicos, irritantes y no es biodegradable, el aceite usado está automáticamente clasificado como un "residuo peligroso" y como tal tiene que ser manipulado, trasvasado, recogido, almacenado, tratado y utilizado, de acuerdo con la legislación específica. En Portugal, la legislación aplicable se concreta en el Decreto Ley 88 de 1991, política comunitaria de ambiente de la Unión Europea establecida en el V Programa de Acción denominado "Hacia un desarrollo sostenible" (1993-2000), en el Reglamento CEE 1836/93, en España la legislación señala el Real Decreto 952/1997 de 20 de junio, por el que se modifica el Reglamento 833/88 de Residuos Peligrosos. Legislación nacional relevante para el tratamiento de aceites usados, Decreto Ley nº 88/91, de 23 de febrero (Regula la actividad de almacenaje, recogida y quema de aceites usados), Disposición nº 240/92 de 25 de marzo (Aprueba el Reglamento de Acreditación de las Actividades de Recogida, Almacenaje, Tratamiento Previo, Regeneración, Recuperación y Combustión e Incineración de los Aceites Usados), Disposición nº 1028/92, de 5 de noviembre (Establece normas de seguridad e identificación para el transporte de aceites usados),

Despacho conjunto DGE/DGQA, de 18 de mayo de 1993 (Define aceites usados y las especificaciones a que deben obedecer los aceites usados que se utilizarán como combustible).

En Colombia tenemos varias leyes y decretos que reglamentan la contaminación del suelo, agua y manejo de Residuos Peligrosos como son :

- Ley 253/96, Ratifica el Convenio de Basilea –ONU 22-03-89
- L 430/98 Residuos Peligrosos (Recolección, manejo, disposición)
- L 491/99 Penalización contaminación suelo y aguas.
- D 1875/79. Prevención contaminación medio marino.
- D948/95 Contaminantes descargados a la atmósfera.
- D321/99 PCN
- D 948/94 Prohibición uso RP como combustible.
- D 02/82 Normas emisiones.
- L 430/98 Minimizar RP.
- Res. 318/2000 Manejo técnicos aceites usados. DAMA
- D 415/ 98 Casos uso aceites como combustible.

Además de ser un producto de elevado riesgo para la salud, por contacto con el cuerpo humano, su vertido en la Naturaleza constituye una agresión ecológica violentísima. Estudios eco-biológicos señalan que el contacto de

un aceite usado sobre el suelo destruye la flora de tal forma que ésta sólo se recompone totalmente transcurridos 15 años. Los mismos estudios indican que el vertido de 5 litros de aceite usado sobre el agua origina la formación de una película aceitosa con diámetro de 5 kilómetros. Los vertidos en los basureros provocan la inhibición del sistema de depuración de las estaciones de procesamiento.

La forma tradicional de reutilización de los aceites usados ha sido su quemado, aprovechando su excelente potencial energético. Sin embargo, la quema sin un pre-tratamiento que le retire las sustancias nocivas sólo agrava el problema del impacto ambiental, pues es más peligrosa la polución atmosférica provocada que la contaminación del suelo y del agua debida al vertido.

El hecho de que el aceite usado sea simultáneamente un residuo peligroso y tenga un potencial económico abre las opciones de su utilización de un modo que sea aceptable y pueda contemplar las dos vertientes, a saber, el trasvase no nocivo y la contribución al ahorro energético de una forma rentable.

El incremento de las ventas de lubricantes en los hipermercados vino a acentuar la tendencia al "hágalo usted mismo" respecto al cambio de aceite por parte de los automovilistas, aumentando así el riesgo de vertidos a la Naturaleza.

El actual marco legal impone reglas que obligan a los usuarios de lubricantes y enmarcan las actividades de recogida, almacenaje y tratamiento de aceites usados, las cuales sólo se pueden desarrollar por entidades acreditadas para tales efectos. La violación de estas reglas en países de la CEE está castigada por una variedad de multas y penas. En Colombia el Código Penal⁷, al incluir la figura de "crimen ecológico", prevé la pena de prisión para los responsables de tal violación. Las modalidades previstas para el destino de los aceites usados son su reutilización (como combustible o como aceites base re-refinados) o la incineración, ambas bajo reglas químico-ecológicas definidas.

Todo aceite lubricante, de transmisión o hidráulico con base mineral o sintética de desecho que por efectos de su utilización, se haya vuelto inadecuado para el uso asignado inicialmente, estos aceites son clasificados como Residuo Peligroso por el Anexo I, numerales 8 y 9 del Convenio de Basilea, el cual fue ratificado por Colombia mediante la Ley 253 de enero 9 de 1996, dichos aceites se les debe ser removidos los componentes contaminantes de carácter físico y/o químico hasta niveles aceptables para su disposición técnica adecuada y el uso ambientalmente razonable. Está

⁷ LUPIEN ROSENBERG ET ASSOCIÉS, Utilización en Colombia de Aceites Usados como Energéticos en Procesos de Combustión, Octubre de 2001.

reglamentación hasta el momento se ha implementado por la Resolución Distrital 318 del 14 de febrero de 2.000 en Bogotá D.C

El mercado de aceites lubricantes de origen mineral ó sintético en Colombia fluctúa alrededor de 50 millones de galones anuales, de los cuales se ha calculado un potencial de recuperación cercano a los 17.7 millones de galones de aceites usados. Se estima que en el Distrito Capital se consumen anualmente cerca de 15 millones de galones, y en Cundinamarca 2 millones de galones de este tipo de aceites, de los cuales aproximadamente el 30% se convierten en aceites usados, susceptibles de tratamiento para su aprovechamiento y/o disposición final.

El término reciclado se aplica a los procesos capaces de devolver a un residuo ciertas características que permitan una nueva utilización del mismo. Este es el camino que debe utilizarse siempre que sea posible para la eliminación de los aceites Usados o Residuales.

1.4.1. EFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN POR ACEITES USADOS

1.4.1.1. CONTAMINACION DEL AIRE

La eliminación del aceite usado por combustión solo o mezclado con fuel-oil, también origina graves problemas de contaminación, a menos que se adopten severas medidas para depurar los gases resultantes.

Los compuestos de cloro, fósforo, azufre, presentes en el aceite usado dan gases de combustión tóxicos que deben ser depurados por vía húmeda, otro gran problema asociado al anterior lo crea el plomo que emitido al aire en partículas de tamaño submicrónico perjudica la salud de los seres humanos, sobre todo de los niños. El plomo es el más volátil de los componentes metálicos que forman las cenizas de los aceites usados, por lo que puede afirmarse que, prácticamente, cuando se quema aceite todo el plomo es emitido por las chimeneas.

La cantidad de plomo presente en el aceite usado oscila del 1 al 1, 5 por 100- en, peso y proviene de las gasolinas y de los aditivos. Estudios realizados en los Países Bajos han estimado que si llegaran a quemarse las 70.000 toneladas año de aceite usado que pueden recogerse, se recargaría la atmósfera con 350 toneladas adicionales de plomo, lo que representaría una tercera parte mas de lo que actualmente emiten los escapes de los vehículos.

Por tanto, las instalaciones donde haya de quemarse aceite usado deberán estar dotados de un eficaz, pero muy costoso sistema depurador de gases. De lo contrario, antes de su combustión deberá someterse el aceite usado a un tratamiento químico de refinado para eliminar previamente sus contaminantes, el aceite que se obtiene es preferible, desde el punto de vista económico, utilizarlo para ser regenerado.

Si se opta por quemar una lata de 5 litros de aceite usado, sola o con fuel, emitiría una contaminación atmosférica a través de la combustión incontrolado de los mismos, debido a que los componentes de metales, cloro, que contienen producen gases tóxicos que deben ser depurados contaminarían un volumen de aire equivalente al que respira un adulto a lo largo de 3 años de su vida.

1.4.1.2. CONTAMINACION DEL AGUA.

Los aceites no se disuelven en el agua, no son biodegradables, forman películas impermeables que impiden el paso del oxígeno y matan la vida tanto en el agua como en tierra, esparcen productos tóxicos que pueden ser ingeridos por los seres humanos de forma directa o indirecta.

El aceite usado no puede verse en el agua 1 lt. de aceite contamina 1.000.000-lts. de agua.

5 litros de aceite usado, capacidad corriente del carter de un automóvil, vertidos sobre un lago cubriría una superficie de 5.000 m² con un film oleoso que perturbaría gravemente el desarrollo de la vida acuática

Como se ve uno de los puntos ambientales donde puede producirse una polución muy importante es en el agua. El lubricante que se pierde de los mecanismos, el lubricante usado que se elimina a través de desagües y que alcanza las capas freáticas. El vertido de aceites usados en los cursos de aguas deteriora notablemente la calidad de las mismas, al ocasionar una capa superficial que impide la oxigenación de las aguas y produce la muerte de los organismos que las pueblan.

El aceite usado altera el sabor del agua potable, y por ello debe evitarse la presencia del mismo en las aguas de superficie y en las subterráneas. Según el doctor K. Reimann, del Instituto Biológico Experimental Bavaro de Munich, concentraciones de aceite usado en agua de 1 a mg/l. convierten aquella en impropia para el consumo humano. El doctor J. Holluta establece un valor límite de 0, 44 mg/l para alterar considerablemente el sabor del agua potable, mientras que el doctor Knorr ha contestado valores inferiores, todos los sujetos de su experiencia detectaron alteración del sabor para concentraciones de 0, 01 mg./l. y tres sujetos de cada cinco perciben todavía una diferencia de sabor para un contenido en aceite usado de 0, 001 mg/L.

Además, los aceites usados vertidos en el agua originan una fina película que produce separación entre las fases aire- agua. Con ello se impide que el oxígeno contenido en el aire se disuelva en el agua, perturbando seriamente el desarrollo de la vida acuática.

A estas dificultades se debe añadir los riesgos que implican las sustancias tóxicas contenidas en los aceites usados, vertidos en el agua que pueden ser ingeridas por el hombre o los animales. Dichas sustancias tóxicas

proviene de los aditivos añadidos al aceite y engloban diversos grupos de compuestos tales como: fenoles, aminas aromáticas, terpenos fosfatados y sulfonados di-alkil-ditiofosfato de cinc, detergentes, poli-isobutilenos, poliésteres., que durante el uso del aceite a temperaturas elevadas forman peróxidos intermedios que son muy tóxicos.

1.4.1.3. CONTAMINACION DEL SUELO.

El impacto ocasionado por la disposición de estos residuos incluyen compactación del suelo, daño o destrucción de la rizosfera y suelo superficial, erosión y pérdida de suelo debida a la pérdida de vegetación, contaminación por compuestos inorgánicos (sales y sulfatos) y orgánicos especialmente hidrocarburos.

Estos depósitos permiten que los compuestos se filtren y los sólidos y grasas permanezcan en la superficie o sean llevados hacia tierras más bajas.

Las comunidades de los microorganismos son alteradas por los contaminantes, seleccionándose de esta forma las comunidades resistentes a dichos tóxicos desapareciendo y disminuyendo las especies menos resistentes. Dada la alta tasa de mutaciones que poseen los microorganismos en general se deduce que esta mutación de los microorganismos puede ser más nociva que benéfica para el equilibrio del ecosistema del suelo.

Los microorganismos del ecosistema intervienen en la descomposición de la materia orgánica muerta y en el ciclo de los nutrientes y en las cadenas tróficas. Si algún factor externo altera las poblaciones bacterianas altera en consecuencia el ecosistema.

Estos contaminantes además pueden producir alteraciones en las raíces de las plantas, restando el vigor a la vegetación y en muchos casos matándola y en muchos casos la desaparición disminución de las poblaciones de la micro fauna propias del suelo.

Cuando los contaminantes llegan a zonas cultivadas, se registran pérdidas en las cosechas ya que muchos cultivos mueren en contacto con los contaminantes. En muchos casos la productividad del suelo bajo lo que influye de una forma directa en la economía del suelo

1.4.1.4. EN LA SALUD HUMANA

Con base en lo anterior, el manejo inadecuado de los aceites usados puede causar afectación a la salud humana y al ambiente. En la salud humana los

metales presentes en los aceites usados pueden presentar los efectos que se describen a continuación⁸:

- PLOMO – Los síntomas que puede producir son la fatiga, dolores de cabeza, óseos y abdominales, trastornos del sueño, dolores musculares, impotencia y trastornos de conducta, anemia, delirio, esterilidad, daños al feto, problemas de cáncer y la muerte.
- CROMO - Trae como consecuencia afecciones locales y generales como son la dermatitis, ulceraciones del tabique nasal y la piel, bronquitis, y irritaciones del tracto respiratorio.
- BARIO - Puede llegar a producir problemas del tracto respiración, presión sanguínea, cambios de ritmo cardíaco, irritación estomacal, inflamación cerebral, y daños al hígado, riñón y corazón.
- ALUMINIO – El aluminio ha sido relacionado con problemas respiratorios, al sistema nervioso y huesos y con defectos desde el nacimiento.
- ZINC – Causa problemas estomacales, náuseas, vómito, anemia, y afecta el páncreas, los pulmones y la temperatura corporal.

Los halógenos y compuestos halogenados son sustancias catalogadas como contaminantes atmosféricos primarios que se destacan por su acción tóxica sobre las plantas y el ser humano.

Los aceites usados provenientes del sector eléctrico o que hayan sido mezclados con aceites dieléctricos de desecho, pueden estar contaminados con Bifenilos Policlorados (PCB's), que son mezclas de compuestos químicos orgánicos sintéticos fabricados por el hombre para su uso comercial a partir de 1929⁹. Los PCB's fueron utilizados en cientos de aplicaciones industriales y comerciales incluyendo la fabricación de fluidos dieléctricos, bases para la producción de tintas de impresión, pinturas, plásticos, cauchos, aceites para máquinas, sellantes, bombas de vacío, sistemas hidráulicos, compresores e intercambiadores de calor.

Estudios sobre consecuencias de la exposición a PCB's han indicado síntomas como cloracné (una forma severa de acné), irritación en los ojos, posibles cánceres rectales y del hígado, problemas neurológicos y menor peso en los niños al nacer así como un coeficiente intelectual más bajo de lo normal y un desarrollo motriz desmejorado.

Cuando los aceites usados que contienen compuestos clorados se disponen como combustible, se generan dioxinas y furanos presentando efectos negativos sobre el organismo. Estos compuestos tóxicos son térmicamente estables (hasta una temperatura aproximada de 600°C), liposolubles y poco solubles en agua por lo tanto muy estable y persistente al medio.

⁸ Ibid P 16.

⁹ US Environmental Protection Agency – USEPA.

Las principales afectaciones a la salud humana generada por la exposición a dioxinas y furanos, se manifiestan a nivel de la piel presentando acné, hiperpigmentación, hipoqueratosis, y a nivel del sistema nervioso presentado neuropatías, disfunciones sexuales y neuritis.

- GASES que contienen aldehídos, cetonas, compuestos aromáticos, CO₂ son irritantes y actúan sobre el tejido respiratorio superior, ahogos, asma, bronquitis, efectos mutantes., Cáncer.
- ELEMENTOS como Cloro, NO₂, SH₂, Sb (antimonio) Cr (cromo) Ni (níquel) Cd (cadmio) Mn (manganeso) Cu (cobre) actúan sobre el tejido respiratorio superior y tejido pulmonar.
- OTROS ELEMENTOS como - CO, disolventes halogenados (tri, per.), SH₂ producen: efectos asfixiantes, impiden el transporte de oxígeno y por tanto la respiración de la célula.
- Los disolventes halogenados tienen efectos anestésicos y narcóticos se acumulan en el hígado con posibles efectos cancerígenos.
- METALES como Pb (plomo), Cd (cadmio), Mn (manganeso), tienen efectos tóxicos sobre el riñón, el cadmio además efectos cancerígenos sobre la próstata y el cromo sobre el pulmón.
- COMPUESTOS AROMÁTICOS como tolueno, benceno, pueden llegar a provocar leucemias, otros hidrocarburos más ligeros se acumulan en la sangre y podrían llegar a producir parálisis.

Dado el gran riesgo asociado al manejo inadecuado de los aceites usados, las autoridades ambientales han realizado esfuerzos para establecer a través de manuales, las normas técnicas y procedimientos de obligatorio cumplimiento para los actores de la cadena de gestión, con el fin de garantizar el adecuado manejo, tratamiento y/o disposición final de estos residuos.

2. SIGNIFICADO DE LOS MICROORGANISMOS EN EL AMBIENTE.

El papel de los microorganismos en el ambiente es doble:

- Suministran los compuestos inorgánicos con una valencia adecuada para que las plantas superiores puedan utilizarlos (ciclos del nitrógeno y del azufre)
- Contribuyen a la continua descomposición y mineralización de la materia orgánica en putrefacción.

La actividad de los microorganismos descomponedores es fundamental para permitir el reciclaje de materia orgánica fijada en las plantas superiores: los herbívoros consumen una parte muy limitada de esta materia orgánica porque la relación C:N de esta materia orgánica (alrededor de 200:1) es mucho mayor que la conveniente para los animales (en torno a 20:1).

Otra ventaja adicional de los microorganismos es que ellos mismos se incorporan a los detritus mejorando así la relación C:N (para los microorganismos oscila entre 6:1 y 12:1).

Por otra parte, los microorganismos son indispensables para la descomposición de materia orgánica en ausencia de aire y para la fijación de CO₂ en condiciones de metanogénesis, lo que determina cambios globales importantes en los niveles de oxidación del material orgánico en ambientes anóxicos.

2.1. HABITATS DE LOS MICROORGANISMOS

2.1.1. EL SUELO

2.1.1.1. ASPECTOS FÍSICOS DEL SUELO: el suelo está compuesto principalmente por:

- Minerales (primarios o secundarios) derivados de la roca madre, que suponen en torno al 50% del volumen;

- Materia orgánica que representa en torno al 30% del volumen, aunque dependiendo del tipo de suelo puede variar;
- Aire y agua, que ocupa la mayor parte del volumen restante, Microorganismos, que pueden representar el 1% del volumen total.

La contribución de los microorganismos a las características físicas del suelo final es importante: los microorganismos ayudan al proceso de fragmentación y transformación química de los suelos y se establecen con rapidez en las superficies recientemente erosionadas con lo que contribuyen al desgaste de la roca. Por otra parte, los microorganismos pueden liberar compuestos químicos al suelo (ácidos orgánicos, agentes quelantes, fenoles, etc.) que contribuyen a incrementar la erosión.

