



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE TÉCNICAS BIOLÓGICAS EN LA  
REMEDIACIÓN DE LODOS RESIDUALES ACEITOSOS

AUTORA

Gisella Marina Palacios González

AÑO

2020



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE TÉCNICAS BIOLÓGICAS EN LA  
REMEDIACIÓN DE LODOS RESIDUALES ACEITOSOS

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

Profesor Guía

MSc. Miguel Gualoto Oñate

Autora

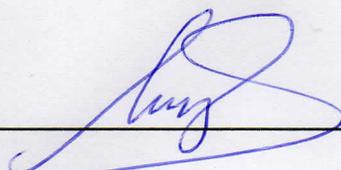
Gisella Marina Palacios González

Año

2020

## DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido el trabajo, Evaluación de la eficiencia de técnicas biológicas en la remediación de lodos residuales aceitosos, a través de reuniones periódicas con la estudiante Gisella Marina Palacios González, en el semestre 202020, orientando sus conocimientos y cumplimientos a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.



---

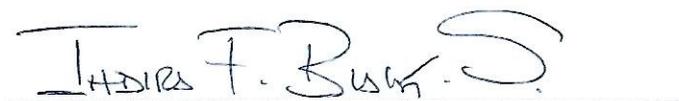
Miguel Ángel Gualoto Oñate

Master of Science en Biología

C.I.: 170742935-1

## DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, Evaluación de la eficiencia de técnicas biológicas en la remediación de lodos residuales aceitosos, de la estudiante Gisella Marina Palacios González, en el semestre 202020, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

A handwritten signature in black ink, reading "INDIRA F. BLACK SOLÍS", is written above a horizontal line.

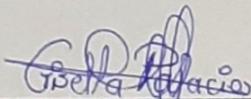
Indira Fernandina Black Solís

Magister en Conservación y gestión del Medio Natural

CI.: 171127356-3

## **DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE**

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



---

**Gisella Marina Palacios González**

**C.I: 080359308-6**

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a Dios y a mis ángeles, por darme salud, por ser mis guías en el transcurso de esta etapa universitaria y por darme las fuerzas necesarias para no desistir.

A mis padres, por su sacrificio del día a día, por los consejos, principios y valores que me han inculcado. A mis hermanas Johanna y Evelyn por el apoyo, cariño y por soportarme con tanto estrés.

A mi tutor guía Miguel Gualoto, por su paciencia, por su ayuda y por la motivación en cada etapa en el transcurso de este camino.

A mis profesores de la carrera, por enseñarme el valor de la paciencia y por impartirme sus conocimientos por lo cual me han ayudado a crecer como persona y profesionalmente.

A mis dos amigas Ani Pau, porque fuiste mi primera amiguita de la U. Y a ti Fran Campos, por ser incondicional, por enseñarme el valor de una amistad sincera en el transcurso de la vida universitaria, por el apoyo, por las grandes desveladas de estudios, por las papitas fritas y por las motivaciones del día a día.

## **DEDICATORIA**

A mis padres, por estar siempre conmigo y apoyarme en todo momento, estos son los resultados obtenidos de sus esfuerzos, cada logro mío es por ustedes. A mi hermana Johanna por ser mi ejemplo a seguir, por su apoyo y por estar siempre dispuesta a ayudarme en cualquier instante de mi vida. A mi hermana Evelyn por ser mi maestra de lucha constante, a pesar de las adversidades de la vida, siempre hay una luz para seguir y brillar.

## RESUMEN

El presente trabajo de titulación corresponde a la revisión y análisis bibliográfico sobre el empleo de metodologías de biorremediación en el tratamiento de lodos residuales aceitosos. Se revisaron trabajos que presentan resultados de investigaciones de campo y laboratorio, realizados en Ecuador y otros países del mundo. Estudios que utilizaron técnicas como el compostaje y landfarming; y estrategias como bioaumentación y bioestimulación. Además, se exploró acerca de la utilización de diferentes géneros de bacterias y hongos en la degradación de contaminantes hidrocarbúricos.

Se definieron parámetros de comparación con relación a la eficiencia de remoción del contaminante, el tiempo que tardó el proceso de remediación biológica. Tomando en cuenta las concentraciones iniciales de TPHs y la adición de materiales estructurante. Además, se realizó un análisis a través de las metodologías empleadas en la biorremediación y una comparación entre géneros de microorganismos (hongos y bacterias). Finalmente se hizo una proyección de desarrollo futuro de las metodologías biológica en el tratamiento de lodos, basada en los volúmenes de generación y sus costos por m<sup>3</sup>.

Dentro de los 13 estudios analizados, la técnica más utilizada para el tratamiento biológico de lodos residuales aceitosos, en campo fue el compostaje con 46 %, seguida del landfarming con 23 %, en tanto, que las experimentaciones en laboratorio representan el 31%, donde aplican estrategias de bioaumentación y bioestimulación. Finalmente, en base a los resultados presentados, parecería ser que las bacterias son más eficientes en la degradación de TPHs.

**Palabras claves:** Biorremediación, lodos residuales aceitosos, microorganismos, compostaje, landfarming, bioaumentación, bioestimulación.

## ABSTRACT

The present degree thesis corresponds to the review and analysis of the literature on the use of bioremediation methodologies in the treatment of oily sewage sludge. Papers presenting results of field and laboratory research, carried out in Ecuador and other countries of the world, were reviewed. Studies that used techniques such as composting and landfarming; and strategies such as bioaugmentation and biostimulation. In addition, the use of different genera of bacteria and fungi in the degradation of hydrocarbon contaminants was explored.

Comparison parameters were defined in relation to the efficiency of contaminant removal, the time taken for the biological remediation process. Taking into account the initial concentrations of TPHs and the addition of structuring materials. In addition, an analysis was made through the methodologies used in bioremediation and a comparison between genus of microorganisms (hogs and bacteria). Finally, a projection of future development of biological methodologies in sludge treatment was made, based on generation volumes and their costs per m<sup>3</sup>.

Among the 13 studies analyzed, the most used technique for the biological treatment of oily sewage sludge in the field was composting with 46%, followed by landfarming with 23%, while laboratory experiments represent 31%, where bioaugmentation and biostimulation strategies are applied. Finally, based on the results presented, bacteria are more efficient in the degradation of TPHs.

**Keywords:** Bioremediation, oily sewage sludge, microorganisms, composting, landfarming. bioaugmentation, biostimulation.

## ÍNDICE

Capítulo I. Introducción .....	1
1.1 Antecedentes.....	1
1.2 Problemática.....	2
1.3 Justificación .....	2
1.4 Alcance.....	3
1.5 Objetivos.....	4
1.5.1 Objetivo General.....	4
1.5.2 Objetivos específicos .....	4
2. Capítulo II. Metodología .....	4
2.1 Metodologías de biorremediación utilizadas en lodos aceitosos .....	5
2.2 Microorganismos empleados en la biorremediación de los aceitosos .....	6
2.3 Análisis de costos en las perspectivas de generaciones de volúmenes de lodos aceitosos .....	7
3. Capítulo III. Resultados y Análisis.....	8
3.1 Análisis comparativo de los estudios de biorremediación para lodos aceitosos .....	8
3.1.1 Estudios realizados por países .....	8
3.1.2 Descripción de las metodologías utilizadas en los estudios .....	10
3.2 Análisis comparativo de los estudios de biorremediación con géneros de bacterias y hongos.....	11
3.3 Análisis comparativo entre metodologías de biorremediación para lodos aceitosos.....	12
3.4 Géneros de bacterias usadas en la degradación de lodos aceitosos .....	23
3.5 Géneros de hongos usados en la degradación de lodos aceitosos .....	30
3.6 Análisis comparativo entre bacterias y hongos .....	35

3.7 Análisis de costos en las perspectivas de generaciones de volúmenes de lodos aceitosos.....	36
4. Capítulo IV. Conclusiones y Recomendaciones .....	38
4.1 Conclusiones .....	38
4.2 Recomendaciones .....	39
REFERENCIAS.....	40

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 .....	7
<i>Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicios.</i> .....	7
Tabla 2 .....	9
<i>Trece estudios analizados a nivel mundial en relación con metodologías y estrategias utilizadas para remediar lodos aceitosos.</i> .....	9
Tabla 3 .....	12
<i>Metodologías empleadas en la biorremediación de lodos aceitosos.</i> .....	12
Tabla 4 .....	19
<i>Análisis de las concentraciones finales de los tratamientos en comparación con la normativa 1215 del RAHOE.</i> .....	19
Tabla 5 .....	24
<i>Listado de géneros bacterias empleadas en la biorremediación de lodos aceitosos.</i> .....	24
Tabla 6 .....	27
<i>Análisis de las concentraciones finales de los tratamientos utilizando géneros de bacterias en comparación con la normativa 1215 del RAHOE.</i> .....	27
Tabla 7 .....	31
<i>Listado de géneros de hongos utilizados en la biorremediación de lodos aceitosos.</i> .....	31
Tabla 8 .....	32
<i>Comparación de los géneros de hongos y normativa ecuatoriana.</i> .....	32
Tabla 9 .....	35
<i>Comparación entre los géneros bacterias y hongos.</i> .....	35
Tabla 10 .....	36
<i>Costos empleados en los tratamientos de residuos contaminados con hidrocarburos.</i> .....	36

## Capítulo I. Introducción

### 1.1 Antecedentes

Si bien la industria petrolera representa una fuente de ingresos importante para la economía del país, también es considerada como una de las principales fuentes de contaminación ambiental, debido a la enorme gama de residuos que produce durante los procesos de extracción, almacenamiento, transporte y refinación del crudo (García, Roldán, & Garzón, 2011).

Entre los contaminantes generados se incluyen los lodos aceitosos, que poseen un alto poder contaminante debido a su elevado contenido de hidrocarburos totales de petróleo (TPHs) y metales pesados tóxicos de los cuales están conformados por, fósforo, nitrógeno, cobre hierro, magnesio, potasio, fosfato, cadmio, calcio, zinc, plomo, cromo (Castañeda, Pacheco, Vaca y Flores, 2009; Johnson & Affam, 2019). La gestión de este tipo de residuos de lodos aceitosos es importante conocer en cuanto a su liberación al ambiente que genera grandes daños en los ecosistemas terrestres en donde el suelo puede sufrir cambios drásticos por derrames de petróleo que alteran las propiedades mecánicas del suelo, porosidad, intercambio iónico, capacidad de campo, etc., su composición como, nutrientes, materia orgánica, microelementos (Castañeda, 2019). La consecuencia final de todo esto es la pérdida de su fertilidad y la contaminación secundaria de aguas superficiales y subterráneas (Ramírez & Dussan, 2014). De la misma manera en un ecosistema acuático un afluyente se ve afectado porque pierde la capacidad de mantener a la flora y fauna acuática, el petróleo se filtra en los sedimentos que se bioacumula alterando la composición de las poblaciones en los peces, desapareciendo las especies sensibles a la contaminación (Bravo, 2007). Por esto, se han empleado diferentes técnicas de carácter físico-químico, encapsulamiento, confinamiento, incineración, recuperación, lavado y biológico como la biorremediación (Muñoz, 2010; Sánchez, 2016).

