



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

LOS COSUSTRATOS Y SU IMPORTANCIA EN LA  
BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON  
HIDROCARBUROS, UNA REVISIÓN.

AUTORA

Francis Estefanía Campos Pérez

AÑO

2020



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

LOS COSUSTRATOS Y SU IMPORTANCIA EN LA BIORREMEDIACIÓN DE  
SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS, UNA REVISIÓN.

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos  
establecidos para optar por el título de Ingeniera Ambiental en Prevención y  
Remediación

Profesor guía

MSc. Miguel Ángel Gualoto Oñate

Autora

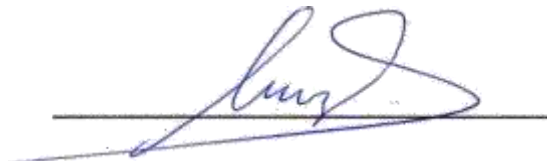
Francis Estefanía Campos Pérez

Año

2020

## DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

"Declaro haber dirigido el trabajo, Los cosustratos y su importancia en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, una revisión, a través de reuniones periódicas con la estudiante Francis Estefanía Campos Pérez, en el semestre 202020, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".



Miguel Ángel Gualato Oñate  
Master of Science en Biología  
C. I.: 170742935-1

## DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

"Declaro haber revisado este trabajo, Los cosustratos y su importancia en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, una revisión, de la estudiante Francis Estefanía Campos Pérez, en el semestre 202020, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".



Indira Fernandina Black Solís

Master en Conservación y Gestión del Medio Natural

C.I.: 171127356-3

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

"Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes".



---

Francis Estefanía Campos Pérez

Cl.: 150074056-6

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, a la Santísima Virgen del Quinche y a mi niño Jesús, por haberme bendecido durante toda mi vida y permitirme culminar mi carrera.

A mi madre y a mi hermana Brigitte, por ser compañeras incondicionales de viaje, en cada etapa de mi vida.

A mis tutores: Miguel e Indira; por compartir sus conocimientos, consejos y por ser brújula primordial durante esta investigación.

A mis amigos: Diego, Cami, Diani, Michu, por sus palabras de aliento y gratos momentos. Y en especial a ti Gisellita, por toda la ayuda brindada, el abrazo oportuno, las largas horas de estudio y la lealtad demostrada.

A Fabricio, quien, a través de sus consejos y ejemplo de superación, me enseñó a creer en mí y a lograr esta meta.

## **DEDICATORIA**

A mi eterno ángel guardián, a mi luz e inspiración; a mi papá: Manuel Campos, tú hija lo ha logrado, espero que seas feliz en la presencia de Dios. Te amo mucho.

A ti mamita, Anita Pérez; te dedico ésta y todas las victorias de mi vida, porque este triunfo es el resultado de todo tú esfuerzo, sacrificio y firmeza de inicio a fin.

A mi hermanita Brigitte, por creer ciegamente en mí, por cada palabra de aliento, amor incondicional y por hacer mis días tan divertidos.

A mi hermana Verito y a mis sobrinos Cami y Pepito por su grato cariño y confianza.

Y, a Fadil; por haber sido mi fiel y gran compañía.

## RESUMEN

La explotación petrolera constituye la principal fuente de desarrollo económico de un país, pero también se ha convertido en la principal fuente de contaminación ambiental, en donde los suelos se han visto afectados por los derrames que se producen durante las distintas operaciones hidrocarburíferas. La presente investigación, es una recopilación bibliográfica de información científica, relacionada con el empleo de cosustratos en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, a nivel mundial y nacional, en los cuales se registra, el cosustrato empleado, los microorganismos utilizados en el proceso de degradación, la eficiencia del tratamiento, el tiempo de duración del estudio. Con estos datos hemos planteado las perspectivas del uso masivo de cosustratos en el Ecuador, para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos adicionalmente se analizan las ventajas técnicas, económicas y ambientales de su empleo.

**Palabras clave:** Biorremediación, cosustratos, microorganismos, suelos contaminados, hidrocarburos.



## ABSTRACT

Oil development constitutes the main source of economic improvement and development in a country, but it has also become the main source of environmental contamination, where soils have been affected by spills during the various hydrocarbon operations. The present investigation is a bibliographic compilation of scientific information related to the use of co-substrates in the bioremediation of soils contaminated with hydrocarbons, at the global and national level, which the co-substrate used, the microorganisms used in the degradation process, the efficiency of the treatment, the duration of the study are recorded. With all these data collected, we have raised the prospects for the massive use of co-substrates in Ecuador, for the remediation of soils contaminated with hydrocarbons, the technical, economic, and environmental advantages of their use are also analyzed.

**Key words:** Bioremediation, co-substrates, microorganisms, contaminated soils, hydrocarbons.

## ÍNDICE

1. CAPÍTULO I. Introducción.....	1
1.1. Antecedentes .....	1
1.2. Problemática .....	2
1.3. Objetivos .....	3
1.3.1. Objetivo general .....	3
1.3.2. Objetivos específicos .....	4
1.4. Alcance .....	4
1.5. Justificación .....	4
2. CAPÍTULO II. Metodología.....	5
2.1. Análisis comparativo general.....	13
2.2. Análisis de perspectivas de uso .....	14
2.2.1. Análisis desde el punto de vista metodológico.....	14
2.2.2. Análisis desde el punto de vista económico.....	15
2.2.3. Análisis desde el punto de vista ambiental .....	15
2.3 Diseño de propuesta metodológica.....	16
2.3.1. Área de aplicación.....	16
2.3.2. Propuesta experimental .....	17
3. CAPÍTULO III. RESULTADOS Y ANÁLISIS .....	17
3.1 Análisis comparativo general.....	17
3.2 Análisis de perspectivas de uso.....	22
3.2.1. Análisis desde el punto de vista metodológico.....	22
3.2.2. Análisis desde el punto de vista económico.....	38
3.2.3. Análisis desde el punto de vista ambiental .....	40
3.3 Diseño de propuesta metodológica.....	42
3.3.1 Área de aplicación.....	43
3.3.2 Propuesta experimental .....	45
4. CAPÍTULO IV. Conclusiones y Recomendaciones.....	46
4.1. Conclusiones.....	46
4.2. Recomendaciones .....	47

REFERENCIAS..... 48

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 .....	6
Listado de los documentos analizados en la presente investigación. ....	6
Tabla 2 .....	11
Codificación de los documentos analizados.....	11
Tabla 3 .....	16
Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicios. ....	16
Tabla 4 .....	18
Número de estudios identificados por cada país.....	19
Tabla 5 .....	20
Clasificación de los estudios analizados de acuerdo al contaminante tratado y condiciones. ....	20
Tabla 6 .....	25
Clasificación de las técnicas o estrategias de remediación de hidrocarburos de los estudios analizados. ....	25
Tabla 7 .....	27
Parámetros afines de caracterización inicial de los estudios analizados. ....	27
Tabla 8 .....	29
Gama de cosustratos identificados en los estudios analizados.....	29
Tabla 9 .....	33
Eficiencia de los cosustratos por rangos de concentración inicial de los estudios analizados. ....	33
Tabla 10 .....	39
Costos operativos de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos de acuerdo a su concentración inicial.....	39
Tabla 11 .....	40
Eficiencia de los estudios analizados, comparados con el RAHOE. ....	40

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación de los estudios analizados. ....	18
Figura 2. Clasificación de los estudios analizados, de acuerdo con las condiciones. ....	18
Figura 3. Porcentaje de los estudios analizados por cada país.....	20
Figura 4. Clasificación de los estudios analizados, de acuerdo a los contaminantes tratados. ....	22
Figura 5. Esquema de técnicas de remediación.....	24
Figura 6. Clasificación de los estudios analizados, de acuerdo a la técnica de biorremediación empleada. ....	26
Figura 7. Clasificación de los estudios analizados, de acuerdo a la estrategia de biorremediación empleada. ....	27
Figura 8. Clasificación de los estudios analizados, de acuerdo con la clase textural del suelo base. ....	29
Figura 9. Mapa de contaminación hidrocarburífera en Ecuador.....	44

## 1. CAPÍTULO I. Introducción

### 1.1. Antecedentes

Desde los años 60, en Ecuador la explotación petrolera ha sido la principal fuente económica del presupuesto nacional, que ha generado el desarrollo del país y la construcción de infraestructura pública y comunicaciones (EP PETROECUADOR, 2013). Sin embargo, la actividad también, se ha constituido como la principal fuente de contaminación ambiental (Speight & Arjoon, 2012), debido a una serie de desastres, relacionados con derrames, fugas y accidentes generados durante el transporte y comercialización de hidrocarburos, que han afectado a los componentes ambientales, principalmente al suelo (Beristaín, Páez, & Fernández, 2009; Biswas, Chaudhari, & Mukherji, 2005; Gao, Liang, Teng, & Zhang, 2019; Margesin & Schinner, 1997).

Los derrames de petróleo e hidrocarburos se producen en forma intencional, accidental o durante la ejecución de operaciones rutinarias del sector hidrocarburífero (Bundy, Paton, & Campbell, 2002; Salam, Ilori, Amund, LiiMien, & Nojiri, 2018; Udoh, 2010). Así, entre las principales causas de este tipo de vertidos, se encuentran: desastres naturales, fallas técnicas y humanas, robo de combustibles, complot, vandalismo y escaso mantenimiento de las facilidades petroleras (Mohamadi, 2015).

Los efectos producidos por el vertido de hidrocarburos pueden ser persistentes en el tiempo, generando un serio impacto en el equilibrio de los ecosistemas y afectaciones a la vida de sus poblaciones (IPIECA, IMO, & OGP, 2012).

Los residuos petroleros y derivados hidrocarburíferos tales como (ácidos grasos saturados, asfaltenos, resinas en especial los aromáticos y poli aromáticos HAPs) (Leahy & Colwell, 1990), en condiciones ambientales naturales, no se degradan con facilidad, incluso bajo luz solar intensa, la degradación por fotooxidación es menor al 0.1 % por día (Bravo, 2007).

Los costos de tratamiento de suelos contaminado con hidrocarburos, mediante técnicas convencionales físico químicas presentan costos elevados de hasta \$750.00 USD/tonelada (Cabrera & Gualoto, 2008). Además, los procesos físicos, químicos de tratamiento, exigen altas inversiones en equipos, reactivos, infraestructura y energía (Joynt, Bischoff, Turco, Konopka, & Nakatsu, 2006).

Los métodos convencionales, se caracterizan por generar subproductos, que con frecuencia son más tóxicos que los iniciales y que requieren tratamientos y gestión adicional, factores que incrementan los costos (Meneses, 2014). En este contexto, las técnicas de biorremediación, constituyen una alternativa técnica eficiente en su relación costo beneficio; que en los últimos tiempos se viene incrementando en la región y el mundo (Álvarez & Polti, 2014).

De acuerdo con Meneses (2014), el empleo conjunto de consorcios microbianos y nutrientes, en técnicas de biorremediación, contribuyen de forma positiva a acelerar el proceso de degradación de hidrocarburos derramados en suelos, en comparación de la atenuación natural, proceso que en condiciones favorables actúa sin la intervención del hombre (Gallego et al., 2006); pero que puede prolongarse entre 30 - 100 años (Speight & Arjoon, 2012; Xu & Obbard, 2004).

## **1.2. Problemática**

En el año 2012, alrededor de 12.6 millones de personas perdieron la vida por residir o desarrollar sus actividades en condiciones poco salubres, es decir el 25% del total de muertes a nivel mundial; esto se atribuye a factores potenciales de riesgo ambiental como son: la contaminación de suelo, aire, agua, radiación ultravioleta, mismas que generan más de 100 lesiones o enfermedades (Organización Mundial de la Salud, 2016).

La explotación petrolera a través de sus diferentes etapas, como son exploración, perforación, refinación, transporte, comercialización de crudo y sus

derivados (Galván, Reyes, Guédez, & De Armas, 2007); han desencadenado grandes impactos ambientales, sanitarios y sociales (Becerra, Paichard, Sturma, & Maurice, 2013; Harbour et al., 2004; Yanguo Teng, Feng, Song, Wang, & Li, 2013). Así, en Ecuador dentro de los casos de contaminación más reconocidos, se encuentra el ocasionado por la transnacional petrolera Chevron Texaco, responsable de verter 20 millones de galones de agua de formación, quemar al aire libre 253 millones de pies<sup>3</sup> de gas y de derramar 16 800 millones de galones de crudo (Da Ros, 1995; Goldstein & Garvey, 2014).

