



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA E
INDUSTRIA**

**CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y MANEJO
DE RIESGOS NATURALES**

**BIORREMEDIACIÓN DE SEDIMENTOS CONTAMINADOS CON
HIDROCARBUROS MEDIANTE BIOPILAS SUPLEMENTADOS
CON AGENTES ESPONJANTES**

**TRABAJO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE INGENIERA AMBIENTAL Y MANEJO DE RIESGOS NATURALES**

IVONNE ALEXANDRA QUILACHAMIN SISLEMA

DIRECTOR: Ing. Iván Andrade, MSc.

Quito, mayo 2016

FORMULARIO DE REGISTRO BIBLIOGRÁFICO

PROYECTO DE TITULACIÓN

DATOS DE CONTACTO	
CÉDULA DE IDENTIDAD:	172507102-9
APELLIDO Y NOMBRES:	QUILACHAMIN SISLEMA IVONNE ALEXANDRA
DIRECCIÓN:	AV. EL INCA E14-135 Y CARDOS
EMAIL:	alexa_0849@hotmail.com
TELÉFONO FIJO:	022418186
TELÉFONO MOVIL:	0984945531

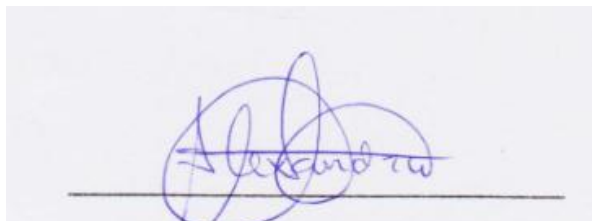
DATOS DE LA OBRA	
TÍTULO:	BIORREMEDIACIÓN DE SEDIMENTOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS MEDIANTE BIOPILAS SUPLEMENTADOS CON AGENTES ESPONJANTES
AUTOR O AUTORES:	QUILACHAMIN SISLEMA IVONNE ALEXANDRA
FECHA DE ENTREGA DEL PROYECTO DE TITULACIÓN:	19/05/2016
DIRECTOR DEL PROYECTO DE TITULACIÓN:	Ing. Iván Andrade, MSc.
PROGRAMA	PREGRADO <input type="checkbox"/> POSGRADO <input type="checkbox"/>
TÍTULO POR EL QUE OPTA:	INGENIERA AMBIENTAL Y MANEJO DE RIESGOS NATURALES
RESUMEN: Mínimo 250 palabras	El Terminal de productos limpios El Beaterio tiene como actividad principal el transporte, almacenamiento y comercialización de hidrocarburos derivados de petróleo. Al transportar productos limpios desde las refinerías de Shushufindi y Esmeraldas se genera la acumulación de sedimentos en los tanques de almacenamiento, por lo cual es necesario realizar una limpieza periódica de

los tanques. En este contexto se produce un volumen considerable de lodo y agua mezclada con hidrocarburo, los cuales deben ser tratados a través de procesos de separación, recuperación y remediación. La técnica utilizada por la empresa es la biorremediación mediante técnica de biopilas la cual tiene como propósito recuperar la mayor cantidad posible de hidrocarburo acumulado y la restauración de la calidad de los sedimentos tratados, esta técnica utiliza agentes esponjantes (sustratos naturales) que ayudan a los microorganismos a reducir la cantidad del mismo. Se ha decidido estudiar y comparar la efectividad de tres agentes esponjantes en el tratamiento; fibra de palma, aserrín y cascara de arroz. A la vez se resolvió analizar la metodología utilizada por la empresa y proponer una mejora de la misma. Para conocer la efectividad de cada uno de los agentes se realizaron análisis físico-químicos y microbiológicos como indicadores de la reducción de hidrocarburos totales de petróleo (TPH), en el caso de los análisis físico-químicos se los comparó con los parámetros indicados en la Tabla 6 del Decreto Ejecutivo 1215 del Reglamento Ambiental para Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador (RAOHE) , los análisis microbiológicos se realizaron sobre la actividad microbiana mediante la técnica de recuento en placa. Al terminar el periodo de estudio se determinó que el tratamiento con fibra de palma fue el

	<p>más eficiente ya que se obtuvo un 81,5 % de reducción de hidrocarburos totales de petróleo comparados con el 79,96 % del tratamiento con cascara de arroz y un 75,67% del tratamiento con aserrín.</p>
<p>PALABRAS CLAVES</p>	<p>Biorremediación, hidrocarburos, biopilas, sustratos naturales, microorganismos</p>
<p>ABSTRACT:</p>	<p>The Terminal of clean products “El Beaterio” main activities are transport, storage and marketing of petroleum hydrocarbons. When transporting clean products from refineries in Esmeraldas and Shushufindi accumulation of sediment in storage tanks is generated, this needs for periodic cleaning of the tanks. In this context a considerable volume of sludge and water mixed with hydrocarbons is produced, which must be addressed through separation processes, recovery and remediation occurs. The technique used by the company is bioremediation through technique biopilas which aims to recover the maximum amount of accumulated hydrocarbon, this technique uses natural substrates which absorbs the hydrocarbon and help microorganisms reduce the amount thereof. It was decided to study and compare the effectiveness of three natural substrates in treatment; palm fiber, sawdust and rice husk. At the same time it was decided to analyze the methodology used by the company and propose an optimization of the same. To determine the effectiveness of each of the agents physicochemical and microbiological analyzes were performed as indicators of the reduce of total petroleum hydrocarbons (TPH) in the case of physicochemical analysis were run according to the parameters indicated in Table 6 of the Executive Decree 1215 of Environmental Regulations for Hydrocarbon Operations in Ecuador (RAOHE), microbiological analyzes were performed on microbial activity by the technique of microbial plate count. Upon completion of the study period it was determined that treatment with palm fiber was the most efficient since it was obtained</p>

	81,5 percent of reduction of total petroleum hydrocarbons compared to 79,96 percent of treatment with rice husk and 75,67 percent of treatment with sawdust.
KEYWORDS	Bioremediation, biopiles, hidrocarbons, microorganisms, natural substrates

Se autoriza la publicación de este Proyecto de Titulación en el Repositorio Digital de la Institución.



QUILACHAMÍN SISLEMA IVONNE ALEXANDRA

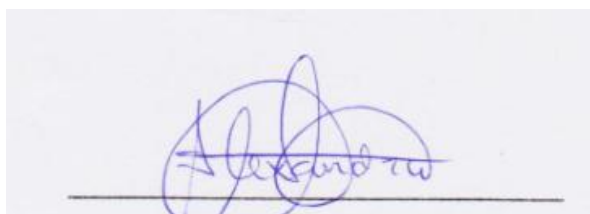
CI: 1725071029

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, **QUILACHAMIN SISLEMA IVONNE ALEXANDRA**, CI:1725071029 autor/a del proyecto titulado: **“Biorremediación de sedimentos contaminados con hidrocarburos mediante biopilas suplementados con agentes esponjantes”** previo a la obtención del título de **INGENIERA AMBIENTAL Y MANEJO DE RIESGOS NATURALES** en la Universidad Tecnológica Equinoccial.

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las Instituciones de Educación Superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.
2. Autorizo a la BIBLIOTECA de la Universidad Tecnológica Equinoccial a tener una copia del referido trabajo de graduación con el propósito de generar un Repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Quito 19 de Mayo del 2016



QUILACHAMÍN SISLEMA IVONNE ALEXANDRA


CI: 1725071029

© Universidad Tecnológica Equinoccial. 2016
Reservados todos los derechos de reproducción

DECLARACIÓN

Yo **IVONNE ALEXANDRA QUILACHAMIN SISLEMA**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Tecnológica Equinoccial puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.



Alexandra Quilachamin
C.I. 1725071029

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo que lleva por título “**Biorremediación de sedimentos contaminados con hidrocarburos mediante biopilas suplementados con agentes esponjantes**”, que, para aspirar al título de **Ingeniera Ambiental y Manejo de Riesgos Naturales** fue desarrollado por **Alexandra Quilachamín**, bajo mi dirección y supervisión, en la Facultad de Ciencias de la Ingeniería; y cumple con las condiciones requeridas por el reglamento de Trabajos de Titulación artículos 18 y 25.



Ing. Iván Andrade., MSc.
DIRECTOR DEL TRABAJO
C.I. 1001507860

DEDICATORIA

A Dios por guiar mi camino ya que sin el nada hubiera sido posible.

A mis padres y hermana por su apoyo y fuerzas en todo este tiempo.

Alexandra Quilachamín

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer a Dios quien ha sido proveedor y bueno, por darnos salud y cuidar mí camino.

A mis padres por su trabajo y dedicación porque todo lo que tengo se los debo a ellos.

A mi hermana por su apoyo incondicional, por creer en mí.

A mis amigos por los momentos que pasamos mientras recorríamos este camino.

Al Ing. Iván Andrade, por el apoyo, dedicación, enseñanza y atención prestada durante la elaboración de este trabajo.

Profesores, docentes y compañeros que sin ningún interés me ayudaron y guiaron en el estudio.

Alexandra Quilachamín

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	PÁGINA
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1 TERMINAL DE PRODUCTOS LIMPIOS EL BEATERIO	5
2.2 ALMACENAMIENTO DE HIDROCARBUROS	6
2.2.1 TANQUES DE ALMACENAMIENTO	6
2.2.2 CONTROL DE CALIDAD	8
2.2.3 LIMPIEZA DE TANQUES	8
2.2.4 PISCINAS DE SEDIMENTOS	8
2.2.5 PLATAFORMAS PARA TRATAMIENTO BIOLÓGICO	9
2.3 SEDIMENTOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS	10
2.4 TRATAMIENTO DE SEDIMENTOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS	10
2.4.1 TRATAMIENTO BIOLÓGICO - BIORREMEDIACIÓN	11
2.4.1.1 Biorremediación in situ	12
2.4.1.2 Biorremediación ex situ	12
2.4.1.3 Atenuación natural	12
2.4.1.4 Bioaumentación	13
2.4.1.5 Bioestimulación	13
2.5 FACTORES QUE DETERMINAN LA BIORREMEDIACIÓN DE SEDIMENTOS CONTAMINADOS	13
2.5.1 FACTORES MEDIO AMBIENTALES	13
2.5.1.1 Humedad	13
2.5.1.2 Nutrientes inorgánicos	14
2.5.1.3 pH	14
2.5.1.4 Temperatura	15
2.5.1.5 Aceptores de electrones	16

2.5.2	FACTORES FÍSICOS	16
2.5.2.1	Biodisponibilidad	16
2.5.2.2	Presencia de agua	16
2.5.3	FACTORES QUÍMICOS	17
2.5.4	FACTORES MICROBIOLÓGICOS	17
2.6	TECNOLOGÍAS DE BIORREMEDIACIÓN DE SEDIMENTOS	17
2.6.1	LANDFARMING	18
2.6.2	FITORREMEDIACIÓN	18
2.6.3	COMPOSTAJE	19
2.6.4	REACTORES	19
2.6.5	BIOPILAS	19
2.7	ESTRATEGIAS DE ELABORACIÓN DE BIOPILAS	21
2.7.1	PLATAFORMA DE TRATAMIENTO	22
2.7.2	CONSTRUCCIÓN DE UNIDADES DE TRATAMIENTO	23
2.7.3	AIREACIÓN	24
2.7.4	HUMEDAD	24
2.7.5	ADICIÓN DE NUTRIENTES	25
2.7.5.1	Sustratos naturales	25
2.8	FACTORES A CONTROLAR	26
2.8.1	MICROORGANISMOS	26
2.8.1.1	Bacterias	26
2.8.1.2	Hongos	28
2.8.1.3	Coliformes totales	28
2.8.1.4	Hidrocarburos totales de petróleo – HTP	29
2.9	MARCO LEGAL	29
2.9.1	CONSTITUCIÓN DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR	29
2.9.2	LEY DE GESTIÓN AMBIENTAL	30
2.9.3	TULSMA	30
2.9.4	GESTIÓN AMBIENTAL HIDROCARBURÍFERA	31
2.9.5	LEGISLACIÓN AMBIENTAL LOCAL	31
3.	METODOLOGÍA.....	33
3.1	MÉTODO DE INVESTIGACIÓN	33
3.1.1	PROCESO DE INVESTIGACIÓN	33
3.2	TÉCNICAS	34

3.2.1	CONSTRUCCIÓN DE BIOPILAS	34
3.2.2	CONSTRUCCIÓN DE UNIDADES DE TRATAMIENTO	35
3.2.3	AIREACIÓN	35
3.2.4	HUMEDAD	36
3.3	ANÁLISIS DE LABORATORIO	37
3.3.1	TÉCNICAS DE TOMA DE MUESTRAS	37
3.3.2	ANÁLISIS FÍSICO – QUÍMICOS	39
3.3.3	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	41
3.3.3.1	Placas Compactdry	41
3.3.3.2	Procedimiento de laboratorio	42
3.3.3.3	Recuento microbiológico	44
3.3.3.4	Ensayos	44
3.4	INSTRUMENTACIÓN Y MATERIALES	45
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
4.1	ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS	48
4.2	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	48
4.2.1	RESULTADO DE ENSAYOS PRELIMINARES	57
4.2.2	RESULTADOS DE RECuento EN PLACA	54
4.3	PROPUESTA DE UNA MEJOR METODOLOGÍA PARA EL TRATAMIENTO DE SEDIMENTOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS	59
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	67
5.1	CONCLUSIONES	67
5.2	RECOMENDACIONES	68
	NOMENCLATURA / GLOSARIO	69
	BIBLIOGRAFÍA.....	71

ANEXOS.....75

ÍNDICE DE TABLAS

	PÁGINA
Tabla 1. Tanques de almacenamiento en el Terminal El Beaterio, producto de almacenamiento y volumen.	7
Tabla 2. Efectividad de la biopila con respecto a la temperatura del sedimento.	15
Tabla 3. Ventajas y desventajas de las técnicas de biorremediación	18
Tabla 4. Parámetros de control de biopilas	40
Tabla 5. Materiales y equipos utilizados	46
Tabla 6. Porcentaje de reducción de TPH al final del tratamiento	48
Tabla 7. Resultados de análisis físico-químicos de sedimentos, inicio y fin de tratamiento	49
Tabla 8. Resultados de recuento en placa para recuentos totales TC	55
Tabla 9. Resultados de recuento en placa para para mohos y levaduras YM.	55
Tabla 10. Resultados de recuento en placa para coliformes totales EC	56

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
Figura 1. Terminal de Productos Limpios El Beaterio EPP, vista aérea.	6
Figura 2. Plataformas de tratamiento biológico.	9
Figura 3. Técnica de biorremediación por Landfarming	18
Figura 4. Sistema de biopilas	20
Figura 5. Esquema de biopilas en forma de prisma trapezoidal	23
Figura 6. Esquema de biopilas en forma de prisma trapezoidal	36
Figura 7. Adición de sustratos naturales en las biopilas	38
Figura 8. Esquema de la toma de muestra aleatoria simple	39
Figura 9. Esquema de la toma de muestra compuesta	40
Figura 10. Tabla 6 para “Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicios” (RAOHE)	42
Figura 11. Placas CompactDry	46
Figura 12. Método de diluciones y recuento en placa	47
Figura 13. Análisis comparativo de reducción de TPH al final e inicio del tratamiento	50

Figura 14. Variación de pH en el tratamiento con Fibra de Palma	51
Figura 15. Variación de temperatura en el tratamiento con Fibra de Palma	51
Figura 16. Variación de pH en el tratamiento con Cascara de arroz	52
Figura 17. Variación de temperatura en el tratamiento con Cascara de arroz	52
Figura 18. Variación de pH en el tratamiento con Aserrín	53
Figura 19. Variación de temperatura en el tratamiento con Aserrín.	53
Figura 20. Reporte de resultados de recuento en placa para recuentos totales TC	55
Figura 21. Reporte de resultados de recuento en placa para mohos y levaduras YM	56
Figura 22. Reporte de resultados de recuento en placa para coliformes totales EC	57
Figura 23. Análisis de diferencia estadística entre biopilas	58
Figura 24. Análisis de diferencia estadística entre sustratos	59
Figura 25. Sistema de tratamiento de sedimentos con vapor de agua	62

ÍNDICE DE ANEXOS

	PÁGINA
ANEXO I	
Construcción de biopilas	75
ANEXO II	
Resultados Análisis Físico Químicos	76
ANEXO III	
Control de pH y temperatura semanal	82
ANEXO IV	
Placas CompactDry	84
ANEXO V	
Resultados Análisis Microbiológicos	86
ANEXO VI	91
Indicaciones de uso para programa estadístico InfoStat	
ANEXO VII	
Certificado de acreditación del Laboratorio de Ensayos Gruentec	94

RESUMEN

El Terminal de productos limpios El Beaterio tiene como actividad principal el transporte, almacenamiento y comercialización de hidrocarburos derivados de petróleo. Al transportar productos limpios desde las refinerías de Shushufindi y Esmeraldas se genera la acumulación de sedimentos en los tanques de almacenamiento, por lo cual es necesario realizar una limpieza periódica de los tanques. En este contexto se produce un volumen considerable de lodo y agua mezclada con hidrocarburo, los cuales deben ser tratados a través de procesos de separación, recuperación y remediación. La técnica utilizada por la empresa es la biorremediación mediante técnica de biopilas la cual tiene como propósito recuperar la mayor cantidad posible de hidrocarburo acumulado y la restauración de la calidad de los sedimentos tratados, esta técnica utiliza agentes esponjantes (sustratos naturales) que ayudan a los microorganismos a reducir la cantidad del mismo. Se ha decidido estudiar y comparar la efectividad de tres agentes esponjantes en el tratamiento; fibra de palma, aserrín y cascara de arroz. A la vez se resolvió analizar la metodología utilizada por la empresa y proponer una mejora de la misma. Para conocer la efectividad de cada uno de los agentes se realizaron análisis físico-químicos y microbiológicos como indicadores de la reducción de hidrocarburos totales de petróleo (TPH), en el caso de los análisis físico-químicos se los comparó con los parámetros indicados en la Tabla 6 del Decreto Ejecutivo 1215 del Reglamento Ambiental para Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador (RAOHE) , los análisis microbiológicos se realizaron sobre la actividad microbiana mediante la técnica de recuento en placa. Al terminar el periodo de estudio se determinó que el tratamiento con fibra de palma fue el más eficiente ya que se obtuvo un 81,5 % de reducción de hidrocarburos totales de petróleo comparados con el 79,96 % del tratamiento con cascara de arroz y un 75,67% del tratamiento con aserrín.

ABSTRACT

The Terminal of clean products “El Beaterio” main activities are transport, storage and marketing of petroleum hydrocarbons. When transporting clean products from refineries in Esmeraldas and Shushufindi accumulation of sediment in storage tanks is generated, this needs for periodic cleaning of the tanks. In this context a considerable volume of sludge and water mixed with hydrocarbons is produced, which must be addressed through separation processes, recovery and remediation occurs. The technique used by the company is bioremediation through technique biopiles which aims to recover the maximum amount of accumulated hydrocarbon, this technique uses natural substrates which absorbs the hydrocarbon and help microorganisms reduce the amount thereof. It was decided to study and compare the effectiveness of three natural substrates in treatment; palm fiber, sawdust and rice husk. At the same time it was decided to analyze the methodology used by the company and propose an optimization of the same. To determine the effectiveness of each of the agents physicochemical and microbiological analyzes were performed as indicators of the reduce of total petroleum hydrocarbons (TPH) in the case of physicochemical analysis were run according to the parameters indicated in Table 6 of the Executive Decree 1215 of Environmental Regulations for Hydrocarbon Operations in Ecuador (RAOHE), microbiological analyzes were performed on microbial activity by the technique of microbial plate count. Upon completion of the study period it was determined that treatment with palm fiber was the most efficient since it was obtained 81,5 percent of reduction of total petroleum hydrocarbons compared to 79,96 percent of treatment with rice husk and 75,67 percent of treatment with sawdust.

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

Desde el año 1980 en el Terminal de Productos limpios “El Beaterio” de la empresa EP Petroecuador se realizan actividades de transporte, almacenamiento y despacho de derivados del petróleo para el Ecuador. Con el fin de cumplir con la normativa vigente las actividades que se realizan deben contar con altos estándares de calidad sin descuidar su responsabilidad con el ambiente.

Para que la empresa pueda mantener la calidad de sus productos es necesario que se realice una limpieza periódica de los tanques de almacenamiento de hidrocarburos, como resultado de la limpieza se obtienen sedimentos contaminados con hidrocarburo y agua. En la actualidad el tratamiento de estos productos líquidos inicia con su transporte hasta piscinas de tratamiento para separar parcialmente el agua de los sólidos y recuperar el hidrocarburo, una vez que se ha producido la separación se traslada el sedimento contaminado hasta el área de biorremediación para tratarlo mediante técnicas de biopilas.

Previo al año 2002 cuando entran en vigencia las leyes ambientales que exigen un tratamiento y remediación a los residuos tóxicos, a los sedimentos de los tanques de almacenamiento se los colocaban en “piscinas” o agujeros con poco o nada que evite la infiltración de contaminantes a la superficie del suelo y luego se los tapaba sin ningún tratamiento previo (Fernández, 2012).

La incorrecta disposición de los desechos produce la infiltración del hidrocarburo en el suelo lo que podría llevar a la contaminación de los cuerpos de agua cercanos a la zona, provocando problemas en la salud de la comunidad.

