

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE BIODEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS
TOTALES DE PETRÓLEO (TPH) EN SUELOS CONTAMINADOS
PROCEDENTES DE PETROSANTANDER (COLOMBIA) INC.

DIANA MARCELA IBARRA MOJICA

UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Bucaramanga

2008

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE BIODEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS
TOTALES DE PETRÓLEO (TPH) EN SUELOS CONTAMINADOS
PROCEDENTES DE PETROSANTANDER (COLOMBIA) INC.

DIANA MARCELA IBARRA MOJICA

TRABAJO DE GRADO PARA ASPIRAR AL TITULO DE
INGENIERA AMBIENTAL

Msc. MARIA KOPYTKO
Directora

UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
Bucaramanga
2008

Nota de aceptación:

Presidente del jurado

Jurado

Jurado

Bucaramanga, marzo de 2008.

A mis padres, hermanas, sobrino y demás familiares, quienes son el eje de mi vida, mi razón de ser y hacer.

Diana Marcela Ibarra Mojica

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme sus bendiciones a través de las personas que puso en mi camino para el desarrollo de éste proyecto.

A mi familia, por darme toda su fortaleza, apoyo y confianza, incluso por encima de la que yo misma tuviera.

A la docente María Kopytko, por darme la oportunidad de crecer profesional y personalmente junto a ella, mediante el desarrollo de éste proyecto.

Al Ingeniero Juan Diego Navarro, por confiarnos el desarrollo del proyecto y brindarnos su amistad.

A la Dra. Graciela Chalela Álvarez y su grupo de trabajo, por su valiosa asesoría en microbiología, para el desarrollo del proyecto.

A la docente Claudia Santoyo, por su tiempo, paciencia y colaboración, en los momentos que lo necesite.

A la Docente Nolva Camargo, por creer en mí y ayudarme a cambiar caminos.

Al personal de los laboratorios de química y suelos de la universidad, por su gran colaboración para el desarrollo de éste trabajo.

A todas las personas que directa o indirectamente se involucraron en el desarrollo de ésta investigación profesional y emocionalmente.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	18
1. OBJETIVOS	21
1.1 OBJETIVO GENERAL	21
1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	21
2. MARCO TEÓRICO	22
2.1 GENERALIDADES	22
2.2 CARACTERÍSTICAS DEL SUELO	22
2.2.1 Clasificación de los suelos.	24
2.2.2 Propiedades físicas.	25
2.2.3 Propiedades químicas del suelo.	32
2.2.4 Microbiología del suelo.	33
2.3 CONTAMINACIÓN DE SUELOS EN EXPLOTACIONES PETROLERAS	39
2.3.1 Transporte de contaminantes en el suelo.	40
2.3.2 Efectos adversos de la contaminación de suelos con hidrocarburos.	41
2.4 BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS	43
2.4.1 Biodegradabilidad de hidrocarburos.	44
2.4.2 Técnicas aplicadas en la biorremediación de suelos.	47
2.5 LEGISLACIÓN	51
2.6 PROBLEMÁTICA EN PETROSANTANDER (COLOMBIA) Inc.	53
3. MARCO EXPERIMENTAL	54
3.1 ETAPA 1. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LOS SUELOS CONTAMINADOS CON CRUDO.	55
3.1.1 Muestreo y pruebas en campo.	55
3.1.2 Caracterización físico-química.	60
3.2 ETAPA 2. CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE CEPAS	

NATIVAS.	70
3.2.1 Aislamiento de microorganismos nativos.	71
3.2.2 Caracterización y selección de colonias.	72
3.3 ETAPA 3 – ESTUDIO COMPARATIVO DE BIODEGRADACIÓN.	74
3.3.1 Ensayo de la biodegradación de una mezcla en diferentes proporciones de los suelos contaminados con hidrocarburos (S1, S2 y S3), con la adición de un pool microbiano aislado y biomagnificado de los tres suelos.	76
3.3.2 Ensayo de la biodegradación de la mejor mezcla de los suelos con contaminados con hidrocarburos (S1, S2 y S3), con la aplicación o no de un pre-tratamiento y microorganismos.	77
3.3.3 Ensayo de la biodegradación de cada uno de los suelos contaminados mezclados con suelo limpio.	77
3.3.4 Ensayo de la biodegradación de cada uno de los suelos contaminados mezclados con suelo limpio, con la aplicación o no de un pre-tratamiento y microorganismos.	78
3.4 ETAPA 4- DISEÑO A ESCALA PILOTO.	78
4. RESULTADOS Y ANÁLISIS	80
4.1 GENERALIDADES.	80
4.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE SUELOS CONTAMINADOS CON CRUDO.	81
4.2.1 Permeabilidad e infiltración.	81
4.2.2 Temperatura.	82
4.2.3 Estructura.	82
4.2.4 Humedad.	84
4.2.5 Capacidad de campo.	86
4.2.6 Textura.	88
4.2.7 Porosidad.	90
4.2.8 pH.	91
4.2.9 Relación carbono-nitrógeno-fósforo (C:N:P).	91
4.2.10 TPH.	93
4.3 CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE CEPAS NATIVAS.	94
4.3.1 Aislamiento de microorganismos nativos.	94
4.3.2 Caracterización y selección de colonias.	95
4.4 ESTUDIO COMPARATIVO DE BIODEGRADACIÓN.	107
4.4.1 Ensayo de la biodegradación de una mezcla en diferentes proporciones de los suelos contaminados con hidrocarburos (S1, S2 y S3), y la adición de un pool microbiano aislado y biomagnificado de los tres suelos.	118

4.4.2	Ensayo de la biodegradación de la mejor mezcla de los suelos con contaminados con hidrocarburos (S1, S2 y S3), con la aplicación o no de un pre-tratamiento y microorganismos.	119
4.4.3	Ensayo de la biodegradación de cada uno de los suelos contaminados mezclados con suelo limpio.	121
4.4.4	Ensayo de la biodegradación de cada uno de los suelos contaminados mezclados con suelo limpio, con la aplicación o no de un pre-tratamiento y microorganismos.	121
5.	DISEÑO A ESCALA PILOTO	127
6.	CONCLUSIONES	130
7.	RECOMENDACIONES	132
8.	BIBLIOGRAFÍA	133

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Tamaño y área superficial de las partículas de suelo.	29
Tabla 2. Estimaciones de biomasa en un suelo forestal.	34
Tabla 3. Procesos naturales que influyen en el destino de sustancias en el suelo.	41
Tabla 4. Clasificación de los resultados de infiltración.	60
Tabla 5. Interpretación de almacenamiento de agua en el suelo.	62
Tabla 6. Interpretación de resultados de porosidad total y densidad aparente.	68
Tabla 7. Proporciones de suelos en la mezcla aplicados en preensayos.	77
Tabla 8. Datos generales de suelos contaminados.	81
Tabla 9. Permeabilidad e infiltración de suelos contaminados.	82
Tabla 10. Contenido de humedad en los suelos contaminados.	84
Tabla 11. Humedad gravimétrica de los suelos contaminados, a capacidad de campo.	86
Tabla 12. Rango de humedad requerido para la biodegradación de suelos.	87
Tabla 13. Textura de los suelos contaminados por el método del hidrómetro.	88
Tabla 14. Textura de los suelos contaminados por granulometría.	88
Tabla 15. Porosidad de los suelos contaminados.	90
Tabla 16. Contenido de carbono, nitrógeno y fósforo, en los suelos contaminados.....	92
Tabla 17. Contenido inicial de TPH en suelos contaminados.	93
Tabla 18. Relación de bacterias y hongos en los tres suelos contaminados.	105
Tabla 19. Seguimiento de la pérdida de humedad de mezclas de suelos.	109
Tabla 20. Porcentajes de eliminación de TPH obtenidos en ensayos de biodegradación en mezcla de los suelos contaminados.	118
Tabla 21. Porcentajes de eliminación de TPH en mezcla de suelos	

contaminados con y sin pre-tratamiento.	119
Tabla 22. Degradación de TPH en ensayos de suelos contaminados por separado.....	121
Tabla 23. Degradación de TPH en tratamiento por separado de suelos contaminados.....	122
Tabla 24. Mayores remociones de TPH en tratamiento con mezcla de suelos contaminados y por separado.....	124
Tabla 25. Especificaciones para ensayos de biorremediación de los suelos contaminados con crudo por separado, a escala piloto.	127
Tabla 26. Especificaciones para ensayos de biorremediación de los suelos contaminados con crudo en mezcla, a escala piloto.	128

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Triangulo de texturas.	26
Figura 2. Principales tipos estructurales de suelos.	27
Figura 3. Suelos sin estructura.	28
Figura 4. Degradación de 1-alquenos.	45
Figura 5. Metabolismo de moléculas aromáticas.	46
Figura 6. Metodología.	54
Figura 7. Metodología de muestreo inicial de suelos contaminados.	56
Figura 8. Demarcación de puntos de muestreo.	57
Figuras 9 y 10. Toma de muestras para la determinación de densidad aparente y conservación de las mismas.	58
Figura 11. Toma de muestras para análisis físico-químico.	58
Figura 12. Pruebas de permeabilidad e infiltración.	59
Figura 13. Determinación de la humedad gravimétrica.	61
Figura 14. Prueba de capacidad de campo.	63
Figura 15. Lavado de suelos contaminados, para granulometría.	64
Figura 16. Tamizado de suelos.	65
Figura 17. Determinación de la densidad aparente.	66
Figura 18. Determinación de la densidad real.	68
Figura 19. Medición del Ph.	69
Figura 20. Caracterización microbiológica de cepas nativas.	70
Figura 21. Preparación de medios de cultivo modificados.	71
Figura 22. Láminas para observación microscópica.	72
Figura 23. Aumentación de bacterias y hongos.	73
Figura 24. Montaje de ensayos.	76
Figura 25. Ensayos de biodegradación.	79
Figura 26. Campo Payoa.	80
Figura 27. Estructura suelo 1.	83

Figura 28. Estructura suelo 2.....	83
Figura 29. Estructura suelo 3.....	83
Figura 30. Compartimiento para pruebas a escala piloto	129

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Contenido de humedad natural de los suelos contaminados.	84
Gráfica 2. Humedad volumétrica natural de los suelos contaminados.	85
Gráfica 3. Agua almacenada naturalmente en los suelos contaminados.	85
Gráfica 4. Capacidad de campo de los suelos contaminados.	87
Gráfica 5. Curvas de textura de los suelos contaminados.	89
Gráfica 6. pH de los suelos contaminados.	92
Gráfica 7. Contenido dde TPH de los suelos contaminados.	94
Gráfica 8. Bacterias aisladas del suelo 1.	95
Gráfica 9. Bacilos endosporados aislados del suelo 1.	96
Gráfica 10. Bacterias seleccionadas del suelo 1 para el pool microbiano.	97
Gráfica 11. Hongos aislados del suelo 1.	97
Gráfica 12. Hongos del suelo dos seleccionados para pool microbiano.	98
Gráfica 13. Bacterias aisladas del suelo 2.	99
Gráfica 14. Bacilos endosporados aislados del suelo 2.	100
Gráfica 15. Bacterias seleccionadas del suelo 2 para pool microbiano.	100
Gráfica 16. Hongos aislados del suelo 2.	101
Gráfica 17. Hongos seleccionados del suelo 2 para pool microbiano.	102
Gráfica 18. Bacterias aisladas del suelo 3.	103
Gráfica 19. Bacilos endosporados aislados del suelo 3.	103
Gráfica 20. Bacterias seleccionadas del suelo 3 para pool microbiano.	104
Gráfica 21. Hongos aislados del suelo 3.	104
Gráfica 22. Poll de microorganismos de los tres suelos contaminados.	106
Gráfica 23. Capacidad de campo de suelos contaminados por separado y en mezcla.	108
Gráfica 24. Capacidad de campo de suelos contaminados por separado y en mezcla con suelo limpio.	108
Gráfica 25. Curva de pérdida de humedad de la mezcla S1 50%,	

S2 25%, S3 25%,	110
Gráfica 26. Curva de contenido de agua por kilogramo de suelo, versus porcentaje de humedad gravimétrica S1 50%, S2 25%, S3 25%.	111
Gráfica 27. Curva de pérdida de humedad de S2 50% con S1 25% y S3 25%.	112
Gráfica 28. Curva de contenido de agua por kilogramo de suelo, versus porcentaje de humedad gravimétrica de S2 50% con S1 25% y S3 25%.	112
Gráfica 29. Curva de pérdida de humedad de S3 50% con S1 25% y S2 25%	113
Gráfica 30. Curva de contenido de agua por kilogramo de suelo, versus porcentaje de humedad gravimétrica S3 50% con S1 25% y S2 25%.	113
Gráfica 31. Curva de pérdida de humedad de proporción S1=S2=S3.	114
Gráfica 32. Curva de contenido de agua por kilogramo de suelo, versus porcentaje de humedad gravimétrica de proporción S1=S2=S3.	114
Gráfica 33. Curva de pérdida de humedad de S1+SL.	115
Gráfica 34. Curva de contenido de agua por kilogramo de suelo, versus porcentaje de humedad gravimétrica de S1+SL.	115
Gráfica 35. Curva de pérdida de humedad de S2+SL.	116
Gráfica 36. Curva de contenido de agua por kilogramo de suelo, versus porcentaje de humedad gravimétrica de S2+SL.	116
Gráfica 37. Curva de pérdida de humedad de S3+SL.	117
Gráfica 38. Curva de contenido de agua por kilogramo de suelo, versus porcentaje de humedad gravimétrica de S3+SL.	117
Gráfica 39. Remoción de TPH en ensayos de mezcla de suelos.	119
Gráfica 40. Remoción de TPH en tratamiento con mezcla de suelos contaminados, bajo diferentes condiciones.	120
Gráfica 41. Remoción de TPH en mezcla de S1 y suelo limpio.	123
Gráfica 42. Remoción de TPH en mezcla de S2 y suelo limpio.	123
Gráfica 43. Remoción de TPH en mezcla de S3 y suelo limpio.	124
Gráfica 44. Resumen de remoción de TPH en estudio comparativo de biodegradación.	126

ANEXOS

	Pag.
ANEXO A. FORMATOS DILIGENCIADOS DURANTE LA CARACTERIZACIÓN FÍSICO QUÍMICA.	135
ANEXO A1. FORMATOS DILIGENCIADOS DURANTE LA DETERMINACIÓN DE LA TEXTURA DE LOS SUELOS CONTAMINADOS.	136
ANEXO A2. FORMATOS DILIGENCIADOS DURANTE LA DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD REAL DE LOS SUELOS CONTAMINADOS.	13
ANEXO B. RESULTADOS DE LABORATORIO DE CONTENIDO DE CARBONO, NITROGENO Y FOSFORO EN LOS SUELOS CONTAMINADOS.	142
ANEXO C. RESULTADOS REPORTADOS POR EL LABORATORIO DEL ANÁLISIS DE TPH	
ANEXO D: CARACTERIZACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS AISLADOS DE LOS SUELOS CONTAMINADOS	153

RESUMEN

Se estudiaron tres suelos con eventos de contaminación ocurridos en diferentes tiempos de contaminación con crudo, en inmediaciones de Campo Payoa, el cual pertenece a Petrosantander (Colombia) Inc. Los suelos presentaron infiltración rápida y permeabilidad alta, características de suelos arenosos, sin embargo, la capacidad de retención de humedad y la porosidad de éstos, fueron afectadas por el carácter hidrófobo de los hidrocarburos. La relación carbono-nitrógeno-fósforo, la temperatura y el pH de los suelos contaminados evaluados, presentaron valores óptimos para el desarrollo de procesos de biorremediación. Los mejores resultados de eliminación de los hidrocarburos totales de petróleo (TPH) en los suelos objeto de estudio, se obtuvieron cuando éstos se trataron por separado, mezclados con suelo limpio, sin la adición del pool microbiológico seleccionado y aumentado de los tres suelos contaminados, y sin pre-tratamiento con biosurfactante, el cual estaba conformado por bacterias del género *Serratia*. La mezcla de suelos contaminados compuesta por un 50% del suelo con evento de contaminación más antigua, 25% de suelo con tiempo de contaminación intermedia y 25 % de suelo recién contaminado, presentó un valor máximo de 28,6% de eliminación de TPH, en un proceso con pre-tratamiento de una semana, y tratamiento con el pool microbiano, agregado al inicio y a la mitad de un periodo de 3 semanas, durante el cual se desarrolló la biodegradación. Para el diseño del tratamiento a escala piloto, se planteó la realización del proceso de remediación de suelos contaminados por separado, sin pre-tratamiento, ni la adición del pool microbiano. Considerando que tratando los suelos en mezcla no se transfiere contaminantes a suelo limpio y que en el tratamiento que logró la mayor remoción de TPH se alcanzó el nivel máximo de 3.0% de contenido de hidrocarburos, sugerido por la norma Louisiana 29B, se recomendó éste tratamiento, bajo las condiciones que mejores resultados reportó.

ABSTRACT

Three soils with different petroleum contamination ages were studied in Camp Payoa, PetroSantander (Colombia) Inc. All soils presented fast infiltration and high permeability, characteristics of sandy soils. However, the water retention capacity and the porosity were affected by the hydrophobic character of the hydrocarbons. The carbon-nitrogen-phosphorus relation, the temperature and pH in the contaminated soils evaluated presented optimum values, adequate for bioremediation processes. The best results, in terms of hydrocarbon elimination, were obtained when the soils were treated independently, mixed with clean soil, without both the addition of the selected and enlarged mixed microbial pool, and the pre-treatment with the bio-surfactant, which was composed by bacteria of the gender *Serratia*. The soil mixture composed by 50% of the soil with the oldest contamination event, and an equal 25% proportion of both medium and shortest contamination age soils, showed the highest total hydrocarbons (THC) elimination percentage (28,6%), this soil underwent a one week pre-treatment process, and a mixed microbial pool addition at the beginning and middle of a three week biodegradation treatment period. An independent remediation treatment, without addition of both pre-treatment and microbial pool was conceived for the initial treatment design. However, considering that treating the soils in a mixed way avoids the transfer of contaminants to the clean soil, and that the best treatment, with mixed soils, reached a 3,0 % content of total hydrocarbons, also recommended by the Louisiana 29B regulation. This treatment was recommended combined with the best treatment conditions obtained.

INTRODUCCIÓN

La incesante y creciente demanda de energía a través de la historia ha impulsado la expansión de la industria energética y en especial las de explotación petrolera, ya que hasta el momento el petróleo y sus derivados resulta ser la mayor y más eficiente fuente de energía de uso popular.

En los campos petroleros son varias y diversas las fuentes de contaminación de suelos, dentro de las que se encuentran desde los lodos de perforación hasta los posibles incidentes en el proceso de transporte del crudo, como la ruptura de tuberías. Desde que se empezó a actuar en la recuperación de terrenos contaminados con hidrocarburos y otros residuos tóxicos, muchos han sido los tratamientos físicos y químicos generados para tal fin como la extracción con vapor, lavado, solidificación y estabilización, separación electrocinética, desorción térmica, incineración, extracción con disolventes, oxidación y reducción y deshalogenación química; todas estas metodologías aunque eficientes en términos de retiro de contaminantes de suelos, suponen soluciones temporales o el traslado de la problemática a otros escenarios ambientales. En la búsqueda de técnicas que impliquen una real transformación de los contaminantes en sustancias inocuas, mas recientemente surge la biorremediación, mediante la cual la capacidad de los microorganismos para degradar contaminantes es potencializada y optimizada para la obtención de resultados favorables en menor tiempo del que llevaría un proceso natural no intervenido por el hombre.

Mediante el presente trabajo de investigación se evaluó la conveniencia de la aplicación de un proceso de biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) a tres suelos con diferente tiempo de contaminación por crudo, procedentes de la Batería Payoa, perteneciente a PetroSantander (Colombia) Inc.

Se planteó la mezcla de los tres suelos contaminados con el fin de: mejorar las características físicas los suelos, en virtud de las diferencias en las condiciones físicas entre ellos; enriquecer la microbiota, mediante el aporte que los microorganismos de cada suelo puede hacer al proceso, especialmente los microorganismos presentes en el suelo con evento de contaminación mas antiguo al estar mejor adaptados; y mejorar las condiciones químicas de los suelos en términos neutralización de pH y dilución de la concentración del contaminante en la mezcla con suelos con diferente contenido de TPH, que en casos de concentraciones muy altas, puede resultar inhibitorio para el desarrollo de los microorganismos y por tanto contraproducente para el desarrollo del proceso de biorremediación.

En la práctica frecuentemente se mezclan los suelos contaminados con suelo limpio con los mismos fines que en esta investigación se planteó la mezcla de suelos contaminados, sin embargo la estimulación del proceso con la mezcla de suelos contaminados y no de suelo contaminado con suelo limpio, implicaría la disminución de la transferencia de contaminación a medios no contaminados, así como el tratamiento de mayores volúmenes reales de suelo contaminado, ya que el cien por ciento del suelo implicado en el proceso de biorremediación sería suelo contaminado con necesidad de ser recuperado.

El tratamiento fue evaluado en condiciones de laboratorio, bajo las siguientes variables: la mezcla de los tres contaminados con hidrocarburos; la mezcla de los suelos contaminación con hidrocarburos y la adición de un pool microbiano aislado y biomagnificado de los tres suelos; el tratamiento de cada uno de los suelos contaminados en mezcla con suelo limpio; y el tratamiento de cada uno de los suelos contaminados en mezcla con suelo limpio y con la adición de un pool microbiano aislado y biomagnificado de los tres suelos. Adicionalmente, se incorporo al proceso una variable de realización o no de un pre-tratamiento con biosurfactantes, con el fin de mejorar la biodisponibilidad del contaminante para su descomposición por parte de los microorganismos.

En revisión bibliográfica no se han encontrado antecedentes en el mejoramiento de condiciones físicas, químicas y microbiológicas de procesos de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos a partir de la mezcla de éstos, por lo que la presente investigación resulta un gran aporte en el mejoramiento de técnicas de biorremediación disminuyendo la transferencia de contaminación a suelos no contaminados y aumentando el tratamiento de mayores volúmenes de suelo contaminado en el mismo tiempo que llevaría un proceso normal de biorremediación con la utilización de suelo limpio.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el potencial de biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) en suelos contaminados procedentes de PetroSantander (Colombia) Inc.

1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Realizar la caracterización física y química de suelos contaminados con hidrocarburos, procedentes de locaciones petroleras de PetroSantander (Colombia) Inc.
- Aislar y caracterizar cepas microbiológicas nativas de los suelos contaminados objeto del estudio.
- Realizar estudio comparativo a nivel de laboratorio de la biodegradación de los suelos contaminados con hidrocarburos utilizando microorganismos autóctonos de cada suelo y un “pool” microbiano seleccionado.
- Diseñar a escala piloto el proceso de biodegradación más adecuado, para los suelos objeto del estudio, de acuerdo a los resultados obtenidos en laboratorio.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 GENERALIDADES

Se conoce como suelo al material suelto de la superficie de la tierra, formado por la desintegración física y la descomposición química de las rocas. Su contenido mineral varía de acuerdo a la roca de la cual se originó y puede contener o no, materia orgánica. El suelo es capaz de servir de hábitat a los organismos vivos, para los cuales cumple desde funciones como fuente de nutrientes, hasta medio de soporte.

Las fuentes de contaminación de suelos pueden ser naturales o antrópicas. La contaminación antrópica proviene en su gran mayoría de la actividad industrial en forma de residuos sólidos y líquidos que pueden llegar a producir alteraciones significativas en el equilibrio natural del medio sobre el cual recaen, al exceder la capacidad de amortización y/o autodepuradora del mismo.

2.2 CARACTERÍSTICAS DEL SUELO

El suelo está compuesto principalmente por minerales, aire, agua, materia orgánica y organismos vivos. La fracción mineral constituye el principal componente estructural del suelo con un 50% del volumen total, el agua y aire

constituyen el volumen de poros entre el 25 y 50% en volumen, ya que su proporción varía con la humedad del suelo. La materia orgánica oscila entre el 3 y 6% del volumen, mientras que los organismos vivos ocupan menos del 1 %.

En la fracción mineral, predominan el dióxido de silicio (SiO_2), el aluminio y el hierro, mientras que el calcio, magnesio, potasio, titanio, manganeso, sodio, nitrógeno, fósforo y azufre están presentes en menor cuantía. Por su parte, la fracción orgánica del suelo esta constituida principalmente por residuos de plantas y animales, células microbianas y productos resultantes del metabolismo microbiano, que rara vez supera el 10% en peso de un suelo¹.

El proceso natural de formación del suelo no produce un terreno uniforme y homogéneo a lo largo de su perfil, por lo que es posible diferenciar varios estratos u horizontes, resultado de diversos procesos de meteorización.

En general se reconocen tres horizontes principales: A, B y C. Sobre el horizonte A, se acumulan los materiales húmicos, derivados de restos vegetales y animales (horizonte orgánico O), se divide en una capa A_1 , donde el suelo mineral se mezcla con el humus, la capa A_2 , con una lixiviación máxima de arcillas de silicato, óxidos de hierro y óxidos de aluminio, y una capa A_3 , de transición hacia el horizonte B. El horizonte B es reconocido como la zona iluvial, donde ocurre la máxima acumulación de materiales como óxidos de hierro, óxidos de aluminio y arcillas de silicato. Aún más abajo se encuentra el horizonte C, constituido

¹ EWEIS, Juana B., ERGAS, Sarina J., CHANG, Daniel P. Y. y SCHROEDER, Edward D. Principios de Biorrecuperación: Tratamientos para la descontaminación y regeneración de suelos y aguas subterráneas mediante procesos biológicos y físico-químicos. España: Editorial McGraw Hill/Interamericana de España S. A. U., 1999. p. 28.

principalmente por roca madre no erosionada, ya que se ve poco afectado por los procesos de meteorización y la misma actividad biológica. Finalmente se encuentra la roca madre. El grosor y características de cada horizonte dependen en gran parte de la topografía del sitio, su cubierta vegetal, pH y régimen de lluvias².

2.2.1 Clasificación de los suelos. El suelo puede ser clasificado considerando sus tres componentes principales: arcilla, limo y arena, las cuales difieren entre si principalmente por su tamaño.

El área superficial (área/volumen) de los diferentes tipos de partículas afectan directamente las propiedades físicas, químicas y biológicas de un suelo. Por su naturaleza principalmente coloidal, de carga negativa y forma plana, las arcillas constituyen el tipo de partícula que mayor efecto tienen sobre las propiedades del suelo, ya que son buenos absorbentes de agua, iones y gases. Las arenas no tienen gran actividad superficial, por lo que son asociadas principalmente con el tamaño de los poros del suelo, y por tanto con el movimiento del aire y del agua a través del mismo, sin afectar directamente las propiedades químicas y biológicas del suelo.

Una de las técnicas más utilizada para clasificar el suelo es el Triángulo de Textura (ver figura 1), en el que las proporciones de arena, limo y arcilla definen el grupo al que pertenece dicho suelo, según el tamaño del grano. En general, los suelos con predominio de arenas suelen tener permeabilidad alta y baja capacidad de retención de agua. Por el contrario, los suelos con predominio de limos y

² GRANT, W. D. Y LONG, P.E. Microbiología ambiental. Zaragoza (España): Editorial Acriba S.A. 1989. p. 11.

arcillas suelen ser cohesivos y tener una capacidad de retención de agua alta y una baja permeabilidad, lo que supone una velocidad de infiltración y aireación bajas. Los suelos con predominio de limos pueden presentar formación de costras.

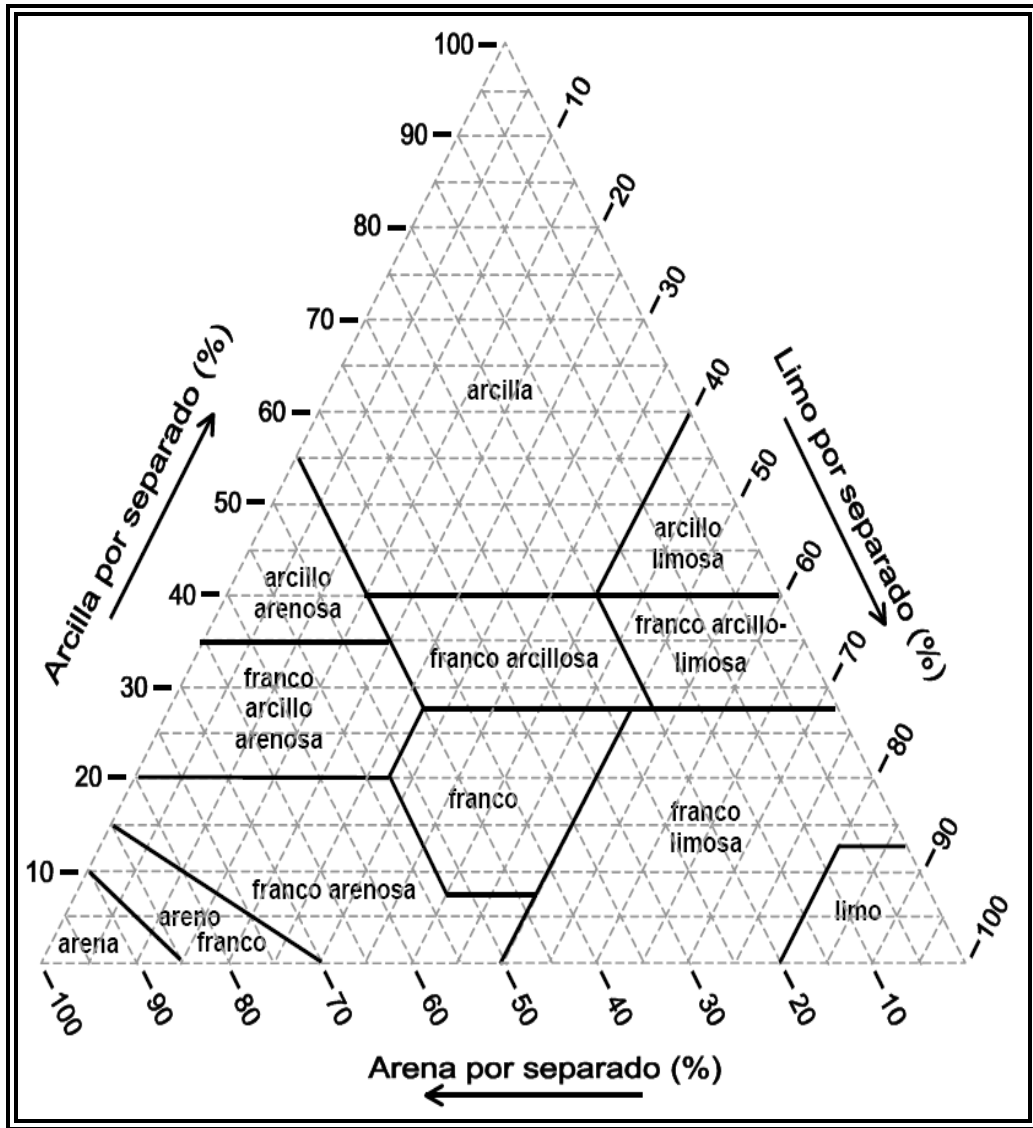
2.2.2 Propiedades físicas. Dentro de los muchos tratamientos que pueden ser aplicados a suelos contaminados, gran parte de su éxito depende de las propiedades físicas de éste, ya que se encuentran estrechamente relacionadas con características como la capacidad de almacenamiento de humedad, aireación, y retención de nutrientes. Las propiedades físicas de mayor relevancia en estos aspectos son la textura, estructura, porosidad, permeabilidad, infiltración, densidad y humedad.

Estructura. La estructura del suelo es considerada como la forma en la que se encuentran organizadas o arregladas sus partículas. Al igual que la textura, la estructura del suelo ejerce influencia directa sobre la retención de humedad y aireación del mismo, ya que de acuerdo a las características de los agregados del suelo, se forman vías de transmisión de agua y aire.

En la formación de la estructura de un suelo se involucran factores bióticos y abióticos como fenómenos de hidratación y secado, durante los cuales el suelo se expande y contrae dando origen a la formación de fisuras. La acción biótica mas representativa en la conformación de la estructura del suelo la ejercen los animales del suelo, los cuales remueven y reacomodan partículas del suelo; plantas, cuyas raíces forman canales de acceso a nutrientes y agua; y

microorganismo, los cuales generan materia orgánica y humos para el suelo con la descomposición de residuos de plantas y animales³.

Figura 1. Triangulo de texturas.



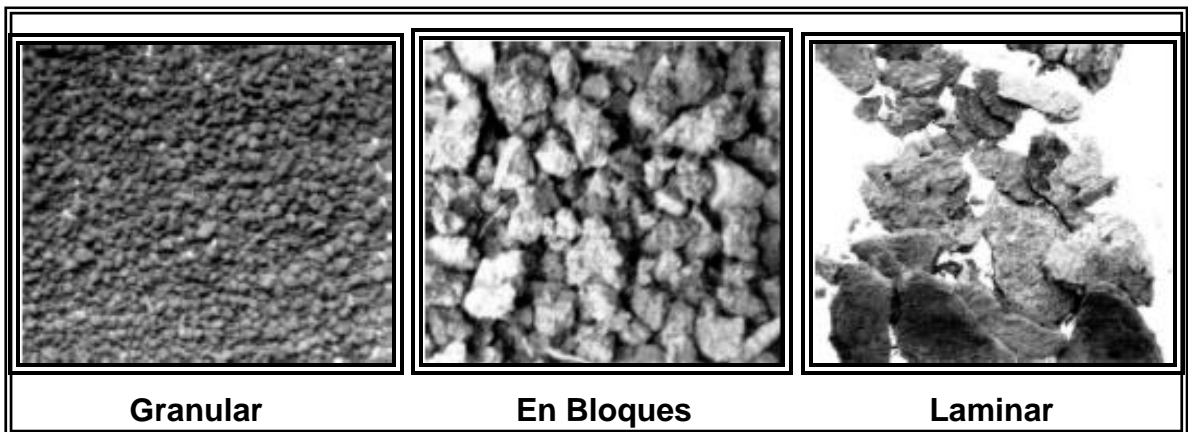
Fuente: Guía para la evaluación de la calidad y salud del suelo, 1999.

³ Guía para la evaluación de la calidad y salud del suelo. Departamento de agricultura de los Estados Unidos de Norteamérica-USDA, 1999. Disponible en Internet: <http://soils.usda.gov/sqi/assessment/files/KitSpanish.pdf>

Una forma de general de clasificar la estructura de un suelo, es mediante la identificación de los tres tipos de estructuras más fácilmente reconocibles: granular, en bloques y laminar. La estructura granular se caracteriza por su conformación en esferas imperfectas, generalmente del tamaño de arena; la estructura en bloques expone cubos imperfectos con bordes angulares o redondeados, mientras que la estructura laminar se muestra con apariencia achatada o comprimida. La figura 2 ilustra las conformaciones estructurales mencionadas.

La determinación de la estructura de un suelo es una práctica subjetiva y cualitativa, por lo que es realmente mediante la comparación de formaciones granulares que se llega a establecer la conformación estructural de un suelo.

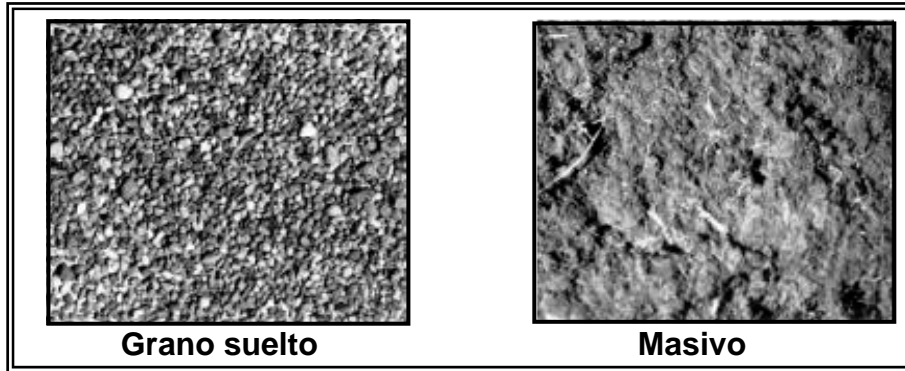
Figura 2. Principales tipos estructurales de suelos.



Fuente: Guía para la evaluación de la calidad y salud del suelo, 1999.

En los casos en que el suelo no muestra agregados definidos sino aspecto muy suelto o cohesivo, se asegura que el suelo carece de estructura (ver figura 3).

Figura 3. Suelos sin estructura.



Fuente: Guía para la evaluación de la calidad y salud del suelo, 1999.

Textura. Es tal vez la característica más permanente del suelo, ya que hace referencia al contenido proporcional de las partículas sólidas que lo conforman, clasificadas por tamaño como arcilla, limo y arena.

La textura de un suelo ejerce gran influencia sobre las demás propiedades del mismo. Por ejemplo, los suelos que presentan mayor capacidad de retención de agua, se caracterizan por su riqueza en arcilla, mientras que aquellos con bajo contenido de humedad presentan predominio de partículas arenosas. En la práctica, los suelos limosos son los que mejores condiciones ofrecen para el desarrollo de tratamientos de biorremediación ya que, aunque retienen menor cantidad de agua que los arcillosos, ésta es más fácilmente aprovechada por parte de los organismos degradadores, ya que las arcillas tienden a ser cohesivas y dejar pocos espacios para acceder al preciado líquido. Las partículas de limo además tienen una mayor tasa de liberación de nutrientes solubles y por tanto disponibles para el crecimiento de plantas y microorganismos que las arenas⁴.

⁴ ATLAS, R. M. y BARTHA, R. Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental. Madrid: Pearson Educación S.A., 2002. p. 361.

En cuanto a la tasa de actividad química y microbiana la proporción de las diferentes partículas de suelo resulta ser determinante, ya que define el área superficial disponible para la ocurrencia de reacciones y como hábitat para el crecimiento de los microorganismos. Como se muestra la tabla 1, los suelos con predominio de arcillas, tendrán una mayor área superficial disponible, que aquellos con predominio de partículas de arena.

Tabla 1. Tamaño y área superficial de las partículas de suelo.

Tipo de partícula	Diámetro, mm	Área, m ² /Kg
Arena		
Gravilla	1.0-2.0	1.1
Arena gruesa	0.5-1.0	2.3
Arena media	0.25-0.5	4.5
Arena fina	0.1-0.25	9.1
Arena muy fina	0.05-0.1	22.7
Limo	0.002-0.05	45.4
Arcilla	<0.002	1.130

Fuente: EWEIS y colaboradores, 1999.

Porosidad, densidad y permeabilidad. Estas tres propiedades se encuentran estrechamente relacionadas entre sí, por lo que resulta difícil hablar de una sin referirse a las otras.

La porosidad se mide como una relación volumétrica de la cantidad de vacíos o poros por unidad de volumen de suelo. La densidad esta dada como una proporción en masa por unidad de volumen de suelo, sobre la cual influye la

misma porosidad en cuanto al aporte que hacen en volumen, los espacios entre las partículas y los agregados que conforman los sistemas de poros del suelo. Los valores más típicos de porosidad son aquellos comprendidos entre 0.20 y 0.95, en un rango entre 0 y 1 de ocupación del espacio poroso por agua⁵.

En cuanto a la permeabilidad, ésta es considerada como la capacidad del suelo para transmitir aire y agua. Los espacios porosos más grandes, dados entre partículas de arena, proporcionan mayores facilidades de movilidad de agua y aire en el suelo y por tanto mayor permeabilidad que aquellos suelos con predominio de limo o arcilla, que otorgan espacios más pequeños y por ende permeabilidad más baja. La permeabilidad es directamente proporcional a la densidad e inversamente proporcional a la porosidad, es decir, un suelo arenoso con respecto a uno limoso o arcilloso, presenta mayor densidad, pero menor cantidad de espacios porosos por unidad de volumen de suelo.

Los contaminantes solubles en el suelo son drenados por el sistema poroso de éste, difuminados entre las regiones con diferentes concentraciones de soluto y/o adsorbidos por los complejos coloidales órgano-minerales. Por su parte, los líquidos densos de fase no acuosa, como el petróleo, tienden a infiltrarse a través del perfil del suelo y dependiendo del tamaño de sus espacios porosos y la presencia de macroporos, pueden alcanzar fácilmente las aguas subterráneas. En la aplicación de procesos de biorremediación, ésta condición se vería reflejada en el mayor o menor drenaje del contaminante y los productos secundarios de su descomposición, a través del suelo hacia el perfil ubicado por debajo de éste, en el caso de un tratamiento in situ, o hacia los sistemas de drenaje en cuanto a tratamientos ex situ.

