



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**ÍNDICES DE BIODEGRADABILIDAD PARA DESECHOS DE
PERFORACIÓN DE POZOS PETROLEROS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MAESTRÍA EN CIENCIAS (BIOQUÍMICA)

PRESENTA:

RODRÍGUEZ LEAL, CARLOS ALBERTO

ASESOR: QUINTERO RAMÍREZ, RODOLFO,

MÉXICO, D. F.

2004



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

00551

Índices de biodegradabilidad para desechos de perforación de pozos petroleros

Reconocimientos

Esta tesis de maestría se realizó bajo la dirección del Dr. Rodolfo Quintero Ramírez, en el laboratorio de Biotecnología de la Subdirección de Protección Ambiental del Instituto Mexicano del Petróleo.

El comité tutorial que asesoró el desarrollo de esta tesis estuvo formado por:

Dr. Rodolfo Quintero Ramírez	Instituto Mexicano del Petróleo
Dr. Mariano Gutiérrez rojas	Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa
Dra. Carmen Wachter Rodarte	Facultad de Química, UNAM

Se reconoce al M. en C. Benjamín Chávez Gómez que fungió como asesor externo en el IMP por su colaboración en la realización del trabajo experimental.

Se reconoce la asesoría en estadística del M. en C. Raúl Uribe del Instituto Mexicano del Petróleo.

El proyecto fue apoyado principalmente por el Instituto Mexicano del Petróleo a través del proyecto FIES95-108-VI Biorremediación de suelos Contaminados con Petróleo. Durante los estudios de maestría gocé de una beca otorgada por CONACYT para la realización de la presente tesis.

Esta tesis fue defendida en examen presentado el día 24 de febrero de 2004

El jurado de examen estuvo constituido por:

Presidente	Dr. Eduardo Bárzana García	Facultad de Química UNAM
Vocal	Dra. María del Carmen Wachter Rodarte	Facultad de Química UNAM
Secretario	Dr. Víctor Manuel Luna Pabello	Facultad de Química UNAM
Suplente	Dr. Francisco Ruíz Terán	Facultad de Química UNAM
Suplente	Dr. Rafael Moreno Sánchez	Instituto de Cardiología Ignacio Chávez

A mis padres, por su inagotable amor, comprensión y dedicación de toda la vida.

A Luis, Jorge y Fernando por su apoyo en todas las empresas iniciadas, esta es una mas concluida.

A Benjamín, Edith, Juan Antonio, Alejandro por las largas e invaluable horas de ayuda en la realización del trabajo experimental.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.
NOMBRE: Carlos Alberto Rodríguez
Leal
FECHA: 13 - Febrero - 2004
FIRMA: [Signature]

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

INDICE GENERAL

Introducción.....	1
Antecedentes.....	2
Fluidos de perforación.....	2
Biodegradación de hidrocarburos.....	5
Pruebas de biodegradabilidad.....	6
Índices.....	8
Objetivos.....	9
Objetivo general.....	9
Objetivos específicos.....	9
Hipótesis.....	9
Metas.....	9
Material y Métodos.....	10
Localización del área de estudio.....	10
Muestreo y preparación de las muestras.....	14
Caracterización de los desechos.....	17
Estandarización del método para determinación de hidrocarburos.....	18
Preparación de mezclas de bagacillo, agua y desecho.....	19
Montaje de pruebas de biodegradabilidad.....	19
Pruebas para determinar la fuente de nitrógeno y la relación carbono: nitrógeno:fósforo (C:N:P) donde se encuentra la mayor biodegradación de hidrocarburos.....	21
Resultados y discusión.....	22
Caracterización fisicoquímica de los desechos.....	22
Composición por fracciones del hidrocarburo presente en los desechos.....	23
Evaluación del contenido de metales en los desechos.....	24
Estandarización del método para determinación de hidrocarburos.....	24
Preparación de mezclas de bagacillo, agua y desechos.....	25
Montaje de pruebas de biodegradabilidad.....	26
Pruebas para determinar la fuente de nitrógeno y la relación C:N:P donde se encuentra la mayor biodegradación de contaminantes.....	31
pH.....	31
Producción de CO ₂	34
Hidrocarburos residuales.....	37
Porcentajes de biodegradación.....	42
Obtención de índices.....	47
Conclusiones.....	51
Recomendaciones.....	52
Bibliografía.....	53
Anexos.....	58
Métodos.....	58
Tablas de resultados.....	69
Análisis estadísticos.....	78

Índice de Tablas

Tabla 1.	Parámetros de caracterización de los desechos.....	18
Tabla 2.	Diseño de bloques incompletos para el análisis de los nutrientes en las pruebas de biodegradación.....	21
Tabla 3.	Caracterización de los desechos examinados.....	22
Tabla 4.	Composición de hidrocarburos encontrados en los desechos.....	23
Tabla 5.	Composición del contenido de metales en los desechos analizados.....	24
Tabla 6.	Proporciones de los componentes de las mezclas en las pruebas de biodegradación.....	26
Tabla 7.	Porcentajes de biodegradación en los diferentes desechos, fuentes y concentraciones de nitrógeno probadas.....	42
Tabla 8.	Análisis de varianza entre los diferentes tratamientos y las interacciones entre éstos.....	45
Tabla 9.	Análisis de comparación múltiple donde se determinan las diferencias estadísticas entre tratamientos así como las interacciones entre éstos.....	46
Tabla 10.	Porcentajes de biodegradación en los diferentes tratamientos.....	46
Tabla 11.	Porcentaje de biodegradación y factores mas importantes que influyen éste proceso en los diferentes desechos analizados.....	47
Tabla 12.	Datos y generación de índices de biodegradabilidad.....	50

Índice de Figuras

Figura 1. Sistema utilizado en la perforación de un pozo petrolero.....	3
Figura 2. Consecuencias de la contaminación del suelo.....	4
Figura 3. Municipio de Cunduacán, Tabasco.....	10
Figura 4. Localización de los pozos Bellota 301 y Bellota 401.....	11
Figura 5. Pozos Bellota 301 y Bellota 401.....	12
Figura 6. Localización del Pozo Chinchorro.....	13
Figura 7. Pozo Chinchorro.....	14
Figura 8. Pozo Bellota 301.....	15
Figura 9. Desechos del pozo Bellota 301.....	15
Figura 10. Desechos del pozo Bellota 301.....	16
Figura 11. Pozo Bellota 401.....	16
Figura 12. Presa principal del pozo Bellota 401.....	17
Figura 13. Presa auxiliar del pozo Bellota 401.....	17
Figura 14. Respirómetro de Bartha para medición de producción de CO ₂	20
Figura 15. Sensibilidad del método EPA 418.1 a diferentes concentraciones de hidrocarburos con respecto a las diluciones.....	25
Figura 16. Densidad de los diferentes desechos a diferentes proporciones desecho:bagacillo.....	26
Figura 17. Comportamiento de la humedad en el estudio exploratorio de biodegradación de hidrocarburos en los desechos.....	27
Figura 18. Comportamiento del pH en el estudio exploratorio de biodegradación de hidrocarburos en los desechos.....	28
Figura 19. Comportamiento del CO ₂ en el estudio exploratorio de biodegradación de hidrocarburos en los desechos.....	28
Figura 20. Disminución de hidrocarburos en el estudio exploratorio de biodegradación en los desechos.....	29
Figura 21. Comportamiento de la actividad de agua en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 401 en la menor concentración de nutrientes.....	30
Figura 22. Comportamiento de la actividad de agua en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 401 en la concentración intermedia de nutrientes.....	30
Figura 23. Comportamiento de la actividad de agua en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 401 en la mayor concentración de nutrientes...	31
Figura 24. Comportamiento del pH en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse sulfato de amonio con las tres concentraciones probadas.....	32
Figura 25. Comportamiento del pH en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse nitrato de amonio con las tres concentraciones probadas.....	32
Figura 26. Comportamiento del pH en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse nitrato de potasio con las tres concentraciones probadas.....	33
Figura 27. Comportamiento del pH en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse urea con las tres concentraciones probadas.....	33

Figura 28. Producción de CO ₂ en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse sulfato de amonio con las tres concentraciones probadas..	35
Figura 29. Producción de CO ₂ en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse nitrato de amonio con las tres concentraciones probadas..	35
Figura 30. Producción de CO ₂ en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse nitrato de potasio con las tres concentraciones probadas...	36
Figura 31. Producción de CO ₂ en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse urea con las tres concentraciones probadas.....	37
Figura 32. Disminución de hidrocarburos en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse sulfato de amonio con las tres concentraciones probadas.....	38
Figura 33. Disminución de hidrocarburos en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse nitrato de amonio con las tres concentraciones probadas.....	39
Figura 34. Disminución de hidrocarburos en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse nitrato de potasio con las tres concentraciones probadas.....	40
Figura 35. Disminución de hidrocarburos en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse urea con las tres concentraciones probadas...	41
Figura 36. Porcentajes de biodegradación en los desechos de la fosa Chinchorro en las fuentes y concentraciones de nitrógeno probadas.....	43
Figura 37. Porcentajes de biodegradación en los desechos de la fosa Bellota 401 en las fuentes y concentraciones de nitrógeno probadas.....	43
Figura 38. Porcentajes de biodegradación en los desechos de la fosa Bellota 301 en las fuentes y concentraciones de nitrógeno probadas.....	44

INTRODUCCIÓN

Durante la perforación de pozos petroleros se genera una gran cantidad de residuos llamados lodos o recortes de perforación, los cuales contienen aceite diesel y son considerados residuos peligrosos⁽¹⁾. Dentro de las actividades de perforación se encuentran dos tipos de pozos, los marinos y terrestres. En el primer caso los desechos generados se vertían sin ningún tipo de tratamiento al mar. En los terrestres, el lodo era depositado en una fosa de aproximadamente 70 m X 70 m X 2 m de profundidad ubicada a un lado del pozo de perforación, ocasionando de esta manera la contaminación del suelo en el cual se depositaba⁽²⁾.

Estos depósitos han permanecido intactos en su mayoría por mas de 20 años dentro de las zonas de alta productividad petrolera (principalmente en los estados de Tabasco y Chiapas). La utilización de estas fosas para la disposición de dichos desechos en la actualidad está prohibida; sin embargo, aún existen muchas de éstas en los estados antes mencionados.

Actualmente Petróleos Mexicanos (PEMEX) está comprometido con la limpieza de estos sitios y se están realizando acciones para la restauración de estos lugares, sin embargo, debido a las particulares condiciones de éstos se han encontrado algunas dificultades. Éstas han sido principalmente las condiciones climáticas de la región (intensa irradiación solar en verano y altas precipitaciones pluviales en otoño), la lejanía con los centros urbanos proveedores de servicios básicos (agua, energía eléctrica, medios y vías de transporte), las condiciones de las propias fosas (en su mayoría espacios limitados, mantos freáticos superficiales y contaminantes intemperizados), y por último la falta de experiencia en el uso de sistemas de tratamiento biológicos por parte de compañías que han estado a cargo de la restauración de estos sitios.

Por todo lo anterior, es necesario realizar un estudio integral que permita definir el tipo de tecnología adecuada para cada fosa y dentro de éste deben incluirse pruebas de factibilidad que confirmen o descarten el potencial del tratamiento biológico para éstos residuos. Estas pruebas deberán proporcionar información acerca del alcance de la biodegradación y el tiempo del tratamiento, así como algunas de las condiciones en las cuales se lleva a cabo⁽³⁾.

ANTECEDENTES

Fluidos de perforación

Los fluidos de perforación son materiales que se utilizan durante la perforación de pozos petroleros. Sus funciones son:

Mantener la integridad de la perforación, ya que al excavar a grandes profundidades las paredes del pozo tienden a colapsarse debido a la presión ejercida por el material que se encuentra a un lado,

Proporcionar estabilidad térmica al barreno, ya que se presenta un incremento en la temperatura a mayores profundidades. Además, al aumentar la presión del subsuelo sobre las paredes de la perforación con el avance en profundidad es necesario aumentar también la presión del fluido lo que conlleva a un aumento de temperatura. También deben evitar los aumentos bruscos de temperatura cuando se encuentran estratos ricos en carbonato de calcio (CaCO_3),

Evitar la pérdida del fluido, como éste puede filtrarse por las paredes de la perforación hacia el subsuelo, es necesario que el fluido forme una costra impermeable al mismo en las paredes del pozo,

Arrastrar el material excavado, para que el fondo de la perforación permanezca continuamente limpio del material que se está excavando, y

Evitar la contaminación del fluido, suministrando al pozo la suficiente presión hidrostática confinando así el gas, aceite y agua salada en sus respectivas formaciones en el subsuelo.

En la figura 1 se muestra un esquema del sistema utilizado en la perforación de un pozo petrolero. Este sistema consta de una bomba que inyecta el fluido al pozo por el tubo interior, éste se mezcla con los cortes que está generando el barreno y un lodo caliente, emerge por la parte exterior del pozo (entre la roca y el tubo, también llamado espacio anular); este lodo pasa a través de una malla vibradora en la cual los sólidos son separados del fluido y este último se recircula, se analiza, se le adiciona fluido fresco y se reinyecta al pozo. Por otro lado los sólidos separados en la malla e impregnados con el fluido se depositan en la fosa de desechos⁽⁴⁾.

Existen dos tipos de fluidos que son los base agua y los base aceite. Los primeros se utilizaron en los inicios de la perforación a grandes profundidades, éstos eran lodos naturales a base de agua y arcilla; con el paso del tiempo se desarrollaron productos específicos para solucionar problemas que se presentaban durante la perforación. Algunos ejemplos de estos problemas son:

- a) Presencia de mayores gradientes de temperatura al excavar a mayores profundidades,
- b) Perforación de pozos de ángulo elevado con lutitas del terciario altamente reactivas al agua, y
- c) Presencia de contaminantes severos como dióxido de carbono (CO_2), ácido

sulfídrico (H_2S), asfalto y domos salinos.