Los procesos naturales de formación de suelo producen horizontes en que se diferencian los estratos.

2.1.1.2. ASPECTOS QUÍMICOS DEL SUELO:

La materia orgánica del suelo sufre procesos de oxidación que llevarán a la producción de CO_2 y H_2O . Sin embargo, una parte de la materia orgánica escapa a este proceso de oxidación y se transforma en grandes macromoléculas que no son solubles y constituyen la fracción denominada húmica (o humus). En los suelos que no son totalmente maduros pueden extraerse fracciones solubles por tratamientos suaves; estas fracciones representan probablemente pasos intermedios en el proceso de humificación.

En ciertos suelos puede detectarse una actividad enzimática no despreciable, a pesar de que el contenido proteico del suelo es muy bajo. Esto es más frecuente en ciertos suelos de alto componente arcilloso y probablemente se debe a que la arcilla, debido a su carga eléctrica neta, actúa como un intercambiador iónico reteniendo enzimas procedentes de la descomposición de tejidos y células. Estas actividades enzimáticas son más frecuentes en suelos ricos desde el punto de vista agrícola en los que la composición de arcillas es también favorable.

La fracción orgánica estable de los suelos contiene prácticamente el 90% del fósforo de los mismos, este fósforo no es directamente asimilable por las plantas y quizá se encuentra fuertemente unido a los componentes arcillosos del suelo.

La mayor parte de los polisacáridos del suelo se encuentra en una forma no fácilmente extraíble y probablemente se encuentre asociada a macromoléculas en fase de humificación. Del resto extraíble tiene especial importancia la fracción correspondiente a los exopolisacáridos bacterianos porque su alta resistencia a la degradación les hace especialmente

interesantes a la hora de formar los microhábitats porosos en los que viven los microorganismos edáficos.

2.1.1.3. HUMUS:

Es el producto orgánico insoluble en agua es la parte más estable del suelo. Se compone de tres fracciones separables por su solubilidad en ácidos y bases (ácido fúlvico), en ácidos pero no en álcalis (ácido húmico) o insolubilidad en ambos (humina). Probablemente estos productos representan tres grados de polimerización diferentes de la misma molécula que, por otra parte, presenta características químicas que recuerdan a la de la lignina.

El origen del humus es, probablemente, mixto:

- Ciertos microorganismos producen sustancias pardas similares a los ácidos húmicos (*Azotobacter spp.*, *Streptomyces spp.*)
- Ciertos hongos pueden producir polímeros fenólicos
- La presencia de arcilla puede ayudar en el proceso de polimerización de los compuestos anteriores.

El humus es extraordinariamente estable y el periodo de degradación de los compuestos húmicos (que varían entre los distintos tipos de suelos) oscila entre los 5 y los 2000 años.

2.1.1.4. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL SUELO:

Los microorganismos edáficos se distribuyen en el suelo de manera no homogénea ocupando microhábitats producidos en los poros de las partículas del suelo. Por consiguiente, los resultados de los estudios de microbiología del suelo representan los promedios de los efectos de los microorganismos que ocupan los diferentes microhábitats.

Los microorganismos del suelo pueden estudiarse utilizando una batería de procedimientos de microbiología clásica que comprenden procesos de enriquecimiento para facilitar la detección de microorganismos poco frecuentes, sistemas de enumeración directa realizando preparaciones microscópicas de cantidades conocidas de suelo que se tiñen con colorantes o agentes fluorescentes específicos, técnicas de siembra en masa, determinación del número más probable, determinación de coliformes y cualquier otro método clásico. Por otra parte, resulta útil la determinación de la biomasa total del suelo por métodos como recuento total y corrección por el volumen celular, pruebas de ATP del suelo (sensible hasta el nivel de 10^{-14} g de ATP), método de la fumigación de cloroformo (basado en una eficiencia del 40% para la transformación de materia orgánica en CO₂, y determinación de sustancias de grupos específicos. Es también relevante

el estudio de la distribución de los microorganismos en el suelo tomando muestras a diferentes niveles.

Hasta ahora no se han empleado todas las técnicas de manera coordinada de forma que no se tienen muchos resultados completamente coherentes sobre los procesos microbiológicos del suelo. En cualquier caso, los estudios preliminares realizados permiten realizar predicciones simples sobre las dinámicas de las poblaciones microbianas del suelo y sobre su influencia en los procesos de descomposición de material orgánico.

2.1.1.5. DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS NO CULTIVABLES:

Todos los métodos anteriores se basan en la identificación y aislamiento de los microorganismos del suelo. Esto es sólo posible cuando dichos microorganismos sean cultivables. Se ha observado que la fracción de microorganismos cultivables representa una fracción muy pequeña del total de microorganismos. Esto puede deberse a dos causas

- Ciertos microorganismos normalmente cultivables entran en fase en las que no lo son más (por ejemplo: ciertas *Pseudomonas* que son sometidas a tratamientos con frío o con desecación pasan por fases de no cultivabilidad)
- Hay microorganismos que no son cultivables en absoluto con las técnicas actuales.

Cuando se estudia microscópicamente un suelo puede observarse una gran cantidad de formas microbianas que luego no aparecen en los cultivos finales. Cuando los microorganismos son claramente identificables mediante microscopía gracias a tinciones diferenciales o a morfologías características dichos microorganismos pueden ser estudiados *in situ*; sin embargo, en la mayoría de los casos las variaciones morfológicas son demasiado leves para que los diferentes grupos sean identificables y su estudio individualizado no es factible.

Para estos casos, se ha desarrollado una tecnología basada en el aislamiento de ADN o ARN del suelo y posterior amplificación del material genético correspondiente al ARN ribosomal. Este tipo de estudio permite identificar muchos más microorganismos lo que ha permitido valorar la complejidad real de la microbiología del suelo.

2.1.2. LOCALIZACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS EN EL SUELO.

Los microorganismos edáficos no se encuentran ocupando todo el volumen interparticular en el suelo sino que se localizan adheridos a la superficie de las partículas del suelo. Esto supone una fracción relativamente pequeña (<1%). El proceso de adsorción de los microorganismos a la superficie de las

partículas es complejo y no completamente comprendido: parece ser que las interacciones electrostáticas entre las partículas de arcilla y las paredes celulares bacterianas son de gran importancia; pero no siempre pueden explicarse por interacción electrostática simple la retención de las bacterias por el suelo y hay que considerar otras fuerzas débiles como las interacciones de Van der Waals. Por otra parte, en ciertos casos se producen estructuras de los microorganismos que coadyuvan a su fijación al sustrato, estas estructuras son del tipo de fimbrias y Pili en las bacterias.

En cualquier caso, la organización de los microorganismos en biopelículas («biofilms») en los suelos es de importancia capital para entender la biología de estos ecosistemas. En las biopelículas se alcanzan concentraciones elevadas de nutrientes fijados que en disoluciones se encuentran demasiado diluidos como para permitir el crecimiento normal de los microorganismos.

Un aspecto importante de la adsorción de los microorganismos por interacciones electrostáticas con los materiales del suelo (lo que explica que suelos orgánicos o arcillosos puedan presentar recuentos microbianos muy superiores a los de suelos arenosos, por ejemplo) es el efecto de tampón que desempeñan las arcillas. Las superficies fuertemente cargadas, como la arcillosa, desempeña un doble papel: aporta nutrientes para el crecimiento de los microorganismos actuando como intercambiador iónico, lo que incrementa la concentración efectiva de los nutrientes; actúa como tampón que permite eliminar o disminuir los efectos nocivos de una excesiva acidificación del microambiente bacteriano del suelo producido por la excreción de ácidos por las bacterias. En este sentido, se ha relacionado en ciertos suelos el predominio de hongos patógenos (*Fusarium oxysporum* var. *cubana*, causante de la roña de la banana; e *Histoplasma capsulatum* causante de la histoplasmosis humana) con los bajos niveles de arcillas de forma que las poblaciones bacterianas estaban desfavorecidas en estos suelos como consecuencia de la acidificación del microambiente, mientras que en suelos más arcillosos el efecto tampón de la arcilla permite que las poblaciones bacterianas predominen y controlen la proliferación de estos hongos indeseables.

2.1.2.1. LA ATMÓSFERA DEL SUELO:

La difusión del oxígeno está muy limitada por lo que se produce una situación de, microaerofilia en el suelo. Como consecuencia de las actividades respiratorias de los microorganismos las concentraciones de CO₂ pueden ser suficientemente altas para dificultar el crecimiento de ciertas formas bacterianas aerobias al mismo tiempo que estimulan el crecimiento de ciertas especies fúngicas que crecen mejor en estas tensiones de CO₂ relativamente elevadas que en las más bajas de la atmósfera normal.

Existen otros gases en el suelo cuyo efecto puede ser variado sobre los microorganismos. Por otra parte, ciertos microorganismos pueden producir gases que tienen importancia agrícola: así, ciertas bacterias y hongos son capaces de producir etileno (C_2H_4) que es un regulador del crecimiento vegetal y a concentraciones relativamente altas ($>5ppm$) puede inhibir el desarrollo y crecimiento de los nódulos radiculares.

2.1.2.2. DISTRIBUCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA MICROFLORA DEL SUELO:

Como se ha indicado anteriormente, el aislamiento, recuento e identificación de los microorganismos del suelo plantea problemas de gran complejidad, Por esto, los resultados de los estudios de recuentos de poblaciones microbianas del suelo son de difícil interpretación desde el punto de vista estadístico y, con seguridad, olvidan muchos tipos de microorganismos no cultivables en absoluto.

Se ha intentado en muchas ocasiones realizar estudios sistemáticos de la relación entre la abundancia microbiana y las características del suelo. Como era de esperar, los suelos neutros, húmedos y con gran contenido en materia orgánica presentan recuentos microbianos superiores a los de suelos menos propicios para organismos quimioorganotrofos. Sin embargo, no debemos olvidar que, probablemente, nuestros sistemas de cultivo y enumeración seleccionen preferentemente el tipo de microorganismos que podemos encontrar en estos tipos de suelos. Dentro de un suelo determinado se ha comprobado que los estratos superiores de cada horizonte (A, húmico; B húmico inferior) presentan recuentos bacterianos superiores a los estratos inferiores de cada horizonte. Actualmente no es posible delimitar un límite inferior para la aparición de formas microbianas; por debajo de los estratos profundos, en situaciones de presiones muy elevadas se han podido detectar bacterias y arqueobacterias; asimismo se han podido detectar arqueobacterias en depósitos petrolíferos, aunque la interpretación de estos resultados es complicada por la posibilidad de contaminaciones con organismos de estratos superiores arrastrados a los más profundos durante la perforación.

Se han observado variaciones estacionales en los niveles de las poblaciones bacterianas: en general, los niveles son mayores durante el verano que durante el invierno; lo que es explicable en términos de efecto de la temperatura sobre el crecimiento. Asimismo, se han encontrado incrementos importantes del número de microorganismos durante el periodo de deshielo primaveral. Esto puede ser debido a la accesibilización de los restos orgánicos que han estado congelados durante el invierno y que se liberan a causa de la disgregación física del suelo producida por el deshielo. Un

efecto similar a este lo produce el arado del terreno y, presumiblemente, efectos similares se produzcan en cualquier tipo de tratamiento que suponga una mezcla de los componentes de los diferentes estratos edáficos puesto que, de esta forma, las atmósferas anaerobias creadas por la respiración y el agotamiento de los nutrientes orgánicos quedan eliminados o notablemente reducidos. En este sentido, a modo de ejemplo, considérese que la fermentación producida durante un proceso de compostaje puede dirigirse hacia procesos aerobios (bacilos) o anaerobios (enterobacterias) alterando el régimen de volteo del compost, lo que, al variar la disponibilidad de oxígeno, determina las poblaciones bacterianas predominantes.

Desde el punto de vista de los tipos de microorganismos predominantes hay que estudiar varios aspectos:

Si consideramos la biomasa, el grupo principal de microorganismos lo constituyen los hongos (*Penicillium*, *Cladosporium*, *Cephalosporium*, *Aspergillus*). Este tipo de microorganismos no es fácilmente cuantificable en recuentos estándar puesto que, en este caso, se enumeran únicamente las esporas y no la biomasa total y, por otra parte, existe un número importante de especies fúngicas no aislables (hongos micorriza no cultivables).

La mayor riqueza en biodiversidad la presentan las bacterias que incluyen un número muy grande de especies. Como ya se ha indicado en otra parte, hay que considerar que, además de las especies actualmente conocidas (en torno a las 5000) probablemente existe un número aún mayor de especies no cultivables que forman parte de la microflora edáfica. Los grupos principales pertenecen a bacterias Gram-positivas de los géneros *Bacillus*, *Micrococcus* y a diversos tipos de bacterias corineformes de los que puede ser un ejemplo *Arthrobacter* y *Nocardia*. Son muy importantes en el suelo los estreptomicetos productores del típico olor a tierras húmedas e importantes industrialmente como fuente de metabolitos secundarios entre los que destacan antibióticos.

Por último, hay que considerar importante la presencia en estratos anaerobios de bacterias del género *Clostridium*. Las bacterias Gram-negativas están representadas principalmente por el género *Pseudomonas* que coloniza una gran variedad de microambientes debido a su versatilidad nutricional. A pesar de su número no excesivamente alto tienen importancia ecológica dos grupos de bacterias Gram-negativas: las cianobacterias, colonizadoras primarias de nuevos suelos y las bacterias nitrificadoras (*Nitrosomonas*, *Nitrobacter*), los grupos oxidantes de azufre, bacterias fijadoras de nitrógeno, etc. Finalmente se pueden detectar en el suelo especies de algas y de protozoos que no difieren notablemente de las encontradas en medios acuáticos. Sin embargo, en el caso de las algas, su identificación puede ser especialmente difícil debido a que presentan morfologías aberrantes con frecuencia. Es importante valorar los ritmos de crecimiento microbiano en el suelo. Los estudios más finos realizados sobre

la tasa de crecimiento bacteriano en el suelo permiten suponer que, en promedio, el tiempo de generación ronda los diez días. De hecho, se considera que en la mayor parte de los casos las bacterias se encuentran en una fase de latencia permanente (que sería relativamente equivalente a la fase estacionaria o al periodo de adaptación previo al crecimiento exponencial) durante largos periodos de tiempo. Es más: en algunos casos se ha podido estimar que la absorción de nutrientes por los microorganismos del suelo no les permite crecer sino que toda la energía se dirige hacia las reacciones de mantenimiento. En este sentido, el crecimiento de los microorganismos en el suelo se produciría por fases de «estallido» que seguirían inmediatamente a los aportes de elementos nutritivos limitantes.

2.2. TÉCNICAS DE DESCONTAMINACIÓN

Básicamente se utilizan cinco métodos para la recuperación de los suelos contaminados:

TRATAMIENTOS FISICOS

- ◆ Extracción
- ◆ Tratamiento químico
- ◆ Tratamiento electroquímico
- ◆ Tratamiento térmico

TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS: En función de como se apliquen las técnicas depuradoras se habla de:

- ◆ Tratamientos in situ
- ◆ Tratamientos on site
- ◆ Tratamientos ex situ (off site)

El procedimiento in situ es el que requiere menos manejo, pero su aplicación resulta frecuentemente difícil de llevar a la práctica, dada la dificultad que representa el poner en íntimo contacto a los agentes limpiadores con la masa del suelo. En el tratamiento on site el suelo se excava y se trata en el propio terreno. El método ex site requiere las etapas de excavación, transporte, tratamiento en las plantas depuradoras, devolución y enterramiento. Este proceso exige mayor inversiones pero es más rápido y con él se consiguen recuperaciones más completas

3. BIOREMEDIACIÓN

Algunos problemas de contaminación han encontrado solución en la biotecnología. Esto no es nuevo, pues se conoce que desde hace varias décadas se emplean microorganismos para limpiar cuerpos de agua o como filtros de emisiones a la atmósfera. La tecnología bajo este procedimiento se conoce como biorremediación y en el mundo está teniendo cada vez más aplicaciones, pues con el uso de métodos biológicos puede darse una solución sin efectos secundarios y a costos considerablemente más bajos.

Lo anterior va de la mano con las cada vez más estrictas restricciones por parte de las autoridades ambientales en contra de las empresas o instituciones que, por accidente o de manera intencional, arrojan sus residuos contaminantes a la atmósfera, cuerpos de agua o suelos.

Las técnicas biológicas denominadas biorremediación, que cuentan con la participación de organismos vivos, PRODUCEN menores costos de inversión y con resultados y tiempos más alentadores. Una ventaja más frente al implemento de métodos fisicoquímicos es que la biorremediación es más "amigable" con el suelo a tratar, ya que no produce efectos secundarios. De este modo la existencia de algunos microorganismos (bacterias) tienen la capacidad de usar a los hidrocarburos contaminantes como fuente de carbono y energía, es decir, para alimentarse, y que una vez aprovechados son desechados en forma de CO₂ (bióxido de carbono) y agua.

Entre las tecnologías de biorremediación se cuenta con la llamada *Bioaumentación*, en la que al medio contaminado se adicionan microorganismos (además de los que de manera natural contengan) con la capacidad de degradar los hidrocarburos existentes. Las bacterias pueden ser autóctonas (de la misma microflora de la zona) y exógenas, es decir, que son traídos de otro ecosistema y que se adaptan a nuevas condiciones. Esta tecnología se llega a emplear cuando la microflora del suelo no tiene los elementos suficientes para degradar los contaminantes.

Existe también la *Bioestimulación*, la cual es la tecnología más empleada por científicos del mundo. En ésta se introduce al sistema (que también puede ser en un medio acuoso) nutrientes o fuentes de nitrógeno o fósforo necesarios para que el microorganismo active su metabolismo. Esta técnica puede ser aplicada en combinación con la anterior.

Una más es la llamada *Bioventeo*, que surge de una tecnología fisicoquímica denominada venteo, en la que se inyecta oxígeno al suelo afectado y se arrastra al contaminante hacia fuera. Aquí, las bacterias requieren de oxígeno (aerobias) para degradar a los contaminantes.