Además, a esto se suma el abandono a la intemperie de 600 piscinas con desechos petroleros y sitios contaminados por derrames de tuberías, pozos y estaciones (Da Ros, 1995). Lo cual representa aproximadamente más de dos millones de hectáreas afectadas en la región amazónica, durante un período de 30 años (Ministerio de Relaciones Exteriores y Movilidad Humana, 2001).

Si bien, existen un sinnúmero de metodologías de tratamientos biológicos de suelos contaminados con hidrocarburos, cada una presenta mayor o menor eficiencia, teniendo en cuenta el tipo de hidrocarburo, la concentración y las condiciones ambientales, del sitio donde se han aplicado. Los tiempos de tratamiento y sus costos asociados, siguen siendo un problema para la implementación de grandes programas de remediación de suelos contaminados con hidrocarburos.

### **1.3. Objetivos**

#### **1.3.1. Objetivo general**

Evaluar la importancia del empleo de cosustratos en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, en base a revisión bibliográfica.



### **1.3.2. Objetivos específicos**

- Conocer la gama de cosustratos empleados en biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos.
- Identificar las experiencias positivas del empleo de cosustratos y su importancia para la reducción de tiempos y costos de tratamiento.
- Diseñar una propuesta metodológica de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, adecuada a la realidad del país.

### **1.4. Alcance**

El presente estudio realizó una exhaustiva investigación bibliográfica de estudios sobre biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos que emplearon diferentes fuentes de cosustratos. Con el fin de evidenciar sus resultados, eficiencia y costos operativos. Las experiencias identificadas, permitirán proponer una metodología de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, acorde a la realidad del Ecuador, donde existen miles de hectáreas de suelos afectados por derrames hidrocarburíferos.

### **1.5. Justificación**

En virtud de la existencia de amplias zonas contaminadas por hidrocarburos en el Distrito Amazónico y a lo largo del territorio nacional, el conocimiento de las iniciativas exitosas a nivel internacional permitirá generar programas de remediación eficientes y de bajo costo con el empleo de cosustratos de fuentes locales.

En calidad de cosustratos, pueden ser empleados sustancias de bajo peso molecular que presenten afinidad estructural y comportamiento químico similar al contaminante sujeto a degradación. Los cosustratos actúan en calidad de adaptadores enzimáticos, que inician el proceso de biodegradación gracias a su similitud estructural, una vez iniciado el proceso las moléculas del contaminante son degradadas con el menor consumo de energía.

En este contexto la posibilidad de emplear materiales de desecho, como: bagazo de caña, cáscaras de frutas, estiércol de animales, melaza, entre otros; en calidad de cosustratos; para estimular, acelerar e incrementar la eficiencia de la biorremediación, constituye una posibilidad real para reducir costos operativos y tiempos de tratamiento.

## **2. CAPÍTULO II. Metodología**

Para el desarrollo de la presente investigación de tipo bibliográfica, se procedió a recopilar información, a través de la búsqueda exhaustiva y detallada de artículos científicos, tesis de pre y post grado, informes técnicos realizados entre los años 2005 y 2018, en temas relacionados al empleo de cosustratos en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos.

Se trabajó inicialmente con 25 estudios encontrados; para el análisis comparativo se seleccionaron 16 documentos (Tabla No. 1). Con base a los siguientes criterios de discriminación: estudios que aporten información completa y detallada de la técnica de biorremediación, tipo de contaminante tratado, cosustrato empleado, concentración inicial, tiempo y eficiencia.

Además, se debe señalar que para la presentación de las distintas tablas y gráficas comparativas; se realizó la codificación de cada uno de los estudios, esto con el fin de facilitar la interpretación de los mismos, por cuestiones de espacio y distribución de la información (Tabla No.2).

Tabla 1

Listado de los documentos analizados en la presente investigación.

<b>Nombre del artículo</b>	<b>Revista de publicación</b>	<b>Autor/es</b>	<b>Año</b>	<b>País</b>
Bioestimulation process during the biodegradation of TPH in oil contaminated soil	Revista Colombiana de Biotecnología Vol. VII No.2	Vallejo, Victoria Salgado, Laura Roldan, Fabio	2005	Colombia
Effects of Mixing Low Amounts of Orange Peel ( <i>Citrus reticulata</i> ) with Hydrocarbon-Contaminated Soil in Solid Culture Promote Remediation	Journal of Environment al Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environment al Engineering	Roldán, A. Esparza, F. Calva, G. Rodríguez, R.	2006	México
Evaluation of bioremediation methods for the treatment of soil contaminated with explosives in Louisiana Army Ammunition	ELSEIVER	Clark, Brandon Boopathy, Raj	2007	EE.UU.

Plant, Minden, Louisiana Brandon					
Efectos del estiércol equino y del humus líquido en el proceso de biodegradación de un suelo contaminado con petróleo	ReserchGate	Fernández, Celeste Labrador, Henry Llobregat, María Méndez, Leonardo Bastidas, Henry Sien, Bonnie	2009	Venezuela	
Bioremediation of PAHs-contaminated soil through composting: Influence of bioaugmentation and biostimulation on contaminant biodegradation	ELSEVIER International Biodeteriorati on & Biodegradati on	Sayara, Tahseen Borràs, Eduard Caminal, Gloria Sánchez, Antoni	2011	España	
Biorremediación de un suelo contaminado con petróleo mediante el empleo de bagazo de caña con diferentes tamaños de partícula	MULTICIEN CIAS, Vol. 11, N° 2	Ordaz, Juana Martínez, Ángeles Ramos, Fernando Sánchez, Felipe Martínez, Armando Jesús Tenorio, José Cuevas, María del Carmen	2011	México	

Bioremediation of PAH by <i>Streptomyces sp</i>	Bulletin of Environment al Contaminatio n and Toxicology 86: 268-271	Chaudhary, Priyanka Sharma, Richa Singh, Shashi Bala Nain, Lata	2011	India
Informe final del caso OCP, Quito: Ministerio del Ambiente.	Diagnóstico del proceso de remediación de suelos realizado en el sector de Santa Rosa, cantón el Chaco, provincia de Napo, debido a un derrame del OCP (25-02-2009)	PRAS, Programa de Reparación Ambiental y Social	2011	Ecuador
Comparison between biostimulation and bioaugmentation to recover soils contaminated with diesel	Revista Producción + Limpia Vol.7, No.1	Pino, Nancy Carvajal, Stephanie Gallo, Andrés Peñuela, Gustavo	2012	Colombia

Biodegradation of DDT stimulation of indigenous microbial populations in soil with cosubstrates	Biodegradati on, 24(2), 215–225.	Velasco, Antonio. Le Borgne, Sylvie. Revah, Sergio. Ortíz, Irmene.	2012	México
Raw glycerol as cosubstrate of the biodegradation in soil	Canadian Journal of pure & applied sciences	Vasconcelos, Ulrich Santos de Oliveira, Fernando Pessoa de França, Francisca	2013	Brasil
EP PETROECUADOR R trabaja en la remediación de suelos en la región amazónica	Boletín No 029	EP PETROECUADOR	2016	Ecuador
Extracto hidroalcohólico de cáscaras de naranja (Citrus sinensis) como bioestimulador en un suelo de sabana contaminado con petróleo	Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal	Velásquez, Martín	2017	Venezuela
Use of Agro-Industrial Waste in the Removal of	ReserchGate	Cavalcanti, Thiago Gonçalves	2017	Brasil

Phenanthrene and Pyrene by Microbial Consortia in Soil		de Souza, Amanda Freire Ferreira, Gilanna Falcão Dias, Diogo Simas Bernardes Severino, Liv Soares Morais, João Paulo Saraiva de Sousa, Kally Alves Vasconcelos, Ulrich		
“Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos por derrames de la estación de servicio en el campamento de Guarumales- CELEC”	Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Químicas Escuela de Ingeniería Ambiental	Flores, Carlos Mendoza, Patricio	2017	Ecuador
Biorremediación bacteriana de suelo contaminado con fluidos y residuos de perforación mediante	Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias Medellín	Martínez Alejandro Rivera,	2018	Colombia

---

diferentes  
métodos

---

Tabla 2

*Codificación de los documentos analizados.*

<b>Codificación</b>	<b>Nombre del estudio</b>
E1	Bioestimulation process during the biodegradation of TPH in oil contaminated soil
E2	Effects of Mixing Low Amounts of Orange Peel ( <i>Citrus reticulata</i> ) with Hydrocarbon-Contaminated Soil in Solid Culture to Promote Remediation
E3	Evaluation of bioremediation methods for the treatment of soil contaminated with explosives in Louisiana Army Ammunition Plant, Minden, Louisiana Brandon
E4	Efectos del estiércol equino y del humus líquido en el proceso de biodegradación de un suelo contaminado con petróleo
E5	Bioremediation of PAHs-contaminated soil through composting: Influence of



	bioaugmentation and biostimulation on contaminant biodegradation
E6	Biorremediación de un suelo contaminado con petróleo mediante el empleo de bagazo de caña con diferentes tamaños de partícula
E7	Bioremediation of PAH by <i>Streptomyces sp</i>
E8	Informe final del caso OCP. Quito: Ministerio del Ambiente.
E9	Comparison between biostimulation and bioaugmentation to recover soils contaminated with diesel
E10	Biodegradation of DDT by stimulation of indigenous microbial populations in soil with cosubstrates
E11	Raw glycerol as cosubstrate on the pahs biodegradation in soil
E12	EP PETROECUADOR trabaja en la remediación de

	suelos en la región amazónica
E13	Extracto hidroalcohólico de cáscaras de naranja ( <i>Citrus sinensis</i> ) como bioestimulador en un suelo de sabana contaminado con petróleo
E14	Use of Agro-Industrial Waste in the Removal of Phenanthrene and Pyrene by Microbial Consortia in Soil
E15	“Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos por derrames de la estación de servicio en el campamento de Guarumales-CELEC”
E16	Biorremediación bacteriana de suelo contaminado con fluidos y residuos de perforación mediante diferentes métodos

## 2.1. Análisis comparativo general

Para el desarrollo del presente apartado se analizaron los criterios de selección mencionados con anterioridad de cada uno de los estudios, con el objetivo de identificar las experiencias positivas del uso de cosustratos en suelos contaminados con hidrocarburos a escala global.

Los estudios seleccionados se clasificaron en 2 categorías:

- 1) A nivel internacional
- 2) A nivel nacional

Así también, se procedió a clasificar los estudios de acuerdo al tipo de contaminante tratado y las condiciones en las que se efectuó cada uno de los ensayos; por consiguiente, se clasificaron nuevamente en 2 categorías:

- 1) En campo
- 2) En laboratorio

## **2.2. Análisis de perspectivas de uso**

En este apartado, es importante señalar que el análisis comparativo se efectuó únicamente con aquellos estudios que se realizaron bajo condiciones de laboratorio y que tienen como contaminante objeto de estudio a tratar hidrocarburos.

Por ende, se procedió a dividir en 3 subcategorías:

### **2.2.1. Análisis desde el punto de vista metodológico**

Inicialmente se clasificaron los estudios seleccionados de acuerdo a la técnica o estrategia de biorremediación de hidrocarburos empleada, considerando que la mayoría de los artículos identificados, dentro de la metodología propuesta señalan la técnica de biorremediación en líneas muy generales; es decir si bien establecen la estrategia no especifican la técnica empleada, así también se establecieron los parámetros afines de caracterización inicial de cada uno de los estudios; con sus respectivos porcentajes, adicional se realizó un análisis de la gama de cosustratos utilizados.

Con este último parámetro, se evaluó la eficiencia empleando cosustratos para la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, en donde se fijaron cinco rangos de clasificación, de acuerdo con la Ci del contaminante. Por ende, se elaboró una tabla general, considerando: concentración inicial (Ci) en (ppm), tipo de contaminante, cosustrato empleado, eficiencia (%) y tiempo (días), independientemente de la técnica o estrategia de biorremediación empleada.

### **2.2.2. Análisis desde el punto de vista económico**

Para el desarrollo del presente, se realizó un análisis comparativo entre los costos económicos que generan las técnicas convencionales para el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos, en comparación con los costos operativos de biorremediación.