⁵ POLANCO DE HURTADO, Margarita. Mecánica de suelos. Popayan: Universidad del Cauca, 1998. p. 31.

Contenido de agua o humedad. La humedad, medida como una relación peso a peso de la proporción de agua por unidad de suelo seco, se encuentra estrechamente relacionada con la textura y estructura del suelo. El movimiento rápido de agua y aire entre los espacios porosos de las arenas facilita su drenaje, impidiendo que suelos con predominio de estas partículas puedan retener cantidades significativas de agua, mientras que los suelos limosos o arcillosos pueden retener mayores cantidades de agua, obedeciendo a la baja tasa de drenaje que su sistema poroso le concede. En general, en un suelo húmedo y drenado, los espacios porosos más grandes (macroporos) están ocupados por aire y los más pequeños por agua (microporos o poros capilares)⁶.

El contenido de humedad resulta determinante en el tipo de metabolismo de los microorganismos presentes en el suelo, en zonas de encharcamiento o saturación de agua, se presentan predominantemente condiciones anóxicas en las que se desarrollan microorganismos anaeróbicos cuya actividad metabólica puede provocar pérdidas importantes de elementos esenciales en el suelo, así como la transformación de contaminantes a formas más tóxicas.

El agua es el mayor componente del protoplasma bacteriano y de su disponibilidad depende en gran medida el mantenimiento y crecimiento de los microorganismos. Disueltos en el agua, los nutrientes son movilizados al interior de las células y por éste mismo medio los microorganismos son capaces de expulsar los productos metabolizados. Muchas bacterias aerobias se desarrollan optimadamente en medios con humedad entre el 50 y 75 por ciento de la capacidad de campo del suelo⁷.

⁶ Ibid. p. 33.

⁷ EWEIS, Juana B., ERGAS, Sarina J., CHANG, Daniel P. Y. y SCHROEDER, Edward D. Principios de Biorrecuperación: Tratamientos para la descontaminación y regeneración de suelos y

2.2.3 Propiedades químicas del suelo. Las propiedades químicas del suelo desempeñan un factor esencial para el desarrollo de organismos vivos, en términos de disponibilidad de nutrientes, como carbono orgánico, nitrógeno orgánico e inorgánico y fósforo inorgánico principalmente, así como del pH, humedad y oxigenación del suelo entre otras.

pH. El pH del suelo se encuentra definido como una medida de la concentración de iones H^+ en la solución que se encuentra en los poros del suelo, la cuál se encuentra en equilibrio con las superficies cargadas negativamente de las partículas que lo conforman.

En estudios de calidad de suelos, el pH es considerado el parámetro químico más importante, ya que puede intervenir tanto en la disponibilidad de ciertos nutrientes y por tanto en el desarrollo de organismos vivos en el suelo, como en el comportamiento de los contaminantes iónicos y la disponibilidad de metales pesados, ya que por ejemplo, la mayoría de los metales pesados bivalentes se encuentran en mayor cantidad bajo condiciones ácidas. En general las bacterias no toleran condiciones muy ácidas por lo que para el desarrollo de un sistema de biorremediación el suelo debe mantener un pH entre 6 y 8⁸.

El pH del suelo normalmente se encuentra en el intervalo de 4 a 8.5 aunque a nivel mundial algunos estudios han registrado valores extremos de 2 a 10.5.

aguas subterráneas mediante procesos biológicos y físico-químicos. España: Editorial McGraw Hill/Interamericana de España S. A. U., 1999. p. 95.

⁸ HARRISON, Roy M. El Medio Ambiente: introducción a la química medioambiental y a la contaminación. Zaragoza, España. Editorial ACRIBIA S.A. 2003. p 214.

Usualmente los suelos de regiones húmedas tienden a tener valores de pH entre 5 y 7, mientras que los suelos áridos ostentan valores entre 7 y 9⁹.

2.2.4 Microbiología del suelo. Para el análisis de la microbiota del suelo, es importante tener en cuenta la heterogeneidad de éste como ambiente debido a la existencia de diversos microhábitats y la constante dinámica de los componentes del mismo. A pesar de la abundante información sobre recuentos microbiológicos de suelos, es posible que la población nativa de éstos no esté plenamente definida, quedando aún un número importante de especies de éste ambiente sin identificar.

Al interior del suelo, los microorganismos cumplen las funciones de degradadores principales en algunos procesos, y finales en otros, ya que su actividad se ve en ocasiones antecedida por la acción de plantas y animales pequeños consumidores, con quienes además compiten por agua y nutrientes. Los microorganismos secretan enzimas que transforman la materia orgánica fuera de la célula y absorben los productos finales de la digestión.

En general, la literatura hace referencia a poblaciones microbianas del suelo constituidas principalmente por bacterias, hongos y actinomicetos, aunque se hace también referencia a otras especies en proporciones mínimas, como se muestra en la tabla 2.

Bacterias. Son el tipo de microorganismos mas abundantes en el suelo, exceden en número y diversidad a los otros tipos de microorganismos, siendo las más

⁹ Ibid. p 215.

comunes los bacilos, aunque en realidad el tipo y abundancia de bacterias depende en gran parte de la disponibilidad de nutrientes, naturaleza del sustrato y condiciones ambientales. En el suelo, las bacterias heterótrofas principalmente se encargan de la formación de nitratos, nitritos, oxidación de azufre y hierro, así como la producción de hidrógeno y sus compuestos.

Tabla 2. Estimaciones de biomasa en un suelo forestal.

Grupo	Biomasa en material desecado (Kg/ha)
Bacterias	36,9
Actinomicetos	0,2
Hongos	454,0
Protozoos	1,0
Vermes	12,0
Otros grupos	23,0

Fuente. Adaptado de GRANT W. D.y LONG P.E., 1989.

En su mayoría, las bacterias del suelo son aerobias y requieren la presencia de oxígeno para el desarrollo de sus procesos metabólicos, aunque es posible encontrar también bacterias facultativas en este medio, adaptadas a las condiciones cambiantes.

Según EWEIS y colaboradores, los géneros más comunes de bacterias en suelos son *Pseudomonas*, *Aethrobacter*, *Archromobacter*, *Micrococcus*, *Vibrio*, *Acinetobacter*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium* y *Flavobacterium*¹⁰.

¹⁰ EWEIS, Juana B., ERGAS, Sarina J., CHANG, Daniel P. Y. y SCHROEDER, Edward D. Principios de Biorrecuperación: Tratamientos para la descontaminación y regeneración de suelos y aguas subterráneas mediante procesos biológicos y físico-químicos. España: Editorial McGraw Hill/Interamericana de España S. A. U., 1999. p. 79.

Los suelos en situaciones límites de disponibilidad de agua, temperatura, pH, entre otros, generalmente tienen mayor número de *Bacillus* spp., incluso algunas bacterias pueden desarrollar endosporas (esporas dentro de la célula) como sistema de supervivencia, ya que éstas son muy resistentes al calor y tolerantes a situaciones de desecación, exposición a radiación y/o ácidos y desinfectantes químicos. La presencia de endosporas en las bacterias es temporal, pero en algunas ocasiones pueden durar años¹¹.

Hongos. Los hongos son organismos heterótrofos que varían en forma y estructura desde levaduras hasta mohos o setas. En la tabla 2, anteriormente señalada, se evidencia el predominio de biomasa fúngica en el suelo, aunque en menor variedad que las bacterias. Según GRANT y LONG, los procedimientos de recuento de microorganismos viables, dan una impresión errónea de la importancia relativa de los distintos grupos de microorganismos, e implican en concreto que las bacterias constituyen el grupo más significativo de microflora del suelo. Aseguran los mismos autores, que todos los grupos principales de hongos están representados en los suelos, pero los hongos imperfectos de los géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cephalosporium*, *Cladosporium*, etc. son particularmente aptos para ser aislados, por lo que podría llegar a pensarse que son más abundantes. Las levaduras, aunque son frecuentes en los suelos, se encuentran en cantidades limitadas¹².

Respecto a las bacterias, los hongos tienen la ventaja de poder penetrar e invadir más fácilmente materiales orgánicos y su gran tolerancia a la acidez. A pesar de que su crecimiento se da a velocidades considerablemente bajas y son más

¹¹ Ibid. p. 79.

¹² GRANT, W. D. y LONG, P.E. Microbiología ambiental. Zaragoza (España): Editorial Acriba S.A. 1989. p. 32.

sensibles a las variaciones de humedad, se ha demostrado que son competentes en procesos de biorremediación¹³.

Actinomicetos. Morfológicamente, los actinomicetos se consideran organismos intermedios entre hongos y bacterias, a menudo son llamados hongos de rayos o bacterias filamentosas. Se asemejan a las bacterias en su estructura celular y tamaño transversalmente y a los hongos en que producen una red de filamentos ramificados. Además muchos de ellos se reproducen por esporas, semejantes a células bacterianas. Al igual que los hongos y bacterias en el suelo los actinomicetos cumplen funciones de descomponedores y aunque presentan tasa de crecimiento más baja que las bacterias, su tolerancia a amplios rangos de pH y temperatura, resistencia a la desecación y baja disponibilidad de nutrientes, les permite dominar bajo procesos selectivos naturales, de condiciones adversas¹⁴.

Interacciones entre poblaciones microbianas. Las interacciones entre poblaciones microbianas pueden ser negativas (competencia y amensalismo); positivas (comensalismo, sinergismo y mutualismo); o positivas para una población pero negativas para la otra (parasitismo y depredación). En general, las interacciones negativas limitan el desarrollo de las poblaciones o benefician solo algunos tipos de microorganismos, mientras que las interacciones positivas permiten a los microorganismos un mayor desarrollo mediante la utilización más

¹³ EWEIS, Juana B., ERGAS, Sarina J., CHANG, Daniel P. Y. y SCHROEDER, Edward D. Principios de Biorrecuperación: Tratamientos para la descontaminación y regeneración de suelos y aguas subterráneas mediante procesos biológicos y físico-químicos. España: Editorial McGraw Hill/Interamericana de España S. A. U., 1999. p. 80.

¹⁴ ATLAS, R. M. y BARTHA, R. Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental. Madrid: Pearson Educación S.A., 2002. p. 64.

eficiente de los recursos disponibles e incluso establecerse en algunos hábitats que, de otro modo, no sería posible.

Diversos estudios han comprobado los beneficios de aplicar a los tratamientos de biorremediación consorcios microbianos y no cultivos puros, puesto que las asociaciones de microorganismos pueden ser capaces de llevar a cabo más fácil y eficientemente procesos de degradación, de lo que sería posible con la utilización de cepas puras. En la biodegradación de diversos compuestos se hace necesaria la interacción de varios grupos de microorganismos para mineralizarlo completamente ya que dentro de las asociaciones de microorganismos las diversas especies pueden encontrarse involucradas en las diferentes etapas del ciclo de degradación de un compuesto. En un medio natural, los microorganismos compiten entre si por el sustrato y las especies mejor adaptadas a las condiciones del medio pueden llegar a predominar. Sin embargo cambios en las condiciones del micro-hábitat daría como resultado el afloramiento y predominio de otra especie. Una interacción negativa entre especies microbianas de un consorcio se ve en el hecho de que algunas sustancias producto de la descomposición hecha por una especie puede resultar tóxica para otras o inhibitoria de su actividad metabólica¹⁵.

Actualmente en el mercado es posible adquirir productos microbiológicos especializados en la degradación de determinados contaminantes. Estos productos, aunque pueden ser una solución práctica, no siempre resultan eficientes, debido al proceso de adaptación que deben afrontar los

¹⁵ EWEIS, Juana B., ERGAS, Sarina J., CHANG, Daniel P. Y. y SCHROEDER, Edward D. Principios de Biorrecuperación: Tratamientos para la descontaminación y regeneración de suelos y aguas subterráneas mediante procesos biológicos y físico-químicos. España: Editorial McGraw Hill/Interamericana de España S. A. U., 1999. p. 82.

microorganismos a las condiciones del medio y a las interacciones negativas con poblaciones autóctonas.

Determinación del número de microorganismos y biomasa microbiana. La literatura referencia dos tipos de métodos de conteo de microorganismos, los de observación directa (o recuento directo) y los indirectos (o recuento de viables). Los primeros generalmente usan colorantes específicos para facilitar la observación al microscopio de microorganismos, mientras que los métodos de recuento de viables utilizan medios de cultivo y técnicas de incubación, de acuerdo al tipo de microorganismo que se espera se desarrolle en las placas, ya que no todos los métodos resultan ser apropiados para todos los microorganismos.

La determinación de la biomasa es utilizada para establecer la producción de una población o la transferencia de energía entre los niveles tróficos, expresada en unidades de peso (gramos) o unidades de energía (calorías). Las técnicas más utilizadas para medirla en cultivos puros, son las directas como la filtración, determinación del peso seco y centrifugación entre otras.

Otro método utilizado en la estimación de la presencia y crecimiento de microorganismos en un medio es la medición del metabolismo microbiano, para lo cual se ha desarrollado desde técnicas tan complejas como aquellas que usan el carbono 14 (^{14}C) como trazador a través de la cadena trófica, hasta procedimientos más simples que miden la tasa de consumo de oxígeno o producción de CO_2 .

Aunque estas técnicas resultan eficientes en cultivos bajo condiciones de laboratorio, no ocurre igual con las muestras ambientales para las cuales los resultados podrían ser en el mejor de los casos próximos a la realidad, pero no del

todo confiables. El conteo de microorganismos puede resultar muy dispendioso, dada la gran complejidad de las comunidades presentes, por lo que las técnicas deben ser escogidas muy cuidadosamente priorizando el conteo de algunas especies. En cuanto a la determinación de biomasa microbiana, este tipo de mediciones casi nunca son aplicables en medios naturales, ya que conjuntamente con los microorganismos, también pueden ser medidos casi inevitablemente, partículas minerales y detríticas y biomasa no microbiana, dificultando la diferenciación entre niveles tróficos, es decir, productores y consumidores, haciendo que los datos obtenidos sean imprecisos. Para el caso de la medición del metabolismo microbiano, la simple manipulación de la muestra puede alterar las condiciones microambientales determinantes en la tasa de actividad.

Para el caso del suelo en particular, como ya se había mencionado antes se debe tener en cuenta la heterogeneidad de éste como ambiente y las constantes alteraciones que por ésta causa se pueden presentar en los resultados de la estimación de poblaciones microbianas y su actividad.

2.3 CONTAMINACIÓN DE SUELOS EN EXPLOTACIONES PETROLERAS

Investigaciones realizadas por el Instituto Americano de Petróleo (API) señalan entre las principales fuentes de contaminación en explotaciones petroleras, los lodos de perforación de tipo inversa y recortes, derrames de tuberías corroídas y tiraderos de desechos aceitosos semisólidos, los cuales afectan directa o indirectamente el agua, aire y suelo ya que entre éstos tres medios existe una correlación que implica la afectación de todos, una vez ha sido contaminado uno de ellos. En el caso de eventos de contaminación de suelos con crudo, una vez éste llega al suelo, sus compuestos pueden ser arrastrados a aguas superficiales

y subterráneas por escorrentía, o transportados al aire por volatilización, en el caso de los hidrocarburos más livianos.

2.3.1 Transporte de contaminantes en el suelo. En el suelo, como se mencionó antes, la transferencia o movilización de sustancias inocuas o contaminantes se encuentra ligada tanto con la porosidad como con la naturaleza misma de dicha sustancia. Los contaminantes son drenados a través del sistema poroso del suelo y dependiendo de su solubilidad pueden tener mayor o menor penetración en éste.

Cuando los contaminantes son depositados en la superficie del suelo reaccionan con coloides de las capas externas o son arrastrados por aguas lluvias o de riego a través del perfil, influenciados por constantes procesos de adsorción y desorción. La tabla 3 señala los principales procesos que influyen en el transporte de sustancias en el suelo.

En el suelo los contaminantes solubles se infiltran fácilmente a través del sistema poroso, mientras que los insolubles e hidrófobos, como el petróleo, pueden unirse a la superficie de las partículas de la capa superior del suelo o moverse rápidamente hacia zonas más profundas a través de los poros y fisuras de éste. En el caso de los hidrocarburos a pesar de ser sustancias hidrófobas de naturaleza no iónica y no polar, algunos alcanzan zonas profundas del perfil del suelo e incluso aguas subterráneas al ser arrastradas adheridas a las partículas de suelo, mas no solubilizadas en el agua ya que en este tipo de sustancias la adsorción y desorción es inversamente proporcional a su solubilidad. Una vez los productos petrolíferos alcanzan el nivel freático, flotan sobre la lámina de agua y adoptan su flujo, con lo que es posible que emerjan nuevamente a aguas

superficiales con su composición original o transformados sustancias mas inócuas e incluso toxicas¹⁶.

Tabla 3. Procesos naturales que influyen en el destino de sustancias en el suelo.

PROCESO	TIPO DE SUSTANCIA QUÍMICA	CONSECUENCIA
Sorción	Orgánica	Frenado
Precipitación	Inorgánica	Frenado
Intercambio de iones	Inorgánica	Frenado
Filtración	Orgánicas/Inorgánicas	Frenado
Oxidación y reducción química	Orgánicas/Inorgánicas	Transformación/Frenado
Absorción biológica	Orgánicas/Inorgánicas	Frenado
Biodegradación	Orgánica	Transformación
Hidrólisis	Orgánica	Transformación
Volatilización	Orgánica	Eliminación o transpaso intermedio
Dilución	Orgánica/Inorgánica	Activación de la movilidad
Cosolvación	Orgánica	Activación de la movilidad
Ionización	Orgánica	Activación de la movilidad
Complejización	Inorgánica	Activación de la movilidad
Fase unmiscible	Orgánica	Varias divisiones

Fuente: LAGREGA y colaboradores, 1996.

2.3.2 Efectos adversos de la contaminación de suelos con hidrocarburos.

En el suelo, los hidrocarburos impiden el intercambio gaseoso con atmósfera, iniciando una serie de procesos físico-químicos simultáneos, como evaporación y penetración, que dependiendo del tipo de hidrocarburo, temperatura, humedad, textura del suelo y cantidad vertida pueden ser procesos más o menos lentos, lo que ocasiona una mayor toxicidad.

Los hidrocarburos son capaces de disolver los tejidos vegetales, ocasionando daños importantes en las membranas celulares que resultan en reducción de la

¹⁶ LAGREGA, Michael D., BUCKINGHAM, Phillip L., EVANS, Heffrey C. Gestión de residuos tóxicos: tratamiento, eliminación y recuperación de suelos. Madrid, McGraw-Hill, 1996, p. 197

transpiración y aumento de la respiración. La presencia de hidrocarburos en el suelo puede inhibir el crecimiento de las plantas mediante un fenómeno de sofocación atribuida al desplazamiento del aire de los poros del suelo o el aumento de la actividad microbiana, que hace que las reservas de oxígeno alrededor de las raíces de las plantas sea insuficiente. Otro factor importante, resulta ser la capacidad de algunas especies vegetales de metabolizar y acumular hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), los cuales al ser degradados se transforman en compuestos aún más tóxicos, carcinógenos y mutagénicos, que fácilmente ingresan a la cadena trófica por medio de animales herbívoros¹⁷.

En los vertebrados, los vapores de los hidrocarburos más volátiles pueden ser inhalados ocasionando la irritación del epitelio respiratorio, así como inflamación, congestión y hemorragia pulmonar, dependiendo del grado de exposición y concentración de los vapores. De ser absorbidos hacia el torrente sanguíneo, los compuestos volátiles pueden llegar incluso a producir lesiones a nivel hepático, renal y del sistema nervioso central. La ingestión de derivados del petróleo produce en primera instancia irritación y posteriormente destrucción de los epitelios del esófago, estómago e intestinos degenerando en mala digestión y absorción de nutrientes, siendo las consecuencias más graves la aparición de gastroenteritis y gastroenteritis hemorrágica. La impregnación total de la piel de los animales con crudo, puede ocasionar en ellos fenómenos de alteraciones en su regulación térmica al imposibilitar el intercambio térmico corporal con el ambiente, ocasionando hipotermia, al no poder retener su calor corporal o hipertermia al no poder eliminarlo. El simple contacto con los ojos puede originar desde irritaciones y conjuntivitis hasta úlceras corneales. Vale la pena mencionar que, a parte de los diferentes hidrocarburos, el petróleo contiene otros componentes como sulfuro y

¹⁷ PELLINI, Leandro. Biorremediación estimulada por efluentes cloacales tratados de suelos contaminados con hidrocarburos. Escuela superior de Salud y Ambiente, Universidad Nacional de Comahue, 2006. Disponible en Internet: <http://www.tesis.bioetica.org/lp.htm>

diversos metales pesados que de una manera u otra, afectan negativamente a los animales.

Como se mencionó antes, en el suelo los compuestos derivados del petróleo pueden ser transferidos al agua y aire de donde son fácilmente incorporados a plantas y animales, incluyendo al hombre. Los hidrocarburos afectan la salud humana a diferentes niveles dependiendo de las vías de ingreso a éste, las cuales pueden ser directas, por inhalación y/o contacto directo, o indirectas a través de la cadena trófica. Mediante la inhalación o contacto directo, los efectos de los hidrocarburos en los seres humanos tienen las mismas consecuencias antes expuestas para los animales, además de alteraciones temporales o permanentes del sistema nervioso central por la exposición prolongada a compuestos volátiles. El carácter bioacumulable de algunos hidrocarburos y sustancias asociadas como metales pesados, puede aumentar su toxicidad a través de la cadena alimenticia llegando a ocasionar intoxicaciones en los seres humanos e incluso degenerar en desarrollo de cáncer¹⁸.

2.4 BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS

El suelo es un medio abierto que se transforma y renueva constantemente, hasta alcanzar el equilibrio con las condiciones ambientales, por lo que puede considerarse como un sistema depurador ya que es mediante su capacidad de degradar o inmovilizar los contaminantes, que logra mantenerse relativamente estable bajo condiciones naturales, mediante mecanismos de neutralización, degradación biótica o abiótica, adsorción, complejización e insolubilización de sustancias. Pero la capacidad depuradora del suelo no es ilimitada, cuando es

¹⁸ Ibid. Disponible en Internet: <http://www.tesis.bioetica.org/lp.htm>

superado su potencial natural de degradación, el proceso puede verse inhibido y desarrollarse a una velocidad muy baja llevando incluso, como se menciona antes, a la transferencia del contaminante a otros medios incluyendo la cadena trófica¹⁹.

2.4.1 Biodegradabilidad de hidrocarburos. En general los hidrocarburos comprenden una gama de compuestos que van desde los altamente biodegradables, hasta los difícilmente biodegradables, dadas sus variaciones en la longitud de cadena, ramificaciones, presencia de anillos, combinaciones con otras moléculas, estado físico y toxicidad, entre otras, siendo mas fácilmente biodegradables aquellos de estructuras moleculares mas simples.

Dado que el petróleo es una mezcla compleja, su degradación está favorecida por una variada población de microorganismos con amplia capacidad enzimática. La degradación inicial de éstos frecuentemente requiere la acción de enzimas oxigenasas y esto depende de la presencia de oxígeno molecular. Por consiguiente, las condiciones aerobias son necesarias para romper inicialmente los hidrocarburos²⁰.

Aunque los alcanos lineales son los hidrocarburos de petróleo más biodegradables, altas concentraciones de éstos, especialmente aquellos con número de carbono entre C₅ y C₁₀, pueden inhibir la degradación de otros hidrocarburos, ya que actúan como solventes, rompiendo la membrana lipídica de

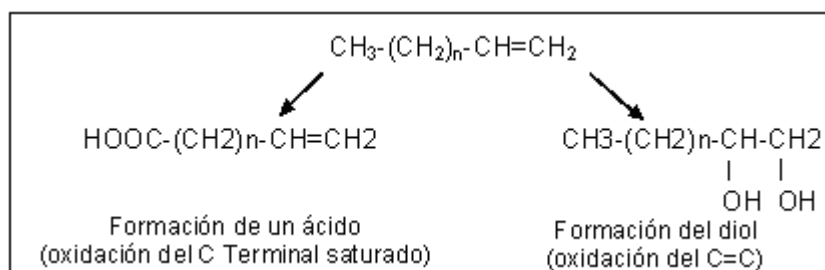
¹⁹ GRANT, W. D. Y LONG, P.E. Microbiología ambiental. Zaragoza (España): Editorial Acriba S.A. 1989. p. 21.

²⁰ EWEIS, Juana B., ERGAS, Sarina J., CHANG, Daniel P. Y. y SCHROEDER, Edward D. Principios de Biorrecuperación: Tratamientos para la descontaminación y regeneración de suelos y aguas subterráneas mediante procesos biológicos y físico-químicos. España: Editorial McGraw Hill/Interamericana de España S. A. U., 1999. p. 133.

los microorganismos. Por otra parte, la baja solubilidad de alcanos con número de carbono entre C_{20} y C_{40} , los cuales son sólidos hidrófobos, puede dificultar su degradación.

La biodegradación de alquenos (poco comunes en el crudo) es menos común que la de alcanos, debido a la presencia de dobles enlaces insaturados internos, siendo más fácilmente degradados los 1-alquenos, cuyo enlace insaturado se encuentra en el primer carbono. La degradación de éstos compuestos bien puede darse por la oxidación del carbono final saturado, dando lugar a la formación de un ácido; o por la oxidación del enlace doble insaturado, para formar un diol, como se muestra en la figura 4.

Figura 4. Degradación de 1-alquenos.



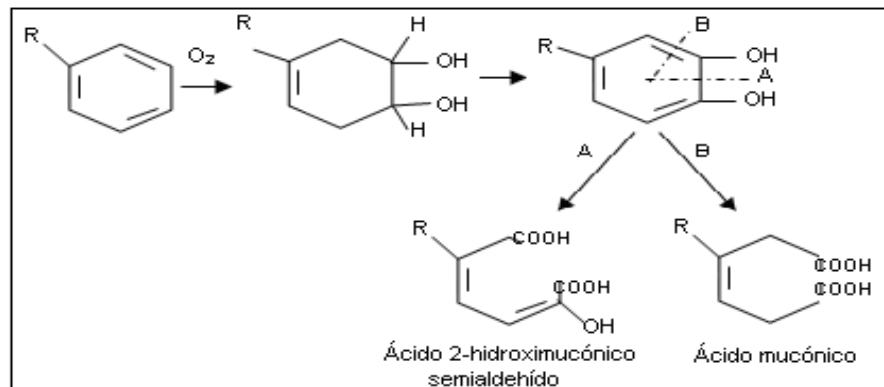
Fuente: EWEIS y colaboradores, 1999.

Los cicloalcanos son menos biodegradables que sus isómeros lineales, pero más que los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HPA). En ambos casos la complejidad de la degradación aumenta con el número de anillos presentes en la estructura y la presencia de grupos alquil, metilo y etilo como sustitutos, siendo los alcanos que presentan el primer grupo los más fácilmente degradables, incluso por encima de los no sustituidos.

La biodegradación de las moléculas aromáticas implica primero la activación del anillo y segundo la rotura del mismo. La activación involucra la deshidroxilación del núcleo aromático o incorporación de oxígeno molecular dentro del anillo, para lo que se requiere la acción de monoxigenas (enzimas características de los hongos y otros eucariotas) como catalizadores en la incorporación de un átomo de oxígeno para formar el grupo epóxido que posteriormente es deshidratado dando lugar a el transdihidrodiol. Las dioxigenasas, características de las bacterias, catalizan la incorporación de dos átomos de oxígeno simultáneamente para formar un dihidrodiol. Como se muestra en la figura 5, los dihidrodiolos son oxidados a derivados hidroxilados tales como catecol, precursores finalmente del rompimiento de los enlaces de carbono del anillo en posiciones orto o meta para formar ácido mucónico o ácido 6-formil-2-hidroxi-2,4-hexadienoico (2-hidroximucónico semialdehído). Éstos compuestos se degradan a ácidos asimilables por los microorganismos para síntesis celular y de energía

Los hidrocarburos policíclicos aromáticos se degradan y transforman a otros compuestos de menor peso molecular, más volátiles, mediante un proceso que implica el rompimiento de un anillo a la vez por mecanismos similares a los de los cicloalcanos, en el que estudios han atribuido la intervención de hongos.

Figura 5. Metabolismo de moléculas aromáticas.



Fuente: EWEIS y colaboradores, 1999.

2.4.2 Técnicas aplicadas en la biorremediación de suelos. Aunque el proceso de biodegradación se produce naturalmente, la aplicación de una técnica de biorrecuperación induce y/o acelera la reparación del suelo afectado mediante el uso de organismos como plantas, pequeños animales y microorganismos como hongos y bacterias naturales o modificadas genéticamente

El proceso de Biorremediación puede ser realizado *in situ*, que para suelos se refiere a la no extracción del suelo del sitio de contaminación ó *ex situ* en lugares dispuestos y adecuados para llevar cabo el proceso. Mas recientemente se ha incorporado el termino *on site*, para referirse a procesos en los que el suelo contaminado es removido, pero tratado en un sistema ubicado al lado del sitio de contaminación.

Dentro de los métodos desarrollados para realizarse *ex situ*, existen los denominados Tratamientos Vía Suspendida, en reactores donde se tratan los suelos en solución acuosa y Tratamientos por Vía Sólida, que se definen como tratamientos en condiciones no saturadas, como el Tratamiento en Lechos y el Compostaje.

El tratamiento en lechos o *Landfarming*, puede describirse como la adaptación del sistema de laboreo utilizado por los agricultores en el tratamiento residuos orgánicos, al tratamiento de residuos peligrosos. El procedimiento es uno de los métodos más sencillos de biorrecuperación, en el que el medio contaminado se esparce en capas finas y se laborea, con el fin de acelerar el proceso natural de degradación.

A comienzos de siglo, en plena revolución industrial, las refinerías de petróleo optaron por verter el fango generado en sus procesos en las tierras próximas en donde se observó la disminución progresiva del volumen de éste, hecho que generó interés e investigaciones, que finalmente llevaron a la optimización del fenómeno mediante el diseño de un proceso, que permitiera tratar desechos vertidos al suelo en estado líquido, sólido o en forma de fango. Dentro de las mejoras incluidas al proceso se encuentra el control de la aireación, contenido de nutrientes, humedad y pH con lo cual se estimula la actividad microbiana y por tanto disminuyen los tiempos de tratamiento y mejoran resultados obtenidos del mismo²¹.

Una unidad de tratamiento en lechos de secado, debe ser adaptada principalmente con:

- Una capa impermeable, para prevenir la infiltración de líquido contaminado en suelo no contaminado y de éste a aguas subterráneas.
- Una red de drenaje, para recoger lixiviados generados por el riego o por la aplicación del residuo.
- Una zona de tratamiento del suelo, ya que en ocasiones es necesario efectuar un pre-tratamiento del suelo, con el fin de eliminar grandes rocas y otros residuos grandes contaminados que puedan interferir con el procedimiento.

²¹ EWEIS, Juana B., ERGAS, Sarina J., CHANG, Daniel P. Y. y SCHROEDER, Edward D. Principios de Biorrecuperación: Tratamientos para la descontaminación y regeneración de suelos y aguas subterráneas mediante procesos biológicos y físico-químicos. España: Editorial McGraw Hill/Interamericana de España S. A. U., 1999. p. 79.

- Terraplenes y desmontes, para impedir la contaminación cruzada entre el medio sometido a tratamiento y los suelos aledaños, ante eventos de lluvia que pueden generar escorrentías impregnadas de material contaminado.
- Una balsa de almacenamiento, para la recolección de lixiviados generados durante el tratamiento por eventos de lluvia o por el mismo proceso de degradación; y un adecuado sistema de control de emisiones al aire y de la contaminación subterránea, exigido por algunas entidades reguladoras²².

Previo al Tratamiento en Lechos, generalmente se realizan ensayos a nivel de laboratorio para determinar que condiciones serían óptimas para la biodegradación, definir correcciones necesarias y como mantenerlas en campo. Comúnmente se realizan pruebas para determinar la relación carbono-nitrogeno-fósforo (C:N:P) con el fin de establecer la necesidad de enmiendas como materia orgánica o agentes esponjantes, aunque no hay claridad aun en los beneficios de esta práctica. Diferentes estudios recomiendan una relación C:N:P entre 100:10:1 y 300:10:1. Adicionalmente se mide el pH, con el propósito de evaluar la necesidad de ajustarlo para mantener la actividad microbiana.

La actividad microbiana en un proceso de biorremediación se valúa mediante estudios de biodegradabilidad para determinar si la población original de microorganismos es capaz de degradar los contaminantes, especialmente si éstos son relativamente persistentes. Es probable que los microorganismos presentes en suelos con eventos de contaminación mas antiguos se encuentren mejor adaptados para degradar los contaminantes que la microbiota de suelos recientemente afectados, por lo que podría esperarse que un tratamiento conjunto

²² Ibid. p. 189-192.

de suelos con diferentes edades de contaminación, obtenga mejores resultados en el mismo o menor tiempo que un tratamiento por separado.

En algunos casos, los niveles de concentración del contaminante pueden resultar inhibitorios para el proceso, por lo que se ha adoptado la mezcla del suelo contaminado con suelo limpio, para diluir el residuo.

La realización de pruebas físicas como humedad, permeabilidad e infiltración, textura y porosidad, permiten determinar la necesidad de aplicar enmiendas con material suelto o materia orgánica, que lleven dichas características a las condiciones óptimas para una mayor eficiencia al sistema.

Parte del éxito de el proceso de biorremediación mediante lechos de secado, esta en la realización de volteos periódicos, mediante los cuales se mejora la aireación del suelo, se incrementa el contacto entre microorganismos, nutrientes y contaminantes y se logra una redistribución de éstos últimos. La bibliografía sugiere hacer volteos cada semana o una vez cada dos semanas, preferiblemente 24 horas después del riego o una lluvia fuerte.

Durante el tratamiento es importante mantener la humedad óptima y planificar el riego de acuerdo a ésta. El contenido óptimo de humedad se mide con relación a la capacidad de campo del suelo a tratar, la cual puede ser tan baja como un 5 % del suelo arenoso, comparado con el 30 % del suelo arcilloso. A menos que se hagan pruebas en laboratorio, el contenido óptimo de humedad para la degradación aerobia puede ajustarse a un rango de un 60 a un 80 por 100 de la capacidad de campo.

En ocasiones es necesaria la neutralización del pH, mediante la adición de compuestos que contengan calcio o calcio/magnesio para aumentar el pH, o compuestos con contenido de azufre para disminuirlo.

2.5 LEGISLACIÓN

En cuanto a la contaminación de suelos y niveles permisibles de contaminantes en éste, en Colombia no se cuenta actualmente con legislación pertinente, por lo que se hace referencia a disposiciones nacionales de protección del medio ambiente y recuperación de medios afectados por contaminación y a normas internacionales en ciertos casos.

En materia de protección del medio ambiente, la legislación colombiana se encuentra concentrada en torno al Código Nacional de Recursos Naturales Renovables y de Protección al Medio – CRN, Decreto 2811 de 1974, del cual, en materia de suelos se puede hacer referencia a disposiciones generales de preservación del medio ambiente y restauración de daños ocasionados por su explotación y/o utilización.

En el artículo 65 del CRN, expresamente, “se prohíbe descargar sin autorización los residuos, basuras y desperdicios, y en general, de desechos que deterioren los suelos o, causen daños o molestias a individuos o núcleos humanos”.

En el mismo decreto además se establece:

Art. 178: Los suelos del territorio nacional deberán usarse de acuerdo con sus condiciones y factores constitutivos.

Art. 179: El aprovechamiento de los suelos deberá efectuarse en forma de mantener su integridad física y su capacidad productora. En la utilización de los suelos se aplicarán normas técnicas de manejo para evitar su pérdida o degradación, lograr su recuperación y asegurar su conservación.

Art. 180: ...Las personas que realicen actividades agrícolas, pecuarias, forestales o de infraestructura, que afecten o puedan afectar los suelos, están obligadas a llevar a cabo las prácticas de conservación y recuperación que se determinen de acuerdo con las características regionales.

Art. 183: Los proyectos de adecuación o restauración de suelos deberán fundamentarse en estudios técnicos de los cuales se induzca que no hay deterioro para los ecosistemas. Dichos proyectos requerirán aprobación.

Ante la ausencia de legislación pertinente a los niveles máximos permisibles de TPH en suelos, muchos estudios al respecto toman como valor objetivo el recomendado por el Instituto Americano de Petróleo-API, de un 1% P/P (10.000 ppm.), el cual está basado principalmente en la toxicidad para las plantas y la movilidad de los hidrocarburos hacia aguas subterráneas. Muchos estudios realizados a nivel nacional toman como referencia la norma Louisiana 29B, en la

cual se establecen como valores máximos permitidos de contenido de TPHs un 3 por ciento.

2.6 PROBLEMÁTICA EN PETROSANTANDER (COLOMBIA) Inc.

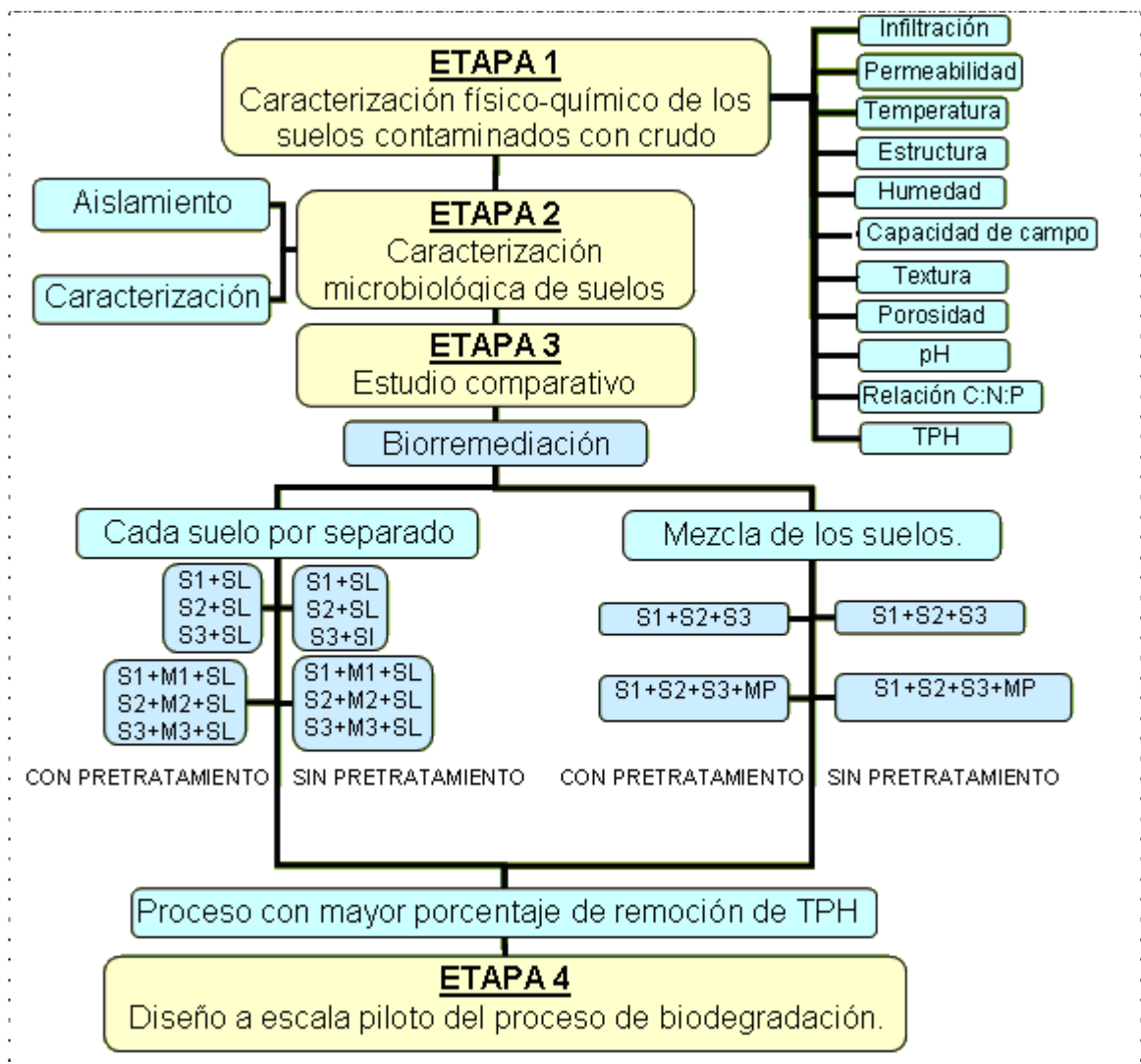
PetroSantander (Colombia) Inc. Es una empresa que opera desde 1995 en territorio colombiano en la explotación de gas y petróleo, los cuales son entregados o vendidos a la empresa colombiana de petróleos – ECOPETROL. En Colombia se encuentra legalmente domiciliada en Bogotá, siendo una subsidiaria de PetroSantander, cuya sede se encuentra en Houston, Estados Unidos. Actualmente la empresa participa en la explotación de los yacimientos de petróleo y gas ubicados en la Asociación Carare-Las monas.