A su vez, la reconocida como *Fitorremediación*, es una de las tecnologías más innovadoras del mundo, y en la que con el uso de plantas verdes se efectúa la biorremediación. Esta puede ser enfocada a compuestos orgánicos e inorgánicos y puede ser utilizada para "bioremediar" sitios con una alto nivel de contaminación. Básicamente, la fitorremediación es el uso de plantas vegetales para "limpiar" o "remediar" ambientes contaminados debido en gran parte a la capacidad fisiológica y características bioquímicas que poseen algunos ejemplares vegetales de absorber y retener contaminantes, tales como metales, compuestos orgánicos, compuestos radioactivos, petroquímicos, y otros.

la biorremediación es la tecnología que tiene como objetivo acelerar la biodegradación natural de los compuestos orgánicos mediante la optimización de las condiciones limitantes del proceso. En el artículo «Biodegradation and bioremediation of hydrocarbons in extreme environments»,¹⁰ se presenta una breve revisión de trabajos de investigación sobre degradación de hidrocarburos en suelos, tanto a escala industrial como de laboratorio, y en diferentes condiciones ambientales. Los autores describen numerosos casos de lugares contaminados por hidrocarburos en los que se ha conseguido su biodegradación en ambientes extremos como las zonas polares (bajas temperaturas), en zonas desérticas (altas temperaturas y suelos salinos) o en suelos altamente ácidos o básicos donde se realizan actividades mineras o industriales.

Las plantas verdes absorben los contaminantes, los mantienen en su estructura y los degradan, de aquí se desprende la *fitofiltración* para limpiar mantos acuíferos, donde la raíz absorbe los contaminantes y los acumula en el cuerpo de la planta. En la misma clasificación se encuentra la *fitovolatilización* (también para compuestos orgánicos), donde la planta absorbe el contaminante, lo transporta por su estructura y por medio de sus hojas lo volatiliza. Una más es la *Rizorremediación*, donde no es precisamente la planta la que efectúa la biorremediación, sino sus raíces. El radio que en el subsuelo abarca la raíz es llamado rizosfera, hábitat

¹⁰ R. Margesin, F. Schinner. Biodegradation and bioremediation of hydrocarbons in extreme environments: [Appl Microbiol Biotechnol](#) 2001; 56 [5/6]: 650-663).

adecuado para ciertos microorganismos, ya que la raíz va a excretar enzimas, polisacáridos y demás nutrientes que aprovecha la bacteria que degrada los hidrocarburos.

Al igual que los métodos antes mencionados, la denominada atenuación natural se lleva a cabo en el sitio en que la contaminación se presenta (*in-situ*). Aunque no es identificada como tecnología por muchos científicos, en ésta se deja que el suelo contaminado se recupere por sí solo sin que intervenga el hombre.

Es importante hacer mención que las autoridades deciden qué técnica aplicar una vez identificados factores como el uso del suelo (si es industrial o habitacional), así como si afecta a mantos acuíferos cercanos, el costo y tiempo de recuperación, entre otros.

Los científicos también han experimentado con técnicas de biorremediación fuera del sitio afectado. De esta forma se origina la llamada composteo, en la cual se extrae una fracción de suelo contaminado y se le agrega materia orgánica como hojarasca, residuos de coco o caña, con lo que el suelo se convierte en poroso, aporta nutrientes y en ocasiones microflora. Esta técnica es muy económica y de posible aplicación.

En esta categoría se ubica también a los biorreactores. Aquí también se extrae una porción del suelo y se ubica en un sistema cerrado en donde se llevará a cabo la degradación. En este reactor se tiene control de temperatura, humedad, nutrientes, microorganismos y más.¹¹

En México, hace aproximadamente seis años que algunas instituciones tienen experimentos de biorremediación, como las universidades Nacional Autónoma de México y la Autónoma Metropolitana (Unidad Iztapalapa), el Cinvestav del IPN, además del IMP.

La entidad del IMP responsable de efectuarlo donde la subdirección de Protección Ambiental, que desde su creación ha conformado un equipo de científicos que sugieren y experimentan con las técnicas más avanzadas a nivel mundial. Actualmente, trabaja con métodos de biorremediación que de tener los resultados esperados serán implementados en las zonas en que haya problemas de suelos contaminados.¹²

¹¹ El Doctor Fernández Linares señala que "en el Instituto Mexicano del Petróleo se trabaja actualmente en la Fitorremediación, y está por iniciarse un proyecto con atenuación natural, que en forma paralela será aplicada junto a bioestimulación, bioaumentación y Bioventeo. De igual manera se contempla el uso de un lisímetro, es decir, una extensión de suelo extraído de su medio, que es limitado o cercado, y donde se pueden monitorear los resultados de la aplicación de las tres técnicas mencionadas.

A decir del investigador no es fácil implementar técnicas de biorremediación pero si es cierto que hallan tenido buenos resultados en otros lugares del planeta, pues los microorganismos también deben cumplir con ciertas condiciones para vivir que no siempre les da el medio.

¹² Plantas y microorganismos que se alimentan de...¡petróleo!. En: Periodismo de Ciencia y Tecnología. Investigación y Desarrollo. México DF. Noviembre 1999.

Para el caso de los Estados Unidos existen 34 mil sitios localizados con algún problema de contaminación de suelo¹³, lo que se estima podrían costar aproximadamente mil millones de dólares rehabilitarlos. A su vez, en Alemania se ubican casi 50 mil sitios contaminados, en tanto que en México sin que tenga un conteo similar, se sabe que Tabasco y Veracruz son los estados donde se registran más problemas de contaminación de suelos por hidrocarburos, pues son las entidades con más actividades petroleras.

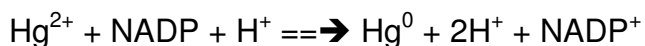
Dada la importancia de los tratamientos biológicos en favor del ambiente, la compañía petrolera Occidental de Colombia, interesada en iniciar el tratamiento de aguas residuales en la región de Caño Limón, financió un proyecto con el objetivo de aplicar un tratamiento biológico con microflora nativa de la región. De tal forma que la investigación se centró en el aislamiento, identificación y selección de bacterias degradadoras de hidrocarburos alifáticos, aromáticos y en particular de compuestos fenólicos.¹⁴

Con la ingeniería genética se ofrece una de las estrategias de biorremediación. La idea es diseñar y crear en el laboratorio microorganismos capaces de hacer frente a esos compuestos indeseados. Se pueden crear unas bacterias con genes añadidos que inmovilicen metales pesados. Estas construcciones de laboratorio no han salido aún a campo abierto excepto en experimentos muy controlados, pero han abierto una vía de solución para los problemas medioambientales.

El mecanismo bioquímico microbiano en el caso de los metales pesados no es la degradación del átomo contaminante, sino el cambio en el estado de oxidación del metal para su detoxificación. Este cambio en el estado de oxidación permite seguir varias estrategias de biorremediación:

- a) El metal se vuelve menos soluble y precipita lo que hace que sea menos utilizado por los organismos del ambiente.
- b) Permite que pueda haber una volatilización del átomo.
- c) Hacerlo en sí menos tóxico para los organismos del medio.

Como ejemplo el mercurio: el mercurio está presente en tres estados de oxidación Hg^0 , Hg^+ , Hg^{2+} . Este Hg^{2+} es muy tóxico, pero se conoce la resistencia de varios microorganismos gracias a un mecanismo que implica su reducción a mercurio elemental, mediado por un mercurio reductasa.



¹³ Plantas y microorganismos que se alimentan de...¡petróleo!. En: Periodismo de Ciencia y Tecnología. Investigación y Desarrollo. México DF. Noviembre 1999.

¹⁴ Estudio general de la utilización de bacterias nativas de la región de Caño Limón en la biodegradación de aceite y fenol en aguas de proceso. ¹⁴financiado por occidental de Colombia (oxy). duración 1991- 1994. Investigador Principal: Jenny Dussan. Tesistas de Maestría: Martha Vives, Maria Consuelo Galán.

Se han aislado mercurio reductasas en microorganismos como *Escherichia coli*, *Thiobacillus ferrooxidans*, *Streptomyces*, *Streptococcus* y *Caulobacter*¹⁵.

TABLA 6: MICROORGANISMOS ÚTILES EN BIORREMEDIACIÓN

GENERO	ESPECIE	COMPUESTO DEGRADADO	CARACTERÍSTICAS DEL CULTIVO
Acinetobacter	<i>Sp</i>	n-Alcanos	Cultivo axenico
	<i>Baumanii</i>	Hidrocarburos saturados y aromáticos	Cultivo axenico
	<i>Calcoaceticus</i>	Bifenilos policlorados	Consorcio
	<i>calcoaceticus</i>	Petróleo crudo	Cultivo axenico
Achromobacter	<i>sp</i>	Bifenilos policlorados	Consorcio
Arthrobacter	<i>sp</i>	Hidrocarburos saturados y aromáticos	Cultivo axenico
Alcalígenes	<i>sp</i>	Petróleo crudo	Asociada a raíces de plantas
	<i>faecalis</i>	Fenol	Cultivo axenico denitrificante
Bacillus	<i>lentus</i>	Bifenilos policlorados	Consorcio
	<i>mascerans</i>	Bifenilos policlorados	Consorcio
	<i>thringiensis</i>	Bifenilos policlorados	Consorcio
Beauveria	<i>alba</i>	Hidrocarburos saturados y aromáticos	Cultivo axenico
Candida	<i>tropicalis</i>	Petróleo crudo	Cultivo axenico
	<i>tropicalis</i>	Petróleo crudo	Cultivo axenico
Celhlomonas	<i>flavigena</i>	Petróleo crudo	Cultivo axenico
Comamonas	<i>acidovorans</i>	Bifenilos policlorados	Consorcio
Desfitobacterium	<i>dehalogenans</i>	o-Clorofenol	Cultivo axenico
Desulfococcus	<i>sp</i>	Alquibencenos	Cultivo anaeróbico
Flavobacterium	<i>devorans</i>	Bifenilos policlorados	Consorcio
Gordona	<i>sp</i>	Dibenzotiofeno	Cultivo axenico
Marinobacter	<i>aqualolei</i>	Petróleo crudo	Cultivo axenico
Micrococcus	<i>spp</i>	Petróleo crudo	Consorcio
Microcoleus	<i>sp</i>	Pireno	Cultivo axenico
Mycobacterium	<i>chthonoplastes</i>	n-Alcanos	Cultivo axenico
	<i>sp</i>	Pireno	Cultivo axenico
	<i>sp</i>	n-Alcanos	Cultivo axenico
Nocardia	<i>sp</i>	Dibenzotiofeno	Cultivo axenico
Nocardiopsis	<i>sp</i>	Petróleo crudo	Cultivo axenico
Paenbacillum	<i>spp</i>	Dibenzotiofeno	Cultivo axenico

¹⁵ A.I. Pélaez, M. R. Rodicio, H. Sastre y J. Sánchez. "Aislamiento y caracterización de bacterias nitrificantes presentes en una planta de tratamiento de residuos líquidos". XV Congreso Latinoamericano de Microbiología (Mérida, Mexico, 2000).

Phormidium	<i>corium</i>	n-Alcanos	Cultivo axenico
Penicillium	<i>simplicissimum</i>	Hidrocarburos saturados y aromáticos	Cultivo axenico
Pleorotus	<i>ostreatus</i>	Polinucleo aromáticos	Cultivo axenico
Pseudomonas	<i>sp</i>	Tolueeno	Consorcio sintrofico
	<i>sp</i>	Bifenilos policlorados	Consorcio
	<i>sp</i>	Fenantreno	Cultivo axenico
	<i>sp</i>	Petróleo crudo	Consorcio sintrofico
	<i>spp</i>	Petróleo crudo	Consorcio
	<i>aeruginosa</i>	Fenol	Consorcio sinfonico inmovilizado
	<i>aeruginosa</i>	Fenol	Cultivo axenico denitrificante
	<i>fluorescens</i>	Petróleo crudo	Cultivo axenico inmovilizado
	<i>putida</i>	Petróleo crudo	Insitu
	<i>stutzeri</i>	Tetracloroetileno	Cultivo aeróbico
Rhizobium	<i>meliloti</i>	Dibenzotiofeno	Cultivo axenico
Rhodococcus	<i>sp</i>	Dibenzotiofeno	Cultivo axenico
	<i>sp</i>	Alcanos	Cultivo axenico
	<i>erythropolis</i>	Petróleo crudo	Asociada a raíces de plantas
Saccharomyces	<i>sp</i>	Petróleo crudo	Consorcio
Serratia	<i>sp</i>	Fenol	Consorcio sintrofico inmovilizado
	<i>marcescens</i>	Petróleo crudo	Cultivo axenico
	<i>paucimibilis</i>	HPAs	Consorcio sintrofico
Sphingomonas	<i>sp</i>	Caibazol	Cultivo axenico
	<i>spiritivorum</i>	Hidrocarburos saturados y aromáticos	Cultivo axenico
Thauera	<i>aromática</i>	Fenol	Cultivos anaerobico
Xanthomonas	<i>spp</i>	Petróleo crudo	Consorcio
Yersinia	<i>sp</i>	Fenol	Consorcio sintrofico inmovilizado

Fuente: Biorremediación Biorremediación. Thelmo Lú Chau. Dpto. de Ingeniería Química. Instituto de Investigaciones Tecnológicas. Universidad de Santiago de Compostela.

TABLA 7. ALGUNOS MICROORGANISMOS UTILIZADOS PARA CAPTURAR METALES PESADOS.

METAL	HONGO O LEVADURA	BACTERIA	ALGA
Cadmio	<i>Rhizopus orrhizus</i>	<i>Citrobacter spp.</i>	<i>Chroococcus poris</i>
Cobre	<i>Mucor rouxii</i> <i>Rhizopus orrhizus</i>	<i>Zooglea ramigera</i>	
Plomo		<i>Streptomyces longwoodensis</i>	<i>Chlorella</i>
Estroncio		<i>Micrococcus</i>	<i>Euglena</i>

		<i>luteus</i>	
Cesio		<i>Rhodococcus erythropolis</i>	
Mercurio	<i>Rhizopus orrhizus</i>	<i>Pseudomonas aureuginosa</i>	<i>Varias especies</i>
Cobalto			<i>Scenedesmus</i>
Cromo			<i>Scenedesmus</i>
Niquel			<i>Euglena</i>
Zinc	<i>Claviceps paspali</i> <i>Penicillium spp</i>		<i>Diatomeas</i>
Uranio	<i>ASpergillus níger</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>		<i>Chlorella</i>
Plata	<i>Penicillium spp.</i>		
Fierro	<i>Rhizopus orrhizus</i>		
Torio	<i>Aspergillus Níger</i>		

FUENTE: ALGUNOS TRATAMIENTOS PARA DESCONTAMINAR EL SUELO DETERIORADO. En: <http://www.sagan-gea.org/hojaredsuelo/paginas/37hoja.html>

Uno de los problemas que se encuentran en la degradación de contaminantes por microorganismos son las condiciones en que se encuentran en el ambiente, las cuales nunca son las más idóneas para su correcto crecimiento

Tanto en condiciones aerobias como anaerobias, se ha demostrado la biodegradabilidad de varios de estos compuestos. Dada la mayor dificultad de cultivar bacterias en condiciones anaerobias en comparación con los métodos aerobios, el número de cepas aerobias puras aisladas en presencia de organoclorados es mucho más grande que el número de bacterias anaerobias estrictas obtenidas. En la tabla 8 se muestran algunos ejemplos.

TABLA 8. BIODEGRADACIÓN AEROBIA Y ANAEROBIA DE COMPUESTOS ORGÁNICOS.

Compuestos (mono o policlorados)	Ejemplos de géneros utilizados
AEROBIO	
Clorobencenos	Alcaligenes, Pseudomonas
Clorofenoles	Alcaligenes, Arthrobacter, Flavobacterium, Pseudomonas, Rhodococcus
Clorobenzoatos	Acinetobacter, Alcaligenes, Arthrobacter, Corynebacterium, Flavobacterium, Pseudomonas
Clorotoluenos	Pseudomonas
ANAEROBIO	
Monoclorbenzoato	Desulfomonile tiedjei

FUENTE: Díaz Vasquez. Maria Cristina. Investigaciones Realizadas en la PTAR-CDMB/ universitaria de Santander. 2002-2003.

En la Tabla 8 se observa la variedad de cepas aeróbicas identificadas como capaces de degradar compuestos clorados. En condiciones anaerobias los cultivos son casi siempre más eficientes en comunidades mixtas que en cultivos puros, debido principalmente a la importancia de *las relaciones tróficas entre bacterias*. Así, por ejemplo *D. tiedjei*, es capaz de degradar el monoclorobenzoato hasta el nivel del benzoato con una cinética mucho mejor en un *consortium* de tres bacterias que en un cultivo puro. El benzoato es más tarde metabolizado por otra bacteria en hidrógeno o dióxido de carbono y acetato, siendo este último posteriormente degradado por la bacteria metanogénica *Methanospirillum* en metano.

El tratamiento anaeróbico tiene probablemente su mejor potencial en tratar aquellos residuos donde la deshalogenación reductora se produce de forma más eficaz que por degradación oxidativa; como son los hidrocarburos volátiles clorados. Debido a su volatilidad y relativamente lenta degradabilidad bajo condiciones aerobias, los residuos no se adaptan bien a los tratamientos aireados. Ambos procesos se superan con un enfoque co-metabólico usando un proceso de biomasa fija en un tanque cerrado (por ejemplo, manteniendo los organismos metanogénicos sobre un filtro de medio inerte a través del cual el agua contaminada con hidrocarburos volátiles clorados se bombea en un ambiente rico en metano).

Aunque ya se ha demostrado la biodegradabilidad anaerobia de compuestos tóxicos organoclorados en reactores continuos, *la inmovilización de una cepa pura en gránulos* para introducir una función de detoxificación es nueva. Un estudio importante a señalar es el de un grupo que consiguió introducir el *consortium* anaerobio incluyendo *D. tiedjei* en gránulos UASB, procedentes del tratamiento de efluentes de azucarera. Estos gránulos, después de la introducción del *consortium* fueron capaces de degradar el clorobenzoato.

3.1. TIPOS DE BIORREMEDIACIÓN.

Cuando un sitio con residuos peligrosos está confinado, los residuos pueden degradarse de manera natural (biodegradación natural). Muchos de los contaminantes orgánicos, son eventualmente transformados o degradados en tiempos adecuados y los sitios que los contienen regresan a su estado natural. El tipo de tratamiento a usar depende de la factibilidad de aplicación de los métodos de tratamiento de suelos, de la disposición de instalaciones especiales, como en el caso de los sistemas de biorreactores, y de la oportunidad de aumentar los procesos biológicos específicos del suelo. En la figura 1 se muestran los diversos tipos de tratamientos biológicos.