## 1.2 Problemática

Los lodos aceitosos residuales provenientes de distintas industrias en el Ecuador disponen de una serie de problemas para el ambiente como, la generación de grandes volúmenes de lodos aceitosos que poseen: alta toxicidad, presencia de metales pesados y elevados costos para su respectiva gestión (Marín, Navarrete & Trujillo, 2018). Según Freile (2010), en el sector hidrocarburífero en el año 2008, adquirirían volúmenes acumulados de lodos aceitosos residuales, a manera de ejemplo: la Refinería de la Libertad, mantenían un volumen acumulado de 49.523 barriles. De forma similar en la Refinería Estatal de Esmeraldas, conservaban un volumen acumulado de 2000 barriles. Según Gualoto & Rojas (2005), la compañía Weatherford tenían almacenado 245 tanques de lodos aceitosos.

Las tecnologías para el tratamiento físico-químico que se emplean para solucionar los problemas de contaminación hidrocarburíferas de los lodos residuales aceitosos son muy complejas, poco efectivas y han demostrado ser demasiado costosas (Illman & Alvarez, 2009). Otro aspecto, es que las metodologías implementadas con frecuencia transfieren los contaminantes de un medio a otro (incineración), o los productos de la degradación, son de mayor toxicidad que los originales, aunque en menor volumen (Heiman, Parthiba, Senthilkannan, 2017). Adicionalmente técnicas como el encapsulamiento de estos residuos, no constituye una verdadera técnica de gestión y eliminación, tan solo deja a las futuras generaciones la solución definitiva de su completa eliminación (Arora & Singh, 2017).

## 1.3 Justificación

La generación de lodos residuales aceitosos en el mundo crece anualmente y con ello los costos de su gestión, razón por la cual, considerando las condiciones

de Ecuador, es importante el conocer las metodologías exitosas que se han utilizado en todo el mundo con el propósito de elegir la que mejor se adapte a nuestra realidad tecnológica y económica. Esto permitirá organizar programas de tratamiento de estos residuos por parte de empresas públicas y privadas.

El volumen de lodos aceitosos industriales crece anualmente no solo en empresa de producción, transporte y comercialización de hidrocarburos, sino también en varios sectores industriales que emplean derivados de hidrocarburos. Tan solo Refinería La Libertad (2017), producía anualmente más 3600 m<sup>3</sup>, si consideramos que existen tres refinerías y unas decenas de estaciones de bombeo y cientos de empresas y talleres mecánicos que generan este tipo de residuos, las perspectivas de trabajo para las empresas remediadoras son muy amplias.

En el aspecto económico las técnicas de biorremediación de este tipo de residuo resultan ser más económicas y eficientes, Según ServiGarling (2010), los precios de tratamientos biológicos de este tipo de residuos varía entre \$ 90 y \$280 m<sup>3</sup> en dependencia de la concentración de TPHs y otros contaminantes; mientras que en los costos convencionales de tratamientos tales como la incineración superan los 700 USD/m<sup>3</sup>, llegando incluso hasta 1200 USD/m<sup>3</sup> en ciertos residuos aceitosos altamente contaminantes derivados de los procesos de refinación.

#### **1.4 Alcance**

La investigación se centró en la búsqueda de información bibliográfica sobre trabajos de biorremediación de lodos residuales aceitosos; tanto en condiciones de laboratorio (microcosmos) y condiciones de campo (macrocosmo). Adicionalmente identificó las metodologías empleadas y su éxito en el tratamiento, además, de realizar un análisis de sus perspectivas económicas.

## **1.5 Objetivos**

### **1.5.1 Objetivo General**

- Evaluar la eficiencia de técnicas biológicas en la remediación de lodos residuales aceitosos, mediante revisión bibliográfica.

### **1.5.2 Objetivos específicos**

- Identificar las metodologías exitosas de tratamientos de lodos residuales aceitosos en pruebas de campo y laboratorio.
- Establecer las ventajas de la biorremediación, frente a las metodologías convencionales de remediación de lodos residuales aceitosos.

## **2. Capítulo II. Metodología**

El presente trabajo consistió en la revisión bibliográfica de artículos científicos publicados entre los años 2001 a 2020, de fuentes como, Scielo, ResearchGate, Science Direct, Springerplus, Elsevier, Repositorio de tesis UDLA, Repositorio de tesis SEK. Para los análisis de resultados se tomó referencias acerca de libros de fuentes como: Springer, Taylor & Francis, Handbook entre los años 1997 a 2010.

Los temas revisados fueron en base al tratamiento de lodos aceitosos, en donde se incluyen géneros de microorganismos como bacterias y hongos, de la misma manera las metodologías de compostaje y landfarming juntos con las estrategias

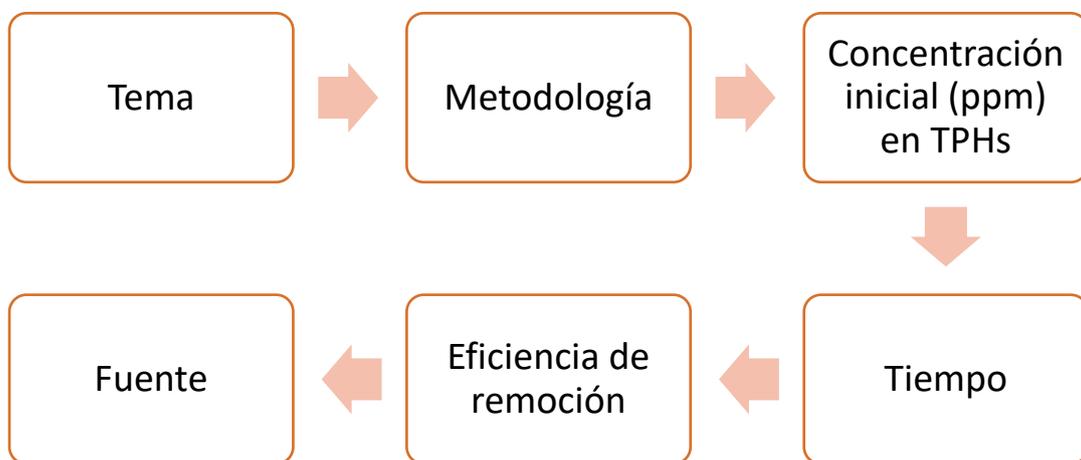
de bioaumentación y bioestimulación que se ocupan en la biorremediación para lodos residuales aceitosos.

## 2.1 Metodologías de biorremediación utilizadas en lodos aceitosos

Se seleccionaron un total de 13 estudios donde se muestran diferentes metodologías de biorremediación en campo y laboratorio. De las experiencias *in situ* se hace referencia a técnicas de landfarming y compostaje; y *ex situ* con estrategias de bioaumentación y bioestimulación. Se analizaron estudios:

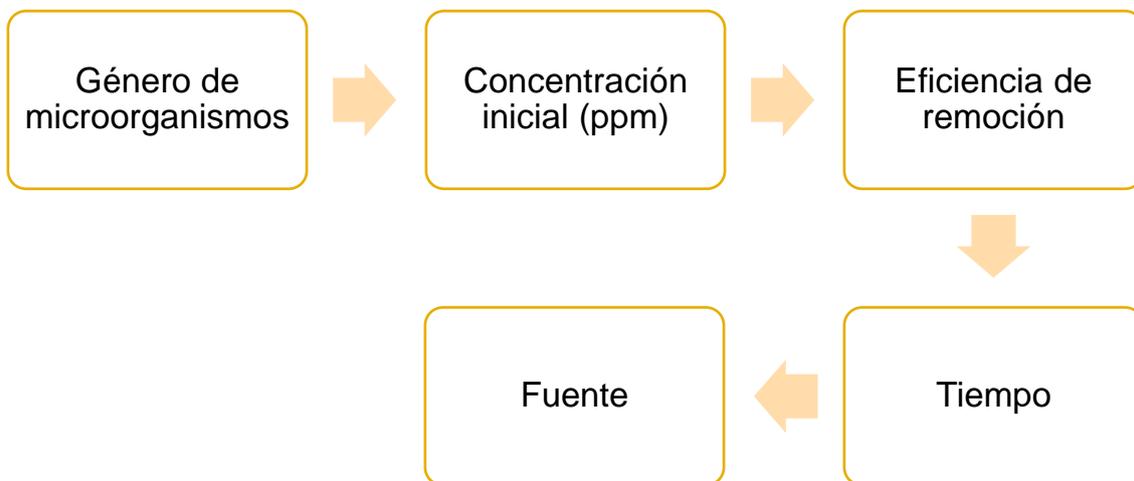
- **A nivel mundial:** Brasil, China, España, India, Serbia, Australia, Jordania, Irán y Marruecos
- **A nivel nacional:** Costa y Oriente ecuatoriano

Posteriormente, se elaboraron tablas comparativas entre las metodologías aplicadas con la finalidad de determinar cuál de ellas es la más idónea. Las comparaciones se basaron en las siguientes terminologías:



Finalmente, se ejecutó un cuadro comparativo entre las mejores metodologías de acuerdo con la similitud de las concentraciones finales, con la finalidad de conocer que metodología es la que mejor se adapta para la degradación de TPHs de lodos residuales aceitosos.

## 2.2 Microorganismos empleados en la biorremediación de los aceitosos



En base a los criterios seleccionados se realizaron tablas comparativas, entre los géneros y de acuerdo con la similitud de las concentraciones iniciales se realizaron análisis comparativos entre los géneros de bacterias, con el fin de conocer que géneros de microorganismos es el más idóneo para la degradación de hidrocarburos totales de petróleo (TPHs) en lodos aceitosos.

A continuación, en la (tabla 1), se presenta los límites máximo permisible relacionado con la concentración de hidrocarburos para suelos agrícolas, industriales y ecosistemas sensibles, señalados en el RAHOE 1215 (2019).

