

**REMEDIACION DE MUESTRAS DE SUELO DEL ZODME DEL CAMPO PETROLERO LA  
HOCHA MEDIANTE LA DEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS TOTALES DEL PETROLEO  
POR INOCULACIÓN CON LAS PSUEDOMONAS STUTZERI, PUTIDA Y FLUORESCENS**

**PRESENTADO POR**

**LADY MIYARLAY RODRIGUEZ ESPINOSA**

**PROYECTO DE GRADO PARA OPTAR AL TITULO DE INGENIERA AMBIENTAL**

**UNIVERSIDAD - ESCUELA COLOBIANA DE CARRERAS INDUSTRIALES**

**FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

**BOGOTÁ D.C**

**NOVIEMBRE**

**BIOREMEDIACION DE MUESTRAS DE SUELO DEL ZODME DEL CAMPO PETROLERO LA  
HOCHA MEDIANTE APLICACIÓN DE LAS PSUEDOMONAS STUTZERI, PUTIDA Y  
FLUORESCENS**

**PRESENTADO POR**

**LADY MIYARLAY RODRIGUEZ ESPINOSA**

**DIRECTOR**

**DOCENTE RAFAEL VALERO**

**UNIVERSIDAD - ESCUELA COLOBIANA DE CARRERAS INDUSTRIALES**

**FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

**BOGOTÁ D.C**

**NOVIEMBRE**

## TABLA DE CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN-----	1
2.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA-----	3
3.	PREGUNTA PROBLEMA-----	3
4.	JUSTIFICACIÓN-----	4
5.	OBJETIVO GENERAL -----	5
5.1.	OBJETIVOS ESPECIFICOS -----	5
6.	MARCO DE REFERENCIA-----	6
6.1.	MARCO TEORICO -----	6
6.1.1.	ESTRUCTURA QUÍMICA Y CLASIFICACIÓN DE LOS HIDROCARBUROS-----	6
6.1.1.1.	Propiedades de los Hidrocarburos -----	6
6.1.1.2.	TPH'S (Hidrocarburos petrogénicos totales):-----	7
6.1.2.	SUELO -----	7
6.1.2.1.	Los Órdenes en la Taxonomía de Suelos:-----	7
6.1.2.2.	Características sólidos Campo Petrolero La Hocha: -----	10
6.1.3.	REMEDIACIÓN -----	11
6.1.3.1.	Remediación Física-Química -----	11
6.1.3.1.1.	Planta de tratamiento UOC-----	11
6.1.3.1.2.	Reacción química -----	14
6.1.4.	EL GÉNERO PSEUDOMONAS-----	16
6.1.4.1.	Clasificación y Taxonomía-----	16
6.1.4.2.	Ecología de las Pseudomonas -----	17
6.1.4.3.	Biodegradación de Petróleo por Especies del Género Pseudomona: ----	17
6.1.5.	INVESTIGACIONES ACTUALES:-----	19
6.2.	MARCO CONCEPTUAL -----	20

6.2.1.	<b>BIOREMEDIACIÓN</b>	20
6.2.1.1.	<b>Técnicas de Biorremediación:</b>	21
6.2.1.2.	<b>Bioaumentación</b>	21
6.2.1.3.	<b>Bioestimulación</b>	21
6.2.1.4.	<b>Degradación Enzimática</b>	21
6.2.1.5.	<b>Fitoremediación</b>	21
6.3.	<b>PARAMETROS FISICOQUIMICOS</b>	22
6.3.1.	<b>Conductividad</b>	22
6.3.2.	<b>Temperatura</b>	22
6.3.3.	<b>Potencial de Hidrogeniones</b>	23
6.3.4.	<b>Grasas y Aceites</b>	23
6.3.5.	<b>Humedad</b>	24
6.3.6.	<b>Microorganismos</b>	24
7.	<b>TIPOS DE INVESTIGACIÓN</b>	25
8.	<b>MARCO LEGAL</b>	26
9.	<b>MARCO GEOGRAFICO</b>	28
10.	<b>DISEÑO METODOLÓGICO.</b>	29
•	<b>Muestras Analizadas:</b>	34
11.	<b>RESULTADOS</b>	34
11.1.1.	<b>ANÁLISIS CROMATOGRAFICO CRUDO LA HOCHA</b>	35
11.1.2.	<b>Potencial de Hidrogeniones (pH)</b>	35
11.1.3.	<b>Grasas y Aceites E Hidrocarburos Totales</b>	36
11.1.4.	<b>Metales</b>	36
11.2.	<b>EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DE LAS BACTERIAS PESUDOMONAS</b>	36
11.2.1.	<b>Hidrocarburos Petrogénicos Totales y Grasas Y Aceites:</b>	36

11.2.2. COMPARACION PERFILES CROMATOGRÁFICOS ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO -----	38
11.3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS -----	42
12. CONCLUSIONES -----	46
13. RECOMENDACIONES -----	48
BIBLIOGRAFIA -----	49

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación del petróleo de acuerdo a su gravedad API (American Petroleum Institute) _____	6
Tabla 2. Grupos principales de suelos del sistema de clasificación de suelos FAO/UNESCO, versión de 1988 y los órdenes o subórdenes del sistema USDA que con mayor probabilidad les corresponden. _____	9
Tabla 3. Composición mineralógica sólidos Campos La Hocha. _____	10
Tabla 4. Especies de Pseudomonas agrupadas según el grado de identidad de sus ARNr. Los grupos II, III, IV y V, están actualmente ubicados en nuevos géneros de alpha proteobacteria, cuyo nuevo nombre se presenta entre paréntesis. _____	16
Tabla 5. Marco Legal _____	26
Tabla 6. Producto Necesario Para Tratar Suelo Contaminado Con Hidrocarburos _____	31
Tabla 7. Metodologías de análisis _____	33
Tabla 8. Identificación de muestras analizadas. _____	34
Tabla 9. Composición SARA crudo La Hocha. (Método Nigoga ED 4,0 2000 L.C) _____	34
Tabla 10. Tabla de resultados físicos químicos y de cromatografía muestras evaluadas _____	35
Tabla 11. Comparación resultados grasas y aceites y TPH _____	36

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Difractograma de composición mineralógica sólidos de Campo La Hocha.....	10
Figura 2. Tanque de Almacenamiento de agua .....	11
Figura 3. Tanque Discovery 1 .....	11
Figura 4. Tanque Discovery 2 .....	12
Figura 5. Tornillo Sin Fin.....	13
Figura 6. Tanque Homogenizador .....	13
Figura 7. Esquema de funcionamiento de la planta UOC .....	14
Figura 8. Rutas metabólicas Pseudomonas .....	18
Figura 9. Imagen ubicación Campo la Hocha. Anticlinal La Hocha. ....	28
Figura 10. Diseño metodológico.....	29
Figura 11. Dosificación de consorcio bacteriano.....	31
Figura 12. Mesocosmos 1 inoculado.....	31
Figura 13. Mesocosmos 2 inoculado.....	32

Figura 14. Muestra control sin dosificar.....	32
Figura 15. Perfil cromatográfico Campo la Hocha .....	35
Figura 16. Comportamiento de Grasas y aceites y TPH's de las muestraevaluadas.....	37
Figura 17. Cromatograma muestra antes del tratamiento, muestra control (Número Antek 115591):.....	38
Figura 18. Cromatograma perfil alifáticos muestra antes del tratamiento, muestra control (Número Antek 115591):.....	38
Figura 19. Cromatograma después del tratamiento, Mesocosmos 1 (Número Antek 132844)	39
Figura 20. Perfil de alifáticos del mesocosmos 1, después de 28 días de inoculación. 2 (Número Antek 132844).....	39
Figura 21. . Cromatograma después del tratamiento, Mesocosmos 2 (Número Antek 132845) .....	40
Figura 22. Perfil de alifáticos del mesocosmos 2, después de 28 días de inoculación. 2 (Número Antek 132845).....	40
Figura 23. Cromatogramas superpuestos antes y después del tratamiento biológico Mesocosmos 1. (Antek: 132844) .....	41
Figura 24. Cromatogramas superpuestos antes y después del tratamiento biológico Mesocosmos 2 (Antek: 132845) .....	42
Figura 25. Fotografía ZODME Campo La Hocha.....	52
Figura 26. Planta de optimización de arenas Campo La Hocha .....	52
Figura 27. Fotografía sólidos tratados dispuestos en el ZODME .....	53

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Registro fotográfico monitoreo. ....	61
Anexo 2. Ficha técnica Consorcio Bacteriano.....	63
Anexo 3. Hoja de cálculo para dosificar producto enzimático.....	68
Anexo 4. Reportes de resultados de laboratorio.....	69

## RESUMEN

La remediación con agentes biológicos es un proceso necesario y eficaz para la recuperación de ambientes contaminados con hidrocarburos, entre las técnicas de remediación conocidas una esta es una de las que presenta excelentes resultados con bajos costos.

En el Campo La Hocha actualmente se usa una técnica físico-química (Pre-Oxidación) para el lavado de arenas contaminadas con hidrocarburo; sin embargo estas arenas que van para disposición a una zona ZODME (Zonas de Manejo y Disposición de Materiales Sobrantes de Excavación<sup>1</sup>) no cumplen totalmente con lo establecido en el protocolo de Louisiana<sup>2</sup>, por tal razón es necesario evaluar una técnica adicional de biorremediación para completar la limpieza y poder efectuar su disposición.

Para evaluar la viabilidad de aplicar esta técnica de biorremediación en el Campo la Hocha se emplearon adicional a los estudios de costos realizados por la compañía operadora de la UOP técnicas analíticas de laboratorio; con el fin de identificar el desempeño de los microorganismos seleccionados; estas técnicas analíticas seleccionadas corresponde a las incluidas en el protocolo de Louisiana 29B, del cual se resalta y comparan especialmente los resultados de TPH's (hidrocarburos totales de petróleo), ya que, con esta técnica se identifica de una manera certera la disminución de hidrocarburos totales de petróleo presentes en las muestras de arena impregnada con petróleo e inoculadas con las especies *Pseudomonas. Fluorencens*, *P. Putida* y *P. Stutzeri*.

Los resultados obtenidos son satisfactorios, teniendo en cuenta que con la inoculación de agentes biológicos remediadores en un tiempo de 28 días se logra la disminución de hidrocarburos totales de petróleo en las arenas provenientes de la producción petrolera del Campo la Hocha hasta un valor óptimo para la disposición de las mismas sin causar impactos negativos sobre el medio ambiente.

Los protocolos de muestreo y análisis se realizaron de acuerdo a metodologías internacionales (STANDARD METHODS EDITION 2012, MÉTODOS ANALÍTICOS DEL LABORATORIO DE SUELOS DEL INSTITUTO GEOGRÁFICO AGUSTÍN CODAZZI, 6a EDICIÓN, 2006 EPA 9045D, REV 4/2004 PROTOCOLO IGAC, 6ª ed/2006 ACETATO DE AMONIO 1N-pH 7,0 PROTOCOLO IGAC, 6ª ed/2006 NMX-AA-145-SCFI-2008 Y SM 5520 C NMX-AA-145-SCFI-2008 Y SM 5520 F.) validadas por el laboratorio Antek S.A.

**Palabras claves:** Remediación, *P. Fluorencens*, *P. Putida*, *P. Stutzeri*, hidrocarburos, TPH's, suelos.

---

<sup>1</sup> Para la expedición de Licencias ambientales La ANLA (Agencia Nacional de Licencias Ambientales) solicita en los TÉRMINOS DE REFERENCIA PARA LA ELABORACIÓN DEL ESTUDIO DE IMPACTO AMBIENTAL DE PROYECTOS DE PERFORACIÓN EXPLORATORIA DE HIDROCARBUROS la información sobre las áreas para la adecuación de zonas ZODME.

<sup>2</sup> El Protocolo de LOUISIANA 29B, establece los parámetros de cumplimiento para suelos tratados, EL CONTRATISTA debe garantizar que el residuo sólido tratado en el Área de Manejo Integral de Residuos cumpla con estos parámetros previo a la disposición final en el ZODME

## ABSTRACT

Bioremediation is a necessary and effective for the recovery of hydrocarbon contaminated environments process, including bioremediation techniques known one that has excellent performance and costs is the biological bioremediation; however necessary for implementation realizaz a preliminary study.

In the Field The Hocha is currently a physical chemistry for washing sand contaminated with hydrocarbon technique is used; however you are arenas ranging disposal a ZODME area (Areas Management and Disposal of Surplus Materials Excavation) do not fully comply with the provisions of Protocol Lousiana, therefore it is necessary to assess an additional technique of bioremediation to complete the cleaning and to make available.

To evaluate the feasibility of applying this technique in the field of bioremediation the Hocha additional cost studies performed by the operating company of the UOP laboratory analytical techniques were employed; order to assess the performance of the selected microorganisms; these selected analytical techniques corresponding to those included in the protocol Lousiana 29B, which is highlighted and especially comparing results TPH's (total petrogenic hydrocarbons), because with this technique is identified in an accurate way the reduction of Hydrocarbons Total Petrogenic present in samples impregnated with oil sand and inoculated with fluorencens species putida and stutzeri. the genus Pseudomonas.

The results are highly satisfactory, considering that the inoculation of remedial biological agents in a time of 28 days, the decrease in total petrogenic hydrocarbons from oil sands production Campo Hocha achieved until the optimum value for the available to them without causing negative impacts on the environment.

Sampling protocols and analysis were performed according to international methodologies (STANDARD EDITION 2012 METHODS, METHODS ANALYTICAL LABORATORY SOIL Agustín Codazzi Geographical Institute, 6th EDITION, 2006 EPA 9045D, REV 4/2004 PROTOCOL IGAC, 6th ed / 2006 ACETATE AMMONIUM-1N pH 7.0 PROTOCOL IGAC, 6th ed / 2006 NMX-AA-145-2008 and SM SCFI- C 5520 NMX-AA-145-SCFI-2008 and SM 5520 F.) validated by the laboratory Antek SA

## 1. INTRODUCCIÓN

Las acciones de descontaminación de sitios contaminados con hidrocarburo no solo deben ser instrumentos para la protección de la salud ambiental y humana si no también un instrumento importante para el desarrollo social y económico ya que aportan al cambio de zonas poco productivas a zonas seguras para la población y de ser posible productivas.

Para el sector de Hidrocarburos el Ministerio de Medio Ambiente y Desarrollo Territorial por medio de la Agencia Nacional de licencias ambientales (ANLA) otorga o niega las licencias ambientales que apliquen para la exploración, explotación, transporte y refinación de hidrocarburos; las actividades generadoras de residuos peligrosos concernientes a cualquiera de estos procesos deben igualmente contar con una licencia ambiental para la disposición final que cumpla adicional a los demás requisitos con lo estipulado en el Decreto 4741 de 2005, de tal forma que se garantice el bienestar de la salud humana y el ambiente.

El Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible bajo la RESOLUCIÓN 1552 DE 2005 (actualizada bajo resolución 188 de 2013) instauró un manual de carácter conceptual, metodológico y procedimental con el cual las autoridades ambientales competentes pueden realizar el seguimiento de los proyectos, obras y actividades que cuenten con licencia ambiental o plan de manejo ambiental. Esta Resolución contempla que las autoridades ambientales deben solicitar a los usuarios de licencias ambiental la presentación de Informes de cumplimiento Ambiental ICA, el cual tiene como objetivo que los titulares de los proyectos, obras o actividades sujetos a licenciamiento ambiental o plan de manejo ambiental informen sobre el avance, efectividad y cumplimiento tanto de los programas de manejo ambiental como de las obligaciones impuestas en la licencia.<sup>3</sup>

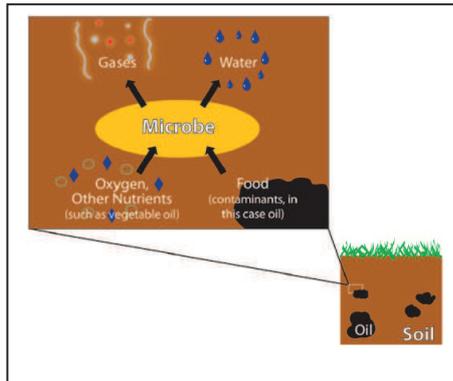
Actualmente en el Campo la Hocha, específicamente en la planta UOC se cuenta con la licencia para disposición de suelos contaminados con hidrocarburos y se presentan a la autoridad ambiental periódicamente los ICA, en los cuales se incluyen los análisis fisicoquímicos de los suelos tratados de tal forma que se garanticen los límites del decreto 4745 de 2005 y del protocolo de Louisiana 29B.

Actualmente en la planta de UOC Campo La Hocha (Tesalia – Neiva) se tiene implementado un tratamiento fisicoquímico; sin embargo este tratamiento no ha sido suficiente para la remoción de grasas y aceites hasta los límites especificados en el Protocolo de Louisiana 29B (1%), por tal motivo se hace necesario evaluar otras metodologías complementarias.

La técnica complementaría que se propone para cumplir con los objetivos del protocolo de Louisiana 29B, especialmente en su límite de grasas y aceites, es la remediación con agentes biológicos.

---

<sup>3</sup> Resolución 188 de 2013. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible



**FUENTE:** Citizen´s guide series EPA

Para evaluar la eficiencia del tratamiento agentes biológicos se toman muestras en la ZODME (Zonas de Manejo y Disposición de Materiales Sobrantes de Excavación) y se inoculan con un consorcio bacteriano compuesto por especies bacterianas del género pseudomonas; estas especies específicamente ***Fluorescens, Putida y Stutzeri***; éstas especies ampliamente investigadas son conocidas por su degradación de TPH´s (Hidrocarburos totales del petróleo) logrando así disminuir la concentración de grasas aceites con el fin de cumplir el límite establecido para este parámetro.

En la Campo la Hocha no sería viable el tratamiento biológico desde el inicio del proceso, ya que el volumen de sedimentos contaminados con hidrocarburos producidos diariamente es en promedio de 31 barriles y sería necesario contar con grandes terrenos para aplicar un tratamiento biológico, teniendo en cuenta que este duraría varios meses para degradar los hidrocarburos presentes en los sedimentos producidos; es por esto que se plantea complementar la técnica fisicoquímica con las técnicas de remediación biológicas.

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente en el Campo La Hocha se producen en promedio 31 Bbbs<sup>4</sup> / día de borras (combinación de varios compuestos agua, aceite y sólidos) las cuales están compuestas en promedio por 18% aceite, 24% agua y 58% sólidos de acuerdo a los registros de producción, lo que implica realizar un tratamiento de remoción de hidrocarburos en sólidos adecuado para su posterior disposición sin que se generen impactos negativos sobre el ambiente y la salud humana, tal como lo solicita la autoridad ambiental quien por medio de la Agencia Nacional de Licencias Ambientales regula y garantiza que los generadores de residuos peligrosos cumplan con lo establecido en decreto 4145 de 2005 y en el protocolo de Louisiana 29B.

El tratamiento físico-químico (Pre-Oxidación) que se utiliza no ha logrado obtener resultados menores a 2% de grasas y aceites aproximadamente en los sedimentos producidos; ya que la carga inicial de grasas y aceites es muy alta (18%) y se tendría que usar un segundo lavado para realizar la limpieza hasta cumplir con el límite de 1% de grasas y aceites establecido en el protocolo de Louisiana 29B. Teniendo en cuenta que este de Pre-oxidación es el segundo tratamiento utilizado (primero se usó desorción térmica) se hace necesario evaluar nuevas opciones para complementar el lavado de arenas; por tal motivo se plantea como tratamiento final y adicional agentes biológicos para la disminución de TPH's y a su vez disminuir la concentración de grasas aceites.

Con el tratamiento biológico se pretende lograr los resultados de limpieza deseados sin incurrir en grandes costos, ya que, se tiene el tratamiento físico -químico preliminar, En estos casos en los que las concentraciones de grasas y aceites son tan altas no es viable usar el tratamiento biológico desde el inicio puesto que requerirían amplios terrenos y tiempos muy prolongados.

Adicionalmente en este Campo ya se ha tratado de usar hace algunos años otros tratamientos como son la desorción térmica la cual tampoco logró resultados de biorremediación óptimos y generó contaminación adicional por los gases y cenizas emitidas a la atmosfera.