El desarrollo de la presente investigación se centra en algunas áreas contaminadas por derrames de crudo durante explotación petrolera en Campo Payoa, ubicado en la vereda Payoa del municipio de Sabana de Torres, Santander. En la actualidad el Departamento Civil y Ambiental encargado de la Batería Payoa trata los suelos contaminados mediante un proceso de lanfarming, en un sitio acondicionado e impermeabilizado para tal fin, en el que los suelos contaminados son mezclados con suelo limpio con el propósito de estimular la degradación natural de los hidrocarburos. El desarrollo de la presente investigación tiene como propósito para la empresa el mejoramiento del proceso de Lanfarming en cuanto al tiempo de tratamiento, resultados obtenidos y volumen “real” de los suelos tratados, mediante la bioaumentación de microorganismos autóctonos de las áreas contaminadas.

3. MARCO EXPERIMENTAL

El presente estudio se desarrolló en 4 etapas principales. La figura 6, ilustra de forma general la metodología llevada a cabo durante la investigación.

Figura 6. Metodología



S1,S2,S3, suelos con diferentes eventos de contaminación.
 M1,M2,M3, microorganismos correspondientes a respectivos suelos.
 MP, pool microbiológico.
 Fuente: el autor.

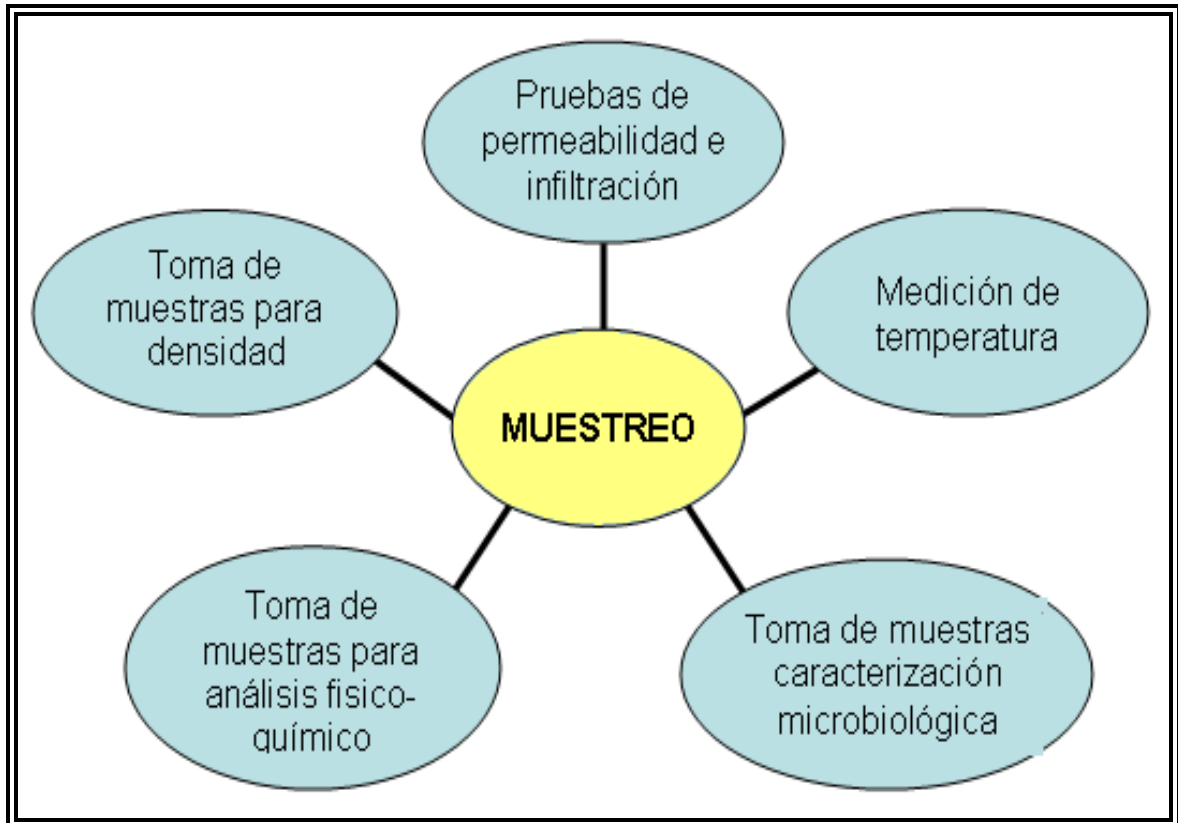
Inicialmente se seleccionaron tres suelos con diferentes tiempos de contaminación en locaciones de la Batería Payoa, ubicada en la vereda Payoa del municipio de Sabana de Torres, Santander, la cual pertenece a PetroSantander (Colombia) Inc. Durante la investigación los suelos tratados fueron denominados como: suelo uno (S1), con evento de contaminación más antiguo, suelo dos (S2) con evento de contaminación más reciente y suelo tres (S3) con el evento de contaminación más reciente de los tres suelos. El pool microbiano aislado de S1, S2 y S3 se denominó como M1, M2 y M3 respectivamente. El pool microbiológico resultado de la mezcla de los aislamientos de los tres suelos se denominó MP.

3.1 ETAPA 1. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE SUELOS CONTAMINADOS CON CRUDO.

Durante esta etapa se determinaron algunas propiedades físicas y químicas de los suelos seleccionados, las cuales tienen incidencia en el desarrollo del proceso de biorremediación. Las pruebas físicas incluyeron la determinación de parámetros como: infiltración, permeabilidad, temperatura, estructura, humedad, capacidad de campo, textura y porosidad. A nivel de parámetros químicos se determinó el pH y la relación carbono-nitrógeno-fósforo (C:N:P) para verificar las condiciones del suelo y establecer la necesidad de realizarle mejoras. Adicionalmente se determinó el contenido de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) para establecer condiciones iniciales de contaminación.

3.1.1 Muestreo y pruebas en campo. Con el fin de obtener las muestras necesarias de los suelos contaminados para su caracterización físico-química, se aplicó la metodología de muestreo descrita en la figura 7.

Figura 7. Metodología de muestreo inicial de suelos contaminados.



Fuente: El autor.

Inicialmente, se extrajeron 2 m³ de cada uno de los suelos contaminados y se dispusieron en un sitio designado por la empresa en locaciones de la Batería Payoa, para realizar las pruebas pertinentes, antes del tratamiento de biorremediación propiamente dicho. En el lugar se situó cada suelo en compartimientos separados, con dimensiones de 2.7m de ancho, 3.5 m de largo y 0.2 m de profundidad, los cuales habían sido impermeabilizados con plástico. Como se muestra en la figura 8, dentro de los compartimientos se delimitaron uniformemente 4 sub-áreas, sobre las cuales se realizó posteriormente las pruebas en campo y de las cuales se extrajeron las muestras necesarias.

Figura 8. Demarcación de puntos de muestreo



Fuente: El autor.

La extracción de muestras para la determinación de la **densidad aparente** se realizó clavando en cada uno de los 4 puntos previamente establecidos, tubos de PVC de 3 pulgadas de diámetro y 15 cm. de alto, biselados en un extremo. De esta manera se obtuvieron 4 muestras de cada suelo, con las cuales se estableció un promedio de la densidad aparente correspondiente. Con el fin de evitar pérdidas significativas de suelo y humedad durante el transporte al laboratorio, los tubos con muestra de suelo en su interior, fueron conservados sellando sus extremos, como lo muestran las figuras 9 y 10.

En el sitio se tomó además muestra compuesta de cada suelo, para la realización de pruebas fisicoquímicas y aislamiento de microorganismos en laboratorio (ver figura 11). De cada uno de los 4 puntos pre-establecidos para cada suelo, se

extrajeron muestras, las cuales fueron homogeneizadas mediante volteo en un recipiente plástico. Las muestras para pruebas físico químicas fueron empacadas en bolsas sellables debidamente etiquetadas mientras que las muestras para aislamiento de microorganismos fueron transportadas refrigeradas en frascos de vidrio estériles.

Figuras 9 y 10. Toma de muestras para la determinación de densidad aparente y conservación de las mismas.



Fuente: El autor.

Figura 11. Toma de muestras para análisis físico-químico.



Fuente: El autor.

Durante el muestreo además se llevaron a cabo pruebas de **permeabilidad e infiltración**. Con el fin de obtener un promedio de la permeabilidad e infiltración de los suelos, en los 4 puntos establecidos anteriormente para cada compartimiento, se clavo un tubo de PVC de 6 pulgadas de diámetro y 6 pulgadas de profundidad, hasta la mitad de su altura, de manera que quedara enterrado en el suelo 3 pulgadas de tubo y las otras 3 quedaran libres, sobre el nivel del suelo. Posteriormente, la capa de suelo al interior del tubo se cubrió con plástico sobre el cual se vertieron 444 mililitros de agua destilada, equivalentes al volumen de una lamina de agua de 1 pulgada. A continuación se removió el plástico, dando paso al agua hacia el suelo al interior del tubo y a partir de ese momento se cronometró el tiempo que tardó el agua en infiltrarse en el suelo, tomando como referencia el momento en que la capa de suelo al interior del tubo tomara un aspecto brillante (ver figura 12).

Figura 12. Pruebas de permeabilidad e infiltración.



Fuente: el autor.

Los resultados obtenidos se compararon con los estándares establecidos para la interpretación de la infiltración (ver tabla 4).

Tabla 4. Clasificación de los resultados de infiltración.

VELOCIDAD DE INFILTRACIÓN (cm/hr)	VELOCIDAD DE INFILTRACIÓN (mm/hr)	PERMEABILIDAD	CALSE DE INFILTRACIÓN
<1	<1	Muy lenta	Ar
0.1-0.5	1-5	Lenta	Ar,ArL
0.5-2	5-20	Moderadamente lenta	FAr, FArL
2-6.3	20-63	Moderada	FArA
6.3-12.7	63-127	Moderadamente rápida	FA
12.7-25.4	127-254	Rápida	AF
>25.4	>254	Muy rápida	AF,A

Fuente: CASTRO FRANCO, Hugo Eduardo, 1998.

La temperatura al interior del suelo fue medida introduciendo un termómetro a una profundidad de aproximadamente 5 centímetros, en cada uno de los 4 puntos preestablecidos en cada suelo, con el fin de obtener un valor promedio.

La determinación de **la estructura** de cada suelo se realizó mediante observación y comparación de cada uno con las características de los tipos de estructuras normalmente establecidos y descritos en la literatura.

3.1.2 Caracterización físico-química. Para completar la caracterización físico-química de cada suelo contaminado, a las muestras obtenidas anteriormente, se les realizaron pruebas en laboratorio para la determinación de la capacidad de

campo, humedad, textura, porosidad, pH, relación carbono-nitrógeno-fósforo (C:N:P) y TPH.

La humedad se determino secando una pequeña muestra de cada suelo, a 105°C durante 24 horas. La muestra fue pesada antes y después del secado. Durante el enfriamiento de las muestras después del secado, estas se mantuvieron en desecador. El cálculo del porcentaje de humedad gravimétrica natural se efectuó mediante la ecuación:

$$\%HG = \frac{P_{MH} - P_{MS}}{P_{MH}}$$

Donde:

- %HG: porcentaje de humedad gravimétrica
- P_{MH} : peso de la muestra húmeda (gr).
- P_{MS} : peso de la muestra seca (gr).

La figura 13 ilustra el proceso de determinación de la humedad gravimétrica.

Figura 13. Determinación de la humedad gravimétrica.



Fuente: el autor

Los resultados obtenidos fueron analizados de acuerdo a lo establecido en la tabla de interpretación de almacenamiento de agua en el suelo (ver tabla 5).

Tabla 5. Interpretación de almacenamiento de agua en el suelo.

AGUA ALMACENADA EN EL SUELO (mm H₂O/cm de suelo)	INTERPRETACIÓN	TEXTURA PREDOMINANTE DEL SUELO.
>2.0	Muy alta	Finas (Ar, ArA, ArL)
1.5-2.0	Alta	Moderadamente finas (FAr, FArL, FArA)
1.0-1.5	Media	Medias (F, FL, L)
0.5-1.0	Baja	Moderadamente gruesas (FA)
<0.5	Muy baja	Gruesas (A, AF)

Fuente: CASTRO FRANCO, Hugo Eduardo. Citado en: Manual de laboratorio de análisis de suelos, 2006.

La capacidad de campo se determinó en laboratorio, para lo cual se dispusieron 500 gramos de cada suelo en un recipiente con drenaje (materia). Posteriormente se agregó agua hasta inundar cada recipiente (1 litro en promedio) y se dejó drenar por 24 horas. Luego se determinó su porcentaje de humedad gravimétrica, usando el procedimiento antes descrito (ver figura 14).

La textura de los suelos se determinó por el método de Bouyoucos o del densímetro y por granulometría. Para la prueba por densímetro, a 50 gramos de suelo se le agregaron 100 mililitros de agua y 10 mililitros de agente dispersante (solución de hexametáfosfato de sodio y carbonato de sodio anhidro). La mezcla se agitó durante 10 minutos con varilla agitadora en un vaso de precipitado y posteriormente se trasvasó a una probeta graduada de 1000 mililitros.

Figura 14. Prueba de capacidad de campo.



Fuente: el autor.

Se completo el volumen de la probeta con agua corriente, teniendo el hidrómetro adentro de ella. Antes de hacer la lectura del hidrómetro se agito la solución dentro de la probeta, tapando la boca de ésta y poniéndola hacia abajo unas 3 veces. Inmediatamente se midió la temperatura de la solución de suelo y se realizó lectura del hidrómetro, introduciéndolo en la probeta. Se dejó sin disturbar la solución de suelo en la probeta durante dos horas y se realizó una nueva lectura del hidrómetro sumergido en ella y medición de la temperatura. Los porcentajes de arena, limo y arcilla se calcularon usando las siguientes ecuaciones:

$$\% \text{ Arena} = \frac{\text{primera lectura (gr/Lt)} * 100}{\text{peso de la muestra (gr)}}$$

$$\% \text{ Arcilla} = \frac{\text{segunda lectura (gr/Lt)} * 100}{\text{peso de la muestra (gr)}}$$

$$\% \text{ Limo} = 100 - (\% \text{ Arena} + \% \text{ Arcilla})$$

Durante la prueba de granulometría, inicialmente se sometió cada suelo a un lavado, pasando el agua de lavado por un tamiz número 200 con el fin de eliminar del suelo solo material fino o arcilloso y evitar la pérdida de partículas de mayor tamaño (ver figura 15). Debido a la presencia de hidrocarburos en los suelos, el lavado se realizó con solvente (Varsol) y detergente, para remover el crudo de las partículas de suelo y evitar la formación de masas que pudieran alterar los resultados. Cada muestra de suelo lavada y secada previamente durante 24 horas a 105° C, fue pasada por tamices número 4, 10, 20, 40, 60, 100 y 200. Luego se peso el material retenido en cada tamiz y se elaboró la curva de textura (ver figura 16). En el anexo A1 se encuentran consignados los formatos diligenciados durante estas pruebas, para cada suelo.

Figura 15. Lavado de suelos contaminados, para granulometría.



Fuente: el autor.

Figura 16. Tamizado de suelos.



Fuente: el autor.

La determinación de la porosidad de cada suelo, fue el resultado del análisis previo de la densidad real y aparente de éstos. Para la determinación de la **densidad aparente**, se pesaron las muestras extraídas en campo con los tubos de PVC y posteriormente fueron sometidas a desecación en un horno a 105° C durante 24 horas, luego de las cuales se volvieron a pesar los tubos con muestra de suelo en su interior (ver figura 17). El valor de la densidad aparente se calculó mediante la ecuación:

$$Da = \frac{\text{Peso muestra seca (gr.)}}{\text{Volumen del cilindro (cm}^3\text{)}}$$

Donde:

Da: Densidad aparente (gr./cm³)

Los formatos diligenciados durante estas pruebas se encuentran consignados en el anexo A2.

Figura 17. Determinación de la densidad aparente.



Fuente: el autor

La determinación de la **densidad real**, se realizó aplicando la metodología de INVIAS E-128, para agregados finos.

Primero se calibró un matrás, teniendo en cuenta su peso con agua a diferentes temperaturas. Con estos datos se elaboró la curva de calibración, de la cual se obtuvo el peso del matrás con agua a la temperatura aplicada en la prueba. Posteriormente se pasó la muestra de suelo por el tamiz número 10 y se agregaron al matrás 100 gramos de este suelo que pasó por el tamiz, con un poco

de agua. La mezcla fue desaireada por unos 10 minutos aproximadamente, con una bomba de vacío (ver figura 18). Por último se aforó el matríz y se seco la muestra a 105° C, durante 24 horas en una capsula de desecación, previamente pesada. Para el cálculo de la densidad real, se aplico la ecuación señalada a continuación:

$$D_r = \frac{W_s * K}{W_s + W_{MW} - W_{MWS}}$$

Donde:

- **D_r**: Densidad real (gr/cm³)
- **W_s** : peso de la muestra seca (gr).
- **M_{MW}** : peso del matríz con agua, a la temperatura de la prueba, obtenido de la curva de calibración (gr).
- **W_{MWS}** : peso del matraz con la solución agua-suelo (gr).
- **K**: factor de corrección basado en el peso especifico del agua a la temperatura de la prueba (gr/cm³).

Finalmente, se calculó la porosidad de cada suelo mediante la ecuación:

$$\%Pt = \left[1 - \frac{D_a}{D_r} \right] * 100$$

Donde:

- **%Pt**: porcentaje de porosidad total
- **D_a**: densidad aparente total (gr/cm³).
- **D_r**: densidad real (gr/cm³).

Figura 18. Determinación de la densidad real.



Fuente: el autor.

Los resultados obtenidos se compararon con los estándares establecidos para la interpretación de porosidad y densidad real (ver tabla 6).

Tabla 6. Interpretación de resultados de porosidad total y densidad aparente.

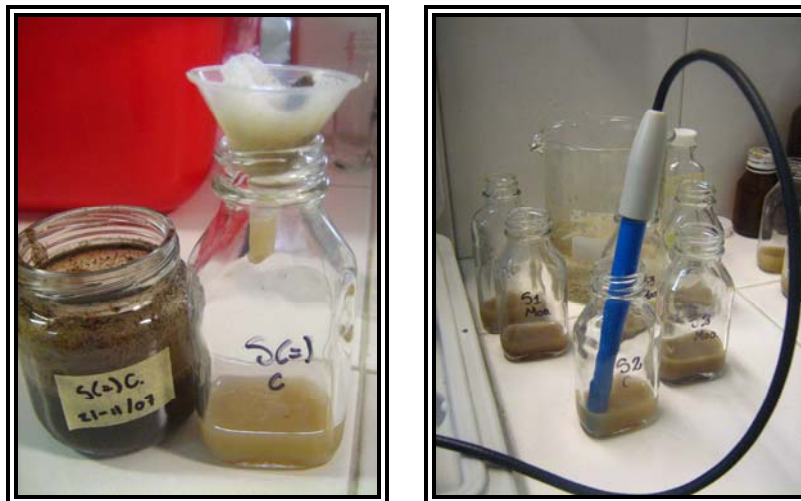
DENSIDAD APARENTE (gr/cm³)	POROSIDAD TOTAL (%)	CARACTERÍSTICAS
< 1.0	> 63	Suelos disgregables con alta materia orgánica.
1.0-1.2	55-62	
1.3-1.4	47-54	
1.5-1.6	40-46	Suelos compactos con baja materia orgánica
1.6-1.8	32-39	
>1.8	<31	

Fuente: CASTRO FRANCO, Hugo Eduardo. Citado en: Manual de laboratorio de análisis de suelos, 2006.

El pH, se determinó mediante el método de dilución 1:1 de suelo-agua, para lo cual se pesaron 30 gramos de suelo y se diluyeron en 30 mililitros de agua destilada, agitando durante 5 minutos con varilla agitadora. La mezcla se dejó reposar durante 1 hora, luego de la cual se midió el pH del sobrenadante con pHmetro. Para evitar lecturas erróneas por el alto contenido de material suspendido, se filtró el sobrenadante (ver figura 19).

La relación carbono-nitrógeno-fósforo (C:N:P), se determinó a partir de análisis químicos realizados en los laboratorios de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural de Santander con sede en la Universidad Industrial de Santander, donde se aplicó el método colorimétrico para la determinación de carbono orgánico; y el laboratorio de Análisis Químico de Aguas Residuales de la Universidad Pontificia Bolivariana, acreditado por el IDEAM, donde se aplicó el método 4500Ntotal para la determinación de nitrógeno y 4500-P-E, para la determinación de fósforo (ver anexo B).

Figura 19. Medición del pH



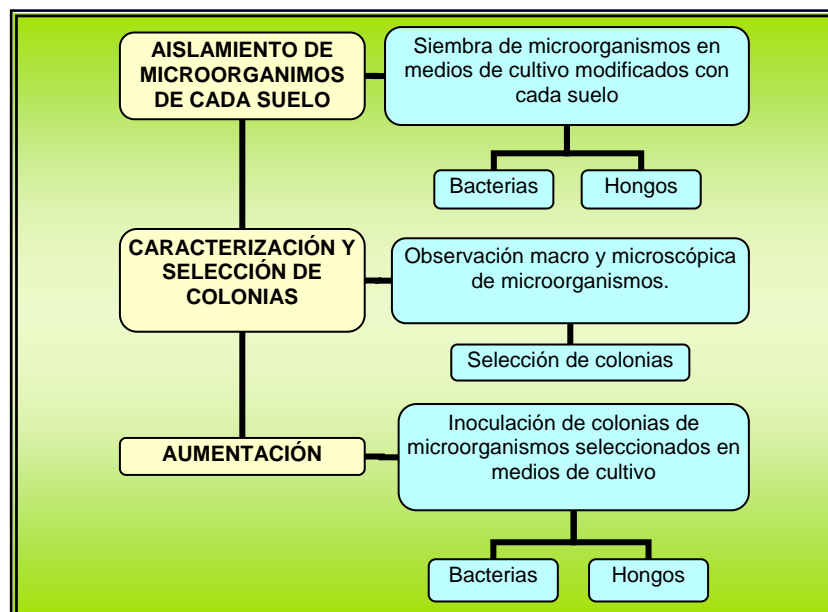
Fuente: el autor.

La determinación de contenido de TPH fue contratada con el laboratorio PSL Proanálisis LTDA., el cual se encuentra acreditado y aceptado por diferentes autoridades ambientales. El método aplicado fue el método S.M. 5520.E establecido en la Norma Louisiana 29B. Los reportes expedidos por el laboratorio se encuentran consignado en el anexo C.

3.2 ETAPA 2. CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE CEPAS NATIVAS.

En esta etapa se realizó el aislamiento y caracterización de cepas nativas de los suelos contaminados, en el Centro de Investigación en Biotecnología, Bioética y Ambiente, perteneciente a la Universidad Autónoma de Bucaramanga UNAB. La figura 20 muestra el procedimiento general llevado a cabo para el desarrollo de ésta etapa.

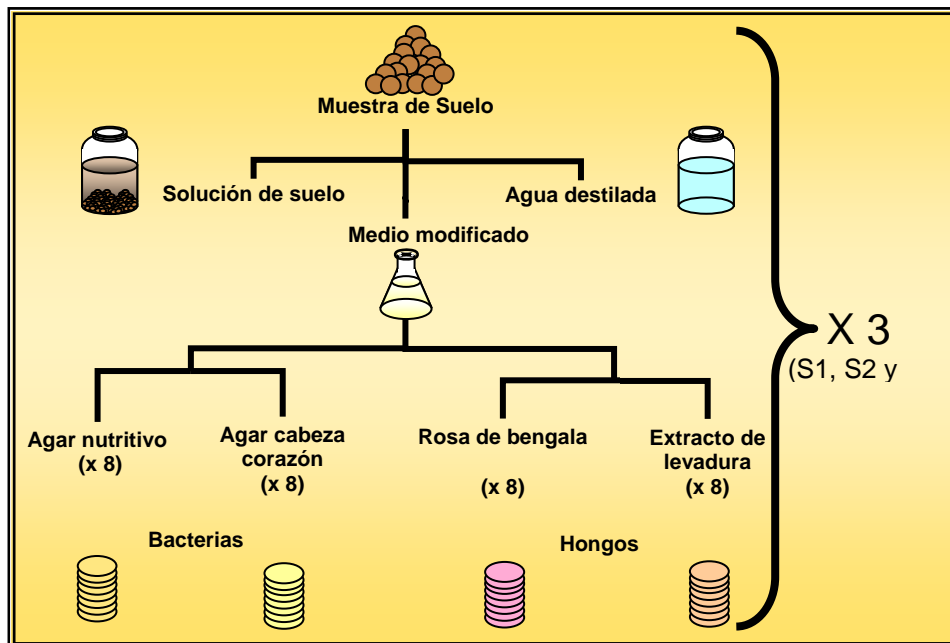
Figura 20. Caracterización microbiológica de cepas nativas



Fuente: el autor.

3.2.1 Aislamiento de microorganismos nativos. Para lograr el aislamiento de los microorganismos nativos de cada suelo (S1, S2 y S3) fueron preparados medios de cultivo modificados usando como base Agar nutritivo y Agar Cerebro Corazón para bacterias y Rosa de Bengala y Agar Extracto de Levadura utilizado para hongos; además a éste último le fue adicionado antibiótico. Para la preparación de los medios se diluyeron 100 gr. de cada suelo por separado en 1 litro de agua destilada y se dejaron a 34.5°C durante una hora para solubilizar las sustancias presentes en el suelo. Posteriormente, se filtraron dos veces para obtener sobrenadante. Los medios de cultivo se prepararon en solución compuesta por un 60% del sobrenadante y 40% agua destilada. Los medios preparados fueron esterilizados en autoclave y finalmente se sirvieron 8 cajas de cada medio y cada suelo, para un total de 96 medios servidos (ver figura 21).

Figura 21. Preparación de medios de cultivo modificados.

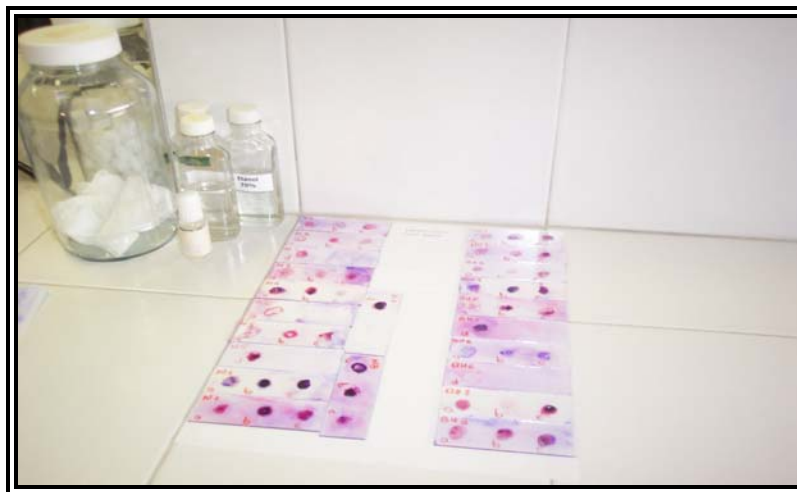


Fuente: el autor.

Una vez preparados los agares se inocularon con los microorganismos de cada suelo, obtenidos de la siguiente manera: se dispusieron 25 gramos de cada una de las muestras de suelo, previamente homogeneizadas en un recipiente de vidrio estéril y se le agregaron 100mL de solución salina estéril. Posteriormente, se dejaron en incubación a 34.5 °C por 24 horas. Finalmente se extrajo 1 ml de sobrenadante para sembrar por método de agotamiento.

3.2.2 Caracterización y selección de colonias. Luego de un periodo de crecimiento de 4 días para bacterias y de una semana para hongos, se elaboraron láminas para observación al microscopio. A las láminas de bacterias se aplicó tinción de Gram mientras que para las láminas de hongos se usó azul de metileno como medio de contraste y fueron recubiertas con laminillas (figura 22). Cabe aclarar que ante la gran cantidad de medios inoculados usados, luego del periodo de crecimiento, éstos fueron mantenidos refrigerados mientras se elaboraban las respectivas láminas. De ésta manera fueron conservados hasta el final del proceso de caracterización, selección de cepas y aumentación.

Figura 22. Láminas para observación microscópica



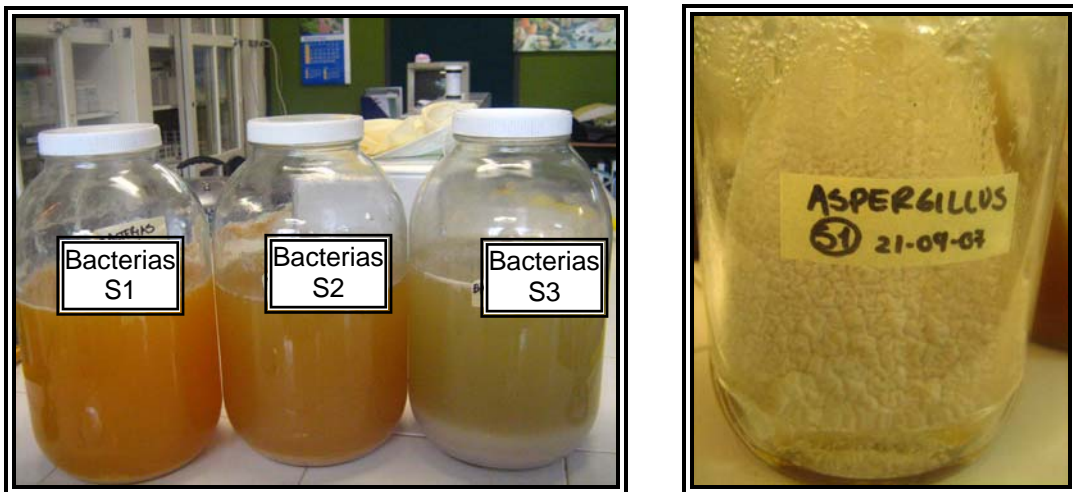
Fuente: El autor.

La caracterización de los microorganismos se realizó con base a la observación macro y microscópica, la cual comparada con la descripción encontrada en la literatura permitió la identificación de los géneros.

Una vez identificados los géneros de microorganismos se tuvo en cuenta su frecuencia de identificación en las placas preparadas, con lo que se determinó su porcentaje en cada suelo. En el anexo D se consignó la caracterización de los microorganismos y el cálculo del porcentaje respectivo.

De esta caracterización básica fueron seleccionadas las cepas, las cuales se utilizaron en la biomagnificación por separado y aplicadas posteriormente en los ensayos de biorremediación (ver figura 23). La biomagnificación se llevó a cabo en medio de cultivo Müller Milton (líquido) para bacterias y en medio Extracto de Levadura (sólido) para hongos, preparados según el procedimiento estándar. Posteriormente, los hongos fueron trasladados a medio líquido preparado en laboratorio (ver anexo D), para facilitar su inoculación en el suelo.

Figura 23. Aumentación de bacterias y hongos.



Fuente: el autor.

3.3 ETAPA 3 – ESTUDIO COMPARATIVO DE BIODEGRADACIÓN.

Para la realización del estudio comparativo de biodegradación se realizaron los siguientes ensayos a escala laboratorio:

- Mezcla de los suelos con diferentes tiempos de contaminación con hidrocarburos (S1, S2 y S3).
- Mezcla de los suelos con diferentes tiempos de contaminación con hidrocarburos (S1, S2 y S3) y la adición de un pool microbiano aislado y biomagnificado de los tres suelos.
- Control de biorremediación de cada uno de los suelos contaminados mezclados con suelo limpio.
- Control de biorremediación de cada uno de los suelos contaminados mezclados con suelo limpio y con la adición de pool microbiológico aislado y magnificado del mismo suelo.

Para todos los ensayos se establecieron periodos de volteo de 2 veces por semana. Antes de cada volteo se regaba el suelo en tratamiento con agua o solución agua-caldo bacteriano. El caldo bacteriano se aplicó al inicio y en el intermedio del tiempo durante el que se desarrollaron las pruebas (3 semanas).

Previo a la realización de los ensayos de biodegradación, se llevaron a cabo pruebas de capacidad de campo y pérdida diaria de humedad, para las mezclas

de suelo utilizadas. La capacidad de campo se realizó de la forma descrita en la caracterización físico-química (numeral 3.2.2).

La pérdida diaria de humedad se estimó haciendo durante una semana el seguimiento de la humedad de los suelos cada 24 horas. De los datos obtenidos se estableció una curva de pérdida de humedad para la mezcla de suelos usada en cada ensayo. Mediante la curva fue posible calcular el porcentaje de humedad de los suelos en cualquier día. Con el fin de determinar los volúmenes de riego necesarios para mantener las condiciones óptimas de humedad recomendadas por la literatura (50 a 80% de la capacidad de campo), se estableció una curva que relacionaba el volumen de agua por kilogramo de suelo, con el porcentaje de humedad gravimétrica.

Para el inicio de los ensayos, el suelo se llevó al 80% de su capacidad de campo y con la curva de pérdida de humedad, se estimaba la humedad en el suelo en el día que debía ser regado. Posteriormente, la humedad del suelo se relacionaba en la gráfica de contenido de agua por kilogramo de suelo y de allí se obtenía el estimativo del volumen de agua presente en el suelo. El volumen de agua que debía ser agregado al suelo resultaba de la diferencia entre el contenido de agua al 80% de la capacidad de campo, y el contenido de agua de acuerdo a la humedad gravimétrica del suelo en el día de riego. En el anexo E se encuentran consignados los datos obtenidos y los cálculos hechos durante la estimación de volúmenes de riego de cada suelo.

El montaje de los ensayos de biodegradación se realizó en recipientes plásticos cuadrados con capacidad de 12000 cm³, los cuales fueron adecuados con orificios en su base como sistema de drenaje de líquidos. El volumen total de cada mezcla

fue de aproximadamente 6000 cm³, en las proporciones pertinentes para cada ensayo (ver figura 24).

3.3.1 Ensayo de la biodegradación de una mezcla en diferentes proporciones de los suelos contaminados con hidrocarburos (S1, S2 y S3), y la adición de un pool microbiano aislado y biomagnificado de los tres suelos. Se consideró necesario establecer la mezcla mas apropiada para llevar a cabo las pruebas de biodegradación con adición de microorganismos autóctonos, aislados y biomagnificados de los tres suelos. La adición del caldo microbiano en todas las pruebas se hizo en una proporción de 100 ml por cada 7 kilogramos de suelo. Por tal motivo se realizaron preensayos en los cuales se tuvo en cuenta diferentes proporciones de cada suelo. Ver tabla 7.

Figura 24. Montaje de ensayos.



Fuente: el autor.

Tabla 7. Proporciones de suelos en la mezcla aplicados en preensayos.

ENSAYO	PROPORCIÓN DE SUELO (%)		
	SUELO 1	SUELO 2	SUELO 3
1	50	25	25
2	25	50	25
3	25	25	50
4	33.3	33.3	33.3

Fuente: el autor.

Para verificar el porcentaje de biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) se realizó determinación de éstos al inicio y al final de los ensayos, los cuales tuvieron una duración de tres semanas.

3.3.2 Ensayo de la biodegradación de la mejor mezcla de los suelos con contaminados con hidrocarburos (S1, S2 y S3), con la aplicación o no de un pre-tratamiento y microorganismos. Una vez establecida la proporción de suelos que favorecía la biodegradación de los hidrocarburos en la mezcla, se procedió a realizar ensayos bajo diferentes condiciones: sin la adición del pool microbiano, con pretratamiento pero sin pool microbiano y con pre-tratamiento y pool microbiano.

3.3.3 Ensayo de la biodegradación de cada uno de los suelos contaminados mezclados con suelo limpio. Aplicando igual proporción de suelo contaminado y suelo limpio se analizó por separado la biodegradación de TPH, por medio de ensayos realizados en el mismo laboratorio y aplicando el mismo método señalado anteriormente. Adicionalmente se contempló la realización de un pre-tratamiento

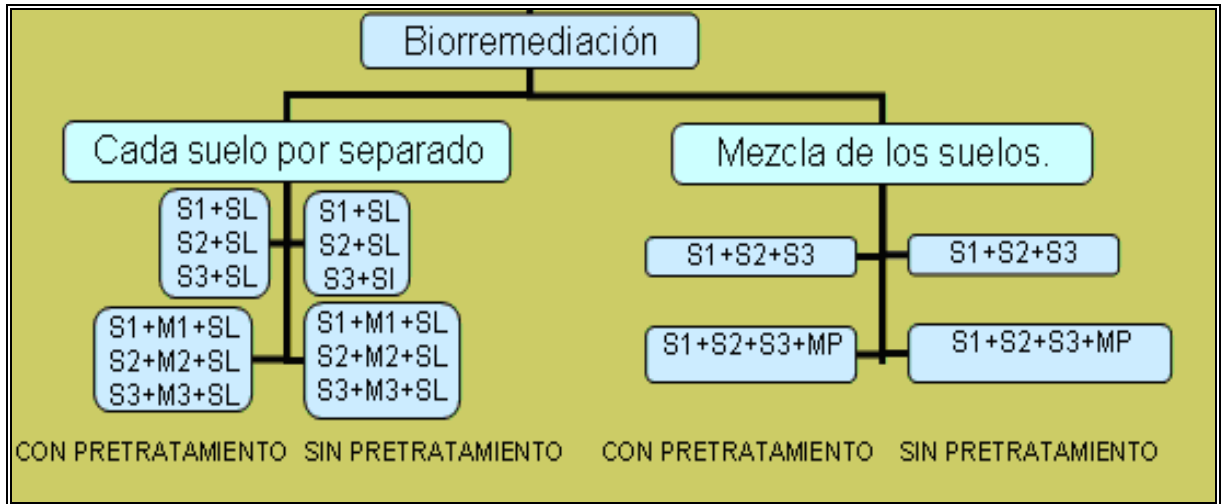
con biosurfactante, constituido por un caldo microbiano conformado por bacterias del género *Serratia*.

3.3.4 Ensayo de la biodegradación de cada uno de los suelos contaminados mezclados con suelo limpio, con la aplicación o no de un pre-tratamiento y microorganismos. Aplicando igual proporción de suelo contaminado y suelo limpio se analizó por separado la biodegradación de TPH, por medio de ensayos realizados aplicando el mismo método señalado anteriormente. A estos procesos se adicionó además el pool microbiano resultado de la biomagnificación de las cepas autóctonas de los tres suelos. Igualmente se consideró la realización de un pre-tratamiento con biosurfactante. La figura 25 ilustra en resumen los ensayos de biodegradación realizados durante ésta etapa.

3.4 ETAPA 4- DISEÑO A ESCALA PILOTO.

De acuerdo a los resultados obtenidos en laboratorio, se diseñó un proceso de biorremediación a escala piloto, teniendo en cuenta las proporciones de los suelos contaminados en la mezcla, la realización o no de pretratamiento, así como la adición o no del pool microbiano aislado y bioaumentado de los suelos contaminados..

Figura 25. Ensayos de biodegradación.



S1,S2,S3, suelos con diferentes eventos de contaminación.
M1,M2,M3, microorganismos correspondientes a respectivos suelos.
MP, pool microbiológico.
Fuente: el autor.