Tabla 1

*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>Expresado en</b>	<b>Unidad</b>	<b>Uso Industrial</b>	<b>Uso agrícola</b>	<b>Ecosistema Sensible</b>
Hidrocarburos totales	TPHs	Mg/kg	<4000	<2500	<1000

Adaptado de: tabla 6 (RAHOE, 2019)

Como ejercicio académico extra, se compararon las concentraciones finales de los estudios analizados frente a la tabla No.6 de la Normativa Ambiental Ecuatoriana RAHOE (tabla 1), con la finalidad de evaluar la eficiencia de las metodologías (landfarming y compostaje), estrategias de bioaumentación y bioestimulación y el uso de microorganismos de las investigaciones prometedoras. Es importante mencionar que los estudios fueron realizados en distintos países determinando si alcanzarían con los parámetros de referencia propuesta por la Normativa Ecuatoriana para la degradación de TPHs de lodos residuales aceitosos.

### **2.3 Análisis de costos en las perspectivas de generaciones de volúmenes de lodos aceitosos**

Finalmente, se hizo una revisión de costos de programas de biorremediación en Ecuador. Tomando como referencias concentraciones de TPHs en rangos de 2.000 a 140.000 ppm. Posteriormente se realizó un análisis de perspectivas de costos en mención a las empresas gestoras para la utilización de la tecnología de biorremediación de lodos aceitosos.

### 3. Capítulo III. Resultados y Análisis

#### 3.1 Análisis comparativo de los estudios de biorremediación para lodos aceitosos

De la revisión bibliográfica se seleccionaron 13 estudios, en la *figura 1* se observa que el 38% se realizó en Asia, seguido de América del Sur con 31%, posteriormente 15% para Europa y finalmente 8% para Oceanía y África. Los estudios seleccionados están relacionados a metodologías *in situ*, compostaje y landfarming y *ex situ* a nivel de laboratorio empleados en la biorremediación de lodos aceitosos.

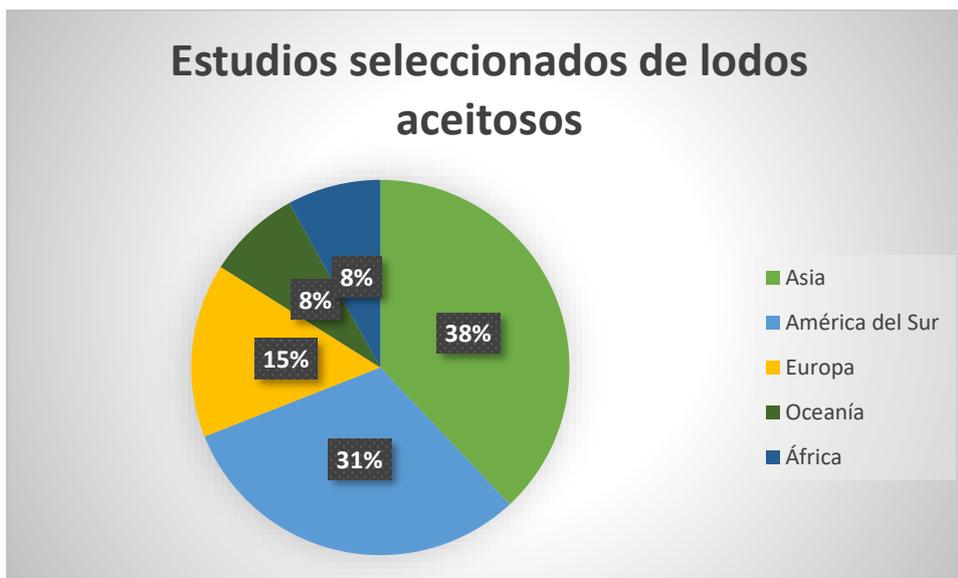


Figura 1. Estudios seleccionados a nivel mundial.

##### 3.1.1 Estudios realizados por países

En la (tabla 2), se observa el número de estudios analizados por países en relación con las metodologías aplicadas para el tratamiento de lodos aceitosos.

Tabla 2

*Trece estudios analizados a nivel mundial en relación con metodologías y estrategias utilizadas para remediar lodos aceitosos.*

Países	Metodologías y estrategias	Estudios realizados
<i>IN SITU</i>		
<b>Ecuador</b>		2
<b>China</b>		1
<b>Brasil</b>	Compostaje	1
<b>España</b>		1
<b>Marruecos</b>		1
<b>China</b>		1
<b>Ecuador</b>	Landfarming	1
<b>India</b>		1
<i>EX SITU</i>		
<b>Serbia</b>		1
<b>Australia</b>	Laboratorio:	1
<b>Jordania</b>	bioaumentación y	1
<b>Irán</b>	bioestimulación	1
<i>Total</i>		13

En la tabla se observa que, de los 13 estudios analizados, 9 corresponden a trabajos *in situ* y 4 a investigaciones *ex situ*.

La técnica más utilizada en campo en los trabajos analizados fue el compostaje con 46 %, seguida de landfarming con 23 %, En tanto, que las experimentaciones en laboratorio representan el 31%, aplican estrategias de bioaumentación y bioestimulación

Todas estas metodologías de tratamientos garantizan el éxito de la degradación de lodos aceitosos, debido a que en todas las investigaciones se presentan resultados de eficiencia superiores al 60% (Marín, Moreno, Hernández & García, 2006). Por lo tanto, la biorremediación, es un proceso natural o controlado, en el cual, la actividad biológica, especialmente los microorganismos, acumulan, extraen, u oxidan los contaminantes transformándolos en compuestos no tóxicos minimizando el riesgo ambiental (Singh, Kuhad, & Parmar, 2011).

### **3.1.2 Descripción de las metodologías utilizadas en los estudios**

Una de las metodologías mayoritariamente utilizadas en biorremediación es el compostaje, técnica que se basa en la degradación microbiana del contaminante, utilizando además tamices moleculares y material estructurante, principalmente compuestos orgánicos como (aserrín, restos de podas, residuos agrícolas, etc.) para ayudar en el proceso, es una técnica de bajo costo (Mohee & Mudhoo, 2012). Algunos autores están interesados en esta técnica que es aeróbica, es adecuada para tratar lodos residuales aceitosos deshidratados y estabilizados (Insam & Riddech, 2002). La adición de agentes de carga orgánica mejora la aireación del residuo y proporciona sustratos fácilmente metabolizables para aumentar la temperatura del lodo aceitoso (Crawford, 1997).

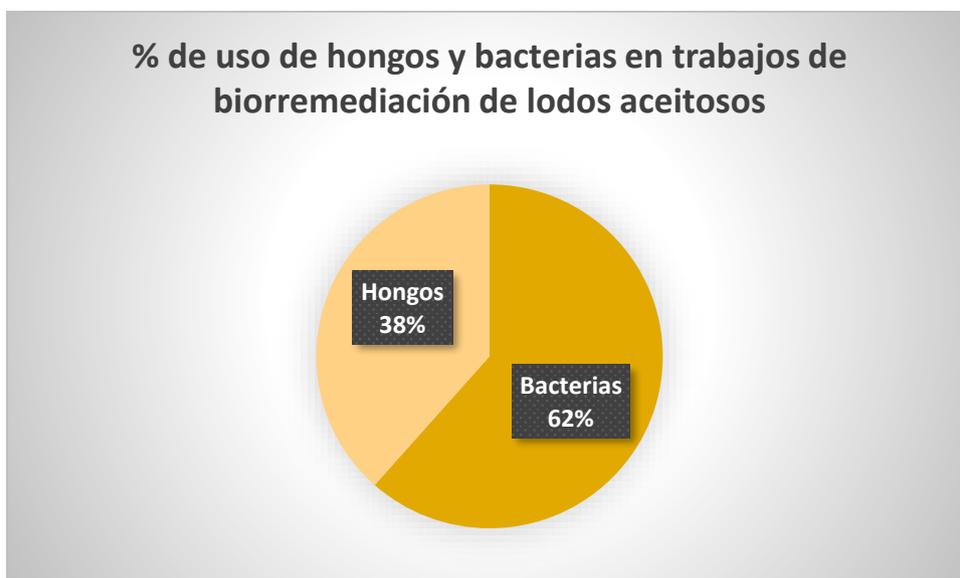
Otra metodología usada es landfarming, se emplea para residuos con alto poder contaminante, esta técnica exige el empleo de la estrategia de bioestimulación con la adición de nutrientes como N, P, K y microelementos que no están presentes en el contaminante (Singh, Kuhad & Parmar, 2011). Este método es simple por su operación, el costo es bajo y la eficiencia de remoción es relativamente alta (Ouyang, Liu, Murygina, Yu, Xiu & Kalyuzhnyi, 2005).

Por último, el uso de laboratorio en donde los investigadores ocupan: cajas Petri o Erlenmeyer, para colocar el residuo y poder emplear la estrategia de bioaumentación y bioestimulación. La bioaumentación que consiste en la

introducción intencional de microorganismos al sistema de tratamiento. Los microorganismos que se introducen poseen una alta capacidad para metabolizar el contaminante sujeto a degradación (Timmis & Pieper, 1999). Por otro lado, la bioestimulación es la adición de nutrientes N, P, K y microelementos para la estimular la actividad biológica en los microorganismos (Gómez, Gavira & Cardona, 2009).

### 3.2 Análisis comparativo de los estudios de biorremediación con géneros de bacterias y hongos

Del total de estudios analizados, 8 utilizan géneros de bacterias, lo que corresponde al 62% y 5 estudios aplican géneros de hongos, con el 38%, como se observa en la *figura 2*, tanto en investigaciones en macrocosmo y microcosmos para la degradación de lodos aceitosos.



*Figura 2.* Porcentaje del empleo de bacterias y hongos en los estudios seleccionados.

En la figura 2, se muestra que la utilización de bacterias en procesos de biorremediación en los estudios analizados es mayor, con un 62%. La preferencia podría deberse a que hay variedades de bacterias capaces de degradar hidrocarburos, debido a la diversidad metabólica que poseen para crecer en ambientes tóxicos, y degradar hidrocarburos derivados de petróleo, TPHs (Reyes, Puentes, Casanova, López, Panqueva & Castillo, 2018). A diferencia, el uso de hongos fue del 38%, estos organismos son menos diversos, también sobreviven en condiciones de alta toxicidad, pero tienen más capacidad para degradar contaminantes derivados de petróleo como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) (Balba, Al- Awadhi, Al-Daher, 1998).

### 3.3 Análisis comparativo entre metodologías de biorremediación para lodos aceitosos

La (tabla 3), presenta los estudios seleccionados donde se destacan las metodologías empleadas en la biorremediación de lodos aceitosos. En los estudios se tomó en cuenta la concentración inicial en TPHs de los residuos aceitosos, el tiempo que duró el tratamiento y la eficiencia de remoción.