En la actualidad en el Terminal se realiza el tratamiento de sedimentos contaminados mediante la técnica de biorremediación por biopilas, debido a sus costos bajos y alta eficiencia. Este proceso incluye; colocar el sedimento contaminado sobre un área impermeabilizada por una geo-membrana para evitar la filtración de los contaminantes a la superficie del suelo, a cada biopila se le agrega materia orgánica para incrementar la actividad metabólica de los microorganismos autóctonos y así acelerar el proceso de remediación, este material incluye aserrín, estiércol de vaca, fibra de palma o césped cortado.

Debido a que la metodología utilizada actualmente no cuenta con una estandarización al momento de colocar los agentes esponjantes para que estimulen la actividad microbiológica no es posible conocer qué tipo de material orgánico usado presenta una mayor eficiencia. Con los resultados de los estudios obtenidos en el presente trabajo se permitirá tener un mejor manejo de los sedimentos y mejorar la técnica para acelerar el proceso de biorremediación y cumplir a su vez con la normativa vigente en un menor plazo de tiempo y reducir así los gastos económicos.

1.1 OBJETIVO GENERAL

Analizar el proceso de biorremediación de sedimentos contaminados con hidrocarburos mediante biopilas suplementados con tres agentes esponjantes.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analizar los sedimentos contaminados mediante técnicas microbiológicas por recuento en placa sobre la actividad microbiana y físico-químicas de pH, temperatura y parámetros de TPH indicados en la Tabla 6 del Decreto Ejecutivo 1215 del Reglamento Ambiental para Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador (RAOHE).
- Determinar la eficiencia de los agentes esponjantes en la reducción de hidrocarburos mediante la comparación de los resultados de los análisis físico-químicos y microbiológicos.
- Proponer una metodología adecuada para el tratamiento de sedimentos contaminados con hidrocarburos.

2. MARCO TEÓRICO

2. MARCO TEÓRICO

2.1 TERMINAL DE PRODUCTOS LIMPIOS EL BEATERIO

La Empresa Pública de Hidrocarburos EP Petroecuador se encarga del transporte y comercialización de hidrocarburos en el Ecuador, por lo cual cuenta con instalaciones adecuadas para sus procesos, entre estas se encuentra “El Terminal de Productos Limpios El Beaterio”, que se encuentra localizado en la Provincia de Pichincha, al sur de la ciudad de Quito, con un área de 27 hectáreas aproximadamente (Figura 1).

El Terminal de Productos Limpios El Beaterio cumple un papel fundamental de abastecimiento de combustibles derivados de hidrocarburos en nuestro país, desde el inicio de sus operaciones en el año 1980, en el terminal se realiza el transporte, almacenamiento y comercialización de los combustibles derivados del petróleo provenientes de los poliductos Esmeraldas – Santo Domingo – Beaterio – Ambato - Riobamba y Shushufindi – Quito (Baquero, 2009)

Los productos limpios incluyen; gasolina súper, gasolina extra, diesel 2, diesel Premium, jet fuel, entre otros. Su capacidad total de almacenamiento es de aproximadamente 27.205.000 barriles de derivados, dispuesto en tanques de almacenamiento administrados según el tipo de combustible.



Figura 1. Terminal de Productos Limpios El Beaterio EPP, vista aérea
(Baquero, 2009)

2.2 ALMACENAMIENTO DE HIDROCARBUROS

2.2.1 TANQUES DE ALMACENAMIENTO

El acopio de los productos limpios recibidos en el Terminal El Beaterio se lo realiza en tanques de almacenamiento estacionarios los cuales cumplen con normas y estándares internacionales de construcción para el stock de los diferentes productos. Los tanques que se disponen actualmente se describen en la Tabla 1.

Tabla 1. Tanques de almacenamiento en el Terminal El Beaterio, producto de almacenamiento y volumen

ALMACENAMIENTO DE COMBUSTIBLES TERMINAL BEATERIO			
PRODUCTO	NUMERO TANQUE DE ALMACENAMIENTO	CAP. ALMACENAMIENTO	VALOR USD
		BARRILES	CONTROL ANUAL DE OPERACIÓN DE TANQUE DE ALMACENAMIENTO
GASOLINA EXTRA	1003	95.798,60	2.000,00
	1014	15.936,67	1.000,00
	1024	15.171,60	1.000,00
	1025	15.198,40	1.000,00
	TOTAL	142.105,26	5.000,00
NAO	1001	53.845,45	2.000,00
	1012	34.473,50	1.000,00
	TOTAL	88.318,95	3.000,00
DIESEL OIL	1011	35.562,33	1.000,00
	1013	21.448,43	1.000,00
	TOTAL	57.010,76	2.000,00
DIESEL PREMIUM	1010	109.680,57	3.000,00
	1016	27.706,83	1.000,00
	1022	58.996,26	2.000,00
	TOTAL	196.383,67	6.000,00
JP A1	1017	27.704,93	1.000,00
	1018	11.266,64	1.000,00
	1019	11.293,07	1.000,00
	TOTAL	50.264,64	3.000,00
NBO	1005	29.394,48	1.000,00
	1009	6.689,10	1.000,00
	TOTAL	36.083,57	2.000,00
DIESEL 1	1008	2.951,14	1.000,00
PROCESOS	1007	53.856,02	2.000,00
	1020	39.424,10	1.000,00
	TOTAL	93.280,12	3.000,00
TOTAL			25.000,00

(EP Petroecuador, 2015)

2.2.2 CONTROL DE CALIDAD

Para cumplir con el control de calidad de los productos se cuenta con un laboratorio dentro de las instalaciones del Terminal, aquí se muestrea el producto de los tanques de almacenamiento y se lo analiza según las normas de calidad, el resultado de los análisis muestra el API del producto, este debe cumplir con los requerimientos en la normativa vigente para poder ser despachado.

2.2.3 LIMPIEZA DE TANQUES

La formación de sedimentos en los procesos de transporte y almacenamiento de hidrocarburos es común ya que se ejecutan mediante tuberías. Para cumplir con un servicio eficaz los productos deben ser entregados libres de agua y sedimentos, por lo cual se realiza periódicamente la limpieza de los tanques de almacenamiento, en este proceso se retira los sedimentos y agua que se forman en el fondo de los tanques y se los transporta a las piscinas de tratamiento que se encuentran en las instalaciones del terminal.

2.2.4 PISCINAS DE SEDIMENTOS

El Terminal El Beaterio cuenta con “piscinas de sedimentos” que se encuentran en la parte sur del mismo, aquí se almacena los sedimentos y agua que se extraen de la limpieza de los tanques de almacenamiento, tuberías de transporte y los sumideros de las estaciones de bombeo de los poliductos. Su función es separar los sedimentos y agua del hidrocarburo para recuperar la mayor cantidad posible de hidrocarburo mediante un proceso de sedimentación.

2.2.5 PLATAFORMAS PARA TRATAMIENTO BIOLÓGICO

La empresa ha creado plataformas con el fin de colocar los sedimentos contaminados que han sido extraídos de las piscinas y poder darles un tratamiento biológico mediante técnicas de biopilas, para evitar la contaminación a la superficie del suelo las plataformas se encuentran impermeabilizadas mediante geo-membranas y se cuenta con canales y cubetos de recolección de lixiviados. El Terminal cuenta con un área aproximada de 2200 m² designada a las plataformas (Fernández, 2012).



Figura 2. Plataformas de tratamiento biológico

2.3 SEDIMENTOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS

Los sedimentos son considerados elementos abióticos es decir sin vida, según el TULSMA en su Acuerdo Ministerial 061 estos pueden ser “de origen natural, tales como los existentes en el mar, los lechos de lagos y lagunas, ríos, quebradas y demás cuerpos hídricos, ya sean éstos de caudales permanentes o temporales; y los de origen industrial, como aquellos provenientes de plantas de tratamiento, tanques de almacenamiento u otros”.

En el caso de los sedimentos que se forman en los tanques de almacenamiento de hidrocarburos se originan a menudo por la mezcla de distintos tipos de crudo transportados a través del oleoducto, pueden llegar a ser muy corrosivos dependiendo de los compuestos del hidrocarburo almacenado llegando a interrumpir el proceso de almacenamiento y despacho del producto limpio (ionTEk, 2013).

2.4 TRATAMIENTO DE SEDIMENTOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS

En las últimas décadas se han desarrollado varias técnicas y métodos de remediación y recuperación de sedimentos contaminados con hidrocarburos ya sean biológicas, físicas, químicas, térmicas, de estabilización o su combinación. Su objetivo es la transformación del contaminante para reducir su efecto en el ambiente

Los tratamientos para contaminación con hidrocarburo deben ser realizados en procesos cerrados, ya que pueden infiltrarse, volatilizarse o desplazarse a otras zonas (Ministerio de Ambiente, 2014).

El presente estudio se ha basado en la aplicación de tratamientos biológicos por ser la técnica utilizada en la empresa en específico la biorremediación por lo que solamente se describirá este tratamiento a continuación.

2.4.1 TRATAMIENTO BIOLÓGICO - BIORREMEDIACIÓN

La biorremediación involucra tecnologías que utilicen procesos biológicos para remover, degradar y transformar materiales orgánicos que contaminen los ecosistemas ya sean estos; suelos, gases o cuerpos de agua (Castillo, 2005).

Es un proceso natural que se basa en el uso de rutas metabólicas de organismos como bacterias, hongos y plantas ya que estos pueden utilizar varios compuestos contaminantes como fuente de energía. Se ha demostrado que es efectiva en la mitigación de contaminantes que incluyen hidrocarburos, solventes orgánicos halogenados, pesticidas y herbicidas, compuestos de nitrógeno y metales pesados (Donla, 2009).

Varios estudios han determinado que microorganismos autóctonos como las bacterias y hongos poseen la capacidad metabólica de descomponer el material orgánico, debido a su capacidad de adaptación (Madigan, Martinko, Bender, Buckley, & Sthal, 2014).

Para una adecuada biorremediación la cantidad de microorganismos presentes debe ser suficiente y el sustrato debe contar con las condiciones óptimas para su desarrollo, ya sean estos nutrientes, temperatura, pH, humedad, y en especial que las concentraciones del contaminante no sean tóxicas para los microorganismos. Sus ventajas en comparación con los tratamientos físico-químicos incluyen que su proceso es natural y el producto generado no es dañino al ambiente, puede ser ejecutada in situ o ex situ (Domènech & Peral, 2006).

Cuando las condiciones no son las adecuadas, se recurre al uso de diferentes técnicas para optimizar el proceso. La biorremediación puede ser llevada a cabo mediante diferentes metodologías y técnicas desarrolladas o la combinación de las mismas (VAS, 2010).

2.4.1.1 Biorremediación in situ

Es el tratamiento del sustrato en el lugar en el que se ha producido la contaminación, la remoción del contaminante se lleva de forma eficiente y en menor tiempo ya que permite mantener las concentraciones de nutrientes y microbiota en los niveles óptimos, esta técnica causa menor impacto al medio ambiente y menos costos ya que se evita la remoción y transporte del sustrato (Castillo, 2005).

2.4.1.2 Biorremediación ex situ

Este proceso incluye la extracción del terreno para tratarlo ya sea por landfarming, compost, biopilas o biorreactores, se puede controlar el proceso de mejor manera, aunque esto implique varios inconvenientes que incluye costos y la seguridad de los trabajadores debido a la remoción y transporte de materiales tóxicos.

2.4.1.3 Atenuación Natural

Se basa en la biorremediación por parte de los microorganismos autóctonos del sustrato contaminado, sin intervención del hombre.

2.4.1.4 Bioaumentación

Se refiere a la adición de microorganismos ya sean estos autóctonos o microorganismos modificados genéticamente al medio para incrementar la población microbiana y así potenciar la biorremediación.

2.4.1.5 Bioestimulación

Es el aumento de nutrientes y otras sustancias al medio para estimular el crecimiento microbiano de la población autóctona y así provocar una atenuación natural (Adams, 2000).

2.5 FACTORES QUE DETERMINAN LA BIORREMEDIACIÓN DE SEDIMENTOS

Entre los factores que determinan a la biorremediación se encuentran; físicos, químicos, microbiológicos y medio ambientales (Fernández, 2012).

2.5.1 FACTORES MEDIO AMBIENTALES

Los factores medio ambientales proveen las condiciones para el crecimiento adecuado de los microorganismos es necesario que estas condiciones sean apropiadas en cuanto a la humedad, pH, nutrientes, temperatura y oxígeno.

2.5.1.1 Humedad

“El nivel óptimo de humedad depende de las propiedades de cada sustrato, el tipo de contaminación y si la biodegradación es aeróbica o anaeróbica.”

(A. Fernández, 2012). La demanda de humedad de los microorganismos es mínima para un adecuado crecimiento, los microorganismos utilizan el agua presente en el sustrato como medio de transporte de nutrientes al interior de la célula, un exceso de agua disminuiría la concentración de oxígeno en el sustrato interrumpiendo el crecimiento microbiano, humedades entre 40% y 70% son consideradas ideales dependiendo de las propiedades del tratamiento (Chandra, 2015).

2.5.1.2 Nutrientes inorgánicos

Los nutrientes inorgánicos forman un medio de cultivo adecuado para los microorganismos autóctonos, entre estos se encuentra el nitrógeno y fósforo, junto con el carbono del petróleo, el nitrógeno es utilizado para la síntesis de proteínas y el fortalecimiento de la pared celular, el fósforo ayuda a formar los ácidos nucleicos y el ATP. Es importante tomar en cuenta que estos nutrientes deben existir en cantidades adecuadas, ya que puede afectar la actividad microbiana (Róldan & Iturbe, 2009).

2.5.1.3 pH

El pH indica la acidez (1 a 7) o alcalinidad (7 a 14) del sustrato un pH neutro será de 7. El rango de tolerancia de los microorganismos dependerá de la diversidad de los mismos, el crecimiento óptimo generalmente se da en un pH entre 5 y 7,8 (Pardo, Perdomo, Rojas, & Benavides, 2004). El nivel de pH afecta la solubilidad, disponibilidad y movilidad de los compuestos del sustrato, aumentando o disminuyendo la cantidad nutrientes en el sustrato y su transporte hacia el interior de la célula mediante la adsorción de iones (Velasco, 2002).

2.5.1.4 Temperatura

Los microorganismos dependen mucho de la temperatura y su capacidad de adaptación a la misma, por medio de la temperatura se regula la tasa de reacción enzimática de los microorganismos, por lo general la mayor parte de microorganismos en el suelo crecen en condiciones mesófitas entre 25 y 45 °C.

Al existir bajas temperaturas la membrana de la célula alcanza un estado gel que imposibilita su funcionalidad, no morirá pero dejará de multiplicarse por otra parte cuando la temperatura se eleva las reacciones químicas y enzimáticas se dan a mayor velocidad sin embargo a altas temperaturas algunas proteínas pueden sufrir daños y perder su funcionalidad, esta es la razón por la que cada organismo tiene una temperatura óptima. (Gamazo, Sánchez, & Camacho, 2013)

En un rango entre 10°C a 45°C la tasa de actividad microbiana típica se duplica por cada 10°C que se eleve la temperatura, debido a que la temperatura varía según el ambiente existirán periodos del año cuando el crecimiento microbiano y por tanto la degradación del contaminante aumentara o disminuirá (EPA, 2004c).

Tabla 2. Efectividad de la biopila con respecto a la temperatura del sedimento.

Temperatura del Sedimento	Efectividad de la biopila
$10^{\circ}\text{C} \leq \text{temperatura sedimento} \leq 45^{\circ}\text{C}$	Efectiva.
$10^{\circ}\text{C} > \text{temperatura sedimento} > 45^{\circ}\text{C}$	Generalmente no efectiva, la actividad microbiana disminuye durante estaciones con temperaturas bajas y se restaura en periodos con temperatura efectiva.

(EPA, 2004b)

2.5.1.5 Aceptores de electrones

La biodegradación de hidrocarburos ocurre en su mayoría en condiciones aerobias es decir se utiliza al oxígeno como aceptor de electrones aunque es posible que se de en condiciones anaerobias cuando el oxígeno es limitado, este proceso tarda más y en lugar de oxígeno para oxidar los hidrocarburos se utilizan nitratos y sulfatos, el oxígeno por lo tanto suele ser un factor limitante (Castillo, 2005).

2.5.2 FACTORES FÍSICOS

Los factores físicos incluyen la biodisponibilidad y presencia de agua.

2.5.2.1 Biodisponibilidad

La biodisponibilidad se refiere al área o sustrato disponible para el desempeño de los microorganismos, en este caso el sedimento y el hidrocarburo, en muchos casos existe contaminación en superficies ya sean cuerpos de agua o suelos que evitan que el contaminante se disuelva adecuadamente logrando que el proceso de remediación sea más difícil para los microorganismos, por lo que se tiende a utilizar sustancias químicas que aumentan el área de contacto ayudando a dispersar el contaminante (Volke, 2005).

2.5.2.2 Presencia de agua

Como se mencionó, la presencia de agua es importante ya que los microorganismos toman los nutrientes del sustrato en fase líquida, la falta de agua evitaría el transporte de los nutrientes y el exceso de agua en los poros del sedimento inhibiría el flujo de aire reduciendo el suministro de oxígeno causando un desequilibrio en el ecosistema (Volke, 2005).

2.5.3 FACTORES QUÍMICOS

Se refiere a la estructura molecular del contaminante, sus propiedades físicas, químicas y su capacidad para ser degradado.

Los productos del petróleo son mezclas complejas de cientos y hasta miles de constituyentes químicos de hidrocarburo, cada uno con diferente estructura atómica lo que determinara su degradación (EPA, 2004a), los parámetros que influyen son la solubilidad en el agua, carga atómica y sus ramificaciones, “De las familias de los hidrocarburos del petróleo, los n- alcanos y los alcanos ramificados de cadena intermedia (C10 – C20) son los más fácilmente degradables”(A. Fernández, 2012).

2.5.4 FACTORES MICROBIOLÓGICOS

El principio de la biorremediación se basa en el aprovechamiento de las rutas metabólicas de los organismos para transformar un compuesto orgánico en compuestos más simples y menos contaminantes al ser catalizado por su acción enzimática. Los hidrocarburos constituyen una gran fuente de carbono para los microorganismos, la capacidad del organismo para adaptarse al contaminante y degradarlo muestran la efectividad de la biorremediación (VAS, 2010).

2.6 TECNOLOGÍAS DE BIORREMEDIACIÓN DE SEDIMENTOS

En la actualidad existen varias tecnologías de biorremediación, las cuales son empleadas dependiendo de las necesidades del área afectada, se cuenta con características como costos bajos, y seguros al contrario de otras tecnologías de remediación que podrían implicar altos costos y tratamientos secundarios, varios de estos métodos pueden necesitar que

sus condiciones sean monitoreadas y ajustadas según las necesidades microbiológicas. A continuación se mencionaran las tecnologías más utilizadas.

2.6.1 LANDFARMING

Esta técnica consiste en colocar grandes cantidades de sedimento contaminado en un área previamente acondicionada es decir, es necesario impermeabilizar la superficie a utilizar antes del tratamiento, se requiere grandes áreas de terreno, contaminaciones poco profundas ya que su remediación se produce en los primeros 30 cm de la capa del sustrato, este proceso necesitará aireación mecánica y si es necesario bioestimulación y/o bioaumentación (VAS, 2010).

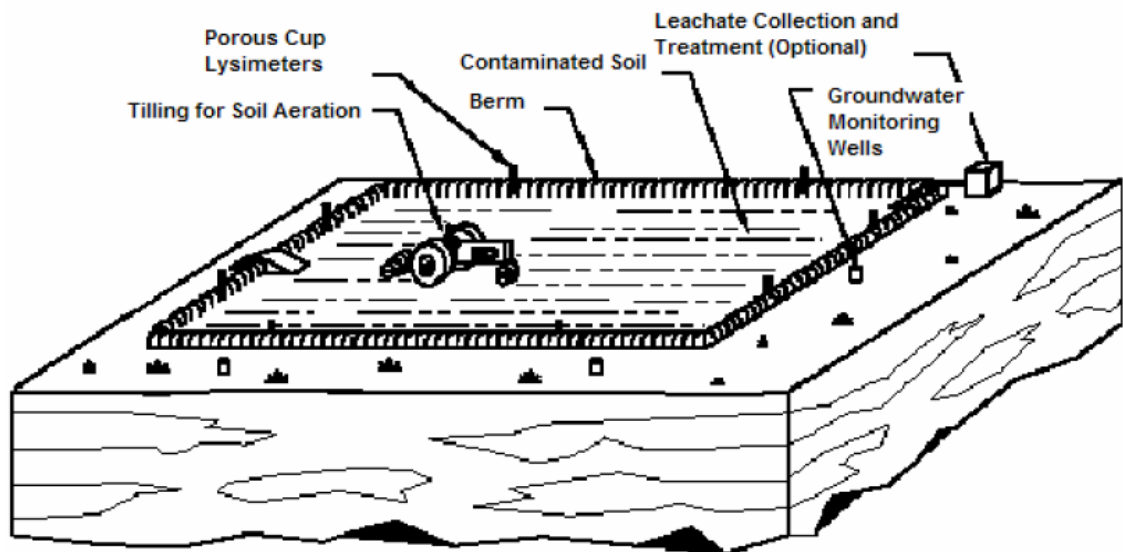


Figura 3. Técnica de biorremediación por Landfarming

(EPA, 2004c)

2.6.2 FITORREMEDIACIÓN

La fitorremediación utiliza especies vegetales como plantas acuáticas árboles con raíces profundas, gramíneas y leguminosas, ya que actúan

como filtro biológico “para el tratamiento de aguas y suelos contaminados con metales pesados, plaguicidas, solventes, explosivos, hidrocarburos totales de petróleo, poliaromáticos y lixiviados” (VAS, 2010). Es un método de apoyo y puede ser aplicado al final del proceso.