## 3. PREGUNTA PROBLEMA

¿La calidad fisicoquímica de los suelos dispuestos en el ZODME del Campo La Hocha se incrementará mediante la integración de las tecnologías fisicoquímicas y los agentes biológicos remediadores *Pseudomonas Stutzeri*, *Putida* y *Fluorencens*?

---

<sup>4</sup> Bbbs: Barril de borra: 158,987294928 litros

#### 4. JUSTIFICACIÓN

El tratamiento físico químico implementado actualmente en el campo petrolero la Hocha no ha logrado disminuir el contenido las grasas y aceites en los sólidos producidos en el campo hasta el límite establecido en el Protocolo de Louisiana 29B (Limite: < 1% de grasas y aceites), lo cual implica el no cumplimiento de los requisitos exigidos bajo licencia ambiental por la autoridad ambiental.

Es por esto que se plantea complementar la remoción de grasas y aceites del tratamiento fisicoquímico con la remediación biológica por medio de la disminución de TPH's. Entre las razones por la cuales se realiza la propuesta de remediación biológica están:

1. Existen antecedentes de que otras tecnologías como las de desorción térmica no han sido viables por el grado de contaminación atmosférica que genera debido a la alta concentración de aceite en la borras, por lo cual se hace necesario aplicar nuevas tecnologías como lo son la físico-química y la biológica.
2. No es viable iniciar el tratamiento biológico partiendo desde el 18% de concentración de aceite ya que esto requeriría zonas muy amplias y tiempos de tratamiento bastante largos.
3. El tratamiento fisicoquímico actual podría alcanzar los criterios del protocolo de Louisiana; sin embargo esto implicaría un aumento en las concentraciones de peróxido de hidrogeno y por ende un aumento en los costos de operación de la planta.
4. El tratamiento biológico es una opción viable con su bajo costo y factibilidad de desarrollo en el área del ZODME.

Lo ideal del complementar las dos tecnologías es lograr la biorremediación hasta el punto en que pueda disponerse el residuo sólido en el ZODME y adicionalmente en el futuro sea un suelo apto para la agricultura.

## **5. OBJETIVO GENERAL**

- Evaluar la efectividad de los agentes biológicos remediadores en la degradación de los hidrocarburos totales de petróleo presentes en los sedimentos dispuestos en el ZODME del Campo Petrolero La Hocha.

### **5.1. OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Evaluar el desempeño de tratamiento bilógico por medio de la ejecución de los parámetros fisicoquímicos del protocolo de Lousiana 29B, en especial el parámetro de hidrocarburos petrogénicos totales (TPH's).
- Identificar si las arenas del campo la Hocha luego de utilizar los dos tratamientos son aptas para la disposición en ZODME.
- Evaluar la efectividad de los mecanismos de degradación de hidrocarburos del género *Pseudomona* por medio de la comparación de los perfiles cromatográficos antes y después de la inoculación de suelos contaminados.

## 6. MARCO DE REFERENCIA

### 6.1. MARCO TEORICO

#### 6.1.1. ESTRUCTURA QUÍMICA Y CLASIFICACIÓN DE LOS HIDROCARBUROS

Los compuestos que consisten de carbono e hidrógeno son llamados hidrocarburos y se clasifican en compuestos alifáticos y aromáticos. Los compuestos alifáticos son cadenas lineales o ramificadas de átomos de carbono y de acuerdo a sus tipos de enlace se clasifican en grupos: alcanos (enlace sencillo), alquenos (doble enlace), alquinos (triple enlace), Alicíclicos y aromáticos. Los hidrocarburos aromáticos son aquellos hidrocarburos que poseen las propiedades especiales asociadas con el núcleo o anillo del benceno, en el cual hay seis grupos de carbono-hidrógeno unidos a cada uno de los vértices de un hexágono. Estos se clasifican en monocíclicos (contiene un anillo) y/o policíclicos (contienen dos o más anillos) (Battersby y Wilson, 1989; Rooney-Varga y cols., 1999; Widdel y Rabus, 2001; Boll y cols, *Et al* 2002).

#### 6.1.1.1. Propiedades de los Hidrocarburos

La industria mundial de hidrocarburos clasifica el petróleo de acuerdo a su gravedad API (parámetro internacional del American Petroleum Institute) que diferencia las calidades del crudo. Los grados API se definen como

La fórmula inferida y usada para determinar esta propiedad es la siguiente:

$$\text{Gravedad API} = (141,5/\text{GE a } 60^\circ\text{F}) - 131,5$$

En donde GE = gravedad específica a 60°F el criterio a seguir se muestra en la siguiente tabla.

**Tabla 1. Clasificación del petróleo de acuerdo a su gravedad API (American Petroleum Institute)**

TIPO DE CRUDO	API	DENSIDAD gr/m <sup>3</sup>
LIVIANO	>31	>0,870
MEDIO	22,3 – 31,1	0,920 – 0,870
PESADO	10,0 – 22,3	1-0,920
EXTRAPESADO	< 10	>1

#### 6.1.1.2. TPH'S (Hidrocarburos petrogénicos totales):

El término HTP corresponde a una medida de los compuestos que se solubilizan en ciertos solventes y son detectados por ciertos métodos analíticos (infrarrojo, gravimétrico, cromatografía gaseosa). Muchos compuestos, diferentes a los hidrocarburos del petróleo (cera de las plantas, materia húmica del suelo, grasa animal, etc.) pueden ser medidos como HTP. Además la misma muestra analizada por diferentes métodos para HTP producirá diferentes concentraciones debido a diferencias en el tipo de solvente, método de extracción, método de detección, y estándar de cuantificación. Los hidrocarburos del petróleo se definen por el método analítico que es usado para su determinación. La definición de HTP depende del método analítico usado para su determinación, ya que la medida de HTP es la concentración total de los hidrocarburos extraídos y medidos por un método particular (Mc Millen., Kerr, Nakles, *et al.*, 2001).

#### 6.1.2. SUELO

El suelo es un cuerpo natural compuesto de sólidos (minerales y materia orgánica), líquidos y gases que ocurre en la superficie de la tierra, ocupa un espacio y se caracteriza o porque tiene horizontes o capas que se diferencian del material inicial como resultado de las adiciones, pérdidas, traslocaciones y transformaciones de energía y materia o porque es capaz de soportar plantas arraigadas en un ambiente natural" (Soil Survey Staff *Et al*, 1998, 1999).

##### 6.1.2.1. Los Órdenes en la Taxonomía de Suelos:

De acuerdo a la taxonomía de suelos del USDA <sup>5</sup>:

**Gelisoles:** son suelos que presentan condiciones de congelamiento durante periodos largos de tiempo y que tienen o no hielo presentan alta variabilidad en sus propiedades. El nombre de los suelos que pertenecen a este orden termina en EL

**Histosoles:** son suelos típicamente orgánicos, aunque pueden tener algunos horizontes delgados de materiales minerales. La nomenclatura de estos suelos termina en IST.

**Espodosoles:** suelos que presentan un horizonte oscuro de acumulación de materia orgánica y aluminio, con o sin hierro, ubicado por debajo de un horizonte más claro que ha aportado aquellos materiales son suelos ácidos (ver numeral 2 del capítulo 14) y la terminación de su nomenclatura es OD.

**Andisoles:** suelos con alta fijación de fosfatos y baja densidad, derivados de materiales volcánicos; normalmente son ácidos y su nomenclatura termina en AND.

---

<sup>5</sup> UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA. 2002. *Introducción a la ciencia del suelo*

**Vertisoles:** son suelos arcillosos que se agrietan fuertemente cuando se secan. su reacción se encuentra entre ligeramente ácida a fuertemente alcalina y sus nombres terminan en la partícula ERT.

**Aridisoles:** son suelos que se presentan en climas muy secos. su nomenclatura termina en id.

**Ultisoles:** suelos muy evolucionados que presentan un horizonte que ha acumulado arcilla que se ha movilizó desde las partes más superficiales del suelo. Las arcillas acumuladas son de baja calidad por lo que el suelo es ácido y poco fértil. Su nombre termina en ULT.

**Mollisoles:** son suelos que presentan adecuadas propiedades físico-químicas en la zona de raíces. se identifican por la presencia de la terminación OLL en su nombre.

**Alfisolos:** en estos suelos también se ha formado un horizonte de acumulación de arcilla que se ha movido desde la parte superior del suelo pero, a diferencia del ultisol, en este orden las arcillas acumuladas son de mejor calidad por lo que se presenta una saturación de bases alta. su terminación en la nomenclatura es ALF.

**Inceptisoles:** son suelos que no cumplen los requisitos para ubicarse en alguno de los órdenes anteriores pero que presentan evidencias de evolución incipiente que los ha llevado a desarrollar varios horizontes con estructura de suelo. Su nomenclatura termina en EPT.

**Entisoles:** son los suelos que presentan menor grado de evolución. Por lo general sólo se observa organización de suelo en la parte superior del mismo, por efecto de la materia orgánica y de la actividad biológica presentes en ella. Este orden, junto con el de los inceptisoles, presenta la mayor variabilidad en sus propiedades su terminación es ENT.

De acuerdo a Porta 1194<sup>6</sup>:

**Suelos orgánicos:** Histosoles

**Suelos minerales condicionados por influencia antrópica:** Anthrosoles

**Suelos minerales condicionados por el material parental:** Andosoles, Arenosoles, Vertisoles

**Suelos minerales condicionados por la topografía:** Fluvisoles, Gleysoles, Leptosoles, Regosoles

**Suelos minerales condicionados por su edad (léase evolución) limitada:** Cambisoles

**Suelos minerales condicionados por un clima húmedo tropical o subtropical:** Plinthosoles, Ferralsoles, Nitisoles, Acrisoles, Alisoles, Lixisoles

**Suelos minerales condicionados por un clima árido o semiárido:** Solonchaks, Solonetz, Gypsisoles, Calcisoles

---

<sup>6</sup> UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA. 2002. *Introducción a la ciencia del suelo*

**Suelos minerales condicionados por un clima estepario:** Kastanozems, Chernozems, Phaeozems, Greyzems

**Suelos minerales condicionados por un clima templado húmedo o subhúmedo:** Luvisoles, Podzoluvisoles, Planosoles, Podzoles.

Características de los sólidos provenientes del campo Petroleo La Hocha:

**Tabla 2. Grupos principales de suelos del sistema de clasificación de suelos FAO/UNESCO, versión de 1988 y los órdenes o subórdenes del sistema USDA que con mayor probabilidad les corresponden.<sup>7</sup>**

<b>GRUPO PRINCIPAL DE SUELO (TOMADO DE PORTA et al, 1994)</b>	<b>ORDEN O SUBORDEN DEL SISTEMA USDA EQUIVALENTE</b>
<b>Fluvisol</b>	Fluvent, Entisol, Inceptisol, Mollisol
<b>Gleysol</b>	Entisol, Inceptisol, Mollisol en regimen acuatico
<b>Regosol</b>	Entisol
<b>Leptosol</b>	Mollisol, Inceptisol, Entisollíticos
<b>Arenosol</b>	Psamment, Entisol, Gelsol
<b>Andosol</b>	Andisol
<b>Vertisol</b>	Vertisol
<b>Cambisol</b>	Inceptisol, Mollisol
<b>Calcisol</b>	Mollisol, Aridisol, Inceptisol, Alfisol
<b>Gypsisol</b>	Mollisol, Aridisol, Inceptisol, Alfisol
<b>Solonetz</b>	Alfisol, Aridisol
<b>Solonchak</b>	Aridisol, Inceptisol, Mollisol, Entisol
<b>Kastanozem</b>	Mollisol
<b>Chernozem</b>	Mollisol
<b>Phaeozem</b>	Mollisol
<b>Greyzem</b>	Mollisol
<b>Luvisol</b>	Alfisol en climamediterráneo
<b>Planosol</b>	Ultisol, Alfisol
<b>Podzoluvisol</b>	Ultisol, Alfisol
<b>Podzol</b>	Espodosol
<b>Lixisol</b>	Alfisol
<b>Acrisol</b>	Ultisol
<b>Alisol</b>	Ultisol en climamediterráneo
<b>Nitisol</b>	Ultisol, Alfisol

<sup>7</sup> UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA. 2002. *Introducción a la ciencia del suelo*

<b>Ferralsol</b>	Oxisol
<b>Plinthosol</b>	Ultisol,Oxisol,Inceptisol,Alfisol
<b>Histosol</b>	Histosol,Histel
<b>Anthrosol</b>	Anthrept,Inceptisol,Aridisol,Entisol

### 6.1.2.2. Características sólidos Campo Petrolero La Hocha:

A continuación se presenta la composición de los sólidos provenientes del Campo petrolera La Hocha; los cuales provienen de la producción de hidrocarburo del mismo:

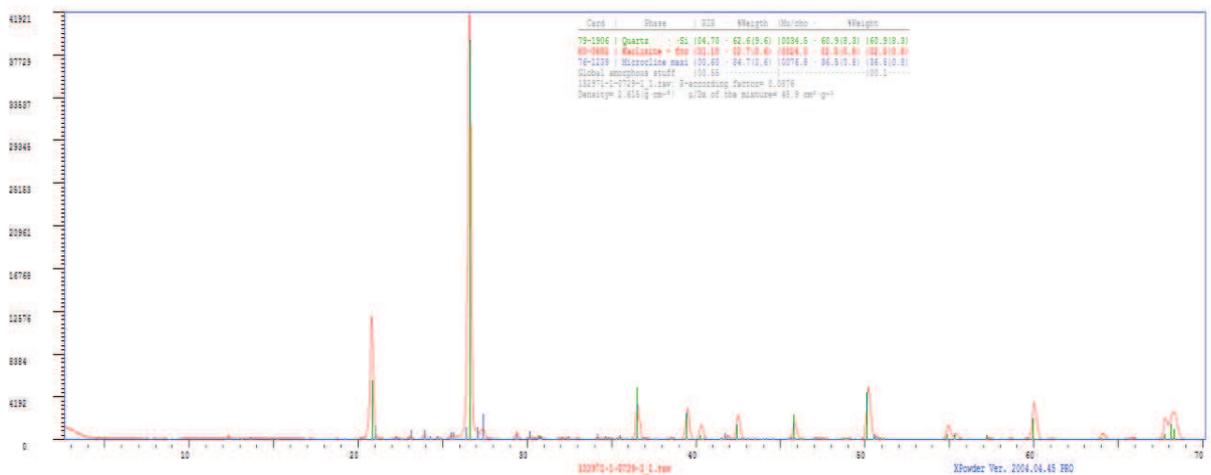


Figura 1. Difractograma de composición mineralógica sólidos de Campo La Hocha.

Tabla 3 composición mineralógica sólidos Campos La Hocha.

Mineral	Cuarzo	Caolinita	Microclina	Amorfos
%	64.5	2.7	32.7	0.1

Esta cuantificación se realizó por medio de la técnica analítica de Difracción de Rayos X.

De acuerdo al origen parental de los sólidos y el análisis cuantitativo por DRX podemos clasificar los sólidos del Campo La Hocha en rocas Sedimentarias Clásticas específicamente rocas Areniscas en las cuales predomina el cuarzo.

Adicionalmente de acuerdo a los conceptos vistos anteriormente los sólidos provenientes de la producción petrolera del Campo La Hocha se puede clasificar de acuerdo a la Taxonomía de Porta 1994 en Andosol y en Andisol de acuerdo al sistema USDA.

### 6.1.3. REMEDIACIÓN

Actualmente en el campo La Hocha se realiza remediación Física y Química las cuales se explican a continuación:

#### 6.1.3.1. Remediación Física-Química

##### 6.1.3.1.1. Planta de tratamiento UOC

La facilidad de la planta de tratamiento de arenas cuenta con 2 tanques discovery, un tanque homogenizador, un compresor y un tornillo sin fin, conectados al generador, a un tanque para la alimentación de agua y un skimmer para recepción de las arenas y el agua proveniente del proceso.

**Figura 2. Tanque de Almacenamiento de agua**



Fuente: Antek S.A.. Informe Interventoría QAQC de Campo

**Figura 3. Tanque Discovery 1**

#### Tanque Discovery 1

El Tanque Discovery 1 tiene una capacidad de 180bls de fluido, se utiliza para almacenar y calentar el agua para el proceso de lavado, su temperatura máxima de calentamiento es de 160F



Fuente: Antek S.A.. Informe Interventoría QAQC de Campo

**Figura 4. Tanque Discovery 2**

#### Tanque Discovery 2



El tanque Discovery 2, tiene una capacidad de 500bls, se utiliza para la recepción de la producción general, éste provee la alimentación de sólidos al homogenizador.

Fuente: Antek S.A.. Informe Interventoría QAQC de Campo

**Figura 5. Tornillo Sin Fin**



Fuente: Antek S.A.. Informe Interventoría QAQC de Campo

**Figura 6. Tanque Homogenizador**



Fuente: Antek S.A.. Informe Interventoría QAQC de Campo

**Figura 7. Esquema de funcionamiento de la planta UOC**



Fuente: Antek S.A.. Informe Interventoría QAQC de Campo

1. El agua proveniente del CPF es transferida por medio de tubería subterránea al Discovery 1.
2. En el Discovery 1 se calienta el agua a 160°F.
3. El agua caliente alimenta el tanque homogenizador, generando un colchón de agua para evitar que los lodos aceitosos se peguen al fondo.
4. Por medio del tornillo son fin se alimenta el homogenizador con los lodos aceitosos provenientes del tanque discovery 2.
5. Se alimenta la cantidad faltante de agua caliente, se realiza agitación y adición de la química necesaria (Peróxido de Hidrogeno) para el lavado programado y se realiza el desnate del aceite separado dentro del homogenizador por las válvulas de rebose. Los sólidos más gruesos pasan a otro tanque para la adición de productos surfactantes que terminan el proceso de lavado.
6. Finalmente se disponen de las arenas lavadas al ZODME.

#### **6.1.3.1.2. Reacción química**

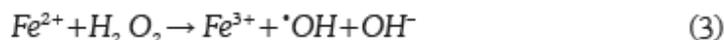
La técnica química consiste en el proceso comúnmente llamado "Soil Washing"; este proceso es ideal para suelos con altos contenidos de arena y poca arcilla, como es el caso de los sólidos

de Campo La Hocha (60% cuarzo). La agitación que se realiza en el tanque homogenizador permite que se separen los sólidos gruesos de los más finos y así realizar un lavado más efectivo; junto con la agitación se realiza la adición de peróxido de hidrógeno; los sólidos más gruesos pasan a otro tanque en el cual se adicionan otro tipo de productos químicos como surfactantes los cuales terminarán el proceso de lavado para disposición final.

En el tanque homogenizador la adición de Peróxido de hidrógeno actúa como agente oxidante junto con el ion ferroso ( $Fe^{2+}$ ) en calidad de catalizador. El papel del  $Fe^{2+}$  consiste en descomponer al  $H_2O_2$  para dar lugar al radical hidroxilo (OH) que es la especie que realmente va a atacar los contaminantes.<sup>8</sup>

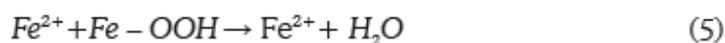
#### Proceso Fenton:<sup>9</sup>

En la Reacción Fenton, el peróxido de hidrógeno es adicionado junto con una solución de un metal de transición ( $Fe^{2+}$ ) para propiciar la formación de radicales  $\cdot OH$  y lograr la oxidación de los compuestos difíciles de degradar (Ferrarese *et al.*, 2008). Esta se puede realizar de dos formas, una de ellas es la Reacción Fenton estándar, la cual consiste en la reacción de descomposición del peróxido de hidrógeno catalizada con  $Fe^{2+}$  en un medio ácido (Villa *et al.*, 2010) y (Yap *et al.*, 2011).



La segunda reacción es conocida como la *Reacción Fenton* modificada, la cual abarca cualquier desviación de la clásica reacción catalizada con el  $Fe^{2+}$  (Yap *et al.*, 2011). El radical  $\cdot OH$  producido es la segunda especie química más reactiva solo superada por el flúor capaz de oxidar compuestos como los PAH.