Tabla 3

*Metodologías empleadas en la biorremediación de lodos aceitosos.*

<b>Tema</b>	<b>Concentraciones iniciales (ppm) de TPHs</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Eficiencia de remoción</b>	<b>Fuente</b>
<b>COMPOSTAJE</b>				
Remediación de lodos aceitosos de la Refinería Estatal de				

Esmeraldas mediante Compostaje, Empleando Residuos Domésticos en calidad de fuente de nutrientes + (Bioestimulación)	18.640	72 días	88.5 %	(Freile,2010)
Bio-treatment of oily sludge: The contribution of amendment material to the content of target contaminants, and the biodegradation dynamics + (Bioestimulación)	130.000	373 días	74%	(Kriipsalu, Marques, Nammari, Hogland, 2007)
Effects of adding bulking agent, inorganic nutrient and microbial inocula on biopile treatment for oil-field drilling waste +	34.000	90 días	87.4%	(Ma, Yang, Dai, Chen, Deng, Zhou, Guo, Yan, 2016)

(Bioestimulación)				
Bioremediation by composting of heavy oil refinery sludge in semiarid Conditions + (Bioestimulación)	300.000	91 días	60%	(Marín, Moreno, Hernández, García, 2006)
The fate of total petroleum hydrocarbons during oily sludge composting: a critical review + (Bioestimulación)	521.120	373 días	95%	(Aguelmous, Fels, Souabi, Zamama, Hafidi, 2019)
Microbial degradation of total petroleum hydrocarbons in crude oil: a field-scale study at the low-land rainforest of Ecuador + (Bioestimulación)	12.630	86.33%	90 días	(Maddela, Scalvenzi, Venkateswarlu, 2016)
<b>LANDFARMMING</b>				

Bioremediation of oil sludge contaminated soil by landfarming with added cotton stalks + (Bioestimulación)	12.570	186 días	90.04%	(Wang, Wang, Zhang, Li, Guo, 2016)
Evaluación de la eficiencia en la biorremediación de lodos contaminados con hidrocarburos utilizando zeolitas y ácidos húmicos en lechos superficiales + (Bioestimulación)	97.372,54	214 días	96%	(Rojas, 2004)
In Situ Bioremediation Potential of an Oily Sludge-Degrading Bacterial Consortium +	99.200	120 días	90.2%	(Mishra, Jyot, Kuhad, Lal, 2001)

(Bioestimulación)				
<b>LABORATORIO (Erlenmeyer y cajas Petri)</b>				
Biodegradation of petroleum sludge and petroleum polluted soil by a bacterial consortium: a laboratory study + (Bioestimulación)	41.200	92 días	88%	(Gojgic, Milic, Solevic, Beskoski, Ilic, Djokic, Narancic, Vrvic, 2011)
Exploiting the intrinsic hydrocarbon-degrading microbial capacities in oil tank bottom sludge and waste soil for sludge bioremediation + (Bioestimulación)	10.000	182 días	82%	(Adetutu. Bird, Kadali, Bueti, Shahsavari, Taha, Patil, Sheppard, Makadia, Simons, Ball, 2014)
Enhancing the biodegradation of total petroleum hydrocarbons in oily sludge by a	3.426	198 días	86.2%	(Tahhan, Ammari, Goussous, Al-Shdaifat, 2010)

modified bioaugmentation strategy + (Bioestimulación)				
Biodegradation of petroleum hydrocarbons of bottom sludge from crude oil storage tanks by in-vessel composting + (Bioestimulación)	104.300	70 días	80%	(Koolivand, Naddafi, Nabizadeh, Nasserri, Jonidi, Younesian, Yaghmaeian, Nazmara, 2012)

La (tabla 3), nos muestra 6 estudios de compostaje, 3 de landfarming y 4 de laboratorio. Se presenta a continuación un análisis de los más destacados: El estudio de Marín, Moreno, Hernández & García (2006) que trata residuos con concentración inicial alta, 300.000 ppm de TPHs, donde los autores usaron la metodología de compostaje, después de 91 días de tratamiento tuvo una eficiencia del 60%, esta técnica fue realizada en dos biopilas, adicionando agente de carga (virutas de madera) en una pila y en la otra pila fertilizante orgánico con purines de cerdo proporcionando estimulación a los microorganismos. Los investigadores mencionan que el uso de las virutas ayudó a disminuir la concentración inicial y que el empleo del fertilizante con purines de cerdo no ayudó en nada en el proceso de compostaje; mencionan, además, que realizaron una vez por semana el volteo en las pilas. Sin embargo, Gajalakshmi & Abbasi (2012), sugiere que cuando se está realizado compostaje en biopilas es preferible realizar dos veces por semana el volteo para mantener una aireación

estable que favorece la actividad de los microorganismos. Esta sugerencia tal vez facilita la actividad de los microorganismos, por el volteo, es posible una eficiencia mayor en igual período de tiempo.

En segundo lugar, la investigación de Mishra, Jyot, Kuhad & Lal (2001) esta experiencia fue ejecutada en campo, el lodo aceitoso fue mezclado con suelo obteniendo una concentración inicial de 99.200 ppm de TPHs, la metodología usada fue landfarming, los microorganismos fueron aislados y los nutrientes que aplicaron fue una mezcla de N, P, K, FeSO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub>, y CaCl<sub>2</sub>, posterior a los 120 días presentó una eficiencia de 90.2%. Los investigadores hacen énfasis en las condiciones del residuo que influyen en la supervivencia de los microorganismos. Se creería que a los microorganismos mientras tenga una mayor bioestimulación (nutrientes), presentarían una mejor eficacia en un tiempo accesible.

Finalmente, el estudio en laboratorio realizado por Adetutu et al. (2014), el lodo aceitoso tuvo una concentración inicial de 10.000 ppm de TPHs, en el mismo se empleó la bioestimulación aplicando N, P, K y en 182 días presentando una eficacia del 82%. El microorganismo de este estudio tal vez tuvo dificultad en la degradación del contaminante. Al parecer por las condiciones de laboratorio y por la bioestimulación proporcionada quizás el microorganismo necesitó una concentración mayor en los nutrientes para una posible aceleración en el tratamiento.

Al analizar lo señalado en líneas anteriores, el compostaje toma en promedio menos tiempo, por ende, su eficacia fue menor, el landfarming es más largo, pero fue más eficiente. A pesar de que en laboratorio los resultados suelen ser mejores que en campo, debido principalmente a que las condiciones ambientales se pueden controlar y a que se trabaja con cantidades pequeñas, el resultado presentado por Adetutu et al. (2014) fue menos eficaz obteniendo una baja degradación del contaminante y requirió 62 días más, en comparación al estudio de Mishra, Jyot, Kuhad, Lal (2001).

En base a lo observado en la tabla 3 se seleccionaron cinco estudios comparables en base a la concentración inicial del contaminante. De estos, tres

corresponden a experiencias en campo y dos a trabajos bajo condiciones de laboratorio. Se comparó la eficiencia y ese resultado final fue relacionado con la normativa ecuatoriana.

Tabla 4

*Análisis de las concentraciones finales de los tratamientos en comparación con la normativa 1215 del RAHOE.*

Metodologías y estrategias de Biorremediación	CI (ppm) TPHs	Eficiencia de remoción	Tiempo	CF (ppm) TPHs	Parámetros de referencia		
					Uso de suelo industrial < 4000	Uso agrícola de suelo < 2500	Ecosistema sensible < 1000
<b>CAMPO</b>							
Compostaje	18.640	89.7%	72 días	1912	Alcanza	Alcanza	No alcanza
Landafarmin g	12.570	90.04%	186 días	1252	Alcanza	Alcanza	No alcanza
Compostaje	12.630	86.33%	90 días	1726	Alcanza	Alcanza	No alcanza

LABORATORIO							
Bioestimulación y biodegradación	41.200	88%	92 días	4.944	No alcanzada	No alcanzada	No alcanzada
Compostaje en reactor	104.300	80%	70 días	20.860	No alcanzada	No alcanzada	No alcanzada

En relación con el primer estudio, Freile en (2010), empleó la metodología de compostaje, realizó camas y colocó material estructurante (puzolanas, biooil y zeolitas) para la estabilización del residuo. Luego por 72 horas el lodo fue deshidratado porque presentaba demasiada humedad, aproximadamente el 86%. Posteriormente, agregó nutrientes, estos fueron: zumo de limón, pan y cítricos desmenuzados como mandarina, naranja y limón. Después, adicionó el pool microbiano *Aspergillum* y *Penicillium*. Finalmente, cada 48 horas midió la temperatura y el pH durante el tiempo de tratamiento, 72 días.

La siguiente experiencia ejecutada por Wang, Wang, Zhang, Li, Guo (2016) utilizó la metodología Landfarming, en la que mezclaron el lodo aceitoso con suelo contaminado con hidrocarburos juntos con tallos de algodón en donde la relación fue de 1:4, prepararon parcelas de 100 m<sup>2</sup>, mantuvieron una humedad del 20 al 40%, las propiedades fisicoquímicas con el tiempo presentaron cambios positivos y las bacterias lograron tener un buen desempeño en la degradación TPHs.

En el estudio ejecutado por Maddela, Scalvenzi, Venkateswarlu (2016) en el oriente ecuatoriano, se empleó la estrategia de bioestimulación por un tiempo de 90 días, en el cual el lodo aceitoso fue mezclado con suelo contaminado con hidrocarburos, el residuo fue colocado en cajas de madera con el propósito de conocer que organismo es el más adecuado. Utilizaron bacterias del género

*Bacillus*, y hongos del género *Geomyces*. Posteriormente del tratamiento verificaron la toxicidad del suelo en donde colocaron semillas de plantas de caupí y el resultado fue favorecedor.

Por otro lado, en el área de laboratorio los investigadores Gojic et al. (2011) emplearon la estrategia de bioaumentación en donde aislaron bacterias del mismo suelo más lodo, estas fueron de los géneros *Achromobacter*, *Micromonospora*, *Bacillus* y *Pseudomonas*; también aplicaron la bioestimulación proporcionando la adición de nutrientes como fósforo y nitrógeno, en condiciones de laboratorio usando Erlenmeyer.

En el último estudio realizado por Koolivand et al. (2012) utilizaron la técnica de compostaje en condiciones de laboratorio mediante reactores cilíndricos, la instalación de los reactores fue vertical y con flujo de aire continuo. Estos reactores contenían 500 g de compostaje inmaduro, la humedad del residuo fue de 55%, utilizaron nutrientes C, N, P para mantener una bioestimulación eficaz con los microorganismos, la temperatura del tratamiento fue de 25 °C a 34 °C, realizando mezclas alrededor de tres veces al día por 70 días.