4. RESULTADOS Y ANÁLISIS

4.1 GENERALIDADES.

Los tres suelos objeto de ésta investigación fueron obtenidos en locaciones de Campo Payoa, ubicado en la vereda Payoa del municipio de Sabana de Torres, Santander, la cual perteneciente a PetroSantander (Colombia) Inc. La zona se encuentra entre los 100 y 300 msnm y presenta una precipitación media anual de 3089.2 mm/año y temperatura máxima promedio de 27.8° C en el año. La figura 26 muestra una fotografía aérea de Campo Payoa.

Figura 26. Campo Payoa.



Fuente: Departamento civil y ambiental, PetroSanatander (Colombia) Inc.

La tabla 8 muestra datos generales de los suelos contaminados estudiados, fecha de ocurrencia de derrame de crudo y características del mismo.

Tabla 8. Datos generales de suelos contaminados.

Suelo	Procedencia	Fecha derrame
S1	Locación La Salina B17	junio 30 de 2006
S2	Locación Payoa 10	3 de Abril de 2007.
S3	Locación Salinas 48	Manadero*

*Afloramiento superficial de crudo

Para el desarrollo de la investigación el suelo 3 resultó de gran interés debido a que es una emanación espontánea reciente, en la que posiblemente los microorganismos del suelo no tengan la adaptación necesaria para la degradación de los hidrocarburos, contrario a lo que ocurre con los microorganismos en los suelos con eventos de contaminación más antigua (S1).

4.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE SUELOS CONTAMINADOS CON CRUDO.

4.2.1 Permeabilidad e infiltración. Como se muestra en la tabla 9, el suelo 1 y el suelo 2 presentan una velocidad de infiltración mayor a 25 cm/hr (ver tabla 4, numeral 3.1.1), que los clasifica como suelos muy permeables, la cual es una característica típica de suelos franco arenosos o arenosos (FA, A). Estos suelos presentan una retención de humedad baja o muy baja y por tanto poca fertilidad. Por otra parte, el suelo 3 muestra una velocidad de infiltración entre 6.3 y 12.5 cm/hr, con una permeabilidad moderadamente rápida atribuida a suelos franco-arenosos (FA), los cuales tienen baja retención de agua y fertilidad.

Tabla 9. Permeabilidad e infiltración de suelos contaminados.

Suelo	Velocidad de infiltración (cm/hr)	Clase de infiltración	Permeabilidad
S1	29 (muy rápida)	FA, A	Alta o muy alta
S2	33.44 (muy rápida)	FA, A	Alta o muy alta
S3	7.98 moderadamente rápida)	FA	Alta

4.2.2 Temperatura. La temperatura al interior de los tres suelos fue igual, 24° C, la cual se encuentra dentro del rango óptimo descrito por la literatura para el desarrollo de los microorganismos y resultado representativa para esta zona.

4.2.3 Estructura. En la figura 27 se puede apreciar la estructura en bloques del suelo 1, lo que presupone velocidades de infiltración relativamente altas y baja retención de humedad. Los suelos 2 y 3 no presentan estructura definida, el primero muestra una composición en granos sueltos (ver figura 28) y el segundo se presenta como una masa cohesiva (ver figura 29). Según la agregación estructural, el suelo 2 presupone una moderada retención de agua, debido a la considerable cantidad de espacios porosos por unidad de volumen de suelo, que se presentan en agregados de tamaño reducido. En cuanto al suelo 3, aunque su estructura cohesiva sugiere gran impermeabilidad, ésta misma condición insinúa una considerable retención de agua, una vez ésta logra alojarse en los espacios porosos de la matriz de suelo.

Resumiendo, los tres suelos contaminados presentan conformación estructural diferente, y por consiguiente, se les atribuye también diferentes características de permeabilidad, infiltración, aireación y capacidad de desarrollo de microorganismos.

Figura 27. Estructura suelo 1.



Fuente: el autor.

Figura 28. Estructura suelo 2.



Fuente: el autor.

Figura 29. Estructura suelo 3.



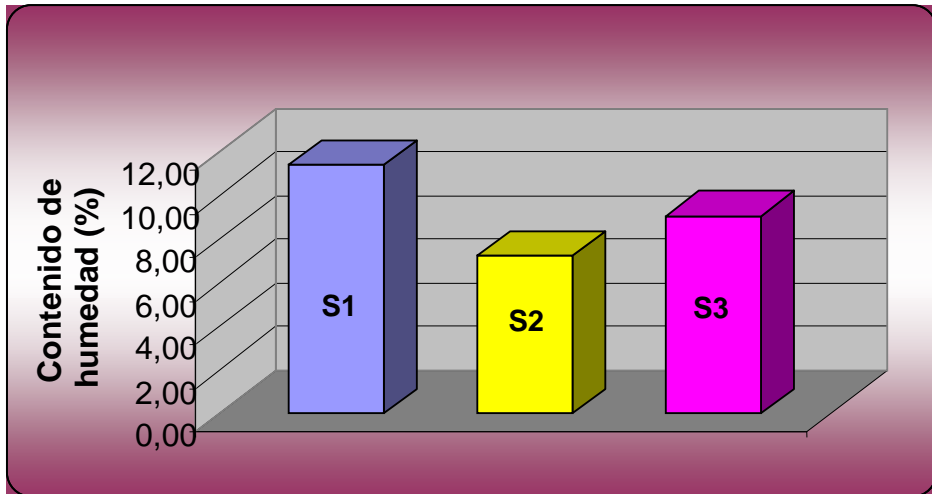
Fuente: el autor.

4.2.4 Humedad. El contenido de humedad se ve reflejada en tres parámetros: humedad gravimétrica, humedad volumétrica y agua almacenada por volumen de suelo. Las gráficas 1, 2 y 3 ilustra los resultados obtenidos para estos tres parámetros, de los suelos contaminados en estado natural, los cuales se encuentran resumidos en la tabla 10.

Tabla 10. Contenido de humedad en los suelos contaminados.

Suelo	Humedad natural (%)	Humedad volumétrica (%)	Lámina de agua almacenada (mm agua/cm suelo)
S1	11,39	18,80	1,88
S2	7,24	13,36	1,34
S3	9,08	17,78	1,78

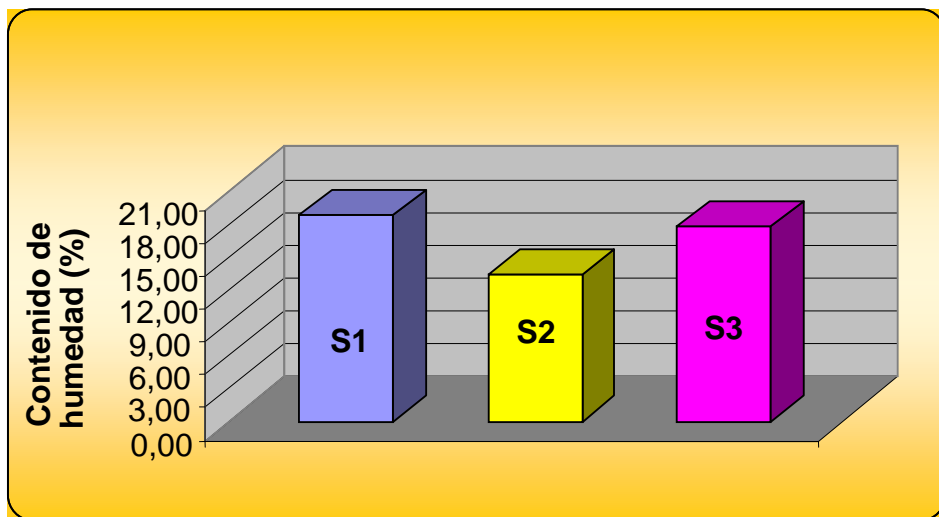
Gráfica 1. Contenido de humedad natural de los suelos contaminados.



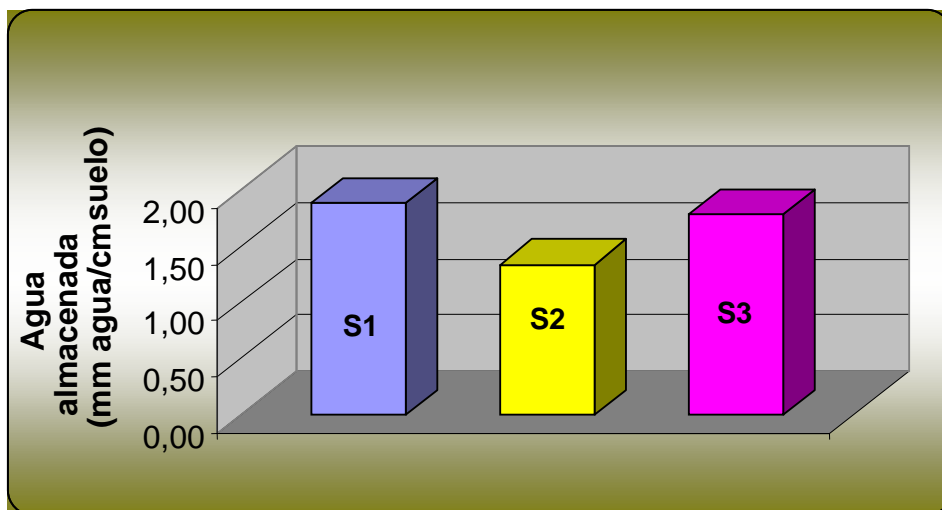
Tanto humedad gravimétrica, como humedad volumétrica mantienen una relación directamente proporcional con el volumen de agua almacenada en cada suelo. El suelo 1 muestra un mayor porcentaje de humedad gravimétrica y volumétrica que

los suelos 3 y 2 respectivamente, lo cual se ve reflejado en un mayor volumen de agua retenido.

Gráfica 2. Humedad volumétrica natural de los suelos contaminados.



Gráfica 3. Agua almacenada naturalmente en los suelos contaminados.



El alto volumen de agua retenido por el suelo 1, mayor a 2 mm H₂O/cm de suelo, es característico de un suelo con textura predominantemente fina, como es el caso de suelos arcillosos (Ar), arcillo-arenosos (ArA) y arcillo-limosos (Ar-L). La retención de agua mostrada por el suelo 2, entre 1 y 1.5 mm H₂O/cm de suelo, se considera media y propia de suelos con textura franca (F), franco-limosa (FL) y limosa (L). Por otra parte, el agua almacenada por el suelo 3, entre 1.5 y 2 mm H₂O/cm de suelo (alta), caracteriza un suelo con textura moderadamente fina como lo son los suelos franco-arcillosos (FAr), franco-arcillo-limosos (FArL) y franco-arcillo-arenosos (FArA).

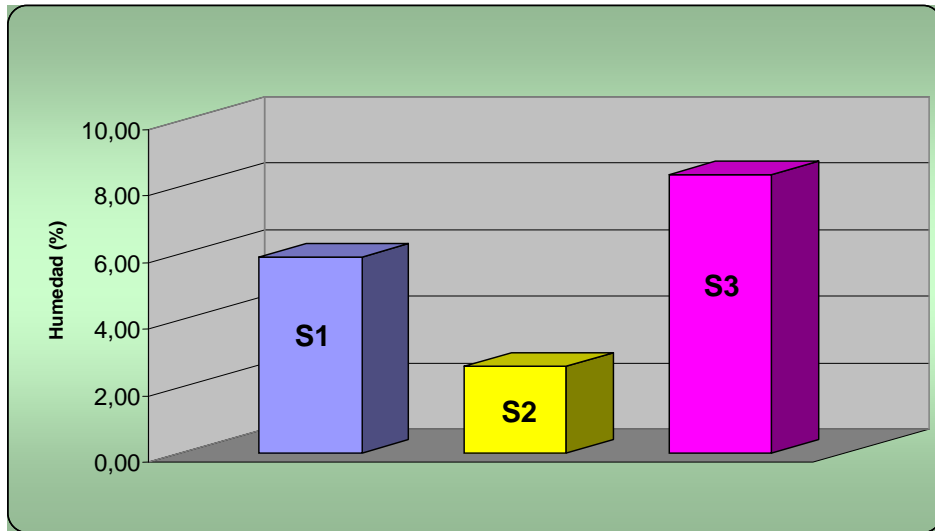
4.2.5 Capacidad de campo. Con el fin de establecer la capacidad de retención de humedad de los suelos contaminados se determinó el porcentaje de humedad gravimétrica de éstos a capacidad de campo. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla 11 y se ilustran en la **gráfica 4**.

Tabla 11. Humedad gravimétrica de los suelos contaminados, a capacidad de campo.

Muestra	% HG
S1	5,86
S2	2,59
S3	8,34

Se puede observar que el suelo 3 presenta un porcentaje de humedad a capacidad de campo superior al suelo 1 y aun mayor con respecto al del suelo 2. Esto podría sugerir diferencias en la textura de los tres suelos, siendo el suelo 3 el que mayor presencia de partículas finas tendría, seguido por el suelo 1 y 2.

Gráfica 4. Capacidad de campo de los suelos contaminados.



La literatura no hace referencia a un porcentaje de humedad óptimo para el desarrollo de procesos de biorremediación, generalizado para todos los tipos de suelo. Se han establecido criterios como los rangos de humedad, generalmente entre el 50 y 80% de la humedad gravimétrica (%HG) a capacidad de campo. Bajo éstas circunstancias, el suelo 1 debería ser mantenido con un porcentaje de humedad entre 2.93 y 4.59%, el suelo 2 entre 1.3 y 2.07 % y el suelo 3 entre 4.17 y 6.67 %, para lograr un adecuado desarrollo del tratamiento de biorremediación (ver tabla 12).

Tabla 12. Rango de humedad requerido para la biodegradación de suelos.

Suelo	% HG	Humedad gravimétrica a 50% de la capacidad de campo	Humedad gravimétrica a 50% de la capacidad de campo
S1	5,86	2,93	4,69
S2	2,59	1,3	2,07
S3	8,34	4,17	6,67

4.2.6 Textura. Para dar explicación a las diferencias en la permeabilidad e infiltración de los suelos, humedad y capacidad de campo, se determinó la textura de cada uno de ellos, por el método del hidrómetro y posteriormete por granulometría. La tabla 13 muestra los resultados obtenidos durante la prueba de textura con el hidrómetro.

Al comparar los resultados en el triangulo de texturas, los resultados revelaron una textura arenosa para los tres suelos.

Tabla 13. Textura de los suelos contaminados por el método del hidrómetro.

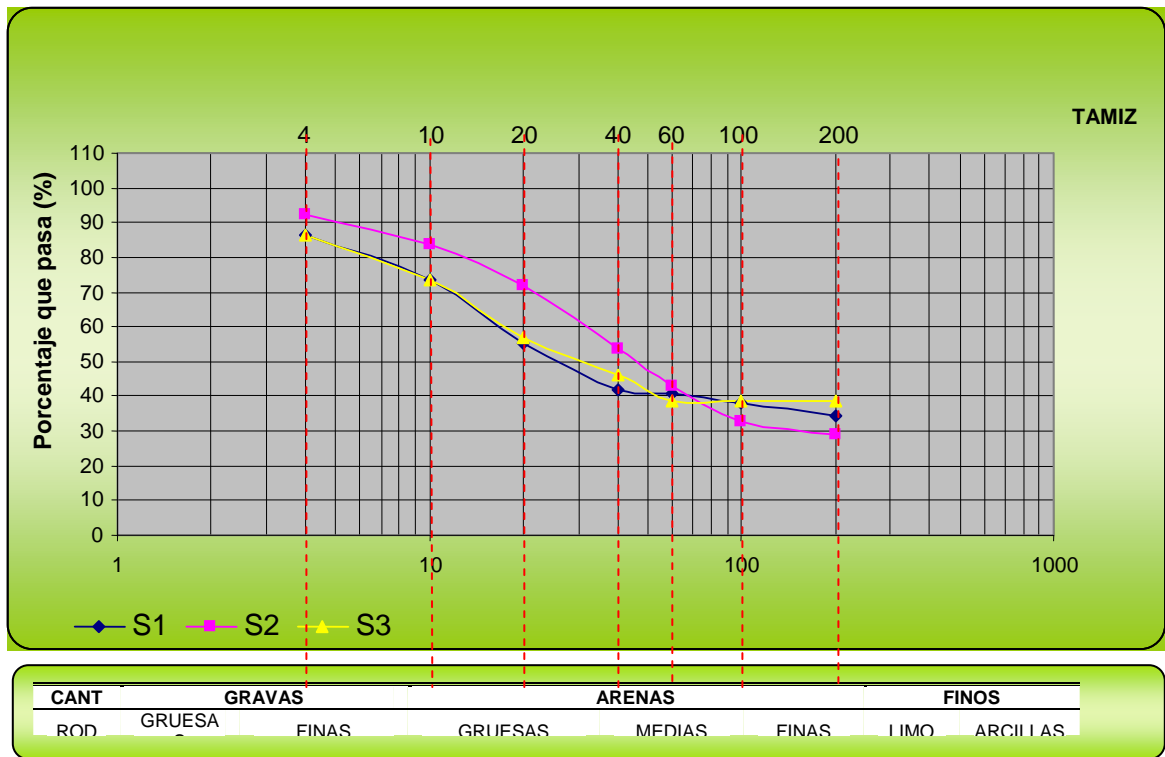
SUELO	ARENA (%)	ARCILLA (%)	LIMO (%)
S1	96.2	2.9	0.9
S2	97.5	1.7	0.8
S3	95.3	3.6	1.1

Los resultados de la granulometría de los suelos contaminados se muestran en la tabla 14 y se ilustran en la gráfica 5, mediante las curvas de textura.

Tabla 14. Textura de los suelos contaminados por granulometría.

Tamiz N°	% DE SUELO QUE PASA POR EL TAMIZ		
	S1	S2	S3
4	86,41	92,08	86,4
10	73,37	83,48	73,41
20	55,05	71,88	56,85
40	42,11	53,76	45,88
60	40,97	43,18	38,8
100	38,21	32,96	38,65
200	34,35	28,99	38,49

Gráfica 5. Curvas de textura de los suelos contaminados.



El suelo 3 presenta una mayor proporción de materiales finos (tamiz 200 en adelante) que el suelo 1 y el suelo 2, lo cual explicaría su mayor capacidad de retención de agua. Por otra parte, el suelo 1 tiene menor cantidad de gravas finas (tamiz 4 a 10), arenas gruesas (tamiz 10 a 40) y medias (tamiz 40 a 100) que el suelo 2, por lo que su capacidad de campo es media en comparación con los suelos 1 y 2. El suelo 2, presenta el más alto porcentaje de contenido de gravas finas, arenas gruesas y medias, lo que justifica el hecho de que presentó la menor retención de agua de los tres suelos.

En ninguno de los suelos el material fino superó el 50%, lo que lo clasifica como suelo arenoso. Los resultados de ésta prueba coinciden con los datos obtenidos de la permeabilidad de los suelos, en donde el suelo 3 mostró una menor permeabilidad que los suelos 2 y 1, sustentado por la presencia de mayor cantidad de material fino. Sin embargo, para los tres suelos se determinó una permeabilidad entre alta y muy alta, correspondiente al carácter arenoso que muestra su textura. Los formatos diligenciados durante la determinación de la textura de los tres suelos se encuentran consignados en el anexo A1.

Es posible que la textura arenosa de los tres suelos contaminados, contribuya al acceso de los microorganismos a los hidrocarburos, ya que la mayor proporción de arena impide la cohesión del material y por tanto proporciona una mejor aireación para el desarrollo de la microbiota.

4.2.7 Porosidad. Con el fin de explicar aun mejor los resultados obtenidos de permeabilidad e infiltración para los tres suelos, se calculó la porosidad de éstos mediante la ecuación descrita en el numeral 3.1.2 del marco experimental. En la tabla 15 se encuentran relacionados los datos obtenidos para densidad real y aparente, empleados para el calculo de la porosidad total de cada suelo contaminado.

Tabla 15. Porosidad de los suelos contaminados.

SUELO	DENSIDAD APARENTE	DENSIDAD REAL	POROSIDAD
S1	1,65	2,38	30,67
S2	1,85	2,128	13,06
S3	1,96	2,22	11,71

Los resultados obtenidos tanto de densidad aparente como de porosidad, clasifican a los tres suelos como suelos compactos, con bajo contenido de materia orgánica, según lo indica la tabla 5, numeral 3.1.2 del marco experimental. Aunque la textura de estos suelos fue clasificada como arenosa, característica de un suelo disgregable, se debe tener en cuenta el carácter hidrófobo de los hidrocarburos presentes en los suelos analizados que así como puede conferirle mayor impermeabilidad a la matriz de suelo, también puede dificultar el drenaje del agua a través de sus poros y generar encharcamientos que confieren al suelo una aparente mayor retención de agua. Puesto que la determinación de la densidad total y aparente se basan en diferencias en peso del suelo húmedo y seco, el estancamiento de agua al interior del suelo puede generar variaciones en los resultados o incompatibilidades con las demás propiedades físicas determinadas.

4.2.8 pH. Como se muestra en la gráfica 6, los tres suelos registraron valores de pH cercanos a neutralidad entre 6.5 y 7.5, característico de suelos de praderas sub-húmedas y semi-áridas. Este rango de pH clasifica los suelos entre ligeramente ácidos y ligeramente alcalinos, condiciones que favorecen el desarrollo de microorganismos y solubilidad de nutrientes como fósforo, mientras que minimiza el transporte de metales pesados al interior del suelo, condiciones que favorecen la biodegradación.

4.2.9 Relación carbono-nitrógeno-fósforo (C:N:P). El contenido de carbono, nitrógeno y fósforo expresado en porcentaje para cada suelo contaminado, se encuentra ilustrado en la tabla 16.

Gráfica 6. pH de los suelos contaminados.

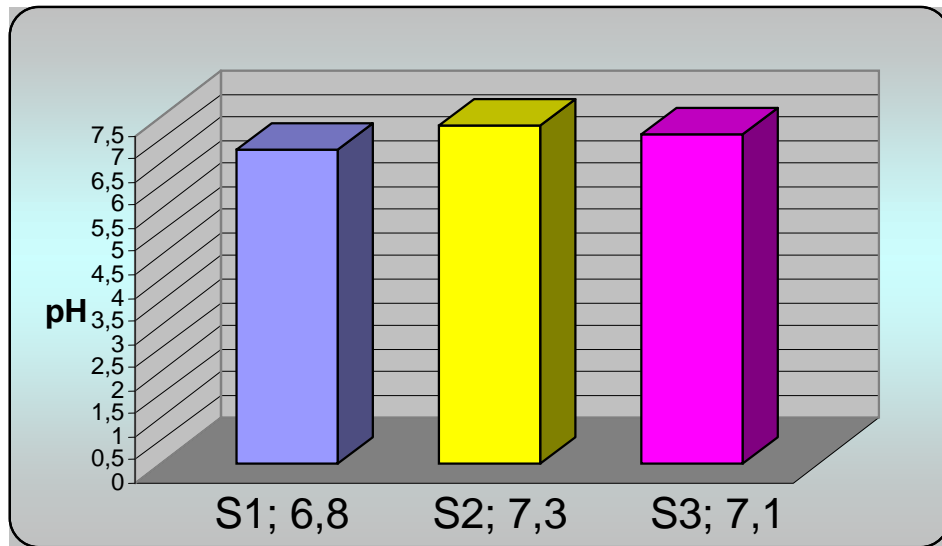


Tabla 16. Contenido de carbono, nitrógeno y fósforo, en los suelos contaminados.

Suelo	Carbono (%)	Nitrógeno (%)	Fósforo (%)
S1	0.58	0.07	0.058
S2	0.32	0.04	0.037
S3	0.37	0.035	0.012

Con base a los resultados anteriores se estableció la relación C:N:P, calculando por separado la relación carbono-fósforo y nitrógeno-fósforo, así:

$$\text{Para S1: } \frac{C}{P} = \frac{0.58}{0.058} = 10; \quad \frac{N}{P} = \frac{0.07}{0.058} = 1.2; \quad \text{C:N:P} = 10: (1.2) :1$$

Correspondiente a: 1: (0.1):0.1

Para S2: $\frac{C}{P} = \frac{0.32}{0.037} = 8.6$; $\frac{N}{P} = \frac{0.04}{0.037} = 1.1$ C:N:P= (8.6) : (1.1) :1

Correspondiente a: 1: (0.1):0.1

Para S3: $\frac{C}{P} = \frac{0.37}{0.012} = 30.8$ $\frac{N}{P} = \frac{0.035}{0.012} = 2.9$ C:N:P = (30.8) :(2.9):1

Correspondiente a: 1: (0.1):(0.03)

La literatura recomienda una relación C:N:P es de 100:10:1, lo cual se puede expresar como 1:(0.1):(0.01). Con base en esto se puede asegurar que todos los suelos contaminados presentan suficiencia de nitrógeno y fósforo, por lo que no se requirió la adición de nutrientes para mejorar las condiciones nutricionales de los suelos.

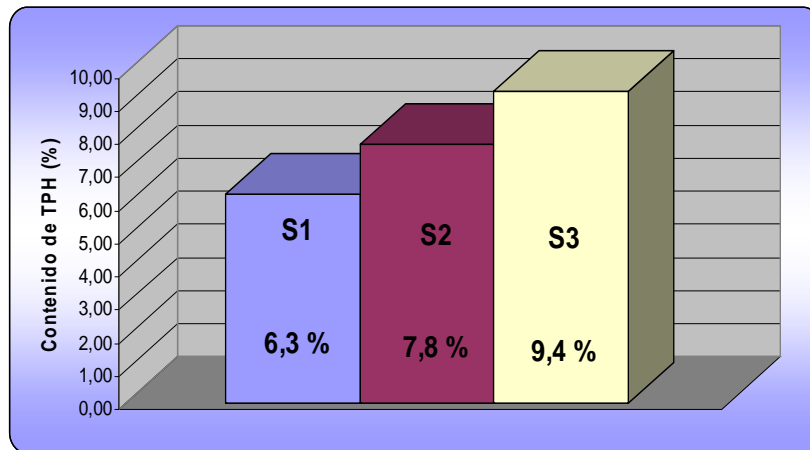
4.2.10 TPH. El contenido inicial de TPH en los suelos contaminados se resumen en la tabla 17.

Tabla 17. Contenido inicial de TPH en suelos contaminados.

SUELO	TPH (%)
S1	6.3
S2	7.8
S3	9.4

El suelo 3 con evento de contaminación más reciente, presentó el contenido inicial de TPH más alto, seguido en orden descendente por los suelos 2 y 1 respectivamente. Debido al mayor tiempo de intemperización y residencia de los contaminantes en ellos, se puede considerar una biodegradación de los hidrocarburos en los suelos 1 y 2. La gráfica 7 ilustra el contenido de TPH de los tres suelos.

Gráfica 7. Contenido de TPH de los suelos contaminados.



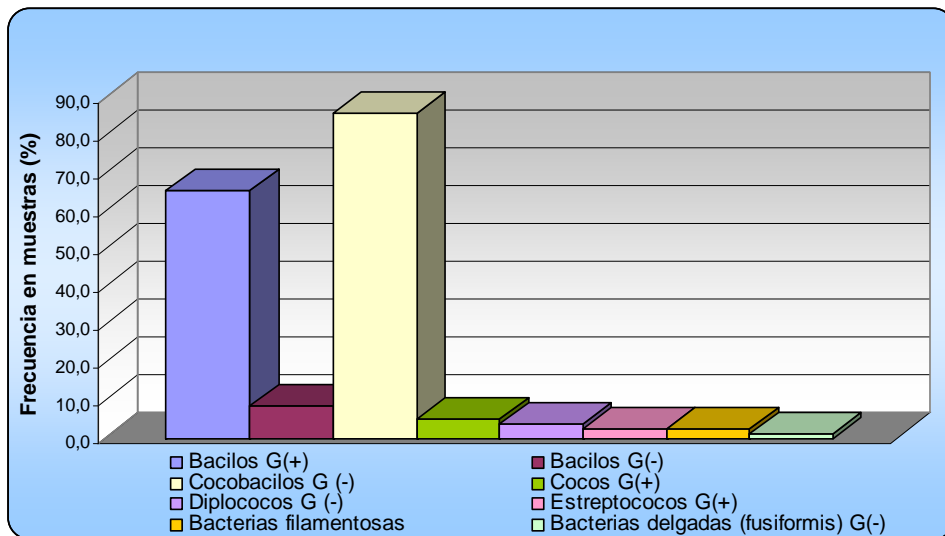
4.3 CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE CEPAS NATIVAS.

4.3.1 Aislamiento de microorganismos nativos. Con el fin de aislar los microorganismos nativos de cada suelo, que mejor estuvieran adaptados a la degradación de hidrocarburos, se prepararon medios de cultivo modificados con solución de suelo y una base de agar nutritivo. Se prepararon medios con agar nutritivo y cerebro-corazón para el aislamiento de bacterias, y agar rosa de bengala y extracto de levadura, para el aislamiento de hongos. En total fueron servidos e inoculados 96 medios de cultivo.

4.3.2 Caracterización y selección de colonias. Una vez aislados los microorganismos en cada uno de los suelos contaminados se realizó su caracterización y selección

Suelo 1. Los tipos de bacterias encontradas en el suelo 1 se ilustran en la gráfica 8, en la que se representa la frecuencia de observación de algunas bacterias, clasificadas de acuerdo a su morología.

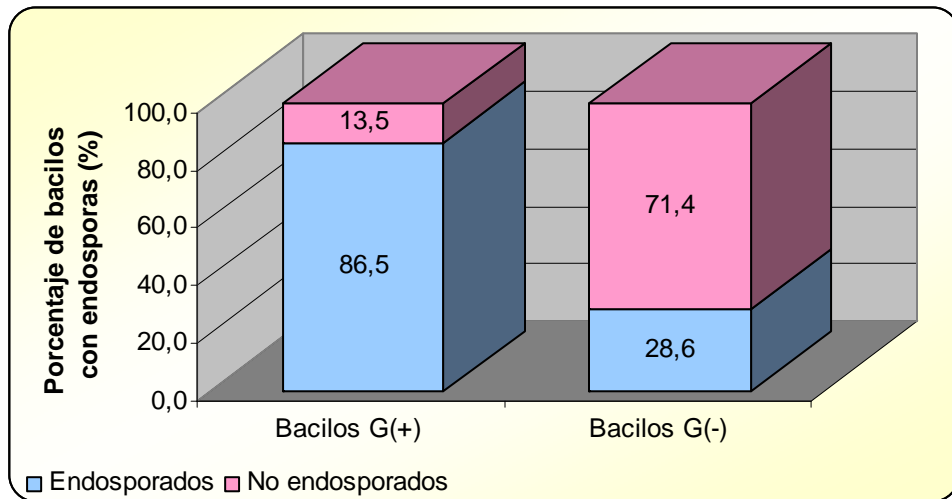
Gráfica 8. Bacterias aisladas del suelo 1.



Dentro de la caracterización microbiológica realizada al suelo uno se observaron con mayor frecuencia cocobacilos gram negativos, seguido por los bacilos gram positivos y en menor cantidad y orden descendente bacilos gram negativos, cocos gram positivos, diplococos gram negativos, estreptococos gram positivos, bacterias filamentosas y bacterias delgadas (fusiformis) gram negativas (ver anexo C).

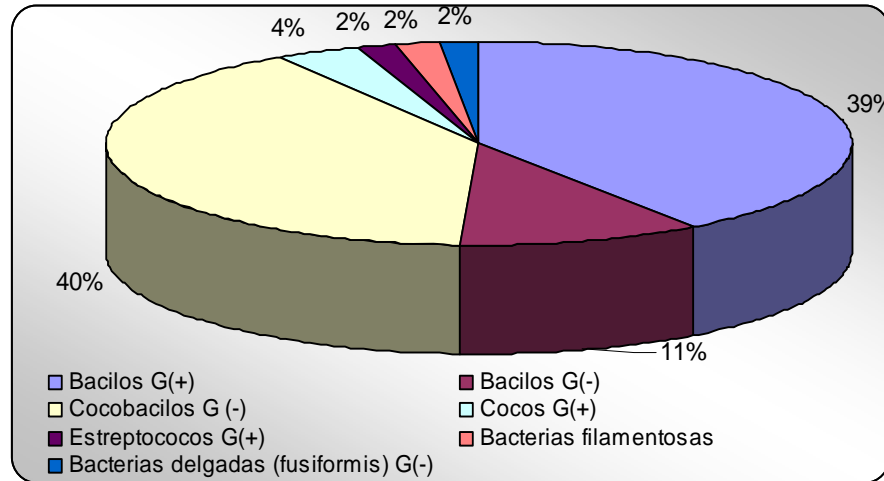
Cabe resaltar la presencia de bacilos gram positivos y gram negativos con endosporas, las cuales según la literatura son muy resistentes a condiciones extremas de pH, desecación, radiación y exposición a sustancias quimiotóxicas que podrían generar la muerte celular. Como se muestra en la gráfica 9, del total de bacilos gram positivos y gram negativos, el 86.5% y 28.6% respectivamente, presentaron endosporas.

Gráfica 9. Bacilos endosporados aislados del suelo 1.



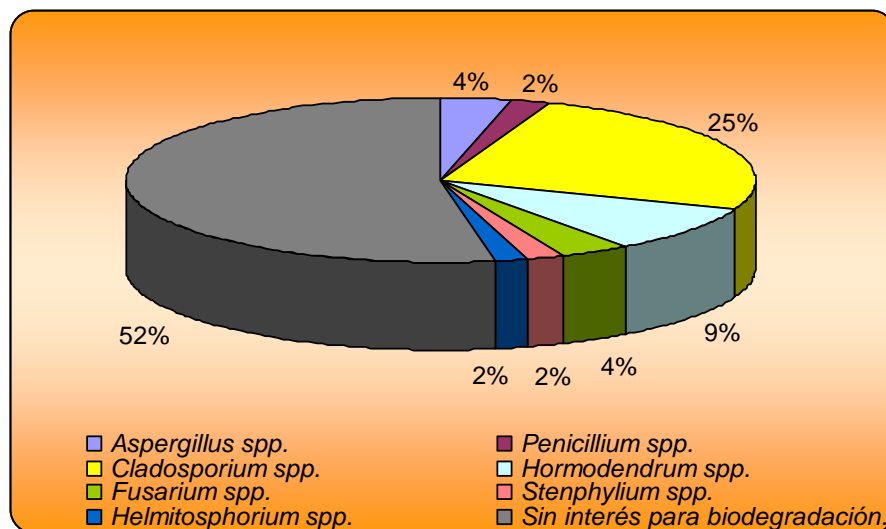
De las bacterias aisladas del suelos 1 se seleccionó un pool para bioaumentación y su posterior mezcla con el pool de los suelos 2 y 3. En la gráfica 10, se muestra la composición del pool de bacterias seleccionadas del suelo 1, en el que se evidencia el predominio de muestras con observación de cocobacilos gram negativos y bacilos gram positivos, aunque aumentó la participación de bacilos gram negativos, debido a que se seleccionaron las muestras con presencia de bacterias de mayor interés en la biodegradación de los hidrocarburos.

Gráfica 10. Bacterias seleccionadas del suelo 1 para el pool microbiano.



De igual manera se realizó un asilamiento de hongos en cada uno de los suelos contaminados con hidrocarburos. Una gran proporción de los hongos observados resultaron ser poco útiles en la biodegradación de hidrocarburos, según el criterio de los expertos consultados. Los hongos aislados del suelo 1, se representan en la gráfica 11.

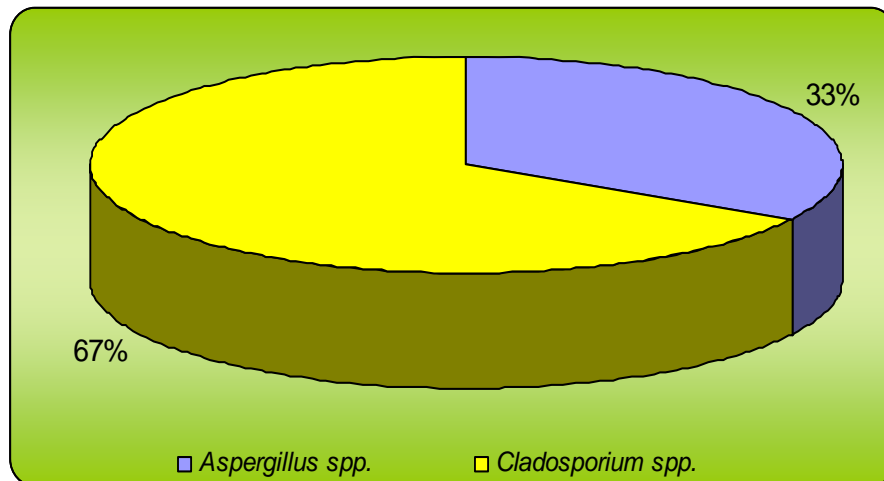
Gráfica 11. Hongos aislados del suelo 1.



Entre los hongos identificados por su posible intervención en el proceso de biodegradación de hidrocarburos se observó el predominio del género *cladosporium spp.*, seguido por *hormodemdrum spp.*, y *aspergillus spp.*, *fusarium spp.*, *penicillium spp.*, *stenphylium spp.* y *helmitosporium spp.*, en orden descendente.

Considerando el predomino y posible participación en la biodegradación de los hidrocarburos presentes en los suelos contaminados, se seleccionaron dos grupos de hongos (*cladosporium spp.* y *aspergillus spp.*) para hacer parte del pool microbiano que fue aplicado en los procesos de biorremediación (ver gráfica 12).

Gráfica 12. Hongos del suelo dos seleccionados para pool microbiano.

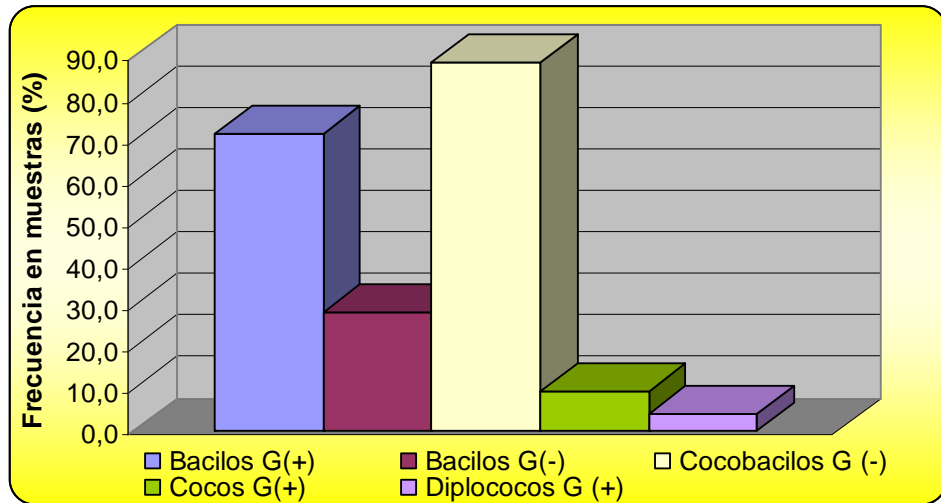


Suelo 2. Los resultados obtenidos de la caracterización de las bacterias del suelo 2, se ilustran en la gráfica 13.

Dentro de la caracterización microbiológica realizada al suelo dos se observaron frecuentemente cocobacilos gram negativos, seguido por los bacilos gram

positivos y en menor proporción y orden descendente bacilos gram negativos, cocos gram positivos y diplococos gram positivos.