La reducción del  $Fe^{3+}$  permite regenerar el  $Fe^{2+}$  a partir de las reacciones (4) y (5).



La reacción de degradación puede llevarse a cabo al retirar el hidrógeno o por la adición del radical hidroxilo, reacciones (6) y (7).



<sup>8</sup> Victor Machado, et al. Lavado de suelos Ex Situ (Soil Washing), 2014.

<sup>9</sup> Yap *et al.*, 2011, (Ferrarese *et al.*, 2008), (Villa *et al.*, 2010) Citados por: Óscar Darío Beltrán Pérez, Linda Ivette Berrío Giraldo, Édison Alexander Agudelo, Santiago Alonso Cardona Gallo, et al. TECNOLOGÍAS DE TRATAMIENTO PARA LA TIERRA FULLER CONTAMINADA CON ACEITE DIELECTRICO, Envigado, 2013.

Una alta concentración de peróxido puede generar complejas reacciones, en donde se obtienen además de radicales hidroxilo ( $\cdot\text{OH}$ ), radicales de hidropéroxido ( $\text{HO}_2\cdot$ ), aniones de superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) y aniones de hidropéroxido ( $\text{HO}_2^-$ ).



Estos radicales pueden aumentar la eficiencia del tratamiento, sin embargo una alta concentración de peróxido podría reducir las especies oxidantes presentes al ser consumidas por el mismo radical (Ferrarese *et al.*, 2008).

#### 6.1.4. EL GÉNERO PSEUDOMONAS

Las *Pseudomonas* son bacilos Gram negativos, rectos o ligeramente curvados ( $0.5-0.8 \mu\text{m} \times 1-3 \mu\text{m}$ ), que se encuadran dentro del grupo  $\gamma$  de las proteobacterias, generalmente son móviles gracias a los flagelos polares que poseen aunque en algunas cepas se han descrito flagelos laterales. Normalmente son oxidasa positivos, catalasa positivos y aerobios estrictos, aunque recientemente se han descrito *Pseudomonas* formadoras de biopelículas que pueden utilizar el nitrato como aceptor de electrones (Hassett *et al.*, 2002). El catabolismo de la glucosa se realiza por la ruta de Entner-Doudoroff y el ciclo de los ácidos tricarbóxicos. Algunas especies del género son psicrófilas pero no se han descrito especies termófilas ni acidófilas. Otras sintetizan sideróforos, que son fluorescentes bajo longitudes de onda corta (254 nm), de color amarillo-verdoso conocidos como pioverdinas y piocianinas (pigmento azul soluble característico de la mayoría de cepas de *P. aeruginosa*, *P. putida* y *P. fluorescens*), particularmente cuando se cultivan en condiciones limitantes de hierro. No forman esporas ni fermentan azúcares. Su contenido en G+C en el genoma oscila entre el 58-69 %. (Ryan y Ray, *Et al*, 2004).

##### 6.1.4.1. Clasificación y Taxonomía

Las especies del género *Pseudomonas* se clasificaron dentro de cinco grupos basados en la homología del ARNr (Tabla 4. Especies de *Pseudomonas* agrupadas según el grado de identidad de sus ARNr. Los grupos II, III, IV y V, están actualmente ubicados en nuevos géneros de alpha proteobacteria, cuyo nuevo nombre se presenta entre paréntesis. (Palleroni, *Et al*, 1973)

**Tabla 4.** Especies de *Pseudomonas* agrupadas según el grado de identidad de sus ARNr. Los grupos II, III, IV y V, están actualmente ubicados en nuevos géneros de alpha proteobacteria, cuyo nuevo nombre se presenta entre paréntesis.

Grupos	Especies Integrantes
I	P. aeruginosa, P. fluorescens, P. putida, P. chlororaphis, P. syringae, P. cichorii, P. stutzeri, P. mendocina, P. alcaligenes, P. pseudoalcaligenes, P. agarici, P. angulata, P. fragi, P. synxantha, P. taetrolens, P. mucidolens, P. oleovorans, P. resinovorans
II	P. (Burkholderia) cepacia, P. gladioli, P. caryophylli, P. (Alcaligenes) pseudomallei, P. mallei, P. (Ralstonia) solanacearum, P. (Ralstonia) pickettii, P. pyrrocinia, P. andropogonis
III	P. (Comamonas) acidovorans, P. (Comamonas) testosteroni, P. saccharophila, P. facilis, P. delafieldii, P. alboprecipitans, P. palleronii
IV	P. diminuta, P. vesicularis
V	Pseudomonas spp., X. (Xanthomonas) maltophilia, P. geniculata, P. gardneri

#### 6.1.4.2. Ecología de las Pseudomonas

La mayoría de los contaminantes, pueden ser clasificados como compuestos alifáticos o aromáticos, que contienen diferentes grupos funcionales, tales como: -OH, -Cl, -NH<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub> y -SO<sub>3</sub>. Comportándose como donadores de electrones, estos contaminantes son oxidados como consecuencia del metabolismo microbiano, y en el mejor de los casos, son mineralizados. El tolueno, como uno de los compuestos aromáticos más simples estructuralmente y de origen natural, está ampliamente distribuido en los ambientes naturales. Debido a que los organismos han estado en contacto con éste y con otros compuestos estructuralmente parecidos a lo largo de la evolución, es natural que las bacterias hayan desarrollado la capacidad para degradar este tipo de compuestos aromáticos.<sup>10</sup>

#### 6.1.4.3. Biodegradación de Petróleo por Especies del Género Pseudomona:

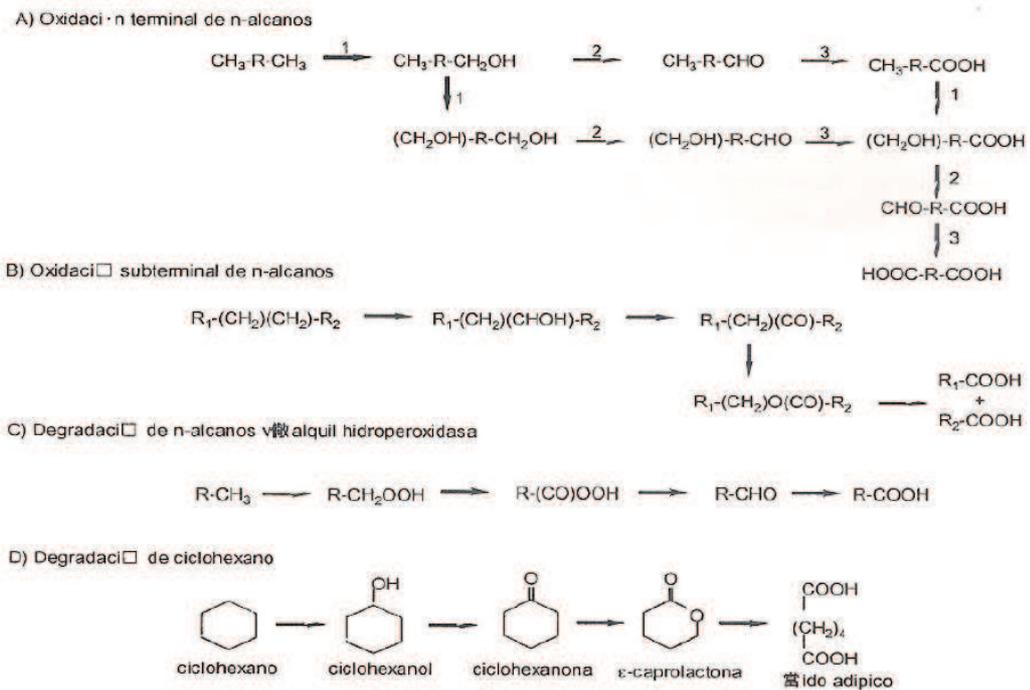
Algunas de las rutas metabólicas microbianas responsables de la degradación, incluyendo las rutas *alk* (C<sub>8</sub> a C<sub>12</sub> *n*-alcanos), *nah* (*naftaleno*) y *xyl* (*tolueno*) han sido ampliamente caracterizadas; están generalmente relacionadas con plásmidos catabólicos encontrados en *pseudomona* spp., por ejemplo los plásmidos OCT, NAH y TOL (Sayler et al.,1990; Whyte et al.,1997).<sup>11</sup>

Los *n*-alcanos son el grupo más abundante de compuestos encontrados en el petróleo crudo, estos compuestos pueden ser biodegradados aeróbicamente por diferentes rutas (Harayama et al., 1999) (Figura 8. Rutas metabólicas Pseudomonas) La degradación de *n*-alcanos de cadena media por *Pseudomonas putida*, la cual contiene OCT, es iniciada por alcano hidroxilasa. La oxidación del grupo metilo de *n*-alcanos por alcano hidroxilasa produce *n*-alcanoles que so

<sup>10</sup> UNIVERSIDAD DE GRANADA DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR I, CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA Y MOLECULAR DEL SISTEMA DE DOS COMPONENTES TODS/TODT DE  
<sup>11</sup> Sayler et al.,1990; Whyte et al.,1997, *Catabolic plasmids of envirometal and ecological significance*, Citado por:Ernesto Alanis, Isabel Guerrero, Pseudomonas en Biotecnología, Mexico. Revista Biotecnología. P. 29. 30.

posteriormente oxidados por alcohol deshidrogenasa unida a la membrana, a *n*-alcanales los cuales son subsecuentemente transformados a ácidos grasos y a aceti-CoA por aldehído deshidrogenasa y acetil-CoA sintetasa, respectivamente (Van Beilen et al.,1994; Harayama et al., 1999).<sup>12</sup> Se ha reportado también una ruta de degradación de *n*-alcanos produciendo alcoholes secundarios en la cual los *n*-alcanos son oxidados por monoxigenasas a alcoholes secundarios, después a cetonas y finalmente a ácidos grasos (Whyte et al., 1998)<sup>13</sup>

**Figura 8. Rutas metabólicas Pseudomonas**



Rutas de degradación de *n*-alcanos y hidroxilación son catalizadas por el mismo grupo de enzimas. En bacterias, las enzimas participantes son monoxigenasa (1), alcohol deshidrogenasas (2) y aldehído deshidrogenasas (3) (Harayama y col, 1999).

**Fuente:** Revista Biotecnología Vol 9 N° 1

Los PAH's tales como nafataleno, bifenilo y fenantreno son degradados completamente en condiciones aeróbicas. La degradación de estos compuestos es iniciada por dihidroxilación de uno de los anillos aromáticos polinucleares, seguido por la escisión del anillo dihidroxilado. (Harayama *et al.*, 1999).

La pseudomona *Fluorescens* es degradadora de naftaleno y fenantreno, ventaja que tiene frente a otras pseudomonas, que solo metabolizan naftaleno y asfaltenos. Estudios realizados

<sup>12</sup> Van Beilen et al., 1994; *Pseudomonas oleovorans*, Harayama et al., 1999, Petroleum biodegradation in marine environments, Citado por:Ernesto Alanis, Isabel Guerrero, *Pseudomonas* en Biotecnología, Mexico.P. 29. 30.

<sup>13</sup> Whyte et al., 1998) Biodegradation of variable chain length alkanes at low temperatura by psychrotrophic *Rhodococcus*, Citado por:Ernesto Alanis, Isabel Guerrero, *Pseudomonas* en Biotecnología, Mexico.P. 29. 30.

demuestran que Flovobacterias y pseudomonas son los microorganismos más aislados en la fase de degradación de TPH (Hidrocarburos totales). La *pseudomona Stutzeri* es una degradadora de PAH's.<sup>14</sup>

#### **6.1.5. INVESTIGACIONES ACTUALES:**

En la actualidad las bacterias Pseudomona son la más estudiada a nivel mundial, debido a que estas bacterias pueden causar múltiples efectos en los seres vivos y que sus consecuencias pueden llegar a ser mortales y también puede servir para controlar problemáticas de tipo ambiental.

Dentro de los estudios realizados más recientes se encuentran los siguientes:

Ambientalmente se han desarrollado múltiples estudios asociados a la disminución de contaminantes o procesos de Biorremediación.

Como son: **EVALUACION DE LA ESTIMULACION EN LA BIODEGRADACION DE TPH'S EN SUELOS CONTAMINADOS POR PETROLEO**, estudio realizado por Victoria Vallejo, Laura Salgado y Fabio Roldan, estudio que se basaba en evaluar la adición de nutrientes en forma de sales inorgánicas simple y un fertilizante inorgánico compuesto se emplearon bacterias Pseudomona Aeruginosa a través de un cultivo que duro 125 días y de esta forma verificar el proceso de Biorremediación, este estudio fue realizado en el invernadero de Pontificia Universidad Javeriana en la ciudad de Bogotá en el año 2001.

**BIORREMEDIACION DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS DERIVADOS DEL PETROLEO**, Estudio realizado en Bogotá, por Joaquín Benavides, Gladis Quintero Andrea Guevara, Diana Jaimes, Investigadores de la Universidad de la Sallé, donde se colocan a prueba una serie de microorganismos degradadores de hidrocarburos y pueden observar cual de estos métodos es más efectivos y pueden realizar una correlación de acuerdo al método evaluado.

También existen una serie de estudios microbiológicos donde buscan estudiar más a fondo el metabolismo y estructura de las bacterias Pseudomonas Aeruginosa.

**COMPARATIVE GENETIC DIVERSITY OF PSEUDOMONAS STUTZERI GENOMOVARS, CLONAL STRUCTURE, AND PHYLOGENY OF THE SPECIES**

**DIVERSIDAD GENÉTICA COMPARATIVA DE PSEUDOMONAS STUTZERI GENOMOVARES, ESTRUCTURA CLONAL Y FILOGENIA DE LAS ESPECIES**, estudio realizado en España por Aina Clasera, Antonio Bennasar, Maria Barcelo, Jorge Lalucat y elena García en 2004, esta investigación se basa en el estudio de la fisiología y genética de las bacterias Pseudomonas Stutzeri.

---

<sup>14</sup> Joaquín Benavides, López de Mesa Msc, Gladis Quintero Msc, Andrea Liliana Guevara Vizcaíno, Diana Carolina Jaimes Cáceres, Sandra Milena Gutiérrez Riaño, Johanna Miranda García. et al. Biorremediación de suelos contaminados con Hidrocarburo Derivados del Petróleo. Colombia. 2006. P.87

En ocasiones las tecnologías de remediación por si solas no logran los resultados esperados, por tal motivo existen diferentes estudios en los cuales se evaluado la combinación de las técnicas de remediación; Algunos de estos estudios son<sup>15</sup>:

**Kulik *et al.*, (2005) DEGRADATION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS BY COMBINED CHEMICAL PRE-OXIDATION AND BIOREMEDIATION IN CREOSOTE CONTAMINATED SOIL:** determinaron que la eficiencia del proceso de ozonación depende del contenido de humedad de la muestra de suelo y que el tratamiento a partir del proceso Fenton depende de la relación de peso H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/suelo aplicada y la adición de iones de hierro. Se estableció que a partir de la preoxidación de los PAH se obtienen productos de la oxidación más solubles en agua y, de esta forma, más apropiados para los microorganismos, siendo la biodegradación con preozonación la mejor tecnología para la remoción de los PAH. El tratamiento *Fenton* seguido por biorremediación también presentó una alta remoción de los PAH en el suelo contaminado.

**Jung *et al.*, (2005) EFFECTS OF IN-SITU OZONATION ON INDIGENOUS MICROORGANISMS IN DIESEL CONTAMINATED SOIL: SURVIVAL AND REGROWTH:** lograron una rápida disminución de los TPH presentes en un suelo contaminado después de 60 minutos de haber inyectado el ozono, una vez transcurrido este tiempo, se observó cómo la concentración de TPH decrece asintóticamente con el tiempo de ozonación. Las muestras se ozonaron por 180 minutos mostrando la más baja concentración de TPH y la más alta velocidad de crecimiento de la población de microorganismos después de nueve semanas de incubación. El flujo de gas utilizado fue de 300 mL\*min<sup>-1</sup> a una concentración de ozono 30 mg\*L<sup>-1</sup> y una temperatura constante de 25 ± 2 °C. La Remoción alcanzada fue del 50% de TPH después de 900 minutos de ozonación.

**Lu *et al.*, (2010b) REMOVAL OF RESIDUAL CONTAMINANTS IN PETROLEUM-CONTAMINATED SOIL BY FENTON-LIKE OXIDATION:** combinaron un pretratamiento con Fenton modificado y la biodegradación para reducir la toxicidad y los contaminantes presentes en un suelo contaminado con hidrocarburos. La relación molar óptima encontrada para el peróxido de hidrógeno y Fe<sup>3+</sup> fue de 300/1 removiendo 2.370 mg\*Kg<sup>-1</sup>. Al final del tratamiento de oxidación, se removió el 33% de la contaminación inicial presente en el suelo (32.400 al 21.800 mg\*Kg<sup>-1</sup> de suelo). La menor toxicidad del suelo después del proceso de oxidación permitió aplicar un tratamiento biológico con microorganismos y como resultado se obtuvo la reducción de la contaminación del suelo de 21.800 a 5.360 mg\*Kg<sup>-1</sup> de suelo.

## 6.2. MARCO CONCEPTUAL

### 6.2.1. BIOREMEDIACIÓN

Proceso que utiliza las habilidades catalíticas de los organismos vivos para degradar y transformar contaminantes tanto en ecosistemas terrestres como acuáticos, presenta un

---

<sup>15</sup> Óscar Darío Beltrán Pérez, Linda Ivette Berrío Giraldo, Édison Alexander Agudelo, Santiago Alonso Cardona Gallo, et al. TECNOLOGÍAS DE TRATAMIENTO PARA LA TIERRA FULLER CONTAMINADA CON ACEITE DIELECTRICO, Envigado, 2013.

enorme potencial en la mitigación de la contaminación ambiental. La Biorremediación se ha centrado en la explotación de la diversidad genética y versatilidad metabólica que caracteriza a las bacterias para transformar contaminantes en productos inocuos o, en su defecto, menos tóxicos, que pueden entonces integrarse en los ciclos biogeoquímicos naturales.

#### **6.2.1.1. Técnicas de Biorremediación:**

##### **6.2.1.2. Bioaumentación**

Consiste en la adición al medio (suelo, agua) al objeto de optimizar la biodegradación de microorganismos alóctonos vivos especializados, cuya eficiencia en la degradación del contaminante esté probada. Se incrementa la población nativa de microorganismos del sistema incorporando un inóculo de otros adaptados selectivamente, desarrollados para que tengan la capacidad para degradar los contaminantes en cuestión, compuestos previamente considerados como no o difícilmente biodegradables. Estos microorganismos pueden ser naturales o modificados genéticamente.

##### **6.2.1.3. Bioestimulación**

Responde a la idea de aplicar Biorremediación, pero creando condiciones. Es decir intentar que se alcancen las condiciones para que la biodegradación transcurra de forma idónea. La Bioestimulación consiste en estimular a los microorganismos autóctonos de un ambiente natural por medio de la adición de nutrientes y otros aditivos, de humedad y aireación del sistema para así mejorar la eliminación de los contaminantes.

##### **6.2.1.4. Degradación Enzimática**

Consiste en agregar enzimas al sitio contaminado con el fin de degradar las sustancias nocivas. Estas enzimas se obtienen de microorganismos especialmente diseñados para así obtener grandes cantidades y de alta especificidad. Una de las ventajas de las enzimas es que las reacciones es que las reacciones mediadas por éstas poseen tasas de velocidad significativamente mayores que las reacciones en las cuales no se encuentran estos catalizadores.

##### **6.2.1.5. Fitorremediación**

Es un término utilizado para describir el tratamiento de problemas ambientales a través de la utilización de plantas. Es la descomposición de los suelos, la depuración de las aguas residuales o la limpieza del aire interior usando plantas basculantes algas u hongos y por extensión ecosistemas que contienen estas plantas.