En relación con el estudio de compostaje ejecutado por Freile (2010), se observa que en 72 días de tratamiento presenta una concentración final 1.912 ppm de TPHs, logrando una eficiencia del 89.7%. Es importante mencionar que el tiempo que duró el tratamiento fue corto, ya que el investigador utilizó material estructurante al residuo como (biosoil, zeolita, cosustratos), logrando cambiar la estructura y las propiedades del lodo aceitoso, por ende, los microorganismos aislados del residuo fueron más eficiente en la degradación del contaminante puesto que el lodo fue más manejable alcanzando un buen rendimiento en el proceso de biorremediación.

A diferencia de la experiencia de Maddela, Scalvenzi, Venkateswarlu (2016), el lodo aceitoso fue mezclado con suelo, para la bioestimulación de los microorganismos le colocaron fertilizante N, P, K al 10%. Este proceso tuvo un tiempo considerable de 90 días con una eficacia del 86.33%, en comparación al estudio de Wang et al. (2016), que presentó más del doble de tiempo, 186 días, obteniendo una concentración final de 1.252 ppm de TPHs con una eficiencia del 90.04%, a pesar de que el residuo fue una mezcla de lodo más suelo, la bioestimulación no fue apropiada para Wang et al. (2016). Considero que aumentar fertilizantes como, N, P, K en una concentración del 10%, podría reducir el tiempo y mejorar la eficiencia de remediación.

La siguiente comparación está enfocada en los límites máximos permisibles de la normativa ecuatoriana 1215 del RAHOE. Los resultados finales de los 3 estudios de campo seleccionados alcanzarían las concentraciones máximas permitidas en la normativa ecuatoriana en relación con los parámetros de suelo de uso industrial y agrícola. Los suelos tratados de los estudios de Wang, Wang, Zhang, Li, Guo (2016); Maddela, Scalvenzi, Venkateswarlu (2016); Freile (2010) darían a conocer que se le puede dar un uso posterior al residuo tratado, a manera de ejemplo, se lo puede utilizar como parte de un relleno sanitario y para uso agrícola en siembra de hortalizas (Gualoto & Rojas, 2005), en lo referente a parámetro de ecosistemas sensibles los valores finales no alcanzarían.

En relación con las experiencias de laboratorio no presentaron resultados óptimos en correspondencia con los parámetros de la normativa ecuatoriana. En el estudio de Gojgic et al. (2011) indican una concentración final de 4.944 ppm de TPHs, en el que se evidencia que por día el contaminante se fue degradando el 8% aproximadamente, es importante recalcar que el tiempo no es un factor determinante, porque se lograría un incremento del 3% en un tiempo de 40 días más, lo que no sería rentable desde ningún punto de vista. En este caso lo idóneo sería mejorar las condiciones del residuo con material estructurante previo la bioaumentación y bioestimulación.

En el caso del estudio de Koolivand et al. (2012) se señala una concentración final de 20.860 ppm de TPHs. De acuerdo con el factor tiempo y eficiencia de remoción, en 70 días obtuvo un 80% de eficiencia, esto indica que por día hubo un 11.43% aproximadamente de degradación del contaminante, lo que indica que la utilización de compost inmaduro ayuda a la supervivencia de microorganismos durante el tratamiento, ya que la eficiencia de remoción fue alta.

Es importante señalar que los valores de los estudios de Gojgic et al. (2011) y Koolivand et al. (2012) no alcanzarían con lo establecido por la normativa ambiental ecuatoriana. Sin embargo, estas investigaciones fueron realizadas en otros países. Serbia e Irán logrando obtener un porcentaje de eficiencia de remoción superior a los 80%.

### **3.4 Géneros de bacterias usadas en la degradación de lodos aceitosos**

Según Karigar & Rao (2011), las bacterias se las usa para la biodegradación de contaminantes tóxicos transformándolos en compuestos no tóxicos, por ende, se aprovecha la capacidad metabólica que poseen estos microorganismos.

A nivel mundial se han desarrollado investigaciones sobre el uso de los géneros de bacterias presentados en la (tabla 5), una característica fundamental que posee la biorremediación sobre el uso de los microorganismos es realizar una bioestimulación adecuada, para que los microorganismos sobrevivan a las condiciones tóxicas que presenta el residuo. A continuación, en la (tabla 5), se

presenta el listado de los géneros de bacterias empleadas en la biorremediación de lodos aceitosos.

Tabla 5

Listado de géneros bacterias empleadas en la biorremediación de lodos aceitosos.

Géneros de bacterias	Concentración inicial en ppm de TPHs	Eficiencia en Porcentaje	Tiempo	Fuente
<i>Pseudomona</i>	12.570	90.04%	186 días	(Wang, Wang, Zhang, Li & Guo, 2016)
<i>Bacillus</i>	12.630	86.33%	90 días	(Maddela, Scalvenzi, Venkateswarlu, 2016)
<i>Stenotrophomonas</i>	115.500	87%	38 días	(Zafra, Regino, Agualimpia & Aguilar, 2016)

<i>Rhodococcus</i>	18.640	88.5%	72 días	(Freile, 2010)
<i>Micrococcus</i>	21.274	94%	120 días	(Vásquez, Guerrero, & Quintero, 2010)
<i>Achromobacter</i>	41.200	88%	92 días	(Gojgic, Milic, Solevic, Bdskoski, Ilic, Djokic, Narancic, Vrvic, 2011)
<i>Acinetobacter</i>	36.616	61.5%	90 días	(Cisnero, Hernández, Soto, Rojas, López, 2016)
<i>Flavobacteria</i>	10.000	78.25%	92 días	(Laurelta, Ernest, Eric,

				& Andrew, 2020)
--	--	--	--	--------------------

La (tabla 5), presenta estudios de géneros de bacterias realizados por varios autores a continuación, un análisis de lo más relevante. Es importante mencionar que ambos estudios fueron realizados en laboratorio. Para empezar la experiencia ejecutada por Gojgic et al. (2011) el lodo aceitoso tuvo una concentración inicial, 41.200 ppm de TPHs y en un tiempo de 92 días tiene una eficiencia del 88%, en esta investigación los autores ocuparon nutrientes con una concentración al 0.1% de N, P, K, para la bioestimulación del género *Achromobacter*. A diferencia de lo presentado por Cisnero et al. (2016) el residuo tuvo una concentración inicial de 36.616 ppm de TPHs, y en un tiempo de 90 días tiene una eficiencia del 61.5%, para la bioestimulación del género *Acinetobacter* ocuparon 0.5% de tensioactivo.

Por lo visto una diferencia marcada en la eficiencia de remoción, se debería a la bioestimulación ejecutada en el tratamiento, si observamos la experiencia de Gojgic et al. (2011) tuvo un 88% en un tiempo de 92 días, en comparación al estudio de Cisnero et al. (2016), obtuvo un 61.5% en 90 días. El uso de tensioactivos de la experiencia Cisnero et al. (2016), no fue el adecuado. Por lo tanto, se entendería que la eficiencia depende de la aplicación de nutrientes en concentraciones iguales o superiores al 0,1% de la mezcla.

Para el análisis de la (tabla 6), se seleccionaron cuatro géneros de bacterias en relación con las concentraciones iniciales de TPHs, estos géneros son: *Rhodoccus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*.

Tabla 6

*Análisis de las concentraciones finales de los tratamientos utilizando géneros de bacterias en comparación con la normativa 1215 del RAHOE.*

<b>Géneros de bacterias</b>	<b>Concentración inicial</b>	<b>Eficiencia de remoción</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Concentración Final en ppm de TPHs</b>	<b>Uso de suelo industrial &lt; 4000</b>	<b>Uso agrícola de suelo &lt; 2500</b>	<b>Ecosistema sensible &lt; 1000</b>
<i>Rhodococcus</i>	18.640	89.74%	72 días	1.912	Alcanza	Alcanza	No alcanza
<i>Micrococcus</i>	21.274	94%	120 días	1.276	Alcanza	Alcanza	No alcanza
<i>Bacillus</i>	12.630	86.33%	90 días	1.726	Alcanza	Alcanza	No alcanza
<i>Pseudomonas</i>	12.570	90.04%	186 días	1.252	Alcanza	Alcanza	No alcanza

De acuerdo con la (tabla 6), los cuatros géneros de bacterias fueron usados en los estudios para la degradación de hidrocarburos. El género *Rhodococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus* y *Pseudomonas* se caracterizan por su diversidad metabólica, tiene la capacidad de transformar, biodegradar los contaminantes derivados de hidrocarburos (Flavio & Zachia, 1999; Argumedo, 2018; Vivas, Martínez, García, Salgado, 2008). Las bacterias *Rhodococcus*, *Micrococcus* y *Bacillus* se identifican por ser gram-positivas. Según Pepper, Gerba & Gentry (2015), mencionan que las bacterias gram-positivas poseen la pared celular gruesa llamada peptidoglicano, que consiste en ayudar a soportar las difíciles características físicas que se encuentra en el residuo.

Los estudios de la (tabla 6) fueron realizados en campo, para este análisis las concentraciones iniciales de los residuos son similares. El estudio del género *Micrococcus* realizado por Vásquez, Guerrero & Quintero (2010); el lodo aceitoso tuvo una concentración inicial 21.274 ppm de TPHs, fue ejecutada en biopilas, para la bioestimulación de este género aplicaron N, P, K y en 120 días, presentando una concentración final de 1.276 ppm de TPHs. Este género se distingue por ser esféricas, su tamaño varía entre 5 a 20 um y como es un microorganismo psicófilos crece en temperaturas inferiores a 15°C (Trivedi, Pandey, Bhadauria, 2010).

Otra experiencia, realizada por Freile (2010) el residuo presentó una concentración inicial de 18.640 ppm de TPHs, el tratamiento tuvo una duración de 72 días, el lodo aceitoso fue tratado en biopilas, para la bioestimulación del género *Rhodococcus* usaron N, P, K y cosustratos. La utilización de estos elementos ayudó a que este género presente una concentración final de 1.912 ppm de TPHs con una eficacia del 89.74%. Este género se caracteriza por agrupar bacterias de forma bacilar, las cuales pueden llegar a formar filamento vegetativo ramificado, el cual es septado y se fragmenta en forma bacilares,

crecen en temperatura de 30 °C a 37 °C (Sánchez, Sandoval, Díaz & Serrano, 2004).

La investigación realizada por Wang, Wang, Zhang, Li & Guo (2016) consistió en el uso de mezcla de lodo aceitoso con suelo, presentando una concentración inicial de 12.570 ppm de TPHs. En este estudio estuvo presente el género *Pseudomonas* para la bioestimulación de este género ocuparon tallos de algodón y en un tiempo de 186 días mostró una concentración final 1.252 ppm de TPHs con una eficacia del 90.04 %. Este género se caracteriza por ser gram-negativo, ligeramente en su morfología son curvados o rectos, no forma esporas, posee flagelos polares y crecen en temperaturas entre 30 -37°C (Pinzón, 2019).