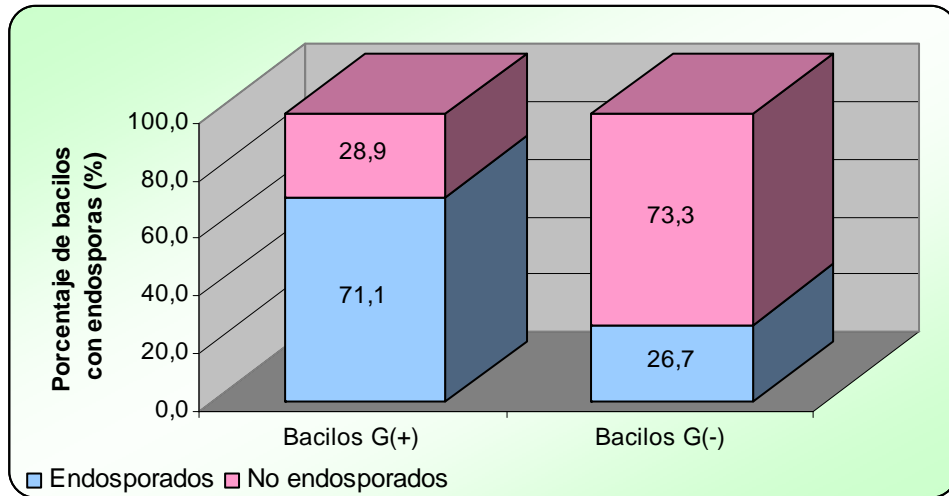
Gráfica 13. Bacterias aisladas del suelo 2.



En general se observa una menor variedad de microorganismos presentes en este suelo, comparado con el suelo 1, lo cual podría indicar un menor desarrollo de microbiota resistente al contaminante, por tener menor tiempo de exposición al mismo.

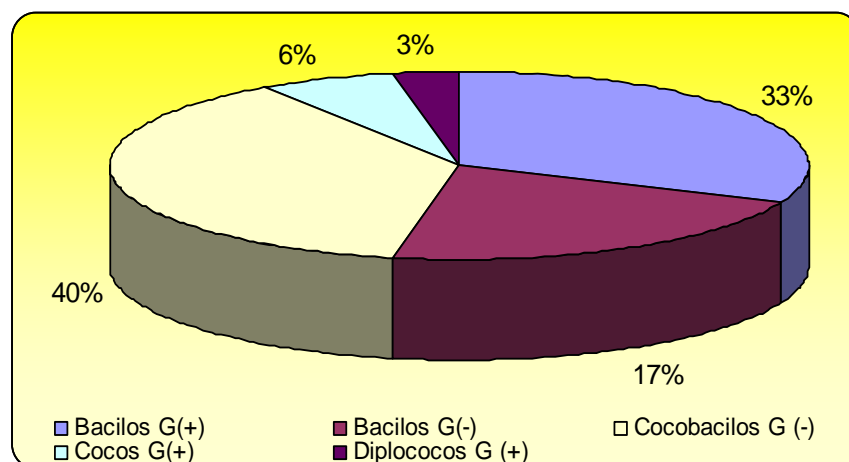
En éste suelo, también fue evidente la presencia significativa de bacilos endosporados. En la gráfica 14 se representa este porcentaje.

Gráfica 14. Bacilos endosporados aislados del suelo 2.



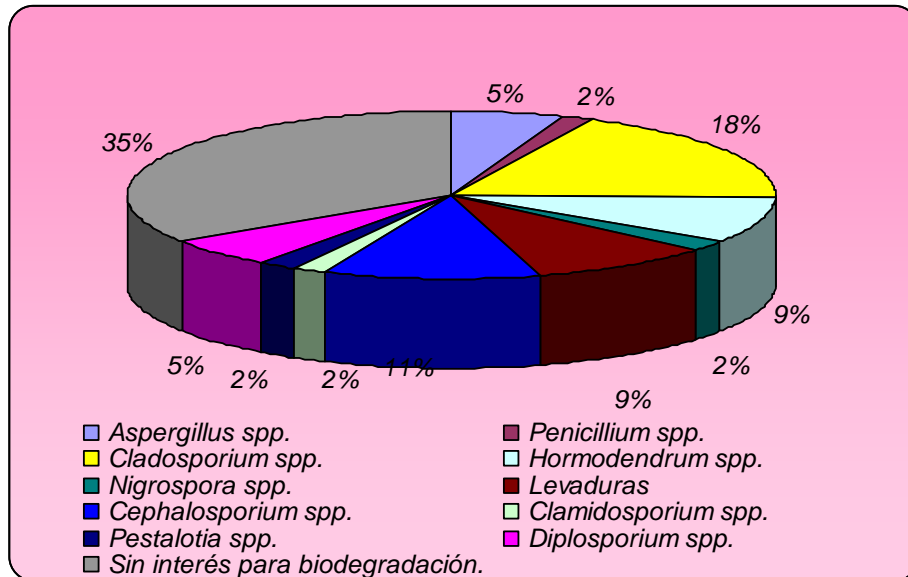
El pool de bacterias seleccionado de éste suelo, estuvo conformado en gran parte por muestras con presencia de cocobacilos gram negativos y bacilos gram positivos, aunque se aumentó la participación de bacilos gram negativos, cocos y diplococos (ver gráfica 15).

Gráfica 15. Bacterias seleccionadas del suelo 2 para pool microbiano.



En la gráfica 16 se ilustran las clases de hongos encontrados en el suelo 2.

Gráfica 16. Hongos aislados del suelo 2.

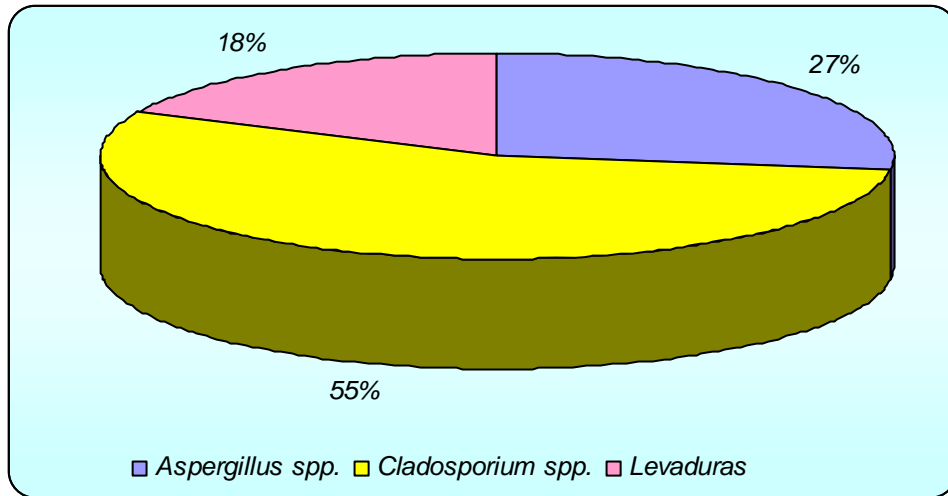


Según el criterio de los expertos consultados, un 35% de los hongos aislados en el suelo 2 no participaban del proceso de biodegradación de hidrocarburos.

Un 18% de los hongos de interés fueron identificados como hongos del género *cladosporium spp.*, seguido por *cephalosporium spp.*, *hormodemdrum spp.* y *levaduras*. En menor proporción y en orden descendiente se presentaron hongos de los géneros *diplosporium spp.*, *aspergillus spp.*, *penicillium spp.*, *pestalotia spp.*, *clamidosporium spp.* y *nigrospora spp.*.

El pool de hongos seleccionado de este suelo, estuvo conformado por hongos del género *cladosporium spp.*, *asperdillus spp.* y *levaduras* (ver gráfica 17).

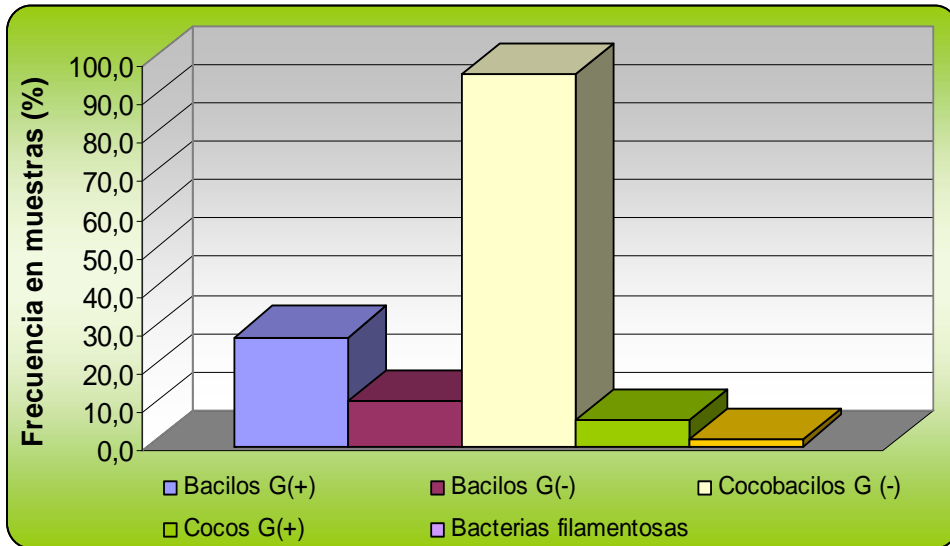
Gráfica 17. Hongos seleccionados del suelo 2 para pool microbiano.



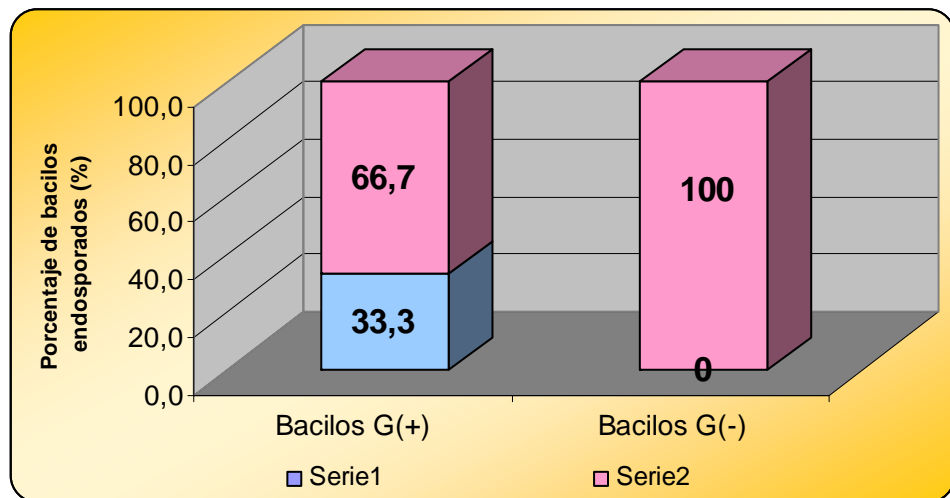
Suelo 3. Como se muestra en la gráfica 18, en el suelo 3 el grupo de las bacterias más frecuentemente observado en las muestras vistas al microscopio fue el de los cocobacilos gram negativos, seguido por los bacilos gram positivos y en menor cantidad y orden descendente bacilos gram negativos, cocos gram positivos y bacterias filamentosas. El suelo 3 con el evento de contaminación mas reciente, presentó menor variedad de microorganismos, comparado con los suelos 1 y 2, lo que podría indicar que en un proceso de biodegradación de una mezcla de estos suelos, el suelo 3 sería el más beneficiado por el aporte microbiológico de los otros suelos.

En este suelo se presentaron en menor proporción bacilos con endosporas. Solo los bacilos gram negativos presentaron esta característica y en una proporción que apenas supera el 30% (ver gráfica 19). Esta condición podría sugerir una menor resistencia de de los microorganismos de éste suelo, comparadas con las bacterias encontradas en el suelo 1 y 2.

Gráfica 18. Bacterias aisladas del suelo 3.

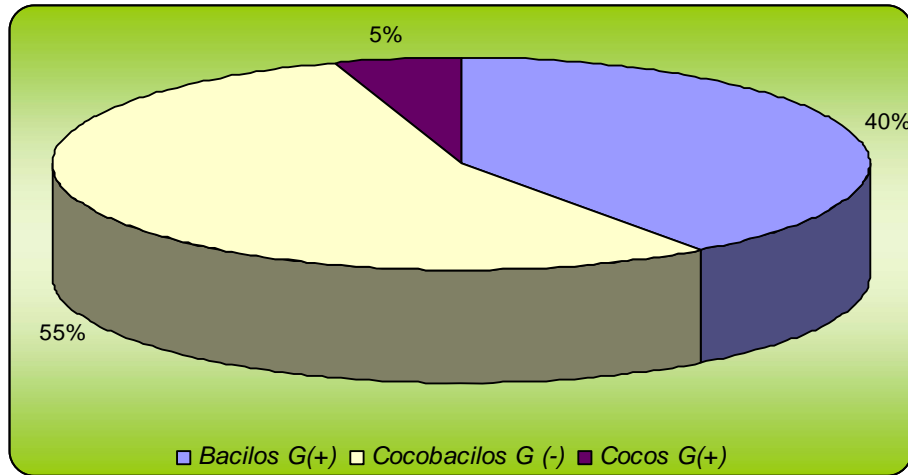


Gráfica 19. Bacilos endosporados aislados del suelo 3.



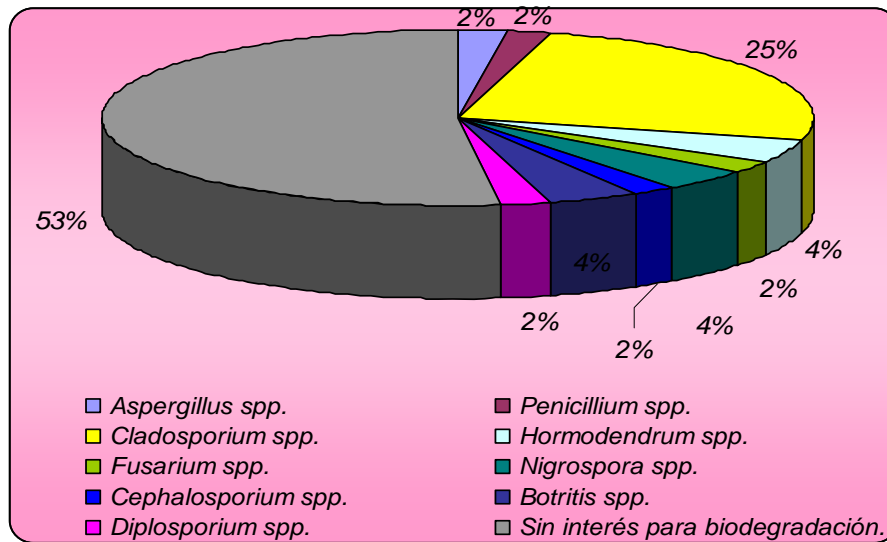
Del suelo tres, se seleccionó un pool de bacterias compuesto principalmente por muestras con presencia de cocobacilos gram negativos y bacilos gram positivos, con una pequeña participación de cocos gram negativos (ver gráfica 20).

Gráfica 20. Bacterias seleccionadas del suelo 3 para pool microbiano.



Los hongos aislado se éste suelo se representan en la gráfica 21.

Gráfica 21. Hongos aislados del suelo 3.



Mas del 50% de los hongos encontrados en este suelo no participan en el proceso de degradación de los hidrocarburos, según criterio de los expertos consultados.

Se observó el gran predominio de hongos del género *Cladosporium spp.*, con un 25%, seguido de *Hormodendrum spp.*, *Botritis spp.* y *Nidrospora spp.*, con un 4%. En igual proporción (2%) se representan grupos de *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Displosporium spp.*, *Penicillium spp.* y *Cephalosporium spp.*.

Solo se seleccionaron hongos del género *Cladosporium spp.* de éste suelo para ser aumentada, la cual sería adicionada al pool microbiológico utilizado en el tratamiento de biorremediación.

En resumen, se observan diferencias importantes en la variedad de microorganismos presentes en cada suelo, aunque se encuentra algunos microorganismos comunes. En la tabla 18 se puede observar los microorganismos comunes y diferentes en los tres suelos.

Tabla 18. Relación de bacterias y hongos en los tres suelos contaminados.

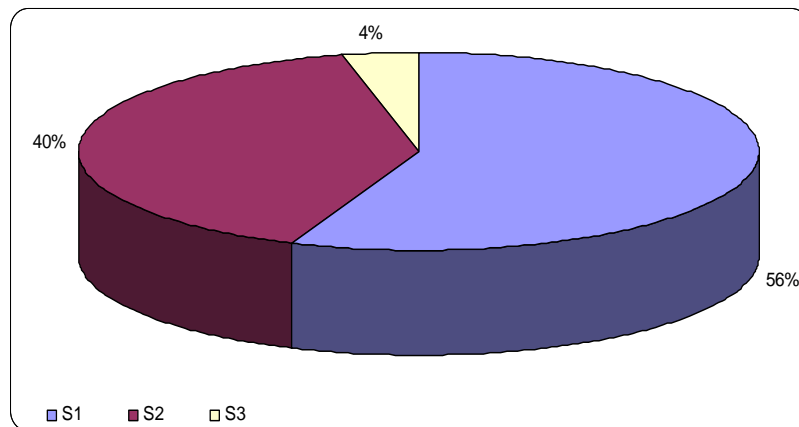
BACTERIAS EN LOS 3 SUELOS CONTAMINADOS	
COMUNES A TODOS	NO COMUNES A TODOS
Cocobacilos Bacilos gram (+) Bacilos gram (-) Cocos gram (+)	Diplococos (S1,S2) Bacteria filamentosas (S1,S3) Bacterias fusiformis (S1) Estreptococos (S1)
HONGOS EN LOS 3 SUELOS CONTAMINADOS	
<i>Cladosporium spp.</i> <i>Penisillium spp.</i> <i>Aspergillus spp.</i> <i>Hormodendrum spp.</i>	<i>Cephalosporium spp.</i> (S2,S3) <i>Fusarium spp.</i> (S1,S3) <i>Nigrospora spp.</i> (S2,S3) <i>Stenphylium spp.</i> (S1) <i>Helmitosophorium spp.</i> (S1) <i>Diplosporium spp.</i> (S2) <i>Pestalotia spp.</i> (S2) <i>Clamidosporium spp.</i> (S2) <i>Levaduras spp.</i> (S2) <i>Botritis spp.</i> (S3)

Se presentan cuatro tipos de bacterias comunes en los tres suelos contaminados con hidrocarburos, y cuatro no comunes, en donde el suelo S1, con más antiguo evento de contaminación presenta la más amplia variedad de microorganismos, lo cual puede sugerir su gran aporte en el proceso de biodegradación de la mezcla de los tres suelos.

En cuanto a los hongos, solo cuatro géneros se encontraron en los tres suelos, siendo el suelo S2, con intermedio evento de contaminación, el que aporta la mayor variedad de géneros de interés para la degradación de hidrocarburos.

Debido a los resultados obtenidos, se puede seguir pensando en un efecto enriquecedor de la microbiota, en el caso de una mezcla de suelos contaminados. Como se observa en la gráfica 22, el mayor aporte, en términos de variedad de microorganismos, al pool microbiano seleccionado para la biorremediación en mezcla de los suelos, lo hizo el suelo 1, con evento de contaminación más antiguo, seguido del suelo 2, con evento de contaminación un poco más reciente. El suelo 3 fue el que menor variedad de microorganismos aportó al proceso, debido posiblemente al menor tiempo de adaptación de los microorganismos en él.

Gráfica 22. Poll de microorganismos de los tres suelos contaminados.



Las observaciones correspondientes a la caracterización microbiológica de los tres suelos contaminados se encuentran consignadas en el anexo D.

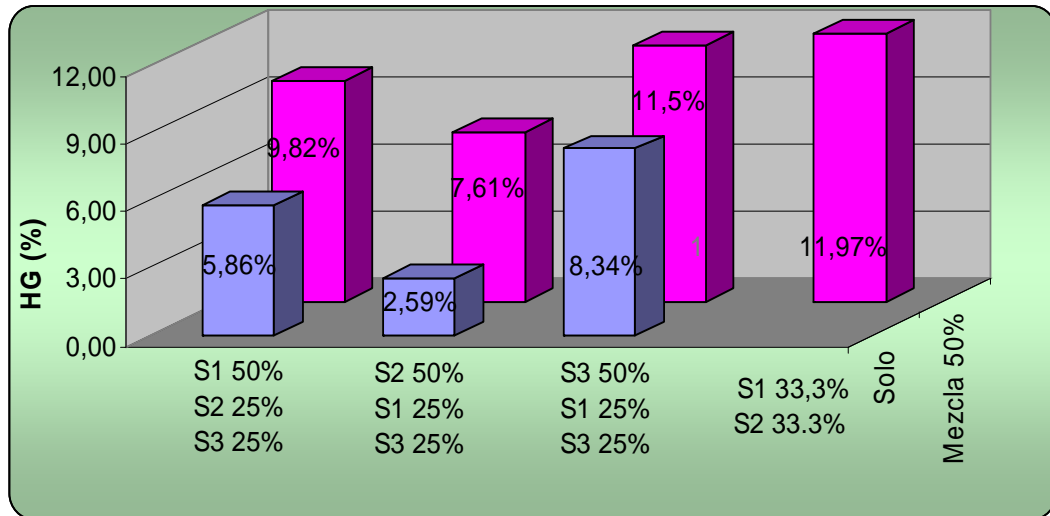
4.4 ESTUDIO COMPARATIVO DE BIODEGRADACIÓN.

En este estudio se realizaron diferentes ensayos previos como la determinación de la capacidad de campo y la pérdida diaria de humedad de la mezcla de suelos y de cada uno por separado mezclados con el suelo limpio.

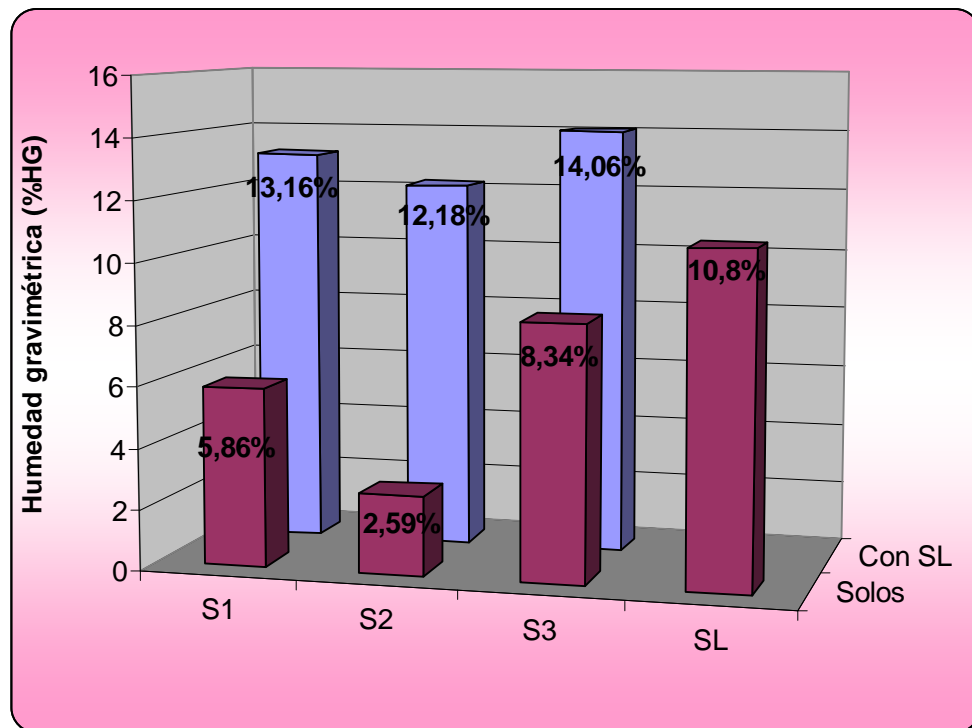
La capacidad de campo de cada mezcla de suelo se determinó con el fin de establecer los porcentajes de humedad correspondientes al rango de humedad óptima para el desarrollo de microorganismos. La gráfica 23 representa la capacidad de campo de las mezclas de suelos contaminados, comparada con la de cada uno por separado. Las proporciones de mezcla de los tres suelos son las registradas en la tabla 4, numeral 3.3.1.

En la gráfica 24 se evidencia la influencia que ejerce en la capacidad de campo la mezcla de suelos, donde sobresale la capacidad de campo de la mezcla de los suelos que se encuentran en iguales proporciones. Además se evidencia la contribución de cada suelo en el aumento de la capacidad de campo de la mezcla. De igual manera como en el suelo S3 la capacidad de campo, la mezcla donde él tiene mayor proporción la capacidad resulta ser mayor con respecto a las demás mezclas.

Gráfica 23. Capacidad de campo de suelos contaminados por separado y en mezcla.



Gráfica 24. Capacidad de campo de suelos contaminados por separado y en mezcla con suelo limpio.



En la gráfica anterior se evidencia el aumento de la capacidad de campo, cuando los suelos contaminados se mezclan con los limpios, con respecto a los suelos contaminados solos. Esto se debe al efecto de dilución, el cual permite distribuir el hidrocarburo minimizando su efecto compactante en el suelo. De igual manera la adición de la misma clase de suelo limpio a los tres suelos anteriores, no cambia la relación ya existente entre la capacidad de campo entre ellos.

La curva de pérdida de humedad se realizó con el fin de establecer las condiciones óptimas de riego, mediante un seguimiento previo de la pérdida de humedad de las mezclas de suelos usadas en los ensayos de biodegradación. Esto permitió establecer los volúmenes de riego requeridos durante las pruebas sin necesidad de realizar análisis constante de humedad y sin arriesgar la pérdida de las condiciones óptimas para el desarrollo de los microorganismos. En la tabla 19 se registran los datos obtenidos en esta prueba.

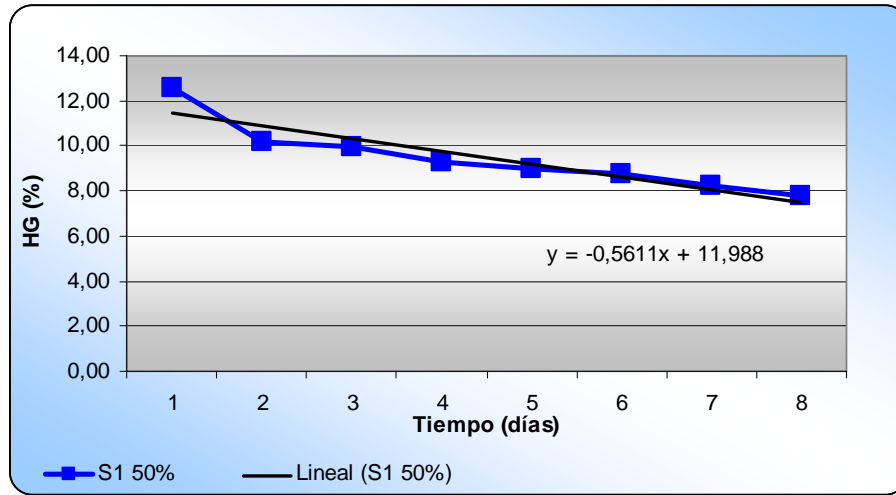
Tabla 19. Seguimiento de la pérdida de humedad de mezclas de suelos.

Mezcla	Peso del suelo (Kg.)	PORCENTAJE DE HUMEDAD GRAVIMÉTRICA –(HG%)						
		Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7
S1 50%+ S2 + S3*	7.0	12,6	10,2	9,94	9,3	8,9	8,7	8,2
S2 50%+ S1 + S3	7.2	10,9	9,8	9,4	8,9	8,5	7,7	6,9
S3 50%+ S1 + S2	6.7	11,7	11,3	10,2	9,8	9,0	8,1	7,3
Proporción: S1=S2=S3	6.6	10,6	9,9	9,3	8,5	7,4	7,2	7,0
S1+SL	7.1	8,46	8,10	6,92	5,30	4,80	4,20	3,50
S2+SL	6.8	9,72	8,60	8,47	7,20	6,90	6,30	5,90
S3+SL	6.9	7,62	5,90	5,38	4,35	2,80	2,03	1,20

* Los otros dos suelos, en proporciones de 25 y 25% complementan el 100% de la mezcla.

Con base en estos datos, se elaboró la curva de pérdida de humedad para cada mezcla. La gráfica 25 muestra la curva obtenida para S1 50% con 25% de S2 y 25% de S3.

Gráfica 25. Curva de pérdida de humedad de la mezcla S1 50%, S2 25%, S3 25%



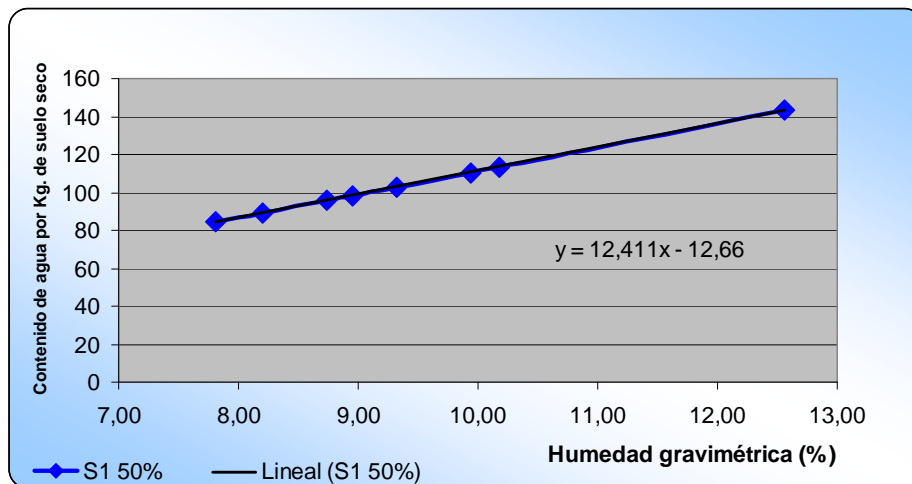
Con la ecuación de la regresión lineal de la curva de pérdida diaria de humedad fue posible predecir la humedad en el suelo en cualquier día.

Relacionando el porcentaje de humedad con los mililitros de agua por kilogramo de suelo, se estableció una función lineal, cuya ecuación permitió calcular el volumen de agua en el suelo, a determinado porcentaje de humedad gravimétrica (ver gráfica 26).

En el inicio de los ensayos, el suelo se llevó al 80% de su capacidad de campo y con la curva de pérdida de humedad, se estimó la humedad en el suelo en el día

que debía ser regado. Posteriormente, la humedad del suelo se relacionaba en la gráfica de contenido de agua por kilogramo de suelo y de allí se obtenía el estimativo de volumen de agua presente en el suelo en el día de riego. El volumen de agua estimado por medio de la gráfica, se ajustó de acuerdo al peso de la mezcla de suelo correspondiente.

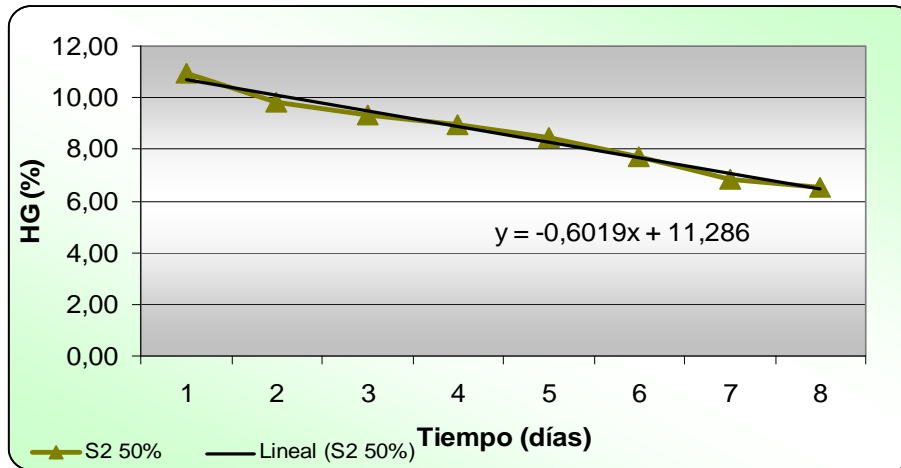
Gráfica 26. Curva de contenido de agua por kilogramo de suelo, versus porcentaje de humedad gravimétrica S1 50%, S2 25%, S3 25%



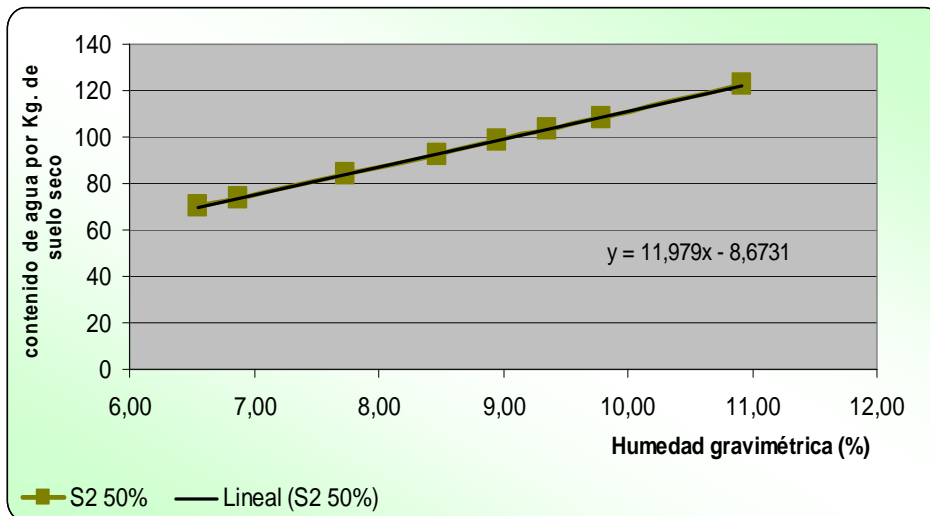
En base a la información suministrada por la curva de pérdida de humedad y la curva de contenido de agua, se estableció un volumen de riego de 220 mililitros de agua, para la mezcla se suelos S1 50% con S2 25% y S3 25%, dos veces por semana, previo al volteo.

Las gráfica 27 y 28, ilustran los resultados obtenidos para S2 50% con S1 25% y S3 25%.

Gráfica 27. Curva de pérdida de humedad de S2 50% con S1 25% y S3 25%.



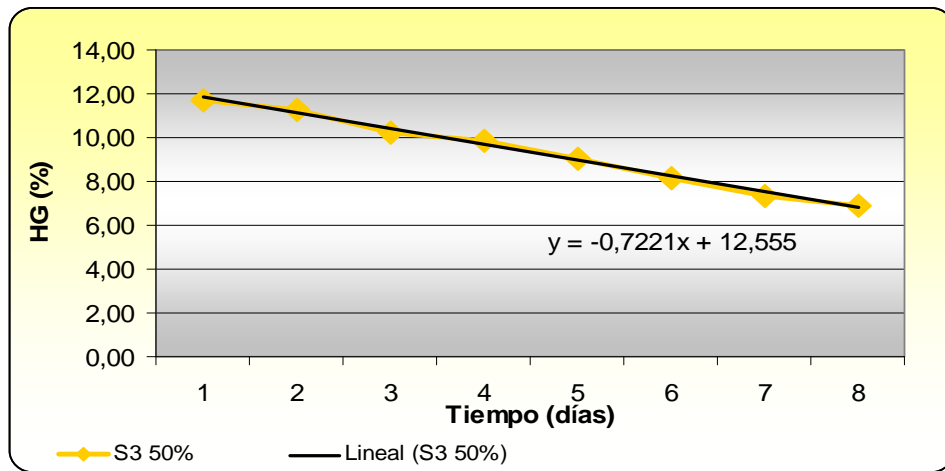
Gráfica 28. Curva de contenido de agua por kilogramo de suelo, versus porcentaje de humedad gravimétrica de S2 50% con S1 25% y S3 25%.



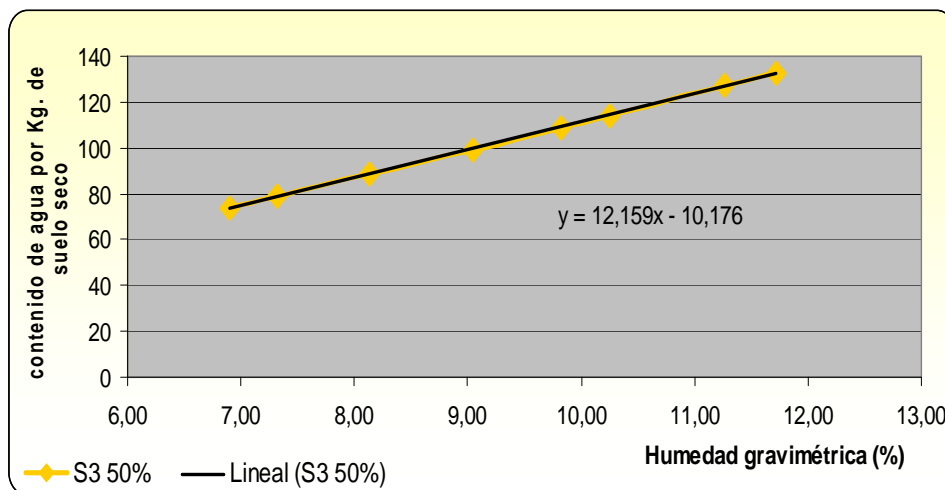
En base a ésta información se estableció un volumen de riego de 235 mililitros de agua, para la mezcla se suelos S2 50% con S1 25% y S3 25%, dos veces por semana, previo al volteo.

Los resultados obtenidos para S3 50% con S1 25% y S2 25% muestran en la gráfica 29 y 30.

Gráfica 29. Curva de pérdida de humedad de S3 50% con S1 25% y S2 25%



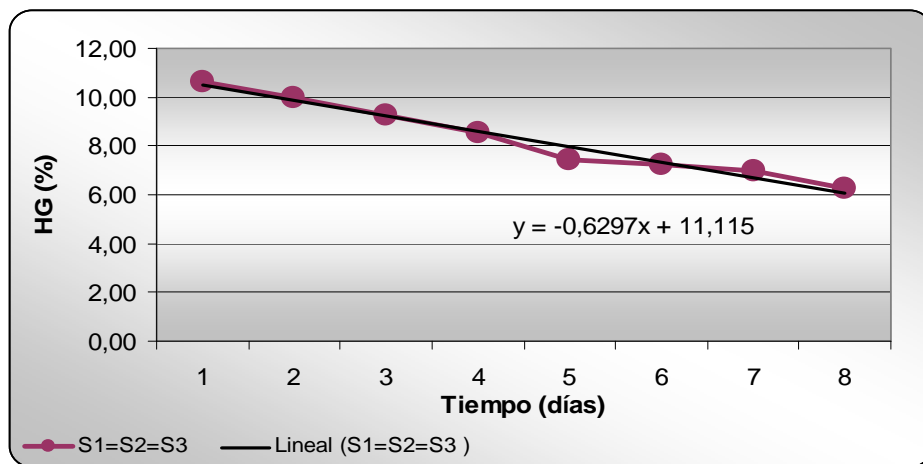
Gráfica 30. Curva de contenido de agua por kilogramo de suelo, versus porcentaje de humedad gravimétrica S3 50% con S1 25% y S2 25%.



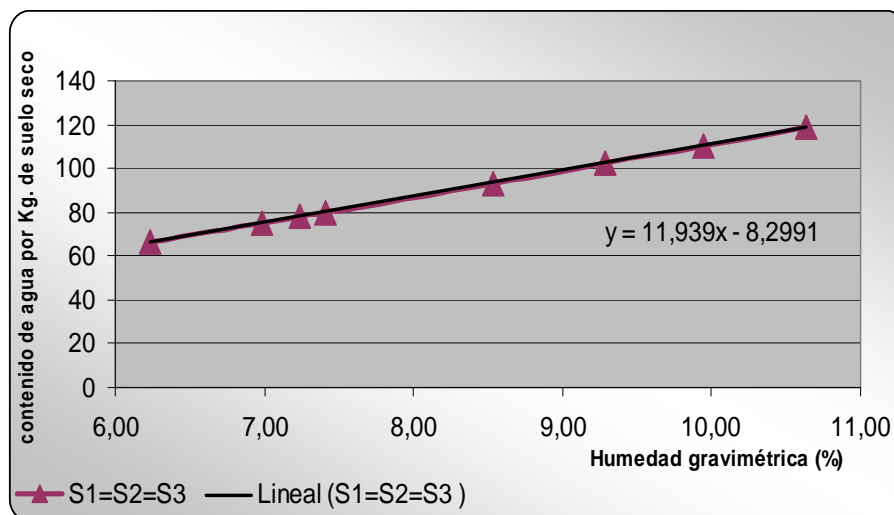
En base a la información suministrada por la curva de pérdida de humedad y la curva de contenido de agua, se estableció un volumen de riego de 265 mililitros de agua, para la mezcla se suelos S3 50% con S1 25% y S2 25%, dos veces por semana, previo al volteo.