### **6.3. PARAMETROS FISICOQUIMICOS**

#### **6.3.1. Conductividad**

La conductividad del agua es una expresión numérica de su habilidad para transportar una corriente eléctrica, que depende de la concentración total de sustancias disueltas ionizadas en el agua y de la temperatura a la cual se haga la determinación. Por tanto, cualquier cambio en la cantidad de sustancias disueltas, en la movilidad de los iones disueltos y en su valencia, implica un cambio en la conductividad. Por esta razón, el valor de la conductividad se usa mucho en análisis de aguas para obtener un estimativo rápido del contenido de sólidos disueltos. (Romero, 2009).

La medida de la conductividad permite evaluar de forma rápida y aproximada la mineralización global del agua y seguir la evolución. En general la conductividad se eleva de forma progresiva de arriba hacia abajo en los cursos de agua; las divergencias son tanto más importantes cuanto más débil es la mineralización inicial, en particular en las zonas con sustrato ácido o subsuelo silíceo. En el caso de un control de distribución de agua potable, el interés de este método no reside en una única medida sino en una serie de determinaciones o registros sin interrupción que permitirán detectar las variaciones de composición que podrán indicar la llegada de agua susceptible de estar contaminada. En las aguas superficiales y los vertidos de aguas residuales, se pueden producir con rapidez durante el día modificaciones importantes en la conductividad. Se puede admitir que la situación es particular o anormal más allá de 2000  $\mu\text{s}/\text{cm}$  (Rodier *Et al*, 2009).

La tabla siguiente ofrece algunas indicaciones sobre la relación que existe entre la mineralización y la conductividad:

#### **6.3.2. Temperatura**

Es uno de los factores ambientales más importantes, esta tiene una gran influencia en la biodegradación por su efecto sobre la naturaleza física y química del petróleo y sus derivados (Pardo, J., *et al.*, 2004). A bajas temperaturas la viscosidad de los hidrocarburos aumenta, la volatilización de alcanos de cadena corta se reduce y disminuye la solubilidad del O<sub>2</sub> en agua, afectando así la biodegradación. Las tasas de degradación generalmente aumentan cuando la temperatura incrementa (Ríos, R., *et al.*, 2005).

La temperatura también afecta la actividad metabólica de los microorganismos y la tasa de biodegradación. Generalmente, las especies bacterianas crecen a intervalos de temperatura bastante reducidos, entre 18 y 30°C (condiciones mesófilas), Cuando supera los 40°C se produce una disminución de la actividad microbiana, una rotación poblacional hacia especies más resistentes a las altas temperaturas o puede decrecer la biorremediación debido a la desnaturalización de enzimas y proteínas de las bacterias. Cuando la temperatura esta a 0°C se detiene substancialmente la biodegradación (Gómez, S., *et al.*, 2008), también se ha dado la biodegradación de hidrocarburos a temperaturas extremas: a 10°C en suelos subárticos y subalpinos, a 5°C en suelos árticos, a 60°C por una cepa termófila de *Bacillus stearothermophilus* aislada de un suelo contaminado con crudo de petróleo del desierto kuwaití (Torres, K. y Zuluaga, T., *et al.*, 2009). Los cambios climáticos y de estaciones, seleccionan de manera natural a las poblaciones de los microorganismos degradadores de hidrocarburos, los cuales se adaptan a las temperaturas ambientales.

### 6.3.3. Potencial de Hidrogeniones

El término pH es una forma de expresar la concentración del ion hidrogeno o, más exactamente, la actividad del ion hidrogeno ( $H^+$ ). En general se usa para expresar la intensidad de la condición acida o alcalina de una solución, sin que esto quiera decir que mida la acidez total o la alcalinidad total. (Romero *Et al.*, 2009).

La disociación iónica del agua puede representarse por el equilibrio:



Su constante de disociación será:

$$K_i = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]}$$

En agua sin carga salina la magnitud de su ionización es muy pequeña. Para el equilibrio solo están presentes  $10^{-7}$  moles/L de  $H^+$  y de  $OH^-$ , lo cual permite suponer que la actividad o concentración del agua es esencialmente constante; así la ecuación anterior se convierte en:

$$K_w = [H^+][OH^-] = 10^{-7} \times 10^{-7} = 10^{-14}$$

La constante  $K_w$  es conocida como la constante de ionización del agua y su valor debe satisfacerse en cualquier solución acuosa. Por tanto cuando se añade un ácido al agua, este se ioniza en ella, aumentando la concentración de iones  $H^+$ ; consecuentemente, debe disminuir la concentración de iones  $OH^-$  para que  $K_w$  se mantenga constante. Es importante recordar que en ningún caso la concentración de ion  $H^+$  o de ion  $OH^-$  puede reducirse a cero, no importa lo acida o básica que sea la solución. (Romero 2009).

El pH se define como el logaritmo del inverso de la concentración del ion hidrogeno, o sea:

$$pH = \log \frac{1}{[H^+]}$$

$$pH = -\log[H^+]$$

### 6.3.4. Grasas y Aceites

Se entiende por grasas y aceites el conjunto de sustancias pobremente solubles que se separan de la porción acuosa y flotan formando natas, películas y capas iridiscentes sobre el agua, muy ofensivas estéticamente. En aguas residuales los aceites, las grasas y las ceras son los principales lípidos de importancia. El parámetro grasas y aceites incluye los ésteres de ácidos grasos de cadena larga, compuestos con cadenas largas de hidrocarburos, comúnmente con un grupo ácido carboxílico en un extremo; materiales solubles en solventes orgánicos, pero muy insolubles en agua debido a la estructura larga hidrofóbica del hidrocarburo. Estos compuestos sirven como alimentos para las bacterias, puesto que pueden ser hidrolizados en los ácidos grasos y alcoholes correspondientes. (Romero, *Et al.*, 2009).

### **6.3.5. Humedad**

La humedad es un factor importante porque actúa como medio de transporte de nutrientes y oxígeno a la célula ya que forma parte de su protoplasma bacteriano, este proceso es necesario para su crecimiento y desarrollo. Es conveniente mantener una humedad del orden del 20 - 75 % de la capacidad de campo, la cual se define como la masa de agua que admite el suelo hasta la saturación (Gómez, S., *et al.*, 2008). Un exceso de humedad inhibirá el crecimiento bacteriano al reducir la concentración de oxígeno en el suelo y una poca o nula humedad priva el intercambio de gases y da como resultado zonas anaeróbicas. Por lo anterior, la humedad del suelo puede limitar de forma severa la biodegradación (Torres, y Zuluaga, *Et al.*, 2009).

### **6.3.6. Microorganismos**

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

La degradación de hidrocarburos se lleva a cabo principalmente por bacterias, seguidas por los hongos, levaduras y algas, entre otros (Ríos, *Et al.*, 2005).

En ecosistemas en donde las poblaciones microbiológicas degradadoras no son significativas, se han utilizado la bioaumentación con el propósito de incrementar la tasa de biodegradación de los contaminantes. Se prefiere la bioaumentación empleando microorganismos nativos, ya que otros microorganismos pueden presentar problemas de adaptación. Recientemente se ha considerado el uso de microorganismos genéticamente manipulados para la biorremediación de sitios contaminados (Ríos, *Et al.*, 2005).

## 7. TIPOS DE INVESTIGACIÓN

TIPO DE INVESTIGACIÓN	CARACTERÍSTICAS
<b>Histórica</b>	Analiza eventos del pasado y busca relacionarlos con otros del presente.
<b>Documental</b>	Analiza la información escrita sobre el tema objeto de estudio.
<b>Descriptiva</b>	Reseña rasgos, cualidades o atributos de la población objeto de estudio.
<b>Correlacional</b>	Mide grado de relación entre variables de la población estudiada.
<b>Explicativa</b>	Da razones del porqué de los fenómenos.
<b>Estudios de caso</b>	Analiza una unidad específica de un universo poblacional.
<b>Seccional</b>	Recoge información del objeto de estudio en oportunidad única.
<b>Longitudinal</b>	Compara datos obtenidos en diferentes oportunidades o momentos de
<b>Experimental</b>	Una misma población con el propósito de evaluar cambios.:  <b>VARIABLE DE CONTROL (DEPENDIENTE):</b> Muestra control sin inoculación <b>VARIABLES DE RESPUESTA (INDEPENDIENTE)</b> Hidrocarburos totales del petróleo (TPH's) Protocolo de Louisiana 29B

El tipo de investigación seleccionado es el Experimental

## 8. MARCO LEGAL

**Tabla 5. Marco Legal**

NORMA	DESCRIPCIÓN	ENTIDAD	RELACION CON LA BIORREMEDIACION
Convenio de Basilea 1989.	Adopta el principio de evitar o minimizar la generación de residuos peligrosos.	Naciones Unidas	<p>Anexo III LISTA DE CARACTERÍSTICAS PELIGROSAS</p> <p>Código H12 Ecotóxicos Sustancias o desechos que, si se liberan, tienen o pueden tener efectos adversos inmediatos o retardados en el medio ambiente, debido a la bioacumulación o los efectos tóxicos en los sistemas bióticos.</p> <p>Código H13 Sustancias que pueden, por algún medio, después de su eliminación, dar origen a otra sustancia, por ejemplo, un producto de lixiviación, que posee alguna de las características arriba expuestas</p>
Política ambiental para la gestión integral de residuos o desechos peligrosos	Términos generales la situación actual de los respel en el país.	Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial	<p>Principio de rehabilitación-valorización</p> <p>La sociedad actual tiene la responsabilidad de remediar los sitios contaminados por la disposición inadecuada de los residuos, que representen un riesgo inadmisibles para la salud humana o para el ambiente, evitando al máximo que los daños resultantes de los errores del pasado, sean heredados a generaciones futuras.</p> <p>Un terreno contaminado representa un riesgo potencial, aunque no exista impacto actual evidente, ya que actividades mal planeadas como cambios en el uso del suelo, trabajos de drenajes o de excavación realizados sobre el terreno, pueden hacer que este riesgo se vuelva significativo. Terrenos hipotecados por modos de producción y de consumo que no fueron orientados hacia un desarrollo sustentable no deben ser abandonados y olvidados.</p>

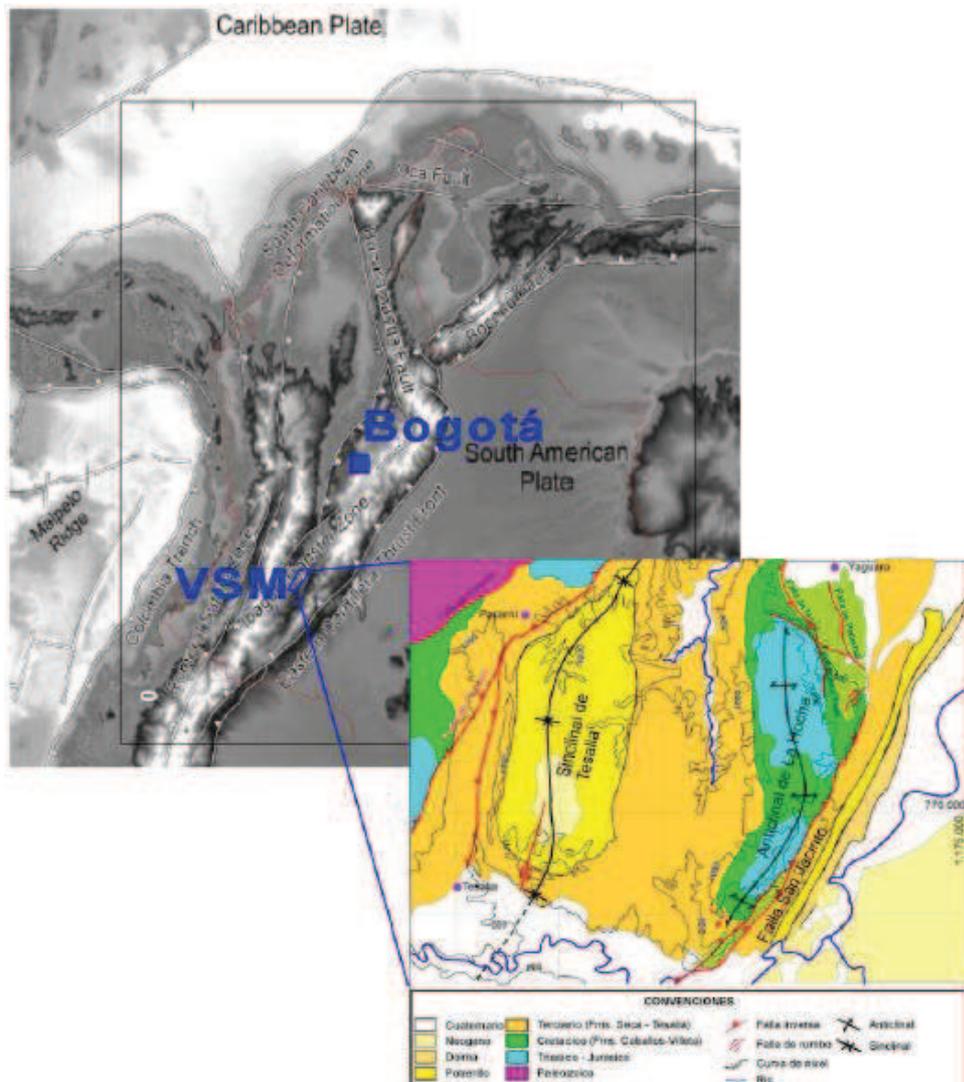
Ley 430 de 1998	por la cual se dictan normas prohibitivas en materia ambiental, referentes a los derechos peligrosos y se dictan otras disposiciones	Congreso de la Republica	ARTICULO 6o. RESPONSABILIDAD DEL GENERADOR. <Artículo CONDICIONALMENTE EXEQUIBLE> El generador será responsable de los residuos que él genere. La responsabilidad se extiende a sus afluentes, emisiones, productos y subproductos por todos los efectos ocasionados a la salud y al ambiente
Ley 9 de 1979	Codigo Sanitario	Ministerio de Salud	Establece que en la importación, fabricación, almacenamiento, transporte, comercio, manejo o disposición de sustancias peligrosas deberán tomarse todas las medidas y precauciones necesarias para prevenir daños a la salud humana y animal, de acuerdo con la reglamentación del Ministerio de Salud.
Resolución 1362 de 2007.	Requisitos y procedimientos para el registro de generadores de residuos o desechos peligrosos.	Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial	Captura de información, con la finalidad de contar con información normalizada, homogénea y sistemática sobre la generación y manejo de residuos o desechos peligrosos originados por las diferentes actividades productivas y sectoriales del país.
Decreto 4741 de 2005	por el cual se reglamenta parcialmente la prevención y manejo de los residuos o desechos peligrosos generados en el marco de la gestión integral	Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial	Defrinciones: Remediación. Conjunto de medidas a las que se someten los sitios contaminados para reducir o eliminar los contaminantes hasta un nivel seguro para la salud y el ambiente o prevenir su dispersión en el ambiente sin modificarlos. Tratamiento. Es el conjunto de operaciones, procesos o técnicas mediante los cuales se modifican las características de los residuos o desechos peligrosos, teniendo en cuenta el riesgo y grado de peligrosidad de los mismos, para incrementar sus posibilidades de aprovechamiento y/o valorización o para minimizar los riesgos para la salud humana y el ambiente.

FUENTE: Autora 2013.

## 9. MARCO GEOGRAFICO

El campo la Hocha de donde se extrajo la muestra para realizar el proceso de biorremediación, se encuentra ubicado en el Municipio de Tesalia en el departamento del Huila a seis horas de Bogotá (402 Km), dentro del campo se encuentra la planta de optimización de arenas y el ZODME.

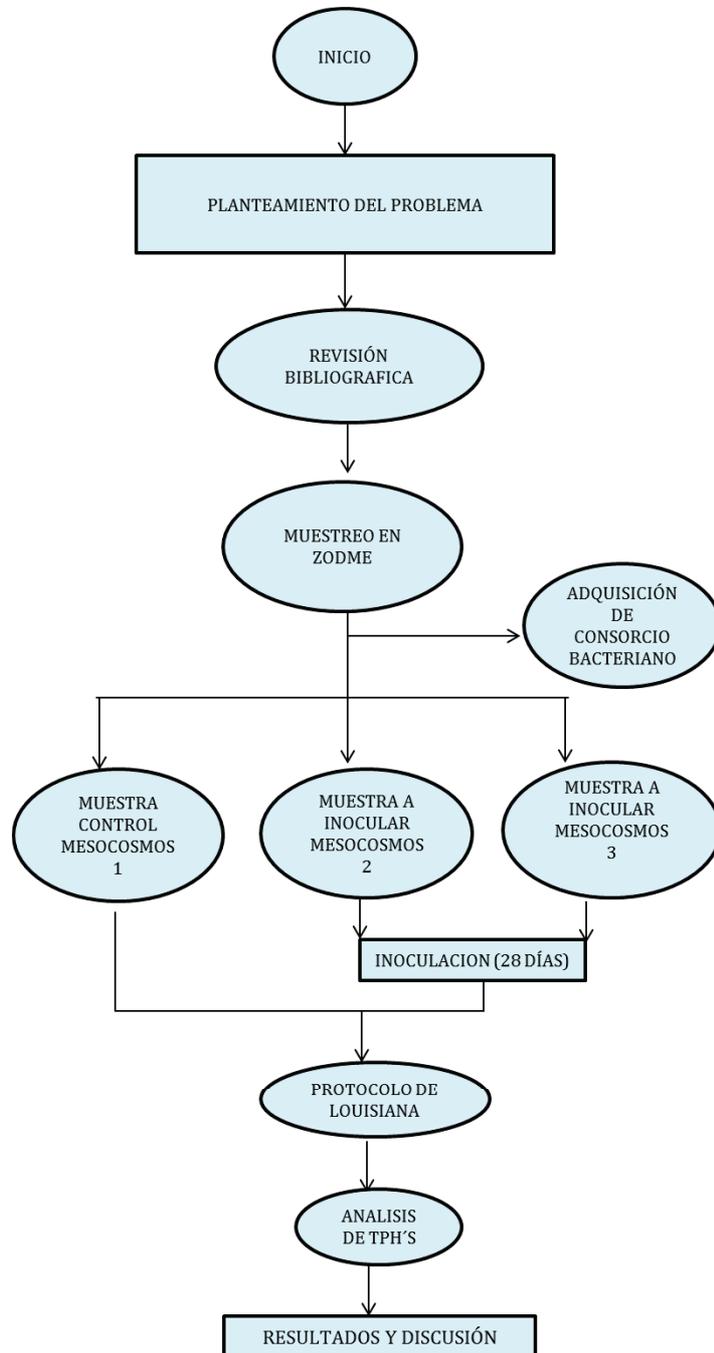
**Figura 9. Imagen ubicación Campo la Hocha. Anticlinal La Hocha.**



**Fuente:** Morales et al. 2001, et al. 2002 y Corredor, 2005 citado por Giovanni Jimenez Diaz, Análisis De La Deformación Y Modelo Estructural Basado En Datos Paleomagnetico Y Cinemáticos En El Sector Sur Del Valle Del Magdalena (Anticlinal De La Hocha), 2008. P. 15.

## 10. DISEÑO METODOLÓGICO.

Figura 10. Diseño metodológico



Fuente: Autora.

- **Planteamiento de problema:** este se realizó identificado inicialmente la industria a trabajar, en este caso el sector de hidrocarburos; segundo identificar una problemática en un determinado lugar de producción, tercero identificar la viabilidad de muestreo y análisis fisicoquímico de muestras y por último identificar la aplicación de los conceptos vistos durante la carrera de Ingeniería ambiental para dar solución al problema planteado.

- **Revisión Bibliográfica:**

**Fuentes primarias:** Personal de la compañía Antek S.A. que participó en muestreos en la zona de estudio; personal que participo en proyectos en los cuales se utilizaron muestras de esta zona, y por participación directa en estos mismos proyectos.

**Fuentes secundarias:** revisión de estudios preliminares acordes al tema de estudio (remediación) en diferentes fuentes, libros, Web, revistas científicas etc.

- **Muestreo Zona ZODME:**

Se realizó la inspección preliminar que permitió conocer el sistema de optimización de arenas de Campo La Hocha, adicionalmente se realizó inspección de la zona de disposición de sólidos tratados ZODME; en este lugar se realizó el muestreo.