### **2.2.3. Análisis desde el punto de vista ambiental**

A manera de ejercicio académico, para el análisis del presente apartado, se comparó la concentración final de los contaminantes de los estudios analizados, con los parámetros de referencia establecidos en la Normativa Ambiental Ecuatoriana; específicamente la tabla 6, del Reglamento Ambiental De Actividades Hidrocarburíferas (RAHOE, 2019).

Esto se realizó con el fin de evaluar la viabilidad del uso de los cosustratos, de cada uno de los estudios seleccionados; bajo las características y parámetros en los que se efectuaron en el país de origen y determinar si bajo los mismos alcanzarían los valores establecidos en Ecuador. Adicional se presenta las ventajas ambientales del uso de éstos.

En la (Tabla No. 3), se presenta los parámetros para la identificación de suelos contaminados por hidrocarburos; con sus respectivos límites permisibles, establecidos en el RAHOE.

Tabla 3

*Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicios.*

<b>Parámetro</b>	<b>Unidad</b>	<b>Unidad</b>	<b>Uso agrícola</b>	<b>Uso Industrial</b>	<b>Ecosistemas sensibles</b>
Hidrocarburos totales	TPH	mg/kg	<2500	<4000	<1000
Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs)	C	mg/Kg	<2	<5	<1

Adaptado de Tabla 6 (RAHOE, 2019).

### 2.3 Diseño de propuesta metodológica

Con base al análisis de resultados y una valoración técnica biológica para el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos, se planteó un diseño enfocado a la realidad del país. Para el desarrollo del mismo se consideraron dos parámetros:

#### 2.3.1. Área de aplicación

Para la selección de las áreas de aplicación de la propuesta metodológica, se elaboró un mapa de contaminación hidrocarburífera del Ecuador, con el fin de

visualizar las áreas más sensibles y expuestas a los derrames o vertidos de crudo.

### **2.3.2. Propuesta experimental**

Con base a la exhaustiva revisión bibliográfica de todos los estudios analizados, se planteó una propuesta metodológica, considerando: técnica y estrategia de biorremediación viable; tipo y volumen de hidrocarburos; eficiencia de los cosustratos empleados con base a la disponibilidad, costo, afinidad estructural; y factores de control a considerar durante el proceso.

## **3. CAPÍTULO III. RESULTADOS Y ANÁLISIS**

### **3.1 Análisis comparativo general**

Se lograron identificar un total de 16 estudios, mismos que cumplían con los criterios de selección establecidos, de los cuales se puede evidenciar en la (Figura No. 1), que a nivel internacional se han desarrollado la mayoría de los estudios en cuanto al uso de cosustratos para la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, con un valor equivalente a 81 %, mientras que a nivel nacional los resultados arrojan un valor de 19 %.

Es importante señalar que de los 16 estudios analizados, 14 presentan resultados de investigaciones realizadas bajo condiciones de laboratorio; mismo que representa el 87%, mientras que los dos estudios restantes: i) Boletín No 029, EP PETROECUADOR trabaja en la remediación de suelos en la región amazónica; presentado por EP PETROECUADOR (2016) y ii) Informe final del caso OCP, Quito: Ministerio del Ambiente, del Programa de Reparación Ambiental y Social (2011); señala resultados de investigaciones de campo con

un valor de 13% , realizados en Ecuador en las provincias de Napo y Francisco de Orellana respectivamente (Figura No. 2).



Figura 1. Clasificación de los estudios analizados.



Figura 2. Clasificación de los estudios analizados, de acuerdo con las condiciones.

De los casos de estudio identificados, se procedió a realizar la clasificación, de acuerdo con el número correspondiente de investigaciones por cada país (Tabla No. 4).

Así también se estableció el porcentaje respectivo de cada uno, mismo que se puede observar en la (Figura No. 3).

Tabla 4

*Número de estudios identificados por cada país.*

<b>País</b>	<b>Número de estudios</b>	<b>Codificación</b>
Colombia	3	E1
		E9
		E16
Ecuador	3	E8
		E12
		E15
México	3	E2
		E6
		E10
Brasil	2	E11
		E14
Venezuela	2	E4
		E13
España	1	E5
Estados Unidos	1	E3
India	1	E7
<b>Total</b>	<b>16</b>	





Figura 3. Porcentaje de los estudios analizados por cada país.

De igual forma, se procedió a realizar la clasificación de los estudios analizados, de acuerdo con el tipo de contaminante tratado y las condiciones en las que se efectuó la investigación, tal como se puede observar en la (Tabla No. 5).

Tabla 5

*Clasificación de los estudios analizados de acuerdo al contaminante tratado y condiciones.*

<b>Codificación</b>	<b>Contaminante tratado</b>	<b>Condiciones</b>
E1	TPHs	Laboratorio
E2	TPHs	Laboratorio
E3	2,4,6-trinitrotolueno (TNT)	Laboratorio
E4	TPHs	Laboratorio
E5	HAPs	Laboratorio
E6	TPHs	Laboratorio
E7	HAPs	Laboratorio
E8	TPHs	En campo
E9	TPHs	Laboratorio
E10	DDT, DDE, DDD	Laboratorio
E11	HAPs	Laboratorio

E12	TPHs	En campo
E13	TPHs	Laboratorio
E14	HAPs	Laboratorio
E15	TPHs	Laboratorio
	Plomo	
E16	TPHs	Laboratorio

En la tabla 5, se pone en evidencia la amplia gama de contaminantes tratados, dentro de los cuales se incluyen compuestos orgánicos que contienen moléculas altamente recalcitrantes como los HAPs, COPs, plaguicidas, pesticidas, metales pesados, entre otros (Fang, Dong, Yan, Tang, & Yu, 2010; Ortiz, Auria, Sigoillot, & Revah, 2003; Rentz, Alvarez, & Schnoor, 2005; Y. Teng et al., 2010; Xie, Liu, Li, & Qiao, 2009), los cuales presentan dificultades para ser degradados, porque los microorganismos no son capaces de utilizarlos como única fuente de carbono y energía; razón por la cual se recurre al empleo de sustancias (cosustratos), que activan el crecimiento microbiano, al activar las enzimas y por ende la degradación de las moléculas recalcitrantes (Harder & Dijkhuizen, 1982; Hazen, 2010, 2018; Ortíz, Auria, Sigoillot, & Revah, 2003; Ortíz, Velasco, & Revah, 2006; Purnomo, Koyama, & Mori, T, 2010). Es decir, de acuerdo con Atlas (1997); EPA (1994), aquellos compuestos, que proveen ciertos nutrientes y que estimulan la actividad microbiana, pero que no constituyen la fuente básica de carbono, son conocidos como cosustratos; además son sustancias que presentan comportamiento químico similar y afinidad estructural con el sustrato (objeto de la biorremediación) (Gualoto, 2011).

Esto se puede notar en el estudio (E3), que emplea como cosustrato melaza para la biorremediación de explosivos nitroaromáticos 2,4,6- trinitrotolueno (TNT) en Estados Unidos (Clark & Boopathy, 2007); lo mismo ocurre con el (E10) que utiliza a manera de cosustratos ( hexano, tolueno, fenol, ácido acético y glucosa) para degradar insecticidas tales como (DDT, DDE, DDD), en el Estado de Chiapas México (Velasco, Le Borgne, Revah, & Ortíz, 2012); finalmente, el (E15) que recurre al uso de (compost y ácido húmico) para biorremediar uno de los dos

contaminantes (plomo) objeto de estudio de su investigación (C. Flores & Mendoza, 2017).

En la (Figura No. 4), con base a los resultados obtenidos, se representa el porcentaje de los estudios analizados, de acuerdo al contaminante tratado, en donde se lograron identificar un total de cinco grupos contaminantes; siendo los TPHs (Hidrocarburos Totales de Petróleo) el objeto de investigación más común con un valor de 60%; a continuación, con un valor de 25 % se registran los HAPs (Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos); en tercer lugar, se posicionan dos estudios: i) los pesticidas (DDT, DDE,DDD) y ii) explosivos nitroaromáticos como el 2,4,6- trinitrotolueno (TNT), ambos con un valor de 6% respectivamente; y finalmente en menor cantidad con 3%, se registra el plomo.

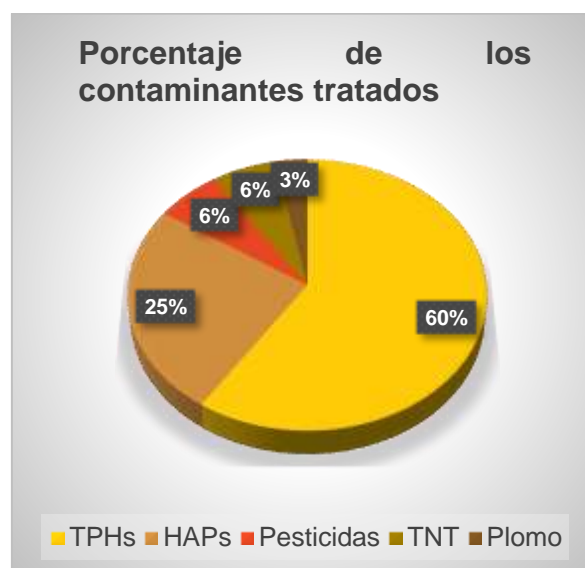


Figura 4. Clasificación de los estudios analizados, de acuerdo a los contaminantes tratados.

### 3.2 Análisis de perspectivas de uso

#### 3.2.1. Análisis desde el punto de vista metodológico

Como se mencionó inicialmente para el análisis e interpretación de las gráficas y tablas comparativas del presente apartado, sólo se consideraron aquellos estudios que fueron realizados bajo condiciones de laboratorio y que tuvieron como contaminante objeto de estudio a tratar hidrocarburos, mismos que se detallan en la (Tabla No. 5).

Para la remediación de hidrocarburos, existen diferentes tecnologías de tratamiento, con operaciones unitarias específicas y comunes a todas ellas, que consiguen alterar la composición de los contaminantes a través de procesos fisicoquímicos y biológicos, permitiendo así la reducción de su toxicidad, movilidad ambiental y biodisponibilidad, así como su volumen (Volke & Velasco, 2002).

De acuerdo con Flores (2004), las distintas metodologías están orientadas a la eliminación del volumen de contaminantes *in situ*, producción más limpia, procesos de reciclaje, reutilización de desechos, reingeniería de procesos y operaciones.

El proceso de biorremediación consiste en utilizar agentes biológicos con el objetivo de acelerar los procesos de biodegradación natural, que bajo condiciones ambientales y cantidades óptimas reducen, transforman o eliminan contaminantes presentes en el suelo, agua y sedimentos (Antizar, Lopez, & Beck, 2004; Enontiemonria, Kofi, Ayodele, & Adewale, 2014; Fulekar, 2010).

El tiempo de degradación de contaminantes en el suelo es incierto, debido a la influencia de los factores ambientales del sitio de tratamiento, además de la capacidad del metabolismo microbiano, la actividad enzimática para asimilarlo, concentración de contaminantes y su biodisponibilidad (Philp & Atlas, 2005; Tahseen, 2010).

Por este motivo, se opta por la implementación de estrategias de biorremediación como son: i) bioestimulación, que consiste en estimular las actividades naturales

de los microorganismos autóctonos del suelo, adicionando nutrientes como P y N (Fernández et al., 2009); ii) bioaumentación, que se basa en la introducción de cepas o consorcios microbianos exógenos, con capacidades catalíticas deseadas, para aumentar el alcance y la eficiencia (Sayara, Borràs, Caminal, & Sánchez, 2011).

Las principales tecnologías biológicas de remediación en virtud de su relación con el oxígeno pueden ser aeróbicas y anaeróbicas. En relación al sitio de ejecución, *in situ* y *ex situ*, en virtud del tipo de organismo empleado: bacterioremediación (bacterias), micoremediación (hongos), ficoremediación (algas), rizorremediación (rizosfera) y fitorremediación (plantas) (Awasthi et al., 2020). El proceso de biorremediación aeróbico o anaeróbico se encuentra en función del estado de oxidación que presenten los contaminantes (Illman & Álvarez, 2006).

De esta forma, en la figura No.5 se ilustra la clasificación de las metodologías de remediación de hidrocarburos.