2.6.3 COMPOSTAJE

Para el compostaje se coloca al sustrato contaminado en pilas para dar estructura y porosidad al material facilitando su recuperación, se estimula la actividad microbiana agregando compost, es decir fertilizantes que pueden ser adquiridos comercialmente, es importante conocer la composición del compost, este debe ser adecuado para el sustrato a remediar . Sus desechos finales pueden ser utilizados como acondicionadores del suelo, de igual manera es necesario controlar sus condiciones (Williams, 2002).

2.6.4 REACTORES

La biorremediación se produce dentro de un sistema de tanques circulares que mediante mezcla producen una suspensión ayudando a la remediación del material mediante el desgaste del mismo, el objetivo de la mezcla es garantizar que el contaminante, microorganismos, nutrientes y el sustrato se encuentren en contacto permanente, es necesario controlar la temperatura y adicionar los nutrientes y microorganismos (Williams, 2002).

2.6.5 BIOPILAS

El suelo contaminado en forma de pilas es acondicionado con material orgánico e inorgánico para aportar los nutrientes necesarios al medio, su oxigenación podrá ser manual mediante volteo o a través de compresores mediante un sistema de tuberías dependiendo de la altura de la biopila, esta

puede variar entre los 0,8m y 3m. La superficie superior de las biopilas puede ser cubierta para mantener un control de la temperatura y humedad. Las biopilas requieren de una superficie de tratamiento pequeña con relación al volumen de material tratado (Williams, 2002).

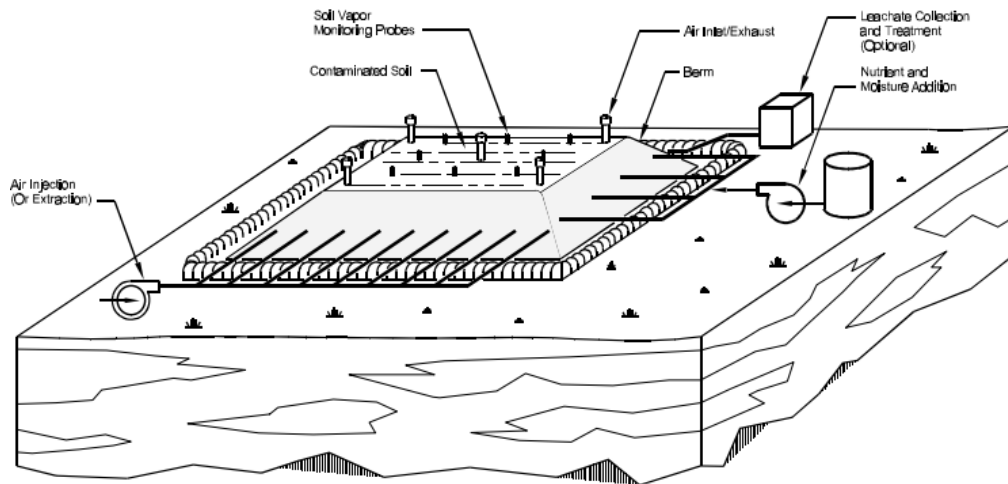


Figura 4. Sistema de biopilas
(EPA, 2004)

Tabla 3. Ventajas y desventajas de las técnicas de biorremediación

TECNICAS	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Compostaje	Degradación de compuestos sólidos orgánicos a material húmico. Empleo de desecho final como acondicionador de suelo. Control de humedad, pH, temperatura aireación. Favorece la actividad microbiana. Favorece la disponibilidad de nutrientes	Requiere de agentes condicionantes. Impermeabilización del área.
Landfarming	Descontaminación por microorganismos presentes en el suelo contaminado. Fácil control de condiciones de humedad, aireación, pH.	Impermeabilización de superficie destinada. Diseño y construcción de plataformas para tratamiento.

(VAS, 2010)

Tabla 3. Ventajas y desventajas de las técnicas de biorremediación
(continuación)

Biopilas	Para tratamiento de contaminantes volátiles. Buen control del proceso. Superficie de trabajo relativamente pequeña en relación al volumen de tratamiento.	Tratamiento de lixiviados generados. Tiempos de remediación largos.
Reactores biológicos	Remoción de todos los contaminantes suspendidos y algunos disueltos	Elevados costos de tratamiento. Volumen reducido de material contaminado a tratar.
Fitorremediación	Plantas actúan como filtro biológico. Descomponen o estabilizan metales pesados. Degradan contaminantes orgánicos. No utilizan químicos peligrosos. Impacto visual positivo	Generan residuos que requieren disposición final. Tiempo prolongado de tratamiento.

(VAS, 2010)

2.7 ESTRATEGIAS DE ELABORACIÓN DE BIOPILAS

No existe una técnica completamente efectiva o estandarizada para la construcción de biopilas por tal razón al construir estos tratamientos se puede utilizar diferentes metodologías individuales o combinadas y se las puede modificar según los resultados que se desea obtener para lo cual se recomienda conocer la normativa de límites permisibles para sedimentos contaminados (VAS, 2010).

2.7.1 PLATAFORMA DE TRATAMIENTO

Una plataforma de tratamiento es el área sobre la cual se colocará el tratamiento, lo ideal sería que este proceso sea cerrado y que ni el sustrato ni lixiviados entre en contacto con la atmosfera ni luz solar.

Para evitar que lixiviados del contaminante ingresen a la superficie del suelo es necesario impermeabilizar el área, se puede utilizar geo-membranas de 0,5μ o superior, en caso de no contar con una geo-membrana, el suelo puede ser acondicionado con una capa de suelo arcilloso de aproximadamente 70 cm o compactar el suelo con una aplanadora, se puede combinar estas tres técnicas para proteger el suelo de mejor manera en caso de accidentes ya que la geo-membrana puede desgastarse debido a acciones mecánicas o climáticas.

Es necesario construir canales alrededor de la plataforma para recolectar lixiviados de las biopilas, estos canales pueden ser contruidos cavando zanjas alrededor de la plataforma con medidas de 20cm de profundidad x 30 cm de ancho o colocando tubos de PVC.

Los residuos líquidos deberán ser recolectados en cubetos o pozos, si es posible se los acondicionara con trampas recolectoras de aceites o grasas provenientes del hidrocarburo, la plataforma debe ser construida con una inclinación de 1 a 3% para facilitar el transporte de los fluidos al pozo, el agua recolectada en los pozos deberá ser evaluada y tratada según el reglamento para desechos líquidos (VAS, 2010).

2.7.2 CONSTRUCCIÓN DE UNIDADES DE TRATAMIENTO

Para el establecimiento de las biopilas se recomienda colocar el suelo a tratar en forma de prisma trapezoidal ya que ayudara al proceso de aireación (Figura 5) (VAS, 2010).

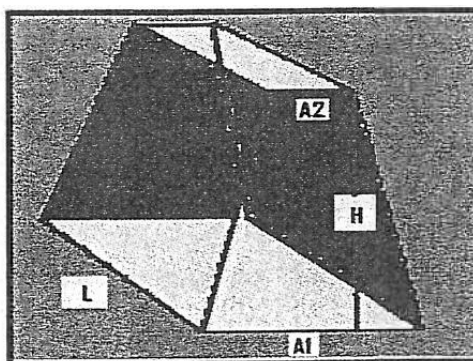


Figura 5. Esquema de biopilas en forma de prisma trapezoidal
(VAS, 2010)

Dónde:

A1= Ancho 1

A2= Ancho 2

L= Largo

H=Altura

Las medidas recomendadas para los tratamientos vendrán dadas por la disponibilidad de espacio para realizar el trabajo y el volumen de suelo a tratar, esta no es restringida según la capacidad de volteo.

Las biopilas pueden ser cubiertas con láminas de plástico para evitar la volatilización de TPH y pérdida de calor en el proceso según sea necesario (Róldan & Iturbe, 2009).

2.7.3 AIREACIÓN

Como se mencionó anteriormente el proceso de biorremediación se basa en la actividad microbológica, es necesario suministrar oxígeno al sistema para acelerar naturalmente la biorremediación aeróbica (EPA, 2004a).

Las biopilas pueden ser aireadas por lo menos una vez cada 10 días y el proceso de aireación se puede dar mediante volteo que consiste en mover las biopilas hacia el espacio libre más cercano mediante la remoción de la tierra, se recomienda que exista un espacio de por lo menos dos metros entre cada unidad de tratamiento para colocar el suelo en ese espacio.

Para la técnica de inyección de oxígeno a presión por tuberías, el suministro puede ser pasivo o activo, estas tuberías estarán colocadas a diferentes alturas de la biopila, el suministro pasivo permite que el aire ingrese libre y naturalmente por la tubería y sus ranuras, en el suministro activo se inyecta aire mediante bombas (Róldan & Iturbe, 2009).

2.7.4 HUMEDAD

Ya que los microorganismos requieren de agua para realizar su actividad, es necesario que el suelo se mantenga húmedo, la biodegradación produce CO_2 y H_2O “aproximadamente 700 gramos de agua por cada 500 gramos de TPH degradados” (Róldan & Iturbe, 2009), convirtiéndose estos en lixiviados. Para mantener la humedad se puede rociar agua en las siguientes etapas:

- Antes de la construcción de la pila, durante su almacenamiento.
- Durante la construcción.
- Después de la construcción por sistema de irrigación en la parte superior de la biopila.

El requerimiento de humedad depende de la ubicación del tratamiento y su clima, en general un ajuste inicial de humedad al tratamiento es suficiente, si la biopila es cubierta al final de la construcción se calcula que existirá una pérdida entre 1 y 2% del contenido de agua en un periodo de 4 meses se recomienda que el suelo tenga entre un 40 a 70 por ciento de humedad, agregar agua durante la fase de construcción ayuda a hidratar de forma homogénea el suelo esta técnica es la más efectiva y menos costosa (Róldan & Iturbe, 2009).

2.7.5 ADICIÓN DE NUTRIENTES

Para la adición de nutrientes generalmente se agrega nitrógeno, fosforo y potasio, su relación será C: N: P - 100:15:1 dependiendo de los constituyentes y bacterias involucradas en el proceso (EPA, 2004a).

Se puede agregar estos nutrientes al momento de regular la humedad, se disuelven en agua y se la rocía en el sustrato, debido a que algunos de los nutrientes como el fosforo penetran solo hasta 30 cm de la capa, se puede colocar una capa de sustrato de 30 cm rociarla y luego colocar otra capa hasta formar la biopila así se asegura que toda la biopila este cubierta por nutrientes.

Otra forma para la adición de nutrientes es mediante el uso de sustratos naturales o agentes esponjantes, estos no deberán exceder el 20% del volumen final de la unidad de tratamiento (Castells, 2012).

2.7.5.1 Sustratos naturales

Los sustratos naturales son una fuente de nutrientes y soporte físico para los microorganismos, se utilizan en procesos de fermentación en estado sólido,

es decir obtención de energía para el crecimiento microbiano de un compuesto orgánico (Gamazo et al., 2013) en este caso sobre soportes sólidos húmedos en estado natural y ausencia de agua libre, puede ser llevada a cabo sobre sólidos inertes o sustratos naturales (fibras y pajas de trigo, maíz, arroz, bagazo de caña de azúcar y remolacha, residuos de banana, de patata, te, coco, manzana, cítricos, harinas de trigo y maíz, cascaras de arroz y café, etc.) (Robinson, Singh, & Nigam, 2002).

Agregar sustratos naturales al tratamiento ayudara a aumentar la población microbiana y proveer nutrientes adicionales (EPA, 2004b).

2.8 FACTORES A CONTROLAR

2.8.1 MICROORGANISMOS

Un tratamiento de biorremediación involucrara microorganismos, siendo estos una parte esencial del proceso. Los principales organismos degradadores de contaminantes son; bacterias, levaduras y en menor cantidad hongos debido a su capacidad de metabolizar compuestos orgánicos. En el caso de contaminación por petróleo y sus derivados las partes de hidrocarburo volátiles se evaporarían con rapidez y los componentes alifáticos y aromáticos de cadena más larga serán atacados por los microorganismos que oxidaran parte del mismo hasta dióxido de carbono y otros compuestos más simples (EPA, 2004c).

2.8.1.1 Bacterias

Entre los organismos unicelulares procariotas se encuentran las bacterias, siendo los organismos más abundantes y diversos presentes en el suelo, su tamaño varía entre los 0.5 y 3.0 micrómetros por lo que es muy difícil

identificarlas individualmente siendo sus colonias más reconocibles. La mayoría de reacciones químicas que involucran materia orgánica y sus procesos de oxidación y reducción son llevados a cabo por las bacterias, este proceso de degradación ocurre ya que las bacterias producen enzimas extracelulares “que transforman los compuestos sólidos a compuestos solubles permitiendo así el paso del material al interior de la célula donde se completa la digestión” (Manahan, 2007).

Los procesos de degradación pueden ser realizados por bacterias aerobias o anaerobias, las bacterias aerobias utilizan el oxígeno como receptor de electrones y las bacterias anaerobias realizan su actividad en ausencia de oxígeno molecular ya que este les resulta altamente tóxico, por lo cual utilizan otros nutrientes inorgánicos como nitratos y sulfatos para su metabolismo.

- **Bacterias autótrofas**

Este tipo de bacterias crecen en medios inorgánicos usando dióxido de carbono u otro tipo de carbono como fuente de energía, no requieren de materia orgánica para su desarrollo, para sus procesos metabólicos sintetizan todas las proteínas complejas, enzimas y otros materiales. Las bacterias autótrofas suelen consumir “una amplia gama de minerales” por lo que están involucradas en transformaciones geoquímicas (Manahan, 2007).

- **Bacterias heterótrofas**

Son más comunes que las bacterias autótrofas y las responsables de la degradación de la materia orgánica, al contrario de las autótrofas estas dependen de compuestos orgánicos para su actividad biológica (Manahan, 2007). Las bacterias heterótrofas sirven como indicadoras en los procesos de descontaminación (Marchand, 2002).

2.8.1.2 Hongos

Los hongos se clasifican como organismos reductores, transforman la materia orgánica usándola como fuente de carbono y energía para su desarrollo y metabolismo, son menos numerosas que las bacterias y crecen a velocidades bajas (Manahan, 2007). Son más flexibles con referencia al pH y humedad pero son más sensibles en ambientes con poco oxígeno (Chandra, 2015).

2.8.1.3 Coliformes totales

Existen varios géneros del grupo coliforme en el ambiente, su estudio ayuda a determinar la calidad del suelo ya que por su capacidad de fermentar la lactosa descompone la materia orgánica aerobiamente (Marchand, 2002), se utilizan también como indicadores de la eficacia de tratamientos de descontaminación, su uso más común se da como indicadores de contaminación en agua.

Se encuentran en gran cantidad en las heces fecales de animales de sangre caliente y muy rara vez en suelos sin contaminación fecal, los organismos originados por contaminación fecal o termo tolerantes viven en temperaturas altas de promedio 44.5 °C y los de origen no fecal se encuentran en el ambiente a temperaturas entre 20°C y 30°C (Cabrera, 2000), no todas sus cepas son patógenas y causan enfermedades solo si son consumidas en agua o lugares con malas condiciones higiénicas (Acosta, 2015).

Su capacidad de reproducción fuera del intestino de los animales es favorecida por condiciones adecuadas de temperatura, pH y humedad.

2.8.1.4 Hidrocarburos totales de petróleo – HTP

Este término es utilizado para describir una extensa familia de compuestos provenientes del petróleo crudo. Se utiliza para evaluar la contaminación por hidrocarburos, ya que existe una gran variedad de los mismo no es practico medir cada uno de ellos, en su lugar se mide la cantidad total de hidrocarburos existentes en una muestra determinada (ATSDR, 2014).

Incluyen gran variedad de compuestos de hidrocarburos como alcanos, alquenos, benceno, tolueno, xileno, MTB-éter metil – ter-butílico (Castells, 2012), que se encuentran en gasolinas, aceites e incluso productos químicos para el hogar.

2.9 MARCO LEGAL

2.9.1 CONSTITUCIÓN DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR

Vigente desde el 20 de octubre de 2008 (R. O. No. 449). Reformada mediante referéndum constitucional y consulta popular del 7 de mayo de 2011 (Primer Suplemento del R. O. No. 490 del 13 de julio de 2011). En sus artículos busca:

Art.3.- Numeral 7. “Proteger el patrimonio natural y cultural del país”.

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

Art. 397: “En caso de daños ambientales el Estado actuará de manera inmediata y subsidiaria para garantizar la salud y la restauración de los ecosistemas. Además de la sanción correspondiente, el Estado repetirá contra el operador de la actividad que produjera el daño las obligaciones que conlleve la reparación integral, en las condiciones y con los procedimientos que la ley establezca” (Asamblea Nacional del Ecuador, 2008).

2.9.2 LEY DE GESTIÓN AMBIENTAL

Vigente desde 30 julio de 1999. Codificación 10 septiembre del 2004

Art. 1: Ámbito y principios

Es la norma marco respecto a la política ambiental del Estado Ecuatoriano y de todos los que ejecutan acciones relacionadas con el ambiente en general. Determina las obligaciones, responsabilidades, niveles de participación, límites permisibles, controles, y sanciones en caso de incumplimiento en la gestión ambiental. (Secretaría Nacional de Planificación y desarrollo (SENPLADES)., 1998)

2.9.3 TULSMA

Vigente desde diciembre de 2002, y ratificado el 31 de marzo de 2003. Reformado desde 2013 en sus libros y anexos y publicado en la Edición Especial del R. O. No. 387 el 4 de noviembre de 2015.

En su Libro VI Anexo 2 indica normas de aplicación general para suelos, criterios de calidad del suelo y remediación de suelos contaminados, su objetivo es la “Prevención y Control de la Contaminación Ambiental en lo relativo al recurso suelo” (Ministerio de Ambiente, 2002).

2.9.4 GESTIÓN AMBIENTAL HIDROCARBURÍFERA

Reglamento sustitutivo al reglamento ambiental para operaciones hidrocarburíferas en el Ecuador (d. e. no. 1215) RAOHE expedido mediante D. E. No. 1215 y publicado en el R. O. No. 265 de 13 de febrero de 2001. Este reglamento incluye disposiciones generales que aplican a todas las fases de la industria hidrocarburífera, que en este caso se toman en cuenta en vista en lo que respecta al almacenamiento, manejo y provisión de combustibles (Ministerio de Hidrocarburos, 2001).

2.9.5 LEGISLACIÓN AMBIENTAL LOCAL

Ordenanza Metropolitana 404. Actividad de El Beaterio corresponde a sector estratégico. Municipio del DMQ es autoridad ambiental cooperante. La autoridad ambiental distrital puede realizar inspecciones de control (Art. II.380.70 y II.380.79). Las inspecciones pueden obedecer a (Art. II.380.81)(Municipio del Distrito Metropolitano de Quito, 2012).

3. METODOLOGÍA

3. METODOLOGÍA

A continuación se describe el proceso que se llevó a cabo para determinar la efectividad de los agentes esponjantes en el tratamiento de sedimentos contaminados con hidrocarburos mediante biopilas, esto incluye los materiales y métodos para la elaboración de las biopilas y las técnicas utilizadas para realizar los análisis microbiológicos y físico-químicos.

3.1 MÉTODO DE INVESTIGACIÓN

El estudio se desarrolló en base a los objetivos ya propuestos obteniendo como resultado un método de investigación cualitativo y cuantitativo (S. Fernández & Pértegas, 2002), este nos permitió observar las características del tratamiento y a la vez recopilar datos mediante análisis físico-químicos y microbiológicos y así obtener resultados sobre la efectividad del uso de agentes esponjantes en la biorremediación mediante biopilas.

Para llevar a cabo el estudio en el Terminal El Beaterio de la empresa EP Petroecuador fue necesario realizar visitas previas para obtener conocimiento sobre el trabajo que se realiza con respecto al área ambiental en específico la recuperación y tratamiento de hidrocarburos y suelos contaminados, esto incluyó pláticas con el personal encargado tanto obreros como jefes del área.

3.1.1 PROCESO DE INVESTIGACIÓN

El estudio incluye investigación de campo y de laboratorio, la investigación de campo se refiere al lugar donde se llevó a cabo el tratamiento y su control, la investigación de laboratorio indica los análisis que se realizaron en

ambientes diferentes al del tratamiento para obtener datos (S. Fernández & Pértegas, 2002).

Para llevar a cabo el estudio se utilizaron métodos y técnicas ya desarrollados y utilizados por la empresa complementándolos con estudios bibliográficos.

El estudio se llevó a cabo durante cuatro meses iniciando el mes de Noviembre 2015 y finalizando el mes de Febrero 2016, se evaluó estadísticamente la cantidad de material contaminado degradado, el estudio no incluía como objetivo remediar el suelo hasta límites permisibles ya que la cantidad de contaminante es alta y este proceso necesita mayor tiempo, estudios y análisis más profundos.