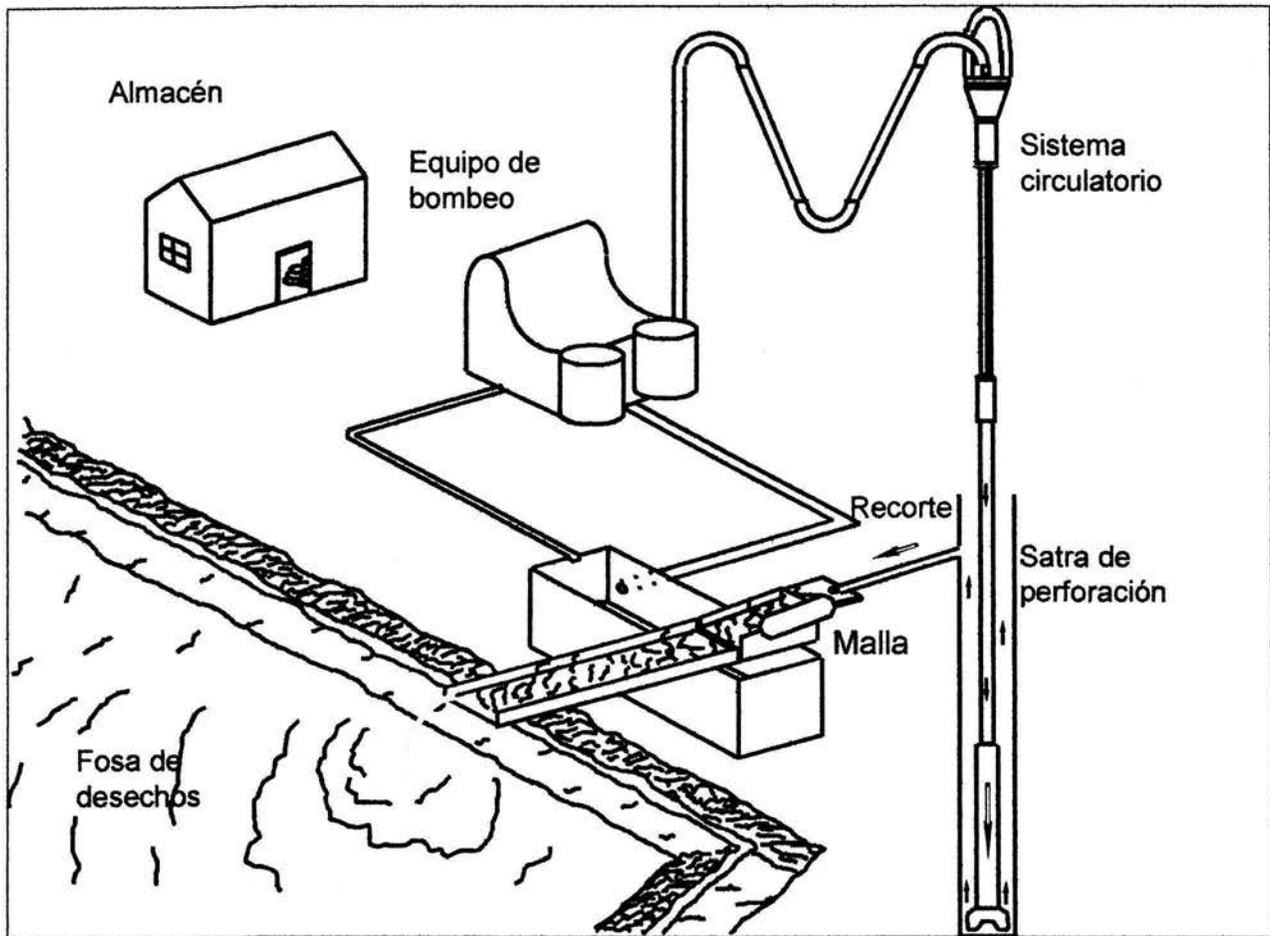


Figura 1. Sistema utilizado en la perforación de un pozo petrolero

Para solucionar el primer tipo de problemas se utilizaron metales pesados en la formulación de los fluidos. Para solucionar los demás se optó por adicionar diesel y productos asfálticos que le proporcionaron mayor estabilidad al fluido, de modo que durante mucho tiempo la composición de éstos consistió en dispersantes cromados, aceite diesel, asfalto y emulsificantes de acción inversa.

De acuerdo al estrato que se perfora y a las condiciones propias de la perforación la composición de los fluidos utilizados puede variar; dentro de los ingredientes del fluido puede encontrarse lo siguiente:

Fase líquida, agua (dulce o de mar) y aceite (diesel o petróleo crudo).

Fase sólida, arena, sílice, caliza, cuarzo, barita, bentonita, atapulgita.

Diversos, dispersantes (taninos, cromolignitos, lignosulfonatos), obturantes, sólidos disueltos (hidróxido de sodio para controlar el pH), agentes reductores del filtrado (pirofosfato tetrasódico, cloruro de sodio, almidón, polisacáridos, polímeros acrílicos), surfactantes (jabones, detergentes), defloculantes (arcillas) y

desespumantes (alcoholes de cadena larga) entre otros⁽⁵⁾.

Desde hace mas de 10 años la composición de estos fluidos ha sido modificada debido principalmente a la creciente sensibilidad en materia ambiental por parte de la industria petrolera y de las autoridades gubernamentales, prohibiéndose el uso de estos compuestos tóxicos (cromolignosulfonatos y metales) en la formulación de los fluidos y, utilizando productos mas inocuos al medio ambiente^(6, 7). Sin embargo, es imposible prescindir de los fluidos base aceite, por lo que se han formulado productos a base de hidrocarburos lineales mas fácilmente biodegradables que provean las características necesarias para las condiciones de perforación, evitando así el uso de diesel en la formulación de éstos^(8, 9, 10).

En estas zonas de explotación petrolera en el sureste mexicano, y en especial en el caso de Tabasco, las lluvias son abundantes⁽²¹⁾ por lo que las fosas en ocasiones se llenan y al exceder su capacidad se derrama el aceite que flota en el suelo aledaño, dispersando así los contaminantes.

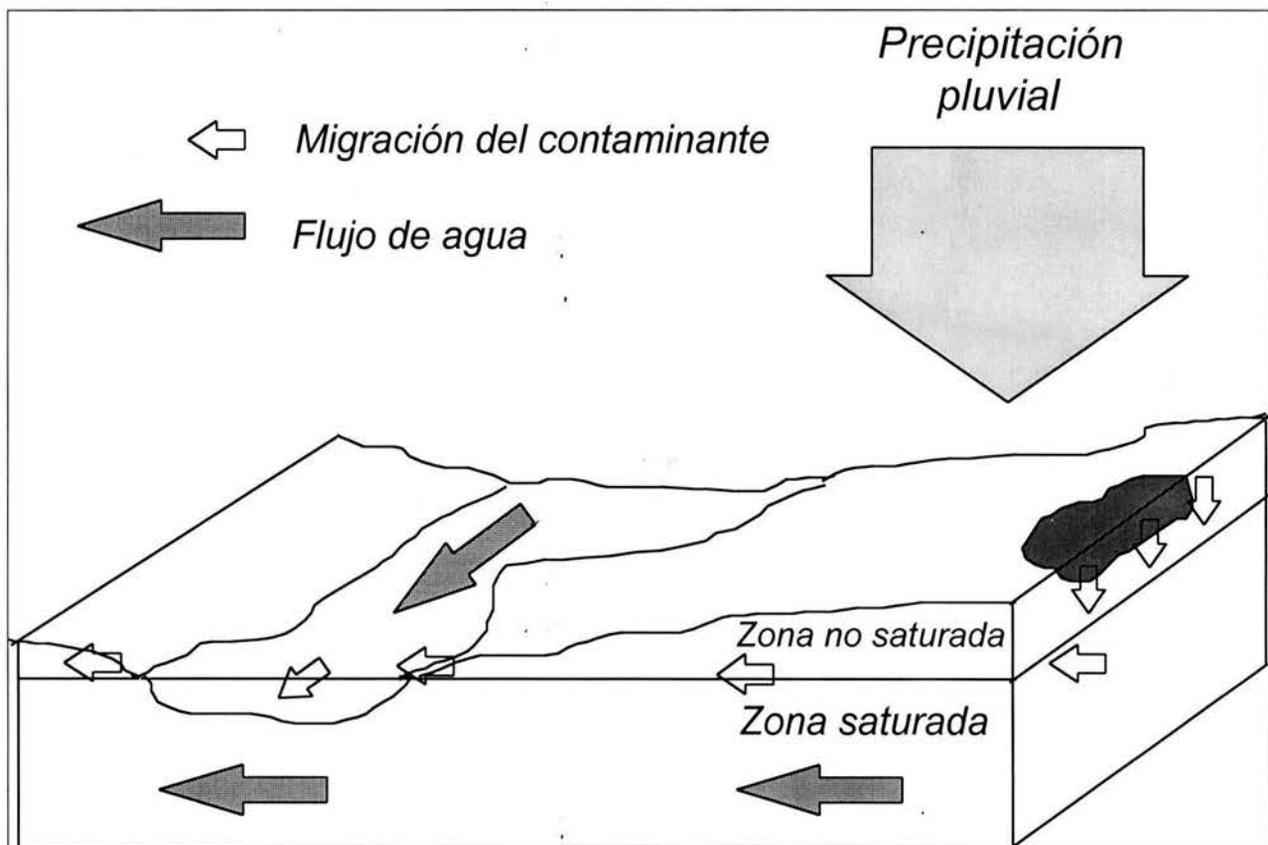


Figura 2. Consecuencias de la contaminación del suelo

Algunas de las consecuencias de la contaminación del suelo son: el arrastre del contaminante hacia el manto freático y a los cuerpos superficiales de agua (como se muestra en la figura 2), los cuales pueden utilizarse para el riego de cultivos, para

consumo humano o para la ganadería. La contaminación de los recursos pesqueros, es otra consecuencia importante, pues en el caso de Tabasco el flujo del agua subterránea es hacia el Golfo de México, el cual es una zona de gran actividad pues representa el 30% de la producción pesquera nacional⁽¹¹⁾.

Para tener una idea de la magnitud del problema, el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI) reporta que existen en explotación poco más de 1000 pozos hasta 1995⁽¹²⁾, los cuales en el momento de perforarlos requirieron una gran cantidad de fluidos además de que cada cierto tiempo reciben mantenimiento para destaparlos y mejorar la producción. En estas acciones el aceite diesel del que están constituidos son introducidos al ambiente, contaminando así el suelo y los mantos freáticos que en este estado son vastos y superficiales.

Biodegradación de hidrocarburos

Una de las opciones de restauración de sitios contaminados es la biorremediación. Ésta se refiere a los métodos que emplean a los microorganismos con capacidad de degradar (biodegradación) compuestos contaminantes para la limpieza de suelos o acuíferos, y es en términos generales una de las opciones viables más económicas para el tratamiento de sitios contaminados, ya que los métodos químicos y físicos son además de caros generadores de otros residuos^(13, 14).

La biodegradación de hidrocarburos es un tema ampliamente estudiado; a principios de los años setenta los estudios acerca del comportamiento de algunos productos del petróleo demostraron la capacidad de los microorganismos del suelo para degradar dichos productos, y a finales de la década de los 90 se realizaban ya estudios acerca de los parámetros que afectan la degradación de éstos⁽¹⁵⁾. También se han estudiado los metabolitos intermediarios en la degradación de algunos compuestos e incluso se han desarrollado sistemas computacionales que predicen la biodegradabilidad de éstos. Es por esto que hoy se sabe cual es la forma sistemática de abordar la biodegradación de hidrocarburos y cuales son los parámetros de mayor importancia en un proceso de biodegradación, estos estudios se han realizado en medio líquido⁽¹⁶⁾, en matrices sólidas (suelo), tanto para la degradación de compuestos puros⁽¹⁷⁾ como para mezclas de compuestos⁽¹⁸⁾, utilizando cepas puras así como consorcios microbianos⁽¹⁶⁾.

Los factores que afectan la degradación de los hidrocarburos son de dos tipos principales, los químicos y los físicos, siendo limitantes de la degradación, los nutrientes, las cantidades de oxígeno, de contaminante disponible y la temperatura, solo por mencionar los más importantes. Existe además evidencia de que cada sitio contaminado debe ser particularmente analizado pues no siempre, y sobre todo en suelos, se encuentran las mismas condiciones microambientales ni la misma biota, ya que en ocasiones se observan microorganismos adaptados a la presencia del contaminante y en otras ocasiones no, además un mismo contaminante puede tener diferentes características ocasionadas por el tiempo de intemperización, así como por

las condiciones ambientales de donde se encuentre⁽¹⁴⁾.

En cuanto a la biodegradación de hidrocarburos se ha observado que los alifáticos son fácilmente biodegradados, mientras que los poliaromáticos son biodegradados más lentamente, y hay que recordar que los hidrocarburos que se encuentran en el diesel (de los fluidos de perforación) corresponden a una mezcla que destila entre 370 y 570°C, por lo que son hidrocarburos aromáticos y poliaromáticos los que se hallan en este aceite⁽¹⁹⁾.

Debido a que los estudios correspondientes a la biodegradación de los hidrocarburos ha sido un tema ampliamente estudiado hay evidencias que los presentes en los cortes (lodos) de perforación pueden ser tratados por métodos biológicos.

Pruebas de biodegradabilidad

Para llevar a cabo la limpieza o restauración de un sitio contaminado es necesario primeramente realizar un estudio de manejo de riesgo que indique la necesidad de limpieza del sitio contaminado, esto es, determinar la velocidad y el nivel de limpieza necesarios que se tiene que efectuar en el mismo. Posteriormente con esta información se debe seleccionar el tipo de tratamiento (físico, químico o biológico) adecuado para la restauración del sitio. En este sentido Rogers⁽²⁰⁾ y colaboradores sugieren que dentro de un protocolo de biorremediación debe considerarse primero un estudio de caracterización y factibilidad que permita decidir si ésta es aplicable y si se lleva a cabo in-situ o ex-situ. En seguida debe realizarse un estudio de tratabilidad (mediante pruebas de biodegradabilidad), que permita definir los criterios de diseño del sistema a implementar basado en el objetivo de limpieza planteado en el estudio de evaluación del sitio así como el costo del tratamiento, y finalmente diseñar el sistema a gran escala manteniendo los resultados obtenidos en el paso anterior.

Las pruebas de biodegradabilidad son una herramienta que demuestra si bajo las condiciones experimentales probadas un compuesto es susceptible de ser biodegradado, esto es, la estimación del potencial de biodegradación del compuesto bajo ciertas condiciones estandarizadas.

Estas condiciones estandarizadas dependerán del objetivo principal del estudio, para esto todas las variantes involucradas en éste deberán ser controladas y las que no se pueden controlar deberán ser medidas; para esto deben considerarse, en el caso específico de la biorremediación de hidrocarburos, los factores que ya se mencionaron, bajo el título de biodegradación. Los resultados del estudio de manejo de riesgo determinan las necesidades de limpieza del sitio, lo referente al tipo de sistema de biorremediación que se pretende implementar (biorreactor, biolabranza o composteo), así como los factores ambientales propios del sitio contaminado (temperatura, humedad, precipitación pluvial, etc).

Todo lo anterior es con en fin de que los resultados obtenidos en dichas pruebas puedan ser utilizados en la elección y el diseño del sistema a implementar en gran escala para la restauración del sitio. Además estos resultados aunados a la experiencia obtenida en el tratamiento de otros sitios permite predecir en que porcentaje los valores encontrados en gran escala son correlacionables a los que se obtienen en las pruebas de biodegradación⁽²¹⁾.

Por otra parte la duración de las pruebas de biodegradabilidad dependerá de las características particulares del contaminante, del sitio y del objetivo planteado en el estudio de manejo de riesgo, sin embargo éste debe ser razonablemente rápido de forma que pueda dar información del potencial de biodegradabilidad del sitio en un corto tiempo.

Cabe mencionar que como parte de los estudios realizados en materia de biodegradación se han obtenido bases de datos con valores de la biodegradabilidad de ciertos compuestos modelo. Para mezclas de compuestos se puede estimar la biodegradabilidad caracterizando la mezcla de contaminantes y combinar estos resultados con los datos de biodegradabilidad de los compuestos tipo. Es importante estudiar la biodegradabilidad de los desechos de perforación (lodos) pues en el caso particular de México el grado de intemperización, composición y/o variabilidad de éstos no es conocida.