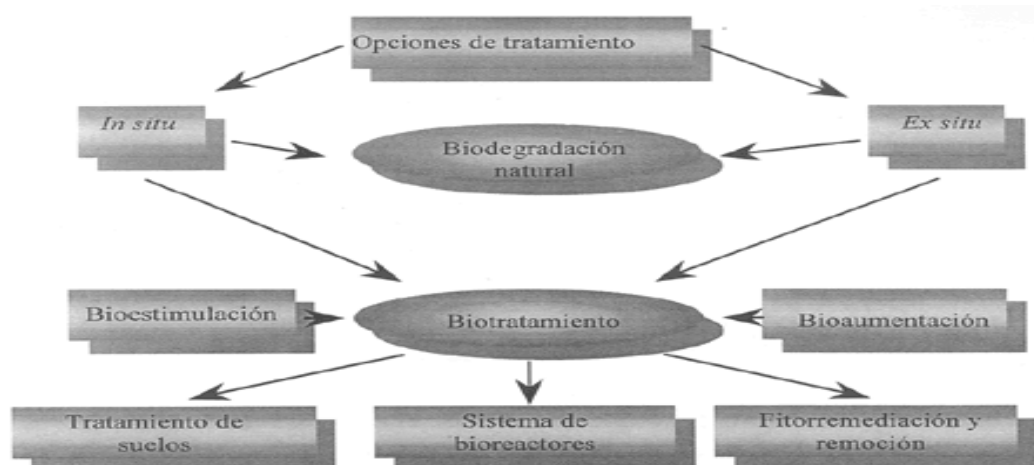
La Fitorremediación, en la cual se emplean a las plantas para la remoción de contaminantes, se considera como una etapa final del proceso de

saneamiento. En este tratamiento, parte de los residuos son usualmente acumulados en los tejidos de las plantas, para luego ser cosechados y removidos. El tipo de tratamiento que se aplicaría a un sitio depende de la clase de contaminante presente, de las opciones de tratamiento disponibles y a la disposición final de las plantas removidas.

Por otro lado, en la biorremediación se involucran la bioaumentación -en la cual se adicionan microorganismos ajenos al suelo o sitio contaminado, los cuales han sido adaptados o manipulados genéticamente para la degradación de contaminantes y la bioestimulación, que consiste en la suplementación de los nutrientes necesarios para estimular el crecimiento de los microorganismos nativos del suelo.

El tratamiento de materiales peligrosos puede realizarse en el sitio contaminado (in situ) o fuera del sitio contaminado (ex situ). Un tratamiento in situ se ve afectado por las restricciones locales, regulaciones del estado, densidad poblacional o por otras causas que impidan su aplicación. Cuando esto ocurre, el residuo peligroso y el suelo o agua contaminada son llevados a otra parte para su tratamiento ex situ. Tanto en el tratamiento in situ como en el ex situ, se debe evitar la actividad humana y de animales en el lugar donde se aplica.

FIGURA 1: PROCESOS DE BIORREMEDIACIÓN.



FUENTE: LA BIORREMEDIACIÓN COMO ALTERNATIVA AL TRATAMIENTO DE SUELOS CONTAMINADOS. En: AVANCE Y PERSPECTIVA. Septiembre-Octubre de 1998.

3.1.1. BIORREMEDIACION IN SITU.

La biorremediación in situ generalmente involucra un proceso de bioestimulación (figura 2). Aunque la estimulación de la actividad microbiana en el suelo o la selección natural de poblaciones de microorganismos del

mismo suelo presenta una alternativa de tratamiento para muchos residuos orgánicos peligrosos, muchas veces no es capaz de degradar ciertos tipos de compuestos. En otros casos, es muy difícil desarrollar una cantidad suficiente de microorganismos sobre el sitio contaminado bajo concentraciones limitadas del sustrato para degradar de manera rápida el residuo. En estas condiciones, se adicionan al suelo microorganismos ajenos al sitio. La degradación de compuestos fenólicos, pesticidas y muchos compuestos elaborados se ha demostrado a nivel laboratorio, inoculando los suelos con microorganismos específicos.

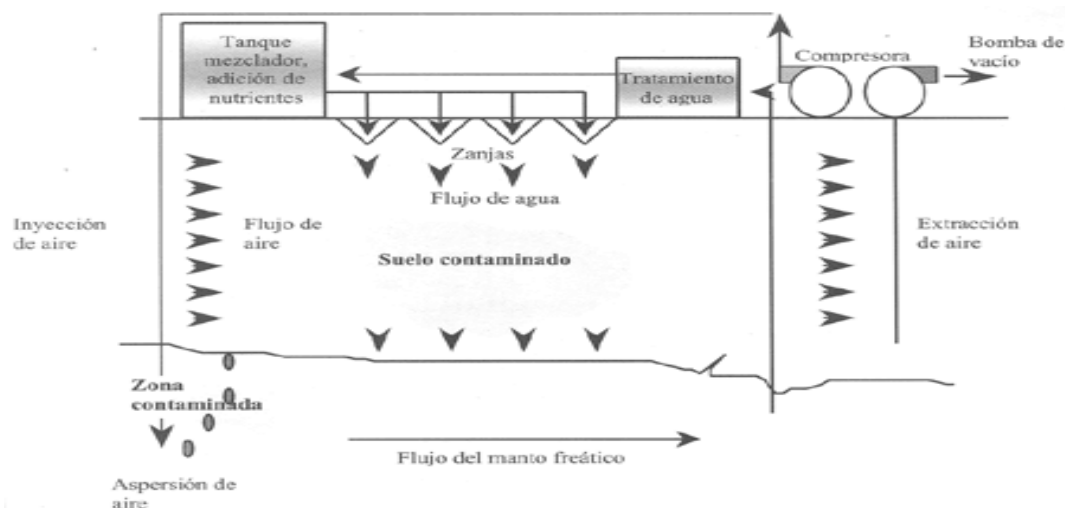
La presencia en el ambiente de ciertos disolventes alifáticos clorinados, como el tricloroetano y el tricloroetileno, requiere de la adición de gas natural (o metano) y aire para provocar el crecimiento de las poblaciones microbianas y aumentar el cometabolismo de estos compuestos. El cometabolismo se define como la transformación fortuita de una sustancia por microorganismos que se alimentan de otro sustrato. La sustancia cometabolizada no se utiliza como la fuente de carbono y energía y sólo se transforma parcialmente. Los organismos metanótrofos son organismos que utilizan el metano como fuente de carbono y energía, ya que contienen enzimas capaces de oxidar P-1 metano y a una gama de alcanos, alquenos y metanos halogenados. Como ejemplo de los disolventes alifáticos clorados metabolizados por este medio se tienen: el tetracloro etileno, tricloroetileno, tricloroetano, dicloroetano, tetracloruro de carbono y cloroformo.

El concepto de biorrecuperación in situ fue desarrollado en los años 70 por una empresa subsidiaria de Sun Oil Company para el tratamiento de gasolina, diesel y otros hidrocarburos minerales. A partir del año 1987 fueron descritas unas 30 aplicaciones de biorrecuperación in situ. Se han publicado proyectos dedicados fundamentalmente a la recuperación de hidrocarburos simples del petróleo. El interés está cambiando hacia otros contaminantes químicos, habiéndose obtenido buenos resultados para fenoles y otros compuestos aromáticos simples.

La biorrecuperación in situ se realiza de forma aerobia, siendo los procesos anaerobios una futura promesa para aplicaciones especiales. De forma natural, el agua subterránea contiene bajas concentraciones de oxígeno debido a la mínima reaireación resultante de su flujo laminar por debajo de la superficie. Por tanto, incluso una modesta actividad biológica agota realmente el oxígeno en el agua subterránea. Generalmente, el ambiente del subsuelo es también escaso en nutrientes. El concepto de aerobio en la biorrecuperación depende, por tanto, del oxígeno y de los nutrientes liberados al subsuelo contaminado, generalmente por extracción del agua subterránea, adición de oxígeno y nutrientes y reinyección del agua enriquecida. El agua inyectada, con nutrientes y oxígeno, se mueve a través del acuífero y estimula el desarrollo de los microorganismos autóctonos, causando la degradación de los contaminantes.

La biorrecuperación in situ sigue los mismos principios que otros métodos de tratamiento biológico, excepto que el subsuelo contaminado, más que como un depósito o laguna, funciona como el reactor biológico. El subsuelo no se puede controlar fácilmente; la inyección de agua cambia el modelo de flujo del agua subterránea, que podría extender la contaminación, a menos que la inyección esté acoplada con las extracciones de agua subterránea y con las barreras de contaminantes. La combinación de inyectar agua, gradiente arriba del punto de extracción, incrementa la carga hidráulica entre los dos puntos, por lo que acelera la velocidad del flujo del agua enriquecida a través del acuífero.

FIGURA 2. BIORREMEDIACIÓN IN SITU



FUENTE: LA BIORREMEDIACIÓN COMO ALTERNATIVA AL TRATAMIENTO DE SUELOS CONTAMINADOS. En: AVANCE Y PERSPECTIVA. Septiembre-Octubre de 1998.

Existen tres tipos de sistemas que se aplican en la biorremediación in situ, en los cuales generalmente se hace circular aire y nutrientes a través de la región contaminada para promover el crecimiento de microorganismos aerobios (requieren oxígeno para su desarrollo) con el fin de degradar los compuestos contaminantes.

3.1.2. BIOVENTEO

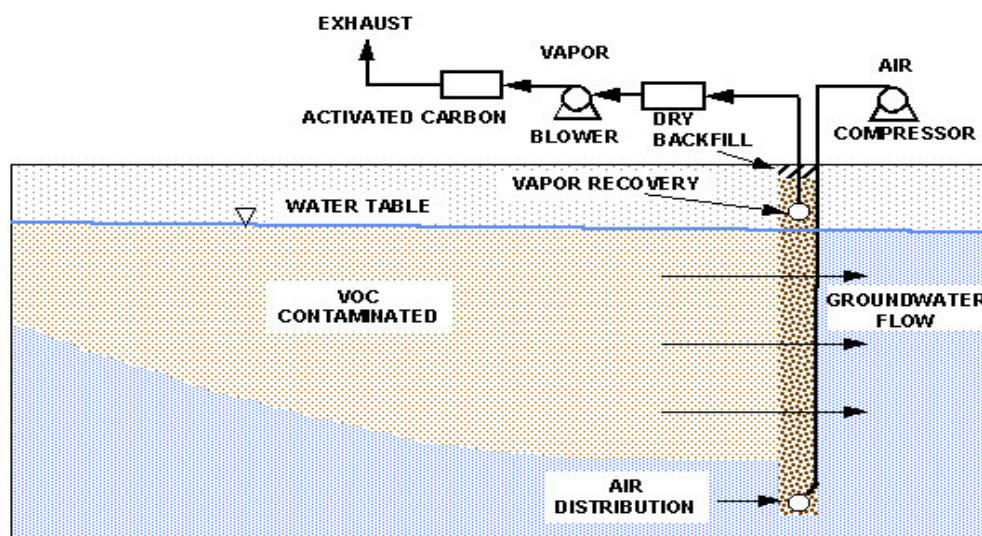
Provee oxígeno por medio de bombas de vacío y los nutrientes por medio de inyectores a la zona afectada. Los otros sistemas consisten en tratar las regiones que se encuentran por arriba o por debajo del manto freático. En el primer caso, se distribuye el oxígeno en forma de peróxido de hidrógeno y los nutrientes por medio de un inyector. En el otro, denominado aspersor de

aire, se administra el oxígeno directamente en el manto freático y los nutrientes se distribuyen en el suelo con ayuda de inyectoros.

3.1.3. RECUPERACIÓN “BIOVENTING”

Es una técnica “in situ” que combina la ventilación mecánica de los contaminantes con la utilización de microorganismos autóctonos para degradar compuestos orgánicos absorbidos por el suelo en la zona no saturada. En esta técnica, la actividad de las bacterias es estimulada introduciendo un flujo de aire en la zona no-saturada por medio de pozos de extracción o inyección. Si fuera necesario también se añadirían nutrientes.

FIGURA 3: TECNICA BIOVENTING.



FUENTE: LA BIORREMEDIACIÓN COMO ALTERNATIVA AL TRATAMIENTO DE SUELOS CONTAMINADOS. En: AVANCE Y PERSPECTIVA. Septiembre-Octubre de 1998.

El stripping por aire es un proceso de transferencia de masa que aumenta la volatilización de los componentes del agua mediante el paso del aire a través del agua, mejorándose así la transferencia entre las fases aire y agua. El stripping por aire es uno de los procesos que mas comúnmente se utilizan en la depuración de aguas subterráneas contaminadas por COVs, tales como solventes. El proceso es especialmente adecuado para bajas concentraciones (< 200 mg/l).

El proceso consiste en un flujo en contracorriente de agua y aire a través del material de empaquetamiento (también puede ser el medio poroso del suelo), en el cual las estructuras presentan una relación superficie/volumen alta y proporcionan la superficie de transferencia necesaria para permitir el

movimiento de los componentes volátiles desde la corriente del líquido a la del aire.

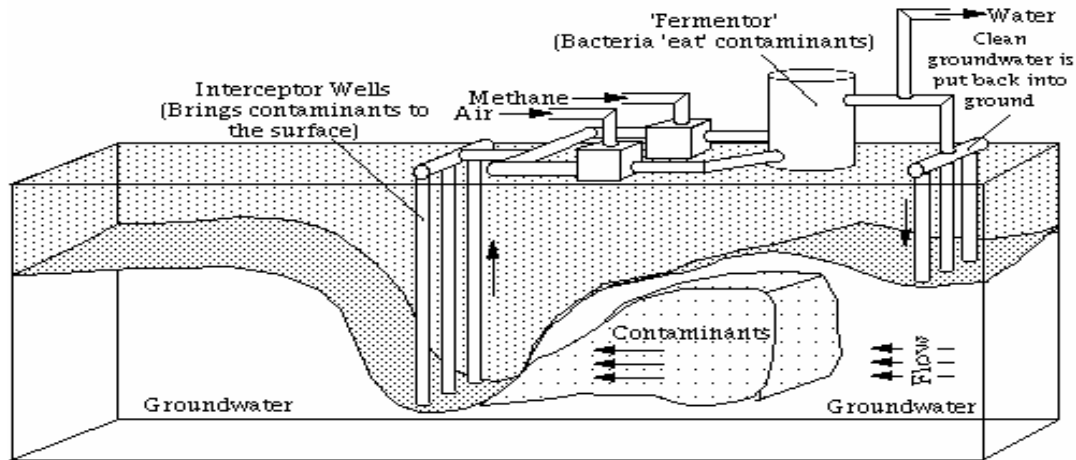
Los COV's son removidos por aire ("Stripping") en los procesos biológicos de tratamiento, esto es: lecho percoladores, lodos activados, lagunas aireadas. Dependiendo del COV en cuestión, tanto remoción por arrastre de aire ("Stripping") como la biodegradación pueden ocurrir simultáneamente en los compuestos orgánicos presentes en los líquidos residuales, concluyendo que compuestos orgánicos con valores de constantes de Henry mayores a 10^3 atm/molm^3 son afectados por el fenómeno de "Stripping" con remociones mayores al 25%.

El proceso de remoción por arrastre con aire en los tratamientos biológicos recibe una considerable atención en Estados Unidos, dado que la legislación está limitando severamente las emisiones de COV.

3.1.4. RECUPERACIÓN "BIOSPARGING".

Es una técnica "in situ" que combina el efecto mecánico de la ventilación con la utilización de microorganismos autóctonos para degradar compuestos orgánicos absorbidos por el suelo en la zona saturada. En el biosparging el aire y los nutrientes se inyectan en la zona saturada para mejorar la actividad de los microorganismos presentes. se utiliza para la limpieza de los compuestos orgánicos en suelos y aguas subterráneas. La EPA indicó que había unas 25,6 millones de yardas cúbicas de suelo, de sedimentos y de lodos contaminados que debían ser limpiados para que no llegaran a los lugares todavía no contaminados. De los 712 lugares estudiados el 79% estaban contaminados sus aguas subterráneas y el 76 % contaminados por COV's. El bombeo y las operaciones de tratamiento que se usaban desde hace años, habían sido muy poco eficaces en la mayoría de los lugares debido al bajo rendimiento del transporte por difusión de los suelos con baja permeabilidad, por lo que se estimó que para la limpieza de estos lugares se tardarían un centenar de años en algunos casos; mediante las técnica de biodegradación in situ se reduce la contaminación, en algunos casos, a niveles aceptables en tiempos tan cortos como uno o dos años. El concepto es simple, el método se basa en la *biodegradación natural* espontánea que tiene lugar en el subsuelo. La diferencia es que la *biorrecuperación "in situ"* acelera el proceso a través de la estimulación y mantenimiento de las poblaciones microbianas del subsuelo. Sin embargo, su implantación con éxito requiere cuidadosas consideraciones de una complicada serie de parámetros que involucran no solamente la microbiología, sino también hidrogeología, geoquímica e ingeniería.

**FIGURA 4: MÉTODO DE APLICACIÓN DEL DISEÑO DE SPARGING.
Above-Ground Methantrophic Bioremediation**



FUENTE: LA BIORREMEDIACIÓN COMO ALTERNATIVA AL TRATAMIENTO DE SUELOS CONTAMINADOS. En: AVANCE Y PERSPECTIVA. Septiembre-Octubre de 1998.

El método del sparging son un conjunto de técnicas recientemente desarrolladas para el retiro (sparging) o la degradación (biosparging) de contaminantes volátiles o biodegradables en la zona de saturación. Estas técnicas implican la inyección de aire (algunas veces también microorganismos) en un acuífero contaminado debajo del suelo contaminado. Los COVs, conducidos por la solubilidad y la presión de vapor expresado por la Ley de Henry's, produciéndose una transferencia de los COV's del agua al aire, siendo este último posteriormente capturado por un sistema de extracción de vapor del suelo (SVE). También se ayuda a la biodegradación de contaminantes tales como los productos del petróleo incrementando la concentración de oxígeno en la zona del acuífero.