El muestreo realizado es de tipo zeta tomando varias muestras aleatorias en toda la zona de disposición.

Posterior a la inspección se realizó el muestreo bajo los lineamientos MPC-5.7-33 "Muestreo de Suelos" versión 6 del 28 de enero de 2013, elaborado por el laboratorio de análisis ambiental y geoquímica Antek S.A

Los registros fotográficos correspondientes al reconocimiento del lugar de muestreo se pueden ver en los anexos.

- **Adquisición de consorcio Bacteriano:** la adquisición de este producto se realizó en la compañía QSM Chemicals. Ver ficha técnica en los anexos.

El producto es un consorcio bacteriano compuesto por especies Putida, Stutzeri y Fluorescens del género Pseudomona.

- **Inoculación:**

Para la inoculación se realizó homogenización del suelo tomado y se fraccionó en tres porciones, una porción se dejó como muestra control sin inocular, y las dos restantes se inocularon durante 28 días con el consorcio bacteriano.

Se realizó Dilución del producto de acuerdo a la hoja de cálculo enviada por el proveedor: (ver anexo)

Tabla 6. Producto Necesario Para Tratar Suelo Contaminado Con Hidrocarburos

PRODUCTO NECESARIO PARA TRATAR SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS		
Gramos	Microorganismos necesarios para liberar 1'000.000 UFC/Gr de solido a tratar	ml de producto (1E08 ufc/gr)
1000	1'000.000.000	10

Se multiplican los gramos a tratar por 1'000.000 (UFC) dividido 100.000.000 UFC/gr. Posteriormente se realizó homogenización y se mantuvo a temperatura entre 25°C y 30°C durante el 28 días; de acuerdo al estudio de EVALUACION DE LA ESTIMULACION EN LA BIODEGRADACION DE TPH'S EN SUELOS CONTAMINADOS POR PETROLEO.

Igualmente de acuerdo a este estudio y a las recomendaciones del proveedor se adicionó Urea (1gr) para con el fin de incrementar la actividad de biodegradación..

Para la adición del producto se utilizaron bandejas de aluminio; a continuación se muestra el registro fotográfico de la dosificación.

#### Registro fotográfico de dosificación:



Figura 11. Dosificación de consorcio bacteriano.



Figura 12. Mesocosmos 1 inoculado



**Figura 13. Mesocosmos 2 inoculado**



**Figura 14. Muestra control sin dosificar.**

- **Protocolo de lousiana 29 B:**

Luego de 28 días de inoculación se procedió a realizar protocolo de lousiana a las tres muestras (control, mesocosmos 1 y mesocosmos 2):

Esta norma estadounidense es la pionera de las reglamentaciones dadas a todas las actividades insdustriales que afectan el medio ambiente. Especificamente en el reglamento de Louisiana en su título 43, parte XIX, orden estatal 29B. Capítulo 3 están contemplados todos aquellos criterios y parámetros tenidos en cuenta para el manejo y disposición final de todos los residuos ocasionados por actividades de la industria, pertinentes la control de la contaminación, almacenamiento in situ, tratamiento y disposición de residuos.<sup>16</sup>

Los parámetros que incluye el protocolo de Lousiana se listan a continuación:

Arsenico <10 ppm  
Cadmio < 10ppm  
Cromo < 500ppm  
Mercurio <10ppm  
Plata < 200ppm  
Selenio <10ppm  
Zinc 500ppm  
Humedad inferior al 505 en peso  
Conductividad < 12 mmohm/cm  
Grasas y aceites < 1%

---

<sup>16</sup> Ivan Castelblanco, Jhon Niño et al. Manejo y Tratamiento Actual De Residuos Aceitosos En La Industria Petrolera Colombiana. Universidad Industrial de Santander. 2011. P. 51.

- **Metodologías de Análisis:**

En la siguiente tabla se muestran los métodos de análisis utilizados para la evaluación del desempeño del tratamiento enzimático compuesto por pseudomonas.

**Tabla 7. Metodologías de análisis**

PARAMETROS	TECNICA ANALITICA	METODO
<b>pH</b>	ELECTROMÉTRICO	SM 4500H+ B
<b>CONDUCTIVIDAD</b>	ELECTROMETRICO	SM 2510 B
<b>HUMEDAD</b>	GRAVIMETRICO	PROTOCOLO IGAC, 6 <sup>a</sup> ED/2006
<b>GRASAS Y ACEITES</b>	EXTRACCION POR ULTRASONIDO / INFRARROJO	NMX-AA-145-SCFI-2008 - SM 5520C
<b>PAH's</b>	CROMATOGRAFIA DE GASES - FID	SM 6440 B - EPA 8100
<b>RAS</b>	E.A.A./CALCULO	PROTOCOLO LOUISIANA
<b>ESP</b>	E.A.A./CALCULO	PROTOCOLO LOUISIANA
<b>BTEX</b>	CROMATOGRAFIA DE GASES - FID	EPA 8015D - EPA 5021
<b>ARSÉNICO</b>	E.A.A.E	EPA 3050 B - SM 3113 B
<b>BARIO</b>	I.C.P.	EPA 3050 B - SM 3120 B
<b>CADMIO</b>	E.A.A.	EPA 3050 B - SM 3111 B
<b>CROMO TOTAL</b>	E.A.A.	SM 3030 E - SM 3111 D
<b>PLOMO</b>	E.A.A.	FARMACOPEA EUROPEA
<b>SELENIO</b>	E.A.A.E.	EPA 3050 B - SM 3113 B
<b>PLATA</b>	I.C.P.	EPA 3050 B - SM 3120 B
<b>ZINC</b>	I.C.P.	EPA 3050B - SM 3120B
<b>HIDROCARBUROS PETROGENICOS</b>	CROMATOGRAFIA DE GASES - FID	EPA 3350C - EPA 8015D

- **Muestras Analizadas:**

Para este estudio se analizaron las siguientes muestras

**Tabla 8. Identificación de muestras analizadas.**

Identificación	Número de ingreso Antek	Descripción
<b>Muestra Campo La Hocha antes de tratamiento físico químico</b>	84745	Muestra sólida antes de ingresar al tratamiento de planta de optimización de Campo La Hocha
<b>Muestra Zodme Campo La Hocha 2011</b>	74477	Muestra tomada en 2011, análisis de protocolo de Louisiana 29B
<b>Muestra Zodme Campo La Hocha 2013 antes de tratamiento biológico</b>	115591	Muestra analizada antes del tratamiento biológico
<b>Muestra Zodme Campo La Hocha 2013 después de tratamiento biológico</b>	132844	Muestra analizada después del tratamiento biológico
<b>Muestra Zodme Campo La Hocha 2013 después de tratamiento biológico</b>	132845	Muestra analizada después del tratamiento biológico

## 11. RESULTADOS

Inicialmente se realizó la caracterización del crudo proveniente de la producción petrolera del Campo La Hocha, con el fin de identificar su composición:

### 11.1. CRUDO PETROLEO LA HOCHA

La composición del crudo La Hocha resultante del fraccionamiento y cuantificación gravimétrica de las fracciones saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos (Tabla 6.) presenta una clasificación de crudos parafinicos y parafino- naftenico de origen marino de acuerdo a la clasificación de Tissot & Welte ,1995.

**Tabla 9. Composición SARA crudo La Hocha. (Método Nigoga ED 4,0 2000 L.C)**

PARAMETROS	UNIDADES	TECNICA ANALITICA	CRUDO LA HOCHA
<b>SATURADOS</b>	%	CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA	39,73
<b>AROMÁTICOS</b>	%	CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA	31,54
<b>RESINAS</b>	%	CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA	14,46
<b>ASFALTENOS</b>	%	GRAVIMETRÍA	14,27



**Tabla 10. Tabla de resultados físicos químicos y de cromatografía muestras evaluadas**

REPORTE DE RESULTADOS # 1						
PARAMETROS	UNIDADES	HISTORICO ARENAS LAVADAS ZODME 2011	ARENAS LAVADAS ZODME 2013 ANTES DE TRATAMIENTO BIOLÓGICO	ARENAS LAVADAS ZODME 2013 DESPUES DE TRATAMIENTO BIOLÓGICO	ARENAS LAVADAS ZODME 2013 DESPUES DE TRATAMIENTO BIOLÓGICO	PROTOCOLO DE LOUISIANA 29 B
		ANTEK 74477	ANTEK 115591	ANTEK 132844	ANTEK 132845	
pH	UNIDADES	8,10	8,20	8,40	8,83	6 -- 9
CONDUCTIVIDAD	µS/cm	1260	0,950	0,486	4,33	< 4000
HUMEDAD	%	0,80	0,92	0,63	0,49	< 50%
GRASAS Y ACEITES	%	2,65	2,58	0,89	1,16	10000
TPH	%	1,60	1,13	0,118	0,251	N.E.
RAS		0,71	1,60	1,50	12,64	<12
ESP	%	0,0	0,92	0,92	14,49	<15
BTEX	Ppm	0,897	0,987	0,524	0,675	N.E
ARSÉNICO	Ppm	0,289	0,298	0,345	0,321	10
BARIO	Ppm	7,28	125	136	31,2	20000
CADMIO	Ppm	<0,625	<0,875	<0,875	<0,875	10
CROMO TOTAL	mg/L	<5,38	<10,0	<10,0	<10,0	500
PLOMO	Ppm	<6,13	<10,0	<10,0	<10,0	N.E
SELENIO	Ppm	0,325	0,134	0,125	0,112	10
PLATA	Ppm	<0,25	<10,0	<10,0	<10,0	200
ZINC	Ppm	3,35	<10,0	<10,0	<10,0	500
						6 - 9

**Fuente:** Laboratorio Antek S.A

N.E.: No específica, los parámetros con esta nota no presentan límite en el protocolo de Louisiana 29B.

Para el caso de los TPH's se hace importante identificarlos a pesar de que la norma (protocolo de Louisiana) no lo solicita, ya que este porcentaje indica que fracción de grasas y aceites corresponde a grasas de origen petrolífero (Hidrocarburos), discriminando las grasas que no son solubles en solventes orgánicos.

Al realizar la disminución de TPH's paralelamente se realiza la disminución del contenido de grasas y aceites; esta disminución de TPH's implica beneficios para el ambiente, ya que se disminuyen los componentes que generan mayor impacto.

### 11.1.2. Potencial de Hidrogeniones (pH)

Este parámetro es importante para la actividad enzimática y para el desarrollo de los microorganismos degradadores de hidrocarburos, el rango óptimo está entre 6 -8 unidades, para los procesos de biorremediación, Valores de pH inferiores a 6 unidades (ácidos)

inhiben el crecimiento de la gran mayoría de los grupos microbianos, lo mismo pasa con valores mayores de 8 unidades (alcalinos) (Ritter, y Scarborough, *et al.*, 1995., Mehrasbi, *et al.*, 2003., Vallejo, *et al.*, 2005).

### 11.1.3. Grasas y Aceites E Hidrocarburos Totales

La versatilidad metabólica del grupo de las *Pseudomonas* se debe a la presencia de un gran número de plásmidos que contienen operones inducibles para la síntesis de enzimas específicas que permiten catabolizar los compuestos presentes en el medio le confiere una importancia grande a las bacterias del género *Pseudomonas* como digestores aerobios de materiales animales y vegetales, lo que contribuye al reciclaje biológico de materia orgánica (Todar, *et al.*, 2000).

Los resultados de grasa y aceites y TPH después del tratamiento biológico cumplen con los objetivos planteados, ya que si se utilizara esta alternativa de biorremediación en el ZODME de campo La Hocha se lograría disminuir los niveles hasta un punto inferior a lo solicitado por el Protocolo de Lousiana; lo que implica que en un futuro cuando se termine la producción de arenas se podrán reutilizar estos suelos para otros fines.

### 11.1.4. Metales

Como se puede observar en los resultados las concentraciones de metales eran muy bajas en ocasiones inferiores al límites de cuantificación del laboratorio; siendo esto benéfico ya que no se tendrán impactos ambientales asociados a concentraciones elevadas de metales.

## 11.2. EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DE LAS BACTERIAS PESUDOMONAS

### 11.2.1. Hidrocarburos Petrogénicos Totales y Grasas Y Aceites:

Los resultados de grasas y aceites y TPH de las muestras estudiadas se comparan en la siguiente tabla:

**Tabla 11. Comparación resultados grasas y aceites y TPH**

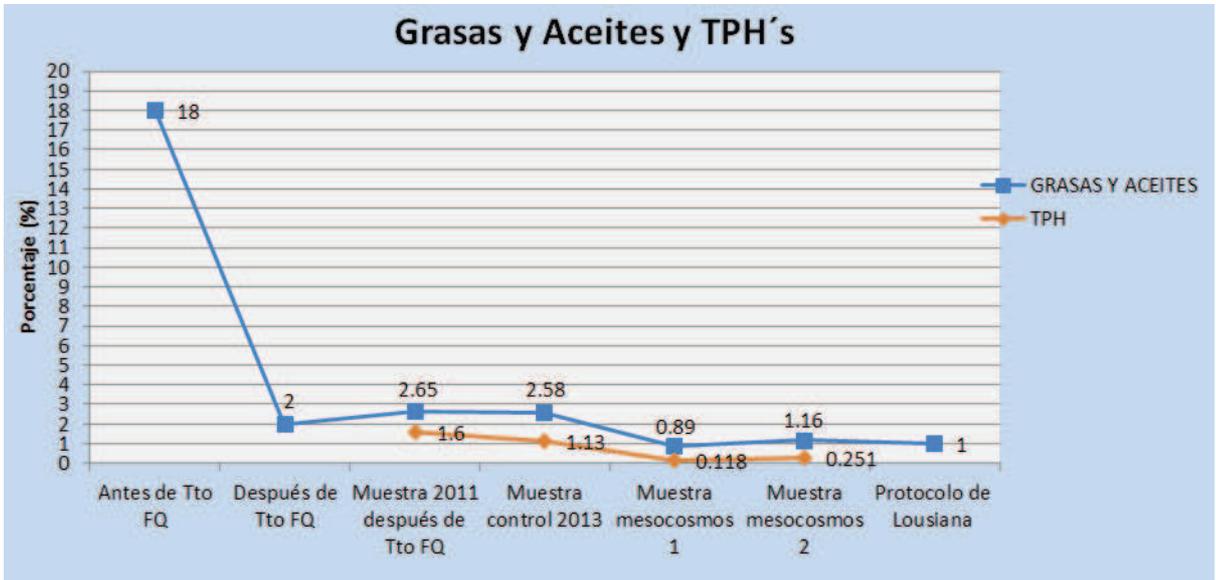
Parámetro	Muestra ZODME 74477 de 2011	Muestra ZODME 115591 de 2013	Muestra ZODME 132844	Muestra ZODME 132845	Protocolo de Lousiana (%)
TPH (%)	1,60	1,13	0,118	0,251	N.E.
G Y A (%)	2,65	2,58	0,89	1,16	< 1

N.D.: No determinado

N.E: No especifica

La muestra 74477 corresponde a una muestra tomada en el ZODME en 2011 y a la cual se le realizó protocolo de Lousiana 29B, con esta muestra se evidencia los antecedentes de niveles superiores al 1% de TPH en las arenas dispuestas después del tratamiento físico químico.

Figura 16. Comportamiento de Grasas y aceites y TPH's de las muestraevaluadas.



Las arenas que se producen en el campo La Hocha llegan a la planta de optimización con una concentración inicial de materia orgánica de 18% aproximadamente, esta materia orgánica es en su totalidad de origen petrogénico, luego del tratamiento físico químico la arena queda con una concentración de grasas y aceites del 2% aproximadamente, siendo este un valor que se sale de las especificaciones establecidas por el Ministerio de Medio Ambiente en el protocolo de Louisiana 29B, es por esto que se hace necesario complementar la tecnología actualmente implementada con tratamiento biológico los cuales son económicos y eficientes, como se puede ver en la Figura 16. Comportamiento de Grasas y aceites y TPH's de las muestra. el tratamiento biológico logra disminuir la concentración de TPH hasta un 0,118%, y 0,251% para mesocosmos 1 y 2 respectivamente; con esta disminución de TPH's se logra bajar las concentraciones de grasas y aceites hasta los límites permisibles.

### 11.2.2. COMPARACION PERFILES CROMATOGRÁFICOS ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO

Figura 17. Cromatograma muestra antes del tratamiento, muestra control (Número Antek 115591):

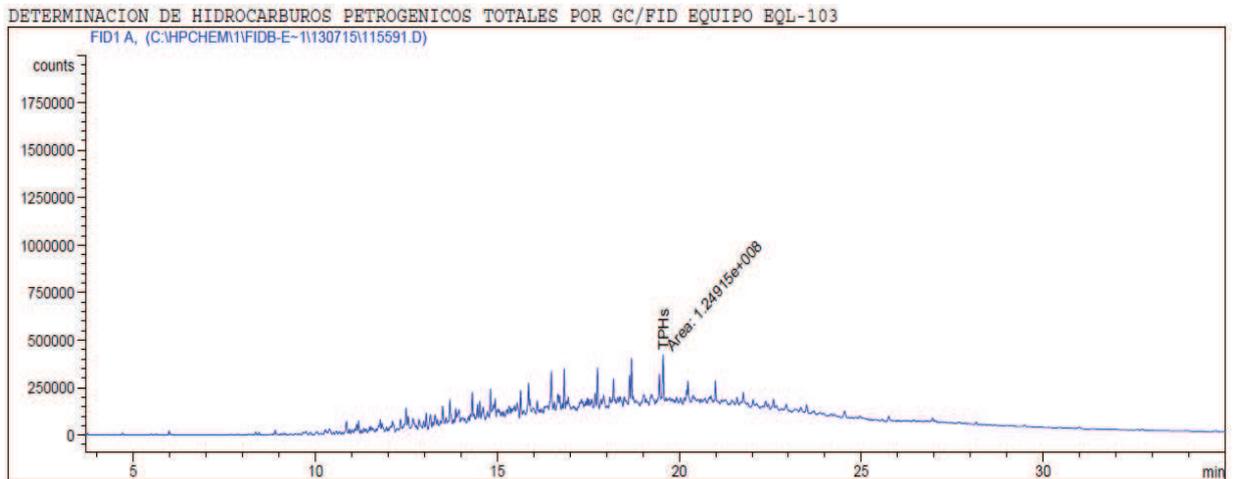
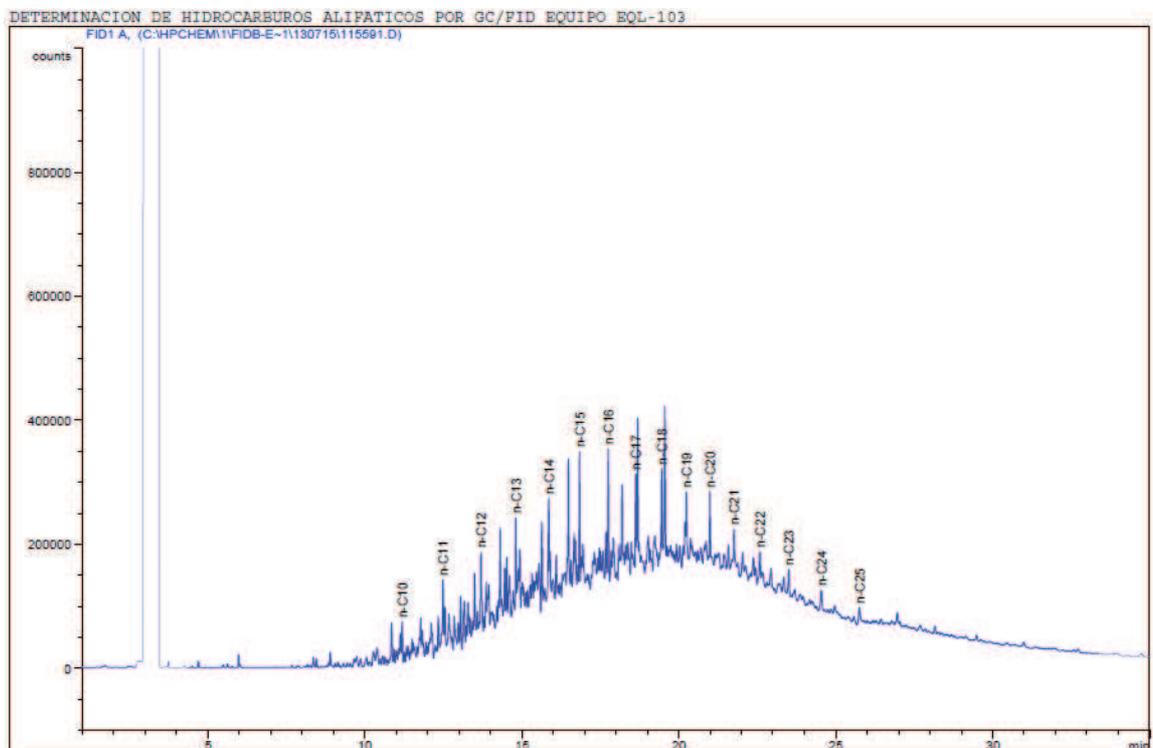
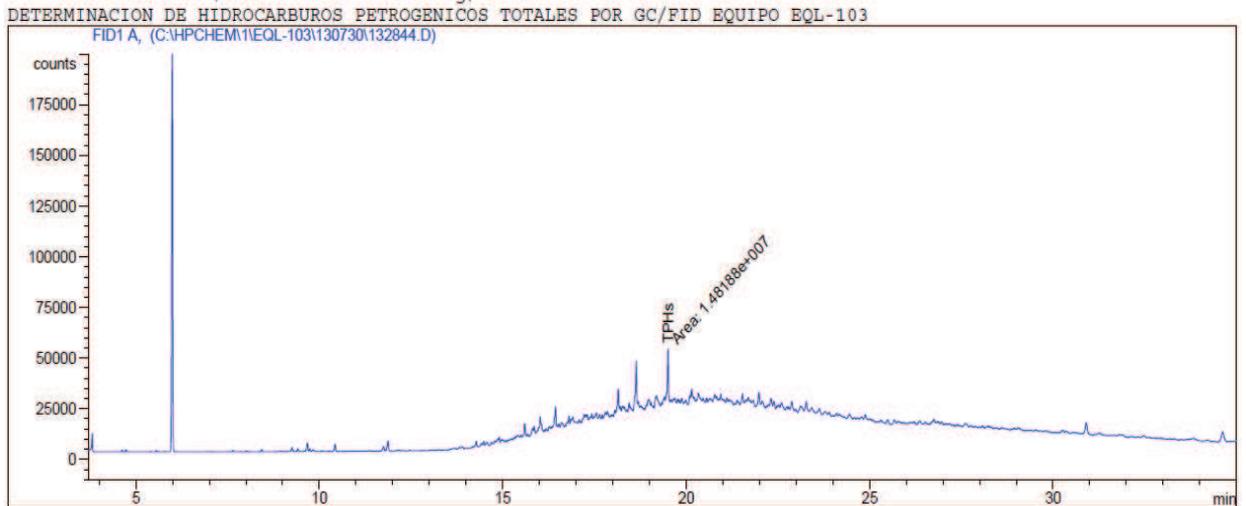