Dentro de las pruebas de biodegradabilidad encontradas en la literatura existen algunas muy bien definidas para biodegradación de materiales plásticos, de lubricantes y para compuestos orgánicos. Sin embargo, para fluidos de perforación se pueden encontrar algunos métodos dentro de la literatura, aunque para lodos aceitosos de perforación son intentos por parte de la comunidad internacional los que se tienen a la fecha. Para los sitios contaminados con lodos de perforación, hay que considerar la diversidad de terrenos que pudieran ser afectados y la variedad de lodos que se pueden obtener pues los fluidos se mezclan con los diferentes estratos del subsuelo que se están excavando lo que da un lodo con características diferentes por estrato de subsuelo. Además, dependiendo del estrato excavado la formulación del fluido cambia por lo que la variación en el lodo esta dada por la composición del fluido y del estrato excavado, y finalmente después de terminada la perforación lo que se tiene en la fosa de desechos es una mezcla de todas estas variaciones obtenidas a lo largo de toda la excavación. El último factor de variación radica en los posibles problemas que se hayan tenido en la perforación y al uso que se le haya dado a la fosa de desechos ya que en ocasiones se utilizan éstas para disposición de otros residuos de la misma industria.

Por esto es necesario un método de prueba de biodegradabilidad para este tipo de desechos considerando todos las posibles variables que se pudieran obtener en la generación de los mismos.

Índices

Existe en la literatura una gran variedad de índices en muchos campos de la ciencia donde como su nombre lo indica son indicadores con ciertas características de un fenómeno particular, en otras palabras, estos son utilizados como una forma de clasificación; una forma de obtenerlos es a partir de valores experimentales comparados contra ciertos valores estándares.

Un índice de biodegradabilidad diría que tan biodegradable es un compuesto bajo ciertas condiciones estándares y en caso de tener una experiencia más amplia se puede incluso comparar resultados obtenidos en el laboratorio con resultados obtenidos en el campo para determinar si estos valores de laboratorio tienen cierta validez bajo ciertas condiciones para predecir la biodegradabilidad de un compuesto en un medio característico.

Si existen esos índices de biodegradabilidad no son conocidos en la literatura pues al tener un valor predictivo de un comportamiento de biodegradación de un compuesto se pueden utilizar por empresas dedicadas a la restauración de sitios contaminados.

Finalmente debido a todo lo anterior es importante la obtención de una metodología estándar para la creación de una base que en un futuro puede ser de muy alta utilidad en la restauración de sitios contaminados tanto de las empresas dedicadas a la explotación de los productos del petróleo (PEMEX) como para aquellas que prestan servicios a las primeras (IMP).

OBJETIVOS

Objetivo general

Obtener índices de biodegradabilidad para desechos de perforación de pozos petroleros.

Objetivos específicos

1. Determinar la concentración y composición de hidrocarburos y metales pesados en los desechos que se van a estudiar así como algunas de sus propiedades fisicoquímicas y microbiológicas.
2. Establecer una prueba de tratabilidad para biodegradar hidrocarburos a nivel de matraz.
3. Establecer diferencias en la biodegradación de hidrocarburos presentes en tres diferentes desechos por medio de índices de biodegradabilidad.

HIPÓTESIS

Los mejores índices de biodegradabilidad de hidrocarburos en desechos de perforación de pozos petroleros son aquellos que se relacionan con la concentración de los diversos contaminantes y no solo con la concentración de uno de ellos.

METAS

Determinar las características fisicoquímicas y biológicas mas importantes de los desechos de perforación de pozos petroleros.

Generar un sistema de prueba de tratabilidad para estudiar la biodegradación de hidrocarburos presentes éstos residuos.

Obtener índices de biodegradabilidad que permitan conocer de manera rápida si es posible tratar estos residuos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Localización del área de estudio

Se seleccionaron desechos provenientes de las fosas Bellota 401, Bellota 301 y Chinchorro, por razones de accesibilidad, estado en que se encuentran los desechos de las mismas y por sus características fisicoquímicas; estas fosas se encuentran localizadas en dentro del activo Bellota-Chinchorro en el municipio de Cunduacán Tabasco (figura 3).

El municipio de Cunduacán se localiza en la región de la Chontalpa tabasqueña, teniendo como cabecera municipal a la ciudad de Cunduacán, ubicada entre los paralelos 18°03' de latitud norte y 93° 10' de longitud oeste.



Figura 3. Municipio de Cunduacán, Tabasco.

Colinda al norte con los municipios de Comalcalco y Jalpa de Méndez, al sur con el municipio de Centro y el estado de Chiapas, al este con los municipios de Nacajuca y Centro y al oeste con el municipio de Cárdenas.

Los pozos se encuentran localizados en las siguientes coordenadas UTM: el Bellota 301 en 1'999,250 y 465,500; el Bellota 401 en 1'997,200 y 467,100 (figuras 4 y 5); y el Chinchorro en 2'000,050 y 457,200 (figuras 6 y 7).

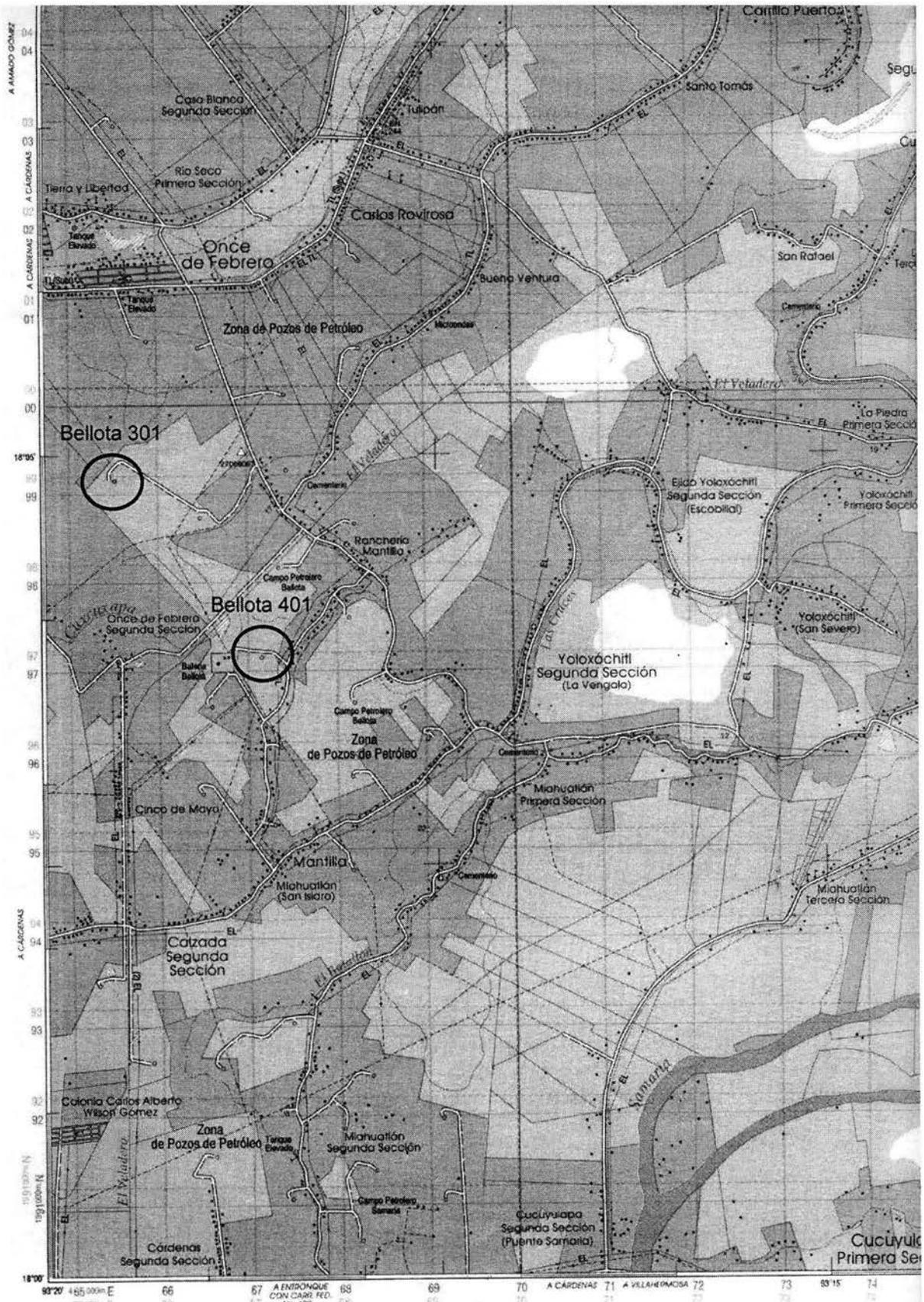


Figura 4. Localización de los pozos Bellota 301 y Bellota 401

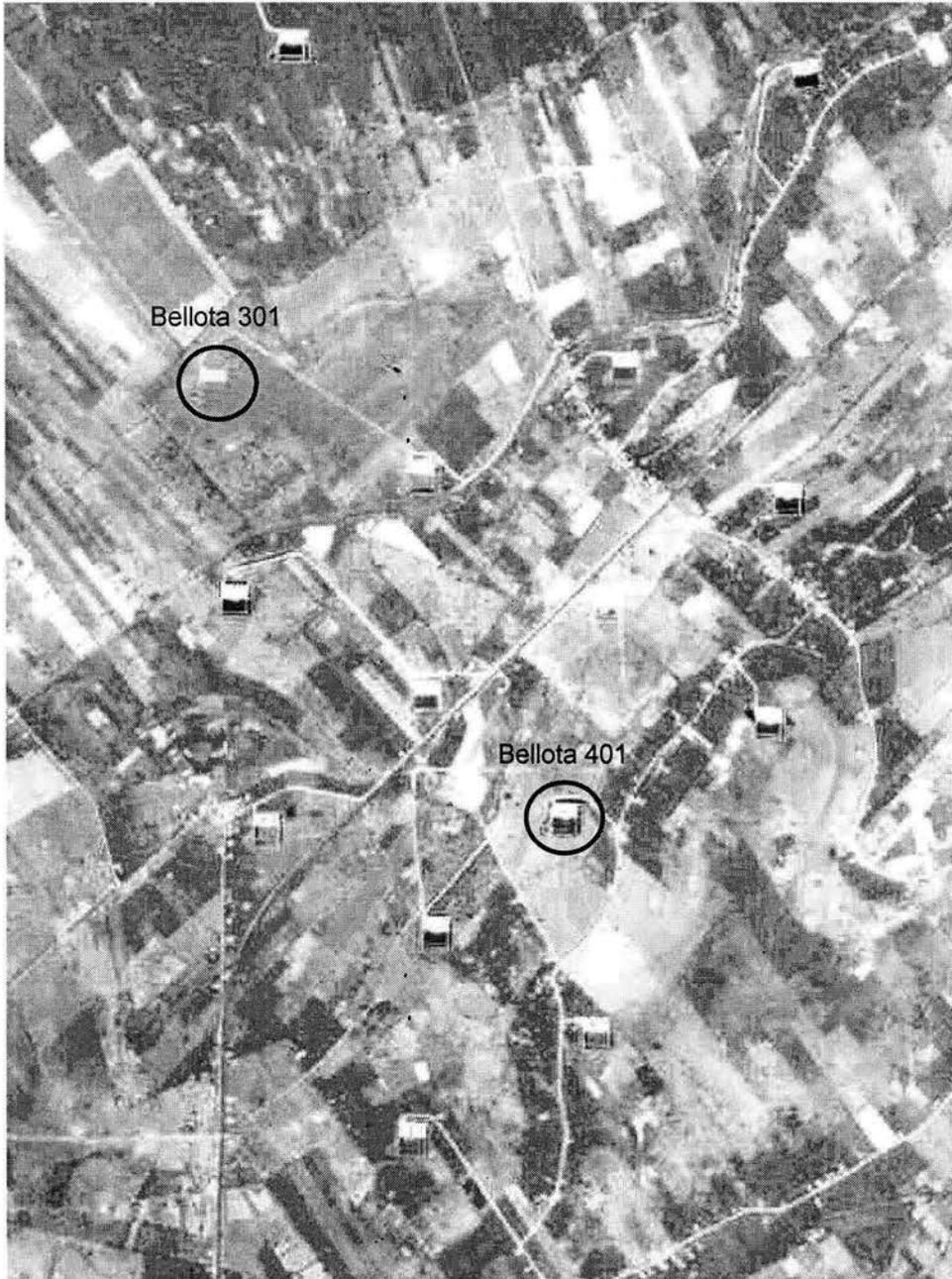


Figura 5. Pozos Bellota 301 y Bellota 401

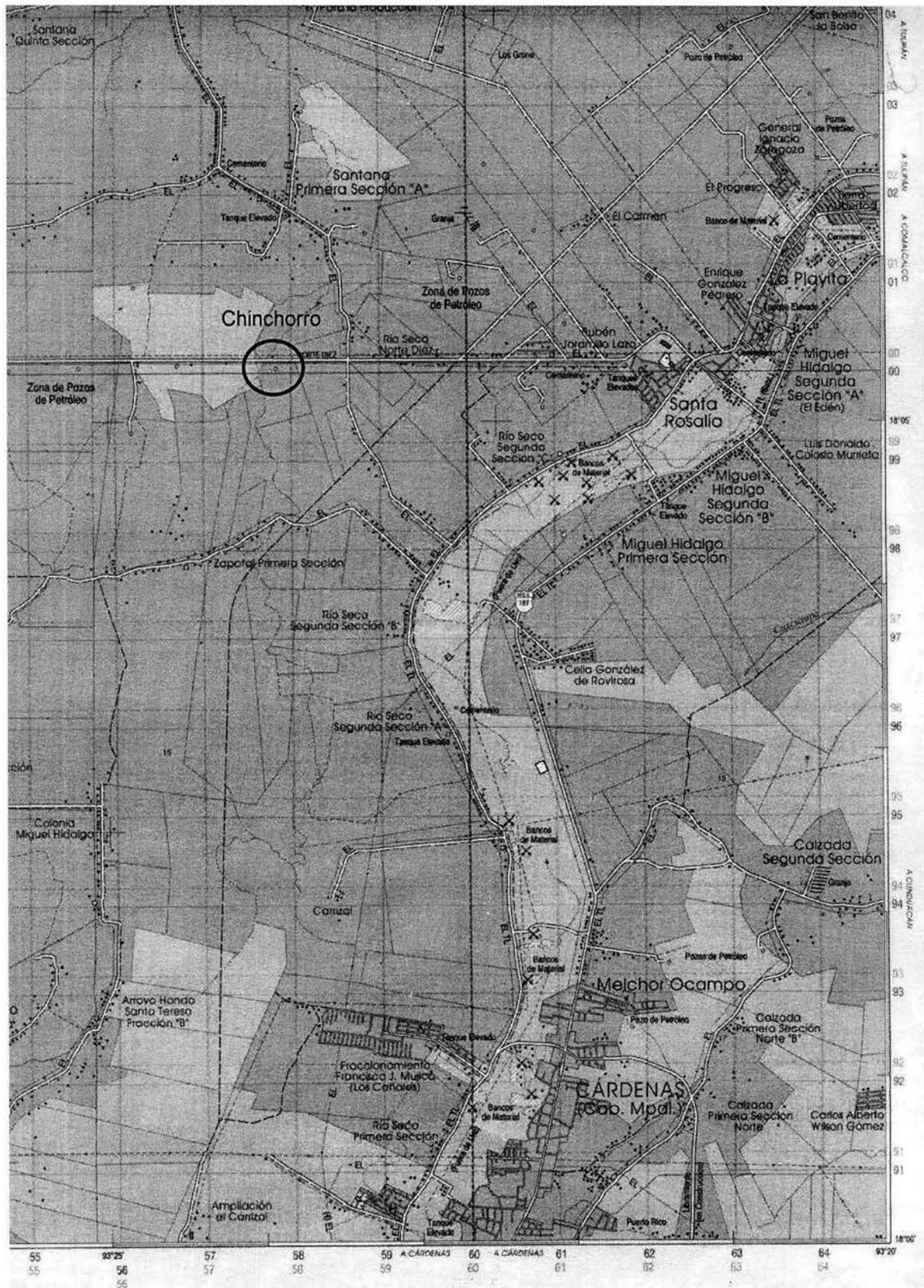


Figura 6. Localización del Pozo Chinchorro



Figura 7. Pozo Chinchorro

Muestreo y preparación de las muestras

Para que el muestreo fuera representativo de las condiciones predominantes de los desechos de perforación en el estado se consideró tomar muestras de tres tipos de lodos los cuales se detallan a continuación. Los desechos de la fosa Bellota 401 todavía continúan dentro de ésta e incluso se continúa adicionando desechos provenientes de los separadores API que se encuentran la batería Bellota aledaña al pozo (figuras 8, 9 y 10); los de la fosa Bellota 301 fueron sacados de ésta y se encuentran en la pera del pozo en forma de pilas de 2 m de alto por 1.5 m de ancho y 20 de largo (figuras 11, 12 y 13), mientras que los desechos de la fosa Chinchorro son lodos que fueron tomados saliendo de la perforación.