Los contaminantes que pueden tratarse con este método incluyen las gasolinas, los combustibles diesel, compuestos del BTEX, otros solventes de hidrocarburos, y los solventes tratados con cloro tales como el tracloruro de carbono, el cloruro de metileno, los dicloroetilenos, tricloroetilenos, el percloroetileno y los etanos tratados con cloro. El Biosparging es aplicable a los hidrocarburos y a los alcoholes, a las cetonas, a los ésteres y a otros compuestos orgánicos relativamente solubles que no sean fácilmente eliminados en el aire pero que se biodegraden con facilidad; no es recomendable generalmente para los compuestos orgánicos clorados ya que son tóxicos a las bacterias. El sparging no es conveniente para los metales, que no son volátiles ni biodegradables.

El sistema consiste en la construcción de pozos de accesos a los acuíferos y subsuelos por donde se produce la inyección de aire (conduce a los COVs a

la zona saturada, así como promueve la biodegradación en la zona saturada.), la extracción y eliminación de los COV's del suelo contaminado y aguas subterránea basándose en fuerzas de impulso físico-químico sin bombear el agua a la superficie.

El sparging también debe tener receptores de la eliminación (sparging) colocados en la zona contaminada para eliminar los COV's. Los receptores deben de ser de una longitud corta y se perforan hasta el fondo del acuífero o por lo menos por debajo de la zona más profundamente contaminada. El aire comprimido entra en el acuífero receptor y se mueve hacia arriba y hacia fuera por el medio poroso. Mientras que el aire se mueve a través del acuífero, los COV's disueltos en el agua subterránea o absorbidos en el medio poroso se volatilizan, se volatilizan en la fase móvil del gas y se llevan a la zona *vadosa*). Simultáneamente, el oxígeno se disuelve en el aire del agua subterránea, permitiéndose una biodegradación creciente.

Si los COV's son biodegradables, pueden ser eliminados por la biodegradación cuando se mueven desde la zona *vadosa* a la superficie del suelo, actuando esta zona como un biorreactor. Para los compuestos refractarios tales como el percloroetileno, se instala un sistema de extracción del vapor del suelo (SVE) para capturar el gas mientras se eleva en la *zona de vadosa*. Si los edificios o las alcantarillas próximas, se utilizan los SVE para mantener un vacío en el suelo para evitar la migración de los COV's a estas estructuras.

Para determinar el progreso de la biodegradación en agua subterránea se realiza midiendo el contenido de oxígeno disuelto en el agua y la cantidad de bacterias presentes. Cuando el oxígeno disuelto va disminuyendo es porque las bacterias lo están utilizando para degradar los compuestos orgánicos volátiles.

Otra técnica que se está utilizando en Europa es la construcción de pozos de bombeo-vaporización. En estos el aire se inyecta en pozos de gran diámetro; el agua subterránea circula a través del pozo y del acuífero adyacente en donde se produce la transferencia de los COV's a la secuencia inyectada del gas. Una tercera técnica es la cortina de aireación, que se alinea perpendicularmente a la dirección del flujo de contaminante y lo intercepta. Las cortinas de aireación están instaladas en los fosos que tiene un tubo perforado horizontalmente cerca del fondo para proporcionar el aire y se rellenan con roca adyacente. Esta configuración puede maximizar la biodegradación de los contaminantes.

3.1.5. TECNOLOGÍA DE LAS BIOBARRERAS

Las biobarreras o barreras biológicas "in situ", constituyen una de las tecnologías de descontaminación del agua subterránea, agrupadas bajo la denominación de muros o barreras de tratamiento/permeables/reactivas, orientada al aislamiento y a la recuperación de emplazamientos

contaminados. Pueden ser utilizadas simplemente como sistemas de contención en acuífero porosos para reducir el flujo de agua contaminada a través de dichos materiales, o para inmoviliar compuestos tóxicos y peligrosos (metales, compuestos orgánicos) al interaccionar éstos con el biofilm.

Esta técnica constituye una alternativa a la contención de acuíferos mediante el sistema de bombeo y tratamiento. Mediante esta técnica se pueden crear barreras para la contención de compuestos orgánicos tales como solventes clorados, compuestos volátiles no clorados y compuestos semivolátiles en aguas subterráneas y suelos saturados.

Las barreras biológicas se basan en procesos completamente biológicos o en una combinación de procesos biológicos y físico-químicos.

3.1.5.1. DESCRIPCIÓN DE LA TECNOLOGÍA.

En el proceso de formación de una barrera biológica se inyectan en el material portador células y solución nutritiva gracias a la cual se reproducen y forman un biofilm, que es el responsable de los procesos biológicos y físico-químicos producidos en la biobarrera. Los contaminantes son eliminados del agua subterránea a medida que ésta fluye a través de la pantalla (remediación), bajo la influencia del gradiente hidráulico natural. De esta forma, los suelos, acuíferos y otros posibles receptores a favor de gradiente están protegidos de los contaminantes.

Las biobarreras se suelen realizar en barreras verticales subsuperficiales; estas barreras impiden el transporte horizontal del contaminante y el flujo de agua subterránea.

La función de la barrera biológica vertical es la de prevenir la migración de contaminantes en el agua subterránea. Por tanto, puede formar una pantalla completa alrededor de un foco contaminante, o bien ser simplemente aquella pequeña zona del aislamiento a través de la cual se canaliza la pluma de agua subterránea contaminada.

Las biobarreras se caracterizan por su estado redox y por el nivel de oxigenación requerido para la biodegradación de varios compuestos orgánicos contaminantes. En general, los compuestos altamente clorados (PCB's, bencenos clorados, PER, TRI, metanos y etanos clorados, etc..) pueden ser declorados y biodegradados bajo condiciones anaeróbicas. A menudo esta fase anaerobia debe ser conseguir la completa bioconversión. Por otro lado, las barreras biológicas completamente aerobias son efectivas para contaminantes no clorados (como aceites, BTEX y PAH) y para algunos contaminantes poco clorados y aromáticos poco clorados. Las barreras biológicas pueden emplearse también para la inmovilización de metales pesados. Estos requiere condiciones anóxicas y de alto pH. Por tanto, la barrera biológica con un mayor potencial de aplicación combinaría condiciones anaeróbicas y aeróbicas.

Si las bacterias no se encuentran en el suelo, será necesario aplicar técnicas de bioaumentación (inoculación de bacterias).

El tipo de material bioportador: Los medios adecuados para construir una barrera biológica *in situ* son los medios porosos, con grano grueso, con alta capacidad de adsorción del contaminante y agregación microbiana, como el carbón activado y la arena mezclada con compost. Estos materiales bioportadores deben ser preenvueltos en condiciones “in situ” con microorganismos apropiados para obtener la actividad biodegradadora requerida en la pantalla.

En los casos en que la excavación no sea factible será necesario crear una *barrera biológica activa* estimulando a las poblaciones microbianas autóctonas para adaptarse a una situación redox nueva y para desarrollar una adecuada actividad degradadora del contaminante; sin embargo, el tiempo de adaptación requerido puede ser muy largo, más aun bajo condiciones *in situ*. Este período puede ser muy largo. Este período de adaptación puede ser reducido en gran medida por inyección de microorganismos no indígenas con las propiedades adecuadas de adhesión y degradación de compuestos.

3.1.5.2. CONDICIONES PARA SU APLICACIÓN.

Las condiciones idóneas para su correcta aplicación:

- Suelo arenoso poroso, que facilite la movilidad del oxígeno y/o nutrientes.
- Contaminado hasta una profundidad de 15 m como máximo.
- Con una corriente de agua subterránea abundante y constante.
- Con una contaminación muy antigua (en los suelos envejecidos la adsorción de los contaminantes a la matriz es muy alta y, por tanto, no se encuentran disponibles para los microorganismos).
- Nivel freático no muy profundo.
- Eje de flujo de agua subterránea preferente.
- Pluma contaminada discernible de extensión “limitada”.
- Acceso inicial y continuo a la zona de tratamiento.
- Composición del medio reactivo optimizada.

Los contaminantes que pueden ser tratados mediante esta técnica son: solventes, preservadores de la madera, pesticidas, hidrocarburos del petróleo y otros productos químicos orgánicos. No se puede degradar compuestos inorgánicos, pero el tratamiento puede causar un cambio de valencia de estos productos y su posterior adsorción, toma, acumulación y concentración en micro y macroorganismos.

Los principales factores que pueden limitar la aplicabilidad de la técnica son:

- Las biobarreras pueden ir perdiendo su capacidad degradativa y requerir que el medio sea reemplazado, además de una monitorización continua para determinar el estado de la biobarrera.
- Altas concentraciones de metales pesados, compuesto orgánicos altamente clorados, hidrocarburos de cadena larga o sales inorgánicas pueden ser tóxicas para los microorganismos.
- Profundidad y anchura de la barrera.
- Coste del medio de tratamiento.
- La actividad biológica puede limitar la permeabilidad del muro de tratamiento.
- Bajas temperaturas disminuyen la tasa de biodegradación.

3.1.5.3. DISEÑO DE LA BARRERA BIOLÓGICA

El diseño de la barrera está determinado por las condiciones geológicas e hidrogeológicas y por el tipo, concentración y distribución lateral de los contaminantes.

El material ideal para biobarreras debería satisfacer los siguientes criterios:

- Soportar el crecimiento bacteriano durante el período de tiempo asignado a la barrera permeable.
- Ser relativamente barato y fácilmente disponible.
- Contener un volumen gestionable para el uso en dicha barrera.

Para material para las biobarreras se pueden utilizar:

- Residuos vegetales.
- Zeolitas + silica gel + arena.
- Bentonita + poliacrilamida de aluminio + arena.
- Turba + Poliacrilamida de aluminio + arena.

3.1.5.4. IMPLANTACIÓN DE BIOBARRERAS

Previo implantación en campo se llevan a cabo pruebas de laboratorio para determinar el sustrato más apropiado para el crecimiento de las bacterias, estimar cuáles son las tasas de utilización del sustrato y otros parámetros de definición del proceso.

La inoculación *in situ* debería llevarse a cabo con una población microbiana aclimatada a los contaminantes presentes en el agua subterránea. Para ello se dispone de un tanque lleno del agua subterránea contaminada recogida en el área de inicio de la pluma, que se mantiene aireado y al que se va añadiendo progresivamente más contaminante. Una vez el agua del tanque se vuelve turbia debido al crecimiento microbiano, se vacía dentro de la biobarrera.

Existen varios métodos posibles para la instalación de biobarreras

Excavación y las planchas extraíbles

Excavación. Se utiliza equipamientos de construcción para excavar las zanjas.; si es muy profunda necesita estabilización; posteriormente la zanja se rellena del material reactivo creando una barrera continua, o bien un tratamiento discreto posicionando varias zonas reactivas a lo largo de la zanja.

Como ventaja se puede utilizar en casi cualquier tipo de suelo con tal de que sean geológicamente estable y como desventaja, es necesario deshacerse del suelo excavado. El coste de este método sería de unas 3.500 ptas/método de profundidad.

Planchas extraíble El caso en que sea necesario reemplazar el medio de la barrera activa es mediante la excavación y eliminación del medio antiguo. De ahí la efectividad del método de las cajas extraíbles, que permite la eliminación y reemplazo del medio reactivo de forma mucho más cómoda. Mediante este método el medio reactivo va en el interior de cajas rectangulares extraíbles que se introducen en el terreno y pueden apilarse unas encima de otras o en horizontal.

Las cajas pueden ser instaladas a profundidades entre 15 y 25 m.

Una de las ventajas de las cajas extraíbles es si se sustituye el medio reactivo de las cajas cuando está agotado, el tiempo de vida de operación del sistema a escala real puede ser ampliado indefinidamente.

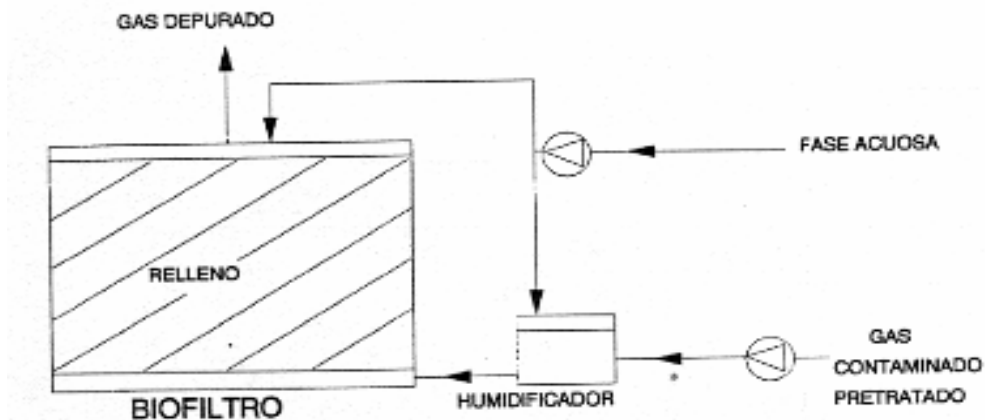
3.2 BIOFILTRACION

Se puede utilizar para tratar los compuestos orgánicos volátiles y halogenados (COV's y HOC's), los hidrocarburos aromáticos monocíclicos y policíclicos (MAH's y PAH's) y ciertos alcoholes. Es también útil para el control del olor.

El método biológico de la biofiltración se basa en que, se alimenta el aire contaminado a biorreactores en los cuales una flora microbiana convierte los contaminantes orgánicos volátiles en dióxido de carbono, agua y biomasa. Puesto que los microorganismos desarrollan su actividad en medio líquido, la biodegradación debe tener lugar en fase acuosa. En el caso de la biofiltración la biodegradación tiene lugar en la biopelícula adherida al soporte. Debe intentarse la biodegradación completa ya que podría producirse productos tóxicos, con lo cual es importante alcanzar una mineralización total de los contaminantes.

Un esquema de un biofiltro aparece en la figura 5. Consiste básicamente en un reactor tubular que contiene un relleno con biomasa inmovilizada.

FIGURA 5. DISEÑO DEL BIOFILTRO.



FUENTE: LA BIORREMEDIACIÓN COMO ALTERNATIVA AL TRATAMIENTO DE SUELOS CONTAMINADOS. En: AVANCE Y PERSPECTIVA. Septiembre-Octubre de 1998.

En los biofiltros, los factores que hay que tener en cuenta y los parámetros a optimizar son principalmente: el relleno, la temperatura, el nivel de humedad, la pérdida de carga.

3.2.1. FACTORES A TENER EN CUENTA CON LA BIOFILTRACIÓN

Tras la caracterización del gas a tratar en el biofiltro, se eliminan primero las partículas del aire contaminado, después se enfría y se humidifica. La temperatura y el porcentaje de humedad del gas son dos factores a tener en cuenta para mantener una actividad bacteriana óptima y no alterar demasiado las características del relleno. La eliminación de partículas permite evitar problemas de taponamiento. La presencia de partículas sobre el soporte reduciría la superficie útil. El gas se alimenta finalmente al biofiltro mediante soplantes. El biorreactor puede ser horizontal o vertical y puede estar formado por una o varias capas de relleno.

3.3. BIORREMEDIACIÓN EX SITU.

En la biorremediación ex situ, los métodos que se emplean son los biorreactores, unidades de tratamiento de suelos, pilas de composteo y las biopilas. Los sistemas de biorreactores son principalmente usados para residuos líquidos (figura 6a). La velocidad de degradación se favorece con el empleo de biorreactores con los tratamientos en el campo, porque se pueden controlar las condiciones de operación del sistema. La desventaja de estos sistemas es su costo, que generalmente es elevado e involucra altas inversiones de capital, gastos de operación y de mantenimiento. Las unidades de tratamiento de suelo (figura 6b) consisten en mezclar el suelo

agua con nutrientes, y la posible adición de microorganismos al suelo. Estos tratamientos son económicos, pero requieren grandes áreas de terreno por períodos largos de tiempo. Los procesos pueden ser usados para degradar residuos sólidos, semisólidos y líquidos. Su aplicación depende de la velocidad de carga del residuo y de los métodos disponibles. En las pilas de composteo (figura 7b) se adiciona algún material lignocelulolítico como: bagazo, paja, viruta, pastos, etc., con el fin de aumentar la porosidad de la pila y favorecer la transferencia de oxígeno. Actualmente se ha encontrado que se puede adicionar hongos ligninolíticos crecidos en residuos lignocelulósicos a suelos contaminados, con lo que disminuye considerablemente la concentración de contaminantes de tipo aromático. Para obtener una adecuada relación carbono/nitrógeno se adicionan nutrientes orgánicos e inorgánicos. El composteo puede ser aerobio o anaerobio (en ausencia de oxígeno), estos últimos se utilizan generalmente para residuos volátiles altamente peligrosos. Las biopilas se forman por montículos de suelo que en su interior contienen ductos por los cuales se provee el aire y el agua.