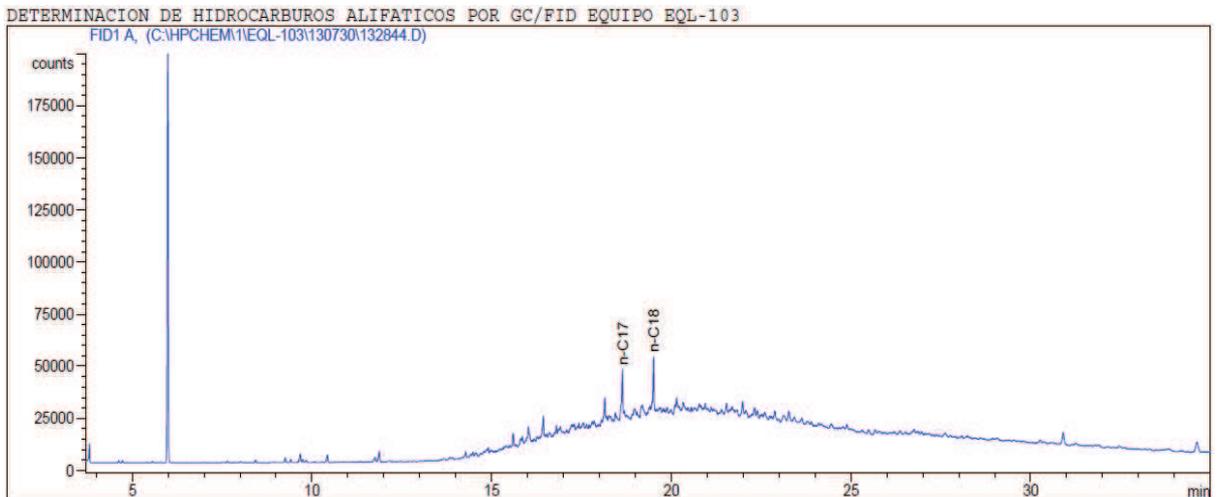
Figura 18. Cromatograma perfil alifáticos muestra antes del tratamiento, muestra control (Número Antek 115591):



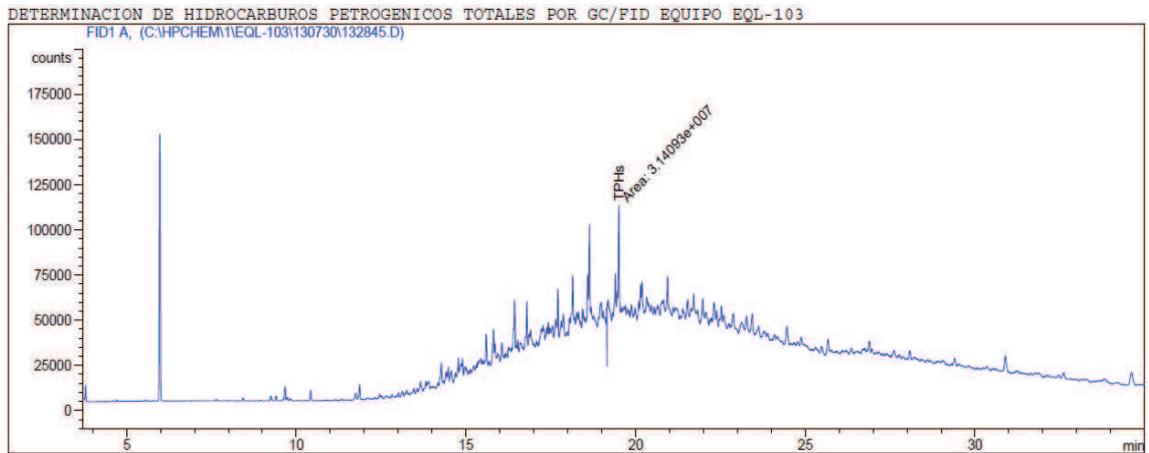
**Figura 19. Cromatograma después del tratamiento, Mesocosmos 1 (Número Antek 132844)**



**Figura 20. Perfil de alifáticos del mesocosmos 1, después de 28 días de inoculación. 2 (Número Antek 132844)**



**Figura 21. . Cromatograma después del tratamiento, Mesocosmos 2 (Número Antek 132845)**



**Figura 22. Perfil de alifáticos del mesocosmos 2, después de 28 días de inoculación. 2 (Número Antek 132845)**

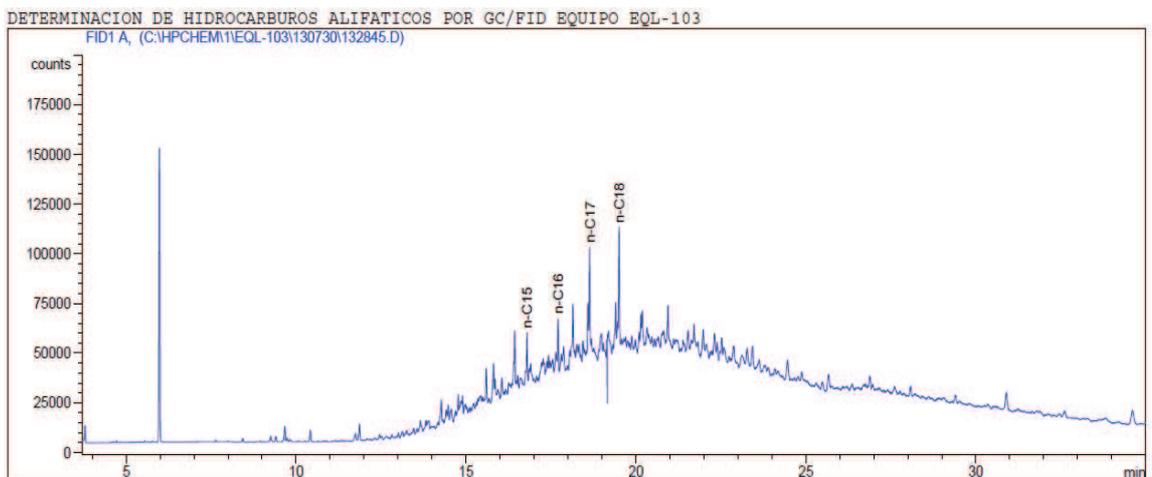
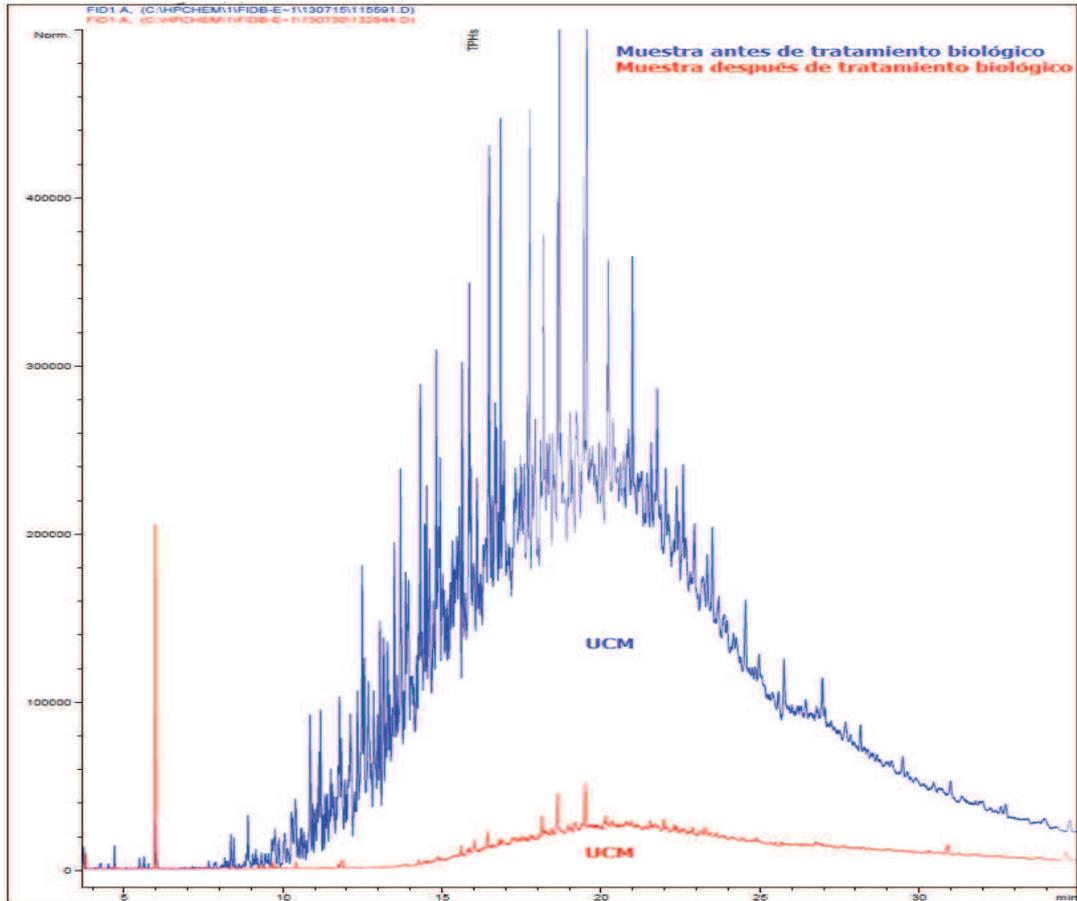
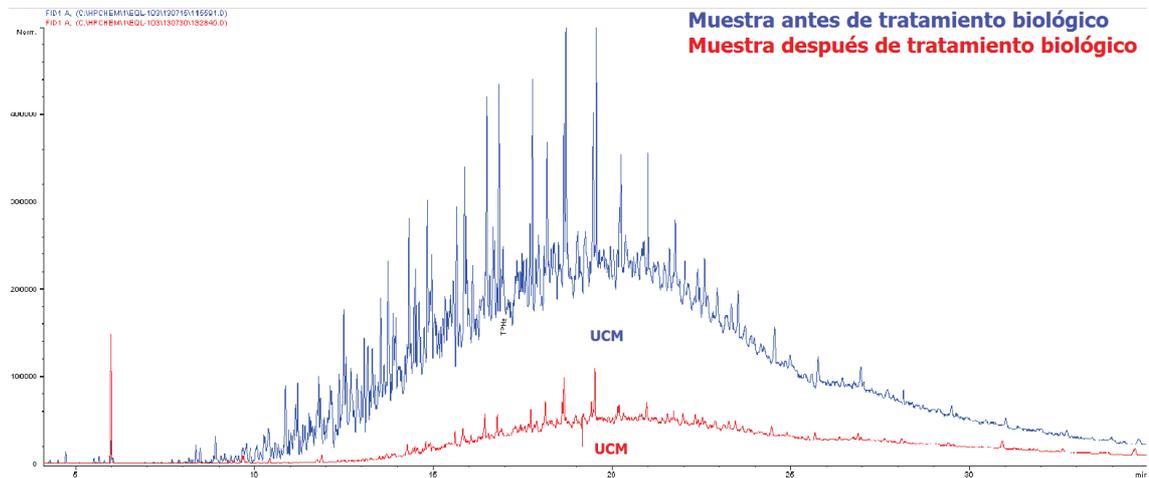


Figura 23. Cromatogramas superpuestos antes y después del tratamiento biológico Mesocosmos 1. (Antek: 132844)



**Figura 24. Cromatogramas superpuestos antes y después del tratamiento biológico Mesocosmos 2 (Antek: 132845)**



### 11.3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La extracción de los hidrocarburos del suelo analizado en el presente documento, son de origen netamente petrogénico; de acuerdo a lo expuesto por el cromatograma de análisis Figura 18. Cromatograma perfil alifáticos muestra antes del tratamiento, muestra control (Número Antek 115591):Figura 15. Perfil cromatográfico Campo la Hocha. su perfil puede correlacionarse con un crudo semipesado no por presencia de hidrocarburos de alto peso molecular, pues su molécula más pesada en contenido apreciable es aproximadamente C30; rango donde se considera inicia la distribución de parafinas sedimentables por alto peso molecular. Se observa entonces una distribución principal con un único nodo correspondiente al hidrocarburo C16 al C18; probablemente su ambiente degradativo en la formación es el responsable de su bajo API y se evidencia en la prominente área bajo la curva donde se acumulan hidrocarburos que no pueden ser separados por la columna cromatografica debido a su naturaleza polar, es decir moléculas de resinas y asfáltenos. Esa conjugación de crudo con gran aporten en concentración de hidrocarburos livianos junto con un ambiente degradativo, ya sea bacteriana o termoquímica, da como resultado crudos con perfiles similares al observado en el presente estudio. Se debe tener en cuenta también, el aporte oxidativo por efectos de weathering, ya que la muestra en evaluación fue extraída de un suelo en condiciones de intemperie (durante un tiempo no determinado) y la degradación generada por el mismo método de extracción en laboratorio.

Se puede establecer de manera cualitativa el alcance de la degradación por weathering, comparando los cromatogramas correspondientes al crudo representativo del campo y al objeto de esta discusión (Figuras 15 y 18). Se puede observar que los procesos oxidativos aeróbicos por exposición al ambiente, y por acción de bacterias nativas, sumado al tratamiento térmico y químico sufrido durante el proceso de lavado (Unidad de optimización de suelos) han realizado un efecto de supresión de la fracción liviana del crudo analizado; los picos correspondientes a los primeros tiempos de retención presentes en el crudo

representativo del campo, se encuentran ausentes en el impregnado en el suelo analizado, estos picos son correspondientes a las fracciones livianas tales como BTEX, C6 - C9, cicloalcanos e isoprenoides volátiles.

### **Alcance de la degradación del crudo impregnado en el suelo por efecto del proceso de Bioremediación:**

Las figura 23 y 24, presentan en superposición los cromatogramas correspondientes al crudo impregnado sin tratamiento biológico versus el crudo extraído del sólido de la muestra después de ser tratado durante 28 días con el género *Pseudomona* especies *Putida*, *Stutzeri* y *Fluorences*.

Las figuras permite evidenciar sin mucho esfuerzo visual el efecto de la pseudomona en la degradación del hidrocarburo; los cromatogramas superpuestos con la misma atenuación y en la misma escala permiten diferenciar la generosa degradación en todo el rango de distribución de cadenas hidrocarbonadas de origen alifático: la intensidad de todos los picos alcanicos y la relación entre las señales mayoritarias y las minoritarias, correspondientes a los interparafínicos (hidrocarburos saturados ramificados) se hace muy cercana a 1; lo que implica una degradación absoluta con un mínimo remanente de hidrocarburos principalmente los que cercanos al nodo de mayor concentración, es decir de C16 a C18; no obstante las concentraciones son mínimas, más si se comparan con el cromatograma inicial.

Sucede paralelamente una degradación de los hidrocarburos polares y aromáticos con la misma intensidad que para la fracción alcanica; este efecto se evidencia en la disminución del área bajo la curva o la giba de hidrocarburos no separados por la columna (UCM); cuya intensidad se ve mitigada en más de un 95% por el efecto degradativo de la pseudomona; la abundancia aproximada de la UCM para el extracto sin tratar es de aproximadamente 2500000 (intensidad del eje Y del cromatograma), mientras que para el extracto tratado con bacteria no supera las 10000 cuentas. Si se hace relación en términos de área, se puede observar incluso una mayor mitigación consecuyente con la degradación.

Como es de entenderse, la disminución de los picos cromatograficos junto con la de la giba de hidrocarburos no resueltos, es la certeza de la eficiencia de la pseudomona en el proceso de biodegradación; confiriéndole al producto evaluado serias posibilidades de aplicación industrial principalmente en procesos de bioremediación. Su acción no solo se limita a la degradación de hidrocarburos saturados del crudo, sino que se extiende a la síntesis oxidativa bacteriana de todas las fracciones incluyendo las aromáticas y demás polares como las resinicas y los asfaltenicas. Todas las apreciaciones realizadas son cualitativas y con evidencia soportada en las metodologías y resultados cromatográficos, cálculos y resultados cuantitativos no hacen parte del alcance del presente documento.

La pregunta que podrá surgir a partir de las aseveraciones anteriores es la siguiente: Cuales son los productos del proceso degenerativo de los hidrocarburos petrogénicos? Porque no se observa su presencia en los cromtatogramas?

De acuerdo a los estudios realizados, las pseudomonas actúan en forma oxidativa enzimática, siguiendo el mismo patrón de oxidación de cualquier hidrocarburo: Alcano --- alcohol ----

aldehído --- ácido carboxílico. Similar el proceso de oxidación para el caso de los aromáticos en los que el producto final también son ácidos carboxílicos aunque los intermedios reactivos son diferentes por la naturaleza olefínica cíclica de los anillos aromáticos.