Para realizar el muestreo se utilizó un cavahoyos y se depositaron las muestras en cubetas de 20 litros. En el pozo Bellota 401 se tomaron las muestras en la orilla de la fosa, los desechos del pozo Bellota 301 en uno de los montículos hasta 1 m de profundidad y los desechos del pozo Chinchorro del único montículo disponible. Las muestras consistieron de aproximadamente 40 kg cada una y se enviaron al laboratorio para su posterior análisis, donde se almacenaron a 4°C.

Las muestras se secaron al aire y en la oscuridad por una semana, se mezclaron manualmente dentro de la cubeta, se molieron con un molino de martillos y se tamizaron por una malla de 0.2 cm con el fin de tener una muestra homogénea para su análisis.

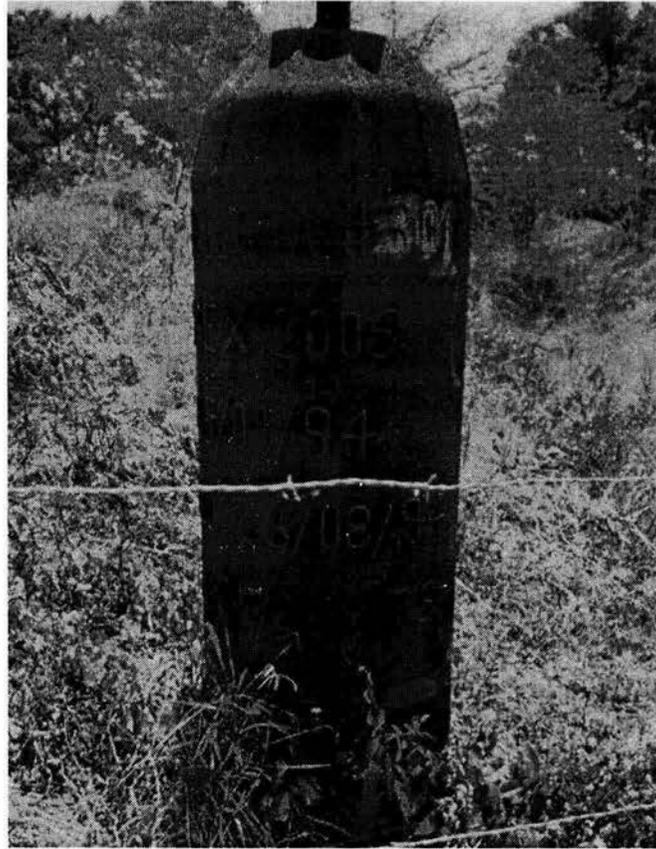


Figura 8. Pozo Bellota 301



Figura 9. Desechos del pozo Bellota 301



Figura 10. Desechos del pozo Bellota 301

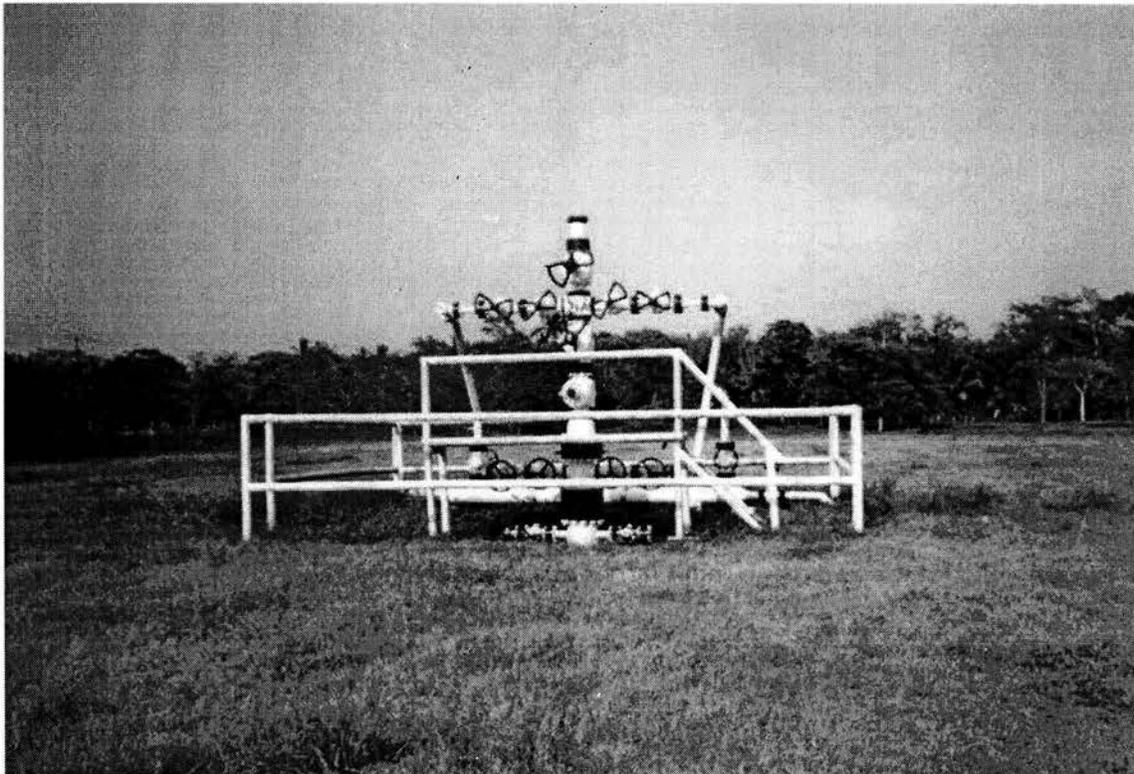


Figura 11. Pozo Bellota 401



Figura 12. Presa principal del pozo Bellota 401



Figura 13. Presa auxiliar del pozo Bellota 401

Caracterización de los desechos

Se caracterizaron los desechos, determinando los parámetros mostrados en la tabla 1. El nitrógeno y la humedad se analizaron por métodos estándar⁽³⁶⁾ (Kjeldahl y gravimetría respectivamente), el pH se midió en una solución del suelo, bagazo y/o la mezcla en proporción 1:2, la textura por el método de Boyoucos^(22, 23), los metales de acuerdo a los métodos EPA 3050B, 7000A y 6020, para la digestión y el análisis por absorción atómica y emisión de plasma respectivamente^(24, 25, 26), la extracción de hidrocarburos, y el análisis de hidrocarburos totales por los métodos EPA 3540C y 418.1^(27, 28), para el fraccionamiento de los hidrocarburos se utilizó el procedimiento descrito por Ilias, et. al., Wang et. al., y Karlsen,^(29, 30, 31) y finalmente el análisis de microorganismos se realizó según el procedimiento de número mas probable (NMP) para organismos heterótrofos totales e hidrocarbonoclasticos según Braddock y Catterall⁽³²⁾.

Tabla 1. Parámetros de caracterización de los desechos

Parámetro	Método
pH	potenciométrico
metales pesados	EPA 3050B, 7000A y 6020
nitrógeno total	Kjeldahl
humedad	gravimetría
textura	Boyucos
concentración de hidrocarburos	EPA 418.1
composición de hidrocarburos	cromatografía en columna
microorganismos degradadores de hidrocarburos	NMP
microorganismos heterótrofos totales	NMP

Estandarización del método para determinación de los hidrocarburos

Para la análisis de los hidrocarburos se utilizó el método de extracción soxhlet EPA 3540C, y el EPA 418.1 modificado para la cuantificación; la modificación consistió en utilizar tetracloruro de carbono (CCl_4) como disolvente extractor y se eliminó el uso de sílica gel para evitar pérdida de hidrocarburos.

Debido a las modificaciones antes mencionadas fue necesario estandarizar el método de análisis de los hidrocarburos totales del petróleo (HTP), para esto se realizaron tres pruebas:

- porcentaje de recuperación en la extracción,
- variación del método de detección, y
- límite de detección.

El método seguido para las tres pruebas antes mencionadas fue el siguiente:

- A un suelo limpio se le adicionó una cantidad conocida de petróleo crudo Maya (10,000, 100,000 y 200,000 ppm), y se extrajo mediante el procedimiento descrito por EPA (3540); se montaron seis réplicas para cada concentración y se determinó el coeficiente de variación, media, desviación estándar y error estándar. Se incluyó el blanco del suelo limpio.
- Se disolvió petróleo crudo en CCl_4 obteniendo tres concentraciones (10,000, 100,000 y 200,000 ppm) con seis réplicas para cada concentración. Se determinó el coeficiente de variación, media, desviación estándar y error estándar.
- El desecho contaminado se diluyó con suelo limpio (1:2 y 1:4 con seis réplicas cada dilución) y se mezcló en un agitador de polvos por 24 horas, se extrajo y se cuantificaron los HTP. Se determinó el coeficiente de variación, media, desviación estándar y error estándar. Se incluyó el blanco del suelo limpio.

En todos los casos se incluyeron blancos de CCl_4 y un estándar (por duplicado) de concentración conocida de petróleo crudo maya (10,000, 100,000 y 200,000 ppm).

Para la extracción de hidrocarburos de la mezcla de bagazo agua y desecho se realizaron pruebas a diferentes tiempos (4, 8, 12 y 24 hrs) para determinar si existe diferencias a mayores tiempos de extracción, ya que las muestras se incubaron a 35°C y es necesario asegurar que se extrae la mayor cantidad de hidrocarburos, ya que por el tiempo, y la temperatura éstos pueden estar absorbidos⁽³³⁾. Antes de extraer los hidrocarburos, la muestra se secó al aire por 24 horas y se adicionó sulfato de sodio anhidro seco para eliminar el agua remanente de la mezcla. Se realizó un análisis de varianza para determinar si existe diferencia entre los tiempos de extracción.

Preparación de mezclas de bagacillo, agua y desecho

Aguilera-Vázquez⁽³⁴⁾ y colaboradores reportan que la densidad a la que se encuentra la mayor biodegradación de hidrocarburos en experimentos a escala de laboratorio es 0.4g/ml, mientras que para la humedad, Haug⁽³⁵⁾ encontró que por debajo del 50% la actividad microbiana decrece. Por estas razones se utilizaron estos parámetros dentro de la prueba de biodegradación. Para eso se preparó una mezcla que contenía el 60% de agua destilada y el 40% de sólidos, éstos correspondieron a la mezcla de bagacillo y desecho.

Debido a que los diferentes desechos presentaban densidades diferentes al mezclar éstos en la misma proporción con el bagacillo se obtenían mezclas con diferentes densidades, hubo entonces que determinar para cada desecho la proporción de éste y bagacillo que rindiera la densidad deseada. Se ideó un método gráfico en el cual se prepararon mezclas al 60% de humedad con las siguientes proporciones de desecho:bagacillo: 60/40, 65/35, 70/30, 75/25, 80/20, 85/15, y 90/10.

Se pesó el bagacillo y el desecho de cada mezcla hasta hacer 20 g, se le adicionó 30 g de agua, se homogeneizó con una espátula y se midió la densidad aparente por el método del cilindro de volumen conocido⁽³⁶⁾. Se construyeron con estos datos gráficas del inverso de la densidad aparente en el eje de las ordenadas contra proporción de desecho en la mezcla en el eje de las abscisas de allí se extrapoló la proporción de desecho:bagacillo con que se obtiene una mezcla con la densidad deseada para cada uno de los desechos.

Montaje de pruebas de biodegradabilidad

Éste estudio se realizó con el fin de establecer el tiempo de tratamiento para la prueba, se estandarizaron las técnicas de monitoreo, y se determinó si existe diferencia estadística entre unidades experimentales (matraces) o dentro de la misma unidad experimental. Se probaron dos tratamientos, uno con medio de cultivo Lebac⁽³⁷⁾ y otro

solo con agua destilada; cada tratamiento se implementó por duplicado y se realizaron las determinaciones de pH, humedad, HTP y CO_2 por duplicado en cada unidad experimental.

Se determinó el pH porque en la biodegradación se obtienen ácidos orgánicos que pueden aumentar la acidez del sistema y afectar el proceso de transformación de hidrocarburos, la humedad porque es importante proveerle al sistema el medio a través del cual pueden transportarse los nutrientes y los microorganismos, el CO_2 para medir la actividad microbiana y los hidrocarburos residuales los cuales son la variable de respuesta del proceso de biodegradación.

El dióxido de carbono (CO_2), se midió en matraces Bartha⁽³⁸⁾ de 500 ml (figura 14) con 40 g de mezcla, se utilizó una solución 2 N de KOH para capturar el CO_2 utilizándose una solución normalizada de HCl para cuantificarlo por titulación. Los resultados de este análisis se expresan en mg de CO_2 producidos por gramo de mezcla en base húmeda, lo que se grafica en resultados es lo que se produjo, diariamente en el matraz y capturado en el KOH mas lo producido el día anterior. El pH, la humedad y los HTP residuales se cuantificaron en matraces Erlenmeyer de 350 ml con 20 g de mezcla sacrificando un par de éstos a cada tiempo de muestreo, y para evitar cambios en la humedad se cerraron con tapones de hule con una perforación de 2 mm de diámetro. Los matraces se incubaron a 35°C en una estufa a temperatura constante con humidificación.