FIGURA 6. TRATAMIENTO EX SITU. A BIOREACTOR: B. LAGUNA

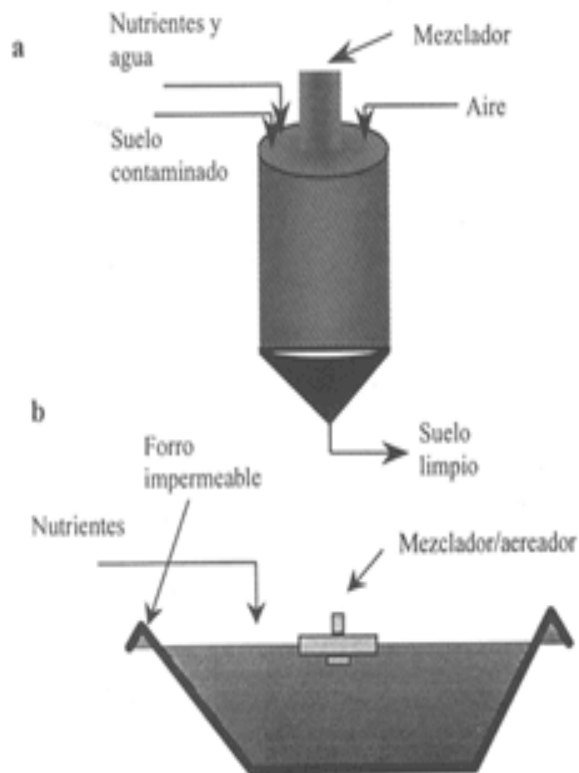
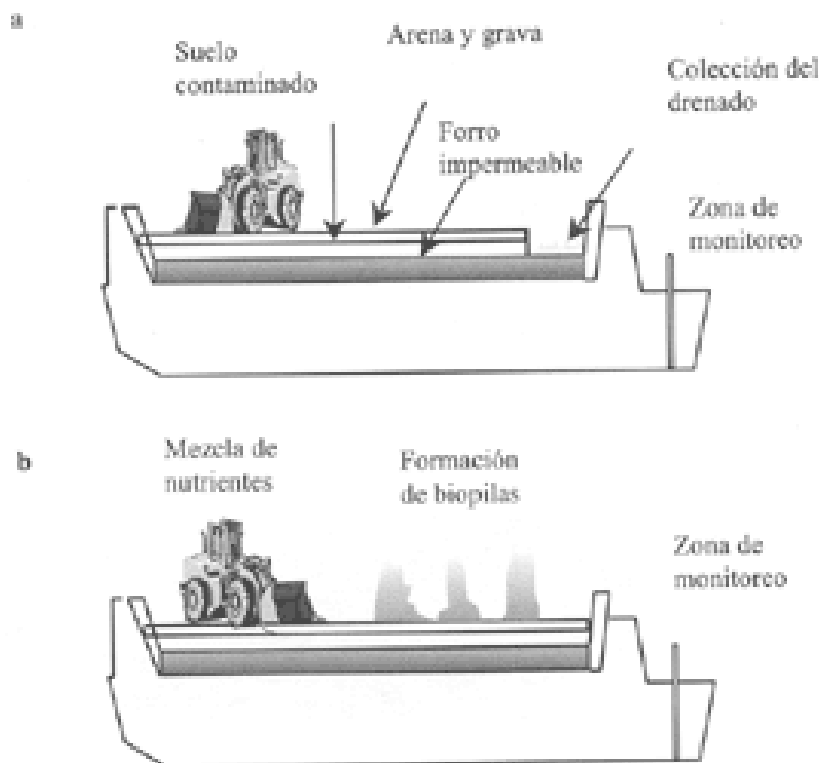


FIGURA 7. TÉCNICA DE BIORREMEDIACIÓN EX SITU.A UNIDADES DE TRATAMIENTO SUELO. B PILAS DE COMPOSTEO.



FUENTE: LA BIORREMEDIACIÓN COMO ALTERNATIVA AL TRATAMIENTO DE SUELOS CONTAMINADOS. En: AVANCE Y PERSPECTIVA. Septiembre-Octubre de 1998.

3.3.1 BIOPILAS

La técnica de biopilas es un tratamiento de biorrecuperación de tipo “ex situ” en condiciones no saturadas, consistente en la reducción de la concentración de contaminantes derivados del petróleo en suelos excavados mediante el uso de la biodegradación.

La técnica consiste en la formación de pilas de material biodegradable de dimensiones variables, formadas por suelo contaminado y materia orgánica (compost) en condiciones favorables para el desarrollo de los procesos de biodegradación de los contaminantes.

Estas pilas de compost pueden ser aireadas de forma activa, volteando la pila, o bien de forma pasiva, mediante tubos perforados de aireación.

En principio, las biopilas se pueden aplicar a la mayoría de los compuestos orgánicos, siendo más eficaz en los compuestos de carácter más ligero.

Entre los factores que influyen en la aplicación de las biopilas destacan:

- Los hidrocarburos deben ser no halogenados y deben encontrarse en el suelo en concentraciones menores a 50.000 ppm.
- Dada la necesidad de excavación y posterior depósito del suelo contaminado, se requiere una superficie de trabajo relativamente grande cuyas dimensiones dependen del volumen de suelo a tratar.
- Necesidad de una densidad de poblaciones microbianas (>1.000 CFU/gramo de suelo), condiciones de humedad (40-85% de capacidad de campo), temperatura (10 y 45° C), textura (baja proporción de arcillas), pH del suelo adecuadas (6 y 8) y baja presencia de metales pesados (< 2.500 ppm).
- La concentración de nutrientes en el suelo cuyo rango normal de C:N:P sea de 100:10:1.
- El tiempo de actuación puede ser alto (meses a años) y el coste bajo.

3.3.2. ASPECTOS IMPORTANTES EN LA BIORREMEDIACION

La concentración y composición de la comunidad microbiana y la tasa de transformación de los contaminantes está influenciada por diversos factores que debemos tener muy en cuenta en la iniciación de esta técnica.

- **Necesidad de nutrientes:** El metabolismo microbiano está orientado a la reproducción de los organismos y éstos requieren que los constituyentes químicos se encuentren disponibles para su asimilación y síntesis. Los nutrientes principalmente requeridos son el fósforo y el nitrógeno. Por lo general suele haber en el suelo una concentración de nutrientes suficiente, sin embargo, si estos no se encontrasen en el rango normal se puede adicionar mayor cantidad al medio. El rango normal de C:N:P depende del sistema de tratamiento a emplear, siendo de modo habitual 100:10:1.
- **pH del suelo:** afecta significativamente en la actividad microbiana. El crecimiento de la mayor parte de los microorganismos es máximo dentro de un intervalo de pH situado entre 6 y 8. Así mismo el pH también afecta directamente en la solubilidad del fósforo y en el transporte de metales pesados en el suelo. La acidificación o la reducción del pH en el suelo se puede realizar adicionando azufre o compuestos del azufre.
- **Temperatura:** generalmente las especies bacterianas crecen a intervalos de temperatura bastante reducidos, entre 15 y 45 °C (condiciones mesófilas), decreciendo la biodegradación por desnaturalización de las enzimas a temperaturas superiores a 40 °C e inhibiéndose a inferiores a 0 °C.

- **Humedad:** los microorganismos requieren unas condiciones mínimas de humedad para su crecimiento. El agua forma parte del protoplasma bacteriano y sirve como medio de transporte a través del cual los compuestos orgánicos y nutrientes son movilizados hasta el interior de las células. Un exceso de humedad inhibirá el crecimiento bacteriano al reducir la concentración de oxígeno en el suelo. El rango varía en función de la técnica.
- **Estructura química del hidrocarburo:** la inherente biodegradabilidad de un hidrocarburo depende, en gran medida, de su estructura molecular. Siendo los parámetros que más van a afectar la halogenación, la existencia de ramificaciones, la baja solubilidad en el agua y la diferente carga atómica.).
- **La biodisponibilidad** de los microorganismos. Cuanto menor es la solubilidad de los contaminantes menor será la biodisponibilidad.
- **Los aportes de oxígeno** deben ser suficientes, así como la existencia de fuentes de carbono, aceptores de electrones y energía suficientes.
- No debe existir producto libre en flotación sobre el nivel freático.
- Necesidad de tiempos de actuación cortos (meses) y coste medio-alto.
- **Antigüedad de la contaminación.** A medida que transcurre el tiempo después de un derrame se va modificando la composición del hidrocarburo por acción de los agentes ambientales. Primero se pierden los volátiles y después se produce la eliminación de parafinas, ya sea por evaporación, por actividad fotoquímica o actividad biológica; luego se eliminan otros componentes. Como resultado de ello el contaminante se enriquece en compuestos pesados, más difíciles de degradar; por lo que la velocidad de reacción disminuye a medida que transcurre el tiempo.
- Tipo y concentración de contaminante
- **Tipo de hidrocarburos.** La biodegradabilidad de un compuesto orgánico se debe a que es utilizado por los microorganismos como fuente de carbono. No todos los compuestos se degradan con la misma facilidad (Niemi et al, 1987):
 - Los compuestos alifáticos de cadena lineal (parafínicos) se degradan fácilmente, pero cuando se incluyen como sustituyentes alcanos de cadena larga, se forman estructuras ramificadas estéricamente inaccesibles para la degradación. De la misma forma, los compuestos alifáticos insaturados se degradan más lentamente que los saturados.
 - Los compuestos aromáticos simples se degradan por diferentes aperturas del anillo. La incorporación de halógenos disminuye la degradabilidad por estabilización

del anillo. También se pueden degradar los compuestos aromáticos policlorados como los policlorobencenos cuya biodegradabilidad disminuye al aumentar el número de átomos de Cloro en la molécula.

- Los compuestos nitrogenados y azufrados se degradan lentamente. Los compuestos más resistentes al ataque microbiano son las fibras sintéticas, aunque se están aislando microorganismos capaces de degradar estos compuestos (Niemi et al 1987; Rochkind et al, 1986; Vogel et al, 1987).
- En nuestras experiencias se ha trabajado con hidrocarburos de diferentes orígenes: derrames de combustibles y crudos (pesados y livianos), fondos de pileta de evaporación de crudos pesados y livianos, residuos laminares de oleoductos, residuos operativos de refinería y residuos operativos de yacimientos, verificándose diferentes respuestas para cada tipo de hidrocarburo.
- **Concentración de hidrocarburos.** Cuando la concentración de contaminante es alta puede ocurrir que se produzca inhibición del desarrollo microbiano (disminuya su capacidad de metabolización) o si es muy alta que intoxique a los microorganismos y estos mueran (LaGrega et al, 1996). Se han registrado en ensayos de campo procesos biológicos a concentraciones de hasta 30 %, medido por extracción sucesiva con solventes (Ercoli y otros, 1998). Por encima del 30 % se han observado casos donde la velocidad es muy baja pero no nula. En estos casos se ha utilizado la técnica de bioaumentación basada en incorporación de microorganismos adaptados a altas concentraciones. Se ha observado desarrollo de hongos a concentraciones superiores al 25 %, en donde estos crecen sobre el hidrocarburo o en las interfases suelo - hidrocarburo y en las grietas y fisuras que se encuentran en los trozos o grumos de contaminante. En este caso el ataque comienza desde la periferia al centro del aglomerado suelo-hidrocarburo, en forma similar al proceso de agotamiento de una pastilla de catalizador. Este fenómeno se acompaña por un aumento de la porosidad. En una segunda etapa el grumo se disgrega y aumenta su superficie específica con el consiguiente incremento de velocidad de reacción, que se ve acelerada cuando la concentración disminuye, ya que desaparecen los fenómenos de inhibición.

4. RESULTADOS DEL TRABAJO REALIZADO BAJO CONVENIO CDMB – UDES

4.1. LODOS CONTAMINADOS CON ACEITES QUEMADOS (LODOS DE LA VACTOR)

Además del tratamiento de las aguas residuales, la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales PTAR Río Frío (Floridablanca- Santander), se encarga de la disposición final de los residuos sólidos y líquidos transportados por los equipos VACTOR de la CDMB, responsables de la recolección de los residuos de los sistemas de alcantarillado.

Los equipos VACTOR son camiones constituidos con un sistema de vacío, ver **FIGURA 8**. Estos constan de una turbina de gran tamaño que está dinámica y estáticamente balanceada para producir succión, segura y muy poderosa, capaz de remover lodos de las cañerías a una gran velocidad, es utilizado para limpiar las cañerías urbanas, pero también es utilizado para la recolección de residuos de las alcantarillas de los talleres de mecánica automotriz, las trampas de grasas, las estaciones de servicio para el abastecimiento de combustible y los lavaderos de automotores, en estos establecimientos se producen desechos de características aceitosas cuyo principal contaminante es el petróleo y sus derivados.

La CDMB cuenta con 4 máquinas para realizar los trabajos de limpieza. Dos de estas máquinas son marca VACTOR y dos son marca VAC-CON.

La Corporación además de la limpieza de las redes de alcantarillado del área metropolitana de Bucaramanga, presta el servicio de alquiler de la VACTOR para la limpieza de pozos sépticos, trampas de grasa y mantenimiento de tanques de estaciones de servicio o en pequeñas unidades de tratamiento de aguas residuales. Adicionalmente, cada semana se destina uno de los equipos para realizar la limpieza de los desarenadores de la PTAR.

El trabajo de limpieza de las estructuras que integran el sistema de alcantarillado se encuentran divididos en cuatro distritos: distrito I y II que

corresponden a Bucaramanga, distrito III que corresponde a Floridablanca y distrito IV que corresponde a Girón. Cada distrito cuenta con una maquina para las labores de mantenimiento. La VT-1 y la VC-3 están destinadas a atender los distritos I y II, la VT-2 tiene como área de atención el distrito III y la VC-4 se encuentra destinada al distrito IV.

FIGURA 8. EQUIPO VACTOR.



FUENTE: OCHOA. Edwin. Aislamiento e identificación de los lodos deshidratados. Trabajo de grado UDES – Noviembre 2002

Para la realización de los trabajos no se cuenta con una rutina establecida, ya que esta programación esta supeditada a las condiciones climáticas que ameriten atender primordialmente a uno u otro sector, los fines de semana se asigna uno de los cuatro equipos VACTOR para que realice los trabajos que no se pudieron llevar acabo durante el transcurso de la semana, ya sea como consecuencia del trafico o por inconvenientes no previstos.¹⁶

No existe una cuantificación exacta de los residuos transportados por los equipos VACTOR. Aunque los trabajos se llevan acabo diariamente, no siempre las cantidades recogidas completan la capacidad de los equipos y cada equipo no realiza la descarga de su contenido en la zona destinada de la PTAR Río Frió hasta tanto no se encuentre colmada su capacidad. En promedio se llevan a la PTAR 48.2 m² de residuos por semana, con un máximo de 56.5 m² y un mínimo de 30.5 m².

¹⁶ ECOSYSTEMA S.A Estudio para la disposición de los residuos sólidos y líquidos transportados por los equipos VACTOR de la CDMD.. mayo del 2002 Bucaramanga-Santander

En el manejo de los lodos transportados por los equipos VACTOR es importante conocer dos características de estos. La primera de ella es la constitución del componente sólido y la segunda es la caracterización de los líquidos que escurren de los lodos, una vez que son descargados en los sitios de disposición.

Se le determinaron las características a los lodos líquidos que escurren de los camiones VACTOR, fueron enviados al laboratorio de aguas y suelos de la CDMB, los análisis solicitados fueron: DBO₅, DQO, sólidos totales, volátiles, suspendidos, suspendidos volátiles, sedimentables, aceites y grasas, nitrógeno total, sulfatos y alcalinidad.

Los componentes sólidos fueron establecidos mediante la clasificación de los diferentes tipos de basuras encontradas. En la descarga domestica se encontraron elementos de icopor, palos de madera, trapos, ropa, hojas, monedas y bolsas plásticas; en las descargas provenientes en las zonas de talleres se encontraron palos de madera, cartón, canecas plásticas, piedras, trapos, ropa, zapatos, monedas, vasos, bolsas plásticas, baterías de motos, vidrio, repuestos de cauchos de los carros, canecas metálicas y animales muertos, ver figura 4; finalmente en las descargas provenientes de los servicios especiales de la estación de servicios, no se observan elementos sólidos diferentes a los lodos que se encuentran en todas las descargas y hojas.¹⁷

FIGURA 9. Descargue de residuos aceitosos.



FUENTE: DURAN, Vladimir, ALMANZA, Joel. Aislamiento e identificación de los lodos de la Vactor. Trabajo de grado UDES –Julio. 2003

¹⁷ Ibid., pág. 27

FIGURA 10. CARACTERÍSTICAS DE LOS RESIDUOS DE LA VACTOR.



FUENTE: DURAN, Vladimir, ALMANZA, Joel .Aislamiento e identificación de los lodos de la Vactor. Trabajo de grado UDES –Julio. 2003

FIGURA 11. RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS.



FUENTE: DURAN, Vladimir, ALMANZA, Joel . Aislamiento e identificación de los lodos de la Vactor. Trabajo de grado UDES –Julio. 2003

Un punto importante que se debe tener en cuenta cuando se programan los recorridos de los equipos de VACTOR es de establecer recolecta de un mismo tipo de residuo por vehículo al día, el vehículo que se inicie recolecta de desechos domésticos debe únicamente atender a este mismo tipo de residuos hasta tanto se complete su capacidad y efectúe la descarga en el sitio de disposición.

No debe mezclarse residuos y mucho menos cuando se traten de prestación de servicios especiales. Así no se complete la capacidad del equipo, si no

hay otro tipo de servicio similar, debe procederse a descargar los residuos y lavar el vehículo para dejarlo en disposición de atender un nuevo tipo de servicio.

Para tener una idea general con respecto a los componentes de los lodos de las maquinas VACTOR ver el anexo B, que muestra los resultados de los análisis realizados por la CDMB en el laboratorio de la Finca La Esperanza.

4.2.1. TOMA DE MUESTRA.

Se realizó la toma de muestra siguiendo la metodología usualmente empleada para evaluar las características del suelo. La muestra de suelo consiste en una mezcla de porciones de suelo (submuestras), tomadas al azar de un terreno homogéneo (ICA 1992)

4.2.2. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Se siguieron las normas de asepsia necesarias para el majo de cualquier muestra para análisis microbiológico evitando posibles causas de error por contaminación.

Se utilizaron medios de cultivo selectivos y algunos modificados los cuales se habían ensayado e implementado en trabajos anteriores para microorganismos del suelo (figura 16).

Se realizaron 4 muestreos por duplicado para así lograr aislar e identificar el mayor número de bacterias gram-positivas y gram-positivas.

FIGURA 12. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS



FUENTE: DURAN, Vladimir, ALMANZA, Joel. Aislamiento e identificación de los lodos de la Vactor. Trabajo de grado UDES –Julio. 2003

4.2.3. RESULTADOS PRIMER MUESTREO

TABLA 9. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA GRAM NEGATIVOS.

Ref.	TSI	Gas	H ₂ S	LIA	Citrato	Indol	Urea	Malonato	RM	VP	Motilidad	Fenil Alanina	Oxidasa	IDENTIFICACIÓN
V1-5	A/A	+	+	R/ K	+	-	+	+	+	-	+	-	+	<i>Pseudomonas spp.</i>
V1-8	K/K	-	-	K/ K	-	-	-	-	-	-	+	-	+	<i>Alcaligenes denitrificans.</i>
V1-14	A/A	+	-	K/ K	-	-	-	+	-	-	+	-	-	<i>Hafnia alves.</i>
V1-16	K/K	+	-	K/ K	-	-	D	-	+	-	+	-	+	<i>Alcaligenes spp.</i>
V1-17	A/A	+	-	K/ A	+	-	+	+	+	-	-	-	-	<i>Klebsiella spp</i>
V1-19	K/A	+	+	K/ K	+	-	+	+	+	-	+	-	-	<i>Citrobacter freundii</i>
V1-23	A/A	+	+	K/ A	+	-	+	-	+	-	+	-	-	<i>Citrobacter freundii</i>
V1-29	A/A	+	+	K/ A	+	-	+	-	+	-	+	+	-	<i>Proteus mirabilis</i>

FUENTE: investigaciones de los autores.