Ningún ácido graso es cualificable o cuantificable mediante la metodología usada en el presente estudio; la baja presión de vapor de este tipo de compuestos hace imposible su vaporización en el puerto de inyección del cromatografo, impidiendo incluso que alcancen a llegar a la columna de separación por el gas carrier. Metodologías similares a las contempladas en ASTM D 7371 o ASTM D 7806, especifican una previa derivatización que genera por reacción química el éster del ácido graso, compuesto ya cuantificable por cromatografía de gases con metodologías análogas a la usada en este estudio. Es posible mediante este mecanismo, determinar el avance de la reacción degradativa de aceites petrogénicos por acción de las pseudomonas; sin embargo, se deja a consideración para futuros estudios, ya que no hace parte del presente estudio

La evidencia de la degradación de alcanos por efecto del metabolismo de la *Pseudomona Putida* (*degradadora de alcanos*), se puede observar en el perfil de alifáticos (Figuras 20 y 22), ya que luego de los 28 días de evaluación se aprecian solo los alcanos y/o picos correspondientes a los compuestos de nC-17 y nC-18 para el mesocosmos 1 y nC-15, nC-16, nC-17 y nC18 para el caso del mesocosmos 2, teniendo en cuenta que antes de la inoculación se tenía un perfil de alifáticos de nC-10 hasta nC-25.(Figura 18).

.Kang y Hua, (2005) utilizaron el Proceso Fenton para eliminar benceno, tolueno, etilbenceno y xileno alcanzando el 97% de su eliminación en tres horas en presencia de 300 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y 10 mM Fe(III). Se mejoró la velocidad de eliminación de estos compuestos combinando Fe(III), N-(2-hidroxi)etil) ácido iminoacético y 300 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.<sup>17</sup> Este mismo efecto se observó en el presente estudio, en el cual el tratamiento primario elimina la fracción de BTEX para posterior tratamiento con microorganismos.

#### **Efectividad tratamiento biológico:**

- Porcentaje de disminución de grasas y aceites:

#### **Mesocosmos 1:**

$$2,58 (\% \text{ inicial}) - 0,89(\% \text{ final}) = 1,69\%$$

$$\frac{1,69}{2,58} * 100 = 65\%$$

---

<sup>17</sup> Kang, Namgoo and Hua, Inez. (2005). "ENHANCED CHEMICAL OXIDATION OF AROMATIC HYDROCARBONS IN SOIL SYSTEMS". *Chemosphere*, vol. 61, No. 7 (November), pp. 909-922 Citado por: Óscar Darío Beltrán Pérez, Linda Ivette Berrío Giraldo, Édison Alexander Agudelo, Santiago Alonso Cardona Gallo, et al. TECNOLOGÍAS DE TRATAMIENTO PARA LA TIERRA FULLER CONTAMINADA CON ACEITE DIELECTRICO, Envigado, 2013.

**Mesocosmos 2:**

$$2,58 (\% \text{ inicial}) - 1,16 (\% \text{ final}) = 1,42\%$$

$$\frac{1,42}{2,58} * 100 = 55\%$$

- Porcentaje de disminución de TPH's

**Mesocosmos 1:**

$$1,13 (\% \text{ inicial}) - 0,118 (\% \text{ final}) = 1,012\%$$

$$\frac{1,012}{1,13} * 100 = 89,5\%$$

**Mesocosmos 2:**

$$1,13 (\% \text{ inicial}) - 0,251 (\% \text{ final}) = 0,879\%$$

$$\frac{0,879}{1,13} * 100 = 77,8\%$$

El tratamiento biológico permite disminuir en un periodo de 28 días el entre 89,5 y 77,8 % del contenido de hidrocarburos totales inicial, logrando así disminuir la concentración de grasas y aceites para cumplir con los límites del protocolo de Louisiana 29B.

## 12. CONCLUSIONES

- Luego de 28 días de remediación con los agentes biológicos *Pseudomonas Stutzeri*, *Putida* y *Fluorencens* se evidenció disminución de hidrocarburos totales del petróleo en porcentajes del 89,5% y 77,8% para los mesocosmos 1 y 2 evaluados respectivamente.
- La disminución de TPH's permitió a su vez generar una disminución en las concentraciones de grasas y aceites llegando a 0,89% para el mesocosmos 1 y 1,16% para el mesocosmos 2. Este último se encuentra fuera del protocolo de Louisiana por un mínimo porcentaje; esta leve diferencia es la que se aprecia en los perfiles cromatográficos de alifáticos, en los cuales se observa que en el mesocosmos 1 se generó una oxidación superior de los alcanos y aromáticos (UCM). Sin embargo se aprecia que la combinación de las dos técnicas de remediación son viables para cumplir con los requisitos de la legislación; teniendo en cuenta que si se hubiera evaluado en un periodo mayor (30 a 40 días) es posible que se consiguiera la disminución hasta el límite de 1% de grasas y aceites para el mesocosmos 2.
- De acuerdo a los resultados de perfil cromatográfico de TPH's de la muestra control (sin inoculación) y los mesocosmos 1 y 2 (inoculados) se evidenció que las especies *Pseudomona Putida*, *P. Stutzeri* y *P. Fluorencens* junto con el enriquecimiento de nitrógeno son altamente eficientes en procesos de Biorremediación de suelos contaminados con Hidrocarburos; esto gracias a su gran diversidad metabólica, capaz de transformar, biodegradar y utilizar como única fuente de carbón compuestos de hidrocarburos, consumiendo desde las cadenas más simples de hidrocarburos hasta las complejas como lo son los hidrocarburos aromáticos policíclicos.
- De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que la integración de las técnicas de remediación fisicoquímica y biológica resultan una alternativa viable para la disposición de los suelos contaminados con hidrocarburo del Campo La Hocha; ya que la remediación biológica es un proceso que se puede realizar directamente en el Zedme, es una técnica de bajos costos y se evita a su vez los incrementos en costos debido a aumentos en concentraciones de productos químicos.
- La evidencia de la degradación de alcanos por efecto de las rutas metabólicas de la *Pseudomona Putida* se puede observar en los cromatogramas de los perfiles de alifáticos; ya que el perfil inicial de estos compuestos antes de la inoculación presenta compuestos en el rango de nC-10 hasta nC-25.(Figura 18). y luego de los 28 días de inoculación el mesocosmos 1 se aprecian solo los alcanos correspondientes a los compuestos de nC-17 y nC-18, para el mesocosmos 2 resultan solo los compuestos nC-15, nC-16, nC-17 y nC-18.
- De acuerdo a los estudios realizados, las pseudomonas actúan en forma oxidativa enzimática, siguiendo el mismo patrón de oxidación de cualquier hidrocarburo:

Alcano --- alcohol ---- aldehído --- ácido carboxílico. Similar el proceso de oxidación para el caso de los aromáticos en los que el producto final también son ácidos carboxílicos aunque los intermediarios reactivos son diferentes por la naturaleza olefínica cíclica de los anillos aromáticos. Para el caso de los aromáticos la acción de las rutas metabólicas de las bacterias Stutzeri y Fluorencens se ve reflejada en la disminución de la jiba(UCM) en el perfil cromatográfico de TPH's.

### **13. RECOMENDACIONES**

- Realizar estudio con diferentes densidades de petróleo crudo; para este estudio se utilizó un crudo de densidad pesada. Por lo cual sería interesante evaluar el comportamiento de las rutas metabólicas con diferentes tipos de hidrocarburo.
- Evaluar la producción de ácidos grasos por métodos cromatográficos realizando la derivatización de este producto para evidenciar sus concentraciones y realizar la relación del consumo y producto de los agentes remediadores biológicos.
- Evaluar el crecimiento bacteriano por medio de técnicas analíticas microbiológicas.
- Evaluar la eficiencia de degradación del consorcio bacteriano sin la adición de sales inorgánicas (urea).

## BIBLIOGRAFIA

- Benavides, L. y Quintero, G. 2006. Biorremediación de Suelos Contaminados con Hidrocarburos Derivados del Petróleo. Publicación Científica Nova 4: 4.
- García, E., Roldán, F., Garzón, L. 2011. Evaluación de la Bioestimulación (Nutrientes) en Suelos Contaminados con Hidrocarburos Utilizando Respirometría. Acta biol. Colomb., Vol. 16 N. °1, 195- 208.
- Gómez, S., Gutiérrez, D., Hernández, A., Hernández, C., Losada, M., y Mantilla, P. 2008. Factores Bióticos y Abióticos que Condicionan la Biorremediación por *Pseudomonas* en Suelos Contaminados por Hidrocarburos. Bacteriología y Laboratorio Clínico de la Universidad, Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá Colombia.
- Pardo, J., Perdomo, M., Benavides, J. 2004. Efecto de la Adición de Fertilizantes Inorgánicos Compuestos en la Degradación de Hidrocarburos en Suelos Contaminados con Petróleo. Ingeniería Ambiental y Sanitaria, Universidad De La Salle. Universidad de La Salle. Bogotá D.C., Colombia.
- Randy H. Schroeder A, Domínguez V, García L. Potencial de la Biorremediación de suelo y agua impactados por petróleo en el trópico de México. Terra. 1999; 17(2): 159-174.
- Restrepo R. Derrame de hidrocarburos. Impacto en los ecosistemas tropicales. ECOPETROL Instituto Colombiano de Petróleo. 2002.
- Ríos, R. 2005. Estudio de la Estimulación Biológica Para el Tratamiento de Residuos de Perforación Petrolera Empleando Lisímetros. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. Casa Abierta al Tiempo. México D.F.
- Cleves, I.; Sandoval, M. 2001. Evaluación de la biodegradación de hidrocarburos presentes en suelos contaminados con lodos aceitosos de la industria petrolera (Huila-Colombia). Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Básicas. Pontificia Universidad Javeriana.
- Sampieri Hernández Roberto, Collado Fernández Carlos, Baptista Lucio Pilar. 2006. Capítulo 5 Definición del alcance de la investigación a realizar: exploratoria, descriptiva, correlacional o explicativa. Metodología de la Investigación. México. Mc Graw Hill.
- Schmidt W. Suelos contaminados con hidrocarburos: la Biorremediación como una solución ecológicamente compatible. Cooperación Técnica Alemana (GTZ). 2000. En: [www.gtz.org.mx/sitios-contam/articulos/biorremed\\_Mex2.pdf](http://www.gtz.org.mx/sitios-contam/articulos/biorremed_Mex2.pdf).

- Standard Methods. 2005. Standard Methods for the examination of water and wastewater. American public health association. American water association. Water environmental federation. 21<sup>th</sup> ed. Washintong D.C.
- Vallejo, V., Salgado, L., y Roldán, F. 2005. Evaluación de la Bioestimulación en la Biodegradación de TPHs en Suelos Contaminados con Petróleo. Rev. Col. Biotec., 2 (2): 67-78.
- Victor Machado, 2014. Lavado de suelos Ex Situ (Soil Washing).
- Óscar Darío Beltrán Pérez, Linda Ivette Berrío Giraldo, Édison Alexánder Agudelo, Santiago Alonso Cardona Gallo, et al. 2013. Tecnologías De Tratamiento Para La Tierra Fuller Contaminada Con Aceite Dieléctrico, Revista .EIA.Esc.Ing.Antioquia No.19 Envigado. Ene./Jun. 2013
- Ivan Castelblanco, Jhon Niño et al. Manejo y Tratamiento Actual De Residuos Aceitosos En La Industria Petrolera Colombiana. Universidad Industrial de Santander. 2011.
- Ernesto Alanis, Isabel Guerrero, Pseudomonas en Biotecnología, Mexico. Revista Biotecnología. P. 29. 30.

# ANEXOS

**Anexo 1. Registro fotográfico monitoreo.**

**Figura 25. Fotografía ZODME Campo La Hocha**



*Fuente: Autor 2013*

**Figura 26. Planta de optimización de arenas Campo La Hocha**



**Figura 27. Fotografía sólidos tratados dispuestos en el ZODME**



## Anexo 2. Ficha técnica Consorcio Bacteriano.



### TRATAMIENTO ENZIMATICO PARA RESIDUOS DE PETROLEO Y DERIVADOS

Este es un producto de alta tecnología enzimática diseñado y desarrollado especialmente para controlar y eliminar la contaminación de suelos y aguas causada por petróleo crudo y/o destilado y sus derivados como gasolina, aceites y grasas. Para obtener resultados óptimos se recomienda utilizar este producto en aplicaciones contenidas y áreas específicas, de tal manera que el tratamiento se pueda administrar y supervisar debidamente.

Con una amplia gama de aplicaciones industriales e institucionales, es la alternativa segura, efectiva y económica para eliminar la contaminación ambiental causada por hidrocarburos. Es 100% biodegradable, no es tóxico, no es inflamable y no contiene sustancias químicas.

#### Aplicaciones a suelos:

1. Diluir ½ galón (2 litros) de producto en 4 galones (16 litros) de agua limpia por yarda cúbica (0.77 metros cúbicos) de tierra contaminada donde el contenido de hidrocarburos de petróleo no exceda 100.000 ppm (partes por millón).
2. Al aplicar el tratamiento se debe mezclar con la tierra usando algún tipo de arado o maquinaria que facilite esta operación.
3. Es importante irrigar el suelo varias veces después de aplicado el tratamiento para mantener la humedad de la tierra en aproximadamente un 30 -40%.
4. En casos que el nivel de contaminación supere 50.000 ppm es probable que se requiera más de una aplicación.
5. No aplique este producto cuando la temperatura del suelo este por debajo de los 50 grados Fahrenheit por un periodo de mas de 90 días después del tratamiento, ó ante la presencia de hidrocarburos clorinados.

#### Aplicación en Agua:

1. Diluir ½ galón (2 litros) de PRODUCTO por cada 600 galones (2280 litros) de agua contaminada donde el total de hidrocarburo de petróleo es 100.000 ppm o menos.
2. En casos que el nivel de contaminación supere 50.000 es probable que se requiera más de una aplicación.
3. No aplique este producto en aguas en las cuales la salinidad exceda el 6 % o ante la presencia de hidrocarburos clorinados.

#### Datos generales:

La degradación de los hidrocarburos comienza inmediatamente después de la aplicación y continúa hasta que todos han sido consumidos, tomado entre 26 y 50 días dependiendo del área y el grado de contaminación del lugar en tratamiento.

Si los suelos o aguas tratados tienen deficiencia de nitrógeno y/o fósforo, se debe agregar un suplemento (Nutriente)

#### PRODUCTO

Descripción: Biodigestor de Hidrocarburos.

#### Propiedades:

- Forma ..... Líquido
- Olor ..... Perfumado
- Efectividad en agua .....Excelente

Dirección: Cra 58 No. 74g- 64 Teléfonos: 5636164 -5635596 fax: 2612826



• Detergentes .....	Mínimo
• Espuma .....	N/A
• Fosfatos .....	Ninguno
• Biodegradabilidad .....	Completa
• Estable en Almacenaje .....	14 meses
• Estabilidad en Frío .....	32 ° F
• Factor Corrosivo .....	Ninguno
• Inflamabilidad .....	Ninguna
• Punto de Ebullición .....	212 ° F
• Presión de Vapor .....	Ninguna
• Soluble en Agua .....	100 %
• Gravedad Específica .....	1.09
• Volatilidad por Volumen .....	91 %
• Parámetro de pH .....	5.5 – 8.5
• Ácidos .....	Ninguno
• Peso por Galón .....	8.4 Lbs.

#### Contenido:

- Agua (7732-18-5)
- ENZIMAS (Mezcla) Las bacterias presentes son: Pseudónimas (3 clases) :
- Pseudomonas Fluorescens (5)
- Pseudomonas Putida (3)
- Pseudomonas Stutzeri
- Cultivo Bacterial (Mezcla)
- Fragancia (Mezcla)

NOTA: Para Información extra de este producto, y guía de utilización solicítela al departamento Técnico de QSM CHEMICALS AND SERVICES SAS

#### FICHA DE SEGURIDAD

PRODUCTO: TEPE

#### SECCION 1 INFORMACION

MANUFACTURADO POR: QSM CHEMICALS AND SERVICES SAS  
DIRECCIÓN: Carrera 58 No. 4g-64

NÚMEROS TELÉFONICOS 5636164-5635596

NOMBRE DEL PRODUCTO: TEPE (Tratamiento Enzimático para residuos de hidrocarburos)

#### SECCION 2 INGREDIENTES PELIGROSOS

Dirección: Cra 58 No. 74g- 64 Teléfonos: 5636164 -5635596 fax: 2612826



NINGUNO CONOCIDO

SALUD	1
INFLAMABILIDAD	0
REACTIVIDAD	0



**SECCION 3 DATOS FISICOS Y QUIMICOS**

PUNTO DE EBULLICIÓN: 100 C  
PRESION DE VAPOR: (mm Hg) N/A  
SOLUBILIDAD EN AGUA: TOTAL  
PH: 7.5 ± 0.5  
RATA DE EVAPORACION: LENTA  
GRAVEDAD ESPECÍFICA: 1.01 ± 0.05  
APARIENCIA: LÍQUIDO VERDE.  
OLOR: PERFUMADO.

**SECCION 4 PELIGROS DE FUEGO Y EXPLOSIÓN**

PUNTO DE CHISPA: N/A  
INFLAMABILIDAD: N/A

**Métodos de Extinción**

Producto no combustible. Usar Aspersión de Agua, polvo químico o espuma

**Condiciones inusuales de explosión o incendio**  
Ninguna.

**SECCION 5 PELIGROS DE SALUD**

**EXPOSICIÓN PRINCIPAL:** POR INGESTIÓN

**EFFECTOS:**

- EN LOS OJOS : IRRITACIÓN
- PIEL : PUEDE PRODUCIR IRRITACIÓN POR TIEMPO PROLONGADO DE EXPOSICIÓN
- SI ES INGERIDO PUEDE OCASIONAR INDIGESTIÓN

**SECCION 6 PROCEDIMIENTO DE EMERGENCIA Y PRIMEROS AUXILIOS**

Contacto con ojos y mucosas: enjuagar con abundante agua por 15 minutos.  
Contacto con la piel: Enjuagar con agua por 5 minutos.  
Ingestión: Beber grandes cantidades de agua, Leche o Yogurt. Llamar o remitir al medico.

**SECCIÓN 7 DATOS DE REACTIVIDAD**

ESTABILIDAD: ESTABLE  
INCOMPATIBILIDAD: ÁCIDOS FUERTES Y BASES FUERTES.  
POLIMERIZACIÓN PELIGROSA: NO OCURRE

Dirección: Cra 58 No. 74g- 64 Teléfonos: 5636164 -5635596 fax: 2612826



#### **SECCION 8 INFORMACION DE PROTECCIÓN ESPECIAL**

NO SE TIENEN ESPECIFICADAS PRENDAS ESPECIALES PARA SU MANIPULACIÓN, PERO POR SEGURIDAD SE RECOMIENDA GUANTES GAFAS Y DELANTAL.



#### **SECCION 9 INFORMACION SOBRE DERRAMES Y MEDIO AMBIENTE**

CUANDO OCURRA UN DERRAME ACCIDENTAL DEL PRODUCTO, SE DEBE DILUIR CON ABUNDANTE AGUA, SE PUEDE DISPONER DENTRO DE LOS SISTEMAS DE ALCANTARILLADO DE LA EMPRESA O COMUNIDAD

##### **Métodos para el Manejo de Desechos**

Disponer según las normas existentes en su localidad.

#### **SECCION 10 INFORMACIÓN ECOLÓGICA.**

Dada su composición es un producto biodegradable ya que posee Enzimas hidrolíticas que ayudan a la misma.

#### **SECCION 11 ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN.**

**Almacenamiento:** Lugares ventilados, frescos y secos.

#### **SECCION 12 CONSIDERACIONES DE ELIMINACIÓN Y / O DISPOSICIÓN.**

En plantas convencionales de tratamiento de aguas, se alcanza niveles elevados de eliminación.

#### **SECCION 13 INFORMACIÓN DE TRANSPORTE.**

Evitar transportar con ácidos o agentes oxidantes ácidos y alcalinos.

##### **INFORMACIÓN SUPLEMENTARIA:**

Carga no peligrosa según las normas de transporte.

#### **SECCIÓN 14 – PROPIEDADES TOXICOLÓGICAS**

No existen casos de envenenamiento conocidos. Irritación de los ojos.

Esta tasa de riesgo está basada en información disponible sobre productos similares.

No existe indicación de toxicidad en peces a 1000 ppm acorde con DIN 48412-L-20.