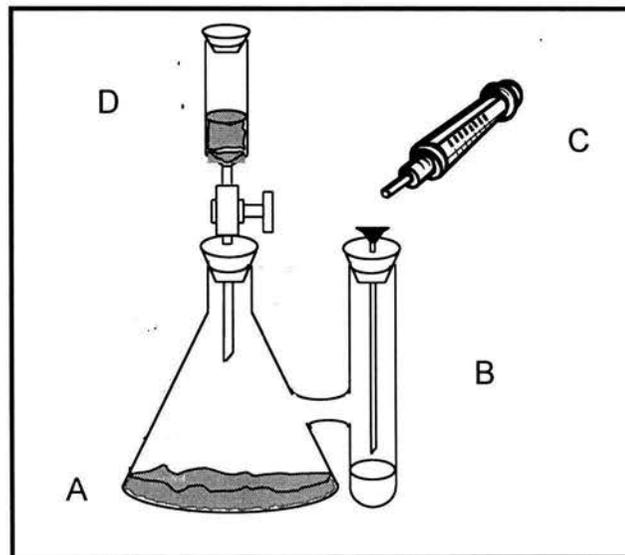


Figura 14. Respirómetro de Bartha para medición de producción de CO_2 . Consta de cuatro partes a) un matraz Erlenmeyer que contiene la mezcla de desecho y bagacillo, b) un tubo reservorio unido al matraz a través de un tubo que contiene KOH 1N con tapón de hule y una aguja de acero inoxidable de punta recta que llega hasta el fondo de éste, c) una jeringa con la que se extrae el KOH donde se capturó el CO_2 en forma de KCO_3 y d) una trampa que filtra del aire que entra al matraz el CO_2 que pueda contener el aire circundante, consta de perlas de NaOH, tapón hule, algodón en el fondo y llave de teflón con punta de vidrio.

Pruebas para determinar la fuente de nitrógeno y la relación C:N:P donde se encuentra la mayor biodegradación de hidrocarburos

Para evaluar al mismo tiempo, con el menor número de repeticiones, las fuentes de nitrógeno, y las concentraciones de las mismas, las opciones eran un diseño experimental de bloques incompletos o uno factorial. En el primer diseño se tendrían 24 unidades experimentales a cada tiempo de muestreo y en el segundo 36 por lo que se eligió el de bloques incompletos, el cual se esquematiza en la tabla 2.

Tabla 2. Diseño de bloques incompletos para el análisis de los nutrientes en las pruebas de biodegradación

Fuentes de nitrógeno	Urea	Nitrato de amonio	Sulfato de amonio	Nitrato de potasio
	100:20:1	100:20:1	100:20:1	100:20:1
Relaciones C:N:P	100:10:0.5	100:10:0.5	100:10:0.5	100:10:0.5
	100:5:0.25	100:5:0.25	100:5:0.25	100:5:0.25

Se montaron para cada relación C:N:P seis matraces, cinco para pH, humedad, y HTP, los cuales se sacrificaron a cada tiempo de muestreo (3 días) y uno para CO₂. Las determinaciones de cada parámetro se realizaron por duplicado en cada unidad experimental y el error se calculó en cada bloque ya que entre ellos debe encontrarse la mayor diferencia, los bloques pueden ser las diferentes fuentes de nitrógeno o las relaciones C:N:P.

Las fuentes de nitrógeno elegidas para este estudio son las comúnmente encontradas en el mercado y que además son de fácil obtención. En cuanto a las relaciones C:N:P reportadas en la literatura⁽³⁹⁻⁶³⁾ son muy amplias (van desde 100:25:5 hasta 100:0.1:0.0001) y se basan la mayoría en la mera experiencia, por esto, se tomó como punto de partida el contenido de carbono, nitrógeno y fósforo de las bacterias del suelo que según Atlas es de 100:20:1 utilizándose esta relación como la concentración más alta de nutrientes y las siguientes dos fueron la mitad y la cuarta parte quedando en 100:10:0.5 y 100:5:0.25.

En el apartado de resultados se describen los valores promedio encontrados, los cuales se grafican junto con su desviación estándar.

RESULTADOS Y DISCUSION

Caracterización fisicoquímica de los desechos

En la caracterización inicial se evaluó la textura para determinar el origen de los desechos, el pH para saber si éste se encontraba lejos de la neutralidad en cualquiera de los desechos, el nitrógeno con el fin de evaluar el contenido de este macronutriente en los mismos, la cantidad de contaminantes presentes en el desecho (hidrocarburos totales y metales pesados), la composición de los hidrocarburos de acuerdo a sus grupos mas importantes y la cantidad de microorganismos que permitirían llevar a cabo el proceso de biodegradación.

Se observa en la tabla 3 que todos los desechos tienen la misma textura debido a su origen común, ésta es arenosa pues proviene de la roca del subsuelo que es desgastada en la perforación, proveyéndole el contaminante la característica de migajón. Todos presentan un pH neutro (7.38 a 7.63), lo que puede deberse al lavado constante de los sitios por las lluvias. La concentración de nitrógeno esta en el intervalo de muy pobre para Bellota 301 (0.026%) y Chinchorro (0.026%) y pobre para Bellota 401 (0.083%) según la clasificación de Tavera⁽²⁸⁾ en el rubro de nutrientes en suelos.

Tabla 3. Caracterización de los desechos examinados

PARAMETRO	BELLOTA 401	BELLOTA 301	CHINCHORRO
Textura	Arena migajosa	Arena migajosa	Arena
• % Limos	14	16	6
• % Arenas	82	84	90
• % Arcillas	4	0	4
pH	7.38	7.85	7.63
Nitrógeno Total (%)	0.083	0.026	0.041
HTP (ppm)	127,117.62	47,966.62	117,221.62
NMP de microorganismos degradadores de hidrocarburos/g de muestra seca	1.5×10^3	1.5×10^4	2.5×10^2
NMP de microorganismos heterótrofos totales/g de muestra seca	1.5×10^3	9.1×10^4	9.5×10^3

En cuanto a la concentración de hidrocarburos se encontró que ésta es menor en los residuos en el siguiente orden Bellota 401 (127,117.62 ppm), Chinchorro (117,221.62 ppm) y Bellota 301 (47,966.62 ppm), esto demuestra la variedad de contaminación en términos de concentración que existe en estas fosas; la concentración mas elevada en el Bellota 401 obedece a que a esta fosa se siguen arrojando desechos.

Respecto a los microorganismos, el desecho de la fosa Bellota 301 es el que contiene la mayor cantidad de éstos, tanto en degradadores de hidrocarburos (1.5×10^4 NMP/g de muestra seca) como los heterótrofos totales (9.1×10^4 NMP/g de muestra seca), después le sigue el Bellota 401 (con 1.5×10^3 NMP/g de muestra seca para ambos tipos de microorganismos) y finalmente el Chinchorro (con 2.5×10^2 y 9.5×10^3 NMP/g de muestra seca respectivamente). Se observa una diferencia de casi dos ordenes de magnitud entre el Bellota 301 y el 401 en ambos tipos de microorganismos. Seguramente esto se debe a la forma en que están dispuestos ambos residuos, pues con los del Bellota 301 se construyeron pilas de 2 m de alto por 2 m de base, mientras que las del Bellota 401 se encuentran todavía en la fosa donde las condiciones de aerobiosis no son iguales que en las pilas pues cuando llueve la fosa se llena de agua permaneciendo así mucho tiempo. En el Bellota 401 la cantidad de microorganismos heterótrofos totales es casi un orden de magnitud mayor que en el Chinchorro, además, en el primero se observó una mayor cantidad de microorganismos degradadores de hidrocarburos en relación al Chinchorro, seguramente por la continua adición de hidrocarburos pues aquí se siguen descargando los desechos provenientes de una baterías cercana a la fosa.

Composición por fracciones del hidrocarburo presente en los desechos

En la tabla 4 se muestran los resultados obtenidos del fraccionamiento de los hidrocarburos por cromatografía en columna. Aquí se aprecia que al igual que la concentración de hidrocarburos totales es variable en los diferentes desechos, la composición es igualmente variable, sin embargo la mayor cantidad de hidrocarburos corresponde a los alifáticos en todas las muestras, lo que puede ser un indicativo del potencial de biodegradabilidad del contaminante. Cabe resaltar que los desechos del Bellota 401 son los que tienen la mayor cantidad de hidrocarburos poliaromáticos y la menor de insolubles en pentano, lo que indica que pudiera existir un proceso de acumulación de hidrocarburos poliaromáticos -los cuales son difícilmente biodegradados- y una dilución de insolubles en pentano por la adición continua de hidrocarburos provenientes de la batería. La diferencia existente entre el Bellota 301 y los del Chinchorro se encuentra en los hidrocarburos alifáticos y aromáticos, y ésta puede deberse a que en el Bellota 301 los hidrocarburos presentan ya un proceso de biodegradación y los hidrocarburos aromáticos se están convirtiendo en alifáticos al romperse los anillos.

Tabla 4. Composición de hidrocarburos encontrados en los desechos

Fracción	Bellota 301	Chinchorro	Bellota 401
Alifáticos	40.34%	27.76%	34.08%
Aromáticos	12.56%	29.73%	23.03%
Poliaromáticos	4.32%	2.46%	15.73%
Polares	14.32%	13.09%	10.61%
Insolubles en pentano	28.47%	26.96%	16.56%

Evaluación del contenido de metales en los desechos

Dentro de este análisis, y de acuerdo al código de normatividad de Berkeley California, se observa (tabla 5) que para casi todos los elementos analizados, y en particular el cromo y plomo, que son utilizados como ingredientes en la formulación de los fluidos (en forma de cromolignosulfonatos y dentro de la bentonita respectivamente), no se encuentran en altas concentraciones, así como ninguno de otros metales de interés tóxico sobre las bacterias, el alto contenido de fierro se debe seguramente al resultado de la corrosión del equipo de perforación por parte del lodo, sin embargo cabe resaltar que es uno de los componentes del suelo y por tanto no representa problema alguno.

Tabla 5. Composición del contenido de metales en los desechos analizados

ELEMENTO	Bellota 401	Bellota 301	Chinchorro	Normatividad ^a
Bario	246.55	0.66	837.00	10,000
Cadmio	0.01	<5.00	<5.00	100
Cromo	45.25	38.10	36.00	2,500
Fierro	12,106.50	1,6100.00	14,200.00	N. E. ^b
Magnesio	3,959.50	4,500.00	14,900.00	N. E.
Manganeso	239.00	340.00	298.00	N. E.
Níquel	31.40	47.00	60.30	2,000
Plomo	60.50	38.00	215.00	1,000
Vanadio	6.80	28.00	26.40	240
Zinc	392.00	192.50	369.00	2,500
Arsénico	16.55	15.44	45.76	500
Mercurio	0.83	1.54	4.33	20
Selenio	0.05	0.15	0.20	N. E.

^a Berkeley California Code of Regulations 22-66261.24

^b N. E. No especificado

Todos los valores son reportados en partes por millón en base seca

Estandarización del método para determinación de hidrocarburos

Esto se realizó para determinar si la modificación hecha al método (cambio de disolvente) influiría en la cuantificación de hidrocarburos residuales ya que el límite superior de detección señalado en el método es 50,000 ppm.

Se encontró que el error relativo del equipo es del 10%, y al extraer el petróleo adicionado al suelo limpio se encontró un 91.22% de recuperación. Al hacer las diluciones del desecho con suelo limpio y extraer el hidrocarburo se encontró un coeficiente de correlación múltiple de 0.9631 como se muestra en la figura 15 lo que indica que la sensibilidad del método no varía con respecto a la concentración de hidrocarburos en la muestra, siempre que se trabajen muestras con concentraciones

entre 40,000 y 140,000 ppm.

En cuanto a la estandarización del método de extracción soxhlet no se observó diferencia significativa al 95% de confianza al extraer por periodos de 4, 8, 12 o 24 horas, por lo que se extrajeron las muestras por cuatro horas con tetracloruro de carbono.

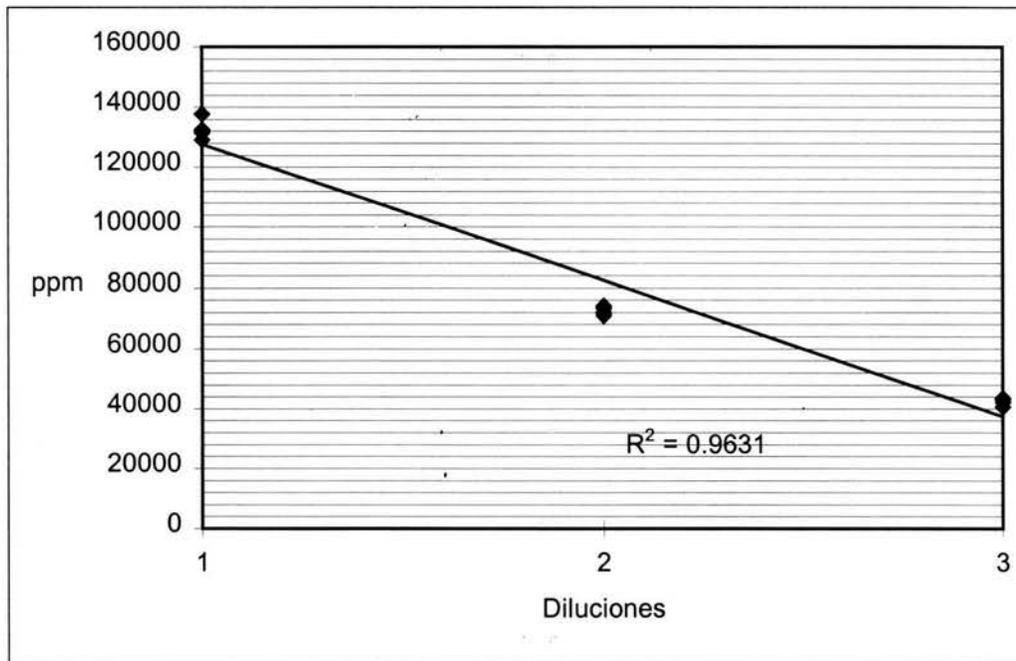


Figura 15. Sensibilidad del método EPA 418.1 a diferentes concentraciones de hidrocarburos con respecto a las diluciones

Preparación de mezclas de bagacillo, agua y desechos

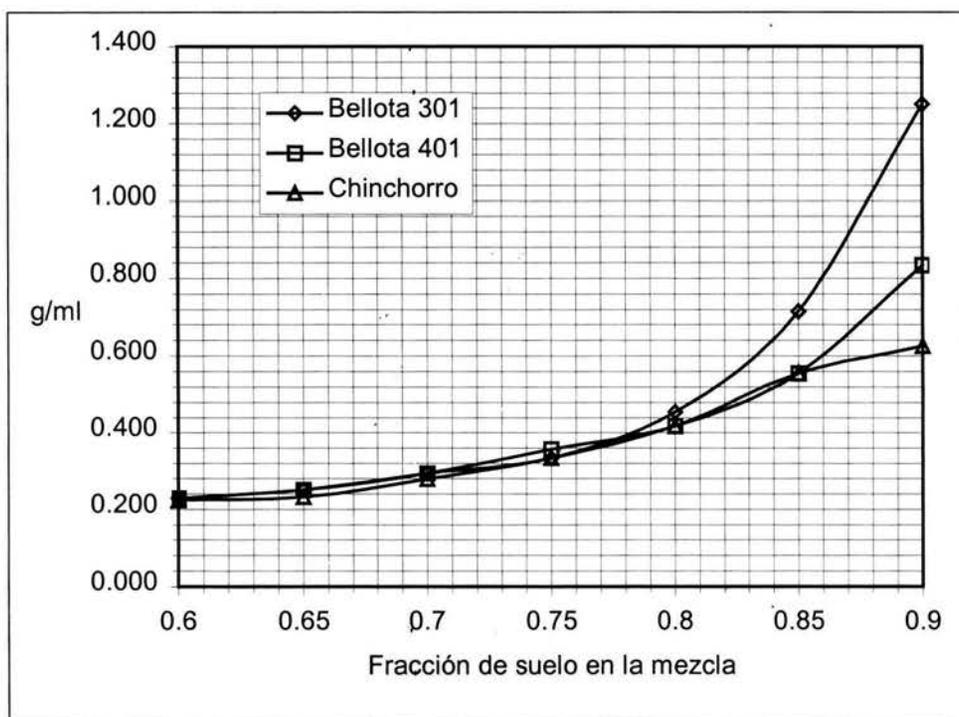
Debido a que los desechos tienen una textura arenosa, no pueden retener agua en cantidades suficientes para que los microorganismos se desarrollen de manera adecuada, ya que con pocas cantidades de agua (20% de humedad) se obtienen un lodo que vuelve el sistema anaerobio. Por esto se añadió un texturizante que mejorara las características del desecho de manera que la mezcla pudiera soportar una gran cantidad de agua (60% de humedad) así como mantener las condiciones aerobias del sistema para una biodegradación mas rápida.