Finalmente, el estudio ejecutado por Maddela, Scalvenzi, Venkateswarlu (2016) indica que el residuo fue una mezcla de lodo aceitoso y suelo con una concentración inicial de 12.630 ppm de TPHs. Para el tratamiento de biorremediación estuvo presente el género *Bacillus*, para la bioestimulación usaron fertilizante con nutrientes N, P, K con estiércol de vaca y en 90 días presentando una concentración final 1.726 ppm de TPHs, con una eficiencia del 86.33%. Este género se destaca por el crecimiento aerobio o en ocasiones anaerobio facultativo, la morfología es bacilar, la movilidad es flagelada, y el tamaño es variable entre (0.5 a 10 µm), el crecimiento óptimo ocurre en pH neutro, presentando un amplio intervalo de temperaturas de crecimiento, aunque la mayoría de las especies son mesófilas (temperatura entre 30 y 45 °C) (Villareal, Rodríguez, Cira, Estrada, Parra & Villalobos, 2018).

Al comparar lo señalado en líneas anteriores, el estudio de Freile (2010) del género *Rhodococcus* presenta una alta eficiencia en un tiempo corto. A diferencia de las otras publicaciones muestran una eficacia similar, pero en un tiempo más extendido. Se cree que es importante ocupar nutrientes N, P, K y

cosustratos para que las bacterias se destaquen en un tiempo similar con referencia a la experiencia de Freile (2010).

De acuerdo con la normativa ecuatoriana, todos los estudios que usaron estos géneros alcanzarían los parámetros de uso de suelo industrial y agrícola.

Para finalizar, todos los géneros mencionados en la (tabla 6), demuestran que tienen la capacidad para degradar hidrocarburos y que los lodos aceitosos tratados son aptos para un uso posterior, tomando como referencia la normativa ambiental ecuatoriana. Es importante mencionar que los estudios de Vásquez, Guerrero & Quintero (2010) y Wang et al., (2016), no alcanzarían con los parámetros establecidos por la normativa ambiental ecuatoriana. Sin embargo, estos estudios fueron ejecutados en otros países, de tal manera presentan excelentes valores en la eficiencia de remoción superiores al 90%, dando a conocer que el proceso de biorremediación fue viable. A diferencia de las experiencias de las investigaciones de los géneros *Rhodococcus* ejecutada por Freile (2010) y *Bacillus* por Maddela, Scalvenzi, Venkateswarlu (2016) fueron realizadas en Ecuador por lo tanto si alcanzaron con los parámetros de uso de suelo industrial y agrícolas establecida por la normativa ecuatoriana.

### **3.5 Géneros de hongos usados en la degradación de lodos aceitosos**

Varios autores expresan que los hongos tienen una gran actividad enzimática, gracias a la proliferación de las hifas, como característica esencial que posee este microorganismo, adquiriendo la alta capacidad para sobrevivir en condiciones extremas, tales como: baja humedad, deficiencia de nutrientes, pH bajos y altas temperaturas (Goltapeh, Danesh, & Varma, 2013; Shahnawaz, Sangale, Ade, 2019).

Por otro lado, los géneros de hongos que se presentan en la (tabla 7), son los más usados con fines investigativos y en trabajos de biorremediación de lodos aceitosos.

Tabla 7

Listado de géneros de hongos utilizados en la biorremediación de lodos aceitosos.

<b>Géneros de hongos</b>	<b>Concentración inicial (ppm), TPHs</b>	<b>Eficiencia en porcentaje</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Fuente</b>
<i>Rhizopus</i>	60.600	47%	90 días	(Pernía, Demey, Inojosa, Naranjo, 2012)
<i>Aspergillus</i>	20.600	95%	120 días	(Vásquez, Guerrero, Quintero, 2010)
<i>Polyporus</i>	15.000	46%	60 días	(Kristanti, Hadibarata, Toyama, Tanaka, & Mori, 2011)
<i>Penicillium</i>	97.372,54	96%	214 días	(Rojas, 2004)
<i>Fusarium</i>	25.800	57%	53 días	(Li, Sun, Stagnitti, Zhang, Zhang, Xiong, Allinson, Ma & Allinson, 2002)

En la (tabla 7), se observa el estudio realizado por Kristanti, Hadibarata, Toyama, Tanaka, & Mori (2011), del género *Polyporus* en donde el lodo aceitoso tuvo una concentración inicial de 15.000 ppm de TPHs y en 90 días presenta una eficiencia del 46%. El tratamiento se realizó en Erlenmeyer, y la bioestimulación que obtuvo este organismo fue el uso de kapok (fibras de árboles) y la pulpa de ciertas frutas. Se concluye sobre organismo del género *Polyporus*, no es rentable para degradar TPHs, porque tuvo un tiempo considerable presentando una eficiencia menor al 50%.

Para este análisis se eligieron tres géneros de hongos de acuerdo con las concentraciones iniciales de TPHs de los estudios, como se muestra en la (tabla 8), estas son: *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*.

Tabla 8

*Comparación de los géneros de hongos y normativa ecuatoriana.*

<b>Géneros de hongos</b>	<b>Concentración inicial en ppm de TPHs</b>	<b>Eficiencia en porcentaje</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Concentración final en ppm de TPHs</b>	<b>Uso de suelo industrial &lt; 4000</b>	<b>Uso agrícola de suelo &lt; 2500</b>	<b>Ecosistema sensible &lt; 1000</b>
<i>Aspergillus</i>	20.600	95%	120 días	1.030	Alcanza	Alcanza	No Alcanza
<i>Penicillium</i>	97.372,54	96%	214 días	3.765,76	Alcanza	No Alcanza	No Alcanza
<i>Fusarium</i>	25.800	57%	53 días	11.094	No Alcanza	No Alcanza	No Alcanza

En relación con la (tabla 8), presenta estudios de los géneros de hongos, por lo tanto, fueron utilizados para la degradación de TPHs de lodos aceitosos. El género *Aspergillus*, se caracteriza por degradar compuestos derivados de petróleo como la gasolina, kerosén, diésel, hidrocarburos totales de petróleo por lo cual este género usa el contaminante como energía y fuente carbono (Araujo, Yegres, Barreto, Antequera, Depool & Rojas, 2016). El género *Penicillium* se caracteriza por tener la capacidad de degradar compuestos como metales pesados, fenoles, HAPs y TPHs (Pernía, Demey, Inojosa, Naranjo, 2012). Por último, el género *Fusarium* es caracterizado por degradar y mineralizar el pireno, antraceno, fenantreno del residuo (Kumar, Kumar & Prasad, 2018). Como conclusión se determina que los géneros de hongos seleccionados poseen la capacidad en degradar contaminantes específicos de las derivaciones de hidrocarburos. Es importante indicar que los tres estudios de la (tabla 8) fueron realizados en campo.

En relación con el género *Aspergillus* morfológicamente se caracteriza por tener hifas especializadas llamadas conidióforos, este género crece a temperaturas entre 0 °C a 45 °C (Abarca, 2000). El estudio del género *Aspergillus* ejecutado por Vásquez, Guerrero, Quintero (2010) el lodo aceitoso presentó una concentración inicial de 20.600 ppm de TPHs y en 120 días tuvo una concentración final de 1.030 ppm de TPHs, para la bioestimulación del género fue la aplicación de los nutrientes de N, P, K.

Otro género *Penicillium*, se identifica por tener hifas hialinas septadas, este género es saprófito y posee la capacidad de desarrollarse en distintos ambientes a temperaturas entre 20 °C - 30 °C (Koul & Singh, 2016). De acuerdo con el estudio del género *Penicillium* realizado por Rojas (2004), el lodo aceitoso presentó una concentración inicial alta 97.372,54 ppm de TPHs a diferencia de los otros estudios, considerando el tiempo de este estudio, en 214 días se tiene una concentración final de 3.765,76 ppm de TPHs, obteniendo una eficiencia del 96%. Es importante mencionar que el lodo fue estabilizado le colocaron material estructurante como zeolita, cascarilla de arroz y restos de vegetales estos elementos ayudaron a que el residuo sea más manejable.

Finalmente, la experiencia del género *Fusarium* desarrollado por Li et al. (2002) presentó una concentración inicial de 25.800 ppm de TPHs, pero en 53 días de tratamiento no alcanzó una concentración final considerable 11.904 ppm. Para la bioestimulación del microorganismo ocuparon fertilizante con una composición de nitrógeno (1,82%); P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; (5,96%); y K<sub>2</sub>O: (2,62%) y la adición de excremento de pollo, cascara de arroz y madera. El poco tiempo que tuvo el tratamiento indica que hubo una degradación del 14% por día, si el tratamiento hubiera durado unos 200 días más, la eficiencia fuera sido de 85% teniendo una concentración de 3.870 ppm de TPHs. De acuerdo con las proyecciones de los cálculos establecidos se estima que, sí el tratamiento se hubiese alargado por unos días más, el proceso habría sido rentable y el género *Fusarium* mostraría una mayor eficiencia.

Al parecer el estudio elaborado por Vásquez, Guerrero, Quintero (2010), existe una diferencia marcada en la eficiencia del tratamiento, se debería al tiempo de experimentación, si observamos el estudio del género *Aspergillus* se dio en un tiempo de 120 días, a diferencia de la experiencia de Li et al. (2002), del género *Fusarium* se ocupó menos de la mitad de tiempo de tratamiento. Se creería que género *Aspergillus* necesitaría una doble concentración de nutrientes para una mejor bioestimulación, tal vez *Fusarium* presentaría una eficacia mejorada en un tiempo menor en relación con el estudio de Vásquez, Guerrero, Quintero (2010).

Con respecto a la normativa ambiental ecuatoriana, se tiene que la publicación de Vásquez, Guerrero, Quintero (2010), solo alcanzaría con dos parámetros, uso de suelo industrial y agrícola, a diferencia de la investigación de Li et al. (2002) que no alcanzaría con ningún criterio, finalmente, el estudio de Rojas (2004), que fue realizada en Ecuador, solo alcanzaría con el parámetro uso de suelo industrial, por lo tanto, el suelo podría utilizarse como parte de una recreación paisajística de las instalaciones de algunas empresas.

### 3.6 Análisis comparativo entre bacterias y hongos

Para conocer si existen diferencias en los resultados de biorremediación entre la utilización de bacterias y hongos para el tratamiento de lodos aceitosos, se realizó un análisis entre un género de cada microorganismo con la similitud presentada en la concentración inicial, en la (tabla 9) se presenta los géneros seleccionados, estas son: género bacteria *Micrococcus* y género hongo *Fusarium*.

Tabla 9

Comparación entre los géneros bacterias y hongos.