3.2 TÉCNICAS

3.2.1 CONSTRUCCIÓN DE BIOPILAS

La construcción de biopilas se realizó en las plataformas para tratamiento biológico ubicadas en el “Terminal de Productos Limpios El Beaterio”, para su formación se siguió la metodología usada y creada por la Empresa Petroecuador descrita en el “Manual para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos totales de petróleo” (VAS, 2010).

Como ya se mencionó antes, las plataformas cuentan con técnicas de seguridad ambiental para evitar la contaminación de la superficie del suelo las plataformas se encuentran impermeabilizadas con geo-membranas, y el suelo bajo la misma ha sido compactado con maquinaria pesada, se contó también con canales y cubetos de recolección de lixiviados. Un elemento carente del Terminal fue la falta de un proceso cerrado que evite el contacto de los contaminantes con la atmósfera y sus reacciones fotoquímicas.

3.2.2 CONSTRUCCIÓN DE UNIDADES DE TRATAMIENTO

En un área limpia de aproximadamente $10m^2$ se construyeron nueve pilas con tres repeticiones de cada tratamiento conteniendo como sustratos naturales aserrín, cascara de arroz y fibra de palma, las repeticiones ayudaron a reducir el margen de error en cuanto a la toma de muestras y sus análisis. El suelo a tratar fue colocado en forma de prisma trapezoidal (Figura 6).

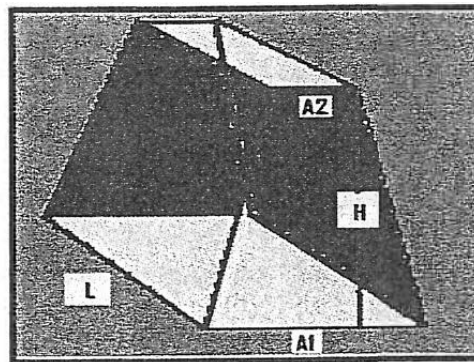


Figura 6. Esquema de biopilas en forma de prisma trapezoidal
(VAS, 2010)

Donde:

A1 = Ancho 1	= 0.75 m
L = Largo	= 1 m
H = Altura	= 0,75
Volumen total	= $0.5 m^3$

Posteriormente se agregaron los sustratos naturales (fibra de palma, aserrín y cascara de arroz), se los mezclo inmediatamente mediante volteo manual. Los sustratos no superaron el 15% del total del tratamiento, (Figura 7) (Anexo 1). Se decidió utilizar estos agentes esponjantes debido a que la empresa ya manejaba estos sustratos por a su bajo costo y facilidad de acceso a los mismos asimismo en el “ESTUDIO DE POTENCIALES IMPACTOS AMBIENTALES Y VULNERABILIDAD RELACIONADA CON

LAS SUSTANCIAS QUÍMICAS Y TRATAMIENTO DE DESECHOS PELIGROSOS EN EL SECTOR PRODUCTIVO DEL ECUADOR” Capitulo 46 publicado por el Ministerio del Ambiente se recomienda el uso de estos agentes esponjantes para técnicas de biorremediación por biopilas.



Figura 7. Adición de sustratos naturales en las biopilas

3.2.3 AIREACIÓN

Debido a que el tratamiento por biopilas necesita de oxígeno para su adecuado funcionamiento, el proceso de aireación fue realizado por volteo manual que consiste en mover las biopilas hacia el espacio vacío más cercano removiéndolas, esto debido a la cantidad de sustrato utilizado en las biopilas y al ser la metodología utilizada en la empresa. El proceso fue realizado por los obreros encargados del área ambiental una vez por semana.

3.2.4 HUMEDAD

El agua fue agregada durante la fase de construcción ayudando a hidratar de forma homogénea el suelo, esta técnica es la más efectiva y menos costosa, las biopilas fueron cubiertas al final de la construcción para mantener su humedad y temperatura.

3.3 ANÁLISIS DE LABORATORIO

3.3.1 TÉCNICAS DE TOMA DE MUESTRAS

La toma de muestras para realizar los estudios físico-químicos y microbiológicos se la realizó mediante criterios de toma de muestras descritas en el Libro VI Anexo 2 del TULSMA.

Las muestras para los análisis físico-químicos fueron tomadas por el personal del Laboratorio de Ensayos GRUNTEC Environmental Services quienes son contratados directamente por EP Petroecuador para realizar estos análisis.

En la bibliografía utilizada se recomienda tomar una de las siguientes opciones: usar una cuadrícula pequeña y recoger las muestras, o coleccionar las muestras al azar cuando el área contaminada sea pequeña o de forma irregular. Por lo que se decidió recolectar dos muestras al azar de cada biopila después de ser removido el sustrato, dando un total de 6 muestras representativas por cada tratamiento.

Para envasar las muestras, según el “Manual para remediación de suelos contaminados” publicado por VAS de EP Petroecuador, se recomienda que: si la muestra se destina para análisis microbiológicos se almacene en envases estériles, se tomaron las muestras se sellaron y etiquetaron los envases y se las transportó en un contenedor con gel en frío para

mantenerlas en oscuridad y a 4°C para limitar la actividad biológica y química hasta ser procesados en los laboratorios correspondientes, verificar que la hielera se encuentre limpia.

Según (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT], 2010) de México en su “Guía Técnica para Orientar en la Elaboración de Estudios de Caracterización de Sitios Contaminados”, la persona que tome la muestra debe utilizar guantes de látex o nitrilo y el muestreo superficial se debe realizar con una cuchara o espátula de acero inoxidable o plástico, todos estos materiales deben estar limpios.

Por lo general las muestras deben ser simples en el caso de ser necesario se permitirá tomar muestras compuestas formadas por 5 muestras simples.

Un muestreo aleatorio simple según el manual de la empresa EP Petroecuador, implica tomar muestras de los puntos P1, P2, P3, P4, P5 y P6, según sea necesario.

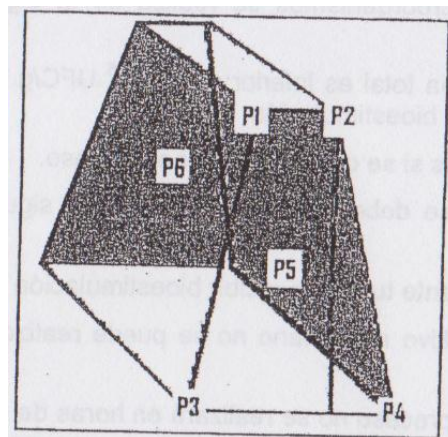


Figura 8. Esquema de la toma de muestra aleatoria simple
(VAS, 2010)

En el caso de la muestra compuesta se siguió el “MANUAL DE MÉTODOS DE MUESTREO Y PRESERVACIÓN DE MUESTRAS DE LAS SUSTANCIAS PRIORITARIAS PARA LAS MATRICES PRIORITARIAS DEL

PRONAME” (INECC-CCA, 2010) de México donde describe que se debe tomar varias muestras del material, se lo coloca sobre una lámina de plástico o charola de acero, se la homogeniza, se la divide en 4 partes y se las mezcla entre cuartos opuestos hasta alcanzar el volumen de material requerido . Este procedimiento de cuarteo se lo describe también en la NTE INEN 0688 (INEN, 1982).

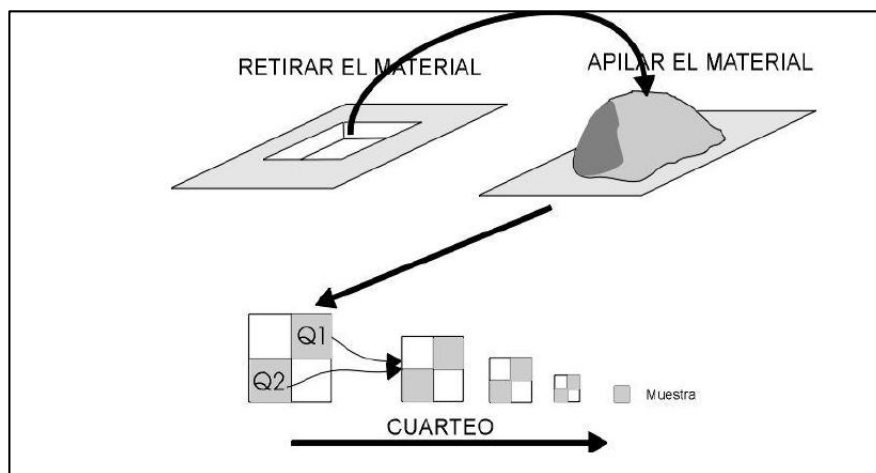


Figura 9: Esquema de la toma de muestra compuesta
(Fernández, 2012)

3.3.2 ANÁLISIS FÍSICO – QUÍMICOS

En cuanto a los análisis físico-químicos, fueron ejecutados según el Decreto Ejecutivo 1215 del Reglamento Ambiental para Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador (Ministerio de Hidrocarburos, 2001) y su Tabla 6 para “Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicios” (Figura 10).

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

- 1) Expresado en base de sustancia seca (gravimétrico; 105°C, 24 horas).
2) Valores límites permisibles enfocados en la protección de suelos y cultivos.
3) Valores límites permisibles para sitios de uso industrial (construcciones, etc.).
4) Valores límites permisibles para la protección de ecosistemas sensibles tales como

Figura 10. Tabla 6 para “Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicios” (RAOHE)
(Ministerio de Hidrocarburos, 2001)

Los métodos de análisis y parámetros de control se los realizó al inicio del tratamiento y al final del tiempo previsto para el estudio, los datos obtenidos ayudaron a cuantificar la carga de contaminantes en el suelo. Estos estudios fueron realizados por la empresa mediante el Laboratorio de Ensayos GRUNTEC Environmental Services (Anexo 2) cuyo certificado de acreditación se encuentra en el Servicio de Acreditación Ecuatoriano (Anexo 7).

Se controló también las condiciones del suelo pH, temperatura y aireación una vez a la semana como control para los indicadores microbiológicos (Anexo 3).

Tabla 4. Parámetros de control de biopilas

Parámetros a controlar	Unidad	Rango	Tiempo de Control
pH		5 a 7.5	Semanal
Temperatura	Grados centígrados	10 - 45	Semanal
Aireación/Volteo			Semanal

3.3.3 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

En cuanto a los análisis microbiológicos, se utilizó el método de recuento en placa es decir contar el número de colonias que se han desarrollado en un medio de cultivo después de sembrar un volumen determinado de la solución o dilución. Los análisis microbiológicos fueron desarrollados en el laboratorio de microbiología de la Universidad Tecnológica Equinoccial UTE.

Para obtener datos estadísticos sobre la presencia y población de microorganismos que contribuirán a la degradación del contaminante, según el Capítulo 5 de la guía “How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tank Sites” por la EPA, como mínimo estos análisis deben incluir el recuento en placa de bacterias heterótrofas totales por lo que se decidió tomar como indicadores a microorganismos heterótrofos totales, hongos (mohos y levaduras) y por ultimo coliformes totales.

Se realizaron ensayos mensuales para determinar el crecimiento microbiano a lo largo del tiempo. La siembra se realizó en placas CompactDry de la compañía Nissui.

3.3.3.1 Placas CompactDry

El uso de placas CompactDry facilitó el proceso de siembra, según validaciones y certificaciones realizadas por (Morales, Vargas, & Baquero, 2012) y (Laboratorios Microkit, 2009) no existe diferencia significativa entre este método y el método estándar pero si es un método alternativo que toma menos tiempo ya que este tipo de placas contiene el medio de cultivo

sólido listo para el crecimiento de organismos específicos, sus especificaciones se encuentran en el Anexo 4 (Hyserve, 2015).



Figura 11. Placas CompactDry

3.3.3.2 Procedimiento de laboratorio

Para diluir el sustrato, en este caso suelo, se utilizó Agua Peptonada Buferada, se diluyeron 20 gramos por cada 1000 ml de agua destilada, se distribuyeron 90ml en frascos de vidrio de capacidad adecuada, fueron sellados y esterilizados en auto clave manual por 120 minutos, se realizó el mismo procedimiento en tubos de ensayo con 9ml cada uno, la cantidad de envases de vidrio y tubos de ensayo se determinó según la cantidad de muestras y diluciones a preparar (Figura 12).

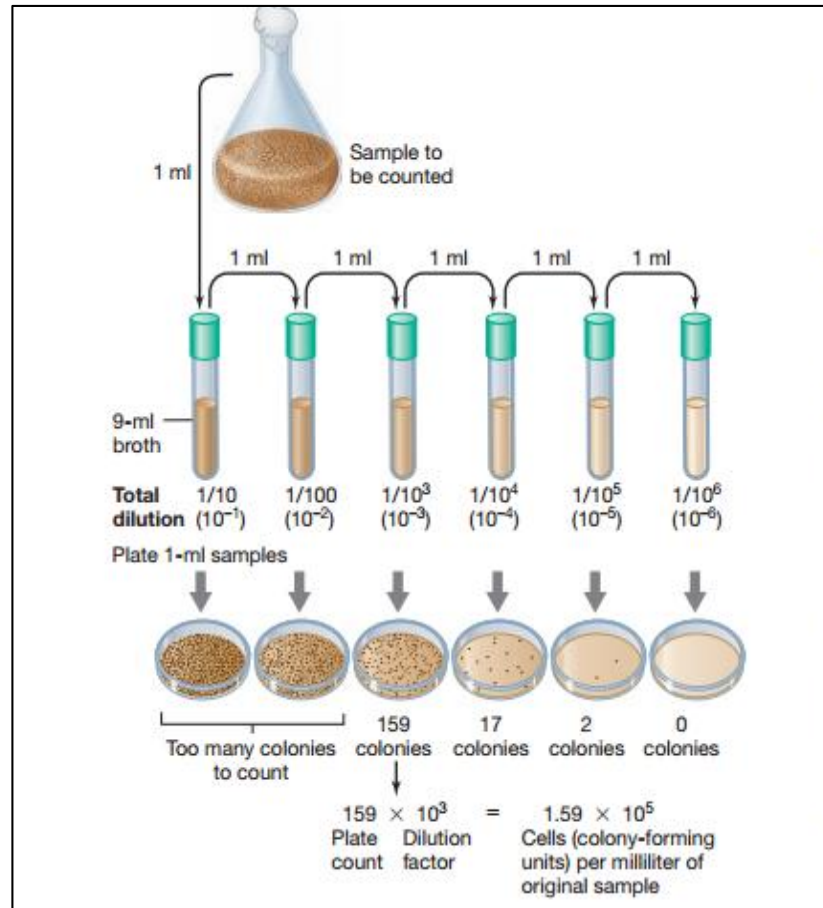


Figura 12. Método de diluciones y recuento en placa.

(Madigan et al., 2014)

El procedimiento de dilución y siembra se llevó a cabo en el equipo cámara de flujo para evitar contaminación de la muestra y del ambiente, con ayuda de la balanza analítica se pesó 10 gramos de muestra de suelo en los frascos de vidrio con agua peptonada, para realizar la dilución se los mezcló inclinando y girando el envase con movimientos de vaivén 25 veces, con una micro-pipeta y varios tips se tomó 1 ml de la solución y se la vertió en los tubos de ensayo con 9ml de agua peptonada, antes de realizar otra dilución se agita los tubos de ensayo utilizando un vortex, todas las preparaciones fueron etiquetadas con el número de muestra y dilución, con el mismo procedimiento se siembran las diluciones en las placas CompactDry, se las etiqueta y se las incuba según las indicaciones, 25°C a 30°C de 3 a 7 días

para mohos y levaduras (YM) y $35^{\circ}\text{C} \pm 2$ de 24 a 48 horas para coliformes totales (EC) y conteo de heterótrofos totales (TC) (Anexo 4).

Se realizó el recuento de microorganismos viables es decir contar las colonias desarrolladas después del tiempo indicado de incubación, según las indicaciones del proveedor las placas TC mostrarían colonias de color Rojo, YM azul y EC purpura (Anexo 4).

3.3.3.3 Recuento microbiológico

En el caso de las placas CompactDry los límites de detección son diferentes a los del método estándar, se recomienda que el recuento se lo realice en placas con crecimiento dentro del rango de 25 a 250 colonias por placa para bacterias y de 10 a 150 UFC/placa para hongos (Laboratorios Microkit, 2009).

Se evitó tomar en cuenta placas sin crecimiento y placas sobrepobladas (MNPC), el análisis estadístico se lo realizó con los resultados de los cálculos de UFC/g (Rodríguez, Gamboa, Hernández, & García, 2005).

3.3.3.4 Ensayos

Los estudios realizados incluyen ensayos preliminares que ayudaron a determinar el número de diluciones a sembrar en cada ensayo mensual. Para los ensayos preliminares se realizaron siembras de diluciones decimales desde 10^{-1} hasta 10^{-6} , se tomaron muestras compuestas representativas de cada tratamiento.

Después de obtener los resultados preliminares, el "Día 1" se analizaron 18 muestras simples, dos por cada biopila con 2 siembras cada una de diferente dilución 10^{-2} y 10^{-3} , este procedimiento para recuento de TC, en

el caso de EC y YM se tomó muestras compuestas de cada tratamiento y se realizó la siembra.

En el segundo y tercer mes se realizaron ensayos preliminares los cuales llevaron a realizar siembras de diluciones de 10^{-3} y 10^{-4} en placas para TC esto debido a que existió mayor crecimiento microbiano.

Para el cuarto mes se realizaron ensayos preliminares, se determinó la cantidad de diluciones a sembrar y por último se tomaron 18 muestras simples, dos por cada biopila con 2 siembras cada una de diferente dilución 10^{-2} hasta 10^{-3} , la siembra se la realizó en placas para TC, YM y EC.

Para presentar de mejor manera los datos se utilizó la herramienta estadística InfoStat versión estudiantil. Los resultados se presentan como unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g) y se estimaron utilizando la siguiente fórmula (Madigan et al., 2014).

$$\begin{aligned} \text{Conteo en placa} \times \text{Factor de dilución} &= \text{UFC/g} & [1] \\ 159 \times 10^3 &= 1.59 \times 10^5 \text{ UFC/ml.} \end{aligned}$$

3.4 INSTRUMENTACIÓN Y MATERIALES

Los materiales y equipos utilizados a lo largo del estudio se listan a continuación.

Tabla 5. Materiales y equipos utilizados

MATERIALES	EQUIPOS
Tips 1ml (puntas estériles para micropipetas)	Micropipetas de 100 - 1000 μ l
Botellas para esterilización con rosca	Vortex
Tubos de ensayo con tapa	Cámara de flujo
Frascos para toma de muestras	Incubadora
Guantes Látex	Contador de colonias
Marcador rotulador	Dispensadores
Pala pequeña	Autoclave manual
Cofia	
Cinta adhesiva	
Aserrín	
Fibra de palma	
Cascara de arroz	
Placas Compact dry TC	
Placas Compact dry YM	
Placas Compact dry EC	
Agua de peptona buferada	
Gradillas para tubos de ensayo	
Frascos para medios de cultivo	

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se muestra el análisis e interpretación de los resultados obtenidos en el estudio, a fin de cumplir con los objetivos ya planteados.

4.1 ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS

Los análisis físico-químicos fueron realizados por parte de EP Petroecuador mediante el Laboratorio de ensayos GRUNTEC Environmental Services. Los resultados de los análisis de cada tratamiento al inicio y final del estudio arrojaron información en cuanto a TPH, HAP y metales pesados (Anexo 2).

Se realizó un análisis estadístico comparando los resultados de los análisis al inicio y fin del estudio donde como se puede observar en la Tabla 6, Tabla 7 y Figura 12 existió un mayor porcentaje de reducción de TPH en el tratamiento con fibra de palma al obtener un 81,50%, en segundo lugar con un 79,96% el tratamiento con cascara de arroz y por último con un 75,67% el tratamiento con aserrín.

Tabla 6. Porcentaje de reducción de TPH al final del tratamiento

Tratamiento	Porcentaje de reducción de TPH
Fibra de Palma	81,50
Cascara de arroz	79,96
Aserrín	75,67

Tabla 7. Resultados de análisis físico-químicos de suelos, inicio y fin de tratamiento

MUESTRAS	EXPERIMENTO 1		EXPERIMENTO 2		EXPERIMENTO 3		Límite Máximo Permisible Tabla 6-Uso Industria I RAOHE D.E 1215	Método Adaptado de Referencia/Método o Interno		
Coordenadas	N 9964097.74 E 773809.82		N 9964098.05 E 773808.56		N 9964098.14 E 773807.32					
Fecha de Muestreo:	07-nov-15	29-feb-16	07-nov-15	29-feb-16	07-nov-15	29-feb-16				
	INICIO	FINAL	INICIO	FINAL	INICIO	FINAL				
Hidrocarburos totales de petróleo (C8-C40) mg/kg	17326	3206	35847	7183	26095	6350	<4000	EPA 8015 D/ MM/S/23		
Porcentaje de Reducción de TPH	81,50		79,96		75,67		<4000	EPA 8015 D/ MM/S/23		

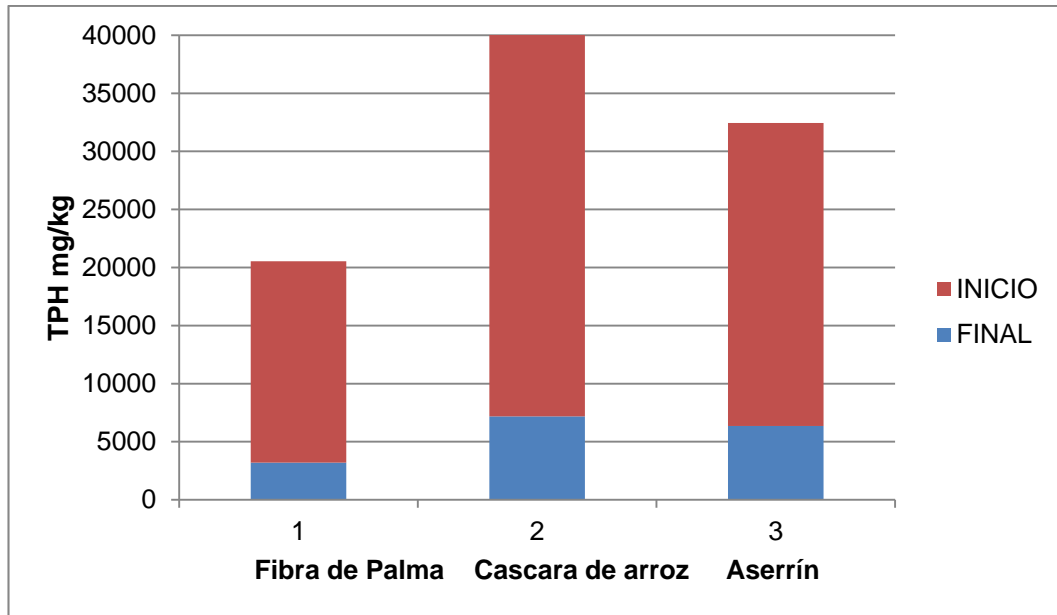


Figura 13. Análisis comparativo de reducción de TPH al final e inicio del tratamiento

Otros parámetros físicos que se tomó en cuenta fueron pH y temperatura para el control microbiológico, se puede observar datos bajos al inicio del tratamiento, después de realizar los controles semanales se nota un aumento en los parámetros, al final de tratamiento debido a que se detuvo el acondicionamiento de los tratamientos el pH y temperatura disminuyen de nuevo (Anexo 5).