#### **SECCIÓN 15 – INFORMACIÓN REGULATORIA**

FRASES DE RIESGO: R 36 (irritación de ojos)

FRASES DE SEGURIDAD: S 26 (en caso de contacto con los ojos, enjuague inmediatamente y consulte un médico)

CLASIFICACIÓN DE COMPONENTES RCRA: no regulado

CÓDIGOS DE COMPONENTES RCRA: no aplicable

VALOR CERCLA RQ (MÍNIMO): ninguno conocido

#### **SECCIÓN 16 – OTRA INFORMACIÓN**

Dirección: Cra 58 No. 74g- 64 Teléfonos: 5636164 -5635596 fax: 2612826



MANTENER FUERA DEL ALCANCE DE LOS NIÑOS.

COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES (VOCS): no aplicable

LEYENDA: no aplicable – N/A.

Grado de Riesgo  
Salud: 1  
Incendio: 0  
Reactividad: 0

Niveles  
0 Mínimo  
1 Ligero  
2 Moderado

Índice de Protección Personal													
A					G	+  +							
B	+				H	+  +  +							
C	+  +				I	+  +							
D	+  +				J	+  +  +							
E	+  +				K	+  +  +							
F	+  +  +				X	Consulte a nuestro asesor							
A		n		o		p		q		r		s	
t		u		w		y		z		Información Adicional			

### Anexo 3. . Hoja de cálculo para dosificar producto enzimático

PRODUCTO NECESARIO PARA TRATAR SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS O FENOLES							
m3	yd3	toneladas	libras	gramos	MICROORGANISMOS NECESARIOS PARA LIBERAR 1'000.000 UFC/GR DE SOLIDO A TRATAR	ml de producto (1E08 ufc/gr)	Litros de producto (1e08)
0.61	0.80	1.00	1,994.62	904,761.33	904,761,333,000.00	9,047.61	9.0
1.00	1.31	1.63	3,269.88	1,483,215.30	1,483,215,300,000.00	14,832.15	15
6.00	7.85	9.81	19,619.25	8,899,291.80	8,899,291,800,000.00	88,992.92	89
60.00	78.48	98.10	196,192.50	88,992,918.00	88,992,918,000,000.00	889,929.18	890
100.00	130.80	163.49	326,987.50	148,321,530.00	148,321,530,000,000.00	1,483,215.30	1,483
200.00	261.59	326.99	653,975.00	296,643,060.00	296,643,060,000,000.00	2,966,430.60	2,966
500.00	653.98	817.47	1,634,937.50	741,607,650.00	741,607,650,000,000.00	7,416,076.50	7,416
1,000.00	1,307.95	1,634.94	3,269,875.00	1,483,215,300.00	1,483,215,300,000,000.00	14,832,153.00	14,832
1,500.00	1,961.93	2,452.41	4,904,812.50	2,224,822,950.00	2,224,822,950,000,000.00	22,248,229.50	22,248
2,000.00	2,615.90	3,269.88	6,539,750.00	2,966,430,600.00	2,966,430,600,000,000.00	29,664,306.00	29,664
2,500.00	3,269.88	4,087.34	8,174,687.50	3,708,038,250.00	3,708,038,250,000,000.00	37,080,382.50	37,080
3,000.00	3,923.85	4,904.81	9,809,625.00	4,449,645,900.00	4,449,645,900,000,000.00	44,496,459.00	44,496
3,500.00	4,577.83	5,722.28	11,444,562.50	5,191,253,550.00	5,191,253,550,000,000.00	51,912,535.50	51,913
4,000.00	5,231.80	6,539.75	13,079,500.00	5,932,861,200.00	5,932,861,200,000,000.00	59,328,612.00	59,329
4,500.00	5,885.78	7,357.22	14,714,437.50	6,674,468,850.00	6,674,468,850,000,000.00	66,744,688.50	66,745
5,000.00	6,539.75	8,174.69	16,349,375.00	7,416,076,500.00	7,416,076,500,000,000.00	74,160,765.00	74,161
5,500.00	7,193.73	8,992.16	17,984,312.50	8,157,684,150.00	8,157,684,150,000,000.00	81,576,841.50	81,577
6,000.00	7,847.70	9,809.63	19,619,250.00	8,899,291,800.00	8,899,291,800,000,000.00	88,992,918.00	88,993
6,500.00	8,501.68	10,627.09	21,254,187.50	9,640,899,450.00	9,640,899,450,000,000.00	96,408,994.50	96,409
7,000.00	9,155.65	11,444.56	22,889,125.00	10,382,507,100.00	10,382,507,100,000,000.00	103,825,071.00	103,825
7,500.00	9,809.63	12,262.03	24,524,062.50	11,124,114,750.00	11,124,114,750,000,000.00	111,241,147.50	111,241
8,000.00	10,463.60	13,079.50	26,159,000.00	11,865,722,400.00	11,865,722,400,000,000.00	118,657,224.00	118,657
8,500.00	11,117.58	13,896.97	27,793,937.50	12,607,330,050.00	12,607,330,050,000,000.00	126,073,300.50	126,073
9,000.00	11,771.55	14,714.44	29,428,875.00	13,348,937,700.00	13,348,937,700,000,000.00	133,489,377.00	133,489
9,500.00	12,425.53	15,531.91	31,063,812.50	14,090,545,350.00	14,090,545,350,000,000.00	140,905,453.50	140,905
10,000.00	13,079.50	16,349.38	32,698,750.00	14,832,153,000.00	14,832,153,000,000,000.00	148,321,530.00	148,322
10,500.00	13,733.48	17,166.84	34,333,687.50	15,573,760,650.00	15,573,760,650,000,000.00	155,737,606.50	155,738
11,000.00	14,387.45	17,984.31	35,968,625.00	16,315,368,300.00	16,315,368,300,000,000.00	163,153,683.00	163,154
11,500.00	15,041.43	18,801.78	37,603,562.50	17,056,975,950.00	17,056,975,950,000,000.00	170,569,759.50	170,570
12,000.00	15,695.40	19,619.25	39,238,500.00	17,798,583,600.00	17,798,583,600,000,000.00	177,985,836.00	177,986
12,500.00	16,349.38	20,436.72	40,873,437.50	18,540,191,250.00	18,540,191,250,000,000.00	185,401,912.50	185,402
13,000.00	17,003.35	21,254.19	42,508,375.00	19,281,798,900.00	19,281,798,900,000,000.00	192,817,989.00	192,818
13,500.00	17,657.33	22,071.66	44,143,312.50	20,023,406,550.00	20,023,406,550,000,000.00	200,234,065.50	200,234
14,000.00	18,311.30	22,889.13	45,778,250.00	20,765,014,200.00	20,765,014,200,000,000.00	207,650,142.00	207,650
14,500.00	18,965.28	23,706.59	47,413,187.50	21,506,621,850.00	21,506,621,850,000,000.00	215,066,218.50	215,066
15,000.00	19,619.25	24,524.06	49,048,125.00	22,248,229,500.00	22,248,229,500,000,000.00	222,482,295.00	222,482
15,500.00	20,273.23	25,341.53	50,683,062.50	22,989,837,150.00	22,989,837,150,000,000.00	229,898,371.50	229,898
16,000.00	20,927.20	26,159.00	52,318,000.00	23,731,444,800.00	23,731,444,800,000,000.00	237,314,448.00	237,314
16,500.00	21,581.18	26,976.47	53,952,937.50	24,473,052,450.00	24,473,052,450,000,000.00	244,730,524.50	244,731
17,000.00	22,235.15	27,793.94	55,587,875.00	25,214,660,100.00	25,214,660,100,000,000.00	252,146,601.00	252,147
17,500.00	22,889.13	28,611.41	57,222,812.50	25,956,267,750.00	25,956,267,750,000,000.00	259,562,677.50	259,563
18,000.00	23,543.10	29,428.88	58,857,750.00	26,697,875,400.00	26,697,875,400,000,000.00	266,978,754.00	266,979
18,500.00	24,197.08	30,246.34	60,492,687.50	27,439,483,050.00	27,439,483,050,000,000.00	274,394,830.50	274,395
19,000.00	24,851.05	31,063.81	62,127,625.00	28,181,090,700.00	28,181,090,700,000,000.00	281,810,907.00	281,811
19,500.00	25,505.03	31,881.28	63,762,562.50	28,922,698,350.00	28,922,698,350,000,000.00	289,226,983.50	289,227
20,000.00	26,159.00	32,698.75	65,397,500.00	29,664,306,000.00	29,664,306,000,000,000.00	296,643,060.00	296,643
20,500.00	26,812.98	33,516.22	67,032,437.50	30,405,913,650.00	30,405,913,650,000,000.00	304,059,136.50	304,059
21,000.00	27,466.95	34,333.69	68,667,375.00	31,147,521,300.00	31,147,521,300,000,000.00	311,475,213.00	311,475
21,500.00	28,120.93	35,151.16	70,302,312.50	31,889,128,950.00	31,889,128,950,000,000.00	318,891,289.50	318,891
22,000.00	28,774.90	35,968.63	71,937,250.00	32,630,736,600.00	32,630,736,600,000,000.00	326,307,366.00	326,307

Anexo 4. Reportes de resultados de laboratorio.



REPORTE DE RESULTADOS DE LABORATORIO No. GS-0174

Bogota D.C., Agosto 6 de 2013

Página 1 de 2

DATOS DEL CLIENTE	IDENTIFICACION DE LA MUESTRA
ESCUELA COLOMBIANA DE CARRERAS INDUSTRIALES LADY MIYARLAY RODRIGUEZ ESPINOSA Ctr 19 N° 49-20 3537171 N.E.	PRODUCTO/MATRIZ: MUESTRA SOLIDA MUESTREO A CARGO DE: CLIENTE PROCEDIMIENTO DE MUESTREO: N.A. PLAN DE MUESTREO ANTEK No.: N.A. IDENTIFICACION DE MONITOREO: N.E. NUMERO TOTAL DE MUESTRAS: 2 LUGAR DE MUESTREO: LA HOCHA TIPO DE MUESTREO: N.E.
FECHA DE MUESTREO: N.E.	FECHA DE RECEPCION DE MUESTRAS: 2013-07-25
	FECHA DE ANALISIS: 2013-07-26 AL 2013-08-02

PARAMETRO	UNIDADES	TECNICA ANALITICA	METODO	MUESTRA 4 DIA		LIMITE PROTOCOLO DE LOUISIANA 29B	
				1	3	CAPITULO 3	CAPITULO 5
				ANTEK 132844	ANTEK 132845		
pH	UNIDADES	ELECTROMÉTRICO	SM 4500H+ B	8,40	8,83	N.E.	N.E.
CONDUCTIVIDAD	µS/cm	ELECTROMETRIC	SM 2510 B	0,486	4,33	N.E.	N.E.
HUMEDAD	%	GRAVIMETRICO	PROTOCOLO IGAC, 6ª ED/2006	0,63	0,49	N.E.	N.E.
GRASAS Y ACEITES	%	EXTRACCION POR ULTRASONIDO / INFRARROJO	NMX-AA-145-SCFI-2008 - SM 5520C	0,89	1,16	<1	N.E.
PAH's	mg/Kg (ppm)	CROMATOGRAFIA DE GASES - FID	SM 6440 B - EPA 8100	0,591	0,930	N.E.	N.E.
RAS		E.A.A./CALCULO	PROTOCOLO LOUISIANA	1,50	12,64	<12	<=12
ESP	%	E.A.A./CALCULO	PROTOCOLO LOUISIANA	0,92	14,49	<15	<=15
BTEX	mg/Kg (ppm)	CROMATOGRAFIA DE GASES - FID	EPA 8015D - EPA 5021	0,524	0,675	N.E.	N.E.
ARSÉNICO	mg/Kg (ppm)	E.A.A.E	EPA 3050 B - SM 3113 B	0,345	0,321	10	<=10
BARIO	mg/Kg (ppm)	I.C.P.	EPA 3050 B - SM 3120 B	136	31,2	20000	10
CADMIO	mg/Kg (ppm)	E.A.A.	EPA 3050 B - SM 3111 B	<0,875	<0,875	10	<=10
CROMO TOTAL	mg/L	E.A.A.	SM 3030 E - SM 3111 D	<10,0	<10,0	N.E.	N.E.
PLOMO	ppm	E.A.A.	FARMACOPÉA EUROPEA	<10,0	<10,0	N.E.	N.E.
SELENIO	mg/Kg (ppm)	E.A.A.E.	EPA 3050 B - SM 3113 B	0,125	0,112	10	<=10
PLATA	mg/Kg (ppm)	I.C.P.	EPA 3050 B - SM 3120 B	<10,0	<10,0	200	<=200

N.E. : NO ESTABLECIDO N.A. : NO APLICA E.A.A.: ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA E.A.A.E.: ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA ELECTROTÉRMICA E.A.A./V.F.: ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON VAPOR FRÍO I.C.P.: PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE

OBSERVACIONES:

MÉTODO DE ANÁLISIS UTILIZADO: STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER & WASTEWATER 22nd EDITION 2012, APHA, AWWA, WEF. MÉTODOS ANALÍTICOS DEL LABORATORIO DE SUELOS DEL INSTITUTO GEOGRÁFICO AGUSTÍN CODAZZI, 6ª EDICIÓN, 2006 EPA 9045D, REV 4/2004 PROTOCOLO IGAC, 6ª ed/2006 ACETATO DE AMONIO 1N-pH 7,0 PROTOCOLO IGAC, 6ª ed/2006 NMX-AA-145-SCFI-2008 Y SM 5520 C NMX-AA-145-SCFI-2008 Y SM 5520 F.

ANEXO A ESTE REPORTE:  
 CROMATOGRAMAS (9 Hojas)  
 CROMATOGRAFIA (2 Hojas)

RESULTADOS VALIDOS UNICAMENTE PARA LAS MUESTRAS ANALIZADAS. - PROHIBIDA LA REPRODUCCION PARCIAL DE ESTE INFORME SIN AUTORIZACION ESCRITA DEL LABORATORIO. - LOS RESULTADOS DE LOS ENSAYOS NO DEBEN SER UTILIZADOS COMO UNA CERTIFICACION DE CONFORMIDAD CON NORMAS DE PRODUCTO O COMO CERTIFICADO DEL SISTEMA DE CALIDAD DE LA ENTIDAD QUE LO PRODUCE. - LOS LABORATORIOS CON LOS QUE SE SUBCONTRATAN ANALISIS SON ACREDITADOS POR EL INSTITUTO DE HIDROLOGIA, METEOROLOGIA Y ESTUDIOS AMBIENTALES IDEAM EL CUAL NO ES UN ORGANISMO DE ACREDITACION FIRMANTE DEL ACUERDO DE RECONOCIMIENTO MULTILATERAL DE ILAC (INTERNATIONAL LABORATORY ACCREDITATION COOPERATION). EL MINISTERIO DE AMBIENTE BAJO EL DECRETO 1600 DEL 27 DE JULIO DE 1994 CELEGA AL IDEAM COMO ORGANISMO PARA DIRIGIR Y COORDINAR EL SISTEMA DE INFORMACION AMBIENTAL, Y LA RED DE LABORATORIOS QUE PRODUZCAN DATOS E INFORMACION FISICA, QUIMICA Y BIOTICA A NIVEL NACIONAL.

ANTEK - FIMMEX S.A.S. - SOLUCIONES ANALITICAS PARA LA INDUSTRIA

AUTORIZO

Cristian Gonzalez Bedoya I.P  
 Direccion Laboratorio de Petroleos





**REPORTE DE RESULTADOS DE LABORATORIO No. GS-0174**

Bogota D.C., Agosto 6 de 2013

Página 2 de 2

DATOS DEL CLIENTE		IDENTIFICACION DE LA MUESTRA	
ESCUELA COLOMBIANA DE CARRERAS INDUSTRIALES LADY MIYARLAY RODRIGUEZ ESPINOSA Crr 19 N° 49-20 3537171 N.E.		PRODUCTO/MATRIZ: MUESTRA SOLIDA MUESTREO A CARGO DE: CLIENTE PROCEDIMIENTO DE MUESTREO: N.A. PLAN DE MUESTREO ANTEK No.: N.A. IDENTIFICACION DE MONITOREO: N.E. NUMERO TOTAL DE MUESTRAS: 2 LUGAR DE MUESTREO: LA HOCHA TIPO DE MUESTREO: N.E.	
FECHA DE MUESTREO: N.E.		FECHA DE RECEPCION DE MUESTRAS: 2013-07-25	
		FECHA DE ANALISIS: 2013-07-26 AL 2013-08-02	

PARAMETRO	UNIDADES	TECNICA ANALITICA	METODO	MUESTRA 4 DIA	MUESTRA 4 DIA 3	LIMITES PROTOCOLO DE LOUISIANA 29B			
				1		CAPITULO 3	CAPITULO 5		
ZINC	mg/Kg (ppm)	I.C.P.	EPA 3050B - SM 3120B	ANTEK 132844	ANTEK 132845	<10,0	<10,0	500	<=2300
HIDROCARBUROS PETROGENICOS	%	CROMATOGRAFIA DE GASES - FID	EPA 3350C - EPA 8015D	0,118	0,251	N.E.			<=3

N.E. : NO ESTABLECIDO N.A. : NO APLICA E.A.A.: ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA E A.A.E.: ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA ELECTROTÉRMICA E.A.A./V.F. : ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON VAPOR FRÍO I.C.P.: PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE

**OBSERVACIONES:**

MÉTODO DE ANÁLISIS UTILIZADO: STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER & WASTEWATER 22nd EDITION 2012, APHA, AWWA, WEF. MÉTODOS ANALÍTICOS DEL LABORATORIO DE SUELOS DEL INSTITUTO GEOGRÁFICO AGUSTÍN CODAZZI, 6a EDICIÓN, 2006 EPA 9045D, REV 4/2004 PROTOCOLO IGAC, 6ª ed/2006 ACETATO DE AMONIO 1N-pH 7,0 PROTOCOLO IGAC, 6ª ed/2006 NMX-AA-145-SCFI-2008 Y SM 5520 C NMX-AA-145-SCFI-2008 Y SM 5520 F.

**ANEXO A ESTE REPORTE:**

CROMATOGRAMAS (9 Hojas)  
 CROMATOGRAFIA (2 Hojas)

RESULTADOS VALIDOS UNICAMENTE PARA LA(S) MUESTRA(S) ANALIZADA(S) - PROHIBIDA LA REPRODUCCION PARCIAL DE ESTE INFORME SIN AUTORIZACION ESCRITA DEL LABORATORIO - LOS RESULTADOS DE LOS ENSAYOS NO DEBEN SER UTILIZADOS COMO UNA CERTIFICACION DE CONFORMIDAD CON NORMAS DE PRODUCTO O COMO CERTIFICADO DEL SISTEMA DE CALIDAD DE LA ENTIDAD QUE LO PRODUCE - LOS LABORATORIOS CON LOS QUE SE SUBCONTRATAN ANALISIS SON ACREDITADOS POR EL INSTITUTO DE HIDROLOGIA, METEOROLOGIA Y ESTUDIOS AMBIENTALES IDEAM EL CUAL NO ES UN ORGANISMO DE ACREDITACION FIRMANTE DEL ACUERDO DE RECONOCIMIENTO MULTILATERAL DE ILAC (INTERNATIONAL LABORATORY ACCREDITATION COOPERATION). EL MINISTERIO DE AMBIENTE BAJO EL DECRETO 1000 DEL 27 DE JULIO DE 1994. DELEGA AL IDEAM COMO ORGANISMO PARA DIRIGIR Y COORDINAR EL SISTEMA DE INFORMACION AMBIENTAL Y LA RED DE LABORATORIOS QUE PRODUZCAN DATOS E INFORMACION FISICA, QUIMICA Y BIOTICA A NIVEL NACIONAL.

ANTEK - PIMMEXIM™ - SOLUCIONES ANALITICAS PARA LA INDUSTRIA

**AUTORIZO**

**Cristian Gonzalez Bedoya I.P**  
 Direccion Laboratorio de Petroleos



FIN DE REPORTE DE RESULTADOS GS-0174