Para obtener la densidad deseada (0.4 g/ml) se prepararon mezclas con proporciones para cada uno de los desechos de acuerdo a la tabla 6, estos valores provienen de la figura 16.

Tabla 6. Proporciones de los componentes de las mezclas en las pruebas de biodegradación

	Desecho	Bagacillo	Agua	Desecho
Bellota 301	9.2%	60%	30.8%	
Bellota 401	8.8%	60%	31.2%	
Chinchorro	8.0%	60%	32.0%	

Como se observa en la tabla 6 para todos los desechos se utilizaron proporciones similares de desecho:bagacillo, esta similitud se debe a la naturaleza de los desechos-es roca molida del subsuelo-. En la figura 16 se puede observar que al aumentar la proporción de desecho en la mezcla la densidad de todos los desechos aumenta de forma similar hasta cerca de 0.4 g/ml. Éste comportamiento homogéneo se debe principalmente por efecto del bagacillo, después de este punto el bagacillo deja de retener agua y de participar de manera activa en la densidad y es al desecho principalmente a quien se debe la densidad de la mezcla a partir de 0.8 para los desechos del Bellota 301 y 0.85 para Bellota 401 y Chinchorro.

**Figura 16.** Densidad de los diferentes desechos a diferentes proporciones desecho:bagacillo

Montaje de las pruebas de biodegradabilidad

Para este estudio se utilizó el desecho de la fosa Bellota 401 debido a que tiene la menor cantidad de microorganismos degradadores y la mayor concentración de

hidrocarburos, por lo tanto, es en teoría el menos biodegradable, y se necesita saber, como el caso mas difícil cuanto tiempo lleva la biodegradación para establecer el tiempo de la prueba. En las siguientes figuras se observan los resultados obtenidos donde, A es el sistema al que solo se le adicionó agua y M medio de cultivo Lebac⁽³⁷⁾.

Para esto se realizó un seguimiento de los siguientes parámetros: la humedad para determinar si ésta se mantenía constante durante toda la prueba y eliminar este parámetro como fuente de variabilidad en los datos de biodegradación. El pH para determinar si como consecuencia de la biodegradación se producían ácidos orgánicos que acidificarían el medio, resultando así en una fuente de variación para el proceso de biodegradación. El CO₂ para determinar si la degradación de los hidrocarburos es un efecto de la actividad biológica. Los hidrocarburos residuales como variable de respuesta de la biodegradación y la actividad de agua para verificar que esta disponible para los microorganismos el agua presente en el medio.

En relación a la humedad, en el análisis estadístico realizado se encontró que al 95% de confianza no hay diferencia significativa, entre unidades experimentales y durante el tiempo, lo que quiere decir que la humedad no varía en el sistema (figura 17).

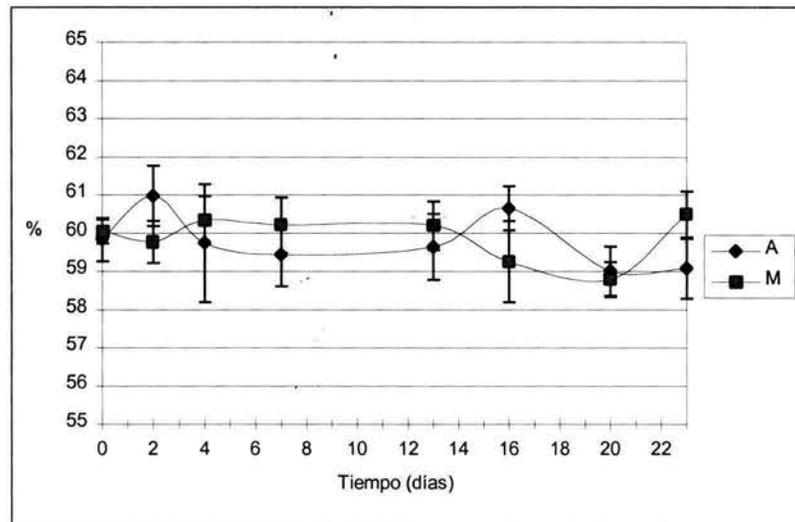


Figura 17. Comportamiento de la humedad en el estudio exploratorio de biodegradación de hidrocarburos en los desechos. A es el sistema con agua destilada y M con medio de cultivo.

En cuanto al pH se observa a la misma confiabilidad (95%) que si hay diferencia significativa entre tratamientos, lo cual se muestra claramente en la figura 18, si bien se observa la misma tendencia durante el tiempo es evidente que en el tratamiento que corresponde al medio de cultivo hay una acidificación en comparación con el medio al que solo se le adicionó agua destilada, esto pudo deberse principalmente a la producción de ácidos orgánicos producto de la mayor biodegradación de hidrocarburos en el sistema con medio de cultivo. Sin embargo dentro del mismo análisis estadístico no se observó diferencia significativa en el tiempo de la prueba; como se puede observar

en la figura no existe un cambio en el pH final con respecto al inicial.

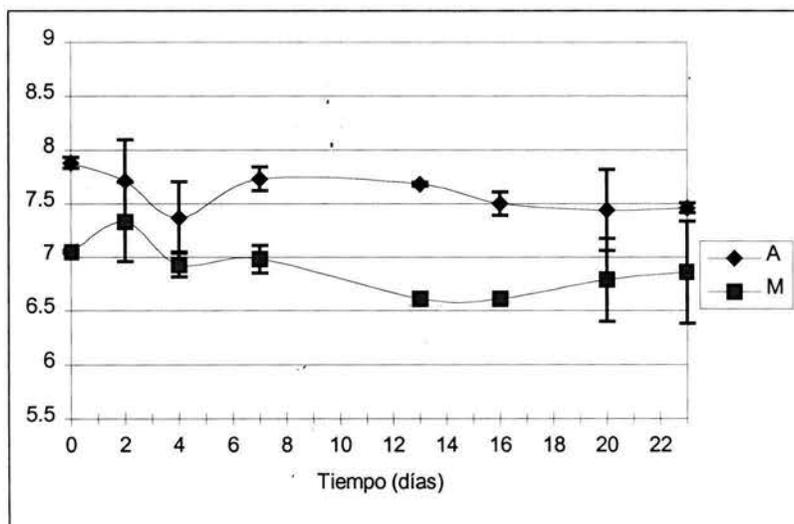


Figura 18. Comportamiento del pH en el estudio exploratorio de biodegradación de hidrocarburos en los desechos. A es el sistema con agua destilada y M con medio de cultivo.

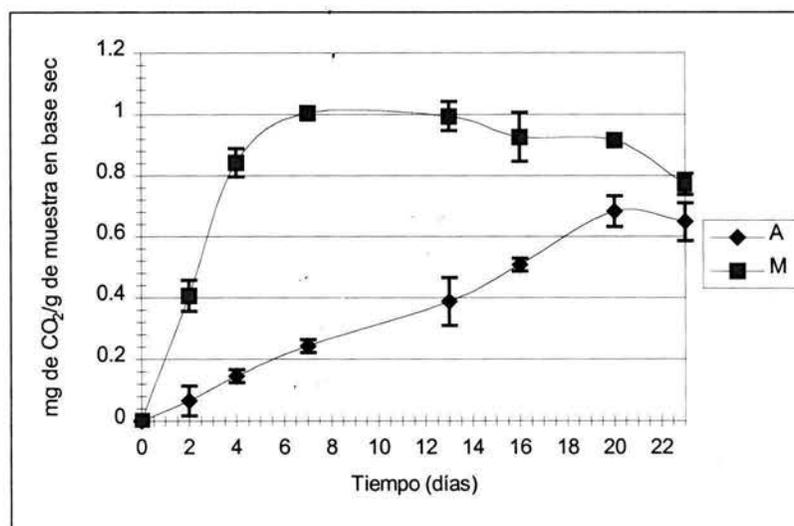


Figura 19. Comportamiento del CO₂ en el estudio exploratorio de biodegradación de hidrocarburos en los desechos. A es el sistema con agua destilada y M con medio de cultivo.

Dentro de los resultados del CO₂ (figura 19) se observó una gran diferencia entre tratamientos y que corresponde a la dramática caída en los hidrocarburos residuales la mayor producción diaria de CO₂ en el sistema con medio de cultivo coincidió con la mayor biodegradación de hidrocarburos en el día 6; el análisis estadístico indica que sí hay diferencia entre tratamientos; lo cual era de esperarse por la adición de nutrientes.

En cuanto a los HTP igualmente existe una diferencia significativa entre los tratamientos, y al final de la prueba (23 días) se encontró un porcentaje de degradación del 81.10%,

mientras que para el tratamiento con agua se obtuvo un 31.24% de degradación. En la figura 20 puede apreciarse claramente que la mayor biodegradación se observó a los siete días, posterior a éste se observa una tendencia asintótica del día siete al día 20, disminuyendo nuevamente los hidrocarburos después de este día. Como se puede observar esta figura presenta un comportamiento de tipo diauxico al consumo de hidrocarburos aunque debido a las desviaciones estándares obtenidas y a los tiempos de muestreos no es confiable afirmar este tipo de comportamiento.

En este estudio se concluyó que el tiempo de la prueba debería de ser no mayor a 12 días, pues es en este periodo donde se observa la mayor actividad de biodegradación de hidrocarburos, además es un periodo razonable para obtener información rápida del potencial de biodegradación del contaminante ya que se encontró una disminución de un poco mas del 50% del contaminante en el día 13.

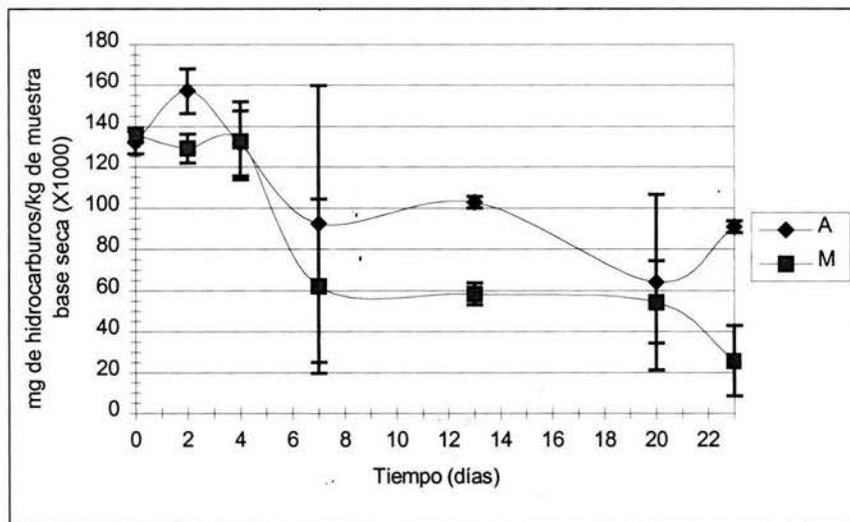


Figura 20. Disminución de hidrocarburos en el estudio exploratorio de biodegradación en los desechos. A es el sistema con agua destilada y M con medio de cultivo.

Dentro del estudio de la humedad hay que resaltar que se investigó si el agua disponible, medida como actividad de agua, se mantenía durante el tiempo de la prueba en el nivel que permite el desarrollo de cualquier microorganismo. Para esto se realizaron mediciones en los mismos tiempos de muestreo con las diferentes fuentes de nitrógeno estudiadas y se encontró, en el análisis de varianza realizado a estos resultados, que no hay diferencia significativa en el tiempo al 95% de confianza. Dentro de estos resultados se observó que las medias se mantuvieron entre 0.986 y 0.991.

Como se puede observar en las figuras 21, 22 y 23 estos valores permanecen aproximadamente constantes durante todo el estudio.

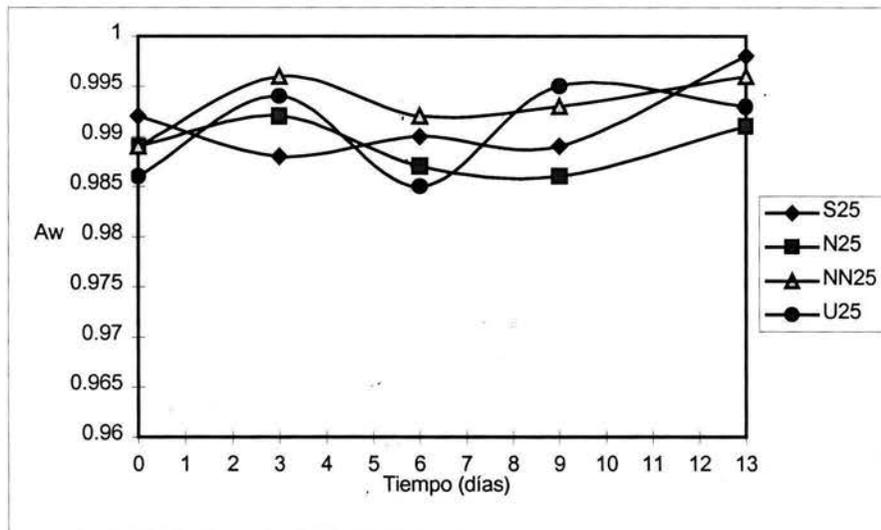


Figura 21. Comportamiento de la actividad de agua en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 401 en la menor concentración de nutrientes. S es el tratamiento con sulfato de amonio, N con nitrato de potasio, NN con nitrato de amonio, y U con urea, el 25 es la relación C:N:P 100:5:0.25.