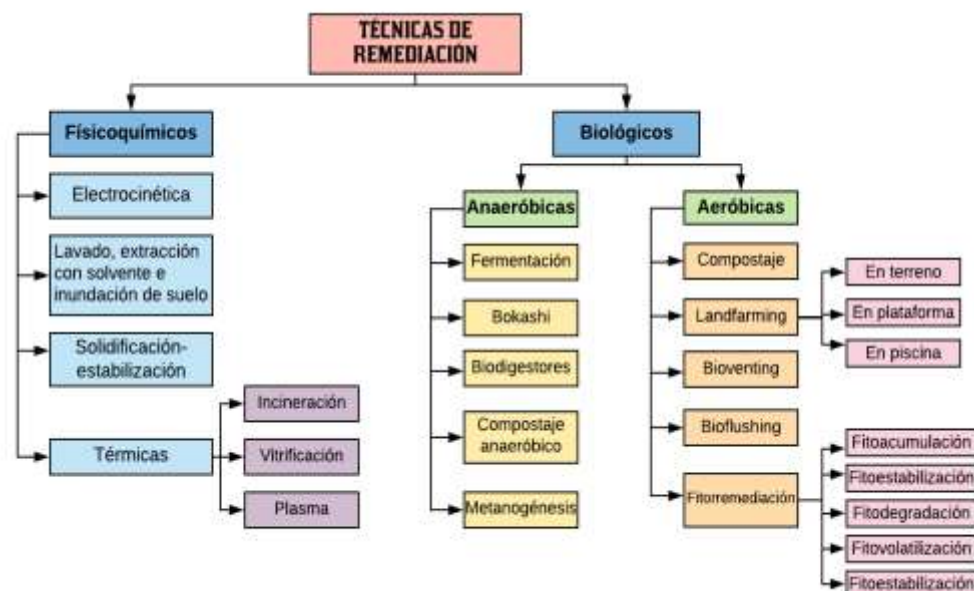


Figura 5. Esquema de técnicas de remediación.

Adaptado de: (Mohee & Mudhoo, 2012; A. Singh, Kuhad, & Ward, 2015)

En la (Tabla No. 6), se presenta la clasificación de los estudios seleccionados con base a la metodología empleada.

Tabla 6

*Clasificación de las técnicas o estrategias de remediación de hidrocarburos de los estudios analizados.*

<b>Codificación</b>	<b>Técnicas</b>	<b>Estrategias empleadas</b>
E1	Landfarming	Bioestimulación
E2	Compostaje	Bioestimulación
E4	No especifica	Bioestimulación
E5	Compostaje	Bioestimulación Bioaumentación
E6	Compostaje	Bioestimulación
E7	No especifica	Bioestimulación Bioaumentación
E9	No especifica	Atenuación natural Bioaumentación Bioestimulación
E11	No especifica	Bioestimulación
E13	No especifica	Bioestimulación
E14	No especifica	Bioestimulación Bioaumentación
E15	Compostaje	Bioestimulación
E16	No especifica	Atenuación natural Bioaumentación Bioestimulación

En la tabla 6, se evidencia las diferentes técnicas y estrategias de tratamiento, los 12 estudios seleccionados, tienen como fin transformar los contaminantes de la industria hidrocarburífera en compuestos menos tóxicos o mineralizarlos en compuestos inorgánicos, a través de los procesos biológicos (Wolicka,

Suszek, Borkowski, & Bielecka, 2009). Es importante señalar que a diferencia de las técnicas de remediación fisicoquímicas, estos métodos son considerados alternativas respetuosas, atractivas, económicas y viables en el ambiente (Ndimele, 2014; Saxena & Bharagava, 2019).

Por consiguiente, se calculó el porcentaje que representa cada uno de los estudios con base a la técnica (Figura No. 6), en donde el 59% de los estudios no especifican la técnica empleada; a continuación con 33% se posiciona el compostaje, proceso biológico controlado; ampliamente utilizado por la industria petrolera (Antizar-Ladislao et al., 2004; Hwang et al., 2006), que a través de la degradación microbiana con compuestos orgánicos (estiércol de animales, residuos agrícolas, aserrín, restos de poda, etc.) se obtiene un material inocuo estable, similar al humus (Kulcu. & Yildiz., 2004; Leech et al., 2020); finalmente con un valor de 8 % se posiciona la técnica de landfarming; que consiste en extender de forma homogénea capas delgadas del material contaminado a tratar, sobre un suelo que se somete a prácticas agrícolas tradicionales de laboreo, fertilización e irrigación; el objetivo es estimular la microflora de los suelos para que empleen los contaminantes adicionados como fuentes de carbono (Bloomfield & Doolin, 2017; Brown, Cologgi, Gee, & Ulrich, 2017).

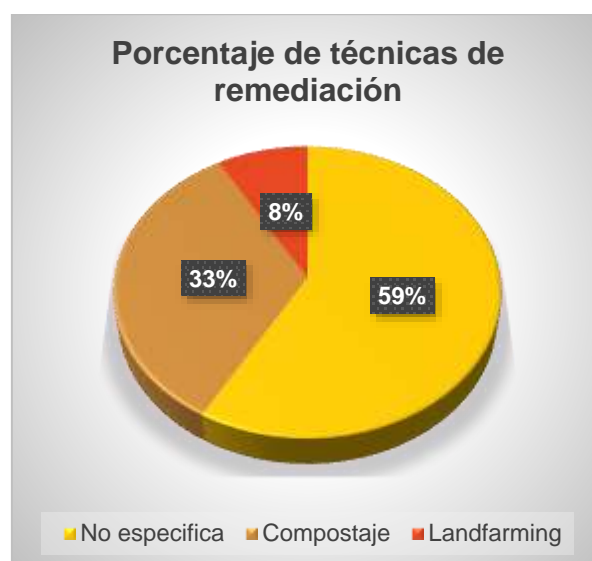
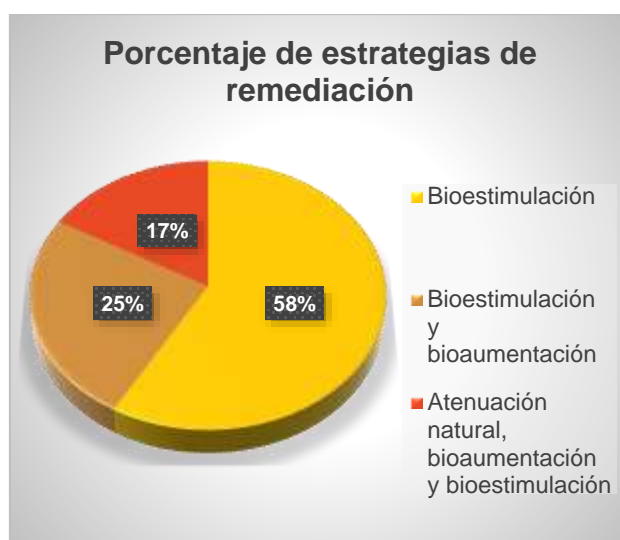


Figura 6. Clasificación de los estudios analizados, de acuerdo a la técnica de biorremediación empleada.

Dado que la mayoría de estudios no detallan la técnica, se procedió a cuantificar la estrategia de biorremediación empleada (Figura No. 7), en donde se puede observar que la estrategia netamente de bioestimulación, es el mecanismo de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos de mayor acogida, con un valor de 58%; en segundo lugar, se encuentra la estrategia de bioestimulación en conjunto con la bioaumentación con 25%; finalmente se registra el proceso de atenuación natural con dos enfoques: bioaumentación y bioestimulación con un valor de 17%.



*Figura 7.* Clasificación de los estudios analizados, de acuerdo a la estrategia de biorremediación empleada.

En la (Tabla No. 7), se presenta los parámetros de caracterización inicial de los estudios analizados.

Tabla 7

*Parámetros afines de caracterización inicial de los estudios analizados.*

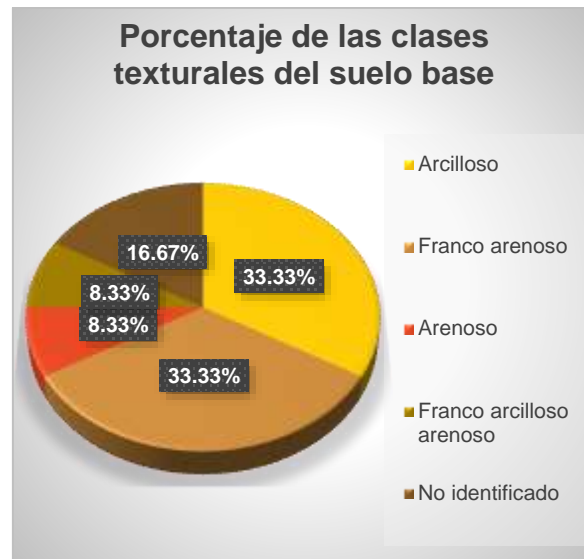
<b>Codificación</b>	<b>Clase textural del suelo base</b>	<b>pH</b>
E1	Arcilloso	5
E2	Arcilloso	7.5



E4	Franco arenoso	5
E5	Franco arenoso	6.7
E6	Arcilloso	7.88
E7	No identificado	7.1
E9	No identificado	7.2
E11	Franco arenoso	7.4
E13	Franco arcilloso arenoso	5.5
E14	Arenoso	7.9
E15	Arcilloso	5.42
E16	Franco arenoso	7.7

En la tabla 7, se describen los dos únicos parámetros afines de la caracterización inicial del suelo base empleado en los estudios seleccionados, para lo cual, en primer lugar; apoyados del método del triángulo textural, se logró identificar la clase textural a la que pertenecen diez de los doce estudios analizados; en donde el (E7) y (E9) no proporcionan la suficiente información para la clasificación. En cuanto al potencial de acidez (pH) todos los estudios registran su valor, mismo que oscila entre (5 y 7,9); en consecuencia, el monitoreo del pH es necesario durante los procesos de biorremediación por cuanto incide sobre la activación de enzimas bacterianas y solubilidad de metales pesados, los valores de pH muestran dependencia del tipo de residuo a tratar, condiciones ambientales y microorganismos empleados (Gualoto, 2011).

En la (Figura No. 8), basados en los datos obtenidos, se logra identificar 2 clases texturales comunes entre los estudios analizados siendo estas: i) arcilloso y ii) franco arenoso, mismas que representan 33.33% respectivamente; de igual forma con un valor de 8.33 % se ubican nuevamente dos clases texturales: arenoso y franco arcilloso arenoso; finalmente con un valor de 16.67% se posicionan los estudios no identificados.



*Figura 8.* Clasificación de los estudios analizados, de acuerdo con la clase textural del suelo base.

Tabla 8

*Gama de cosustratos identificados en los estudios analizados.*

<b>Codificación</b>	<b>Contaminante</b>	<b>Cosustrato</b>
E11	HAPs	Glicerol
E14	HAPs	Semillas de: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Algodón (<i>Gossyium sp.</i>)</li> <li>• Maní (<i>Arachis hypogaea</i>)</li> <li>• Sésamo (<i>Sesamum indicum</i>)</li> </ul> Cepas: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Pseudomonas aeruginosa</i></li> <li>• <i>Burkholderia cepacia</i></li> </ul>

E7	HAPs	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extracto de levadura</li> <li>• Glucosa</li> <li>• Bacterias del género <i>Streptomyces rochei</i></li> </ul>
E13	TPHs	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extracto hidroalcohólico de cáscaras de naranja dulce (<i>Citrus sinensis</i>)</li> </ul>
E5	HAPs	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hongo de podredumbre blanca</li> <li>• Comida para conejos</li> <li>• Compost de residuos orgánicos (cáscara de trigo, alfalfa, cebada, soja, remolacha, impurezas)</li> </ul>
E9	TPHs	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cáscara de banano</li> <li>• Bacterias hidrocarbonoclastas</li> </ul>
E6	TPHs	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bagazo de caña</li> </ul>
E16	TPHs	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Melaza</li> <li>• Tween 80</li> <li>• Leonardita</li> <li>• D-limoneno</li> </ul>

		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bacterias de los géneros: <i>Norcardioides</i> <i>Streptomyces</i> <i>Dietzia</i> <i>Bacillus</i> <i>Rhodococcus</i> <i>Bacillus</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Arthrobacter</i></li> </ul>
E1	TPHs	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sales inorgánicas simples (SIS)</li> <li>• Fertilizante inorgánico compuesto (FIC)</li> </ul>
E2	TPHs	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cáscara de naranja</li> </ul>
E4	TPHs	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Estiércol equino</li> <li>• Humus líquido</li> </ul>
E15	TPHs	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Compost</li> <li>• Ácido húmico</li> </ul>

En la tabla 8, se evidencia la amplia gama de cosustratos empleados en procesos de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, el empleo de los mismos presenta una ventaja adicional como es el incremento de bacterias heterótrofas, hongos autóctonos que aceleran el proceso de biodegradación de los contaminantes y el equilibrio en la relación C: N: P: K del suelo, factor muy relevante en la biorremediación, en especial en la biorremediación de hidrocarburos (Lu, Zhang, & Fang, 2011).