En cuanto al pH se puede decir que sus valores se mantuvieron entre 5 y 6 y la temperatura con valores desde 17 hasta 21 grados centígrados, en las Figuras 14, 15, 16, 17, 18, 19 se puede observar la variación de pH y temperatura por tratamiento.

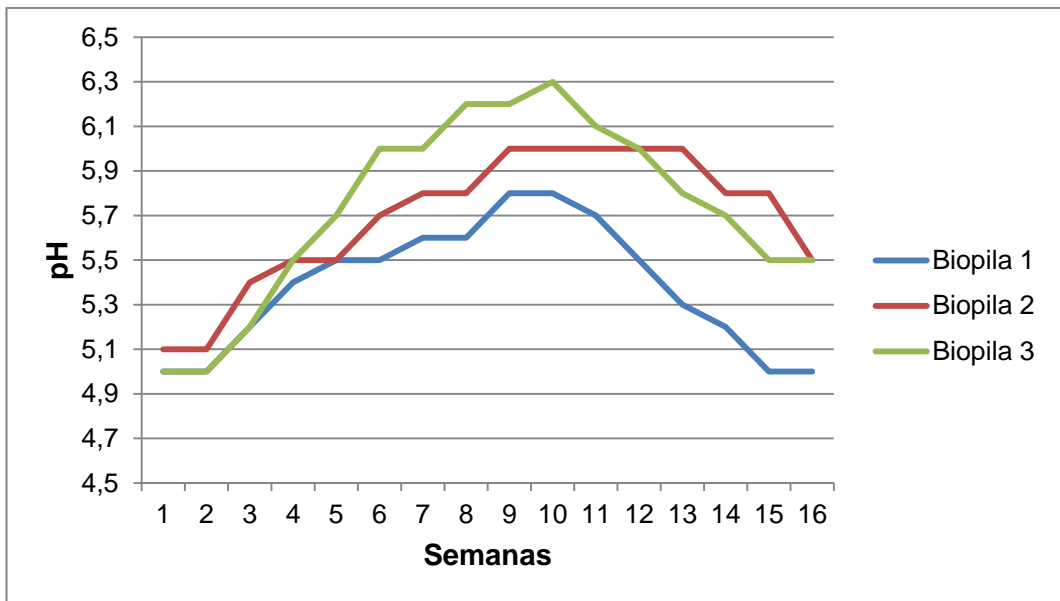


Figura 14. Variación de pH en el tratamiento con Fibra de Palma

El promedio de pH en el tratamiento con fibra de palma se observó entre 5,6.

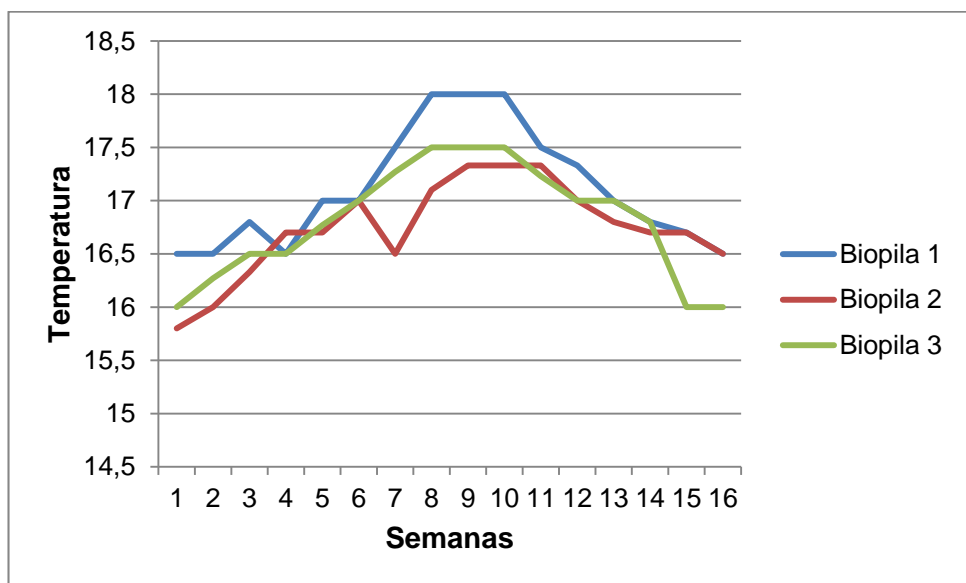


Figura 15. Variación de temperatura en el tratamiento con Fibra de Palma

El promedio de temperatura en el tratamiento con fibra de palma se observó fue de 16 °C.

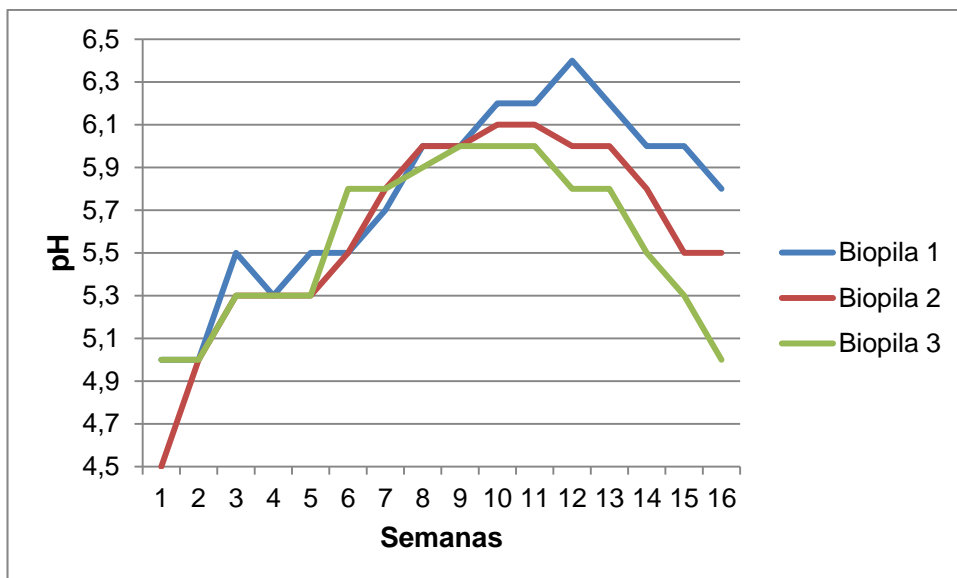


Figura 16. Variación de pH en el tratamiento con Cascara de arroz

El promedio de pH en el tratamiento con cascara de arroz se observó entre 5,64.

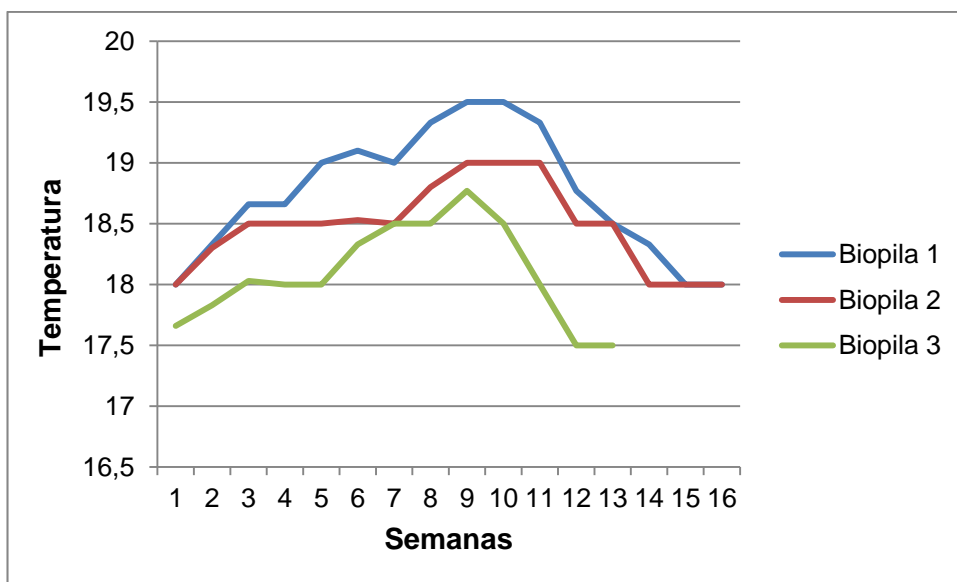


Figura 17. Variación de temperatura en el tratamiento con Cascara de arroz

El promedio de temperatura en el tratamiento con cascara de arroz se observó fue de 18 °C.

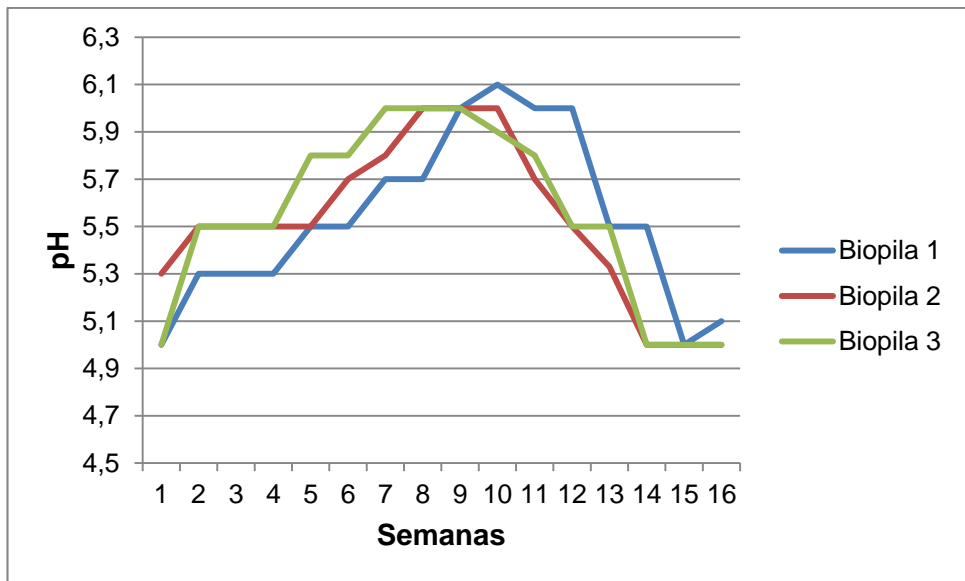


Figura 18: Variación de pH en el tratamiento con Aserrín

El promedio obtenido de pH para el tratamiento con aserrín fue de 5,53.

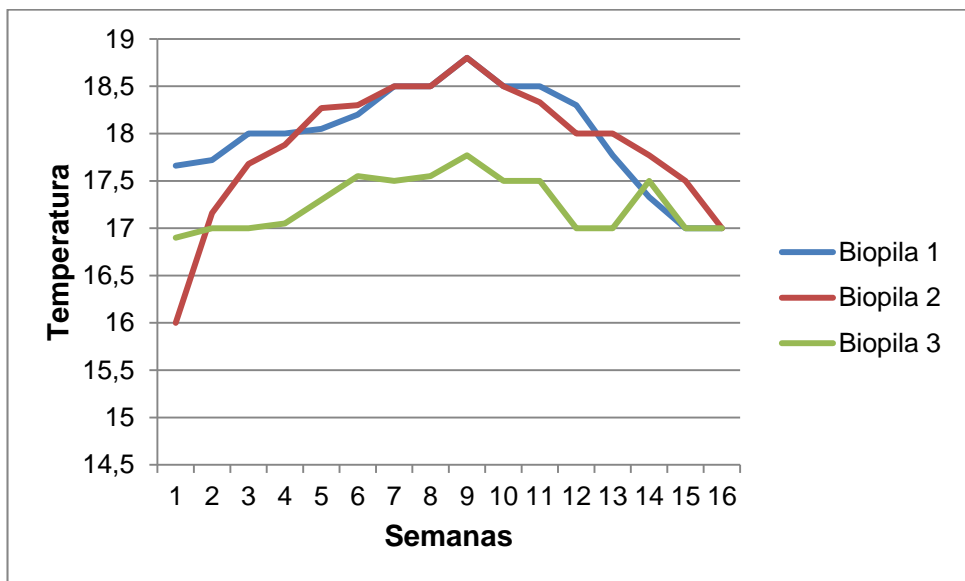


Figura 19: Variación de temperatura en el tratamiento con Aserrín

El promedio de temperatura en el tratamiento con aserrín fue de 17 °C.

4.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

Lo análisis microbiológicos fueron realizados en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Tecnológica Equinoccial, se decidió realizarlos ya que según (Róldan & Iturbe, 2009) “La actividad microbiana puede ser proporcional a la reducción de las concentraciones de HTP”, por lo tanto estos servirían como indicadores de la actividad microbiana y la efectividad de los sustratos naturales al ayudar a acondicionar el suelo.

4.2.1 RESULTADO DE ENSAYOS PRELIMINARES

Como se mencionó en la metodología se realizaron análisis preliminares para identificar la cantidad de diluciones necesarias. En el Anexo 6 se muestran los resultados de los ensayos preliminares, se tomaron como referencia diluciones con crecimiento dentro del rango de límites para conteo en CompactDry en TC, YM y EC.

Para el primer mes los resultados indicaron que lo más adecuado sería realizar siembras con diluciones de 10^{-2} y 10^{-3} , el segundo y tercer mes los resultados mostraron mayor crecimiento microbiano por lo que se decidió utilizar diluciones de 10^{-3} y 10^{-4} , al cuarto mes se realizaron siembras de diluciones de 10^{-2} y 10^{-3} ya que se vio una reducción en el crecimiento microbiano.

4.2.2 RESULTADOS DE RECUESTO EN PLACA

Los análisis de resultados del recuento de microorganismos viables en placas CompactDry para identificación de TC, YM y EC en cada tratamiento muestran los siguientes resultados (Anexo 5):

Tabla 8. Resultados de recuento en placa para recuentos totales TC

	TC			
	Inicio de tratamiento	Primer mes	Segundo Mes	Fin de tratamiento
Fibra de palma	3,95E+04	4,4E+05	2,32E+05	3,47E+04
Cascara de Arroz	4,96E+04	4,74E+05	3,09E+05	4,86E+04
Aserrín	4,05E+04	2,6E+05	2,72E+05	2,27E+04

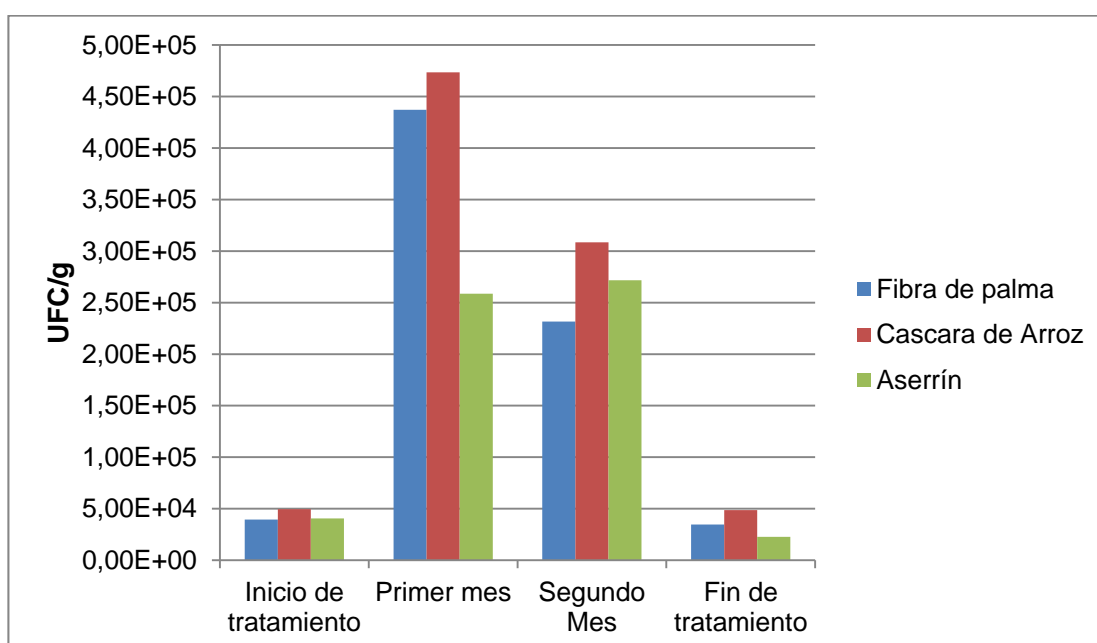


Figura 20. Reporte de resultados de recuento en placa para recuentos totales TC

Tabla 9. Resultados de recuento en placa para para mohos y levaduras YM

	YM	
	Inicio de tratamiento	Fin de tratamiento
Fibra de palma	3,18E+04	3,93E+04
Cascara de Arroz	1,06E+04	1,75E+03
Aserrín	2,42E+04	1,45E+04

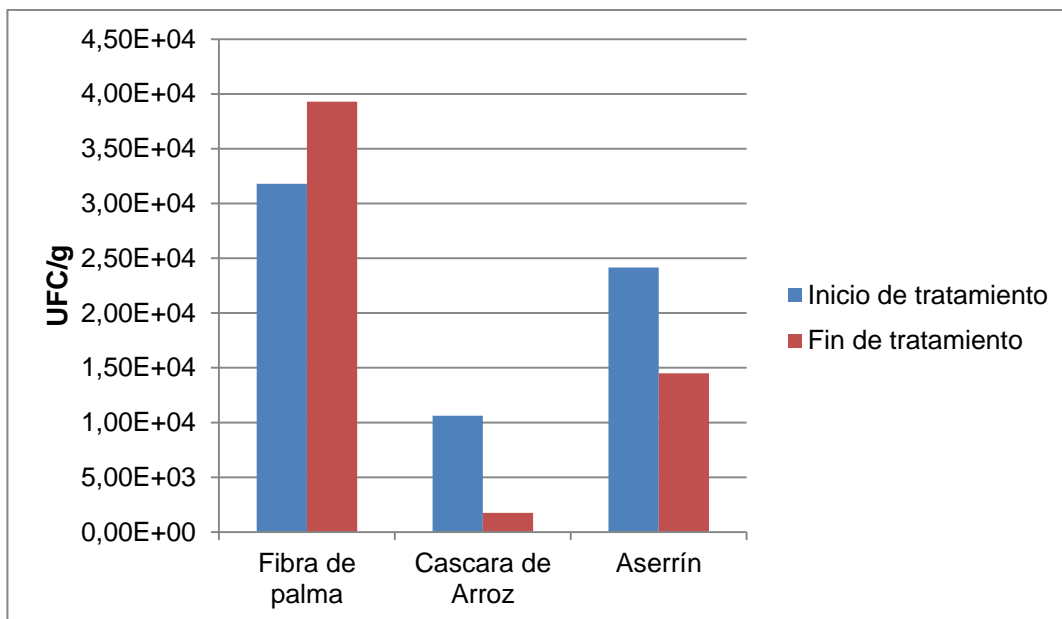


Figura 21. Reporte de resultados de recuento en placa para mohos y levaduras YM

Tabla 10. Resultados de recuento en placa para coliformes totales EC

	Inicio de tratamiento	Fin de tratamiento
Fibra de palma	2,65E+04	3,95E+03
Cascara de Arroz	4,30E+04	2,85E+04
Aserrín	1,35E+03	2,90E+03

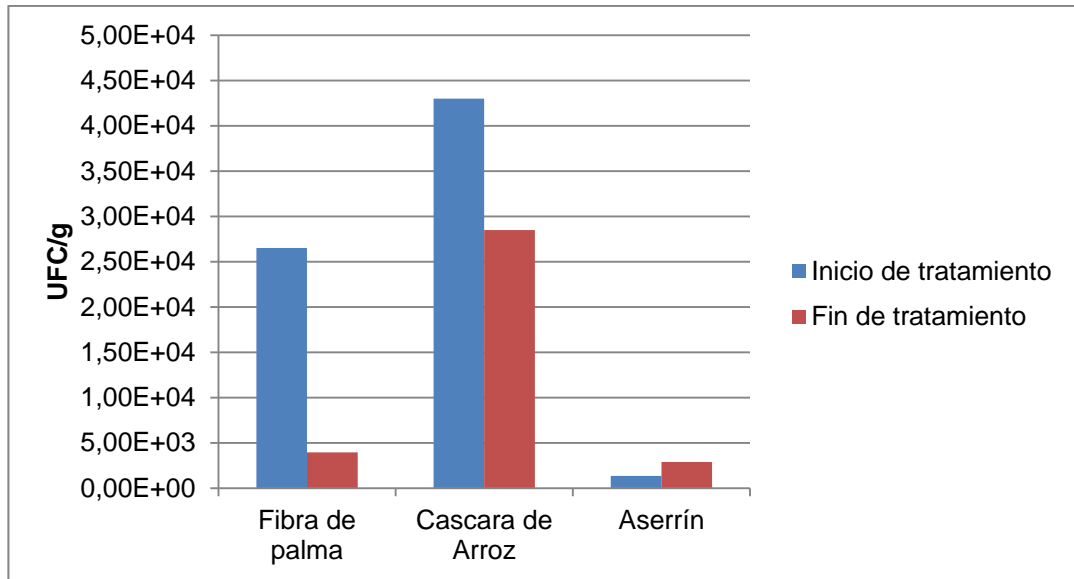


Figura 22. Reporte de resultados de recuento en placa para coliformes totales EC

Como se puede observar existió una reducción en el crecimiento microbiano especialmente en placas para EC y YM, se cree que está relacionada con el hecho de que la mayoría de la materia orgánica presente de forma inicial en la biopila ha sido ya transformada y consumida por los microorganismos autóctonos o disminución de la misma por evaporación y al ir disminuyendo ya no existe sustrato suficiente para que los microorganismos crezcan y por ende las poblaciones microbianas disminuyen (Róldan & Iturbe, 2009), por lo tanto el producto maduro final de una biopila se caracterizara por una carga microbiana baja, otro factor preponderante es los cambios en el pH y temperatura de la biopila.