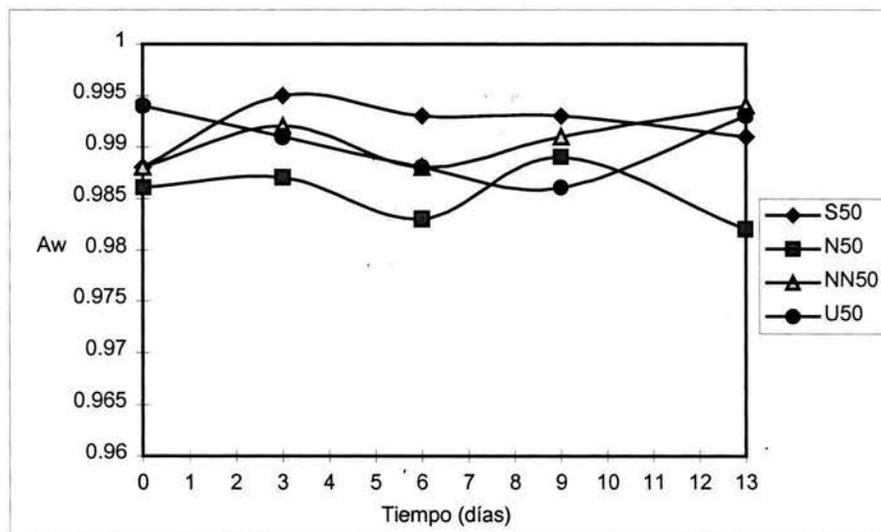


Figura 22. Comportamiento de la actividad de agua en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 401 en la concentración intermedia de nutrientes. S es el tratamiento con sulfato de amonio, N con nitrato de potasio, NN con nitrato de amonio, y U con urea, el 50 es la relación C:N:P 100:10:0.5.

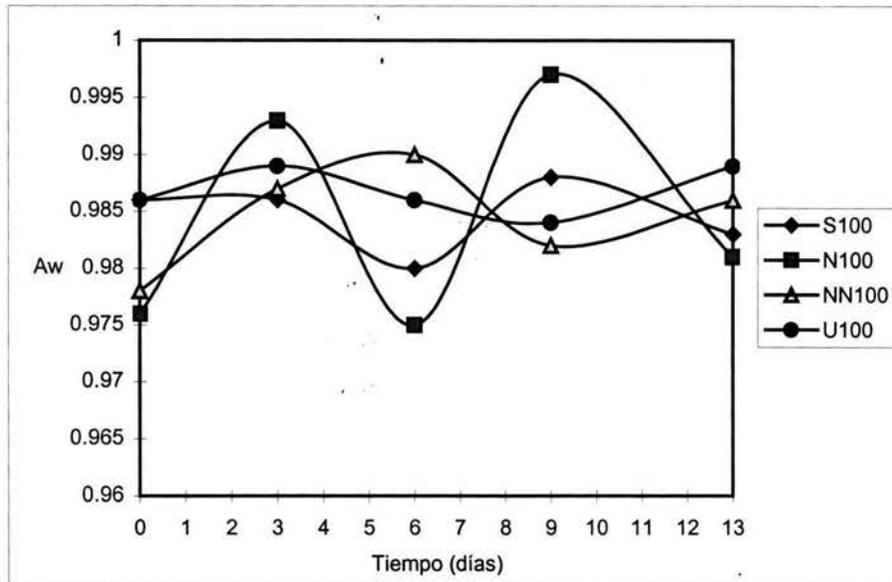


Figura 23. Comportamiento de la actividad de agua en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 401 en la mayor concentración de nutrientes. S es el tratamiento con sulfato de amonio, N con nitrato de potasio, NN con nitrato de amonio, y U con urea, el 100 es la relación C:N:P 100:20:1.

Pruebas para determinar la fuente de nitrógeno y la relación C:N:P donde se encuentra la mayor biodegradación de contaminantes

Dentro de los parámetros que se analizaron durante todo el proceso se cuentan el pH, CO₂ y HTP, aquí se muestran solamente los resultados obtenidos en el desecho de la fosa Bellota 301 debido a que en todos los desechos el comportamiento es mas o menos similar.

pH

En la figura 24 se observa que para el sulfato de amonio el pH se mantiene cerca de la neutralidad, entre 7.27 y 7.61 durante toda la prueba, probablemente porque al liberarse el amonio es utilizado inmediatamente por las bacterias que se encuentran tanto en el bagacillo como en el desecho contaminado.

En la figura 25 se observa en los dos tratamientos con mayor cantidad de nitrógeno que el comportamiento del pH es similar a la figura 24 aunque de manera mas marcada se observa una acidificación en relación al pH inicial durante los primeros días en el tratamiento con menos cantidad de nitrógeno. En las concentraciones mas altas utilizadas el pH oscila de 7.25 a 7.67, mientras que en la concentración mas baja se observa una mayor variación de 7.04 y 7.84, sin embargo, esto es considerado todavía dentro de la neutralidad.

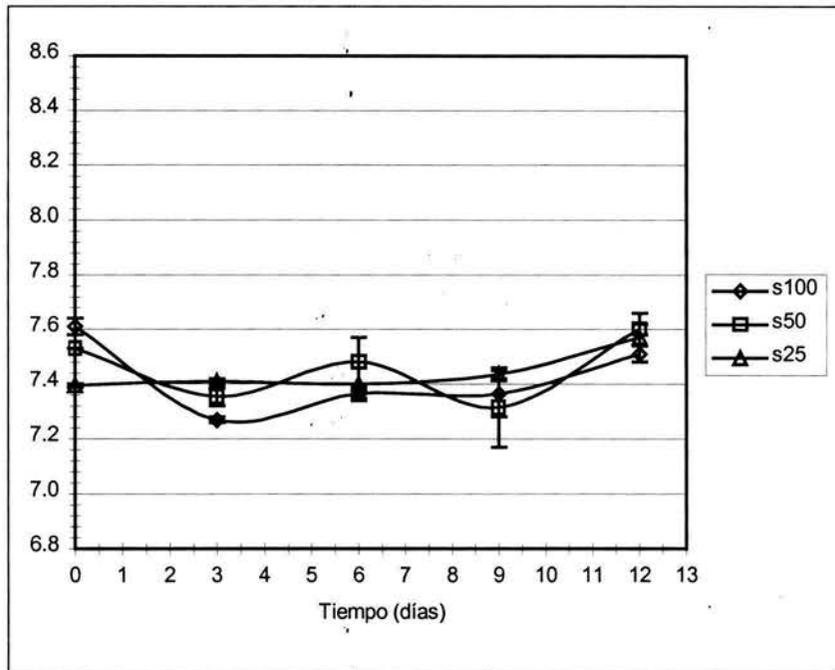


Figura 24. Comportamiento del pH en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse sulfato de amonio con las tres concentraciones probadas; s es el tratamiento con sulfato de amonio; 100, 50 y 25 corresponden a las relaciones C:N:P 100:20:1, 100:10:0.5 y 100:5:0.25 respectivamente.

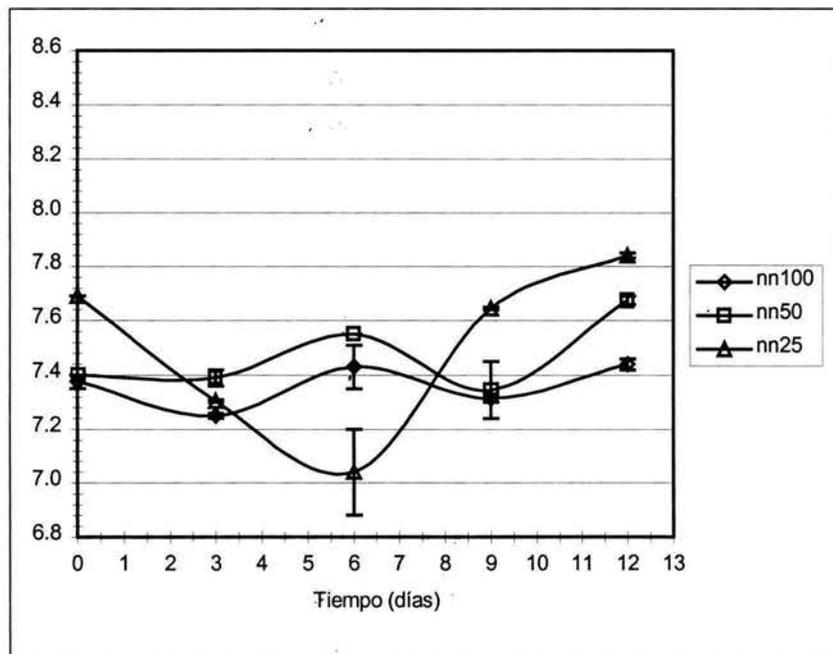


Figura 25. Comportamiento del pH en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse nitrato de amonio con las tres concentraciones probadas; nn es el tratamiento con nitrato de amonio; 100, 50 y 25 corresponden a las relaciones C:N:P 100:20:1, 100:10:0.5 y 100:5:0.25 respectivamente.

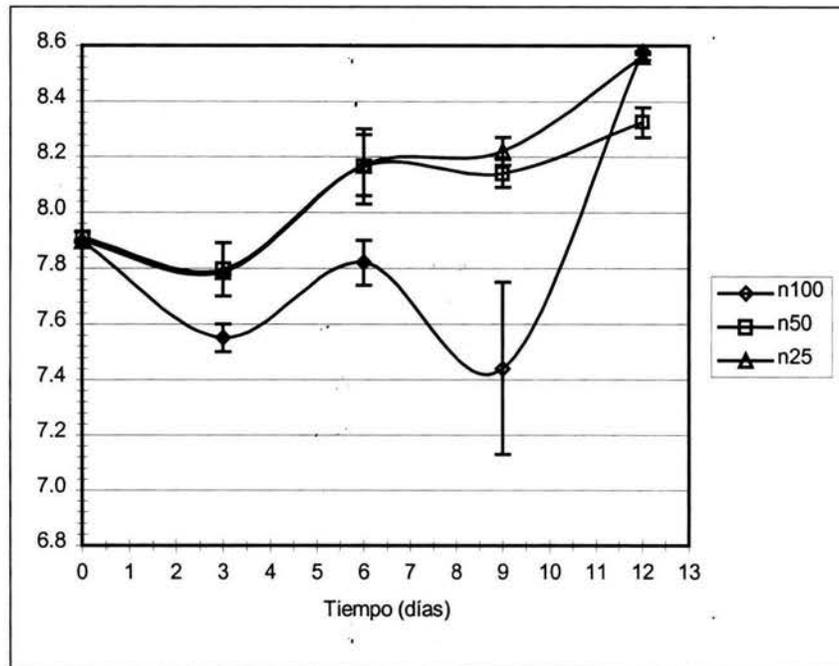


Figura 26. Comportamiento del pH en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse nitrato de potasio con las tres concentraciones probadas; n es el tratamiento con nitrato de potasio; 100, 50 y 25 corresponden a las relaciones C:N:P 100:20:1, 100:10:0.5 y 100:5:0.25 respectivamente.

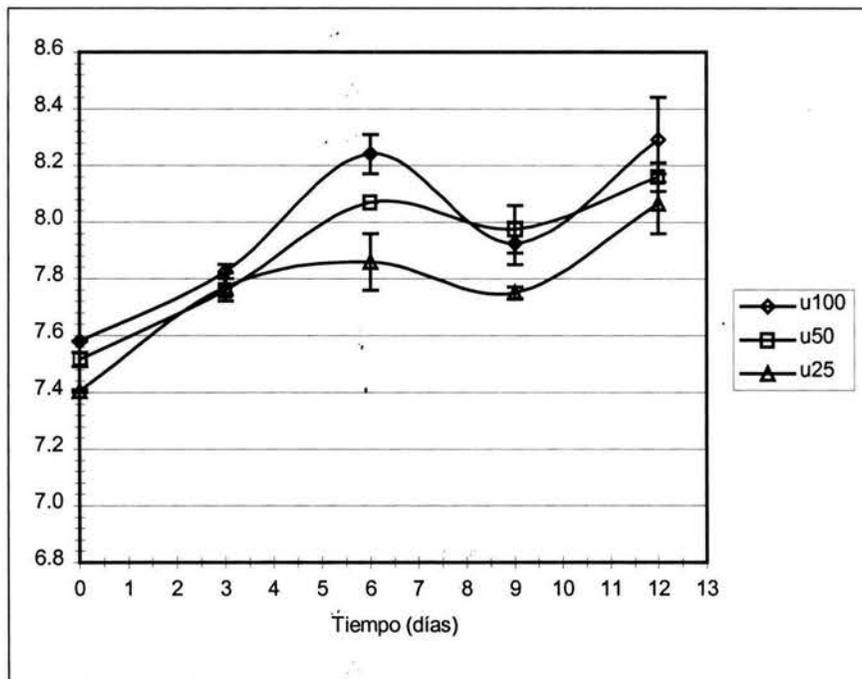


Figura 27. Comportamiento del pH en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse urea con las tres concentraciones probadas; u es el tratamiento con urea; 100, 50 y 25 corresponden a las relaciones C:N:P 100:20:1, 100:10:0.5 y 100:5:0.25 respectivamente.

Se observa en la figura 26, en las tres concentraciones utilizadas, un comportamiento similar, tienden a la basicidad después del tercer día (entre 7.82 y 8.17), y solamente en la concentración mas alta se observa un cambio de mas de una unidad de pH entre los días 9 y 12 (de 7.54 a 8.58).

En la figura 27 se observa con urea como fuente de nitrógeno, que se incrementa el pH por encima de 8 en el día 12, en todos los tratamientos; esta elevación puede deberse al liberación del amonio contenido en la urea al utilizarla los microorganismos.

En todos los tratamientos, a excepción de la urea, se observa una ligera tendencia a la disminución del pH en los primeros tres días, la cual se debe a la generación de ácidos orgánicos durante el metabolismo microbiano. Al realizar un análisis de varianza de un factor sobre los resultados obtenidos en el pH se encontró que al 95% de confianza hay diferencias significativas en el pH durante el tiempo de la prueba para todos los casos; también hay diferencias significativas de pH entre las fuentes de nitrógeno, no siendo así entre las distintas concentraciones para una misma fuente de nitrógeno.

Producción de CO₂

Con respecto a la medición del CO₂ cabe mencionar que se presentaron muchos problemas para llevarla a cabo. Dentro de éstos se cuentan las altas tasas de respiración de los matraces en estudio, lo que en ocasiones provocó -sobre todo durante la noche- que se crearan situaciones de anaerobiosis al consumir los microorganismos el oxígeno disponible en el espacio de cabeza del matraz Bartha antes de que se abrieran nuevamente por la mañana para sustituir éste. Además al consumirse el oxígeno los microorganismos producen CO₂ y al capturarse éste en el hidróxido de potasio disminuye la presión parcial del gas (O₂) dentro del matraz con relación a la presión que se tiene afuera de éste, lo que conlleva a que los microorganismos no tienen la misma disponibilidad por el oxígeno después de que transcurre un determinado lapso de tiempo y el matraz no se ha abierto. En las siguientes figuras se muestra el CO₂ acumulado.