El uso de cosustratos en trabajos de biorremediación, durante los últimos años ha ido aumentando, en varios estudios los han utilizado en calidad enmiendas o

suplementos (Wilcke, 2007). Entre la gama de cosustratos que se han empleado en procesos de biorremediación se encuentran: aceites esenciales, glucosa, melaza, succinato, acetato, malato, citrato (In, Park, Namkoong, Hwang, & Kim, 2008). En cuanto a los cosustratos provenientes de aceites esenciales destaca el uso de limoneno proveniente de frutas cítricas como el limón, naranja y mandarina por su bajo costo, amplia disponibilidad y beneficio (Filipsson, Bard, & Karlsson, 1998; Li et al., 2017; Riojas, Gortáres, Mondaca, & Balderas, 2011).

De igual forma se han empleado residuos agroindustriales tales como bagazo de caña, grano de cervecería gastado, guisantes, aserrín, paja de avena, paja de trigo cáscaras de frutas, rastrojo de maíz y heno (Agamuthu, Tan, & Fauziah, 2013; Shahsavari, Adetutu, Anderson, & Ball, 2013), que no solo han servido como enmiendas, sino también, como material texturizantes, que incrementa la porosidad en el medio, generando condiciones aeróbicas; adicionalmente constituyen una fuente de carbono y de aportación de microorganismos lignolíticos (Cuevas, Rojas, Pogyvaraldo, Esparza, & Rodriguez, 2005; García et al., 2011; Pérez, Loera, Fernández, Esparza, & Rodríguez, 2004).

Otro cosustrato que ha registrado éxito en procesos de biorremediación industrial, degradación de petróleo y desnitrificación de aguas residuales ha sido el glicerol (Bodík, Blšťáková, Sedláček, & Hutňan, 2009). Este cosustrato presenta varias ventajas sobre los otros, debido a sus propiedades osmorreguladoras, fuente preferida de carbono en la síntesis de biosurfactantes y ampliamente disponible en el mercado (Batista, Munteer, Amorim, & Tótola, 2006). De esta forma un compuesto considerado como un desecho industrial, ha recibido un valor agregado, por la reutilización en la industria petrolera y el gas (Ayoub & Abdullah, 2012).

Durante varias décadas, estos coproductos eran considerados desperdicios, en la actualidad desempeñan una gran funcionalidad y contribuyen a la solución de dos problemas ambientales latentes como son la eliminación de contaminantes y la reutilización de productos industriales (Xue & Landis, 2010).

Datos sobre la eficiencia del empleo de cosustratos en trabajos de biorremediación de hidrocarburos, nos brindan los estudios analizados, mismos que se detallan a continuación (Tabla No. 9):

Tabla 9

*Eficiencia de los cosustratos por rangos de concentración inicial de los estudios analizados.*

Rango (ppm)	Cód.	Ci (ppm)	Contaminante	Cosustrato	Efi. (%)	T (días)
	E11	8.43	HAPs	• Glicerol	68	60
(< 100)	E14	50	Fenantreno	Semillas de:	65	60
			Pireno	• Algodón ( <i>Gossyium sp.</i> ) • Maní ( <i>Arachis hypogaea</i> ) • Sésamo ( <i>Sesamum indicum</i> ) Cepas: • <i>Pseudomonas aeruginosa</i> • <i>Burkholderia cepacia</i>	80	
	E7	100	Fluoreno	• Extracto de levadura • Glucosa	92	15
		100	Fenantreno		80	

(101-1000)		100	Antraceno	• Bacterias del género <i>Streptomyces rochei</i>	60.2	
		100	Pireno		28	
	E13	1000	TPHs	• Extracto hidroalcohólico o de cáscaras de naranja dulce ( <i>Citrus sinensis</i> )	90.9	42
	E5	1000	HAPs	• Hongo de podredumbre blanca • Comida para conejos • Compost de residuos orgánicos (30% cáscara de trigo, 30% alfalfa, 9% cebada, 8% soja, 4% remolacha, 11% impurezas)	89	30
(1001-10.000)	E9	6270	TPHs	• Cáscara de banano • Bacterias hidrocarbono-clastas	93	30

<b>(10.001- 20.000)</b>	E6	16000	TPHs	• Bagazo de caña	30	20
	E16	14000	TPHs	• Melaza • Tween 80 • Leonardita • D-limoneno • Bacterias de los géneros: <i>Norcardioides</i> <i>Streptomyces</i> <i>Dietzia</i> <i>Bacillus</i> <i>Rhodococcus</i> <i>Bacillus</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Arthrobacter</i>	28 (A) 76 (Bi) 66 (Bs)	90
<b>(&gt;20.000)</b>	E1	21344	TPHs	• Sales inorgánicas simples (SIS) • Fertilizante inorgánico compuesto (FIC)	40 (SIS) 34 (FIC)	28
	E2	58000	TPHs	• Cáscara de naranja	69	15
	E4	55800	TPHs	• Estiércol equino • Humus líquido	37.72 16.36	22
	E15	21958	TPHs	• Compost • Ácido húmico	88.96	180



En la tabla 9, dentro del rango N°1; establecido para los artículos científicos con Ci (<100 ppm), se posicionaron dos investigaciones (E11) y (E14), ambos tratando como contaminante objeto de estudio HAPs, el primero de forma general y el segundo que señala específicamente (fenantreno y pireno), aunque la diferencia en cuanto a la eficiencia no es significativa entre los dos estudios y el tiempo de remoción coincide (60 días), el factor determinante para la selección del cosustrato más eficiente dentro de este rango, fue la Ci que presenta el (E14) (50 ppm), demostrando así que, los cosustratos empleados en el mismo; conformado por semillas de algodón (*Gossyium sp.*), maní (*Arachis hypogaea*), sésamo (*Sesamum indicum*) y cepas (*Pseudomonas aeruginosa*) y (*Burkholderia cepacia*) son más eficientes, en comparación al glicerol, empleado como cosustrato en el (E11).

En segundo lugar, para el rango de clasificación con Ci entre (101-1.000 ppm) se registraron 3 estudios; dos dirigidos a la biorremediación de suelos contaminados con HAPs (E7), (E5) y uno con TPHs (E13), razón por la cual se realizó un análisis comparativo entre los estudios (E7) y (E5).

El estudio denominado (E7) señala 4 contaminantes específicos (fluoreno, fenantreno, antraceno y pireno) con Ci de 100 ppm para cada uno; mientras que el (E5) dentro de sus contaminantes incluía (fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo a, y criseno) con una Ci total de 1.000 ppm; de acuerdo con la marcada diferencia significativa de Ci y el porcentaje total de remoción dentro de este rango, se infiere como mejores cosustratos empleados (hongo de podredumbre blanca, comida para conejos y compost de residuos orgánicos) correspondientes al estudio (E5), a diferencia de (extracto de levadura, glucosa y bacterias del género *Streptomyces rochei*) empleadas en el estudio (E7).

A pesar de que el estudio (E13), no es comparable dentro del rango establecido, es importante señalar los resultados que presenta, en el cual se evaluó un extracto hidroalcohólico de cáscara de naranja dulce (*Citrus sinensis*) en calidad

de cosustrato, para el tratamiento de suelos contaminados con TPHs, para las pruebas se empleó una Ci de 1000 ppm y la eficiencia del tratamiento fue de 90.9%, en un período de 42 días.

Algo similar ocurre en el tercer rango de clasificación, establecido para Ci (1.001 -10.000 ppm), en donde tampoco se pudo realizar una comparación, considerando que se registró únicamente un estudio (E9), con Ci de 6.270 ppm; en donde se empleó en calidad de cosustratos, cáscara de banano y cepas de bacterias hidrocarbonoclastas y transcurridos 30 días, se obtuvo una degradación del 93% de TPHs.

Para el cuarto rango de clasificación con valores de Ci (10.001- 20.000 ppm), se reconocen 2 estudios (E6) y (E16), con Ci 16.000 y 14.000 ppm respectivamente, ambos con el mismo contaminante afín a tratar (TPHs). En donde de acuerdo con la Ci y el tiempo de remoción que presenta el (E6) 20 días, en comparación con el (E16) 90 días; se logra identificar el bagazo de caña empleado en el (E6) como mejor cosustrato, a diferencia de (melaza, tween 80, leonardita, D-limoneno y bacterias de los géneros *Norcardioides*, *Streptomyce*, *Dietzia*, *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*); correspondientes al (E16).

En cuanto al rango de Ci (>20.000 ppm), se registraron 4 estudios (E1), (E2), (E4), (15), todos con el mismo contaminante afín (TPHs); dentro del cual se realizó una nueva sub clasificación de acuerdo a la Ci, de modo que: i) se comparó el (E1) y (E15) con 21.344 y 21.958 ppm; ii) (E2) y (E4) con 58.000 y 55.800 ppm respectivamente.

Para el primer caso de comparación entre los estudios (E1) y (E15), no se pudo seleccionar el mejor cosustrato, considerando que el (E1) empleando sales inorgánicas simples (SIS) y fertilizante inorgánico compuesto (FIC) presenta menor eficiencia (40% con SIS) y (34 % con FIC), pero el tiempo de remoción del contaminante es corto (28 días); a diferencia del (E15) que presenta mayor

eficiencia (88.96 %), pero el tiempo de remoción del contaminante también es mayor (180 días), empleando como cosustratos compost y ácido húmico.

En cuanto a la segunda comparación entre los estudios (E2) y (E4) se seleccionó como mejor cosustrato cáscara de naranja, correspondiente al (E2), con una eficiencia de remoción del 69 %, en un período de 15 días.

Finalmente, es importante señalar que la eficiencia de remoción presentada por los estudios (E7) y (E14), son producto de ensayos independientes, realizados bajo condiciones de laboratorio, es decir cada contaminante fue considerado un tratamiento autónomo.

### **3.2.2. Análisis desde el punto de vista económico**

El uso de cosustratos desde el punto de vista económico, representa una verdadera alternativa; por cuanto el empleo de técnicas convencionales como la incineración, genera grandes erogaciones económicas, con costos equivalentes a \$750.00 USD/tonelada (Cabrera & Gualoto, 2008), sin tomar en cuenta los costos de excavación del suelo y transporte (Clark & Boopathy, 2007; Joynt et al., 2006).

Por esta razón, se procedió a realizar una tabla con los costos operativos de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, de acuerdo a la Ci mínima y la Ci máxima que presenten (Tabla No. 10).

Tabla 10

*Costos operativos de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos de acuerdo a su concentración inicial.*

<b>Ci min (ppm)</b>	<b>Ci máx (ppm)</b>	<b>Costo</b>
2.000	19.000	20 USD/m <sup>3</sup>
20.000	39.000	40 USD/m <sup>3</sup>
40.000	59.000	60 USD/m <sup>3</sup>
60.000	79.000	80 USD/m <sup>3</sup>
80.000	99.000	100 USD/m <sup>3</sup>
100.000	119.000	150 USD/m <sup>3</sup>
120.000	139.000	200 USD/m <sup>3</sup>
140.000	En adelante	280 USD/m <sup>3</sup>

Fuente: SERVIGARLIN (2011).

En la tabla 10, se pone en evidencia como las técnicas de biorremediación muestran dependencia de la concentración del contaminante, los cuales pueden variar entre 20 USD/m<sup>3</sup>, para concentraciones de hasta 19.000 ppm y 280 USD/m<sup>3</sup> para concentraciones superiores a 140.000 ppm (SERVIGARLIN, 2011).