Las gráficas 31 y 32 ilustran los resultados obtenidos para S1=S2=S3.

Gráfica 31. Curva de pérdida de humedad de proporción S1=S2=S3



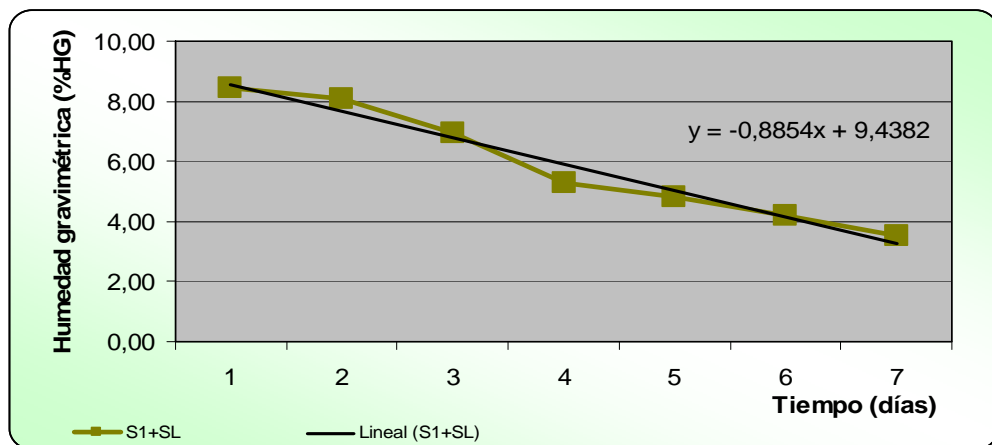
Gráfica 32. Curva de contenido de agua por kilogramo de suelo, versus porcentaje de humedad gravimétrica de proporción S1=S2=S3



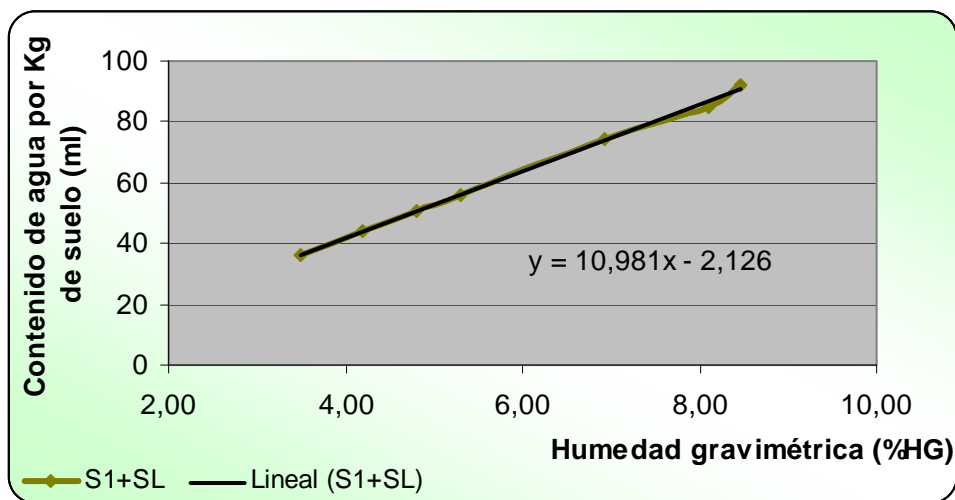
Con la información suministrada por la curva de pérdida de humedad y la curva de contenido de agua, se estableció un volumen de riego de 225 mililitros de agua, para la mezcla se suelos con proporción S1=S2=S3.

Los resultados reportados para la mezcla de S1 con suelo limpio (SL) se registran en las gráficas 33 y 34.

Gráfica 33. Curva de pérdida de humedad de S1+SL.



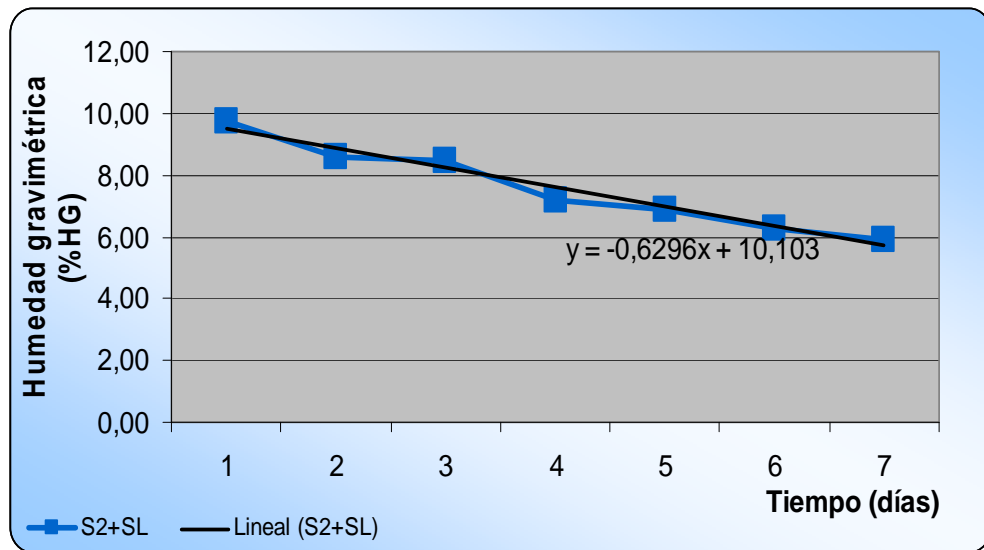
Gráfica 34. Curva de contenido de agua por kilogramo de suelo, versus porcentaje de humedad gravimétrica de S1+SL.



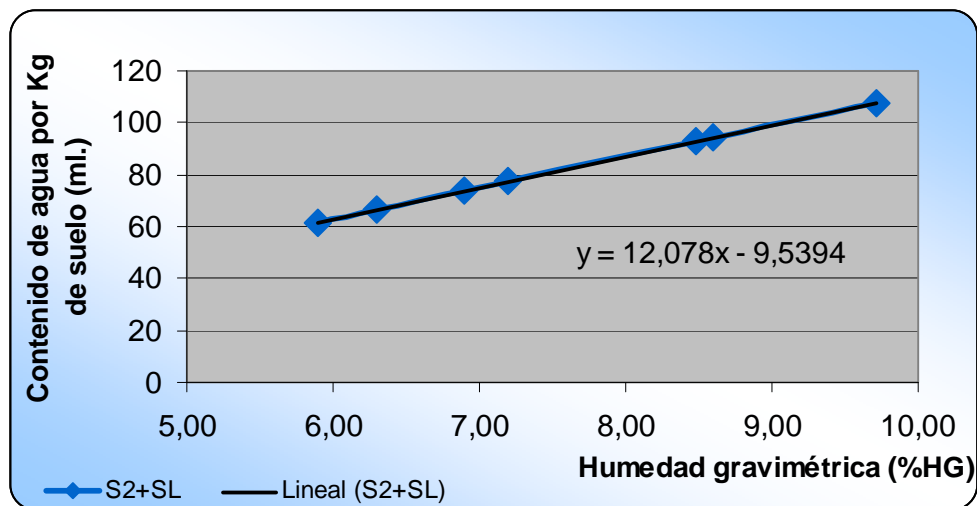
En base a ésta información, se estableció un volumen de riego de 310 mililitros de agua, para la mezcla se suelos con proporción S1+SL.

Los resultados reportados para la mezcla de S2 con suelo limpio (SL) se registran en las gráficas 35 y 36.

Gráfica 35. Curva de pérdida de humedad de S2+SL



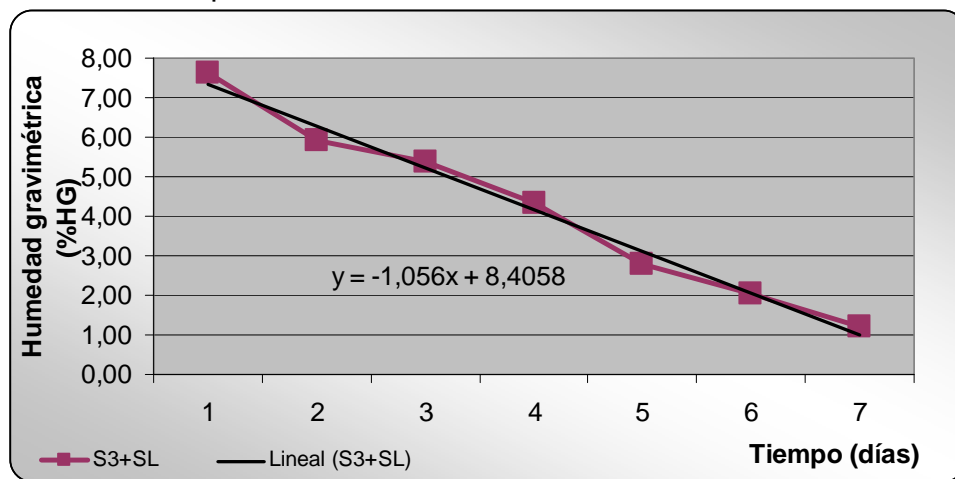
Gráfica 36. Curva de contenido de agua por kilogramo de suelo, versus porcentaje de humedad gravimétrica de S2+SL.



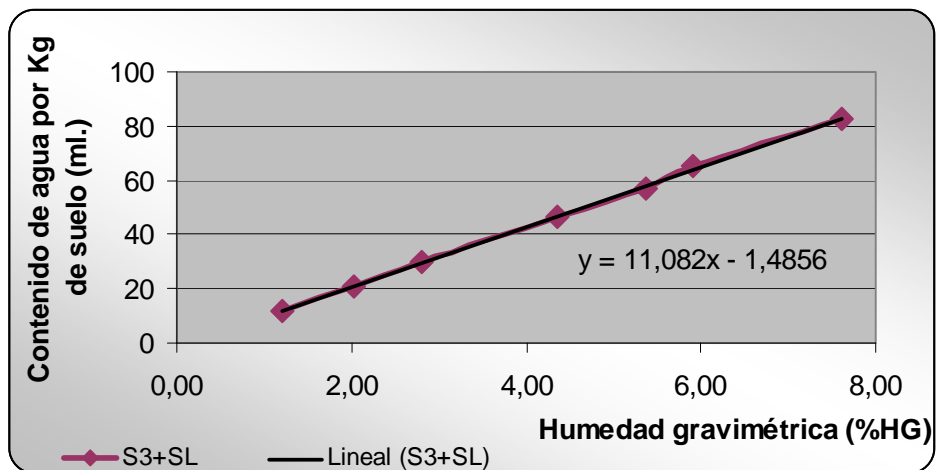
En base a la información suministrada por las curvas de pérdida de humedad y la curva de contenido de agua, se estableció un volumen de riego de 230 mililitros de agua, para la mezcla se suelos con proporción S2+SL.

Finalmente de acuerdo a los resultados obtenidos, se estableció un volumen de riego de 265 mililitros de agua, para la mezcla se suelos con proporción S3 + SL (ver gráficas 37 y 38).

Gráfica 37. Curva de pérdida de humedad de S3+SL.



Gráfica 38. Curva de contenido de agua por kilogramo de suelo, versus porcentaje de humedad gravimétrica de S3+SL.



4.4.1 Ensayo de la biodegradación de una mezcla en diferentes proporciones de los suelos contaminados con hidrocarburos (S1, S2 y S3), y la adición de un pool microbiano aislado y biomagnificado de los tres suelos. Se consideró la necesidad de establecer la proporción más adecuada de los suelos contaminados para la realización del tratamiento en mezcla y con la adición de microorganismos, para lo cual se plantearon ensayos con diferentes proporciones de cada suelo. La eficiencia del proceso fue estimada en términos del porcentaje de eliminación de los TPH presentes en los suelos, para lo cuál estos se determinaron al inicio y al final de los ensayos. Estos ensayos se realizaron en ausencia de pre-tratamiento con biosurfactante.

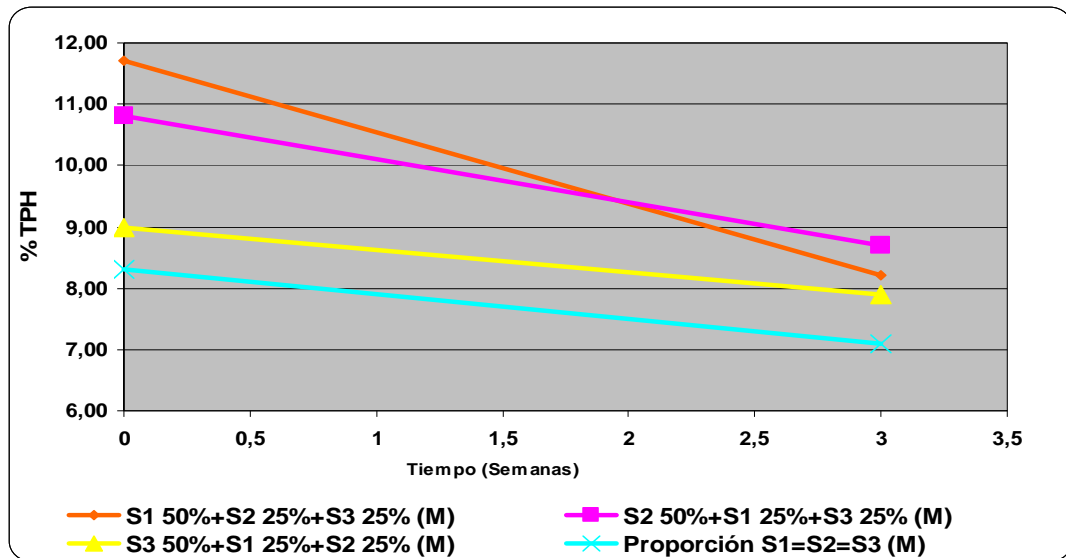
En la tabla 20 se puede observar que el mayor porcentaje de biodegradación de TPH (cercano al 30%) se registró en la mezcla con mayor participación del suelo 1, el cual presentaba el evento de contaminación más antiguo, reafirmando la hipótesis del aporte que puede generar el suelo a la microbiota de la mezcla. Así mismo, se observa que el menor porcentaje de remoción de TPH se obtuvo con el tratamiento en el que el 50 % de la mezcla lo constituye el suelo 3, con evento de contaminación más reciente. La gráfica 39 ilustra los resultados obtenidos en éstos ensayos.

Tabla 20. Porcentajes de eliminación de TPH obtenidos en ensayos de biodegradación en mezcla de los suelos contaminados.

MEZCLA	TPH inicial (%)	TPH final (%)	Degradación de TPH (%)
S1 50%+S2 25%+S3 25% (M)	11.7	8.2	29,9
S2 50%+S1 25%+S3 25% (M)	8.7	10.8	19,4
S3 50%+S1 25%+S2 25% (M)	9.0	7.9	12,2
Proporción S1=S2=S3 (M)	8.3	7.1	14,5

(M): con adición de pool microbiano seleccionado.

Gráfica 39. Remoción de TPH en ensayos de mezcla de suelos.



4.4.2 Ensayo de la biodegradación de la mejor mezcla de los suelos con contaminados con hidrocarburos (S1, S2 y S3), con la aplicación o no de un pre-tratamiento y microorganismos. Una vez establecida la proporción de mezcla de suelos más favorable para la degradación de TPH con adición del pool microbiano seleccionado de los tres suelos, se procedió a realizar ensayos sin la adición del pool microbiano, con pretratamiento pero sin pool microbiano y con pre-tratamiento y pool microbiano. Los resultados obtenidos se registran en la tabla 21.

Tabla 21. Porcentajes de eliminación de TPH en mezcla de suelos contaminados con y sin pre-tratamiento.

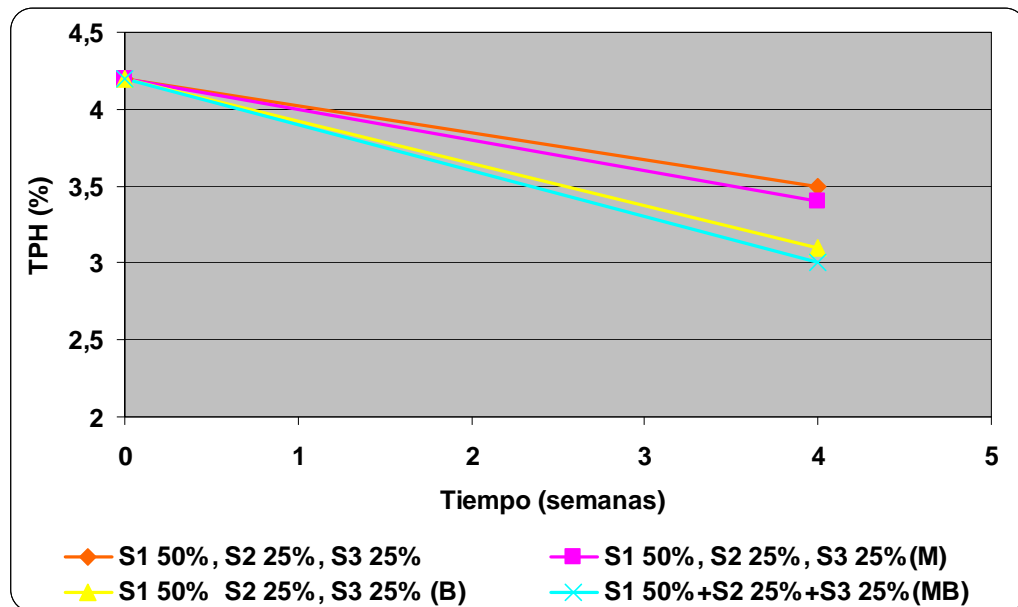
MEZCLA	TPH inicial (%)	TPH final (%)	Degradación de TPH (%)
S1 50%, S2 25%, S3 25%	4.2	3.5	16.7
S1 50% S2 25%, S3 25% (B)	4,2	3,1	26,19
S1 50%+S2 25%+S3 25%(MB)	4.2	3	28.6

(B): Con biosurfactante; (MB): Con pool microbiano y biosurfactante.

Las mayores remociones de TPH, se presentaron en el ensayo de la mezcla de los suelos con pre-tratamiento de biosurfactante y la adición del pool microbiano seleccionado (28,6%) y con pre-tratamiento pero sin la adición del pool microbiano (26.19%).

En comparación con los resultados obtenidos del tratamiento en mezcla de los suelos contaminados solo con la adición del pool microbiano, se observa un aumento en la eficiencia de degradación de TPH al realizar pre-tratamiento y aun más al realizar pre-tratamiento y adición del pool microbiano. En el tratamiento con microorganismos y biosurfactante incluso se logra un contenido de TPH final del 3%, valor máximo referenciado por la norma Louisiana 29B. Los resultados obtenidos se ilustran en la gráfica 40.

Gráfica 40. Remoción de TPH en tratamiento con mezcla de suelos contaminados, bajo diferentes condiciones.



4.4.3 Ensayo de la biodegradación de cada uno de los suelos contaminados mezclados con suelo limpio. Con el fin de establecer una comparación entre el tratamiento de suelos contaminados mezclados y su tratamiento por separado con suelo limpio, como es común en la práctica, se establecieron ensayos en los que cada suelo contaminado con hidrocarburos se trataba en mezcla con suelo limpio, pero sin la adición de microorganismos. La tabla 22 resume los resultados obtenidos.

Tabla 22. Degradación de TPH en ensayos de suelos contaminados por separado.

MEZCLA	TPH inicial (%)	TPH final(%)	Degradación de TPH (%) (6000 cm ³)*	Degradación de TPH (%) (3000 cm ³)
S1+SL	6,8	1	85,29	42.645
S2+SL	5,1	1	80,39	40.195
S3+SL	4,4	1	77,27	38.635

(SL): Suelo limpio. *Los 6000 cm³ corresponden a 3000 cm³ de suelo contaminado y 3000 cm³ de suelo limpio.

La eficiencia de la biodegradación de TPH en el suelo con evento de contaminación más antiguo (S1) superó ligeramente la eficiencia de eliminación de hidrocarburos de los demás suelos. La biodegradación TPH en cada uno de estos suelos supera en aproximadamente 10% la eliminación de hidrocarburos obtenido en el tratamiento en mezcla de estos suelos enriquecidos con pool microbiológico, la cual reportó los mejores resultados en los ensayos anteriores. Es probable que la incorporación de los microorganismos pueda generar competencia entre las comunidades presentes. Sin embargo, se debe tener en cuenta el corto periodo de tratamiento (3 semanas) lo cual apenas ilustra el inicio del proceso.

4.4.4 Ensayo de la biodegradación de cada uno de los suelos contaminados mezclados con suelo limpio, con la aplicación o no de un pre-tratamiento y microorganismos. Con el fin de evaluar las ventajas o desventajas de agregar el pool microbiano seleccionado y realizar pre-tratamiento de cada suelo

contaminado, se realizaron ensayos en presencia y ausencia de biosurfactantes y la adición o no del pool microbiano seleccionado. En la tabla 23, se resumen los resultados obtenidos en éstos ensayos.

Nuevamente se evidencia una competencia entre los microorganismos que componen el pool microbiano seleccionado y los que componen el biosurfactante, desfavoreciendo el tratamiento de los suelos con pre-tratamiento biológico y adición del pool microbiológico.

En la tabla 24 se compilan los resultados obtenidos en los ensayos con mezcla de suelos contaminados y por separado.

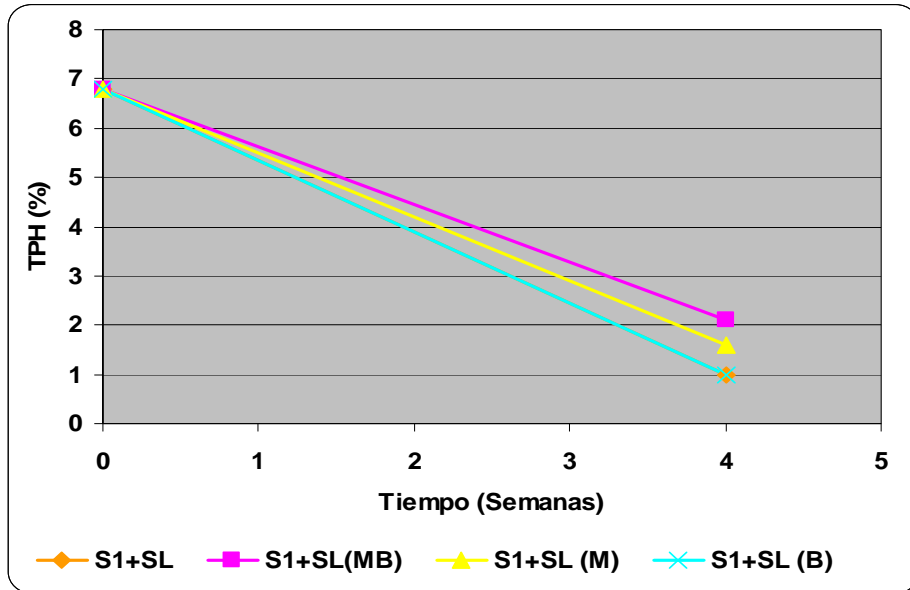
Tabla 23. Degradación de TPH en tratamiento por separado de suelos contaminados.

MEZCLA	TPH inicial (%)	TPH final (%)	Degradación de TPH en 6000 cm ³ de suelo contaminado (%)	Degradación de TPH en 3000 cm ³ de suelo contaminado (%)
S1+SL(MB)	6,8	2,1	69,12	34.56
S1+SL (M)	6,8	1,6	76,47	38.24
S1+SL (B)	6,8	1	85,29	42.65
S2+SL (MB)	5,1	1,8	64,71	32.355
S2+SL (M)	5,1	1	80,39	40.195
S2+SL (B)	5,1	1	80,39	40.195
S3+SL (MB)	4,4	3,1	29,55	14.8
S3+SL (M)	4,4	6,8	-54,55	-27.2*
S3+SL (B)	4,4	6,9	-56,82	-28.4*

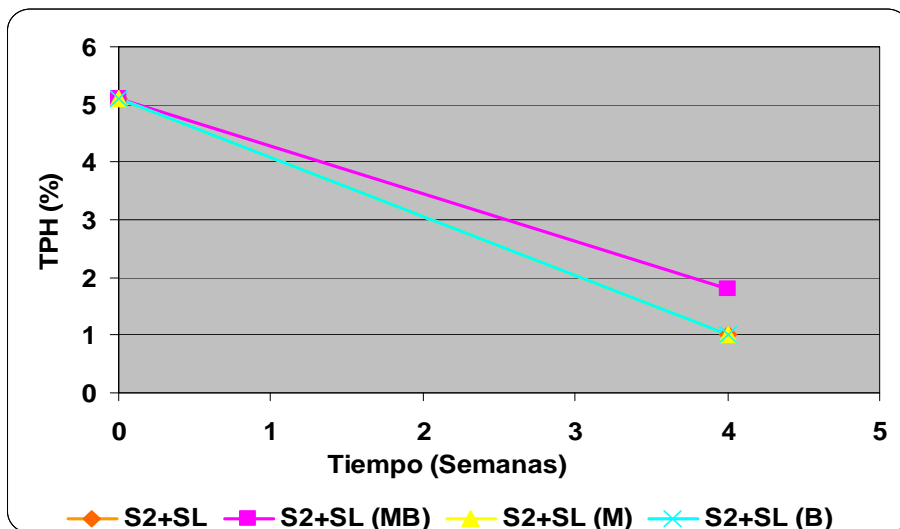
(M): Con adición de pool microbiano y pre-tratamiento con biosurfactante., (B): Con adición de pool microbiano., (MB): Con pre-tratamiento con biosurfactante., * Resultados de laboratorio erróneos

Las gráficas 41, 42 y 43 ilustran los resultados de remoción de TPH, en el tratamiento de los suelos contaminados por separado, mezclados con suelo limpio, bajo diferentes condiciones.

Gráfica 41. Remoción de TPH en mezcla de S1 y suelo limpio.



Gráfica 42. Remoción de TPH en mezcla de S2 y suelo limpio.



Gráfica 43. Remoción de TPH en mezcla de S3 y suelo limpio.

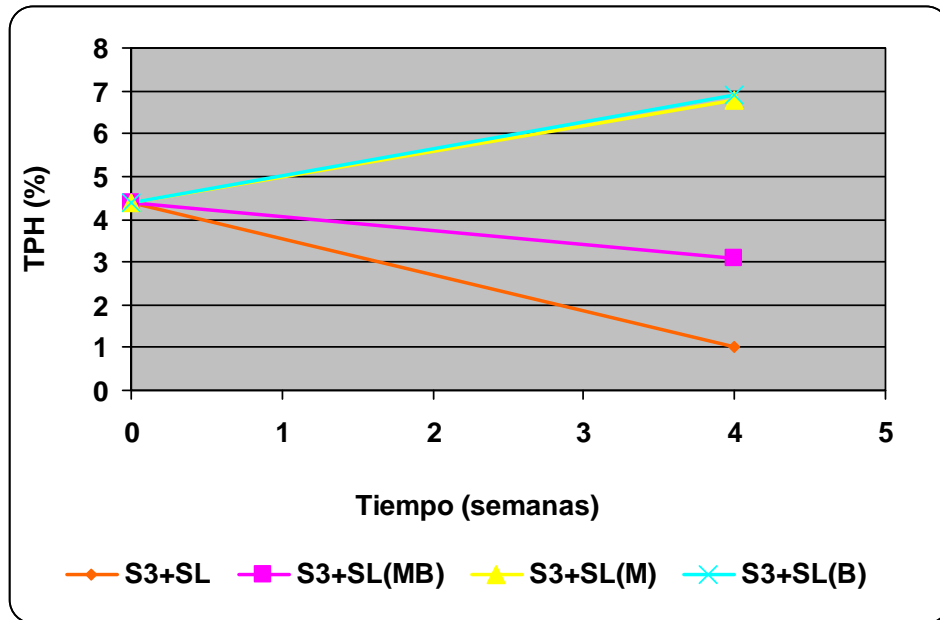


Tabla 24. Mayores remociones de TPH en tratamiento con mezcla de suelos contaminados y por separado.

MEZCLA	TPH inicial (%)	TPH final (%)	Degradación de TPH (%)
S1 50%+S2 25%+S3 25% (M)	11.7	8.2	29,9
S1 50%+S2 25%+S3 25%(MB)	11.7	8.35	28.6
S1+SL	6,8	<1	42.64
S1+SL (B)	6,8	<1	42.65
S2+SL	5,1	<1	40.195
S2+SL (M)	5,1	<1	40.195
S2+SL (B)	5,1	<1	40.195
S3+SL	4,4	<1	38.635
S3+SL (MB)	4,4	3,1	14.8

En la mezcla de suelos los mejores resultados de remoción de TPH, se reportan en los ensayos con mayor proporción del suelo con el evento de contaminación

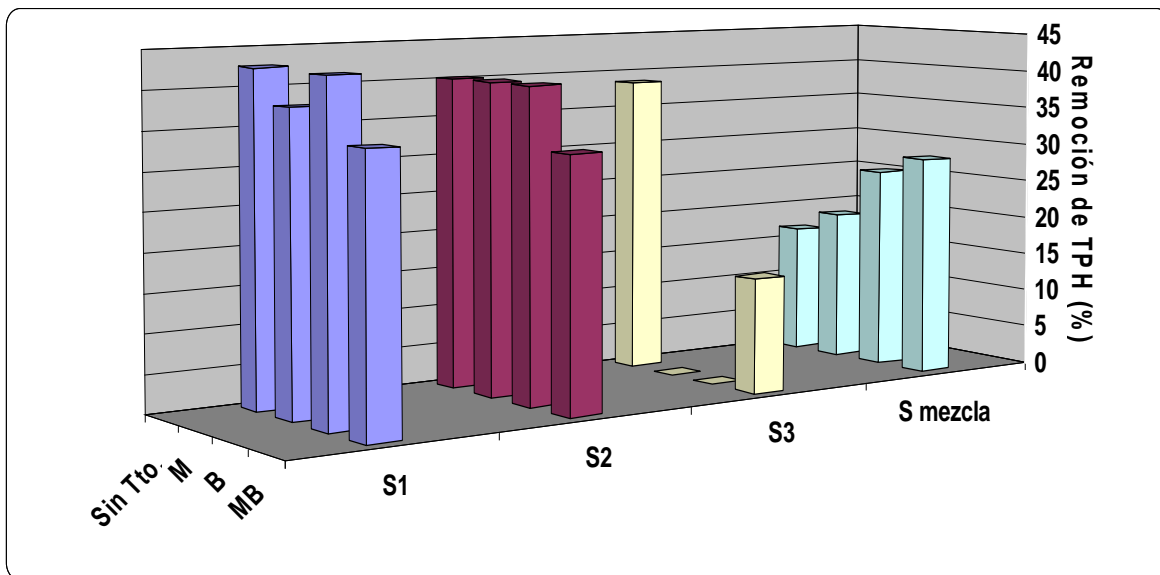
más antiguo (S1). El ensayo de ésta mezcla con la adición de un pool microbiano seleccionado de los tres suelos contaminados, reporta los mejores resultados en este tratamiento, aunque supera apenas en un 1,3% la eficiencia del tratamiento con la realización además de pre-tratamiento con biosurfactante.

El tratamiento de suelo 1, sin pretratamiento ni adición de pool microbiano, reporta los mejores resultados. Los resultados obtenidos con la realización de un pre-tratamiento, revelan que éste no resulta ser un aporte al mejoramiento del proceso. Similar situación se registra en los ensayos realizados para el suelo 2.

En cuanto al suelo 3, la adición del pool microbiano y la realización de un pre-tratamiento, reducen los porcentajes de remoción de hidrocarburos, comparado con el tratamiento solo con mezcla de suelo limpio. Cabe aclarar que se presenta incertidumbre en los resultados obtenidos, debido a la incoherencia que se detectó en algunos resultados de contenido de TPH, reportados por el laboratorio con el que se contrató la realización de estas pruebas. En la gráfica 44, donde se ilustran los resultados obtenidos en todos los ensayos realizados, se omitió registrar los resultados con incertidumbre, para no generar confusiones en la interpretación de la misma.

Sin embargo, cabe resaltar que la mezcla de suelos contaminados con un pool microbiológico, genera una buena eficiencia de remoción de TPH (aprox. 30%) a corto plazo sin requerir el pretratamiento. Esto puede proporcionar la ventaja en los tratamientos de los suelos contaminados considerando que no se contaminan nuevas áreas, sino que se trata estrictamente suelos contaminados y las eficiencias son comparables.

Gráfica 44. Resumen de remoción de TPH en estudio comparativo de biodegradación.



5. DISEÑO A ESCALA PILOTO

De acuerdo a los resultados obtenidos se diseñó en primer lugar un tratamiento de los suelos contaminados por separado, mezclados con suelo limpio en proporción 1:1 en volumen, y sin la realización de pre-tratamiento, ni la adición del pool microbiano aislado, al no ser estos de aporte para aumentar la remoción de TPH.

Teniendo en cuenta las condiciones del área dispuesta por PetroSantander (Colombia) Inc. para la realización de las pruebas a escala piloto, se plantearon las condiciones para su realización. La tabla 25 resume las especificaciones propuestas para la realización de las pruebas a escala piloto.

Tabla 25. Especificaciones para ensayos de biorremediación de los suelos contaminados con crudo por separado, a escala piloto.

Suelo	Volumen de suelo Contaminado (m3)	Volumen de suelo limpio (m3)	Frecuencia de riego	Volumen de riego (Lt de agua)	Frecuencia de volteo
S1	0,68	0,68	Diaria	20	Semanal
S2	0,68	0,68	Diaria	15	Semanal
S3	0,68	0,68	Diaria	17	Semanal

No se recomienda la adición de fertilizantes a los suelos, ya que las condiciones nutricionales de estos se encuentran dentro de los rangos recomendados por la literatura, como se señaló en el numeral 4.2.9. De acuerdo a los datos obtenidos, tampoco se considera necesaria la estabilización del pH del suelo, ya que éste se encuentra cerca de la neutralidad en los tres suelos.

Debido a los volúmenes de agua necesarios para el riego de los suelos durante el tratamiento, se recomendó el riego diario. El riego se deberá hacer manualmente, preferiblemente en horas previas al medio día, ya que éste normalmente es el periodo más caluroso del día y por tanto más crítico en cuanto a pérdida de humedad.

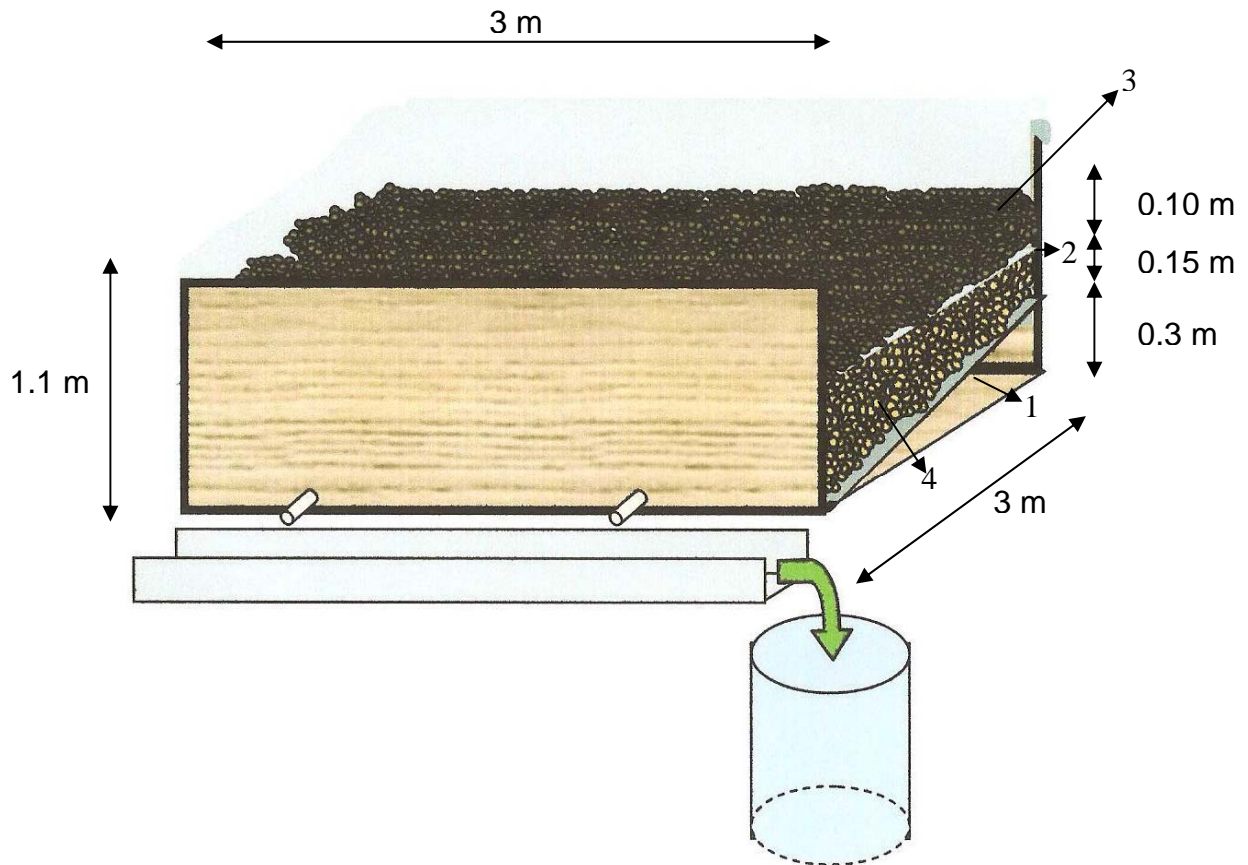
Aunque los resultados obtenidos durante la investigación demuestran una mayor eficiencia de remoción de TPH, mediante un tratamiento por separado de los suelos contaminados, se debe reconocer las ventajas que presenta la mezcla de los suelos contaminados, al no implicar traslado de contaminantes a suelos limpios y tratar mayores volúmenes reales de suelos contaminados. Por tal motivo se establecieron las condiciones bajo las cuales deberían ser realizadas las pruebas a escala piloto de un tratamiento en mezcla de suelos contaminados. La tabla 26 resume las especificaciones para la realización de éstas pruebas.

Tabla 26. Especificaciones para ensayos de biorremediación de los suelos contaminados con crudo en mezcla, a escala piloto.

Volumen de S1 (m3)	Volumen de S2 (m3)	Volumen de S3 (m3)	Frecuencia de riego	Volumen de riego (Lt de agua)	Frecuencia de volteo
0,68	0,34	0.34	Diaria	14	Semanal

Al igual que en los tratamientos antes propuestos, no se recomienda mejoras en las condiciones nutricionales de la mezcla de suelos, ni estabilización del pH. Sin embargo, se recomienda la adición del pool microbiano aislado, seleccionado y aumentado de los tres suelos en laboratorio, durante la realización de ésta investigación. La inoculación de los microorganismos deberá hacerse en proporción de 100 ml por de caldo microbiano, por cada 7 Kg de suelo.

Para el desarrollo de éstas pruebas se proponen compartimientos como se muestra en la figura 30.



Donde:

- 1: Geotextil impermeable
- 2: Geomembrana de infiltración
- 3: Suelo contaminado
- 4: Capa de arena

6. CONCLUSIONES

- Los suelos contaminados objeto de estudio, provenientes de locaciones de Campo Payoa, perteneciente a Petrosantander (Colombia) Inc., presentan infiltración rápida y permeabilidad alta, características de su textura arenosa, sin embargo, la capacidad de retención de humedad y la porosidad de éstos, fueron afectadas por el carácter hidrófobo de los hidrocarburos.
- La relación C:N:P, la temperatura y el pH de los suelos contaminados evaluados, se encuentran dentro de los rangos referenciados en la literatura, para el óptimo desarrollo de procesos de biorremediación.
- Los mejores resultados de eliminación de TPH en los suelos objeto de estudio, se obtienen cuando estos se tratan por separado, mezclados con suelo limpio, sin la adición del pool microbiológico y sin pre-tratamiento.
- En los tratamientos en mezcla de suelos contaminados, la mezcla compuesta por un 50% del suelo con evento de contaminación más antigua, 25% de suelo con tiempo de contaminación intermedia y 25 % de suelo recién contaminado, presentó la mayor remoción de TPH, con un valor máximo de 28,6% de eliminación de los mismos, en un proceso con pre-tratamiento y tratamiento con el pool microbiano.
- Para el diseño del tratamiento a escala piloto, se planteó la realización del proceso de remediación de suelos contaminados por separado, sin pre-tratamiento, ni la adición del pool microbiano, ya que éstos fueron los que

mayores eficiencias de remoción de TPH durante los ensayos en laboratorio.