4.2.4. ANALISIS DE RESULTADOS DEL PRIMER MUESTREO: se lograron aislar e identificar microorganismos de gran importancia en procesos de biorremediación como son el caso de *Pseudomana spp.* *Acaligenes spp.* *Citrobacter spp*, utiles en remoción de algunos metales, clofenoles y bifenilos.

4.2. RESULTADOS SEGUNDO MUESTREO

TABLA 10. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA GRAM NEGATIVOS.

R ef.	TSI	Gas	H ₂ S	LIA	Citrato	Indol	Urea	Malonato	RM	VP	Motilidad	Fenil Alanina	Oxidasa	IDENTIFICACIÓN
V 2- 9 V	A / A K	+	-	K / A R	+	-	-	-	-	+	+	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i>
		+	+		-	+	+	-	+	-	+	-	-	<i>Proteus penneri</i>

2-12	/		+	/										
V	A			A										
2-15	/			/										
V	A			A										
2-17	/			/										
V	K			K										
2-18	/			/										
V	A	+	-	K	+	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>
2-22	/			/										
V	A	+	-	K	-	+	-	-	+	-	-	-	-	<i>Klebsiella ozaenae</i>
2-27	/			/										
V	A			A										
2-27	/			/										
V	K	-	-	K	D	-	D	-	+	-	+	-	-	<i>Citrobacter freundii</i>

FUENTE: investigaciones de la autora.

TABLA 11. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA GRAM NEGATIVOS.

Ref.	TSI	Gas	H ₂ S	LIA	Citrato	Indol	Urea	Malonato	RM	VP	Motilidad	Fenil Alanina	Oxidasa	IDENTIFICACIÓN
V3-1	A/A	+++	-	K/A	-	+	-	-	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli.</i>
V3-7	K/A	-	-	K/A	+	-	+	-	-	-	-	-	-	<i>Klebsiella spp</i>
V3-8	K/K	-	-	K/K	+	-	-	+	+	-	+	-	+	<i>Alcaligenes spp</i>
V3-12	K/A	+	++	R/A	-	-	+	-	-	+	+	+	-	<i>Proteus mirabilis</i>
V3-18	A/A	++	-	K/A	-	+	-	-	+	-	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>

FUENTE: investigaciones de la autora.

TABLA 12. RESULTADOS DE LAS REACCIONES BIOQUÍMICAS CON EL SISTEMA BBL CRYSTAL PARA GRAM POSITIVOS.

Ubicación del panel	Ingrediente Activo	Código	V3-6	V3-5
4 A	Control fluorescente negativo	FCT		
2 A	4MU-b-D-glucósido	FGC	+	-
1 A	L-valina	FVA	-	-
4B	L-fenilalanina	FPH	+	+
2B	4MU-a-D-glucósido	FGS	-	+

1B	L-ácido piroglutámico	FPY	+	-
4C	L-triptófano	FTR	-	+
2C	L-arginina	FAR	-	+
1C	4MU-N-acetil-b-D-glucosaminida	FGA	+	-
4D	4MU-fosfato	FHO	-	+
2D	4MU-b-D-glucoronido	FGN	-	-
1D	L-isoleucina	FIS	-	-
4E	Trehalosa	TRE	-	+
2E	Lactosa	LAC	-	+
1E	Metil-a- y b-glucosido	MAB	-	-
4F	Sacarosa	SUC	-	+
2F	Manitol	MNT	-	+
1F	Maltotriosa	MTT	-	+
4G	Arabinosa	ARA	-	+
2G	Glicerol	GLR	-	-
1G	Fructosa	FRU	-	+
4H	p-nitrofenil-b-D-glucósido	BGL	+	-
2H	p-nitrofenil-b-D-celobiosido	PCE	+	-
1H	Prolina y leucina -p-nitroanilida	PLN	-	+
4I	p-nitrofenil – fosfato	PHO	+	+
2I	p-nitrofenil -a-D-maltósido	PAM	+	-
1I	o-nitrofenil-b-D-galactósido y p-nitrofenil -a-D-galactósido	PGO	-	-
4J	Urea	URE	-	-
2J	Esculina	ESC	+	-
1J	Arginina	ARG	+	+
		CÓDIGO	2510000663	0664675141
MORFOLOGÍA	BACILOS	Identificación	<u>Bacillus brevis</u>	<u>Identificación inaceptada</u>

FUENTE: investigaciones de la autora.

TABLA 13. PRUEBAS ADICIONALES PARA LA COLONIA V3-5

PRUEBAS ADICIONALES PARA LA COLONIA V3-5	
Oxidasa	Positiva
Catalasa	Positiva
TSI	K/K
Motilidad	Negativa
Hidrólisis	Positiva
Coloración ZN	Bacilos Ácido Alcohol Resistente.
Coloración Gram	Bacilos Gram positivos filamentosos.
Crecimiento	Lento a las 24 horas
Morfología de la colonia	Colonias con amarillas, redondas, medianas, duras, secas, convexas, olor a tierra.
Microorganismo: <i>Nocardia spp.</i>	

FUENTE: investigaciones de la autora.

4.2.4. ANALISIS DE RESULTADOS DEL SEGUNDO MUESTREO

Además de los microorganismos aislados e identificados en el primer muestreo se logramos aislar e identificar otros microorganismos importantes para nuestro proyecto como son *Bacillus brevis* y *Nocardia* spp y otros microorganismos a los cuales se les realizaron las pruebas complementarias para su identificación.

4.3. RESULTADOS DEL TERCER MUESTREO

En este muestreo se aislaron 18 colonias de las cuales se identificaron 7 microorganismos. En este aislamiento se identificó *Escherichia coli*, la cual llama la atención por su resistencia a las condiciones a que fue sometida antes de su identificación, hoy en día se han reportado investigaciones sobre su importancia en remoción de algunos metales.

Además se aisló una colonia que al Gram se observaron bacilos *Grampositivos filamentosos*, estos bacilos son aerobios, de crecimiento lento, colonias amarillas de consistencia dura, opacas, redondas, con presencia de un olor propio ha “tierra”. Por lo anterior se procede a realizar las pruebas respectivas correspondientes al género *Nocardia*. Finalizadas las pruebas adicionales se confirma el género de la colonia. Ver tabla 18.

4.4. RESULTADOS DEL CUARTO MUESTREO

TABLA 14. DESCRIPCIÓN DE LAS COLONIAS AISLADAS.

Referencia De Colonia	Descripción Macroscópica	Descripción Microscópica	Criterio para la Identificación
V4-1	Brillante olor uva, pigmento verde.	BGN	CRYSTAL – GN
V4-2	Fermentador débil, Brillante, pigmento verde.	BGN	CRYSTAL – GN
V4-3	No fermentadora, rugosa, pigmento verde.	BGN	Repetida
V4-4	No fermentadora, pequeñas, redondas, convexas.	CGP	Contaminada
V4-5	No fermentadora, pequeñas, redondas, convexas.	BGN	Contaminada
V4-6	Fermentadora, amarilla, mediana, brillante.	CBGN	CRYSTAL-GN
V4-7	Opaca, seca, invasiva, Mackonkey negativo.	BGP	CRYSTAL-GP
V4-8	No fermentadora, pequeña, convexa, redonda.	BGN	Repetida
V4-9	Manitol positivo, pequeña, redonda, brillante.	BGP	CRYSTAL-GP
Nota; Mck negativo: no presenta crecimiento en la placa de agar BGP: Bacilos Gram Positivos BGN: Bacilos Gram Negativos		CGP: Cocos Gram Positivos CGN: Cocos Gram Negativos CBGN: Cocobacilos Gram Negativos	

FUENTE: investigaciones de la autora.

TABLA 15. RESULTADOS DE LAS REACCIONES BIOQUÍMICAS CON EL SISTEMA BBL CRYSTAL PARA GRAM POSITIVOS.

Ubicación del panel	Ingrediente Activo	Código	V4-1	V4-2	V4-6
4 A	Arabinosa	ARA	-	-	-
4B	Manosa	MNS	-	-	-
4C	Sacarosa	SUC	-	-	-
4D	Melibiosa	MEL	-	-	-
4E	Ramnosa	RHA	-	-	-
4F	Sorbitol	SOR	-	-	-
4G	Manitol	MNT	-	-	-
4H	Adonitol	ADO	-	-	-
4I	Galactosa	GAL	+	-	-
4J	Inositol	INO	-	-	-
2 A	p-n-p-fosfato	PHO	-	+	+
2B	p-n-p a-B-glucosido	BGL	-	-	-
2C	p-n-p-B-galactosido	NPG	-	-	-
2D	Prolina nitroanilida	PRO	+	+	-
2E	p-n-p bis-fosfato	BPH	-	-	+
2F	p-n-p xilósido	BXY	-	-	-
2G	p-n-p-a arabinósido	AAR	-	-	-
2H	p-n-p fosforicolina	PHC	-	-	-
2I	p-n-p-B-glucorónido	GLR	-	-	-
2J	p-n-p-N-acetil glucosamidi na	NAG	-	-	+
1 A	Gamma-L-glutamyl p-nitroanilida	GGL	+	+	+
1B	Esculina	ESC	-	-	-
1C	p-nitro-D-fenilalanina	PHE	-	-	-
1D	Urea	URE	+	+	+
1E	Glicina	GLY	+	+	+
1F	Citrato	CIT	+	+	-
1G	Ácido malónico	MLO	-	-	-
1H	Cloruro de trifenil tetrazolio	TTC	-	+	-
1I	Arginina	ARG	+	+	+

1J	Lisina	LYS	+	+	+
Adicional	Oxidasa		+	+	-
	Indol		-	-	
CÓDIGO			1003110051	3003110111	3001300013
IDENTIFICACIÓN BACTERIANA			<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Chromobacterium violaceum</i>

FUENTE: investigaciones de la autora.

TABLA 16. RESULTADOS DE LAS REACCIONES BIOQUÍMICAS CON EL SISTEMA BBL CRYSTAL GRAM POSITIVOS

Ubicación del panel	Ingrediente Activo	Código	V4-7	V4-9
4 A	Control fluorescente negativo	FCT		
2 A	4MU-b-D-glucósido	FGC	+	+
1 A	L-valina	FVA	-	-
4B	L-fenilalanina	FPH	+	+
2B	4MU-a-D-glucósido	FGS	+	+
1B	L-ácido piroglutámico	FPY	+	-
4C	L-triptófano	FTR	-	+
2C	L-arginina	FAR	+	+
1C	4MU-N-acetil-b-D-glucosaminida	FGA	+	-
4D	4MU-fosfato	FHO	+	+
2D	4MU-b-D-glucoronido	FGN	-	-
1D	L-isoleucina	FIS	-	-
4E	Trehalosa	TRE	-	+
2E	Lactosa	LAC	-	-
1E	Metil-a- y b-glucosido	MAB	-	-
4F	Sacarosa	SUC	-	+
2F	Manitol	MNT	-	+
1F	Maltotriosa	MTT	-	+
4G	Arabinosa	ARA	-	-
2G	Glicerol	GLR	-	-
1G	Fructosa	FRU	-	+
4H	p-nitrofenil-b-D-glucósido	BGL	-	+
2H	p-nitrofenil-b-D-celobiosido	PCE	-	-
1H	Prolina y leucina -p-nitroanilida	PLN	+	-
4I	p-nitrofenil – fosfato	PHO	-	+
2I	p-nitrofenil -a-D-maltósido	PAM	+	+
1I	o-nitrofenil-b-D-galactósido y p-nitrofenil -a-D-galactósido	PGO	-	+
4J	Urea	URE	-	-
2J	Esculina	ESC	-	-
1J	Arginina	ARG	-	+

		CÓDIGO	2734000120	2664471471
MORFOLOGÍA	Bacilos	IDENTIFICACIÓN BACTERIANA	<i>Actinomyces pyogenes</i>	<i>Bacillus megaterium</i>

FUENTE: investigaciones de la autora.

4.4.1 ANÁLISIS DE RESULTADOS DEL CUARTO MUESTREO

En este muestreo se aislaron 9 colonias de las cuales se identificaron 5, donde cabe resaltar el aislamiento de bacterias no fermentadoras útiles en el proceso de biorremediación tales como *Pseudomonas putida* y *Pseudomonas aeruginosa*

Para los últimos aislamientos se nota la repetitiva presencia de las colonias bacterianas antes identificadas, en especial de bacilos gramnegativos no fermentadores y de bacilos gramnegativos tipo *Klebsiella spp.* por este motivo no se realizan pruebas de identificación.

4.4.1.1. MANTENIMIENTO DE CEPAS AISLADAS.

De acuerdo a los ensayos realizados durante el aislamiento e identificación de las cepas bacterianas de los Lodos de la Vactor se concluyeron las condiciones y el medio de cultivo adecuado para el crecimiento óptimo de dichas bacterias, por lo tanto se prepara el Medio denominado Agar suelo, el cual es utilizado para el mantenimiento de dichas cepas para utilizarlas posteriormente en los procesos de bioaumentación e inoculación.

4.4.1.2. PRUEBAS DE COMPATIBILIDAD BACTERIANA

Se pretende seleccionar por medio de pruebas de competitividad y compatibilidad bacteriana el grupo de bacterias y las combinaciones posibles de aquellas que de acuerdo a la información bibliográfica y componentes de los residuos a tratar nos proporcionan una mayor remoción de dichos contaminantes.

4.4.1.2.1. ENSAYOS PRELIMINARES

4.4.1.2.1.1. PRIMER ENSAYO.

Se realizaron siembras en agar nutritivo con diferentes grupos de microorganismos.

Procedimiento:

- Siembra masiva en la mitad de la caja con una cepa A incubar durante 24h y en algunos casos hasta 72 horas, a 32 °C en atmósfera de aerobiosis.
 - Al día siguiente en la mitad no sembrada se realiza la siembra mediante una estría perpendicular de la cepa B e incubando durante 48-72h a 32°C en atmósfera de aerobiosis.
- . El periodo inicial de 24 horas permite que el microorganismo A produzca una cantidad suficiente de sustancias que inhiban el crecimiento de la otra especie.

Interpretación:

Compatibilidad positiva: si ambas especies presentaban un buen crecimiento sin distinción entre los dos tipos de colonias (figura 11-a)

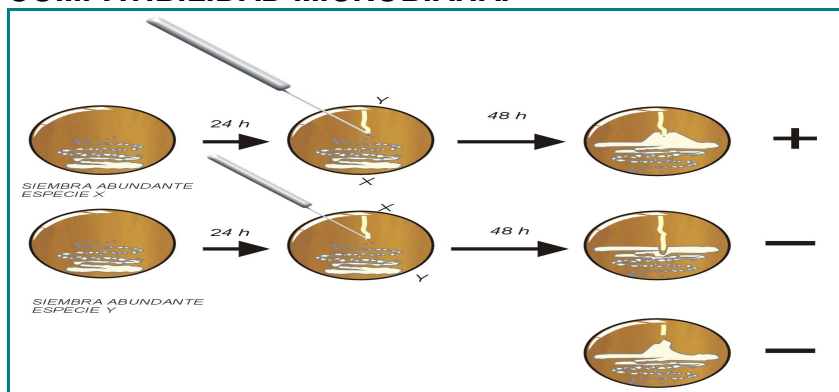
Negativas : si se observaba un retroceso en el crecimiento de algunas de las especies, ésta inhibición en el crecimiento se puede observar de dos formas, la primera es el crecimiento de la estría ocasionando un repliegue de la siembra abundante (figura 11-b) aquí se dice que la especie B inhibe el crecimiento de A la segunda es el crecimiento normal de la especie A (siembra abundante), inhibiéndose totalmente la extensión de la estría (figura 11-c) en este caso la especie A es la inhibidora del crecimiento en la otra especie.

De acuerdo a estos primeros resultados, a las especies que no presentaban indicios de inhibición entre sí se les realizó un estudio más a fondo de crecimiento dual en medio líquido con el fin de determinar en forma preliminar la factibilidad de la producción conjunta de las especies, la cual representaría ventajas en términos económicos de producción e instalación en un posible proceso a mayor escala.

Este estudio consistió en cultivar juntas el par de especies que no presentaron inhibición empleando como medio de cultivo caldo CASOY. Simultáneamente se hicieron cultivos puros de las mismas especies estudiadas de manera dual. Tanto los cultivos duales como los axénicos se realizaron bajo las mismas condiciones (caldo nutritivo a 25° C, sin flujo de aire)

El crecimiento axénico (especie pura) se cuantificó por el método profundidad en placa. Este seguimiento axénico de las especies se realizó como punto de comparación para los resultados duales.

FIGURA 13. ESQUEMA DE SIEMBRA PARA PRUEBAS DE COMPATIBILIDAD MICROBIANA.



FUENTE: JAIMES RIOS. Jairo Eduardo. Producción a escala de laboratorio de un pool de microorganismos aceleradores de compostaje. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. 2001.

5. METODO DE BIOREMEDIACIÓN PARA EL MANEJO DE LA CONTAMINACIÓN CON ACEITES QUEMADOS

A partir de trabajos realizados con estudiantes del Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico Convenio CDMB- UDES y tratando de buscar propuestas que permitan el mejoramiento del ambiente por medio de la aplicación de la Microbiología, se ha logrado el primer punto clave que es el aislamiento de microorganismos aloctonos o sea adaptados a las condiciones de dicho ambiente contaminado, lo que permitirá continuar con el manejo de estos microorganismos para su bioaumentación e inoculación en los montajes pilotos.

Se propone el uso de los procesos de biorremediación para disminuir el efecto contaminante de los aceites quemados a niveles menos tóxicos, metodología viable por sus costos y ya que se cuenta con la materia prima que en este caso son los microorganismos autóctonos o nativos del sitio contaminado.

En la tabla N° 17 un grupo de microorganismos aislados de acuerdo a los contaminantes de los aceites usados que se han investigado:

TABLA 17: MICROORGANISMOS SELECCIONADOS PARA EL TRATAMIENTO.

CONTAMINANTE	MICROORGANISMOS PROPUESTOS
Residuos metálicos	<i>Citrobacter spp.</i> <i>Micrococcus spp.</i> <i>Rhodococcus spp.</i>
Compuestos organometálicos	<i>Bacillus spp.</i> <i>Acinetobacter spp.</i>
Acidos orgánicos e inorgánicos	
Compuestos de azufre	
Aditivos: fenoles, cloro, zinc,	<i>Nocardia spp.</i>

fosforo	
Compuestos clorados PCB's	<i>Pseudomonas spp.</i>
TPH cancerígeno Benzo(a) pireno (C ₂₀ H ₁₂) Y alguno de sus derivados alquílicos: Naftaleno, Antraceno, Benzo (a) antraceno, Benzo (a) pirneo, Pireno, Perileno	<i>Pseudomonas spp.</i>

FUENTE: Investigación realizada por la autora.