Conscientes de la creciente industrialización alrededor del mundo, en donde los suelos se han dispuesto como grandes centros de acopio de un exorbitante volumen de residuos generados; especialmente por el sector hidrocarburífero, las cifras económicas expuestas, tratando suelos contaminados con hidrocarburos por técnicas de remediación fisicoquímicas; representan un verdadero problema, cuando de grandes volúmenes de suelos contaminados se trata, poniendo por caso los 2 estudios realizados en campo identificados como (E8) y (E12), en donde se trabaja con 4.996,26 m<sup>3</sup> y 14. 000 m<sup>3</sup> de suelos contaminados respectivamente.

### 3.2.3. Análisis desde el punto de vista ambiental

Ambientalmente, el uso de cosustratos a través del proceso de biorremediación es una técnica ecológica (Di Paola & Vicien, 2010; Garzón, Rodríguez, & Hernández, 2017), que, a diferencia de los distintos procesos físico químicos, ésta no resulta tan agresiva con el medio (Moreno & Suyon, 2020; Tyagi, da Fonseca, & de Carvalho, 2011).

En la (Tabla No.11), se presentan los resultados de los estudios analizados, comparados con los valores establecidos por el RAHOE.

Tabla 11

*Eficiencia de los estudios analizados, comparados con el RAHOE.*

Cód.	Parámetro	Ci	Unidad	Resultados	
				Cf	Normativa ecuatoriana
E11	HAPs	8.43	ppm	2.69	Alcanza Uso industrial
E14	Fenantreno	50	ppm	17.50	No alcanza
	Pireno		ppm	10	No alcanza
E7	Fluoreno	100	ppm	8	No alcanza
	Fenantreno	100	ppm	20	No alcanza
	Antraceno	100	ppm	39.8	No alcanza
	Pireno	100	ppm	72	No alcanza
E13	TPHs	1000	ppm	91	Alcanza Ecosistemas sensibles
E5	HAPs	1000	ppm	110	No alcanza
E9	TPHs	6270	ppm	438.9	Alcanza Ecosistemas sensibles
E6	TPHs	16000	ppm	11.200	No alcanza
E16	TPHs	14000	ppm	10.080(A)	No alcanza
				3360 (Bi)	Alcanza Uso industrial

				4760 (Bs)	No alcanza
E1	TPHs	21344	ppm	12806.4 (SIS)	No alcanza
				14087.04 (FIC)	No alcanza
E2	TPHs	58000	ppm	17890	No alcanza
E4	TPHs	55800	ppm	21047.76 (Estiércol)	No alcanza
				46671.12 (humus líquido)	No alcanza
E15	TPHs	21958	ppm	2424.16	Alcanza    Uso agrícola

En la tabla 11, se establece la concentración final (Cf), de los estudios analizados empleando cosustratos en el proceso de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, comparados con los valores establecidos por el RAHOE (Tabla No. 3), en donde solamente cinco de los doce estudios alcanzarían a cumplir con los mismos.

Sin embargo es importante señalar que dentro de los estudios que “no alcanzan” a cumplir con estos valores, existen algunos que se encuentran dentro de los límites máximos permisibles de la normativa vigente del país en el que se desarrolló la investigación; poniendo por caso el estudio (E16), en el cual los valores de (Cf) a través de la estrategia de bioaumentación (Bi) y bioestimulación (Bs) cumplen con el límite máximo permisible por la resolución 1170 del Departamento Administrativo de Medio Ambiente (DAMA) en Colombia.

También, es importante recalcar que la mayoría de los estudios que no cumplen con los límites máximos permisibles del RAHOE, fueron efectuados en períodos cortos de tiempo y la Ci del contaminante era alta; esto es claro en el (E15), realizado en Ecuador, en donde inicialmente se partió con una Ci de 21.958 ppm,

y se logró cumplir con los valores establecidos en la normativa, transcurridos 180 días de tratamiento.

Adicional, todos los estudios emplean cosustratos orgánicos, lo cual genera múltiples ventajas, entre las que destacan:

- Empleo de otro tipo de residuos, que también requiere gestión a un costo determinado (S. Singh, Kang, Mulchandani, & Chen, 2008), que facilita la degradación del contaminante objeto de estudio.
- Posibilidad de resolver el problema de la gestión de residuos orgánicos de distintos sectores productivos; en calidad de cosustratos para la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, que por lo general no suelen ser utilizados y son liberados al ambiente (Yepes, Montoya, & Orozco, 2008).
- Reducción del impacto ambiental, de acuerdo con Barragán, Díaz, & Laguna (2008); Mejía, Martínez, Betancourt, & Castrillón (2007) , la mayoría de residuos orgánicos terminan en vertederos, rellenos sanitarios o en el peor de los casos en terrenos baldíos y espacios verdes, convirtiéndose en material voluminoso, en donde la mayoría son incinerados generando grandes emisiones de CO<sub>2</sub>, proliferación de vectores que traen consigo enfermedades, contaminación de fuentes hídricas y generación de malos olores.

### **3.3 Diseño de propuesta metodológica**

Tras la exhaustiva revisión de la literatura científica, se puede evidenciar que el uso de cosustratos en procesos de biorremediación para suelos contaminados con hidrocarburos, es una técnica bastante prometedora (Garzón et al., 2017), que tiene grandes perspectivas de desarrollo en el país.

Con base a los resultados, una valoración técnica biológica y experiencias positivas registradas en los estudios analizados, se propone una metodología para ser implantada en condiciones de campo, donde el volumen de suelos contaminados es alarmante, pero es real.

### **3.3.1 Área de aplicación**

La presente propuesta metodológica, está dirigida especialmente hacia las áreas de la región Amazónica y Costa Ecuatoriana, lugares que registran la mayor cantidad de contaminación hidrocarburífera proveniente de diferentes fuentes como derrames, piscinas y fosas; a lo largo del territorio nacional, tal como se puede observar en la (figura No.9).



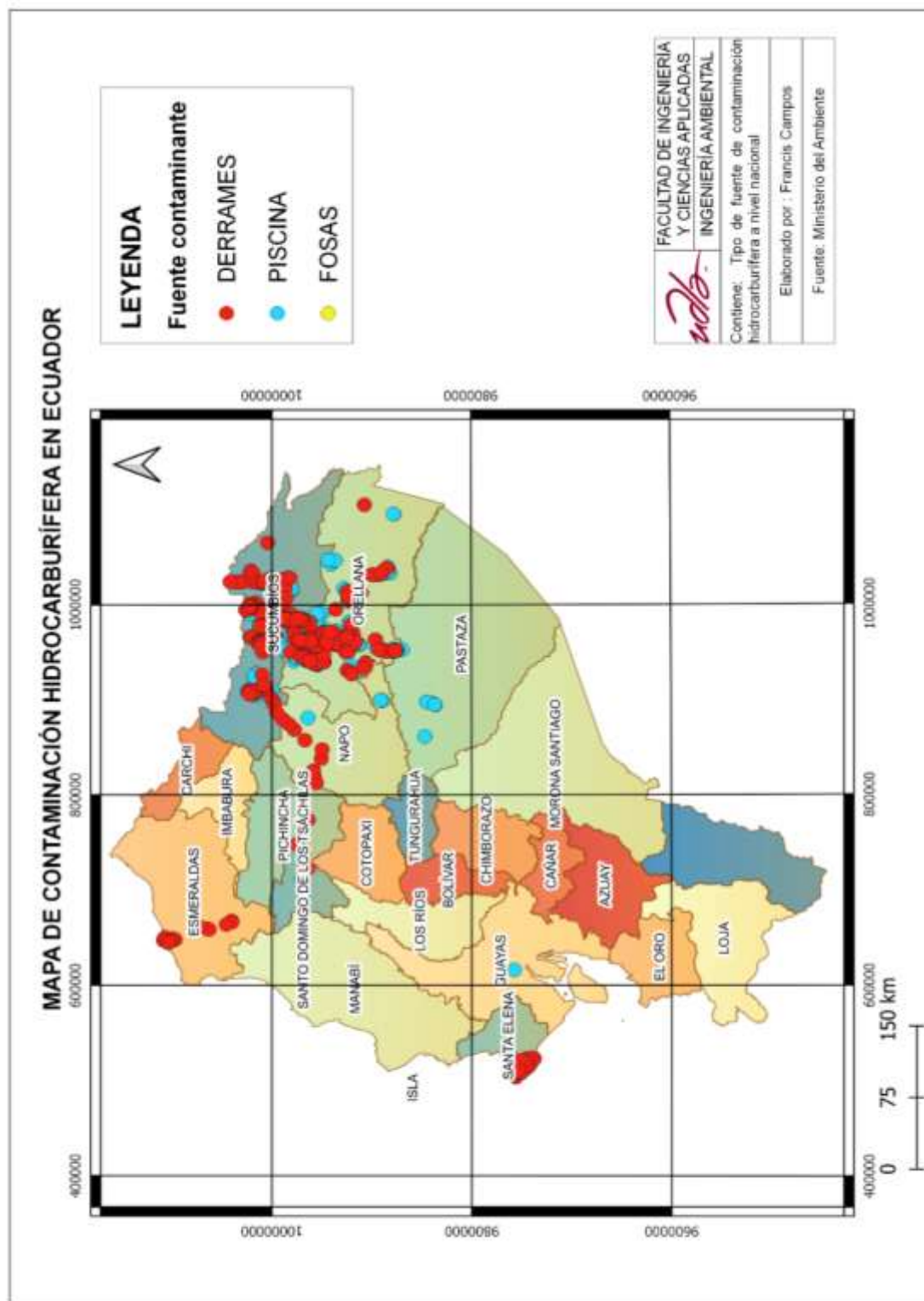


Figura 9. Mapa de contaminación hidrocarbúrfica en Ecuador.

### 3.3.2 Propuesta experimental

Teniendo como referencia el porcentaje de las técnicas de biorremediación más empleadas, se sugiere en campo la construcción de **biopilas**, en conjunto con las estrategias de **bioestimulación** y **bioaumentación**, para acelerar el proceso e incrementar la eficiencia de remoción de TPHs o HAPs.

Las biopilas deberán ser establecidas en un área que incluya a más de los cosustratos, una cama de tratamiento, sistema de riego de agua, sistema de aireación, recolección de lixiviados y adición de nutrientes (Ma et al., 2016; Ramadas et al., 2015; Volke & Velasco, 2002). En cuanto a la selección de cosustratos, se sugiere considerar criterios de disponibilidad en la zona, costo económico, afinidad estructural y eficiencia. Siendo entre los más acertados cáscara de banano, cáscara de naranja, bagazo de caña, compost, hongo de podredumbre blanca y melaza.

De acuerdo con Izquierdo (2013), existen 2 formas de diseño para una biopila: las permanentes que son construidas sobre bases de cemento, por lo general estas son utilizadas en países como Estados Unidos y las temporales que usan revestimientos plásticos. La forma de la biopila debe garantizar las condiciones de aireación homogénea, para evitar una sobreaireación y por ende emisión de compuestos volátiles y aerosoles. En cuanto al tamaño Vandecasteele (2008) sugiere que las biopilas individuales pueden tener una altura de 3 a 4 m y un volumen de cientos de m<sup>3</sup>; mientras que las que se encuentran en hileras no deben exceder los 1.5 m.

Los factores que se deben controlar durante el proceso serán: concentración de oxígeno, para garantizar las condiciones aeróbicas del tratamiento y evitar la formación de gases tóxicos; pH (5.5-7.5); disponibilidad NPK (3:1:1); humedad (40-60%) menos del 40% el metabolismo se ralentiza, incrementa la temperatura, disminuye la disponibilidad de nutrientes para los microorganismos y más del 60% los poros del sustrato se saturan de agua y se generan

condiciones anaeróbicas. En cuanto a la temperatura se sugiere un rango entre (37-45°C), por lo que en la mayoría de las veces para asegurar este último parámetro las biopilas deberán ser cubiertas con un plástico (Mohee & Mudhoo, 2012). Otro factor importante a considerar es la concentración del contaminante, en caso de presentar altas concentraciones se debe recurrir a estrategias de dilución: tratar por partes, emplear material estructurante y esponjante, uso de tamices moleculares, etc.