En el caso de coliformes totales la temperatura de la biopila es inferior a la óptima descrita para esta bacteria según (Cabrera, 2000), lo que causaría un crecimiento lento. Para mohos y levaduras la temperatura se encontraba dentro del rango adecuado lo que nos lleva a pensar que los nutrientes no fueron suficientes para estos organismos lo que evito una adecuada tasa de replicación.

Se realizó también un análisis estadístico sobre los datos obtenidos en cuanto a caracterización microbiológica, para conocer si existe una diferencia significativa entre los mismos y así demostrar su eficiencia (Figuras 23 y 24), se tomó los datos de recuento en placa para TC.

Las tablas que genera el programa estadístico InfoStat nos indican un valor p , si este valor es menor a 0.005 entonces existen diferencias estadísticas significativas entre las variables estudiadas (Universidad Nacional de Córdoba, 2013), en este caso se analizó la diferencia entre sustratos y biopilas, el procedimiento de uso del programa se encuentra en el Anexo 6.

```
Nueva tabla : 25/04/2016 - 21:44:18 - [Versión : 23/02/2016]

Análisis de la varianza

Variable N   R²   R² Aj   CV
-----
TC          72  0,13  0,11  7,62

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)
F.V.   SC   gl   CM   F   p-valor
-----
Modelo. 1,23  2  0,61  5,33  0,0070
BIOPILA 1,23  2  0,61  5,33  0,0070
Error   7,94  69  0,12
Total   9,16  71

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,23452
Error: 0,1150 gl: 69
BIOPILA Medias n   E.E.
-----
3,00      4,27  24  0,07  A
1,00      4,54  24  0,07  B
2,00      4,54  24  0,07  B
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)
```

ANAVA	ANAVA	ANAVA
50	63	64

Figura 23. Análisis de diferencia estadística entre biopilas

La figura 23 muestra el análisis estadístico entre biopilas de cada sustrato, como se puede observar en la última tabla los valores son mayores a 0,005 (0,007) lo que indica que no existe diferencias estadísticas significativas entre biopilas.

Nueva tabla : 25/04/2016 - 21:31:50 - [Versión : 23/02/2016]

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
IC	72	0,05	0,02	7,97

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,47	2	0,23	1,85	0,1648
SUSTRATO	0,47	2	0,23	1,85	0,1648
Error	8,70	69	0,13		
Total	9,16	71			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,24549

Error: 0,1260 gl: 69

SUSTRATO	Medias	n	E.E.
1,00	4,38	24	0,07 A
3,00	4,41	24	0,07 A
2,00	4,56	24	0,07 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANAVA	ANAVA
E0-B3-6B-04-6A-02	

Figura 24. Análisis de diferencia estadística entre sustratos

En la figura 24 se estudió la diferencia estadística entre sustratos, los valores son mayores a 0,005 (0,1648) lo que indica que no existe diferencias estadísticas significativas entre sustratos, como no existen diferencias todas pertenecen a la categoría A.

4.3 PROPUESTA DE UNA MEJOR METODOLOGÍA PARA EL TRATAMIENTO DE SEDIMENTOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS

Uno de los objetivos de este estudio fue proponer una metodología que pueda ser utilizada por la empresa al realizar tratamiento con biopilas. Esta

propuesta se basa en las observaciones que se obtuvo en campo y los resultados obtenidos en el estudio.

Lo primero que se pudo observar fue que la metodología utilizada en la empresa EP Petroecuador sobre el tratamiento biológico no se encuentra estandarizada, en algunos procesos no cumple con la normativa ambiental y podría ser remplazada por un proceso que genere menor costo económico y reduzca el tiempo de remediación de los sedimentos.

Si se toma en cuenta solamente el proceso de biorremediación por biopilas, al construir los tratamientos se coloca el sedimento sobre las plataformas de tratamiento y sobre esta materia orgánica, se observó que los tratamientos permanecían estáticos varios meses sin ningún tipo de aireación, debido a la falta de gestión, tiempo y disponibilidad para mantener las biopilas, esto evita que los microorganismos tengan el oxígeno para realizar su actividad metabólica, por lo cual se propone un método de aireación por tuberías pasivo.

El sistema de aireación por tuberías es un método pasivo que permite que el aire entre y salga del sistema libremente, este consiste en un tubo principal de PVC y varios ramales que atraviesan la biopila, permitiéndola respirar, estas pueden ser colocadas durante la construcción, es necesario que este sistema cuente con un proceso de recolección o tratamiento de vapores ya que el hidrocarburo se evapora con facilidad.

Debido a que el tratamiento necesita de control de pH, temperatura y humedad para estimular la actividad microbiana se puede cubrir los tratamientos con láminas impermeables y así mantener condiciones óptimas en caso de cambios climáticos fuertes.

En el caso de materia orgánica, en la empresa se coloca todo tipo de materia ya sea césped cortado, estiércol de vaca, fibra de palma, aserrín entre otros, al colocar diferente tipo de materia orgánica puede convertir al

tratamiento en compost, lo más recomendable sería colocar un solo tipo de sustrato para ayudar a absorber y acondicionar el suelo.

Por otra parte el estudio de campo nos permitió observar que las condiciones en las que se mantiene al hidrocarburo tanto en las plataformas de tratamiento biológico como en las piscinas para sedimentos es inadecuado, con un diseño incorrecto esto debido a la evaporación natural de los hidrocarburos y sus compuestos, ni los sedimentos ni ningún otro tipo de hidrocarburo deberían encontrarse en contacto con la atmosfera o luz solar ya que sus elementos se pueden transforman en compuestos que pueden resultar altamente contaminantes y cancerígenos. Por lo cual se recomienda cuantificar las pérdidas de TPH por evaporación y si es posible estudiar la cantidad de contaminantes que se producen.

Se han realizado estudios previos sobre perdidas de TPH en los tanques de almacenamiento de El Beaterio (Pilacuán, 2009) donde se puede estudiar la gran cantidad de TPH que se pierde y a la vez tomar como referencia esta propuesta.

A continuación se propone y describe un sistema de tratamiento de sedimentos mediante vapor de agua el cual reducirá el tiempo de remediación y costos.

Como se observa en la Figura 25 el sistema consta de un tanque de metal en el que se colocarán los sedimentos contaminados, por la parte superior se inyectará agua en forma de vapor, permitiendo que el hidrocarburo se separe de los sólidos, en la parte inferior se recolectaran los lixiviados producto del tratamiento estos podrán ser recolectados para ser enviados de nuevo a la refinería y recuperar el hidrocarburo. Este sistema debe ser cerrado para evitar la volatilización de los compuestos del hidrocarburo.

Para inyectar vapor de agua se puede utilizar diferentes equipos comerciales de fácil acceso que permitan aplicar vapor, el tratamiento puede terminarse hasta en un día dependiendo de la cantidad de contaminante y el tiempo de aplicación del vapor.

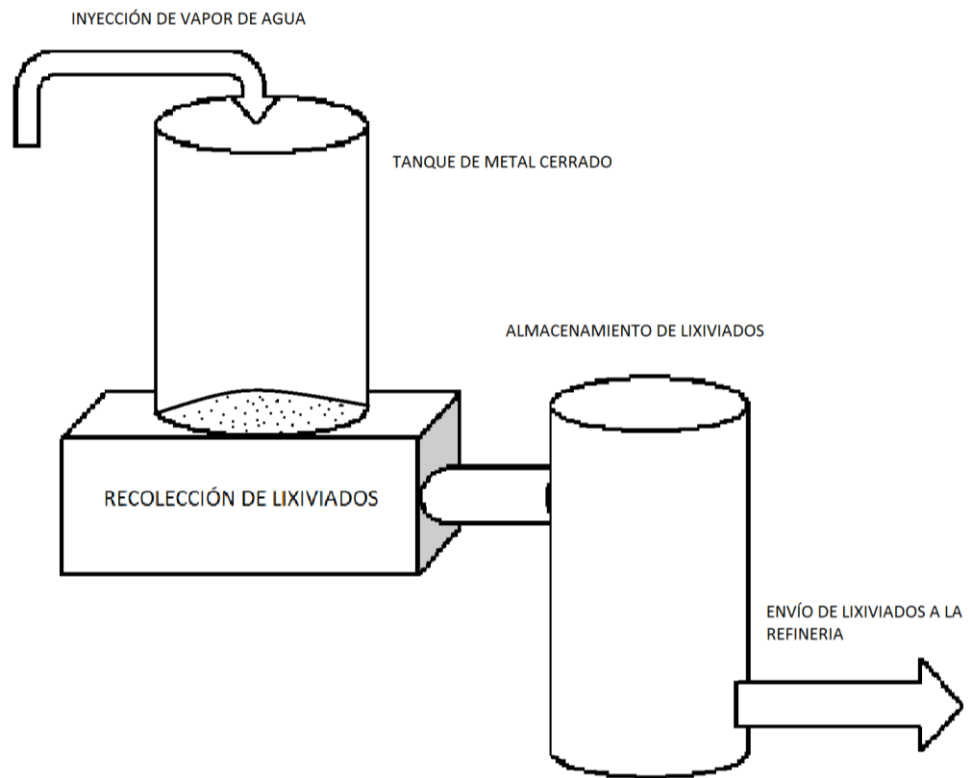


Figura 25. Sistema de tratamiento de sedimentos con vapor de agua

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

Los resultados del estudio mostraron que el sustrato natural más “eficiente”, debido a que ayudo a aportar nutrientes al tratamiento y acondicionarlo es el de fibra de palma con un 81,50% en reducción de TPH demostrando un mayor crecimiento microbiano.

Debemos recordar que los resultados solo muestran al tratamiento con mayor efectividad en el estudio, esto no quiere decir que los demás sustratos no hayan aportado nutrientes o no sean válidos, ya que no existió gran diferencia estadística entre la reducción de TPH y crecimiento microbiano entre los tratamientos, el tratamiento con cascara de arroz obtuvo un 79,96% de reducción de TPH y el de aserrín un 75,67%.

Se pudo observar que el crecimiento microbiano se vio afectado por las condiciones de nutrientes y de parámetros físicos, por lo que es importante estudiar y mantener un control del tratamiento para una mayor efectividad.

Es difícil evaluar las técnicas de biorremediación ya que no existe un modelo completamente estándar que se adapte a todos los tipos de contaminación y suelo, por lo que es necesario adaptar las condiciones del tratamiento según los parámetros que se necesiten en el momento.

5.2 RECOMENDACIONES

Para determinar que técnica es adecuada o la más efectiva en nuestra remediación es necesario conocer nuestro objetivo o límite de contaminación según la normativa aplicable, y determinar que técnica será la más adecuada en cuanto recursos económicos y tiempo

Es importante seguir las regulaciones y normas de seguridad al tratar con contaminantes tanto para su disposición como tratamiento.

Se recomienda realizar pruebas preliminares para conocer el estado del suelo a tratar y así poder seleccionar una técnica adecuada de biorremediación.

Para un estudio más profundo se recomienda identificar el tipo de microorganismo autóctono del suelo e investigar las condiciones necesarias para estimularlo y mejorar los tratamientos.

Se debe tomar en cuenta también que la composición química de un sedimento y un suelo contaminado son diferentes por lo que una tecnología de remediación debe basarse en un estudio previo de la composición del contaminante.

NOMENCLATURA / GLOSARIO

NOMENCLATURA / GLOSARIO

API	Instituto Americano del Petróleo
ATP	Adenosina Trifosfato.
Autóctono	Propio del lugar
EPA	Environmental Protection Agency
Geomembranas	Son láminas de impermeabilización que evitan el paso de lixiviados. Están fabricadas por diferentes tipos de resinas: caucho sintético, polipropileno, clorosulfonado, cloruro de polinilo, polietileno de alta, media y baja densidad.
Lixiviados	Líquidos que se forman al percolarse a través de un sólido, arrastran distintas partículas.
Medio de cultivo	Es cualquier sustancia nutritiva, sólida o líquida, que pueda ser utilizada en el laboratorio para el crecimiento de los microorganismos, adicionada o no de sustancias enriquecedoras, selectivas, indicadoras y tamponantes.
MNPC	Muy numeroso para contar
Sedimentación	Separación de un fluido de partículas sólidas por gravedad.
Sedimento	Mezcla de material sólido que se deposita en el fondo de los tanques de almacenamiento debido a su densidad y características.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, C. (2015). Contaminación por bacterias patógenas en suelos irrigados con efluentes de un sistema de lagunas de estabilización. *PhD Proposal*, 1, 8. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Adams, R. (2000). Bioremediation Potential of Oil Impacted Soil and Water in the Mexican Tropics. *Terra*, 17, 159–174. Retrieved from <http://www.chapingo.mx/terra/contenido/17/2/art159-174.pdf>
- Asamblea Nacional del Ecuador. Constitución Nacional de la república (2008). Ecuador.
- ATSDR. (2014). Hidrocarburos totales de petróleo. Retrieved from http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts123.html
- Baquero, A. (2009). *Sistema de carga ventral para auto-tanques e islas de distribución de combustibles (llenaderas), en terminales y depósitos de productos limpios en Petrocomercial para el año 2010*. UTE. Retrieved from repositorio.ute.edu.ec/handle/123456789/5929?mode=ful
- Cabrera, A. (2000). PRESENCIA DE ORGANISMOS COLIFORMES FECALES EN EL AGUA SUBTERRANEA DE UNA GRANJA PORCICOLA EN EL ESTADO DE YUCATAN. *BVSDE*, 53(9). <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Castells, X. (2012). *Reciclaje y tratamiento de residuos diversos*: Madrid: Diaz de Santos. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?isbn=8499693741>
- Castillo, F. (2005). *Biotecnología Ambiental*. Madrid: Editorial TÉBAR. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?isbn=8473602110>
- Chandra, R. (2015). *Environmental Waste Managment*. (CRC Press, Ed.). USA.
- Donla, D. L. (2009). A General Essay on Bioremediation of Contaminated Soil. Retrieved from <http://waterquality.montana.edu/energy/cbm/lit-reviews/bioremed-soil.html>
- EPA. (2004a). How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tank Sites, (Chapter XII), 74. Retrieved from https://www.epa.gov/sites/production/files/2014-03/documents/tum_ch12.pdf

- EPA. (2004b). How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tank Sites-A Guide for Corrective Action Plan Reviewers Chapter IV – Biopiles, (Chapter IV – Biopiles), 31. Retrieved from https://www.epa.gov/sites/production/files/2014-03/documents/tum_ch4.pdf
- EPA. (2004c). How to Evaluate Alternative Cleanup Technologies for Underground Storage Tank Sites-A Guide for Corrective Action Plan Reviewers Chapter V – Landfarming, 31. Retrieved from https://www.epa.gov/sites/production/files/2014-03/documents/tum_ch5.pdf
- Fernández, A. (2012). *DESCRIPCIÓN Y ANÁLISIS DEL SISTEMA DE RECUPERACIÓN DE LA PISCINA DE LODOS EN EL TERMINAL BEATERIO, CONSIDERADA PASIVO AMBIENTAL Y LOS RECURSOS NECESARIOS PARA MEJORAR SU RECUPERACIÓN COMO EL PROGRAMA A EJECUTARSE POR EP PETROECUADOR 2012*”. UTE. Retrieved from repositorio.ute.edu.ec/handle/123456789/6035
- Fernández, S., & Pértegas, S. (2002). Investigación cuantitativa y cualitativa. *Cadena Atención Primaria*, 9(Figura 1), 76–78. Retrieved from http://www.fisterra.com/mbe/investiga/cuanti_cuali/cuanti_cuali.asp
- Gamazo, C., Sánchez, S., & Camacho, A. I. (2013). *Microbiología basada en la experimentación* (Primera). Barcelona: ELSEVIER.
- Hyserve. (2015). Compact Dry. Retrieved from <http://www.hyserve.com/produktgruppe.php?lang=es&gr=1>
- INECC-CCA. (2010). MANUAL DE MÉTODOS DE MUESTREO Y PRESERVACIÓN DE MUESTRAS DE LAS SUSTANCIAS PRIORITARIAS PARA LAS MATRICES PRIORITARIAS DEL PRONAME. México. Retrieved from http://www2.inecc.gob.mx/dgcenica/proname/informes/manual_de_meto dos_de__muestreo_inecc_2013.pdf
- INEN. Mecanica de suelos. Preparación de muestras alteradas para ensayos. (1982). Ecuador. Retrieved from <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.n.te.0688.1982.pdf>
- ionTEk. (2013). Recuperación de Petróleo en depósitos y tanques de almacenamiento. Retrieved from <http://www.iontek.net/files/IOntek-Tanques.pdf>
- Laboratorios Microkit. (2009). CERTIFICADO DE VALIDACIÓN CompactDryPlates. España.

- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H. ., & Sthal, D. (2014). *Brock Biology of Microorganisms* (14th ed.). USA: Pearson.
- Manahan, S. E. (2007). *Introducción a la química ambiental* (Primera). Mexico D.F: Editorial Reverté. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?isbn=8429179070>
- Marchand, E. (2002). *Microorganismos indicadores de la calidad del agua de consumo humano en Lima Metropolitana*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú. Retrieved from http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/basic/marchand_p_e/Indice_Marchand.htm
- Ministerio de Ambiente. Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria (TULSMA) (2002). Quito.
- Ministerio de Ambiente. (2014). ESTUDIO DE POTENCIALES IMPACTOS AMBIENTALES Y VULNERABILIDAD RELACIONADA CON LAS SUSTANCIAS QUÍMICAS Y TRATAMIENTO DE DESECHOS PELIGROSOS EN EL SECTOR PRODUCTIVO DEL ECUADOR, *Capítulo 4*, 1–46. Retrieved from <http://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/03/PART5.pdf>
- Ministerio de Hidrocarburos. Reglamento Ambiental de Actividades Hidrocarburíferas en el Ecuador (2001). Ecuador.
- Morales, M., Vargas, C., & Baquero, A. (2012). Validación del método “ Compact Dry de Nissui ” frente al método convencional o estándar para medición microbiológica en alimentos El método CDN *. Guayaquil, Ecuador: ESPOL.
- Municipio del Distrito Metropolitano de Quito. Ordenanza Metropolitana 404 (2012). Quito.
- Pardo, C., Perdomo, J. L., Rojas, M. C., & Benavides, J. L. (2004). Efecto de la adición de fertilizantes inorgánicos compuestos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con petróleo. *Nova - Publicación Científica En Ciencias Biomédicas - ISSN:1794-2370*, 2(2), 40–49. Retrieved from <http://unicolmayor.edu.co/publicaciones/index.php/nova/article/view/21/40>
- Pilacúan, J. C. (2009). *ANÁLISIS DE PÉRDIDAS POR EVAPORACIÓN EN EL TANQUE DE TECHO FIJO DE ALMACENAMIENTO DE GASOLINA SÚPER TB-1012 DEL TERMINAL DE PRODUCTOS LIMPIOS EL BEATERIO (PETROCOMERCIAL)*. UTE. Retrieved from <http://biblos.uamerica.edu.co/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=563472>

- Robinson, T., Singh, D., & Nigam, P. (2002). Fermentación En Estado Sólido: Una Tecnología Microbiana Promisoria Para La Producción De Metabolitos Secundarios. *Vitae*, 9(2), 27–36. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169818107003>
- Rodriguez, E., Gamboa, M. del M., Hernández, F., & García, J. (2005). *Bacteriología General: Principios Y Prácticas de Laboratorio*. Costa Rica: Universidad de Costa Rica. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?isbn=9977679800>
- Róldan, A., & Iturbe, R. (2009). SANEAMIENTO DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS MEDIANTE BIOPILAS. *UNAM*, 15. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT]. (2010). *Guía Técnica para Orientar en la Elaboración de Estudios de Caracterización de Sitios Contaminados* (1st ed.). Mexico: SEMARNAT. Retrieved from <https://www.ministeriodesalud.go.cr/index.php/material-publicado/descargas/investigaciones/sitios-contaminados-o-potencialmente-contaminados-en-costa-rica/2365-guia-tecnica-para-orientar-en-la-elaboracion-de-estudios-de-caracterizacion-de-sitios-contamina>
- Secretaria Nacional de Planificación y desarrollo (SENPLADES). Ley de gestión ambiental (1998). Quito, Ecuador.
- Universidad Nacional de Córdoba. (2013). InfoStat. Retrieved from <http://www.infostat.com.ar/>
- VAS, P. (2010). MANUAL PARA LA REMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO. Quito - Ecuador.
- Volke, T. (2005). *Suelos contaminados por metales y metaloides*. Mexico: SEMARNAT. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?isbn=9688174920>
- Williams, J. (2002). Bioremediation of Contaminated Soils: A Comparison of in situ and ex situ techniques. *NCBI*. Retrieved from home.eng.iastate.edu/~tge/ce421-521/jera.pdf

ANEXOS

ANEXO I

Construcción de biopilas



ANEXO II

Resultados análisis físico-químicos



REPORTE DE ANÁLISIS

Cliente: EP Petroecuador
Alpallana E8-86 y Av. 6 de Diciembre
Telf: 2563-060

Atn: Ing. Ana Villarroel

Proyecto: Análisis de Suelo

Muestra Recibida: 07-nov-15

Tipo de Muestra: 1 Muestra de Suelo

Análisis Completado: 16-nov-15

Número reporte Gruntec: 1511082-S006

Rotulación Muestra:	EXPERIMENTO 1	Limite Máximo Permisible Tabla 6 - Ecosistemas Sensibles RAOHE D.E. 1215	Limite Máximo Permisible Tabla 6 - Uso Agrícola RAOHE D.E. 1215	Limite Máximo Permisible Tabla 6 - Uso Industrial RAOHE D.E. 1215	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Coordenadas:	N 9964097.74 E 773809.82				
Fecha de Muestreo:	06-nov-15				
No. Reporte Gruntec:	1511082-S006				

Parámetros Generales en Suelos:					
Humedad % ^(1,3)	26.1	N/A	N/A	N/A	ASTM-4959-07 / MM-S-02

Metales en peso seco:					
Cadmio mg/kg ^(1,3)	<0.1	<1	<2	<10	EPA 6020 A / MM- AG/S-39
Niquel mg/kg ^(1,3)	7	<40	<50	<100	EPA 6020 A / MM- AG/S-39
Plomo mg/kg ^(1,3)	7.2	<80	<100	<500	EPA 6020 A / MM- AG/S-39

Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en peso seco:					
Benzo(a)pireno mg/kg ^(1,3)	<0.1	<1	<2	<5	EPA 8270 D / MM- S-22
Benzo(b)fluoranteno mg/kg ^(1,3)	<0.1	<1	<2	<5	EPA 8270 D / MM- S-22
Benzo(g,h,i)perileno mg/kg ^(1,3)	<0.1	<1	<2	<5	EPA 8270 D / MM- S-22
Benzo(k)fluoranteno mg/kg ^(1,3)	<0.1	<1	<2	<5	EPA 8270 D / MM- S-22
Fluoranteno mg/kg ^(1,3)	<0.1	<1	<2	<5	EPA 8270 D / MM- S-22
Indeno(1,2,3 c,d) pireno mg/kg ^(1,3)	<0.1	<1	<2	<5	EPA 8270 D / MM- S-22

Parámetros Orgánicos en peso seco:					
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,3)	17326	<1000	<2500	<4000	EPA 8015 D / MM- S-23

Registros y Acreditaciones:

⁽¹⁾ Acreditación No. OAE LE 2C 05-008

⁽²⁾ Registro SA / MDMQ No. LEA-R-005

Los ensayos marcados con (*) no están dentro del alcance de acreditación del SAE
INCERTIDUMBRE (U):

Metales en sólidos = 0.30; HAP Suelo = 0.30; TPH suelo = 0.30; Humedad = 0.05

Cálculo: C +/- UxC en donde: C=valor medido; U= incertidumbre.

Ing. Isabel Estrella

Gerente de Operaciones

Nota 1: Estos análisis, opiniones y/o interpretaciones están basados en el material e información provistos por el cliente para quien se ha realizado este reporte en forma exclusiva y confidencial.

Nota 2: La toma de muestras fue realizada por el personal técnico de Gruntec Cia. Ltda.

Nota 3: El cliente puede solicitar la fecha de análisis de los parámetros en caso de requerirlo.

Página 1 de 1

REPORTE DE ANÁLISIS

Cliente: EP Petroecuador
Alpallana E8-86 y Av. 6 de Diciembre
Telf: 2563-060

Atn: Ing. Ana Villarreal

Proyecto: Análisis de Suelo

Muestra Recibida: 07-nov-15

Tipo de Muestra: 1 Muestra de Suelo

Análisis Completado: 16-nov-15

Número reporte Grüntec: 1511082-S007

Rotulación Muestra:	EXPERIMENTO 2	Límite Máximo Permissible Tabla 6 - Ecosistemas Sensibles RAOHE D.E. 1215	Límite Máximo Permissible Tabla 6 - Uso Agrícola RAOHE D.E. 1215	Límite Máximo Permissible Tabla 6 - Uso Industrial RAOHE D.E. 1215	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Coordenadas:	N 9964098.05 E 773808.56				
Fecha de Muestreo:	06-nov-15				
No. Reporte Grüntec:	1511082-S007				

Parámetros Generales en Suelos:					
Humedad %^(1,3)	25.7	N/A	N/A	N/A	ASTM-4959-07 / MM-S-02

Metales en peso seco:					
Cadmio mg/kg^(1,3)	<0.1	<1	<2	<10	EPA 6020 A / MM-AG/S-39
Níquel mg/kg^(1,3)	7	<40	<50	<100	EPA 6020 A / MM-AG/S-39
Plomo mg/kg^(1,3)	5.6	<80	<100	<500	EPA 6020 A / MM-AG/S-39

Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en peso seco:					
Benzo(a)pireno mg/kg^(1,3)	<0.1	<1	<2	<5	EPA 8270 D / MM-S-22
Benzo(b)fluoranteno mg/kg^(1,3)	<0.1	<1	<2	<5	EPA 8270 D / MM-S-22
Benzo(g,h,i)perileno mg/kg^(1,3)	<0.1	<1	<2	<5	EPA 8270 D / MM-S-22
Benzo(k)fluoranteno mg/kg^(1,3)	<0.1	<1	<2	<5	EPA 8270 D / MM-S-22
Fluoranteno mg/kg^(1,3)	<0.1	<1	<2	<5	EPA 8270 D / MM-S-22
Indeno(1,2,3 c,d) pireno mg/kg^(1,3)	<0.1	<1	<2	<5	EPA 8270 D / MM-S-22

Parámetros Orgánicos en peso seco:					
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg^(1,3)	35847	<1000	<2500	<4000	EPA 8015 D / MM-S-23

Registros y Acreditaciones:

⁽¹⁾ Acreditación No. OAE LE 2C 05-008

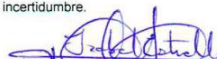
⁽²⁾ Registro SA / MDMQ No. LEA-R-005

Los ensayos marcados con (*) no están dentro del alcance de acreditación del SAE

INCERTIDUMBRE (U):

Metales en sólidos = 0.30; HAP Suelo = 0.30; TPH suelo = 0.30; Humedad = 0.05

Cálculo: C +/- UxC en donde: C=valor medido; U= incertidumbre.


Ing. Isabel Estrella

Gerente de Operaciones

Nota 1: Estos análisis, opiniones y/o interpretaciones están basados en el material e información provistos por el cliente para quien se ha realizado este reporte en forma exclusiva y confidencial.

Nota 2: La toma de muestras fue realizada por el personal técnico de Grüntec Cia. Ltda.

Nota 3: El cliente puede solicitar la fecha de análisis de los parámetros en caso de requerirlo.

Página 1 de 1

REPORTE DE ANÁLISIS

Ciente: EP Petroecuador

Alpallana E8-86 y Av. 6 de Diciembre
Telf: 2563-060

Atn: Ing. Ana Villarroel

Proyecto: Análisis de Suelo

Muestra Recibida: 07-nov-15

Tipo de Muestra: 1 Muestra de Suelo

Análisis Completado: 16-nov-15

Número reporte Gruentec: 1511082-S008

Rotulación Muestra:	EXPERIMENTO 3	Limite Máximo Permisible Tabla 6 - Ecosistemas Sensibles RAOHE D.E. 1215	Limite Máximo Permisible Tabla 6 - Uso Agrícola RAOHE D.E. 1215	Limite Máximo Permisible Tabla 6 - Uso Industrial RAOHE D.E. 1215	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Coordenadas:	N 9964098.14 E 773807.32				
Fecha de Muestreo:	06-nov-15				
No. Reporte Grúntec:	1511082-S008				

Parámetros Generales en Suelos:					
Humedad % ^(1,3)	27.0	N/A	N/A	N/A	ASTM-4959-07 / MM-S-02

Metales en peso seco:					
Cadmio mg/kg ^(1,3)	<0.1	<1	<2	<10	EPA 6020 A / MM- AG/S-39
Níquel mg/kg ^(1,3)	7	<40	<50	<100	EPA 6020 A / MM- AG/S-39
Plomo mg/kg ^(1,3)	5.4	<80	<100	<500	EPA 6020 A / MM- AG/S-39

Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en peso seco:					
Benzo(a)pireno mg/kg ^(1,3)	<0.1	<1	<2	<5	EPA 8270 D / MM- S-22
Benzo(b)fluoranteno mg/kg ^(1,3)	<0.1	<1	<2	<5	EPA 8270 D / MM- S-22
Benzo(g,h,i)perileno mg/kg ^(1,3)	<0.1	<1	<2	<5	EPA 8270 D / MM- S-22
Benzo(k)fluoranteno mg/kg ^(1,3)	<0.1	<1	<2	<5	EPA 8270 D / MM- S-22
Fluoranteno mg/kg ^(1,3)	<0.1	<1	<2	<5	EPA 8270 D / MM- S-22
Indeno(1,2,3 c,d) pireno mg/kg ^(1,3)	<0.1	<1	<2	<5	EPA 8270 D / MM- S-22

Parámetros Orgánicos en peso seco:					
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,3)	26095	<1000	<2500	<4000	EPA 8015 D / MM- S-23

Registros y Acreditaciones:

⁽¹⁾ Acreditación No. OAE LE 2C 05-008

⁽²⁾ Registro SA / MDMQ No. LEA-R-005

Los ensayos marcados con (*) no están dentro del alcance de acreditación del SAE

INCERTIDUMBRE (U):

Metales en sólidos = 0.30; HAP Suelo = 0.30; TPH suelo = 0.30; Humedad = 0.05

Cálculo: C +/- UxC en donde: C=valor medido; U= incertidumbre.



Ing. Isabel Estrella

Gerente de Operaciones

Nota 1: Estos análisis, opiniones y/o interpretaciones están basados en el material e información provistos

por el cliente para quien se ha realizado este reporte en forma exclusiva y confidencial.

Nota 2: La toma de muestras fue realizada por el personal técnico de Gruentec Cía. Ltda.

Nota 3: El cliente puede solicitar la fecha de análisis de los parámetros en caso de requerirlo.

Página 1 de 1

REPORTE DE ANÁLISIS



Cliente: EP Petroecuador
Alpallana E8-86 y Av. 6 de Diciembre
Telf: 2563-060

Atn: Ing. Carlos Chávez

Proyecto: Análisis de Suelos Terminal El Beaterio

Muestra Recibida: 01-mar-16

Tipo de Muestra: 1 Muestra de Suelo

Análisis Completado: en proceso

Número reporte Grüntec: 1603001-S001

Informe parcial

Rotulación Muestra:	EXPERIMENTO 1	Límite Máximo Permisible Tabla 6 - Ecosistemas Sensibles RAOHE D.E. 1215	Límite Máximo Permisible Tabla 5 - Uso Agrícola RAOHE D.E. 1215	Límite Máximo Permisible Tabla 5 - Uso Industrial RAOHE D.E. 1215	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Coordenadas:	N 9964097.74 E 773809.82				
Fecha de Muestreo:	29-feb-16				
No. Reporte Grüntec:	1603001-S001				

Parámetros Generales en Suelos:					
Humedad % ^(1,3)	21.3	N/A	N/A	N/A	ASTM-4959-07 / MM-S-02
Parámetros Orgánicos en peso seco:					
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,3)	3206	<1000	<2500	<4000	EPA 8015 D / MM- S-23
Nitrógeno Total Kjeldahl mg/kg ⁽³⁾	670	N/A	N/A	N/A	HACH 803B / MM- S-35
Metales en peso seco:					
Fósforo asimilable mg/kg *	9.2	N/A	N/A	N/A	Mehlich 3
Parámetros subcontratados [§]:					
Carbono Orgánico Total (Suelos) mg/Kg *	En Proceso	N/A	N/A	N/A	LECO Combustion CAM SOP-00468

Registros y Acreditaciones:

⁽¹⁾ Acreditación No. OAE LE 2C 05-008

⁽²⁾ Registro SA / MDMQ No. LEA-R-005

Los ensayos marcados con (*) no están dentro del alcance de acreditación del OAE

N/A - No Aplica

^(§) Parámetros realizados en laboratorios especializados. Grüntec se responsabiliza por los resultados emitidos.

INCERTIDUMBRE (U):

Metales en sólidos = 0.30; TPH suelo = 0.30; Nitrógeno Total Kjeldahl = 0.28;

Cálculo: C +/- UxC en donde: C=valor medido; U= incertidumbre.



Ing. Isabel Estrella

Gerente de Operaciones

Nota 1: Estos análisis, opiniones y/o interpretaciones están basados en el material e información provistos por el cliente para quien se ha realizado este reporte en forma exclusiva y confidencial.

Nota 2: La toma de muestras fue realizada por el personal técnico de Grüntec Cía. Ltda.

Nota 3: El cliente puede solicitar la fecha de análisis de los parámetros en caso de requerirlo.

REPORTE DE ANÁLISIS



Cliente: EP Petroecuador
Alpallana E8-86 y Av. 6 de Diciembre
Telf: 2583-060

Atn: Ing. Carlos Chávez

Proyecto: Análisis de Suelos Terminal El Beaterio

Muestra Recibida: 01-mar-16

Tipo de Muestra: 1 Muestra de Suelo

Análisis Completado: en proceso

Número reporte Gruentec: 1603001-S002

Rotulación Muestra:	EXPERIMENTO 2	Límite Máximo Permisible Tabla 6 - Ecosistemas Sensibles RAOHE D.E. 1215	Límite Máximo Permisible Tabla 6 - Uso Agrícola RAOHE D.E. 1215	Límite Máximo Permisible Tabla 6 - Uso Industrial RAOHE D.E. 1215	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Coordenadas:	N 9964098.05 E 773808.56				
Fecha de Muestreo:	29-feb-16				
No. Reporte Gruentec:	1603001-S002				

Parámetros Generales en Suelos:					
Humedad % ^(1,3)	23.0	N/A	N/A	N/A	ASTM-4959-07 / MM-S-02
Parámetros Orgánicos en peso seco:					
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,3)	7183	<1000	<2500	<4000	EPA 8015 D / MM- S-23
Nitrógeno Total Kjeldahl mg/kg ⁽³⁾	1178	N/A	N/A	N/A	HACH 8038 / MM- S-35
Metales en peso seco:					
Fósforo asimilable mg/kg [*]	19	N/A	N/A	N/A	Mehlich 3
Parámetros subcontratados[§]:					
Carbono Orgánico Total (Suelos) mg/Kg [*]	En Proceso	N/A	N/A	N/A	LECO Combustion CAM SOP-00468

Registros y Acreditaciones:

⁽¹⁾ Acreditación No. OAE LE 2C 05-008

⁽³⁾ Registro SA / MDMQ No. LEA-R-005

Los ensayos marcados con (*) no están dentro del alcance de acreditación del OAE

N/A - No Aplica

^(§) Parámetros realizados en laboratorios especializados. Gruentec se responsabiliza por los resultados emitidos.

INCERTIDUMBRE (U):

Metales en sólidos = 0.30; TPH suelo = 0.30; Nitrógeno Total Kjeldahl = 0.28;

Cálculo: C +/- UxC en donde: C=valor medido; U= incertidumbre.

Ing. Isabel Estrella

Gerente de Operaciones

Nota 1: Estos análisis, opiniones y/o interpretaciones están basados en el material e información provistos por el cliente para quien se ha realizado este reporte en forma exclusiva y confidencial.

Nota 2: La toma de muestras fue realizada por el personal técnico de Gruentec Cia. Ltda.

Nota 3: El cliente puede solicitar la fecha de análisis de los parámetros en caso de requerirlo.

REPORTE DE ANÁLISIS



Cliente: EP Petroecuador
Alpallana E8-86 y Av. 6 de Diciembre
Tel: 2563-060

Atn: Ing. Carlos Chávez

Proyecto: Análisis de Suelos Terminal El Beaterio

Muestra Recibida: 01-mar-16

Tipo de Muestra: 1 Muestra de Suelo

Análisis Completado: en proceso

Número reporte Gruntec: 1603001-S005

Informe parcial

Rotulación Muestra:	EXPERIMENTO 3	Límite Máximo Permisible Tabla 6 - Ecosistemas Sensibles RAOHE D.E. 1215	Límite Máximo Permisible Tabla 6 - Uso Agrícola RAOHE D.E. 1215	Límite Máximo Permisible Tabla 6 - Uso Industrial RAOHE D.E. 1215	Método Adaptado de Referencia / Método Interno
Coordenadas:	N 9964098.14 E 773807.32				
Fecha de Muestreo:	29-feb-16				
No. Reporte Gruntec:	1603001-S005				

Parámetros Generales en Suelos:					
Humedad % ^(1,3)	23.3	N/A	N/A	N/A	ASTM-4959-07 / MM-S-02

Parámetros Orgánicos en peso seco:					
Hidrocarburos Totales de petróleo (C8-C40) mg/kg ^(1,3)	6350	<1000	<2500	<4000	EPA 8015 D / MM- S-23

Registros y Acreditaciones:

⁽¹⁾ Acreditación No. OAE LE 2C 05-008

⁽³⁾ Registro SA / MDMQ No. LEA-R-005

Los ensayos marcados con (*) no están dentro del alcance de acreditación del SAE

INCERTIDUMBRE (U):

TPH suelo = 0.30; Humedad = 0.05

Cálculo: C +/- UxC en donde: C=valor medido; U= incertidumbre.

Ing. Isabel Estrella

Gerente de Operaciones

Nota 1: Estos análisis, opiniones y/o interpretaciones están basados en el material e información provistos por el cliente para quien se ha realizado este reporte en forma exclusiva y confidencial.

Nota 2: La toma de muestras fue realizada por el personal técnico de Gruntec Cia. Ltda.

Nota 3: El cliente puede solicitar la fecha de análisis de los parámetros en caso de requerirlo.