Con los resultados de las pruebas de compatibilidad bacteriana se seleccionaron la bacterias y/o consorcios de bacterias que pueden ser utilizados en cada una de las pruebas piloto, con el uso de lodos deshidratados como una fuente importante de materia orgánica lo que optimizará los procesos de crecimiento bacteriano de los otros microorganismos presentes, estas mezclas se proponen en diferentes concentraciones de lodos deshidratados y lodos contaminados con aceites quemados, al igual que los otros parámetros como Temperatura, % humedad, pH, aireación, nutrientes son claves para lograr resultados óptimos.

Se aplicaran la técnica de bioaugmentación de los preparados de los microorganismos elegidos por las pruebas de compatibilidad bacteriana, teniendo en cuenta los parámetros claves para una buena eficiencia en la biodegradación.

5.1. DISEÑO DEL MÉTODO

5.1.1. CARACTERIZACIÓN DE LOS CONTAMINANTES

El primer paso para preparar el diseño de biotratamiento en el suelo es la realización de una completa investigación del medio, que incluye principalmente el estudio exhaustivo de la caracterización del terreno y del tipo y concentración de la contaminación existente.

La caracterización del terreno se llevará a cabo mediante el estudio del mismo detallando la volumetría del suelo a tratar, las condiciones geológicas e hidrogeológicas y microbiológicas analizando las características del suelo y sus propiedades (pH, granulometría, humedad, porosidad, etc), determinación de grupos funcionales de microorganismos para su evaluación.

La caracterización del contaminante se centrará en la investigación del tipo y concentración del mismo, así como la biodisponibilidad de los compuestos en el suelo (aceptores de electrones, metales pesados, nutrientes, etc).

5.1.2. ANÁLISIS FÍSICOS QUÍMICOS REALIZADOS.

Definiendo sus propiedades físico-químicas más importantes.

- Identificación y clasificación de compuestos.
 1. Hidrocarburos polinucleares totales TPH
 2. Bifenilos policlorados PCB's
 3. Metales como: Cobre, Aluminio., Plomo, Arsénico,
 4. Nitratos, Azufre,
 5. Demanda química de Oxígeno DQO
 6. Demanda bioquímica de Oxígeno DBO
 7. Grasas y aceites
 8. pH

5.2. ANÁLISIS Y ELECCIÓN DE LAS MEDIDAS BIOCORRECTIVAS

De la fase de investigación inicial, una vez identificadas las características del caso, del suelo y del contaminante, se podrá pasar al análisis y elección de las medidas biocorrectivas más adecuadas. Para ello será necesario:

5.2.1. IDENTIFICACION DE LOS FACTORES QUE INFLUYEN EN LA TRANSFORMACIÓN BIOLÓGICA DE LOS CONTAMINANTES:

De acuerdo a los resultados de los análisis físico-químicos se seleccionaran las cepas bacterianas más adecuadas para su remoción

Factores ambientales: tales como humedad, oxígeno disuelto, temperatura, pH, la disponibilidad de nutrientes serán controlados durante el proceso:

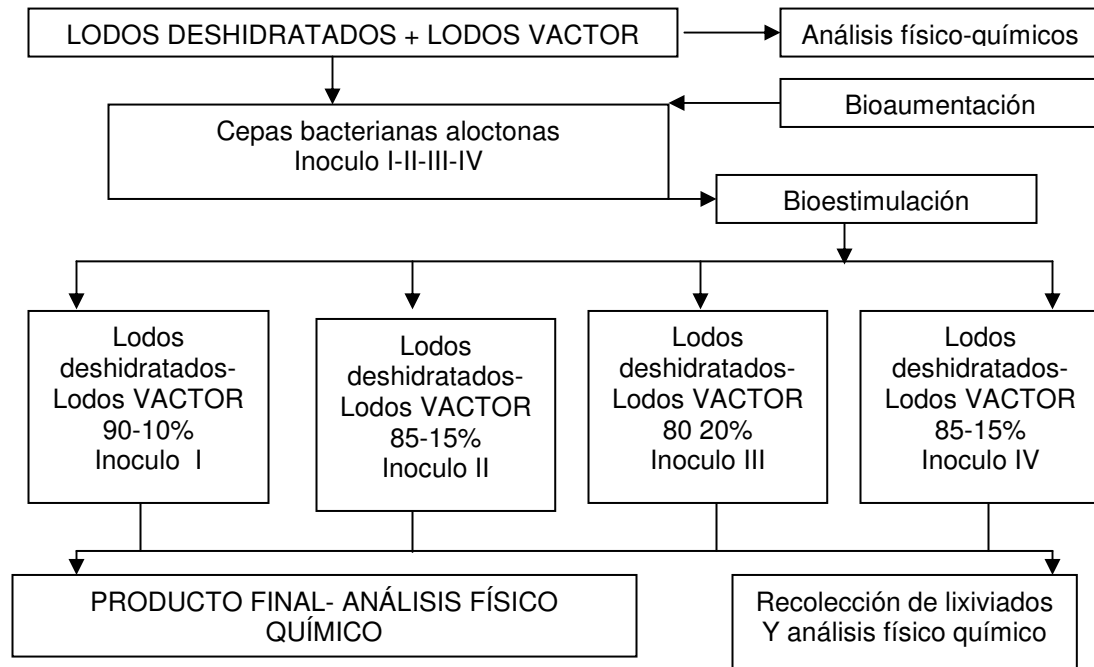
- pH se manejará, el valor entre 6.8- 7.2
- Temperatura se mantendrá controlada que no supere el rango de 35° C
- Humedad se realizaran pruebas para controlar valores entre 50-70 %
- Los nutrientes se dispondrán en diferentes concentraciones.
- El oxígeno se controlará mediante métodos manuales de movimiento con pala de los diferentes montajes.
- Factores microbiológicos: la presencia de microorganismos autóctonos y aclimatados a las condiciones propias del sitio de trabajo nos permitirán obtener mayor eficiencia en el biotratamiento.

5.2.2. DESIGNAR LAS MEDIDAS BIOCORRECTIVAS.

- En función de los factores anteriormente expuestos, se elegiría el sistema de biotratamiento aplicando bioaumentación y Bioestimulación.

5.3. DISEÑO Y EVALUACIÓN DEL SISTEMA.

FIGURA 14: DIAGRAMA DEL SISTEMA DE BIOREMEDIACIÓN.



Se ha diseñado un grupo de 4 montajes con diferentes concentraciones de lodos, así como diferentes inóculos, según los datos obtenidos de los análisis físico químicos de los productos iniciales y controlando los procesos de bioaumentación y bioestimulación claves en el desarrollo de este método.

5.4. CONTROL Y SEGUIMIENTO

Para asegurar la correcta ejecución y un progreso adecuado del tratamiento se debe llevar a cabo un plan de control y seguimiento del sistema.

Para una correcta optimización se deberán controlar los siguientes puntos:

- Control de las condiciones de degradación y biodegradación. Se registrará la variación de concentración de TPH, PCB's, metales y Oxígeno disuelto, variación de nutrientes (N, P, etc), recolección de lixiviados.
- Control de los parámetros que afectan directamente en el funcionamiento del sistema (pH, Temperatura, humedad, aireación).

5.5. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En esta última etapa se analizan los resultados obtenidos, haciendo un balance de los objetivos alcanzados y los marcados inicialmente. En este punto, si fuese necesario, se deberán proponer y estudiar aquellas mejoras o modificaciones necesarias para la optimización del sistema.

5.6. RECOMENDACIONES

- Es importante realizar la identificación y aislamiento de hongos útiles en el proceso Biorremediación, tanto de los lodos deshidratados, como de lodos contaminados con aceites quemados por que dentro de este grupo de microorganismos encontramos especies de gran importancia para el tratamiento de residuos tóxicos.
- Se deben controlar cuidadosamente los siguientes parámetros como son selección y concentración del inóculo, % de Humedad, pH, Temperatura, aireación, nutrientes en el momento de los montajes para poder evaluar y analizar correctamente los resultados.
- Durante el montaje de cada una de las pruebas se hace necesario control de lixiviados resultado del biotratamiento para su caracterización y posterior tratamiento.
- De acuerdo al nivel de contaminantes resultante de los lixiviados se propone la aplicación de Fitorremediación ampliamente utilizada para este tipo de producto.
- Diseño de programas de Capacitación para concientizar al personal de los diferentes sitios que manejan residuos de aceites quemados sobre el gran daño que ocasionan al ambiente y a la salud humana
- Es importante lograr la aplicación de esta tecnología a la zona de disposición de los residuos contaminados para evitar que el deterioro ambiental sean mayor en un futuro ya que por el tiempo se tornan más difícilmente degradables.

6. CONCLUSIONES

La industria petrolera y la petroquímica generan residuos de gran impacto ambiental, por lo tanto los procesos de producción deben ser manejados conjuntamente con los procesos de manejo de dichos contaminantes, Subproductos como aceites lubricantes posteriores a su uso que son clasificados como “Residuos Peligrosos” generan un gran impacto a nivel de suelo, aire y aguas siendo tan severo que afecta directamente la fauna, flora y la vida humana ocasionando grandes pérdidas económicas y ambientales que para ser recuperadas se necesitan muchos años y en algunos casos pueden llegar a ser completamente irreparables,

Los suelos y el agua son la base fundamental en la producción agrícola, lo que hace más urgente el control, disposición y tratamientos adecuados para mantener dichos suelos en estado productivo influyendo esto directamente en la economía de la región.

Las disposiciones legales deben ser establecidas de una forma rápida en todas las regiones del país sobre disposición, transporte, manejo y tratamiento de aceites quemados por los grandes perjuicios ocasionados al medio ambiente y al hombre, disposiciones que a nivel mundial ya se han ido implementado por su importancia y su urgente necesidad.

Un aporte de los procesos biotecnológicos a disminuir la contaminación ambiental de parte de dichos aceites quemados es la aplicación de la Biorremediación con el uso de microorganismos aloctonos para optimizar dicho proceso.

La biorremediación de diferentes contaminantes deberá estar basada en el tipo de químico presente, el uso de microorganismos y el desarrollo de las condiciones ambientales más importantes. El desarrollo de esta tecnología requiere de un equipo multidisciplinario, donde su base principal es la Microbiología. Para desarrollar un plan de biorremediación efectivo, costeable y ambientalmente seguro, es necesario tener un conocimiento de la ecología y de la evolución de las poblaciones microbianas degradativas.

Los tratamientos de remediación utilizando microorganismos autóctonos son en general más económicos, específicos y adecuados para la disminución de los niveles de contaminación, cuando se los compara con otro tipo de tratamientos, como el caso de tratamiento químico o recuperación

El manejo de procedimientos y técnicas adecuadas y adaptas a nuestro medio permitió el aislamiento de cepas bacterianas útiles en procesos de biorremediación las cuales serán aplicadas durante el desarrollo de esta investigación y de esta manera evitar el continuo deterioro de la zona afectada .

De esta manera es valida la propuesta a las entidades encargadas de la preservación del ambiente la factibilidad de su aplicación, con costos más bajos y procesos menos contaminantes que los tratamientos químicos.

7. BIBLIOGRAFÍA

A.I. PÉLAEZ, M. R. RODICIO, H. SASTRE Y J. SÁNCHEZ. "Aislamiento y caracterización de bacterias nitrificantes presentes en una planta de tratamiento de residuos líquidos". XV Congreso Latinoamericano de Microbiología (Mérida, México, 2000).

ÁLVAREZ HIDALGO, Inmaculada. Cual es la tipología y el futuro de los tratamientos biológicos. Consultora del Dpto. del Ambiente de España. iah@madrid.norcontrol.es

ASOCIACIÓN NACIONAL DE UNIVERSIDADES E INSTITUCIONES DE EDUCACIÓN SUPERIOR. [HTTP://WWW.ANUIES.MX](http://WWW.ANUIES.MX).

BRANCO, S.M., 1984. Limnología sanitaria, estudio de la polución de aguas continentales. Monografía científica No 28, serie Biología, OEA, 119 P.

CALDERÓN ZULETA Alberto. El petróleo en Colombia Ecopetrol. FBogotá. 2001. P303.

CORTES PEREZ, Edgar Alberto. Estudio de caracterización fisicoquímica y bacteriológica del río de Oro en el departamento de Santander a su paso por el municipio de Piedecuesta. Bucaramanga: Tesis de grado Especialización en Química Ambiental. 2001.

DUNHAM, R. J. Clasification of Carbonate rocks according to dispositional texture. American Assoc. Petrol. Geol. Mem. 1, 108-121, 1962

EL AMBIENTE Y LA INDUSTRIA. En: Reportajes. Diario El Comercio, GIJÓN (Asturias, España). 22-abril-2001.

FOLK, R L. Spectral Subdivisión of limestone types. AAPG, Mem. 1, 62-84, 1962

GUILLEMOT Jacques. Geología del petróleo. Paraninfo: Madrid. P 357

Guillermot, T.J. Geología del Petróleo. Paraninfo, Madrid, 1991.

HEMEROTECA VIRTUAL ANUIES.
[ttp://www.hemerodigital.unam.mx/ANUIES](http://www.hemerodigital.unam.mx/ANUIES).

INFORME DEL INSTITUTO COLOMBIANO DEL PETRÓLEO. "Los derrames de petróleo en ecosistemas tropicales". 2002.

JAIMES RIOS, Jairo Eduardo. Producción a escala de laboratorio de un pool de microorganismos aceleradores de compostaje. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. 2001.

KULKE, H. Regional Petroleum Geology of the World. P. II Beitr. Regional Geol. D. Erde.- 729 p.

LA BIOREMEDIACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN CON HIDROCARBUROS. En: Gestión y ambiente: Revista del postgrado en gestión ambiental. Medellín. No 3 Dic. 1999. p. 57-65.

LEVIN, L GEATT, M. Biotratamiento de residuos tóxicos y peligrosos. Bogotá: Mc Graw Hill. 1997.

LUPIEN ROSENBERG ET ASSOCIÉS, Utilización en Colombia de Aceites Usados como Energéticos en Procesos de Combustión, Octubre de 2001.

MCILREATH, I. A. & JAMES, N. P. Facies Models 12; carbonate slopes. Geosci. Canadá 5 (4), p.p. 189-199, 1978

MIER UMANA Ricardo. Ejercicio de la Geología del petróleo. Universidad Industrial de Santander. 1994. P49

MOLANO B, Maria Elvira. Recursos naturales en territorios indígenas, educación y conflictos. Santa Fe de Bogotá: Corpes Orinoquía, 1999. 238 p.

MONTRÀS BOET, Anna y **VICENT HUGUET**, Teresa. Biodegradación y Bioremediación. Universidad Autónoma de Barcelona.

NORTH, F. K. Petroleum Geology. Allen & Unwin, 1985

OMENECH, X. Química Ambiental. El impacto ambiental de los residuos. 2ª Edic., Miraguano Ediciones, Madrid. 1994.

PEDRAZA ROMAN DE LA Rene. Petróleo, electricidad, Carbón en Colombia. Aurora: Bogotá. 1993. P 393

PETTIJOHN, F. J. & POTTER, P. E. Atlas and glossary of sedimentary structures. Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg, N. Y., 1964

PETTIJOHN, F. J. & POTTER, P. E. Sand and Sandstones. Springer, Berlin, 1973

PLANTAS Y MICROORGANISMOS QUE SE ALIMENTAN DE...¡PETRÓLEO!. En: Periodismo de Ciencia y Tecnología. Investigación y Desarrollo. México DF. Noviembre 1999.

PUENTE BURGÉS, Jairo. La crisis del agua en Santander. Bucaramanga: INDERENA. 1993.

READING, H. G. Sedimentary Environments and Facies. Blackwell Sci. Pub., Oxford. 2/e, 1986.

RUZA, T. F., V. B. MARQUES, B. F. FUENTES, A. ALVAREZ, C. TORRALBA, A. GOMEZ, F. SARDA, F. SALCEDO, M. VILLAVARDE, F. MARTIN, M. MONTERO, J. M. SANZ. Tratado del Ambiente. Tomos I y II. Ed. E.R. LAFER. 1984. 437 p.

SÁNCHEZ HERRERA, Arturo. Director de Seguridad Ambiental de la Empresa Colombiana de Petróleos, Ecopetrol.

- STELMACK**, Patricia, **GRAY**, Murray. and **PICKARD**, Michael. Bacterial Adhesion to Soil Contaminants in the Presence of Surfactants. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol 65, No. 1. January 1999, p. 163-168.
- TISSOT, B.P., Y WELTE, D.H.** El petróleo, su formación y localización. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, México, 1982
- TUCKER, M. E**, et al. Carbonate platforms. Facies, sequences, and evolution. *Spec. Pub. Int Ass. Sediment.*, 9 Oxford, 1990
- TUCKER, M. E. & WRIGHT, V. P.** Carbonate Sedimentology. Blackwell Sci. Pub., Oxford, 1990
- TUCKER, M. E.** Sedimentary Petrology. Blackwell Sci. Pub., Oxford, 1981
- TUCKER, M. E.** Techniques in Sedimentology. Blackwell Sci. Pub., Oxford, 1988
- VI Congreso Colombiano del Petróleo.** Petróleo y Ambiente. Desarrollo Social. Bogotá. Vol 2. 1995
- VIVES**, Martha, **GALAN**, Maria Consuelo. Tesis de Maestría: Estudio general de la utilización de bacterias nativas de la región de Caño Limón en la biodegradación de aceite y fenol en aguas de proceso. Financiado por Occidental de Colombia (OXY) 1991- 1994.
- Walker, R. G. & James, N. P.** Facies Models, response to sea level change. Geological Association of Canada, Ontario, 1992.
- WETZEL**, R. Limnología. Omega: Barcelona. 1981, 679 p.
- WILSON, J. L.** Carbonate Facies in geologic history. Berlin-Heidelberg, N. Y. (Springer), 1975.
- NOLLA SALAS J y NOGUÉ XARAU J.** Intoxicaciones por productos industriales. En: Farreras, Rozman, eds, Medicina Interna. Barcelona, Mosby-Doyma, 1995: 2611-2615.