## **4. CAPÍTULO IV. Conclusiones y Recomendaciones**

### **4.1. Conclusiones**

- Se logró identificar la amplia gama de cosustratos orgánicos como, bagazo de caña, cáscara de naranja, cáscara de banano, melaza; que son comunes en el Ecuador y en todo el mundo, y que pueden ser aprovechados para el cometabolismo de los hidrocarburos, facilitando su biodegradación.
- La investigación permitió conocer algunas experiencias positivas del empleo de cosustratos en la remediación de suelos contaminados por hidrocarburos, incluso de aquellos contaminantes recalcitrantes entre los cuales podemos mencionar a: biorremediación de suelos contaminados con 2,4,6-trinitrotolueno (TNT), a través del mecanismo de bioestimulación y landfarming, remoción de DDT, DDE, DDD, por bioestimulación y eliminación de plomo por compostaje.
- Con base a la revisión bibliográfica, experiencias positivas y volumen de residuos generados por el sector hidrocarburífero en el país, se propone la construcción de biopilas que combinen estrategias de bioaumentación y bioestimulación para acelerar el proceso de degradación de los contaminantes, con parámetros de monitoreo establecidos.

## **4.2. Recomendaciones**

Existen pocos estudios a escala de microcosmos desarrollados por la academia sobre el uso de cosustratos para suelos contaminados con hidrocarburos en nuestro país, y los registrados no cuentan con toda la información necesaria para poder establecer una comparación en cuanto a eficiencia, por lo que se sugiere teniendo como indicio la presente investigación, continuar con la fase experimental, identificando los microorganismos involucrados y los parámetros cinéticos del proceso.

## REFERENCIAS

- Agamuthu, P., Tan, Y. S., & Fauziah, S. H. (2013). Bioremediation of Hydrocarbon Contaminated Soil Using Selected Organic Wastes. *Procedia Environmental Sciences*, 18, 694–702. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2013.04.094>
- Álvarez, A., & Polti, M. (2014). *Bioremediation in Latin America* (Springer). <https://doi.org/10.1007/978-3-319-05738-5>
- Antizar-Ladislao, B., Lopez-Rea, I. J., & Beck, A. (2004). Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated waste using composting approaches. *Crit Rev Environ Sci Technol*, 34, 293–302.
- Antizar, B., Lopez, J., & Beck, A. (2004). Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated waste using composting approaches. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 34(3), 249–289. <https://doi.org/10.1080/10643380490434119>
- Atlas, R. M. (1997). *Principles of microbiology*. (No. 631.46 A8.).
- Awasthi, M. K., Guo, D., Awasthi, S. K., Wang, Q., Chen, H., Liu, T., ... Zhang, Z. (2020). Recent Advances in Phytoremediation of Toxic Metals from Contaminated Sites: A Road Map to a Safer Environment. In *Bioremediation of Industrial Waste for Environmental Safety*. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-3426-9\\_4](https://doi.org/10.1007/978-981-13-3426-9_4)
- Ayoub, M., & Abdullah, A. Z. (2012). Critical review on the current scenario and significance of crude glycerol resulting from biodiesel industry towards more sustainable renewable energy industry. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(5), 2671–2686. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.01.054>
- Barragán, H. B., Díaz, T. A. Y., & Laguna, T. A. (2008). Utilización de residuos agroindustriales. *Revista Sistemas Ambientales*, 2(1), 44–50.
- Batista, S. B., Mounteer, A. H., Amorim, F. R., & Tótola, M. R. (2006). Isolation and characterization of biosurfactant/bioemulsifier-producing bacteria from

- petroleum contaminated sites. *Bioresource Technology*, 97(6), 868–875. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.04.020>
- Becerra, S., Paichard, E., Sturma, A., & Maurice, L. (2013). Living with oil contamination in Ecuador: social perceptions of health risks and coping capacities. *Revista Lider*, 23, 102–120.
- Beristáin, C., Páez, D., & Fernández, I. (2009). Las palabras de la selva : Estudio psicosocial del impacto de las explotaciones petroleras de Texaco en las comunidades amazónicas de Ecuador. In *Estudios Políticos* (Hegoa). Bilbao, España.
- Biswas, S., Chaudhari, S. K., & Mukherji, S. (2005). Microbial uptake of diesel oil sorbed on soil and oil spill clean-up sorbents. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 80(5), 587–593. <https://doi.org/10.1002/jctb.1257>
- Bloomfield, B. P., & Doolin, B. (2017). *Landfarming : A contested space for the management of waste from oil and gas extraction*. <https://doi.org/10.1177/0308518X17730582>
- Bodík, I., Blšťáková, A., Sedláček, S., & Hutňan, M. (2009). Biodiesel waste as source of organic carbon for municipal WWTP denitrification. *Bioresource Technology*, 100(8), 2452–2456. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.050>
- Bravo, E. (2007). Los impactos de la explotación petrolera en ecosistemas tropicales y la biodiversidad. *Fronteras Comunes y Asociación Ecológica Santo Tomás*, 1–36.
- Brown, L. ., Cologgi, D. ., Gee, K. ., & Ulrich, A. . (2017). Chapter 12 - bioremediation of oil spills on land. In: Fingas, M. (Ed.), *Oil Spill Science and Technology, second ed. Boston, Gulf Professional Publishing*. 699–729.
- Bundy, J. G., Paton, G. I., & Campbell, C. D. (2002). Microbial communities in different soil types do not converge after diesel contamination. *Journal of Applied Microbiology*, 92(2), 276–288. <https://doi.org/10.1046/j.1365->

2672.2002.01528.x

- Cabrera, R., & Gualoto, M. (2008). Summary for Policymakers. In *Climate Change 2013 - The Physical Science Basis* (p. 10).
- Cavalcanti, T. G., de Souza, A. F., Ferreira, G. F., Dias, D. S. B., Severino, L. S., Morais, J. P. S., ... Vasconcelos, U. (2017). Use of Agro-Industrial Waste in the Removal of Phenanthrene and Pyrene by Microbial Consortia in Soil. *Waste and Biomass Valorization*, 10(1), 205–214. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0041-8>
- Clark, B., & Boopathy, R. (2007). Evaluation of bioremediation methods for the treatment of soil contaminated with explosives in Louisiana Army Ammunition Plant, Minden, Louisiana. *Journal of Hazardous Materials*, 143(3), 643–648. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.01.034>
- Cuevas, M., Rojas, N., Pogyvaraldo, H., Esparza, F., & Rodriguez, R. (2005). Remoción de hidrocarburos totales de petróleo utilizando cultivo sólido. In *XVI Congreso Chileno de Ingeniería Química*.
- Da Ros, G. (1995). *La Contaminación de Aguas en Ecuador una aproximación económica* (ABYA-YALA). Quito, Ecuador.
- Di Paola, M., & Vicien, C. (2010). Biorremediación: vinculaciones entre investigación, desarrollo y legislación. *Potencialidades de La Biotecnología Para El Desarrollo Industrial En Argentina*, (October), 34.
- Enontiemonria, V., Kofi, F., Ayodele, A., & Adewale, O. (2014). Comparison of Aerobic and Anaerobic Bioremediation of Polluted Water Samples. *American International Journal of Contemporary Research*, 4(4), 120–126. Retrieved from [www.aijcrnet.com](http://www.aijcrnet.com)
- EP PETROECUADOR. (2013). El petróleo en el Ecuador la nueva era. *Historia y Vida*, (418), 143.
- EP PETROECUADOR. (2016). EP PETROECUADOR TRABAJA EN LA REMEDIACIÓN DE SUELOS EN LA REGIÓN AMAZÓNICA. In *Boletín No 029*. Quito, Ecuador.

- EPA, U. (1994). Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils. *SW-846 Method A*, 3051, 1997.
- Fang, H., Dong, B., Yan, H., Tang, F., & Yu, Y. (2010). Characterization of a bacterial strain capable of degrading DDT congeners and its use in bioremediation of contaminated soil. *J Hazard Mater* 184(1–3), 281–289.
- Fernández, C., Labrador, H., Llobregat, M., Méndez, L., Bastidas, H., & Sien, B. (2009). Efectos del estiércol equino y del humus líquido en el proceso de biodegradación de un suelo contaminado con petróleo. *Revista de La Facultad de Ingenieria*, 24(2), 47–58.
- Filipsson, A., Bard, J., & Karlsson, S. (1998). Limonene. *World Health Organization*. Geneva, 36. Retrieved from <https://www.who.int/ipcs/publications/cicad/en/cicad05.pdf>
- Flores, C., & Mendoza, J. (2017). *Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos por derrames de la Estación de Servicio en el campamento de Guarumales-CELEC*. Universidad de Cuenca.
- Flores, H. (2004). *El Beneficio de los Boratos. Historia, Minerales, Yacimientos, Usos, Tratamiento, Refinación, Propiedades, Contaminación, Análisis Químico*. Salta, Argentina.
- Fulekar, M. H. (2010). *Global Status of Environmental Pollution and Its Remediation Strategies*. <https://doi.org/10.1007/978-90-481-3678-0>
- Gallego, J. R., González-Rojas, E., Peláez, A. I., Sánchez, J., García-Martínez, M. J., Ortiz, J. E., ... Llamas, J. F. (2006). Natural attenuation and bioremediation of Prestige fuel oil along the Atlantic coast of Galicia (Spain). *Organic Geochemistry*, 37(12), 1869–1884. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2006.07.022>
- Galván, L., Reyes, R., Guédez, C., & De Armas, D. (2007). Los macroprocesos de la industria petrolera y sus consecuencias ambientales. “*Revista Universidad, Ciencia y Tecnología*,” 11(43), 91–97.
- Gao, S., Liang, J., Teng, T., & Zhang, M. (2019). *Petroleum contamination*



*evaluation and bacterial community distribution in a historic oilfield located in loess plateau in China.* 136:30-42.  
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.12.012>.

García, R., Ríos, E., Martínez, A., Ramos, F., Cruz, J., & Cuevas, M. (2011). Uso de cachaza y bagazo de caña de azúcar en la remoción de hidrocarburos en suelo contaminado. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 27(1), 31–39.

Garzón, J., Rodríguez, J., & Hernández, C. (2017). Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible Introducción Materiales y métodos Resultados. *Universidad y Salud*, 19(2), 309. <https://doi.org/10.22267/rus.171902.93>

Goldstein, K., & Garvey, E. (2014). A Supplemental Report Regarding the Environmental Contamination From TexPet's E&P Activities. *The Louis Berger Group, Inc.*

Gualoto, M. (2011). *Presentación de Cosustratos en Biorremediación* (p. 61). p. 61.

Harbour, X., Lake, Y. D., Ou, S., Zheng, J., Zheng, J., Richardson, B. J., & Lam, P. K. S. (2004). *Petroleum hydrocarbons and polycyclic aromatic hydrocarbons in the surficial sediments of.* 56, 107–112.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.02.022>

Harder, W., & Dijkhuizen, L. (1982). Strategies of mixed substrate utilization in microorganisms. *Phil Trans R Soc Lond B* 297, 459–480.

Hazen, T. (2010). Cometabolic bioremediation. *Lawrence Berkeley National Laboratory*, 17. Recuperado el 22 de julio de 2020 de <https://escholarship.org/uc/item/7vp2861h>

Hazen, T. (2018). *Cometabolic Bioremediation*. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-44535-9\\_5-1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-44535-9_5-1)

Hwang, E.-Y., Park, J.-S., Kim, J.-D., & Namkoong, W. (2006). Effects of aeration mode on the composting of diesel-contaminated soil. *J Ind Eng Chem* 12, 694–701.