- Considerando que tratando los suelos en mezcla no se transfiere contaminantes a suelo limpio, que la eficiencia de remoción de TPH mediante éste proceso no difiere de manera significativa con la mayor eficiencia reportada en los procesos realizados para los suelos por separado y que en el proceso con mejor remoción de estos en mezcla reporto un contenido de hidrocarburos igual al 3.0% sugerido como valor máximo por la norma Louisiana 29B, se recomendó realizar también tratamiento a escala piloto con mezcla de suelos contaminados, pre-tratados e inoculados con el pool de microorganismos obtenido de los tres.

7. RECOMENDACIONES

- Se recomienda hacer ensayos de biodegradación de suelos contaminados en mezcla de estos, con un mayor tiempo de seguimiento.
- Realizar estudios del desarrollo microbiológico en los suelos con tratamiento en mezcla de suelos contaminados, paralelamente a determinaciones frecuentes de TPH, para verificar la participación de los microorganismos en el proceso.
- Hacer estudios de seguimiento de los productos de la degradación de los hidrocarburos, en tratamientos de biodegradación con mezcla de suelos contaminados.
- Realizar caracterización microbiológica del suelo limpio utilizado para mezcla con suelo contaminado, para establecer su aporte microbiológico al proceso.

8. BIBLIOGRAFÍA

- LAGREGA, Michael D., BUCKINGHAM, Phillip L., EVANS, Heffrey C. Gestión de residuos tóxicos: tratamiento, eliminación y recuperación de suelos. Madrid, McGraw-Hill, 1996.
- ATLAS, R. M. y BARTHA, R. Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental. Madrid: Pearson Educación S.A., 2002.
- EWEIS, Juana B., ERGAS, Sarina J., CHANG, Daniel P. Y. y SCHROEDER, Edward D. Principios de Biorrecuperación: Tratamientos para la descontaminación y regeneración de suelos y aguas subterráneas mediante procesos biológicos y físico-químicos. España: Editorial McGraw Hill/Interamericana de España S. A. U., 1999.
- GRANT, W. D.y LONG, P.E. Microbiología ambiental. Zaragoza (España): Editorial Acriba S.A. 1989.
- MECANICA DE SUELOS. Ing. Msc. Margarita Polanco de Hurtado. Universidad del Cauca.
- MANUAL DE LABORATORIO DE ANÁLIS DE SUELOS. Ing. Esp. Angélica María Muskus Morales. Universidad Pontificia Bolivariana.
- Guía para la evaluación de la calidad y salud del suelo. Departamento de agricultura de los Estados Unidos de Norteamérica-USDA, 1999. Disponible en Internet: <http://soils.usda.gov/sqi/assessment/files/KitSpanish.pdf>


- FOTH, Henry D. Fundamentos de la ciencia del suelo. Mexico D.F.: Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V. 1985.
- BRISSIO, Pedro Augusto. Evaluación preliminar del estado de contaminación en suelos de la provincia del Neuquén donde se efectúan actividades de explotación hidrocarburífera. Escuela superior de Salud y Ambiente, Universidad Nacional de Comahue, 2005. Disponible en Internet: <http://www.tesis.bioetica.org/pab7.htm>
- PELLINI, Leandro. Biorremediación estimulada por efluentes cloacales tratados de suelos contaminados con hidrocarburos. Escuela superior de Salud y Ambiente, Universidad Nacional de Comahue, 2006. Disponible en Internet: <http://www.tesis.bioetica.org/lp.htm>

ANEXO A

FORMATOS DILIGENCIADOS DURANTE LA CARACTERIZACIÓN FÍSICO QUÍMICA.

ANEXO A1

FORMATOS DILIGENCIADOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA TEXTURA



Universidad Pontificia Bolivariana
BUCARAMANGA

OBRA: Proyecto de grado Ing. Ambiental.
 LOCALIZACIÓN: Campo R4109 FECHA: _____
 ENSAYO No.: 1 OPERADOR: Diana Ibarra
 MUESTRA No.: _____ CALCULO: Diana Ibarra
 DESCRIPCIÓN: Muestra Suelo 1

ANALISIS GRANULOMETRICO

T A M I Z	PESO RET	% RETENIDO	% RET TOTAL	% PASA TOTAL
3"				
2 1/2"				
2"				
1 1/2"				
1"				
3/4"				
1/2"				
3/8"			100	100
No. 4	247.4	13.59	13.59	86.41
8				
10	237.3	13.04	26.63	73.37
16				
20	353.4	18.32	44.95	55.05
30				
40	235.5	12.94	57.89	42.11
50				
60	20.9	1.14	59.03	40.97
80				
100	50.32	2.76	61.79	38.21
200	70.20	3.86	65.65	34.35
FONDO	457621.6	34.35	100.03	0
TOTAL				

% pasa tamiz No. 200 34.35

Fracción gruesa _____

50% Fracción gruesa _____

% Retenido total No. 4 _____

$C_u = \frac{D_{60}}{D_{10}}$

$C_c = \frac{(D_{30})}{D_{60} * D_{10}}$

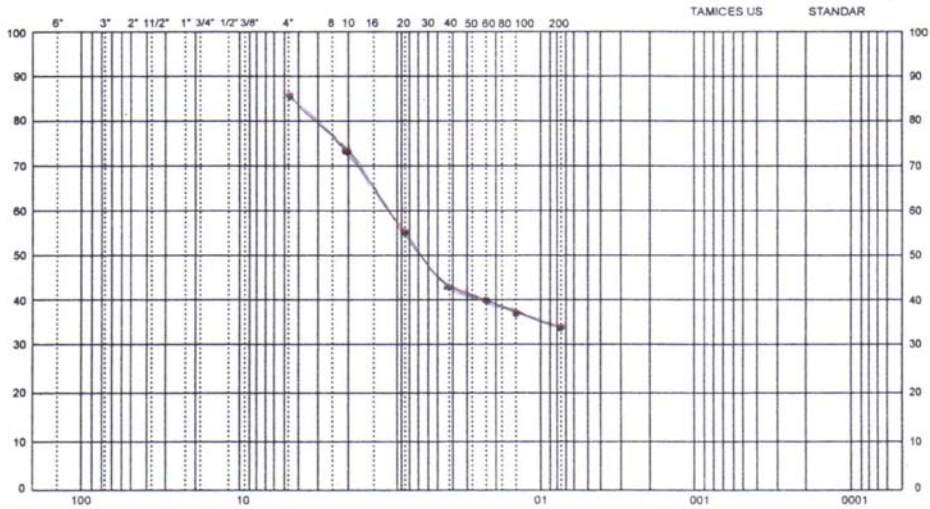
% Retenido = F x Peso Retenido

$F = \frac{100}{\text{Peso total muestra}} = \frac{100}{_____}$

> 3" _____ %
 G _____ %
 S _____ %
 F _____ %

% Retenido total de tamices

Modulo de Finura = 100




CANT	G R A V A S		A R E N A S			F I N O S	
ROD	GRUESAS	FINAS	GRUESAS	MEDIAS	FINAS	LIMO	ARCILLAS

OBSERVACIONES _____

LITO CLAUDIA TEL 4350772

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE BIODEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO (TPH) EN SUELOS CONTAMINADOS PROCEDENTES DE PETROSANTANDER (COLOMBIA) INC.



**universidad
Pontificia
Bolivariana**
BUARAMANGA

OBRA: Proyecto de grado Ing. Ambtl.
 LOCALIZACION: Campo Payoa
 ENSAYO No.: 1
 MUESTRA No.: 1
 DESCRIPCION: Muestra de Suelo 2

FECHA: _____
 OPERADOR: Diana Ibarra
 CALCULO: Diana Ibarra

ANALISIS GRANULOMETRICO

$P_1 = 1747.7 \text{ gr}$ $P_2 = 1291.1 \text{ gr}$

T A M I Z	PESO RET	% RETENIDO	% RET TOTAL	% PASA TOTAL
3"				
2 1/2"				
2"				
1 1/2"				
1"				
3/4"				
1/2"				
3/8"				
No. 4	138.4	7.92	7.92	92.08
8				
10	150.2	8.6	16.52	83.48
16				
20	202.7	11.6	28.12	71.88
30				
40	315.4+1.2	18.12	46.24	53.76
50				
60	185	10.6	56.84	43.18
80				
100	177.4	10.2	69.04	32.96
200	69.3	3.47	71.01	28.99
FONDO	1.5+506.6	28.98	99.99	0.01
TOTAL				

% pasa tamiz No. 200 28.99

Fracción gruesa _____

50% Fracción gruesa _____

% Retenido total No. 4 _____

$C_u = \frac{D_{60}}{D_{10}}$

$C_c = \frac{(D_{30})}{D_{60} * D_{10}}$

% Retenido = F x Peso Retenido

$F = \frac{100}{\text{Peso total muestra}} = \frac{100}{_____}$

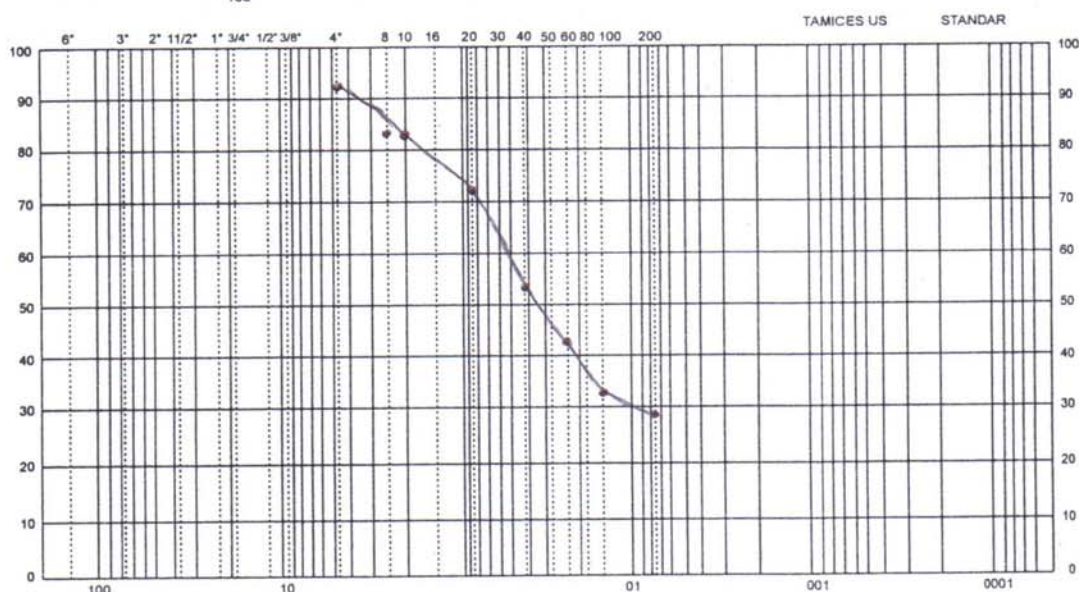
> 3" _____ %

G _____ %

S _____ %

F _____ %


Modulo de Finura = $\frac{\% \text{ Retenido total de tamices}}{100}$



CANT	GRAVAS		ARENAS			FINOS	
	GRUESAS	FINAS	GRUESAS	MEDIAS	FINAS	LIMO	ARCILLAS

OBSERVACIONES _____

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE BIODEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO (TPH) EN SUELOS CONTAMINADOS PROCEDENTES DE PETROSANTANDER (COLOMBIA) INC.



universidad Pontificia Bolivariana
BUCARAMANGA

OBRA: Proyecto de grado Ing. Ambtal.
 LOCALIZACION: Campo Patoca
 ENSAYO No.: 1
 MUESTRA No.: 1
 DESCRIPCION: Muestra de Suelo 3

FECHA: _____
 OPERADOR: Diana Ibarra
 CALCULO: Diana Ibarra

ANÁLISIS GRANULOMÉTRICO

$P_1 = 1820.1$ $P_2 = 1181.47$

T A M I Z	PESO RET	% RETENIDO	% RET TOTAL	% PASA TOTAL
3"				
2 1/2"				
2"				
1 1/2"				
1"				
3/4"				
1/2"				
3/8"			0	100
No. 4	247.4	13.59	13.59	86.41
8				
10	237.3	13.03	26.62	73.41
16				
20	300.4	16.56	43.18	56.82
30				
40	199.7	10.97	54.15	45.85
50				
60	128.9	7.08	61.23	38.77
80				
100	28	0.15	61.38	38.62
200	28.4	0.16	61.54	38.46
FONDO	601640.03	38.46	100	0.03
TOTAL				

% pasa tamiz No. 200 38.49

Fracción gruesa _____

50% Fracción gruesa _____

% Retenido total No. 4 _____

$C_u = \frac{D_{60}}{D_{10}}$

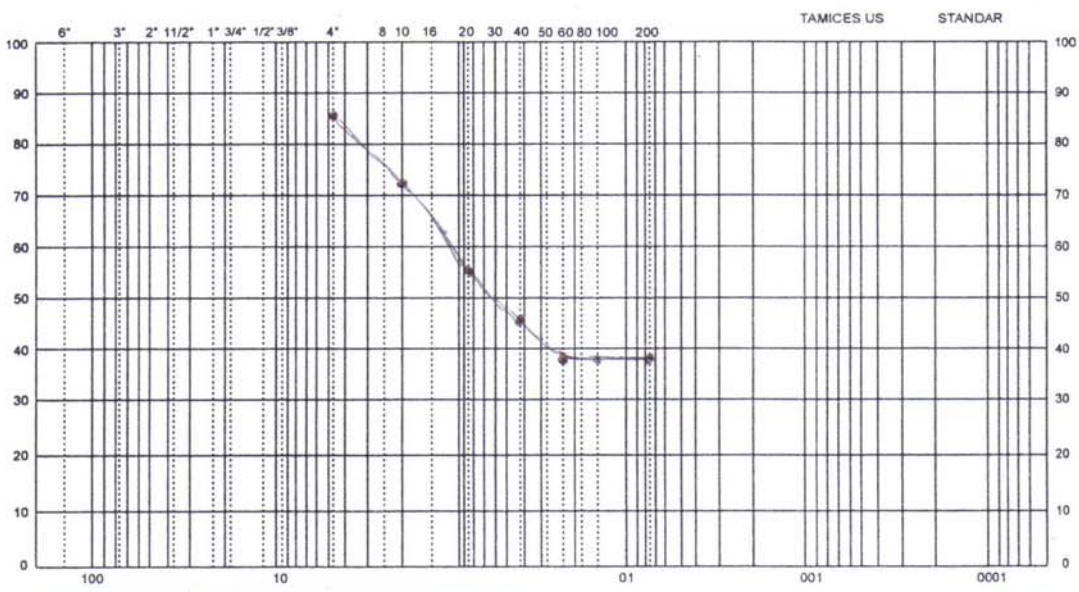
$C_c = \frac{(D_{30})}{D_{60} * D_{10}}$

% Retenido = F x Peso Retenido

$F = \frac{100}{\text{Peso total muestra}} = \frac{100}{_____}$

> 3" _____ %
 G _____ %
 S _____ %
 F _____ %

Modulo de Finura = $\frac{\% \text{ Retenido total de tamices}}{100}$




CANT	G R A V A S		A R E N A S			F I N O S	
	GRUESAS	FINAS	GRUESAS	MEDIAS	FINAS	LIMO	ARCILLAS

OBSERVACIONES _____

ANEXO A2

FORMATOS DILIGENCIADOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD REAL DE LOS SUELOS CONTAMINADOS



Universidad Pontificia Bolivariana
BUCARAMANGA

PESO ESPECIFICO RELATIVO

OBRA: Proyecto de grado Ing. Ambiental

LOCALIZACIÓN: _____

SONDEO No: _____ ENSAYO No: _____

MUESTRA No: _____ PROFUNDIDAD: _____

DESCRIPCIÓN: Muestra de Suelo 1

FECHA: _____

OPERADOR: Diana Ibarra

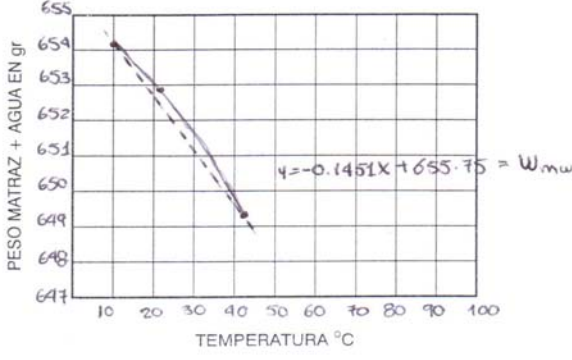
CALCULO: Diana Ibarra

PRUEBA No.	1	2	GS promedio
MATRAZ No.	1	1	
WMWS (gr)	709.7	709.3	
TEMPERATURA (T°C)	25°	25°	
WMW (gr)	652.1225	652.1225	
CAPSULA DE EVAPORACION No.	1	2	
PESO CAPSULA + MUESTRA SECA (gr)	426.6	421.5	
PESO CAPSULA (gr)	327.9	322.7	
WS (gr)	98.7	98.8	
GS	2.4	2.37	2.38 g/cm ³


$$\text{Densidad} = \frac{W_s}{W_s + W_{mw} - W_{mws}} \cdot K$$

$K: \text{Factor corrección a } T. \text{ ensayo}$
 $L_0 25^\circ\text{C} = 0.9969 \text{ g/cm}^3$

TEMPERATURA (°C.)	10°	21.8°	43°
PESO (gr.)	654.1	652.9	649.4



$y = -0.1451x + 655.75 = W_{mw}$



Universidad Pontificia Bolivariana
BUCARAMANGA

PESO ESPECIFICO RELATIVO

OBRA: Proyecto de grado Ing. Ambiental

FECHA: DIA: MES: AÑO:

LOCALIZACION:

SONDEO No. ENSAYO No.

MUESTRA No. PROFUNDIDAD:

DESCRIPCION: Muestra de suelo 2

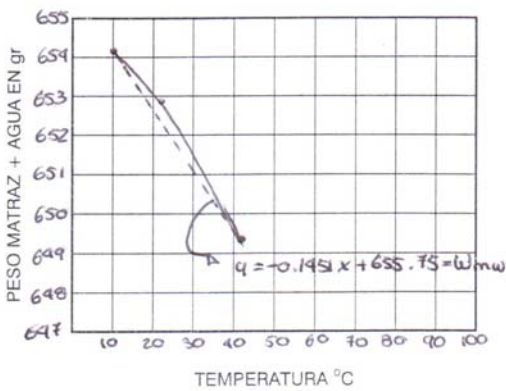
OPERADOR: Diana Ibarra

CALCULO: Diana Ibarra

PRUEBA No.	1	2	Gs. promedio	
MATRAZ No.	1	1		
WMWS (gr)	703.4	696.3		
TEMPERATURA (T°C)	25°	25°		
WMW (gr)	652.1225	652.1225		
CAPSULA DE EVAPORACION No.	3	4		
PESO CAPSULA + MUESTRA SECA (gr)	425.4	365.4		
PESO CAPSULA (gr)	329.3	282.4		
WS (gr)	96.1	83		
GS	2.14	2.13	2.128 g/cm ³	


$$\text{Densidad} = \frac{Ws}{Ws + Wmw - Wmws}$$

DATOS DE CALIBRACION DE MATRAZ				
TEMPERATURA	10°	21.8°	43°	
PESO	654.1	652.9	649.4	



Y-axis: PESO MATRAZ + AGUA EN gr
X-axis: TEMPERATURA °C
Equation: $y = -0.1451x + 655.75 = Wmw$

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE BIODEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO (TPH) EN SUELOS CONTAMINADOS PROCEDENTES DE PETROSANTANDER (COLOMBIA) INC.



Universidad Pontificia Bolivariana
BUCARAMANGA

PESO ESPECIFICO RELATIVO

OBRA: Proyecto de grado Ing. Ambiental

LOCALIZACION:

SONDEO No. ENSAYO No.

MUESTRA No. PROFUNDIDAD:

DESCRIPCION:
Muestra de Suelo 3

FECHA:
DIA: MES: AÑO:

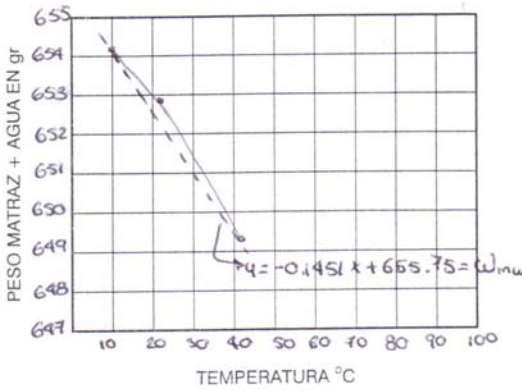
OPERADOR:
Diana Ibarra

CALCULO:
Diana Ibarra

PRUEBA No.	1	2	Gs promedio		
MATRAZ No.	1	1			
WMWS (gr)	707.2	707	}		
TEMPERATURA (T°C)	25°	25°			
WMW (gr)	652.1225	652.1225			
CAPSULA DE EVAPORACION No.	5	6			
PESO CAPSULA + MUESTRA SECA (gr)	414.6	416.4			
PESO CAPSULA (gr)	317.3	314.3			
WS (gr)	97.3	102.1			
GS	2.3	2.16	2.22 g/cm ³		

$$\text{Densidad} = \frac{Ws}{Ws + Wmw - Wmws}$$

DATOS DE CALIBRACION DE MATRAZ				
TEMPERATURA	10°	21.8°	43°	
PESO	654.1	652.9	649.4	




TEMPERATURA °C

ANEXO B

RESULTADOS DE LABORATORIO DE CONTENIDO DE CARBONO, NITROGENO Y FOSFORO EN LOS SUELOS CONTAMINADOS

RESULTADOS DE LABORATORIO DE CONTENIDO DE CARBONO, NITROGENO Y FOSFORO EN LOS SUELOS CONTAMINADOS

LABORATORIO QUÍMICO DE SUELOS		CONVENIO GOBERNACIÓN DE SANTANDER - UIS										ANÁLISIS DE SUELOS: UN BIENEFICIO MAYOR Y PRIORITARIO PARA EL CAMPO									
PROGRAMA DE SUELOS DIRECCIÓN: Carrera 27 Calle 9 Ciudad Universitaria Teléfono: 634400 Ext. 2499 Bucaramanga - Santander del Sur		SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL ESCUELA DE QUÍMICA - UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER Teléfono: (7)6324861 - Correo Electrónico: laboratorioquimicosuelos_uis@yahoo.com										DÍA 30	MES Julio	AÑO 20							
LABORANTE: Diana Marcela Ibarra (Petrosantander)		MUNICIPIO: Sabana de Torres	VEREDA: La Payoa			Finca:															
DIRECCIÓN: Cra 24 A # 84-07 Diam. II		TELÉFONOS: 6360174			DEPARTAMENTO: Santander			CARACTERIZACIÓN			ELEMENTOS MENORES		Cultivo: AZUFRE		CIC						
TOPOGRAFÍA: Plana		EXTENSIÓN: 50 m ²			ANÁLISIS SOLICITADOS										CIC		CIC				
RESULTADO DEL ANÁLISIS DE SUELOS																					
No. Orden	No. Lab.	pH Unidad	% C	P (ppm) Bray II	Ca	Mg	Na	K	Al	% Arena	% Limo	% Arcilla	TEXTURA	CIC meq/100g	CE mmhos/cm	S	B	Fe	Mn	Cu	
	2750	---	0,58	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	2751	---	0,32	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	2752	---	0,37	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
PARAMETROS		MÉTODO ANALÍTICO										OBSERVACIONES									
pH: Potencial de Hidrógeno		Electrométrico: Relación 1:1 Agua destilada										N.D.: No detectable a la mínima concentración detectada para el método Lab. # 2750: Lote 1 Lab. # 2751: Lote 2 Lab. # 2752: Lote 3									
C: Carbono		Colorimétrico: Walkley Black K2Cr2O7-H2SO4																			
P: Fósforo disponible		Colorimétrico: Bray II, HCl 0,1 N-NH4F 0,03 N																			
Ca, Mg, Na, K		Absorción Atómica: Extracción: Acetato de Amonio																			
Al: Aluminio intercambiable		Valoración: Extracción KCl																			
% Textura		Bouyoucos: Agua destilada																			
B: Boro		Colorimétrico: Extracción Fosfato Monocálcico																			
Fe, Mn, Cu, Zn		Absorción Atómica: Extracción con DTPA																			
S: Azufre		Turbidimétrico: Extracción Fosfato Monocálcico																			
CIC Capacidad Intercambio Catiónico		Electrométrico: Extracción Acetato de Amonio																			
CE: Conductividad Eléctrica		Agua destilada																			


 JAIME H. CAMARGO HERNÁN
 Químico
 Mat. Prof. 0047



ACREDITADO ISO 17025 RESOLUCION 0184 DE 2005

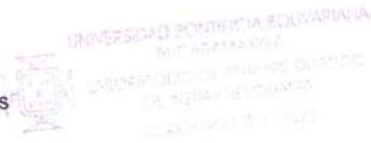
LABORATORIO DE ANALISIS QUIMICO DE AGUAS RESIDUALES
 REPORTE DE RESULTADOS DE ENSAYO F-5.10-01

DESCRIPCION DE LA MUESTRA

CLIENTE: PETROSANTANDER	CLIENTE: PETROSANTANDER	CLIENTE: PETROSANTANDER
CODIGO: 97	CODIGO: 98	CODIGO: 99
FUENTE: M - 1	FUENTE: M - 2	FUENTE: M - 3
FECHA DE INGRESO: 11-05-07	FECHA DE INGRESO: 11-05-07	FECHA DE INGRESO: 11-05-07
FECHA DE REPORTE: 18-06-07	FECHA DE REPORTE : 18-06-07	FECHA DE REPORTE : 18-06-07

ANALISIS	UNIDADES	VALOR					METODO
		97	98	99	Incertidumbre	Limite maximo Decreto 1594/84	
Nitrogeno Total	g/Kg Ntotal	0.7	0.42	0.35	----	----	4500Ntotal
Fosforo	g/Kg PO4	0.58	0.37	0.12	----	----	4500- P-E
TPH	mg/Kg	3772	3875	6101	----	----	EPA 9071A

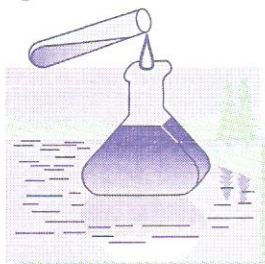
P/ALH
CLAUDIA SOFIA QUINTERO DUQUE
 Coordinadora Laboratorio de Aguas Residuales



“Los resultados reportados corresponden unicamente a las muestras analizadas “
 “ El contenido del reporte no se puede reproducir parcialmente solo en forma total previa autorización del Laboratorio de Aguas Residuales”.

ANEXO C

RESULTADOS REPORTADOS POR EL LABORATORIO DE ANÁLISIS DE TPH



PSL PROANALISIS LTDA

Proyectos, Asesorías, Servicios, Diseños e
Ingeniería de la Industria Petrolera y Ambiental
Análisis Físico-Químico, Microbiológico y
Biológico de Aguas, Suelos y Aire
Análisis de Alimentos, Foliaves, Abonos,
Fertilizantes y Afines

NIT. 800.193.010-3

INFORME DE LABORATORIO

Informe No.: 385-07

Fecha de emisión: Diciembre 3 de 2007

Solicitante: UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BUCARAMANGA – PROYECTO AMBIENTAL

Dirección: Calle 48 N° 39-294 Bucaramanga

Protocolo de muestreo: Protocolo del Cliente

Muestras tomadas por: DIANA IBARRA

Lugar de muestreo: -

Fecha de muestreo: Noviembre 19 de 2007

Tipo de muestras: Muestra SUELO

Fecha / Hora de recepción: Noviembre 19 de 2007/ 4 pm

Fecha de análisis: Noviembre 20 - 25 de 2007

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE SUELOS

ANÁLISIS	IDENTIFICACION DE LA MUESTRA				UNIDADES	METODO	VALORES MAXIMOS PERMITIDOS POR LA NORMA LOUISIANA 29B
	M1	M2	M3	M4			
HIDROCARBUROS TPH	9.0	11.7	8.7	8.3	%	S.M.5520.E	3.0

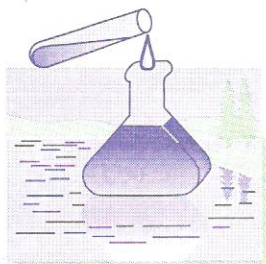
- Laboratorio Acreditado por el IDEAM mediante Resolución N° 044 de Marzo 14 de 2007 bajo la Norma ISO 17025. Ver alcance en Resolución.
- Laboratorio autorizado por el Instituto Colombiano Agropecuario ICA para análisis fisicoquímico de alimentos, según Resolución 00921 de mayo 16 de 2001 y autorizado por la Secretaría de Salud Departamental de Santander para análisis de alimentos y aguas para consumo humano Cod 6800109109 de Mayo 8 de 2002.
- Laboratorio inscrito en el Sistema Nacional Ambiental (SINA) del Ministerio del Medio Ambiente.
- Participante en el programas de pruebas interlaboratorios del IDEAM y en el programa interlaboratorios de control de calidad para agua potable PICCAP coordinado por el Instituto Nacional de Salud.
- Laboratorio autorizado por el Instituto Nacional de Salud del Ministerio de la Protección Social para realizar Análisis organolépticos, físico, químico y microbiológicos al agua potable Resolución N°004645 Dic. 15 de 2005, participante programa interlaboratorios de control de calidad de agua potable, PICCAP.
- A nivel internacional participante en el programa andino de ensayos, ejercicios intercomparacion. Programa de Cooperacion y Asistencia Técnica Unión Europea y Comunidad Andina en materia de calidad de aguas.

*"Este informe de resultados es válido únicamente para las muestras analizadas y relacionadas en él.
Cualquier reproducción parcial requiere de la autorización de PSL PROANALISIS LTDA"*

Revisado y Aprobado por:


Director del Laboratorio
PSL PROANALISIS LTDA

AMLETO LEON TELLEZ
QUÍMICO - MSc M.P 0553
Director del Laboratorio



PSL PROANALISIS LTDA

NIT. 800.193.010-3

Proyectos, Asesorías, Servicios, Diseños e
Ingeniería de la Industria Petrolera y Ambiental
Análisis Físico-Químico, Microbiológico y
Biológico de Aguas, Suelos y Aire
Análisis de Alimentos, Foliaves, Abonos,
Fertilizantes y Afines

INFORME DE LABORATORIO

Informe No.: 386-07

Fecha de emisión: Diciembre 3 de 2007

Solicitante: UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BUCARAMANGA – PROYECTO AMBIENTAL

Dirección: Calle 48 N° 39-294 Bucaramanga

Protocolo de muestreo: Protocolo del Cliente

Muestras tomadas por: DIANA IBARRA

Lugar de muestreo: -

Fecha de muestreo: Noviembre 30 de 2007

Tipo de muestras: Muestra SUELO

Fecha / Hora de recepción: Noviembre 30 de 2007/ 2 pm

Fecha de análisis: Noviembre 30 – Dic. 3 de 2007

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE SUELOS

ANÁLISIS	IDENTIFICACION DE LA MUESTRA				UNIDADES	METODO	VALORES MAXIMOS PERMITIDOS POR LA NORMA LOUISIANA 29B
	S12	S22	S32	S42			
HIDROCARBUROS TPH	8.2	10.8	7.9	7.1	%	S.M.5520.E	3.0

- Laboratorio Acreditado por el IDEAM mediante Resolución N° 044 de Marzo 14 de 2007 bajo la Norma ISO 17025. Ver alcance en Resolución.
- Laboratorio autorizado por el Instituto Colombiano Agropecuario ICA para análisis fisicoquímico de alimentos, según Resolución 00921 de mayo 16 de 2001 y autorizado por la Secretaría de Salud Departamental de Santander para análisis de alimentos y aguas para consumo humano Cod 6800109109 de Mayo 8 de 2002.
- Laboratorio inscrito en el Sistema Nacional Ambiental (SINA) del Ministerio del Medio Ambiente.
- Participante en el programas de pruebas interlaboratorios del IDEAM y en el programa interlaboratorios de control de calidad para agua potable PICCAP coordinado por el Instituto Nacional de Salud.
- Laboratorio autorizado por el Instituto Nacional de Salud del Ministerio de la Protección Social para realizar Análisis organolépticos, físico, químico y microbiológicos al agua potable Resolución N°004645 Dic. 15 de 2005, participante programa interlaboratorios de control de calidad de agua potable, PICCAP.
- A nivel internacional participante en el programa andino de ensayos, ejercicios intercomparacion. Programa de Cooperacion y Asistencia Técnica Unión Europea y Comunidad Andina en materia de calidad de aguas.

*"Este informe de resultados es válido únicamente para las muestras analizadas y relacionadas en él
Cualquier reproducción parcial requiere de la autorización de PSL PROANALISIS LTDA"*

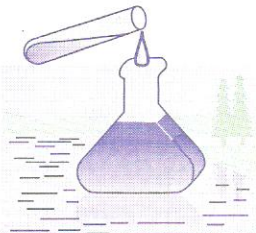
Revisado y Aprobado por:



Amleto Leon Tellez
Director del Laboratorio

PSL PROANALISIS LTDA

AMLETO LEON TELLEZ
QUÍMICO - MSc M.P 0953
Director del Laboratorio



**PSL
PROANALISIS
LTDA**

Proyectos, Asesorías, Servicios, Diseños e
Ingeniería de la Industria Petrolera y Ambiental

Análisis Físico-Químico, Microbiológico y
Biológico de Aguas, Suelos y Aire

Análisis de Alimentos, Foliaves, Abonos,
Fertilizantes y Afines

INFORME DE LABORATORIO

NIT. 800.193.010.3

Informe No.: 386-07

Fecha de emisión: Diciembre 3 de 2007

Solicitante: PETROSANTANDER COLOMBIA

Dirección: Calle 58 N° 8 - 11. Tel: 6532998 Girón

Protocolo de muestreo: Protocolo del Cliente

Muestras tomadas por: DIANA IBARRA

Lugar de muestreo: -

Fecha de muestreo: Noviembre 30 de 2007

Tipo de muestras: Muestra SUELO

Fecha / Hora de recepción: Noviembre 30 de 2007/ 2 pm

Fecha de análisis: Noviembre 30 – Dic. 3 de 2007

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE SUELOS

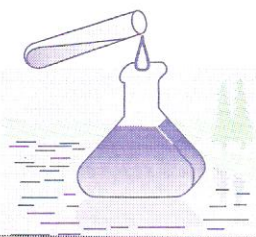
ANÁLISIS	IDENTIFICACION DE LA MUESTRA				UNIDADES	METODO	VALORES MAXIMOS PERMITIDOS POR LA NORMA LOUISIANA 29B
	S12	S22	S32	S42			
HIDROCARBUROS TPH	8.2	10.8	7.9	7.1	%	S.M.5520.E	3.0

- Laboratorio Acreditado por el IDEAM mediante Resolución N° 044 de Marzo 14 de 2007 bajo la Norma ISO 17025. Ver alcance en Resolución.
- Laboratorio autorizado por el Instituto Colombiano Agropecuario ICA para análisis fisicoquímico de alimentos, según Resolución 00921 de mayo 16 de 2001 y autorizado por la Secretaria de Salud Departamental de Santander para análisis de alimentos y aguas para consumo humano Cod 6800109109 de Mayo 8 de 2002.
- Laboratorio inscrito en el Sistema Nacional Ambiental (SINA) del Ministerio del Medio Ambiente.
- Participante en el programas de pruebas interlaboratorios del IDEAM y en el programa interlaboratorios de control de calidad para agua potable PICCAP coordinado por el Instituto Nacional de Salud.
- Laboratorio autorizado por el Instituto Nacional de Salud del Ministerio de la Protección Social para realizar Análisis organolépticos, físico, químico y microbiológicos al agua potable Resolución N°004645 Dic. 15 de 2005, participante programa interlaboratorios de control de calidad de agua potable, PICCAP.
- A nivel internacional participante en el programa andino de ensayos, ejercicios intercomparación. Programa de Cooperación y Asistencia Técnica Unión Europea y Comunidad Andina en materia de calidad de aguas.

*"Este informe de resultados es válido únicamente para las muestras analizadas y relacionadas en él.
Cualquier reproducción parcial requiere de la autorización de PSL PROANALISIS LTDA"*

Revisado y Aprobado por:


Director del Laboratorio
PSL PROANALISIS LTDA
AMLETO LEON TELLEZ
QUÍMICO - MSc M.P 0953
Director del Laboratorio



**PSL
PROANALISIS
LTDA**

Proyectos, Asesorías, Servicios, Diseños e
Ingeniería de la Industria Petrolera y Ambiental

Análisis Físico-Químico, Microbiológico y
Biológico de Aguas, Suelos y Aire

Análisis de Alimentos, Foliaves, Abonos,
Fertilizantes y Afines

INFORME DE LABORATORIO

NIT. 800.193.010-3

Informe No.: 385-07

Fecha de emisión: Diciembre 3 de 2007

Solicitante: PETROSANTANDER COLOMBIA

Dirección: Calle 58 N° 8 - 11. Tel: 6532998 Girón

Protocolo de muestreo: Protocolo del Cliente

Muestras tomadas por: DIANA IBARRA

Lugar de muestreo: -

Fecha de muestreo: Noviembre 19 de 2007

Tipo de muestras: Muestra SUELO

Fecha / Hora de recepción: Noviembre 19 de 2007/ 4 pm

Fecha de análisis: Noviembre 20 - 25 de 2007

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE SUELOS

ANÁLISIS	IDENTIFICACION DE LA MUESTRA				UNIDADES	METODO	VALORES MAXIMOS PERMITIDOS POR LA NORMA LOUISIANA 29B
	M1	M2	M3	M4			
HIDROCARBUROS TPH	9.0	11.7	8.7	8.3	%	S.M.5520.E	3.0

- Laboratorio Acreditado por el IDEAM mediante Resolución N° 044 de Marzo 14 de 2007 bajo la Norma ISO 17025. Ver alcance en Resolución.
- Laboratorio autorizado por el Instituto Colombiano Agropecuario ICA para análisis fisicoquímico de alimentos, según Resolución 00921 de mayo 16 de 2001 y autorizado por la Secretaria de Salud Departamental de Santander para análisis de alimentos y aguas para consumo humano Cod 6800109109 de Mayo 8 de 2002.
- Laboratorio inscrito en el Sistema Nacional Ambiental (SINA) del Ministerio del Medio Ambiente.
- Participante en el programas de pruebas interlaboratorios del IDEAM y en el programa interlaboratorios de control de calidad para agua potable PICCAP coordinado por el Instituto Nacional de Salud.
- Laboratorio autorizado por el Instituto Nacional de Salud del Ministerio de la Protección Social para realizar Análisis organolépticos, físico, químico y microbiológicos al agua potable Resolución N°004645 Dic. 15 de 2005, participante programa interlaboratorios de control de calidad de agua potable, PICCAP.
- A nivel internacional participante en el programa andino de ensayos, ejercicios intercomparacion. Programa de Cooperacion y Asistencia Técnica Unión Europea y Comunidad Andina en materia de calidad de aguas.