Géneros	CI (ppm) TPHs	Eficiencia	CF (ppm) TPHs	Tiempo
<b>BACTERIA</b>				
<i>Micrococcus</i>	21.274	94 %	1.276	120 días
<b>HONGO</b>				
<i>Fusarium</i>	25.800	57%	11.094	53 días

En la (tabla 9), se observa una similitud en las concentraciones iniciales de los estudios, cabe recalcar que ambos estudios fueron realizados en campo. Al parecer la diferencia marcada en la eficiencia de remoción se debería al tiempo de experimentación, si podemos observar en el caso del género *Micrococcus* se dio un tiempo de 120 días, en tanto que para el género *Fusarium* se utilizó menos de la mitad del tiempo. Por lo tanto, si al hongo *Fusarium* se ocuparía el mismo tiempo que duró el tratamiento de *Micrococcus*, no sería rentable ya que en los 120 días la eficiencia lograría subir un 66.38% prácticamente alcanzando un

9.38% más de rendimiento. Sin embargo, en la bioestimulación de *Micrococcus* usaron N, P, K (15%) en 100 g disuelto en agua, fue colocado a los 8, 16 y 24 días de tratamiento en comparación con *Fusarium*, le adicionaron nitrógeno (1,82%); P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>; (5,96%); y K<sub>2</sub>O: (2,62%) más el excremento de pollo, cáscara de arroz y aserrín. En base a los resultados observados, se creería que la utilización de nutrientes en días estratégicos incrementaría la tasa metabólica del microorganismo presentando una mejor eficiencia de remoción del contaminante en tu tiempo aceptable.

### 3.7 Análisis de costos en las perspectivas de generaciones de volúmenes de lodos aceitosos

La (tabla 10) presenta los costos de acuerdo con el rango de concentraciones iniciales de TPHs, se evidencia que el costo mínimo es de 20 USD/m<sup>3</sup> y el más alto es de 280 USD/m<sup>3</sup>.

Tabla 10

*Costos empleados en los tratamientos de residuos contaminados con hidrocarburos.*

TPHs (mínimo)	TPHs (máximo)	Costo
2000	19000	20 USD/m <sup>3</sup>
20000	39000	40 USD/m <sup>3</sup>
40000	59000	60 USD/m <sup>3</sup>
60000	79000	80 USD/m <sup>3</sup>
80000	99000	100 USD/m <sup>3</sup>
100000	119000	150 USD/m <sup>3</sup>
120000	139000	200 USD/m <sup>3</sup>
140000	-	280 USD/m <sup>3</sup>

Adaptado de: (ServiGarling, 2010).

En el Ecuador, el potencial de crecimiento de las técnicas biológicas de tratamiento es enorme, así lo muestran los datos de producción del 2010 de la refinería de Shushufindi que tiene una producción diaria de 425 m<sup>3</sup>, su producción anual es de 155.125 m<sup>3</sup>/año, seguido de Planta Cautivo, generación de 500 m<sup>3</sup> y anualmente de 182.500 m<sup>3</sup>/año, finalmente Beaterio 93.035 m<sup>3</sup> con un valor de 33.957,77 m<sup>3</sup>/año anualmente. Para ese año el volumen consolidado fue de 371.582,77 m<sup>3</sup>/año (Freire,2010). Para el 2020, el volumen consolidado estimado supera los 3.715.827,7 m<sup>3</sup>/año.

Basados en los costos de la tabla de referencia No.10, y considerando que las concentraciones promedio de los lodos aceitosos residuales es de 140.000 ppm ServiGarling (2010) vemos que el costo sería de 280 USD/m<sup>3</sup>, si aceptamos que el volumen consolidado a la fecha es de 3.715.827,7 m<sup>3</sup>/año, su tratamiento a cargo de empresas gestoras nacionales o internacionales generaría ingresos de 104.043.175 USD.

En el Ecuador existen empresas gestoras, entre las que podemos mencionar, Incinerox, Eco-ambiental Andina, Ecuambiente, Plus Ambiente, Arcoil, Enviromental Solutions Group, Av Corp, Gropwer Group, Corena, Consorcio Armas & Cabrera, PECS IECONTSA S.A (Ministerio del Ambiente Ecuador, 2015). Si participan al menos 6 empresas tardarían 5,4 años, cada empresa recibiría un total de 17.092.807,42 USD, esto es; 3.715.827,7 USD/año.

El tratamiento biológico de estos volúmenes de lodos residuales aceitosos se consideraría un tiempo de tratamiento promedio de 6.5 meses, por lo tanto, existe un amplio panorama de generación de trabajo para las empresas gestoras ambientales. Las perspectivas de crecimiento de este sector son buenas, por cuanto el volumen anual de generación de lodos crece año tras año.

## 4. Capítulo IV. Conclusiones y Recomendaciones

### 4.1 Conclusiones

En base a la revisión bibliográfica se puede concluir que las técnicas biológicas utilizadas para la remediación de lodos residuales aceitosos son eficientes ya que todos los trabajos analizados presentan resultados de eficiencia de remoción superiores al 60%.

Dentro de los documentos analizados se considera que la metodología de compostaje con estrategias de bioaumentación y bioestimulación; siendo el uso de materiales estructurantes la técnica más exitosa en campo, para el tratamiento de lodos residuales aceitosos. En tanto que, para condiciones de laboratorio el empleo de las estrategias de bioaumentación y bioestimulación muestran resultados positivos en la eficiencia de remoción de TPHs de lodos aceitosos.

Como se ha mencionado a lo largo de toda la investigación y en el análisis económico, la biorremediación presenta ventajas comparativas frente a las técnicas convencionales tales como: no produce contaminación secundaria, presenta altos índices de eficiencia, son de menor costo, emplean recursos propios del ambiente incluyendo otro tipo de residuos orgánicos de desechos que actúan en calidad de cosustratos permitiendo no solo mejorar el proceso sino también acortar los tiempos de tratamiento. Adicionalmente, al ocupar otro tipo de residuo contribuyen a la descontaminación, ambiental generadas a otras actividades ajenas a las hidrocarburíferas.

En base a la revisión bibliográfica se concluye que el uso de los géneros de bacterias *Micrococcus*, *Pseudomonas* y *Bacillus*, son las que con mayor frecuencia se ocupan en la biorremediación para este tipo de residuo, por los

cuales los estudios evidencian que se obtienen buenos rendimientos de remoción de hidrocarburos y en un tiempo aceptable.

#### **4.2 Recomendaciones**

Es de vital importancia que la academia siga brindando experiencias a los estudiantes para tratar lodos aceitosos con el fin de conocer a profundidad que metodología de biorremediación es la más idónea. Además, la técnica de biorremediación es una tecnología eficiente, económicamente rentable y amigable con el ambiente. Sería fundamental que en Ecuador las empresas gestoras encargadas de tratar lodos aceitosos empiecen a utilizar con mayor frecuencia la biorremediación, porque son menos costosas en comparación a las técnicas convencionales, como son métodos fisicoquímicos y los térmicos que poseen mayor consumo de agentes químicos, gastos energéticos, usos de equipos.

Es deseable que en el Ecuador se organicen amplios programas de investigación pública o privada, en el tratamiento de lodos residuales aceitosos, que permitan reducir los tiempos de tratamiento y mejorar las tasas de degradación. Priorizando las técnicas de biorremediación como técnicas adecuadas para el tratamiento de lodos residuales aceitosos, debido a su eficiencia e inocuidad ambiental.

## REFERENCIAS

- Abarca, L. (2000). Taxonomy and identification of the species involved in nosocomial aspergillosis. *Revista Iberoamericana de Micología*, 17(3), S79-84. Recuperado de 19 de mayo de 2020 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15762792>
- Adetutu, E., Bird, C., Kadali, K., Bueti, A., Shahsavari, E., Taha, M., Patil, S., Sheppard, P., Makadia, T., Simmons, K., Ball, A. (2014). Exploiting the intrinsic hydrocarbon-degrading microbial capacities in oil tank bottom sludge and waste soil for sludge bioremediation. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 12(4), 1427–1436. <https://doi.org/10.1007/s13762-014-0534-y>
- Aguelmous, A., El Fels, L., Souabi, S., Zamama, M., & Hafidi, M. (2019). The fate of total petroleum hydrocarbons during oily sludge composting: a critical review. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 18(3), 473–493. <https://doi.org/10.1007/s11157-019-09509-w>
- Araujo, J., Yegres, F., Barreto, G., Antequera, A., Depool, B., Rojas, Y. (2016). Biocatalizadores fúngicos hidrocarbonoclasticos del género *Aspergillus* para la descontaminación de agua con Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos (HPAs). *Rev. Cubana Quím*, 28(2), 2224–5421. Recuperado de 4 de junio de 2020 <http://ojs.uo.edu.cu/index.php/cq>
- Argumedo, D. (2018). Degradación de Residuos Aceitosos Provenientes de Actividades Mineras en la Guajira, Colombia. *Revista Politécnica*, 14(26), 42–51. <https://doi.org/10.33571/rpolitec.v14n26a4>
- Arora, S., & Singh, A. (2017). *Bioremediation of Salt A cted Soils: An Indian Perspective*. Springer.
- Balba, M., Al-Awadhi, N., Al-Daher, R. (1998). Bioremediation of oil-contaminated soil: microbiological methods for feasibility assessment and field evaluation. *Journal of Microbiological Methods*. 32:155-164.

- Bravo, E. (2007). Los impactos de la explotación petrolera en ecosistemas tropicales y la biodiversidad. *Fronteras Comunes y Asociación Ecológica Santo Tomás*, 1–36. Recuperado de 23 de marzo de 2020 [www.mexicotoxico.org](http://www.mexicotoxico.org)
- Castañeda, A. (2019). Riesgos Ambientales Sobre Agua y Suelo Por Disposición De Cortes De Perforación En El Campo Castilla. *Duke Law Journal*, 1(1), 1–13. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Castañeda Gabriel, Pacheco Joel, Vaca Mabel, Flores Julio, L. R. (2009). Tratamiento de Lodos Aceitosos Residuales Mediante Plasma Térmico en Ausencia de Oxígeno. 1–8.
- Crawford, R. (1997). *Bioremediation: Principles and Applications*. Cambridge Univiversity Press.
- Cisnero, S., Hernández, C., Soto., N., Rojas., J., López, J. (2016). *Changes in Bacterial Populations During Bioremediation of Soil Contaminated with Petroleum Hydrocarbons*. <https://doi.org/10.1007/s11270-016-2789-z>
- Freile, J. (2010). Remediación De Lodos Aceitosos De La Refinería Estatal De Esmeraldas Mediante Compostaje, Empleando Residuos Domésticos En Calidad De Fuente De Nutrientes. *Universidad De Las Américas*, 1–5.
- Flavio B, Leonardo F, Zachia M. (1999). Production of biosurfactant by hydrocarbon degrading *Rhodococcus ruber* and *Rhodococcus erythropolis*. *Revista de Microbiología*.
- Gajalakshmi, S., & Abbasi, S. A. (2012). Solid waste management by composting: State of the art. In *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* (Vol. 38). <https://doi.org/10.1080/10643380701413633>
- García, E., Roldán, F., & Garzón, L. (2011). Evaluación de la bioestimulación (nutrientes) en suelos contaminados con hidrocarburos utilizando respirometría. *Acta Biológica colombiana*, 16(1), 195–208.