ANEXO III

Control de pH y temperatura semanal

FIBRA DE PALMA						
Semana	pH	Temperatura	pH	Temperatura	pH	Temperatura
	Biopila 1		Biopila 2		Biopila 3	
1	5	16,5	5,1	15,8	5	16
2	5	16,5	5,1	16	5	16,27
3	5,2	16,8	5,4	16,33	5,2	16,5
4	5,4	16,5	5,5	16,7	5,5	16,5
5	5,5	17	5,5	16,7	5,7	16,77
6	5,5	17	5,7	17	6	17
7	5,6	17,5	5,8	16,5	6	17,27
8	5,6	18	5,8	17,1	6,2	17,5
9	5,8	18	6	17,33	6,2	17,5
10	5,8	18	6	17,33	6,3	17,5
11	5,7	17,5	6	17,33	6,1	17,23
12	5,5	17,33	6	17	6	17
13	5,3	17	6	16,8	5,8	17
14	5,2	16,8	5,8	16,7	5,7	16,8
15	5	16,7	5,8	16,7	5,5	16
16	5	16,5	5,5	16,5	5,5	16
CASCARA DE ARROZ						
Semana	pH	Temperatura	pH	Temperatura	pH	Temperatura
	Biopila 1		Biopila 2		Biopila 3	
1	5	18	4,5	18	5	17
2	5	18,33	5	18,3	5	17
3	5,5	18,66	5,3	18,5	5,3	17,33
4	5,3	18,66	5,3	18,5	5,3	17,66
5	5,5	19	5,3	18,5	5,3	17,83
6	5,5	19,1	5,5	18,53	5,8	18,03
7	5,7	19	5,8	18,5	5,8	18
8	6	19,33	6	18,8	5,9	18
9	6	19,5	6	19	6	18,33
10	6,2	19,5	6,1	19	6	18,5
11	6,2	19,33	6,1	19	6	18,5
12	6,4	18,77	6	18,5	5,8	18,77
13	6,2	18,5	6	18,5	5,8	18,5
14	6	18,33	5,8	18	5,5	18
15	6	18	5,5	18	5,3	17,5
16	5,8	18	5,5	18	5	17,5

ASERRÍN						
Semana	pH	Temperatura	pH	Temperatura	pH	Temperatura
	Biopila 1		Biopila 2		Biopila 3	
1	5	17,66	5,3	16	5	16,9
2	5,3	17,72	5,5	17,16	5,5	17
3	5,3	18	5,5	17,68	5,5	17
4	5,3	18	5,5	17,88	5,5	17,05
5	5,5	18,05	5,5	18,27	5,8	17,3
6	5,5	18,2	5,7	18,3	5,8	17,55
7	5,7	18,5	5,8	18,5	6	17,5
8	5,7	18,5	6	18,5	6	17,55
9	6	18,8	6	18,8	6	17,77
10	6,1	18,5	6	18,5	5,9	17,5
11	6	18,5	5,7	18,33	5,8	17,5
12	6	18,3	5,5	18	5,5	17
13	5,5	17,77	5,33	18	5,5	17
14	5,5	17,33	5	17,77	5	17,5
15	5	17	5	17,5	5	17
16	5,1	17	5	17	5	17

ANEXO IV

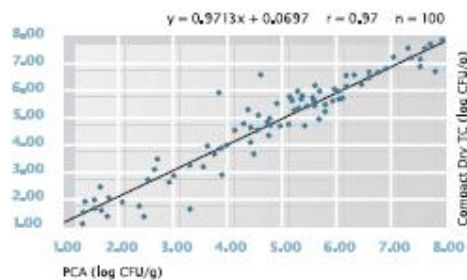
Placas CompactDry



Compact Dry TC (índice de germinación total) Las bacterias crecen a modo de colonias rojas

Compact Dry TC es un medio que contiene agar de cultivo estándar y que sirve para comprobar el índice de germinación total. Debido a la sal de tetrazol, indicador redox, las colonias de bacterias presentan una coloración roja, pudiéndose con ello distinguir muy fácilmente de posibles restos de alimentos.

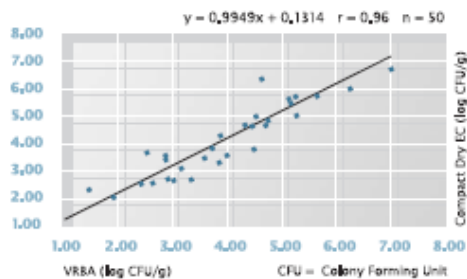
El gráfico de abajo muestra la buena correlación que existe entre los métodos convencionales PCA (Plate-Count-Agar) y Compact Dry TC en 100 muestras alimentarias. Las placas Compact Dry TC cuentan con la certificación AOAC.



Compact Dry EC (*e.coli* y coliformes) Los coliformes crecen como colonias rojas, *e.coli* como azules

Con Compact Dry EC se pueden detectar y distinguir coliformes y *e.coli*. El medio contiene dos sustratos enzimáticos cromógenos: Magenta-GAL y X-Gluc. De esta manera los coliformes denotan una coloración roja, mientras que la de los *e.coli* es azul. Sumando las colonias rojas y azules resulta la cifra total del grupo coliforme.

El gráfico muestra la buena correlación que existe entre los métodos convencionales PCA (Plate-Count-Agar) y Compact Dry TC en 100 muestras alimentarias. Las placas Compact Dry EC cuentan con la certificación AOAC.





Compact Dry CF

Compact Dry YM

Compact Dry Menue

Compact Dry CF para coliformes

Compact Dry CF sirve para la detección rápida de coliformes: gracias al sustrato cromógeno X-Gal forman características colonias azules/verde-azuladas. El crecimiento de otros tipos de bacterias se inhibe considerablemente. Las bacterias que pudieran crecer aparecerían sin coloración alguna.

Compact Dry YM para levadura y mohos

Sobre los sustratos cromógenos de las placas Compact Dry YM, las levaduras y los mohos manifiestan diferentes reacciones cromáticas y son por tanto sumamente fáciles de distinguir: el sustrato cromógeno X-Phos provoca una coloración azul en prácticamente todas las levaduras. El crecimiento bacteriano se inhibe mediante antibióticos. Gracias a la cavidad de las placas Compact Dry los mohos desarrollan su forma tridimensional característica en distintos colores.

Producto	Tiempo de incubación	Temperatura de incubación
Compact Dry TC para Índice de germinación total	48 horas	35 ± 2°C (20 – 42°C)
Compact Dry EC para <i>E. coli</i> y coliformes	24 horas	35 ± 2°C
Compact Dry CF para coliformes	18 – 24 horas	35 ± 2°C 40 – 42°C para coliformes fecales
Compact Dry YM para levaduras y mohos	3 – 7 días	25 – 30°C
Compact Dry ETB para enterobacteriaceae	24 – 48 horas	35 – 37°C
Compact Dry SA para <i>staphylococcus aureus</i>	48 horas	35 – 37°C
Compact Dry VP para <i>vibrio parahaemolyticus</i>	18 – 24 horas	35 – 37°C

ANEXO V

Resultados análisis microbiológicos

Resultados de siembras preliminares en placas para TC, EC y YM mensuales.

Preliminar TC Día 0			
Diluciones	Tratamientos		
	Fibra de palma	Cascara de arroz	Aserrín
1,0E-01	260	MNPC	MNPC
1,0E-02	63	146	71
1,0E-03	140	0	39
1,0E-04	0	0	0
1,0E-05	0	0	0
1,0E-06	0	0	0

Preliminar YM Día 0			
Recuento por Diluciones (30 - 300)			
	Fibra de palma	Cascara de arroz	Aserrín
1,0E-01	456	MNPC	76x4
1,0E-02	47	62	10
1,0E-03	15	4	22
1,0E-04	2	MNPC	3
1,0E-05	3	0	0
1,0E-06	0	1	65
Preliminar EC Día 0			
Recuento por Diluciones (30 - 300)			
	Fibra de palma	Cascara de arroz	Aserrín
1,0E-01	392	380	MNPC
1,0E-02	98	144	77
1,0E-03	11	4	8
1,0E-04	0	0	2
1,0E-05	0	0	1
1,0E-06	0	0	0

Resultados de siembras mensuales en placas para TC, EC y YM

TIEMPO	
1	Inicio
2	mes 1
3	mes 2
4	fin de tratamiento

SIEMBRA EN PLACAS PARA YM Y EC (UFC/g)					
SUSTRATO	TIEMPO	BIOPILA	MUESTRA	YM	EC
FIBRA DE PALMA	1	1	1	1,90E+04	5,52E+03
	1	1	2	2,46E+04	4,75E+04
	4	1	1	1,78E+04	2,80E+03
	4	1	2	7,28E+04	5,10E+03
CASCARA DE ARROZ	1	1	1	1,28E+04	7,01E+04
	1	1	2	8,45E+03	5,59E+04
	4	1	1	2,10E+03	3,30E+04
	4	1	2	1,40E+03	2,40E+04
ASERRÍN	1	1	1	2,27E+04	2,70E+03
	1	1	2	2,56E+04	0,00E+00
	4	1	1	1,77E+04	5,80E+03
	4	1	2	1,13E+04	0,00E+00

SIEMBRA EN PLACAS TC				
SUSTRATO	TIEMPO	BIOPILA	MUESTRA	UFC/g
FIBRA DE PALMA	1	1	1	4,70E+04
	1	1	2	1,78E+04
	1	2	1	9,56E+04
	1	2	2	4,35E+04
	1	3	1	2,40E+04
	1	3	2	9,10E+03
	2	1	1	5,73E+04
	2	1	2	6,28E+04
	2	2	1	3,65E+04
	2	2	2	3,20E+03
	2	3	1	5,23E+04
	2	3	2	1,18E+04
	3	1	1	1,31E+04
	3	1	2	1,92E+04
	3	2	1	7,11E+04
	3	2	2	1,05E+04
	3	3	1	1,41E+04
	3	3	2	1,10E+04
	4	1	1	2,00E+04
	4	1	2	2,36E+04
4	2	1	5,94E+04	
4	2	2	7,93E+04	
4	3	1	2,13E+04	
4	3	2	4,60E+03	

CASCARA DE ARROZ	1	1	1	7,90E+04
	1	1	2	6,40E+04
	1	2	1	5,70E+04
	1	2	2	1,11E+04
	1	3	1	7,20E+03
	1	3	2	7,90E+04
	2	1	1	7,17E+04
	2	1	2	1,90E+04
	2	2	1	6,20E+04
	2	2	2	4,56E+04
	2	3	1	5,49E+04
	2	3	2	4,89E+04
	3	1	1	4,00E+04
	3	1	2	4,86E+04
	3	2	1	3,87E+04
	3	2	2	2,13E+04
	3	3	1	2,46E+04
	3	3	2	1,19E+04
	4	1	1	4,68E+04
	4	1	2	8,04E+04
	4	2	1	5,79E+04
	4	2	2	7,47E+04
	4	3	1	2,13E+04
	4	3	2	1,04E+04
ASERRÍN	1	1	1	9,06E+04
	1	1	2	2,20E+04
	1	2	1	5,19E+04
	1	2	2	1,08E+04
	1	3	1	5,20E+04
	1	3	2	1,58E+04
	2	1	1	2,85E+04
	2	1	2	2,20E+04
	2	2	1	9,00E+04
	2	2	2	3,04E+04
	2	3	1	5,15E+04
	2	3	2	4,16E+04
	3	1	1	3,02E+04
	3	1	2	4,72E+04
	3	2	1	2,30E+04
	3	2	2	2,23E+04
	3	3	1	6,30E+03

	3	3	2	3,40E+04
	4	1	1	1,10E+04
	4	1	2	3,25E+04
	4	2	1	5,30E+04
	4	2	2	2,64E+04
	4	3	1	1,04E+04
	4	3	2	3,15E+03

Fotografías de placas con siembra

Placa con crecimiento MNPC



Placas sin crecimiento microbiano

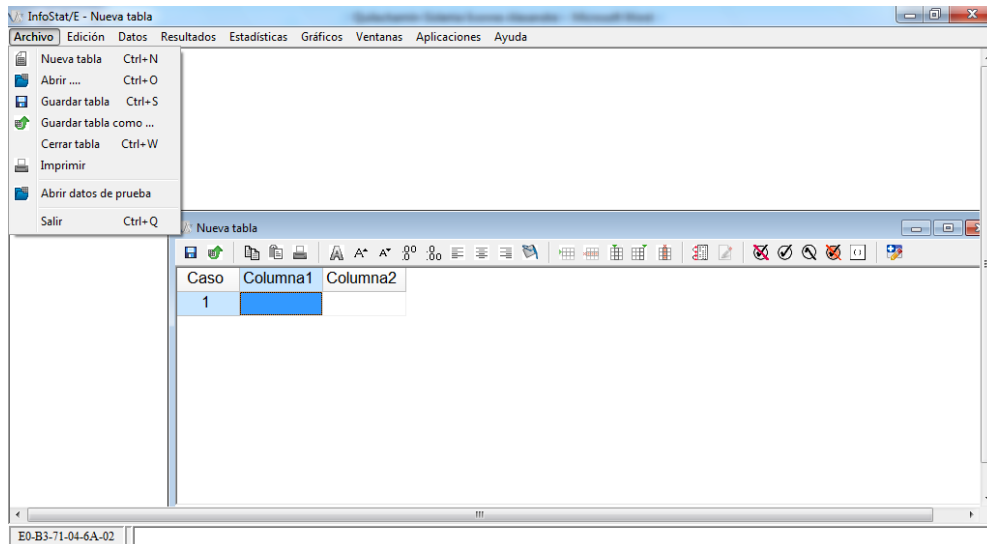




ANEXO VI

Indicaciones de uso para programa estadístico InfoStat

1. Se puede descargar el programa gratuitamente desde la página web oficial de InfoStat www.infostat.com.ar
2. Los datos que se desea analizar deben constar en una tabla de Excel, si es necesario pasar los datos a logaritmos en base 10.
3. Una vez que se inicia el programa, en la opción Archivo – Nueva Tabla de InfoStat se copia la tabla de Excel (Ctrl-C y Ctrl-V), con un click en cada columna se coloca los nombres.

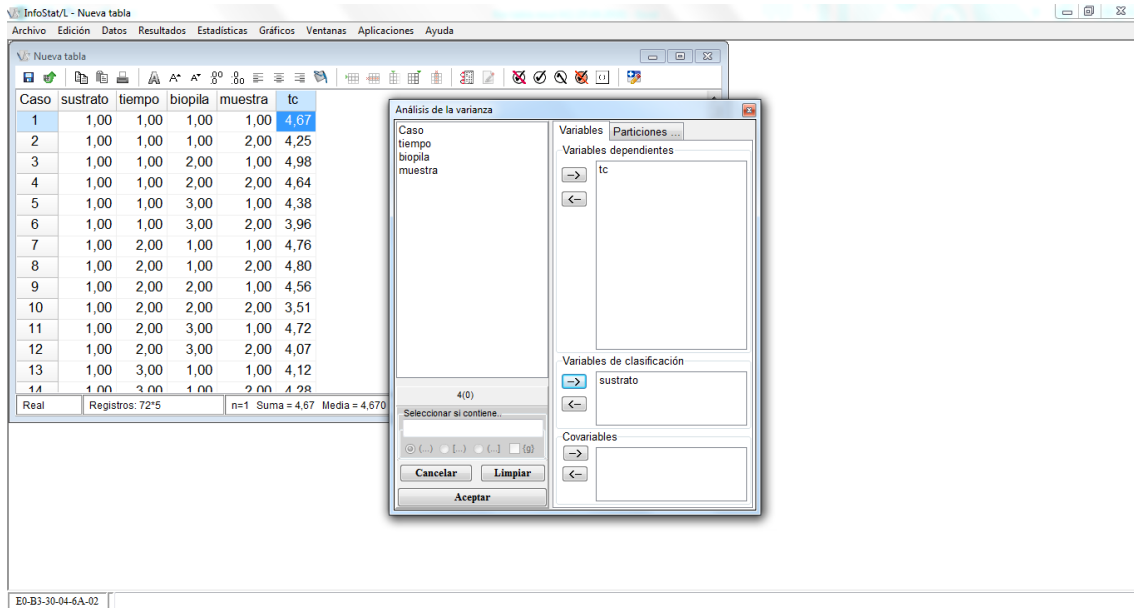


The screenshot shows the 'InfoStat/L - Nueva tabla' window with a populated table. The table has six columns: 'Caso', 'SUSTRATO', 'TIEMPO', 'BIOPILA', 'MUESTRA', and 'TC'. The data is as follows:

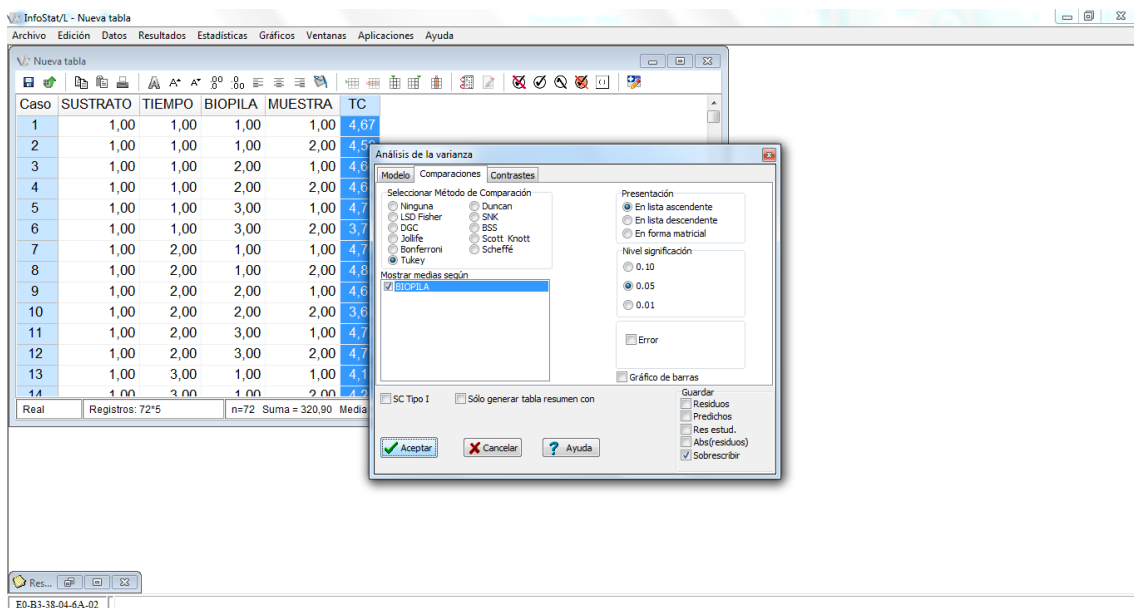
Caso	SUSTRATO	TIEMPO	BIOPILA	MUESTRA	TC
1	1	1	1	1	4,67
2	1	1	1	2	4,25
3	1	1	2	1	4,98
4	1	1	2	2	4,64
5	1	1	3	1	4,38
6	1	1	3	2	3,96
7	1	2	1	1	4,76
8	1	2	1	2	4,80
9	1	2	2	1	4,58
10	1	2	2	2	3,51
11	1	2	3	1	4,72
12	1	2	3	2	4,07
13	1	3	1	1	4,12
14	1	3	1	2	4,28
15	1	3	2	1	4,85
16	1	3	2	2	4,02
17	1	3	3	1	4,15
18	1	3	3	2	4,04
19	1	4	1	1	4,30
20	1	4	1	2	4,37
21	1	4	2	1	4,77
22	1	4	2	2	4,99

At the bottom of the window, it shows 'Categoría' and 'Registros: 73'5 n = 72'.

4. En la opción Estadísticas – Análisis de Varianza. Las Variables Dependientes serán aquellas correspondientes a los análisis microbiológicos realizados y las Variables de Clasificación serán los datos que vamos a analizar ya sea sustratos, tiempo o biopilas, solo se realizara un análisis a la vez.



5. Click en Aceptar, se abrirá una ventana en la cual seleccionaremos la opción Turkey.



- Click en Aceptar. Aparecerá una tabla, en esta tabla se observa un valor p , cuando ese p valor es menor a 0.05 significa que hay diferencias estadísticas significativas, entre los valores que se está evaluando, en este caso queremos ver si hay diferencias entre sustratos, entonces vemos que no existen diferencias estadísticas significativas ya que el valor es 0.1646 que es mayor a 0.05 y se puede observar que en la última tabla de esta pantalla aparecen ordenadas las medias de los sustratos, como no hay diferencias todas pertenecen a la categoría A.

InfoStat/L - Nueva tabla

Archivo Edición Datos Resultados Estadísticas Gráficos Ventanas Aplicaciones Ayuda

Nueva tabla

Caso

1

2 **Análisis de la varianza**

3

Variable	N	R ²	R ² Ajustado	CV
sc	72	0,05	0,02	7,97

4

5 **Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,47	2	0,23	1,85	0,1648
sustrato	0,47	2	0,23	1,85	0,1648
Error	8,70	69	0,13		
Total	9,16	71			

6

7

8

9

10 **Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,24549**

11 Error: 0,1260 gl: 69

sustrato	Medias	n	E.E.
1,00	4,38	24	0,07 A
3,00	4,41	24	0,07 A
2,00	4,56	24	0,07 A

12

13

14 *Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)*

Real

ANAVA

ANEXO VII

Certificado de acreditación del Laboratorio de Ensayos Gruentec.



SERVICIO DE ACREDITACIÓN ECUATORIANO - SAE

ALCANCE DE ACREDITACIÓN

Laboratorio GRUENTEC Cía. Ltda.

San Juan de Cumbaya, Eloy Alfaro S7-157 y Belisario
Quevedo, Cumbaya
• Teléfono: 6014371 • E-mail: info@gruentec.com
Quito - Ecuador

**Sector
Ensayos**

Certificado de Acreditación N°: **OAE LE 2C 05-008**
Actualización N°: **17**
Resolución N°: **SAE DE 16-242**
Vigencia a partir de: **2016-04-29**
Acreditación Inicial: **2005-12-20**
Responsable(s) Técnico(s): **Quím. Hilda Lugo**

Está acreditado por el Servicio de Acreditación Ecuatoriano (SAE) de acuerdo con los requerimientos establecidos en la Norma NTE INEN ISO/IEC 17025:2005 "Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración", los Criterios Generales de Acreditación para laboratorios de ensayo y calibración (CR GA01), Guías y Políticas del SAE en su edición vigente, para las siguientes actividades:

CATEGORÍA: 0. Ensayos en el laboratorio permanente.

CAMPO DE ENSAYO: Análisis Físico - Químico en Aguas

PRODUCTO O MATERIAL A ENSAYAR	ENSAYO, TÉCNICA Y RANGOS	MÉTODO DE ENSAYO
	pH, Electrometría, 2 - 12 unidades de pH	MM-AG-01 Método de referencia: Standard Methods, Ed. 22, 2012 4500H
	Conductividad, Electrometría, 1 - 112 000 $\mu\text{S/cm}$	MM-AG-02 Método de referencia: U.S.EPA SW 846 9050A, 1996 Standard Methods 2510 Ed. 22, 2012