*"Este informe de resultados es válido únicamente para las muestras analizadas y relacionadas en él.
Cualquier reproducción parcial requiere de la autorización de PSL PROANALISIS LTDA"*

Revisado y Aprobado por:

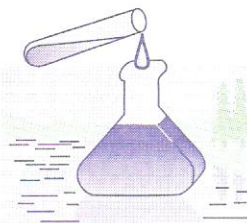

Director del Laboratorio
PSL PROANALISIS LTDA
AMLETO LEON TELLEZ
QUÍMICO - MSc M.P 0953
Director del Laboratorio

FOR-040 Rev. 1 16-10-2004

pág 1 de 1

BUCARAMANGA, CARRERA 14 No. 55-18 - TELEFAX: (097) 6444625 - 6415176 - CEL. 300 2006390 - 316 4642846

E:MAIL:pslproanalisis@yahoo.com



PSL PROANALISIS LTDA

Proyectos, Asesorías, Servicios, Diseños e
Ingeniería de la Industria Petrolera y Ambiental

Análisis Físico-Químico, Microbiológico y
Biológico de Aguas, Suelos y Aire

Análisis de Alimentos, Foliaves, Abonos,
Fertilizantes y Afines

INFORME DE LABORATORIO

NIT. 800.193.010 3

Informe No.: 402-07

Fecha de emisión: Diciembre 30 de 2007

Solicitante: PETROSANTANDER COLOMBIA

Dirección: Calle 58 N° 8 - 11. Tel: 6532998 Girón

Protocolo de muestreo: Protocolo del Cliente

Muestras tomadas por: DIANA IBARRA

Lugar de muestreo: -

Fecha de muestreo: Diciembre 18 de 2007

Tipo de muestras: Muestra SUELO

Fecha / Hora de recepción: Diciembre 18 de 2007/ 2 pm

Fecha de análisis: Diciembre 20 - 30 de 2007

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE SUELOS

ANÁLISIS	IDENTIFICACION DE LA MUESTRA							UNIDADES	METODO	VALORES MAXIMOS PERMITIDOS POR LA NORMA LOUISIANA 29B
	S1	S2	S3	S1 50%	S1/SL	S2/SL	S3/SL			
HIDROCARBUROS TPH	6.3	7.8	9.4	4.2	6.8	5.1	4.4	%	S.M. 5520.E	3.0

- Laboratorio Acreditado por el IDEAM mediante Resolución N° 044 de Marzo 14 de 2007 bajo la Norma ISO 17025. Ver alcance en Resolución.
- Laboratorio autorizado por el Instituto Colombiano Agropecuario ICA para análisis fisicoquímico de alimentos, según Resolución 00921 de mayo 16 de 2001 y autorizado por la Secretaria de Salud Departamental de Santander para análisis de alimentos y aguas para consumo humano Cod 6800109109 de Mayo 8 de 2002.
- Laboratorio inscrito en el Sistema Nacional Ambiental (SINA) del Ministerio del Medio Ambiente.
- Participante en los programas de pruebas interlaboratorios del IDEAM y en el programa interlaboratorios de control de calidad para agua potable PICCAP coordinado por el Instituto Nacional de Salud.
- Laboratorio autorizado por el Instituto Nacional de Salud del Ministerio de la Protección Social para realizar Análisis organolépticos, físico, químico y microbiológicos al agua potable Resolución N°004645 Dic. 15 de 2005, participante programa interlaboratorios de control de calidad de agua potable, PICCAP.
- A nivel internacional participante en el programa andino de ensayos, ejercicios intercomparación. Programa de Cooperación y Asistencia Técnica Unión Europea y Comunidad Andina en materia de calidad de aguas.

*"Este informe de resultados es válido únicamente para las muestras analizadas y relacionadas en él.
Cualquier reproducción parcial requiere de la autorización de PSL PROANALISIS LTDA"*

Revisado y Aprobado por:



Amleto Leon Tellez
Director del Laboratorio

PSL PROANALISIS LTDA
AMLETO LEON TELLEZ
QUÍMICO - MSc M.P 0953
Director del Laboratorio

FOR-040 Rev. 1 16-10-2004

pág 1 de 1

BUCARAMANGA, CARRERA 14 No. 55-18 - TELEFAX: (097) 6444625 - 6415176 - CEL. 300 2006390 - 316 4642846

E:MAIL:pslproanalisis@yahoo.com



PSL PROANALISIS LTDA

Proyectos, Asesorías, Servicios, Diseños e
Ingeniería de la Industria Petrolera y Ambiental

Análisis Físico-Químico, Microbiológico y
Biológico de Aguas, Suelos y Aire

Análisis de Alimentos, Foliarios, Abonos,
Fertilizantes y Afines

INFORME DE LABORATORIO

NIT. 800.193.010.3

Informe No.: 12-08

Fecha de emisión: Enero 22 de 2008

Solicitante: PETROSANTANDER COLOMBIA

Dirección: Calle 58 N° 8 - 11. Tel: 6532998 Girón

Protocolo de muestreo: Protocolo del Cliente

Muestras tomadas por: DIANA IBARRA

Lugar de muestreo: -

Fecha de muestreo: Enero 16 de 2008

Tipo de muestras: Muestra SUELO

Fecha / Hora de recepción: Enero 16 de 2008

Fecha de análisis: Enero 16-22 de 2008

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE SUELOS

ANÁLISIS	IDENTIFICACION DE LA MUESTRA								UNIDADES	METODO	VALORES MAXIMOS PERMITIDOS POR LA NORMA LOUISIANA 29B
	S1MB	S2MB	S3 MB	S1 50% MB	S1M	S2M	S3M	S1 50% M			
HIDROCAR- BUROS TPH	2.1	1.8	3.1	3.0	1.6	<1.0	6.8	3.4	%	S.M. 5520.E	3.0

- Laboratorio Acreditado por el IDEAM mediante Resolución N° 044 de Marzo 14 de 2007 bajo la Norma ISO 17025. Ver alcance en Resolución.
- Laboratorio autorizado por el Instituto Colombiano Agropecuario ICA para análisis físicoquímico de alimentos, según Resolución 00921 de mayo 16 de 2001 y autorizado por la Secretaria de Salud Departamental de Santander para análisis de alimentos y aguas para consumo humano Cod 6800109109 de Mayo 8 de 2002.
- Laboratorio inscrito en el Sistema Nacional Ambiental (SINA) del Ministerio del Medio Ambiente.
- Participante en el programas de pruebas interlaboratorios del IDEAM y en el programa interlaboratorios de control de calidad para agua potable PICCAP coordinado por el Instituto Nacional de Salud.
- Laboratorio autorizado por el Instituto Nacional de Salud del Ministerio de la Protección Social para realizar Análisis organolépticos, físico, químico y microbiológicos al agua potable Resolución N°004645 Dic. 15 de 2005, participante programa interlaboratorios de control de calidad de agua potable, PICCAP.
- A nivel internacional participante en el programa andino de ensayos, ejercicios intercomparación. Programa de Cooperación y Asistencia Técnica Unión Europea y Comunidad Andina en materia de calidad de aguas.

*"Este informe de resultados es válido únicamente para las muestras analizadas y relacionadas en él.
Cualquier reproducción parcial requiere de la autorización de PSL PROANALISIS LTDA"*

Revisado y Aprobado por:



Amleto Leon Tellez
Director del Laboratorio

PSL PROANALISIS LTDA
AMLETO LEON TELLEZ
QUÍMICO - MSc M.P 0953
Director del Laboratorio

FOR-040 Rev. 1 16-10-2004

pág 1 de 1

BUCARAMANGA, CARRERA 14 No. 55-18 - TELEFAX: (097) 6444625 - 6415176 - CEL. 300 2006390 - 316 4642846

E:MAIL:pslproanalisis@yahoo.com



PSL PROANALISIS LTDA

Proyectos, Asesorías, Servicios, Diseños e
Ingeniería de la Industria Petrolera y Ambiental

Análisis Físico-Químico, Microbiológico y
Biológico de Aguas, Suelos y Aire

Análisis de Alimentos, Foliaves, Abonos,
Fertilizantes y Afines

INFORME DE LABORATORIO

NIT. 800.193.010.3

Informe No.: 13-08

Fecha de emisión: Enero 22 de 2008

Solicitante: PETROSANTANDER COLOMBIA

Dirección: Calle 58 N° 8 - 11. Tel: 6532998 Girón

Protocolo de muestreo: Protocolo del Cliente

Muestras tomadas por: DIANA IBARRA

Lugar de muestreo: -

Fecha de muestreo: Enero 16 de 2008

Tipo de muestras: Muestra SUELO

Fecha / Hora de recepción: Enero 16 de 2008

Fecha de análisis: Enero 16-22 de 2008

ANALISIS FISICOQUIMICO DE SUELOS

ANÁLISIS	IDENTIFICACION DE LA MUESTRA								UNIDADES	METODO	VALORES MAXIMOS PERMITIDOS POR LA NORMA LOUISIANA 29B
	S1B	S2B	S3B	S1 50% B	S1	S2	S3	S1 50%			
HIDROCARBUROS TPH	<1.0	<1.0	6.9	3.1	<1.0	<1.0	<1.0	3.5	%	S.M. 5520.E	3.0

- Laboratorio Acreditado por el IDEAM mediante Resolución N° 044 de Marzo 14 de 2007 bajo la Norma ISO 17025. Ver alcance en Resolución.
- Laboratorio autorizado por el Instituto Colombiano Agropecuario ICA para análisis fisicoquímico de alimentos, según Resolución 00921 de mayo 16 de 2001 y autorizado por la Secretaria de Salud Departamental de Santander para análisis de alimentos y aguas para consumo humano Cod 6800109109 de Mayo 8 de 2002.
- Laboratorio inscrito en el Sistema Nacional Ambiental (SINA) del Ministerio del Medio Ambiente.
- Participante en el programas de pruebas interlaboratorios del IDEAM y en el programa interlaboratorios de control de calidad para agua potable PICCAP coordinado por el Instituto Nacional de Salud.
- Laboratorio autorizado por el Instituto Nacional de Salud del Ministerio de la Protección Social para realizar Análisis organolépticos, físico, químico y microbiológicos al agua potable Resolución N°004645 Dic. 15 de 2005, participante programa interlaboratorios de control de calidad de agua potable, PICCAP.
- A nivel internacional participante en el programa andino de ensayos, ejercicios intercomparación. Programa de Cooperación y Asistencia Técnica Unión Europea y Comunidad Andina en materia de calidad de aguas.

*"Este informe de resultados es válido únicamente para las muestras analizadas y relacionadas en él.
Cualquier reproducción parcial requiere de la autorización de PSL PROANALISIS LTDA"*

Revisado y Aprobado por:



Amleto Leon Tellez
Director del Laboratorio

PSL PROANALISIS LTDA
AMLETO LEON TELLEZ
QUÍMICO - MSc M.P 0953
Director del Laboratorio

FOR-040 Rev. 1 16-10-2004

pág 1 de 1

BUCARAMANGA, CARRERA 14 No. 55-18 - TELEFAX: (097) 6444625 - 6415176 - CEL. 300 2006390 - 316 4642846

E:MAIL:pslproanalisis@yahoo.com

ANEXO D

CARACTERIZACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS AISLADOS DE LOS SUELOS CONTAMINADOS

CARACTERIZACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS AISLADOS DE LOS SUELOS CONTAMINADOS

BACTERIAS DEL SUELO 1

Aislamiento en medio nutritivo.

C	M	Bacilos G(+)	Bacilos G(-)	Cocobacilos G (-)	Cocos G(+)	Diplococos G (+)	Diplococos G (-)	Estreptococos G(+)	Bacterias filamentosas
N11	a	1		1					
	b	1		1					
	c			1			1		
	d	1		1					
N12	a			1					
	b	1		1					
	c	1							
	d	1		1					
	e			1					
	f	1		1					
	g	1		1					
N13	a	1		1					
	b	1		1					
	c	1		1					
	d	1		1					
	e	1		1					
	f			1					
	g	1		1					
N14	a								1
	b	1							
	c	1		1					
	d			1					
	e			1					
	f	1		1					
N15	a			1					
	b	1		1					
	c	1		1					
	d	1		1					
	e	1		1					
	f			1					
N16	a	1		1				1	
	b	1		1					
	c	1		1					
	d			1	1				
	e	1		1					
	f	1		1					
N17	a	1							
	b	1		1					

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE BIODEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO (TPH) EN SUELOS CONTAMINADOS PROCEDENTES DE PETROSANTANDER (COLOMBIA) INC.

	c	1		1					
	d	1		1					
	e	1		1					
N18	a	1		1					
	b			1					
	c	1		1					
Total	33		40	1	0	1	1	1	
%	75,0	0,0	90,9	2,3	0,0	2,3	2,3	2,3	

Aislamiento en medio B.H.

C	M	Bacilos G(+)	Bacilos G(-)	Cocobacilos G (-)	Cocos G(+)	Diplococos G (+)	Diplococos G (-)	Estreptococos G(+)	Bacterias filamentosas	Bacterias delgadas (fusiformis) G(-)
BH11	a	1		1	1					
	b		1							
	c			1			1			
	d	1	1	1						
BH12	a	1								
	b			1						
	c	1	1	1						
	d			1						
	e			1						
BH13	a	1		1						
	b	1		1						
	c			1						
BH14	a	1							1	
	b	1								
	c			1						
	d			1						
BH15	a		1	1						
	b		1	1						
	c			1						
	d			1						
	e	1								
BH16	a	1						1		
	b	1								
	c			1						
	d		1	1						
	e		1	1						
BH17	a			1						
	b	1		1	1					1
	c	1		1	1					
	d	1		1						
	e	1		1						

	f	1		1						
BH18	a	1		1						
	b	1		1			1			
	c	1		1						
Total Muestras	19	7	28	3	0	2	1	1	1	
% Muestras	54,3	20,0	80,0	8,6	0,0	5,7	2,9	2,9	2,9	

BACTERIAS AISLADAS DEL SUELO 2

Aislamiento en medio Nutritivo.

C	M	Bacilos G(+)	Bacilos G(-)	Cocobacilos G (-)	Cocos G(+)	Diplococos G (+)
N21	a	1	1	1		
	b		1	1		
	c	1	1	1		
N22	a	1		1		
	b	1		1		
	c	1		1		
N23	a	1	1	1		
	b		1	1		
	c	1	1	1		
N24	a	1		1		
	b			1		
	c	1				
	d			1		
N25	a	1		1		
	b	1		1		
	c	1		1		
	d	1		1		
N26	a	1		1	1	
	b	1				
	c	1		1		
N27	a	1				
	b	1	1	1		1
	c	1		1	1	
	d	1		1	1	
N28	a		1	1	1	
	b	1	1	1		
Total		21	9	23	4	1
%		80,8	34,6	88,5	15,4	3,8

Aislamiento en medio B.H.

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE BIODEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO (TPH) EN SUELOS CONTAMINADOS PROCEDENTES DE PETROSANTANDER (COLOMBIA) INC.

C	M	Bacilos G(+)	Bacilos G(-)	Cocobacilos G (-)	Cocos G(+)	Diplococos G (+)
BH21	a	1		1		
	b	1		1		
	c			1		
BH22	a	1		1		
	b			1		
	c			1		
BH23	a			1		
	b		1	1		
	c		1			
BH24	a	1				
	b	1		1		
	c	1		1		
BH25	a	1		1		
	b	1		1		
	c		1	1		
	d	1	1			
BH26	a	1		1		
	b	1		1		
	c	1		1		
	d			1		
	e	1		1		
BH27	a	1		1		
	b		1	1		
	c	1		1		
BH28	a			1		
	b	1		1		1
	c	1	1	1	1	
Total Muestras		17	6	24	1	1
% Muestras		63,0	22,2	88,9	3,7	3,7

BACTERIAS AISLADAS DEL SUELO 3

Aislamiento con medio nutritivo.

C	M	Bacilos G(+)	Bacilos G(-)	Cocobacilos G (+)	Cocobacilos G (-)	Cocos G(+)	Bacterias filamentosas
N31	a				1		
	b	1	1		1		
	c				1		
N32	a	1			1		
	b	1			1		1
	c				1		
N33	a				1		
	b				1		
	c				1		
N34	a				1		
	b				1		
	c	1			1		
	d	1		1	1		
	e				1		
N35	a				1		
	b				1		
	c				1		
N36	a				1		
	b		1		1		
	c				1	1	
N37	a	1			1		
	b				1		
	c				1		
N38	a				1		
	b				1		
	c				1		
Total Muestras		6	2	1	26	1	1
% Muestras		23,1	7,7	3,8	100,0	3,8	3,8

Aislamiento con medio B.H.

C	M	Bacilos G(+)	Bacilos G(-)	Cocobacilos G (+)	Cocobacilos G (-)	Cocos G(+)	Diplococos G (+)	Diplococos G (-)	Estreptococos G(+)	Micrococos G(+)
BH31	a	1	1		1					1
	b	1	1		1					
	c		1		1					
	d		1		1					
	e		1		1					
BH32	a				1	1				
	b	1	1		1					
	c				1					
	d	1			1			1	1	
	e				1					
BH33	a	1			1	1	1			
	b	1			1					
	c				1					
		1			1					
BH34	a	1								
	b				1					
	c							1		
	d	1			1	1				
		1			1					
BH35	a	1			1					
	b				1					
	c		1		1					
BH36	a				1					
	b				1					
	c				1					
	d				1					
	e				1					
BH37	a				1					
	b				1					
	c	1			1					
BH38	a				1					
	b		1		1					
	c		1		1					
					1					
Total Muestras		12	9		32	3	1	2	1	1
% Muestras		35,3	26,5	0,0	94,1	8,8	2,9	5,9	2,9	2,9

OBSERVACIONES MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS DE HONGOS

HONGOS

#	CAJA	DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA	NOMBRE
1	EL35	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Color amarillo quemado y café, borde blanco ▪ Crecimiento circular ▪ Pulverulento 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Microconidias espinosas 	ASPERGILLUS
2	EL35	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Color blanco ▪ Crecimiento irregular elevado ▪ Algodonoso, no muy denso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	
3	EL35	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Color blanco ▪ Crecimiento irregular elevado ▪ Algodonoso no muy denso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	
4	EL35	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Color blanco ▪ Crecimiento en círculo regular ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	PENICILLUM
5	EL36	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Color verde oscuro (centro), borde y cubierta (capa) blanca ▪ Crecimiento circular ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	
6	EL36	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Color verde oscuro (centro), borde y cubierta (capa) blanca ▪ Crecimiento circular ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septada 	CLADOSPORIUM
7	EL33	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	
8	EL33	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro, centro café ▪ Crecimiento en cadena de círculos ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	CLADOSPORIUM
9	EL33	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Color verde oscuro (centro), borde y cubierta (capa) blanca ▪ Crecimiento circular 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	CLADOSPORIUM

		▪ Aterciopelado		
10	EL34	▪ Color verde claro, fondo oscuro ▪ Crecimiento en círculo ▪ Aterciopelado	▪ Hifas septadas	CLADOSPORIUM
11	EL34	▪ Color verde, fondo oscuro ▪ Crecimiento lineal amorfo ▪ Aterciopelado	▪ Hifas septadas	CLADOSPORIUM
12	R35	▪ Blanco ▪ Crecimiento circular irregular, plano ▪ Algodonoso, poco denso	▪ Microconidias en cadena ▪ Hifas septadas	
13	R35	▪ Color verde oscuro ▪ Crecimiento circular en pliegues, elevación central ▪ Pulverulento	▪ Hifas septadas	CLADOSPORIUM
14	R35	▪ Blanco ▪ Crecimiento circular elevado ▪ Algodonoso denso	▪ Hifas septadas ▪ Microconidias piriformes en doble cadena	
15	R36	▪ Blanco ▪ Crecimiento circular, plano ▪ Algodonoso, motas	▪ Bacterias	
16	R36	▪ Blanco ▪ Crecimiento desordenado, hasta la tapa ▪ Algodonoso, poco denso	▪ Hifas septadas ▪ Clamidosporas grandes de doble pared	
17	R36	▪ Blanco ▪ Crecimiento plano, adherido al medio ▪ Algodonoso	▪ Hifas septadas	
18	R37	▪ Blanco ▪ Crecimiento en círculo irregular ▪ Algodonoso, motas		
19	R31	▪ Color verde oscuro ▪ Crecimiento circular en pliegues, elevación central ▪ Aterciopelado	▪	CLADOSPORIUM
20	R31	▪ Verde y blanco ▪ Crecimiento circular plano ▪ Aterciopelado	▪ Hifas septadas	
21	R32	▪ Verde oscuro	▪ Hifas septadas	HORMODEMDRUM

		<ul style="list-style-type: none"> ▪ Crecimiento circular con pliegues, “pétalos” unidos en el centro 		
22	R32	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde ▪ Crecimiento circular con pliegues, elevación central ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	HORMODEMDRUM
23	R33	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento desordenado, diferenciación de centro ▪ Algodonoso, pelos y motas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Macroconidias ▪ Microconidias ▪ Clamidosporas ▪ Hifas septadas 	FUSARIUM
24	R33	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento circular regular ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Hongo dematyaceo 	
25	R34	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento circular plano ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	
26	R11	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento circular plano ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	
27	R11	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro ▪ Crecimiento irregular con pliegues ▪ Pulverulento 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	CLADOSPORIUM
28	R12	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde, capa blanca ▪ Crecimiento circular regular con montículos (gotas) ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Clamidosporas germinación en ▪ Hifas septadas ▪ Hongo dematyaceo 	
29	R12	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde ▪ Crecimiento circular con pliegues, elevación central ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Nigrospora 	
30	R12	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco, verde abajo ▪ Crecimiento circular irregular ▪ Algodonosos, pelos y motas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	
31	R13	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento circular plano ▪ Algodonoso, denso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Microconidias 	

32	R13	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde ▪ Crecimiento circular con pliegues, elevado ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Microconidias en cadena 	CLADOSPORIUM
33	R14	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento circular con elevación ▪ Algodonoso, pelos y motas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Microconidias en cadena 	
34	R14	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde ▪ Crecimiento circular regular con pliegues, elevación central ▪ aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	CLADOSPORIUM
35	R14	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde ▪ Crecimiento circular 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	STENPHYLIUM
36	R16	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento circular irregular elevado ▪ Algodonoso, motas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas delgadas ▪ Clamidosporas ▪ Macroconidias, forma de huso 	
37	R16	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde amarillento, borde blanco ▪ Crecimiento circular regular, con pliegues, elevación central 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Microconidias ▪ Hifas septadas, delgadas ▪ Clamidosporas 	
38	R16	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento circular regular plano, montículo central ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	
39	R16	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde, capa blanca ▪ Crecimiento circular regular con elevación ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas verdosas ▪ Clamidosporas ▪ Microconidias 	
40	R16	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde ▪ Crecimiento circular regular con pliegues ▪ Pulverulento 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Clamidosporas ▪ Microconidias en cadena ▪ Mezclado con otro hongo ▪ Hifas septadas verdosas 	CLADOSPORIUM

41	R21	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde amarillento, muy claro ▪ Crecimiento circular con pliegues ▪ Pulverulento 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Microconidias 	ASPERGILLUS
42	R21	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde amarillento muy claro ▪ Crecimiento desordenado ▪ Algodonoso 		NIGROSPORA
43	R21	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento irregular ▪ Algodonoso muy denso, puntos negros centrales 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Microconidias ▪ Mezcla, aspergillus y hongo pestalotia 	ASPERGILLUS
44	R21	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde claro, casi blanco ▪ Crecimiento circular irregular en pliegues ▪ Pulverulento 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Picnidios?? 	
45	R21	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco y verde oscuro ▪ Crecimiento irregular ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Microconidias 	ASPERGILLUS
46	R21	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro ▪ Crecimiento circular ▪ Montículo central 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas delgadas 	
47	R21	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro ▪ Crecimiento circular irregular ▪ Elevación central ▪ Liso brillante 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	LEVADURAS
48	R21	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rosado-curuba ▪ Crecimiento irregular ▪ Liso brillante 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bacterias 	
49	R22	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Algodonoso, pelos ▪ Invadió la caja, crecimiento plano, en ondas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas delgadas 	
50	R22	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento circular ▪ Algodonoso, motas ▪ elevado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Microconidias piriformes oscuras 	
51	R22	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro ▪ Circular con pliegues ▪ Duro, cubierto por otro hongo 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	CLADOSPORIUM

52	R22	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro ▪ Círculos pequeños 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Microconidias piriformes de doble pared 	CLADOSPORIUM
53	R23	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco, verdoso ▪ Crecimiento circular ▪ Algodonoso denso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	EPICOCCUM
54	R23	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde ▪ Crecimiento irregular con pliegues ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	NIGROSPORAS
55	R23	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco amarillento ▪ Crecimiento circular irregular ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	CLADOSPORIUM
56	R23	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento circular ▪ Algodonoso plano 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	ASPERGILLUS
57	R23	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rosado-curuba, brillante ▪ Crecimiento irregular ▪ Liso, gelatinoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bacterias 	
58	R23	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde ▪ Circular ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	CEPHALOSPORIUM
59	R24	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento irregular ▪ Algodonoso, pelos 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Conidias de doble pared ▪ Hifas septadas ▪ Clamidosporas 	
60	R24	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde ▪ Crecimiento irregular ▪ Pulverulento 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	CLAMIDOSPORIUM
61	R24	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco con gránulos verdes ▪ Crecimiento circular ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Conidias lisas de doble pared ▪ Hifas septadas y aseptadas ▪ Dos tipos de hongos, Mucor y otro 	
62	R24	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rosado-curuba, brillante ▪ Crecimiento irregular ▪ Gelatinoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Levaduras 	
63	R24	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde claro ▪ Crecimiento circular con pliegues ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas delgadas, septadas ▪ Conidias 	

64	R24	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde ▪ Crecimiento irregular con nodulaciones, esperas ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Conidias piriformes 	CEHPHALOSPORIU M
65	R15	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento irregular, grumos ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Conidias, 	
66	R15	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento circular con elevación central ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Conidias en cadena ▪ Hifas septadas 	NIGROSPORA
67	R17	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde claro ▪ Crecimiento circular con elevación central ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Conidias en cadena ▪ Hifas septadas 	NIGROSPORA
68	R16	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro ▪ Crecimiento circular irregular con pliegues ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	CLADOSPORIUM
69	R25	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rosado-curuba, liso, brillante ▪ Crecimiento circular ▪ Gelatinoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Microconidias ovaladas encapsuladas formando ramificaciones engrosadas en la parte terminal, pareciera que se revienta 	
70	R25	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro, humo ▪ Crecimiento circular elevado con montículo ▪ Algodonoso, denso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Microconidias 	
71	R25	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde, amarillento claro ▪ Crecimiento circular con montículo central ▪ Algodonoso, denso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas con clamidosporas intercalares 	
72	R25	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro ▪ Crecimiento circular, monticulocentral ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	CEPHALOSPORIUM
73	R26	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro, humo ▪ Crecimiento circular con pliegues y montículo central ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	CLADOSPORIUM

74	R26	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro ▪ Crecimiento irregular unido en un centro ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	
75	R26	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde claro-humo ▪ Crecimiento circular, pliegues, con montículo central ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	CLADOSÓRIUM
76	R26	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro ▪ Crecimiento circular, montículo central ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	CLADOSPORIUM
77	R26	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rosado ▪ Crecimiento circular ▪ Aterciopelado, duro 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	
78	R26	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rosado-Curuba ▪ Crecimiento irregular ▪ Liso, gelatinoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Levaduras 	
79	R27	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rosado claro ▪ Crecimiento irregular ▪ Arborescente 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Conidias de doble pared sueltas con tubos germinales ▪ Clamidosporas en germinación 	
82	R27	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde y rosado ▪ Crecimiento circular ▪ Gelatinoso con capa aterciopelada 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	LEVADURAS (FOTO)
83	R27	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro ▪ Crecimiento circular plano ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Clamidosporas ▪ Nigrospora 	
84	R27	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco-amarillento ▪ Crecimiento circular con pliegues hundido en el centro- Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas delgadas ▪ Conidias de doble pared en grupos 	
85	R28	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro y claro ▪ Crecimiento circular con ondas y pliegues ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	CLADOSPORIUM
86	R28	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento circular plano ▪ Algodonoso, denso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas, delgadas ▪ Bacterias 	
87	R28	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rosado, centro blanco ▪ Crecimiento circular con 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas delgadas 	

		<ul style="list-style-type: none"> pliegues ▪ Centro aterciopelado, duro 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Clamidosporas de doble pared 	
88	R28	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde claro ▪ Crecimiento circular en montículo ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas delgadas, verdosas ▪ Clamidosporas centrales y terminales ▪ Hongo dematiacio 	
89	R28	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rosado-curuba, brillante ▪ Crecimiento irregular ▪ Gelatinoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Microconidias ▪ Levaduras ▪ Macroconidias fusiformes 	
90	R28	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro, opaco ▪ Crecimiento circular ▪ Gelatinoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Levaduras ▪ Identificación de perfectas e imperfectas 	LEVADURAS
91	R28	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento circular con pliegues ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Microconidias formando grupos ▪ Clamidosporas 	
92	R28	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rosado-curuba, brillante ▪ Crecimiento irregular ▪ Gelatinoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Microconidias ▪ Levaduras 	
93	R28	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro ▪ Crecimiento circular con elevación central ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Cladosporas 	
94	R31	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro ▪ Crecimiento en puntos circulares ▪ Pulverulento 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	CLADOSPORIUM
95	R31	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rosado y blanco ▪ Crecimiento irregular ▪ Aterciopelado, apariencia algodonosa con motas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Microconidias piriformes 	
96	R32	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco, centro gránulos cafés ▪ Crecimiento circular plano ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	CLADOSPORIUM
97	R32	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento irregular invasivo, plano ▪ Algodonoso, pelos 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	
98	R32	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rosado, centro blanco ▪ Crecimiento circular con 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas delgads 	

		elevación central ▪ Aterciopelado, apariencia algodonosa con motas (centro)		
99	R32	▪ Verde oscuro ▪ Crecimiento circular con elevación central ▪ Aterciopelado	▪	CLADOSPORIUM
100	R32	▪ Blanco ▪ Crecimiento irregular, con elevación ▪ Algodonoso	▪ Hifas septadas en autólisis	
101	R32	▪ Verde oscuro ▪ Crecimiento circular con ondas y pliegues ▪ Aterciopelado	▪	CLADOSPORIUM
102	R33	▪ Verde oscuro ▪ Crecimiento circular ▪ Aterciopelado	▪ Hifas septadas delgadas ▪ Macroconidias	
103	R33	▪ Blanco ▪ Crecimiento irregular ▪ Algodonoso, motas	▪ Hifas septadas ▪ Clamidosporas ▪ Microconidias	
104	R35	▪ Rosado, centro blanco ▪ Crecimiento irregular con montículo central ▪ Aterciopelado	▪ Hifas septadas ▪ Microconidias piriformes café oscuro	
105	R35	▪ Rosado, centro blanco ▪ Crecimiento irregular con montículo central ▪ Aterciopelado	▪ Hifas septadas	
106	R36	▪ Verde ▪ Crecimiento círculos pequeños ▪ Algodonoso	▪ Estructura de cladosporium ▪ Mayor cantidad de conidias	
107	R37	▪ Blanco, amarillento ▪ Crecimiento circular con pliegues, hundido en el centro ▪ Aterciopelado	▪ Hifas delgadas ▪ Con tubérculos oscuros nacidos directamente de la hifa	
108	R38	▪ Blanco ▪ Crecimiento circular en ondas ▪ Aterciopelado	▪ Hifas septadas delgadas ▪ Clamidosporas	
109	R38	▪ Verde oscuro	▪ Hifas septadas	

		<ul style="list-style-type: none"> ▪ Crecimiento circular con pliegues, elevado en el centro ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> verdosas ▪ Microconidias 	
110	R11	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco y rosado ▪ Crecimiento circular con montículo central ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	
111	R11	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco-verdoso ▪ Crecimiento en esperas, grumos ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	HORMODEMDRUM
112	R11	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Amarillo ▪ Crecimiento circular con pliegues ▪ Pulverulento 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Microconidias lisas ▪ Hifas septadas ▪ Conidióforos largos de doble pared 	ASPERGILLUS
113	R11	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde ▪ Crecimiento circular con pliegues ▪ Pulverulento 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Microconidias piriformes lisas 	PENICILLIUM
114	R13	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento circular hundido en el centro 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	
115	R13	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento irregular plano ▪ Algodonoso, pelos 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas, delgadas ▪ Microconidias oscuras 	
116	R13	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde ▪ Crecimiento circular en montículo ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Mayor cantidad de hifas que conidias 	CLADOSPORIUM
117	R14	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento irregular plano ▪ Algodonoso, motas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas delgadas ▪ Microconidias 	
118	R14	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento circular en montículo ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas formando sinematas (hifas paralelas) 	
119	R14	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde ▪ Crecimiento circular con pliegues, centro hundido ▪ Pulverulento, compacto 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Clamidosporas en cadena ▪ Hifas verdosas 	
120	EL11	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	HORMODEMDRUM

		<ul style="list-style-type: none"> ▪ Crecimiento circular irregular plano ▪ Aterciopelado 		
121	EL11	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco, centro verde ▪ Crecimiento circular ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Microconidias ▪ Macroconidias fusiformes 	
122	EL11	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Café-verdoso oscuro ▪ Crecimiento circular plano ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas oscuras ▪ Cladosporium 	
123	EL11	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro, borde blanco ▪ Crecimiento circular plano ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Clamidosporas ▪ Microconidias ▪ Mas clodosparium 	
124	EL11	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro ▪ Crecimiento circular plano ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	CLADOSPORIUM
125	EL12	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento irregular plano ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Microconidias ▪ Microconidias piriformes con cicatriz 	
126	EL12	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde ▪ Crecimiento circular, hundido en el centro ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Clamidosporas ▪ Hifas septadas ▪ Microconidias ▪ Conidias con cicatriz 	
127	EL12	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento irregular plano ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Microconidias ▪ Clamidosporas 	
128	EL12	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento irregular elevado ▪ Algodonoso, motas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Clamidosporas 	
129	EL13	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento circular irregular, plano ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Clamidosporas en cadena 	
130	EL13	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Beige ▪ Crecimiento circular plano ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	
131	EL14	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco, centro café ▪ Crecimiento circular ▪ Pulverulento 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Clamidosporas ▪ Cleistotecios o picnidios 	

132	EL14	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde ▪ Crecimiento circular irregular elevado ▪ Aterciopelado 	▪	CLADOSPORIUM
133	EL14	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde claro-blanco ▪ Crecimiento circular elevado ▪ Aterciopelado 	▪	CLADOSPORIUM
134	EL14	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento irregular ▪ Algodonoso, elevado 	▪ Hifas septadas	
135	EL15	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento irregular plano ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Macroconidias fusiformes ▪ Clamidosporas ▪ Fusarium 	
136	EL15	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro-negro ▪ Crecimiento circular ▪ Aterciopelado 	▪	CLADOSPORIUM
137	EL15	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento irregular en fila, elevado ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Microconidias ▪ Clamidosporas en cadena ▪ Microconidias fusiformes 	
138	EL15	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde-negro ▪ Crecimiento irregular ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Clamidosporas ▪ Macroconidias nacidas de conidióforos cortos 	
139	EL15	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento irregular elevado ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Conidias en forma de huso ▪ Macroconidias ahusadas con dos veldas 	(FOTO)
140	EL15	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Gris-verdoso claro ▪ Crecimiento circular ▪ Aterciopelado 	▪	CLADOSPORIUM
141	EL16	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro ▪ Crecimiento circular con pliegues, hundido en el centro ▪ Aterciopelado 	▪	CLADOSPORIUM
142	EL16	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro ▪ Crecimiento circular 	▪	HORMODEMDRUM

		irregular ▪ Aterciopelado		
143	EL17	▪ Verde oscuro ▪ Crecimiento en círculos pegados ▪ Aterciopelado	▪	HORMODEMDRUM
144	EL18	▪ Blanco, centro rosado ▪ Crecimiento circular con pliegues	▪ Hifas septadas ▪ Clamidosporas sueltas	ASPERGILLUS
145	EL18	▪ Blanco ▪ Crecimiento circular plano ▪ Algodonoso	▪ Hifas septadas ▪ Clamidosporas	
146	EL18	▪ Blanco-gris muy claro ▪ Crecimiento circular ▪ Arborescente	▪ Hifas septadas ▪ Bacterias	

HONGOS SELECCIONADOS SUELO 1

34	R14	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde ▪ Crecimiento circular regular con pliegues, elevación central ▪ aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	CLADOSPORIUM
112	R11	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Amarillo ▪ Crecimiento circular con pliegues ▪ Pulverulento 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Microconidias lisas ▪ Hifas septadas ▪ Conidióforos largos de doble pared 	ASPERGILLUS * (FOTO)
124	EL11	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro ▪ Crecimiento circular plano ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	CLADOSPORIUM * (FOTO)
131	EL14	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco, centro café ▪ Crecimiento circular ▪ Pulverulento 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Clamidosporas ▪ Cleistotecios o picnidios?? 	**
135	EL15	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento irregular plano ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Macroconidias fusiformes ▪ Clamidosporas ▪ Fusarium?? 	Utilizar (FOTO)
137	EL15	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento irregular en fila, elevado ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Microconidias ▪ Clamidosporas en cadena ▪ Microconidias fusiformes 	(FOTO) dibujo
144	EL18	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco, centro rosado ▪ Crecimiento circular con pliegues 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Clamidosporas sueltas ▪ Posible nueva placa 	ASPERGILLUS (FOTO)
149	R18	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco, verde claro a oscuro ▪ Crecimiento circular ▪ Algodonoso, motas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	CLADOSPORIUM

HONGOS SELECCIONADOS SUELO 2

41	R21	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde amarillento, muy claro ▪ Crecimiento circular con pliegues ▪ Pulverulento 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Microconidias 	ASPERGILLUS FOTO
43	R21	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento irregular ▪ Algodonoso muy denso, puntos negros centrales 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Microconidias ▪ Dematiacio 	ASPERGILLUS PESTALOTIA
44	R21	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde claro, casi blanco ▪ Crecimiento circular irregular en pliegues ▪ Pulverulento 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Picnidios 	FOTO
45	R21	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco y verde oscuro ▪ Crecimiento irregular ▪ Algodonoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Microconidias 	ASPERGILLUS (FOTO)
46	R21	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro ▪ Crecimiento circular ▪ Montículo central 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas delgadas ▪ Hongo dematiacio 	HORMODEMDRUM
47	R21	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro ▪ Crecimiento circular irregular ▪ Elevación central ▪ Liso brillante 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	LEVADURAS
56	R23	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Blanco ▪ Crecimiento circular ▪ Algodonoso plano 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	ASPERGILLUS
69	R25	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Rosado-curuba, liso, brillante ▪ Crecimiento circular ▪ Gelatinoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Microconidias ovaladas encapsuladas formando ramificaciones engrosadas en la parte terminal, pareciera que se revienta 	LEVADURA (FOTO)
70	R25	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro, humo ▪ Crecimiento circular elevado con montículo ▪ Algodonoso, denso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Microconidias 	CLADOSPORIUM
71	R25	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde, amarillento claro ▪ Crecimiento circular con montículo central ▪ Algodonoso, denso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas con clamidosporas intercalares ▪ dematiacio 	HORMODEMDRUM

73	R26	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro, humo ▪ Crecimiento circular con pliegues y montículo central ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	CLADOSPORIUM
152	R27	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Negro ▪ Crecimiento irregular ▪ Brillante, forma de pelos 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas ▪ Clamidosporas en cadena abundante 	↓ TUBERCULARIACIA
155	R27	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas dobladas ▪ Esporangiolos terminales con núcleo central ▪ Clamidosporas 	↓ Guardar, de interés
90	R28	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro, opaco ▪ Crecimiento circular ▪ Gelatinoso 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Levaduras ▪ Identificación de perfectas e imperfectas 	↓ LEVADURAS

HONGOS SELECCIONADOS SUELO 3

94	R31	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro ▪ Crecimiento en puntos circulares ▪ Pulverulento 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	CLADOSPORIUM
8	EL33	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Verde oscuro, centro café ▪ Crecimiento en cadena de círculos ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	CLADOSPORIUM
9	EL33	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Color verde oscuro (centro), borde y cubierta (capa) blanca ▪ Crecimiento circular ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Hifas septadas 	CLADOSPORIUM
1	EL35	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Color amarillo quemado y café, borde blanco ▪ Crecimiento circular ▪ Pulverulento 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Microconidias espinosas 	ASPERGILLUS
4	EL35	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Color blanco ▪ Crecimiento en círculo regular ▪ Aterciopelado 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 	PENICILLUM