- Gojic, G. D., Milic, J., Solevic, T., Beskoski, V., Ilic, M., Djokic, L., Narancic, T., Vrvic, M. (2011). Biodegradation of petroleum sludge and petroleum polluted soil by a bacterial consortium: A laboratory study. *Biodegradation*, 23(1), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s10532-011-9481-1>
- Goltapeh, E. M., Danesh, Y. R., & Varma, A. (2013). Fungi as Bioremediators. *Soil Biology*, 32, 203–226. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-33811-3>
- Gómez, W. Gavira, J. Cardona, S. (2009). Evaluación de la bioestimulación frente a la atenuación natural y la bioaumentación en un suelo contaminado con una mezcla de gasolina - diésel. 83–93.
- Gualoto, M & Rojas, V. (2005). Tratamiento de lodos residuales industriales hidrocarbúricos mediante Landfarming en Plataforma cubierta. Weatherford Ecuador. Orellana- El Coca. Seminario de AEISA, Cuenca.
- Heimann K, Parthiba O, Senthilkannan S. (2017). Biodegradation and bioconversion of hydrocarbons. In *Environmental Footprints and Eco-Design of Products and Processes*. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-0201-4\\_6](https://doi.org/10.1007/978-981-10-0201-4_6)
- Insam, H., Riddech, K. (2002). Microbiology of Composting. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-56680-6>
- Illman, W., & Alvarez, J. (2009). Performance assessment of bioremediation and natural attenuation. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 39(4), 209–270. <https://doi.org/10.1080/10643380701413385>
- Johnson, O., Affam, A. (2019). Petroleum sludge treatment and disposal: A review. *Environmental Engineering Research*, 24(2), 191–201. <https://doi.org/10.4491/EER.2018.134>
- Karigar, S., Rao, S. (2011). Role of microbial enzymes in the bioremediation of pollutants: a review. *Enzyme Res.* Available from: <http://dx.doi.org/doi:10.4061/2011/805187>

- Kriipsalu, M., Marques, M., Nammari, D., & Hogland, W. (2007). Bio-treatment of oily sludge: The contribution of amendment material to the content of target contaminants, and the biodegradation dynamics. *Journal of Hazardous Materials*, 148(3), 616–622. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.03.017>
- Kristanti,R., Hadibarata, T., Toyama, T., Tanaka, Y., & Mori, K. (2011). Bioremediation of crude oil by white rot fungi Polyporus. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21(9), 995–1000. <https://doi.org/10.4014/jmb.1105.05047>
- Koolivand, A., Naddafi, K., Nabizadeh, R., Nasser, S., Jafari, A. J., Yunesian, M., Yaghmaeian, K., Nazmara, S. (2012). Biodegradation of petroleum hydrocarbons of bottom sludge from crude oil storage tanks by in-vessel composting. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 95(1), 37–41. <https://doi.org/10.1080/02772248.2012.753073>
- Koul, M., & Singh, S. (2016). Penicillium. *Anti-Cancer Drugs*, 28(1), 11–30. <https://doi.org/10.1097/cad.0000000000000423>
- Kumar, V., Kumar, M., & Prasad, R. (2018). Microbial action on hydrocarbons. In *Microbial Action on Hydrocarbons*. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-1840-5>
- Laurelta, T., Ernest, A., Eric, A., & Andrew, B. (2020). *Biodiversity and Dynamics (Rate of Change) of Bacterial Communities Involved in the Biodegradation of Petroleum Refinery Sludge in Contaminated Soils*. 23(4), 23–38. <https://doi.org/10.9734/JABB/2020/v23i430150>
- Li, P., Sun, T., Stagnitti, F., Zhang, C., Zhang, H., Xiong, X., Allinson, G., Ma, X., Allinson, M. (2002). Field-scale bioremediation of soil contaminated with crude oil. *Environmental Engineering Science*, 19(5), 277–289. <https://doi.org/10.1089/10928750260418926>
- Ma, J., Yang, Y., Dai, X., Chen, Y., Deng, H., Zhou, H., Guo, S., 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>
- Maddela, N. R., Scalvenzi, L., Pérez, M., Montero, C., & Gooty, J. M. (2016). Efficiency of Indigenous Filamentous Fungi for Biodegradation of Petroleum Hydrocarbons in Medium and Soil: Laboratory Study from Ecuador. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 95(3), 385–394. <https://doi.org/10.1007/s00128-015-1605-6>
- Marín, F. Navarrete, H. & Trujillo, A. (2018) Degradación total de hidrocarburos de petróleo por hongos endófitos de la Amazonía ecuatoriana. *Avances en microbiología*, 8, 1029-1053. doi: 10.4236 / aim.2018.812070.
- Marín, A., Moreno, L., Hernández, T., & García, C. (2006). Bioremediation by composting of heavy oil refinery sludge in semiarid conditions. *Biodegradation*, 17(3), 251–261. <https://doi.org/10.1007/s10532-005-5020-2>
- Mishra, S., Jyot, J., Kuhad, R. C., & Lal, B. (2001). In situ bioremediation potential of an oily sludge-degrading bacterial consortium. *Current Microbiology*, 43(5), 328–335. <https://doi.org/10.1007/s002840010311>
- Mohee, R., & Mudhoo, A. (2012). Bioremediation and Sustainability: Research and Applications. In *Bioremediation and Sustainability: Research and Applications*. <https://doi.org/10.1002/9781118371220>
- Muñoz, V. (2010). Tratamiento biológico combinado con filtración en tamices moleculares, de aguas contaminadas con hidrocarburos, afectadas por el derrame de la línea de flujo del pozo Shushuqui. 29(14), 235–246.
- Ouyang, W., Liu, H., Murygina, V., Yu, Y., Xiu, Z., & Kalyuzhnyi, S. (2005). Comparison of bio-augmentation and composting for remediation of oily sludge: A field-scale study in China. *Process Biochemistry*, 40(12), 3763–3768. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.06.004>

- Pepper, L., Gerba, P., & Gentry, J. (2015). Introduction to Environmental Microbiology. In *Environmental Microbiology: Third Edition*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394626-3.00001->
- Pernía, B., Demey, J., Inojosa, Y., & Naranjo, L. (2012). *Biodiversidad y potencial hidrocarbonoclástico de hongos aislados de crudo y sus derivados: Un metaanálisis*. 3(1), 1–39.
- Pinzón, A. (2019). *Pseudomonas*. *Acta Médica Colombiana*, 44 (1), Recuperado de 12 de junio 2020. <http://www.scielo.org.co/pdf/amc/v44n1/0120-2448-amc-44-01-52.pdf>
- RAHOE. (2019). REGLAMENTO AMBIENTAL DE OPERACIONES HIDROCARBURÍFERAS. *Registro Oficial No. 174*.
- Ramírez, D., & Dussan, J. (2014). Landfarmed oil sludge as a carbon source for *Canavalia ensiformis* during phytoremediation. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 11(5), 1197–1206. <https://doi.org/10.1007/s13762-014-0575-2>
- Reyes, A., Puentes, A., Casanova, L., López, F., Panqueva, J., Castillo, A. (2018). Immobilization of potentially crude oil degrading bacteria in synthetic and natural organic matrices. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 34(4), 597–609. <https://doi.org/10.20937/RICA.2018.34.04.04>
- Rojas, V. (2004). Evaluación de la eficiencia en la biorremediación de lodos contaminados con hidrocarburos utilizando zeolitas y ácidos húmicos en lechos superficiales (Universidad Internacional SEK; Vol. 53). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Sánchez, N., Sandoval, A., Díaz-Corrales, F., & Serrano, J. (2004). El género *Rhodococcus*. Una revisión didáctica. *Revista de La Sociedad Venezolana de Microbiología*, 24(1–2), 24–33. Recuperado de 25 de Julio de 2020 [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1315-25562004000100005&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562004000100005&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

- Sánchez, O. (2016). *Bioremediation of wastewater factors and treatments*. Retrieved from file:///F:/Biorremediación/Biorremediación aguas y sedimentos/Bioremediation of wastewater\_ factors and treatments-Apple Academic Press (2016).pdf
- SERVIGARLING. (2010). *Informe de evaluación del área de influencia del proyecto Coca Codo Sinclair*. 3–22
- Shahnawaz, M., Sangale, M. K., & Ade, A. B. (2019). Bioremediation Technology for Plastic Waste. In *Bioremediation Technology for Plastic Waste*. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-7492-0>
- Singh, A., Kuhad, N., & Parmar, C. (2011). *Bioaugmentation, Bioestimulation and biocontrol* (Pringers; A. S. Kuhad, Ramesh C., Ed.). <https://doi.org/10.1007/978-3-642-19769-7>
- Tahhan, A., Ammari, G., Goussous, J., & Al-Shdaifat, I. (2010). Enhancing the biodegradation of total petroleum hydrocarbons in oily sludge by a modified bioaugmentation strategy. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 65(1), 130–134. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.09.007>
- Timmis, N. & Pieper, H (1999). Bacteria designed for bioremediation. *Trends Biotechnol* 17:201–204.
- Trivedi, P., Pandey, S., Bhadauria, E. (2010). Textbook of microbiology. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Vásquez, M., Guerrero, J., & Quintero, A. (2010). Biorremediación de lodos contaminados con aceites lubricantes usados. *Rev. Colomb. Biotecnol*, 12(1), 141–157.
- Villarreal, M., Villa, E., Cira, L., Estrada, M. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola.

*Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 36(1), 95–130. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5>

Vivas, M., Martínez, M., García, F., Salgado, R. (2008). Identificación y caracterización de una bacteria degradadora de parafinas. *Usb.Edu. Mx2*, 05, 51–60.

Wang, S., Wang, X., Zhang, C., Li, F., & Guo, G. (2016). Bioremediation of oil sludge contaminated soil by landfarming with added cotton stalks. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 106, 150–156. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.10.014>

Zafra, G., Regino, R., Agualimpia, B., & Aguilar, F. (2016). Molecular characterization and evaluation of oil-degrading native bacteria isolated from automotive service station oilcontaminated soils. *Chemical Engineering Transactions*, 49(April), 511–516. <https://doi.org/10.3303/CET1649086>