- Illman, W., & Álvarez, P. (2006). *Bioremediation and Natural Attenuation Poces Fundamentals and Mathematical Models*. New Jersey: Wiley.
- In, B.-H., Park, J.-S., Namkoong, W., Hwang, E., & Kim, J.-D. (2008). Effect of co-substrate on anaerobic slurry phase bioremediation of TNT-contaminated soil. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 25(1), 102–107.
- IPIECA;IMO;OGP. (2012). *Sensitivity mapping for oil spill response*. 40.
- Izquierdo, A. (2013). *Biodegradación de HAPs durante la biorremediación aeróbica de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo . Análisis de poblaciones bacterianas y genes funcionales*. Universitat de Barcelona.
- Joynt, J., Bischoff, M., Turco, R., Konopka, A., & Nakatsu, C. H. (2006). Microbial community analysis of soils contaminated with lead, chromium and petroleum hydrocarbons. *Microbial Ecology*, 51(2), 209–219. <https://doi.org/10.1007/s00248-005-0205-0>
- Kulcu., R., & Yildiz., O. (2004). *Bioresource Technology*. 93, 49.
- Leahy, J. G., & Colwell, R. R. (1990). *Microbial Degradation of Hydrocarbons in the Environment*. 54(3), 305–315.
- Leech, C., Tighe, M. K., Pereg, L., Winter, G., McMillan, M., Esmaeili, A., & Wilson, S. C. (2020). Bioaccessibility constrains the co-composting bioremediation of field aged PAH contaminated soils. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 149(August 2019), 104922. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2020.104922>
- Li, L. J., Hong, P., Jiang, Z. D., Yang, Y. F., Du, X. P., Sun, H., ... Chen, F. (2017). Water accelerated transformation of d -limonene induced by ultraviolet irradiation and air exposure. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.075>
- Lu, X. Y., Zhang, T., & Fang, H. H. P. (2011). Bacteria-mediated PAH degradation in soil and sediment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89(5), 1357–1371. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-3072-7>

- Ma, J., Yang, Y., Dai, X., Chen, Y., Deng, H., Zhou, H., ... Yan, G. (2016). Effects of adding bulking agent, inorganic nutrient and microbial inocula on biopile treatment for oil-field drilling waste. *Chemosphere*, 150, 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.01.123>
- Margesin, R., & Schinner, F. (1997). Bioremediation of diesel-oil-contaminated alpine soils at low temperatures. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 47(4), 462–468. <https://doi.org/10.1007/s002530050957>
- Martínez Rivera, A. (2018). Biorremediación bacteriana de suelo contaminado con fluidos y residuos de perforación mediante diferentes métodos. Universidad Nacional de Colombia.
- Mejía, L., Martínez, H., Betancourt, J., & Castrillón, C. (2007). Usage of the common mango agroindustrial waste (*mangifera indica* L.) in the destruction of fermentables sugars. *Ingeniería y Ciencia*, 3(6), 41–62.
- Meneses, R. (2014). *Biorremediación de hidrocarburos aromáticos policíclicos HAPs en microcosmos a suelo abierto*. Universidad Politécnica Salesiana.
- Ministerio de Relaciones Exteriores y Movilidad Humana. (2001). *El caso Chevron / Texaco en Ecuador Una lucha por la justicia ambiental y social*. 1–26.
- Mohamadi, B. (2015). GIS Based Oil Spill Risk Assessment Model for the Niger Delta's Vegetation. *Nature Environment and Pollution Technology*, 545–552.
- Mohee, R., & Mudhoo, A. (2012). Bioremediation and Sustainability: Research and Applications. In *Bioremediation and Sustainability: Research and Applications*. <https://doi.org/10.1002/9781118371220>
- Moreno, L., & Suyon, N. (2020). Effect of microorganisms on the degradation of agrochemicals present in agricultural soils. *Revista de Formación En Investigación*, 7(1), 18–34.
- Ndimele, P. E. (2014). Bioremediation of petroleum and petroleum products. In *International Journal of Environmental Studies* (Vol. 71). <https://doi.org/10.1080/00207233.2013.869972>

- Ordaz, J., Martínez, Á., Ramos, F., Sánchez, F., Martínez, A. J., Tenorio, J., & Cuevas, M. del C. (2011). Biorremediación de un suelo contaminado con petróleo mediante el empleo de bagazo de caña con diferentes tamaños de partícula. *Bioremediation of Oil-Contaminated Soil Using Sugarcane Bagasse Pith in Different Particulate Sizes*. *Multiciencias*, 11(2), 136–145. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/904/90419195004.pdf>
- Organización Mundial de la Salud. (2016). *Cada año mueren 12,6 millones de personas a causa de la insalubridad del medio ambiente*. Recuperado el 20 de agosto de 2020 de <https://www.who.int/es/news-room/detail/15-03-2016-an-estimated-12-6-million-deaths-each-year-are-attributable-to-unhealthy-environments>
- Ortiz, I., Auria, R., Sigoillot, J., & Revah, S. (2003). Enhancing phenanthrene biomineralization in a polluted soil using gaseous toluene as a cosubstrate. *Environ Sci Technol* 37(4), 805–810.
- Ortiz, I., Auria, R., Sigoillot, J., & Revah, S. (2003). Enhancing phenanthrene biomineralization in a polluted soil using gaseous toluene as a cosubstrate. *Environ Sci Technol* 37, 805–810.
- Ortiz, I., Velasco, A., & Revah, S. (2006). Effect of toluene as gaseous cosubstrate in bioremediation of hydrocarbon-polluted soil. *J Hazard Mater B* 1331, 112–117.
- Pérez, B., Loera, C., Fernández, L., Esparza, G., & Rodríguez, R. (2004). Biostimulation of microorganisms from sugarcane bagasse pith for the removal of weathered hydrocarbon from soil. *Lett. Appl. Microbiol.* 38, 373–377.
- Pino, N., Carvajal, S., Gallo, A., & Peñuela, G. (2012). Comparison between biostimulation and bioaugmentation to recover soils contaminated with diesel. *Producción + Limpia*, 7(1), 101–108. Retrieved from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=87012453&lang=es&site=ehost-live>
- Philp, J., & Atlas, R. (2005). *Bioremediation of contaminated soils and aquifers*.

In: Atlas RM, Philp JC (eds) Bioremediation: applied microbial solutions for real-world environmental cleanup. *ASM Press*, Washington, DC.

Programa de Reparación Ambiental y Social. (2011). *Informe final del caso OCP*. Quito: Ministerio del Ambiente.

Purnomo, A., Koyama, F., & Mori, T. K. R. (2010). DDT degradation potential of cattle manure compost. *Chemosphere* 80, 619–624.

RAHOE. (2019). REGLAMENTO AMBIENTAL DE OPERACIONES HIDROCARBURÍFERAS. *Registro Oficial No. 174*.

Ramadas, K., Smith, E., Palanisami, T., Mathieson, G., Srivastava, P., Megharaj, M., & Naidu, R. (2015). Evaluation of constraints in bioremediation of weathered hydrocarbon-contaminated arid soils through microcosm bipile study. *Int.J. Environ.Sci Technol.*12, 3597–3612.

Rentz, J. A., Alvarez, P. J. J., & Schnoor, J. L. (2005). Benzo[a]pyrene co-metabolism in the presence of plant root extracts and exudates: implications for phytoremediation. *Environmental Pollution* 136, 477–484.

Riojas, H., Gortáres, P., Mondaca, I., & Balderas, J. (2011). Aplicación de Tween 80 y D –Limoneno en la biorremediación de suelo contaminado por hidrocarburos. *Ide@s CONCYTEG*, 6(71), 571–584.

Roldán, A., Esparza, F., Calva, G., & Rodríguez, R. (2006). Effects of mixing low amounts of orange peel (*Citrus reticulata*) with hydrocarbon-contaminated soil in solid culture to promote remediation. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 41(10), 2373–2385. <https://doi.org/10.1080/10934520600873548>

Salam, L. B., Ilori, M. O., Amund, O. O., LiiMien, Y., & Nojiri, H. (2018). Characterization of bacterial community structure in a hydrocarbon-contaminated tropical African soil. *Environmental Technology (United Kingdom)*, 39(7), 939–951. <https://doi.org/10.1080/09593330.2017.1317838>

Saxena, G., & Bharagava, R. N. (2019). *Bioremediation of Industrial Waste for*

*Environmental Safety.*

- Sayara, T., Borràs, E., Caminal, G., & Sánchez, A. (2011). Bioremediation of PAHs-contaminated soil through composting : Influence of bioaugmentation and biostimulation on contaminant biodegradation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65(6), 859–865. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.05.006>
- SERVIGARLIN. (2011). *Informe de evaluación del área de influencia del proyecto Coca Codo Sinclair*. 3–22.
- Shahsavari, E., Adetutu, E. M., Anderson, P. A., & Ball, A. S. (2013). Plant residues - A low cost, effective bioremediation treatment for petrogenic hydrocarbon-contaminated soil. *Science of the Total Environment*, 443, 766–774. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.11.029>
- Singh, A., Kuhad, R. C., & Ward, O. P. (2015). *Advances in applied bioremediation* (Vol. 17). Retrieved from <http://repositorio.unan.edu.ni/2986/1/5624.pdf>
- Singh, S., Kang, S. H., Mulchandani, A., & Chen, W. (2008). Bioremediation: environmental clean-up through pathway engineering. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(5), 437–444. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.07.012>
- Solano, P. C., Carasco., J., & Negro, M. (1999). *Bioresource Technology*. 67, 89.
- Speight, J., & Arjoon, K. (2012). *Bioremediation of Petroleum and Petroleum Products*. Scrivener.
- Tahseen, A. (2010). *Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons ( PAHs) -contaminated soil : process evaluation through composting and anaerobic digestion approach*. Universitat Autònoma de Barcelona.
- Teng, Y., Luo, Y., Ping, L., Zou, D., Li, Z., & Christie, P. (2010). Effects of soil amendment with different carbon sources and other factors on the bioremediation of an aged PAH-contaminated soil. *Biodegradation* 21(2), 167–178.

- Teng, Yanguo, Feng, D., Song, L., Wang, J., & Li, J. (2013). Total petroleum hydrocarbon distribution in soils and groundwater in Songyuan oilfield, Northeast China. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(11), 9559–9569. <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3274-4>
- Tyagi, M., da Fonseca, M. M. R., & de Carvalho, C. C. C. R. (2011). Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes. *Biodegradation*, 22(2), 231–241. <https://doi.org/10.1007/s10532-010-9394-4>
- Udoh, J. C. (2010). A GIS based cost distance modeling for oil spill hazard assessment in the coastal areas of South Eastern Nigeria. *Research Journal of Applied Sciences*, 5(4), 254–259. <https://doi.org/10.3923/rjasci.2010.254.259>
- Vandecasteele, J.-P. (2008). Petroleum microbiology. Tomes 1 et 2. *Editions Technip, Paris*.
- Vasconcelos, U., Santos de Oliveira, F., & Pessoa de França, F. (2013). RAW GLYCEROL AS COSUBSTRATE ON THE PAHs BIODEGRADATION IN SOIL. *Canadian Journal of Pure & Applied Sciences*, 7(1), 105.
- Velasco, A., Le Borgne, S., Revah, S., & Ortíz, I. (2012). Biodegradation of DDT by stimulation of indigenous microbial populations in soil with cosubstrates. *Biodegradation*, 24(2), 215–225. <https://doi.org/10.1007/s10532-012-9578-1>
- Velásquez, M. (2017). Extracto hidroalcohólico de cáscaras de naranja ( *Citrus sinensis* ) como bioestimulador en un suelo de sabana contaminado con petróleo Hydroalcoholic extract orange peel ( *Citrus sinensis* ) as bioestimulator in a sabana soil contaminated with oil. 21, 1–10.
- Volke, T., & Velasco, A. (2002). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados*. Distrito Federal México.
- Wilcke, W. (2007). Global patterns of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil. *Geoderma*, 141(3–4), 157–166. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2007.07.007>

- Wolicka, D., Suszek, A., Borkowski, A., & Bielecka, A. (2009). Application of aerobic microorganisms in bioremediation in situ of soil contaminated by petroleum products. *Bioresource Technology*, *100*(13), 3221–3227. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.020>
- Xie, S., Liu, J. X., Li, L., & Qiao, C. L. (2009). Biodegradation of malathion by *Acinetobacter johnsonii* MA19 and optimization of cometabolism substrates. *Journal of Environmental Sciences* *21*, 76–82.
- Xu, R., & Obbard, J. P. (2004). Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Oil-Contaminated Beach Sediments Treated with Nutrient Amendments. *Journal of Environment Quality*, *33*(3), 861. <https://doi.org/10.2134/jeq2004.0861>
- Xue, X., & Landis, A. E. (2010). Eutrophication potential of food consumption patterns. *Environmental Science and Technology*, *44*(16), 6450–6456. <https://doi.org/10.1021/es9034478>
- Yepes, S., Montoya, L., & Orozco, F. (2008). Valorización de residuos agroindustriales –frutas– en Medellín y el sur del valle del Aburrá, Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, *61*(1), 4422–4431.