En la figura 28 se observa que donde hay la mayor producción de CO₂ es en el tratamiento con la mayor concentración de nitrógeno (40.106 mg/g de muestra en base húmeda al día 12) y la tendencia es que a mayor concentración de nutrientes hay mayor producción de CO₂ (23.601 y 20.101 mg/g de muestra húmeda al día 12 en las dos concentraciones restantes) . Dentro del análisis estadístico realizado (análisis de varianza de un factor al 95% de confianza) se encontró que si hay diferencia significativa entre las concentraciones de sal utilizada.

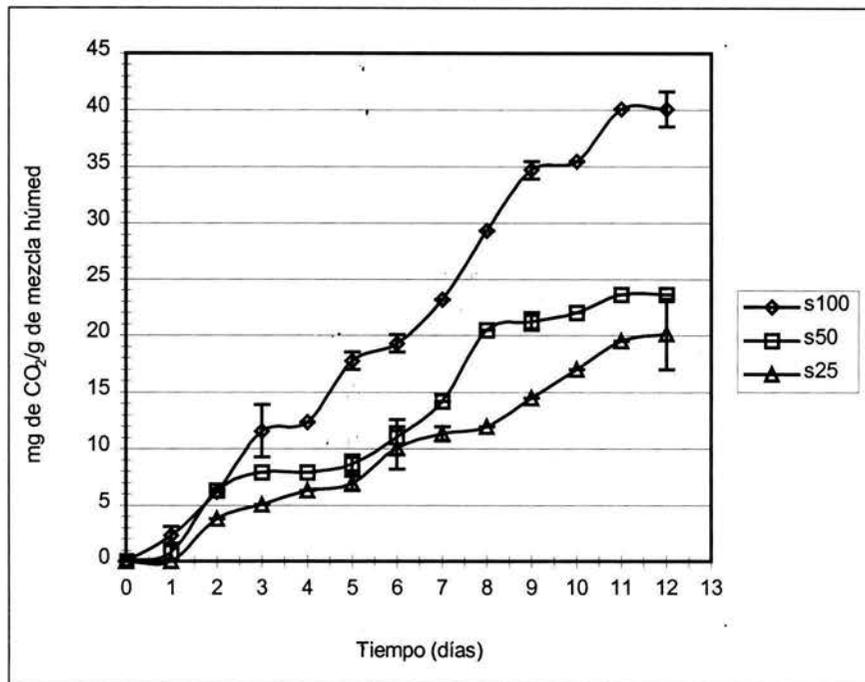


Figura 28. Producción de CO₂ en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse sulfato de amonio con las tres concentraciones probadas; s es el tratamiento con sulfato de amonio; 100, 50 y 25 corresponden a las relaciones C:N:P 100:20:1, 100:10:0.5 y 100:5:0.25 respectivamente.

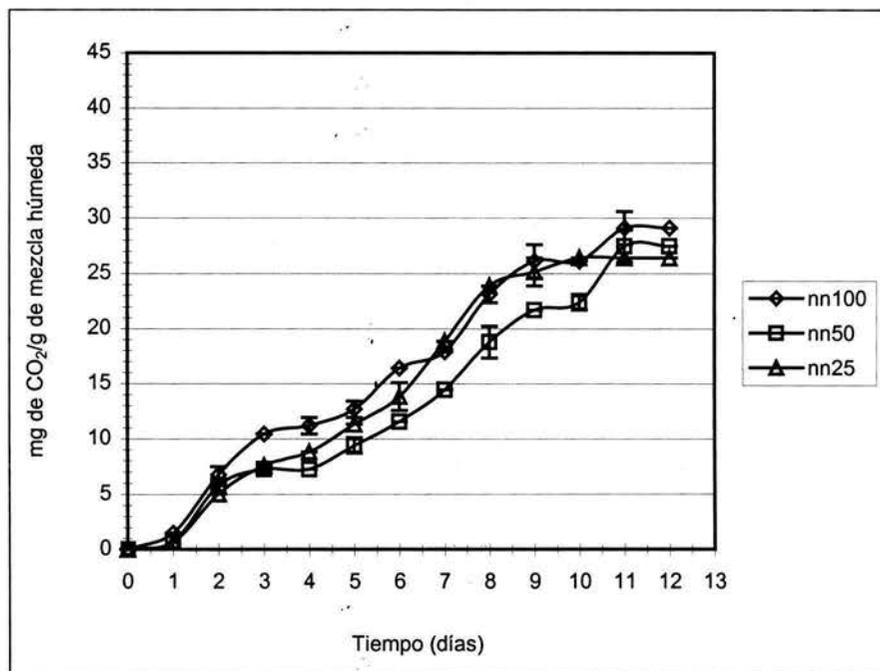


Figura 29. Producción de CO₂ en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse nitrato de amonio con las tres concentraciones probadas; nn es el tratamiento con nitrato de amonio; 100, 50 y 25 corresponden a las relaciones C:N:P 100:20:1, 100:10:0.5 y 100:5:0.25 respectivamente.

En la figura 29 se puede apreciar que el comportamiento para el nitrato de amonio es similar para las tres concentraciones probadas (29.081, 27.464 y 26.409 mg/g de muestra húmeda), obteniéndose una menor producción de CO₂ en comparación con el sulfato de amonio. La similitud en el comportamiento de estos tratamientos puede atribuirse a que el amonio es fácilmente asimilable por los microorganismos presentes en los desechos.

En las figuras 30 y 31 se observan comportamientos similares de producción de CO₂ entre las concentraciones probadas. (26.116, 27.186 y 23.063 mg/g en base húmeda para el nitrato de potasio; 25.309, 24.68, y 18.802 mg/g en base húmeda para urea). Estadísticamente no existen diferencias significativas entre las concentraciones de dichas fuentes a excepción del sulfato de amonio. Se observa también una menor producción de CO₂ en todos los tratamientos con nitrato de potasio y urea en comparación con los de nitrato de amonio. Correlacionando éstos datos con el pH, (figura 26 y 27) después del día 8, para el nitrato de potasio, se tienen valores cercanos y/o por arriba de 8, esto denota el siguiente fenómeno. Al disminuir la actividad microbiana se dejan de producir ácidos orgánicos y el pH se eleva, esto se relaciona fuertemente con los datos de producción de CO₂. Baste ver las figuras 27 y 31, así como los valores del nitrato de amonio en la menor concentración (nn25) después del día 9 para pH y CO₂ (figuras 25 y 29). Resumiendo, la disminución en la producción de CO₂ puede reflejarse en un aumento del pH.

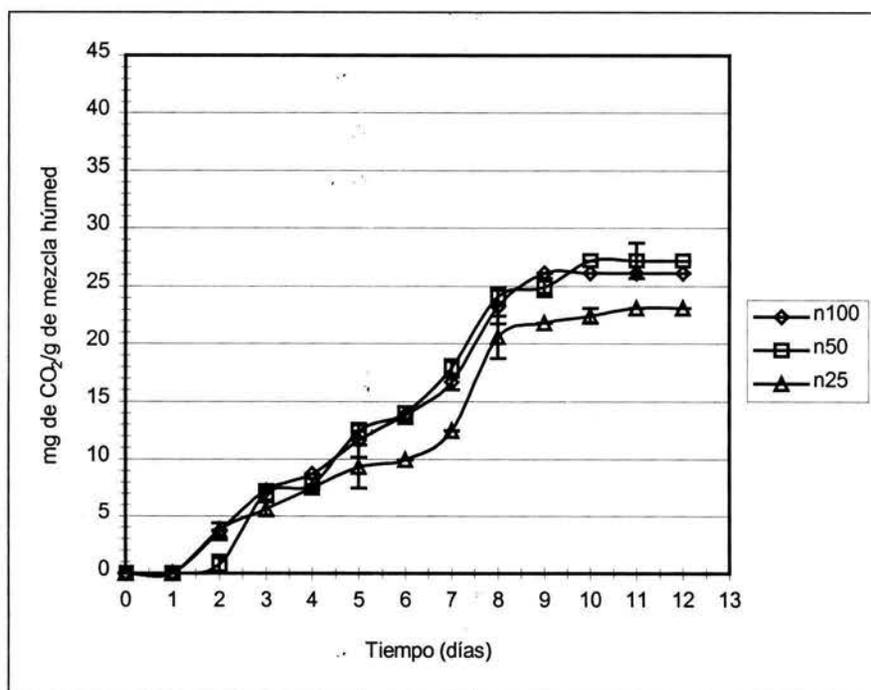


Figura 30. Producción de CO₂ en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse nitrato de potasio con las tres concentraciones probadas; n es el tratamiento con nitrato de potasio; 100, 50 y 25 corresponden a las relaciones C:N:P 100:20:1, 100:10:0.5 y 100:5:0.25 respectivamente.

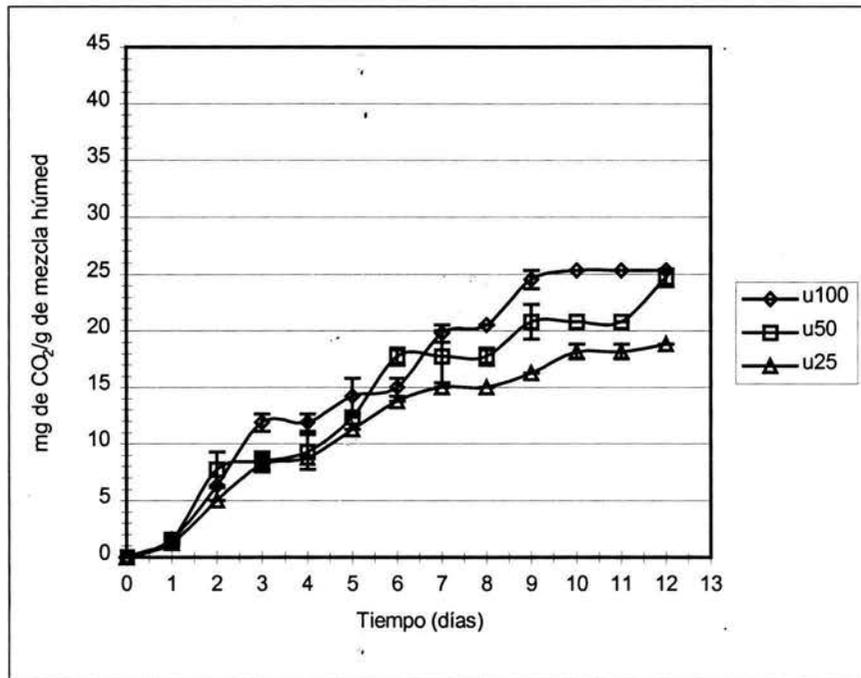


Figura 31. Producción de CO_2 en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse urea con las tres concentraciones probadas; u es el tratamiento con urea; 100, 50 y 25 corresponden a las relaciones C:N:P 100:20:1, 100:10:0.5 y 100:5:0.25 respectivamente.

En el análisis estadístico se encontró que no hay diferencias significativas en la producción de CO_2 entre concentraciones para una misma fuente ni entre fuentes de nitrógeno a una misma concentración, con excepción de la diferencia entre concentraciones para el sulfato de amonio que ya se mencionó con anterioridad.

Hidrocarburos residuales

Dentro del análisis de hidrocarburos se encontró que para el sulfato de amonio (figura 32) la mayor disminución de hidrocarburos se obtuvo entre los días 3 y 6, de 39,659.8 a 19,534.6 ppm en base seca para la mayor concentración, de 40,994.84 a 20,956.46 ppm en base seca para la concentración intermedia y de 44009.42 a 14221.1 ppm en base seca para la menor concentración de nitrógeno; después del día seis la concentración de éstos permanece casi constante hasta el final de la prueba, 14,396.00, 19,465.71 y 17,511.03 ppm en base seca para las tres concentraciones utilizadas respectivamente.

Este comportamiento se debe a que los hidrocarburos más fácilmente biodegradables se consumieron en los primeros 6 días. Para todos los tratamientos entre los días 1 y 3 se observa también un ligero aumento en la concentración de hidrocarburos ésta quizás sea la liberación de la lignina proveniente de la celulosa del bagacillo y correlacionando los resultados de CO_2 a éstos, se infiere que no hay limitación de nutrientes pues la producción de CO_2 continúa hasta el final de la prueba y este CO_2 seguramente proviene de la degradación de la celulosa.

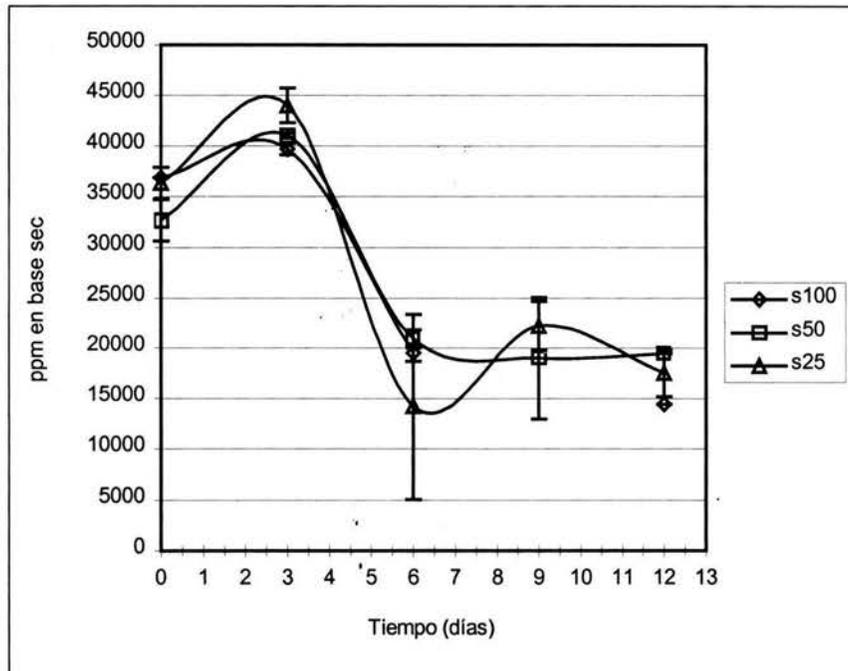


Figura 32. Disminución de hidrocarburos en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse sulfato de amonio con las tres concentraciones probadas; s es el tratamiento con nitrato de amonio; 100, 50 y 25 corresponden a las relaciones C:N:P 100:20:1, 100:10:0.5 y 100:5:0.25 respectivamente.

En la figura 33 se observa un comportamiento similar al de la grafica anterior, sin embargo después del día 9 se presenta un aumento en la concentración de hidrocarburos, esta puede explicarse si se tiene en cuenta que parte de la materia sólida (bagacillo) que compone la mezcla se esta consumiendo, no así los hidrocarburos por lo que se esperaría una aparente aumento en la concentración de éstos en la mezcla. Ésta también puede ser una explicación del aumento observado al inicio en todos los sistemas.

La mayor disminución de hidrocarburos se observa del día 3 al 9 disminuyendo de 40,929.87 a 1,994.62 ppm en base seca en la mayor concentración de nitrógeno, de 40,899.94 a 5,613.67 ppm en base seca en concentración intermedia, y de 44,475.57 a 5,937.68 ppm en base seca para la menor concentración de nitrógeno. Cabe mencionar que los valores obtenidos al final de la prueba son muy parecidos a los obtenidos con sulfato de amonio, 15,650.30, 19,956.46 y 20,393.87 ppm en base seca respectivamente para las tres concentraciones de nitrógeno analizadas.

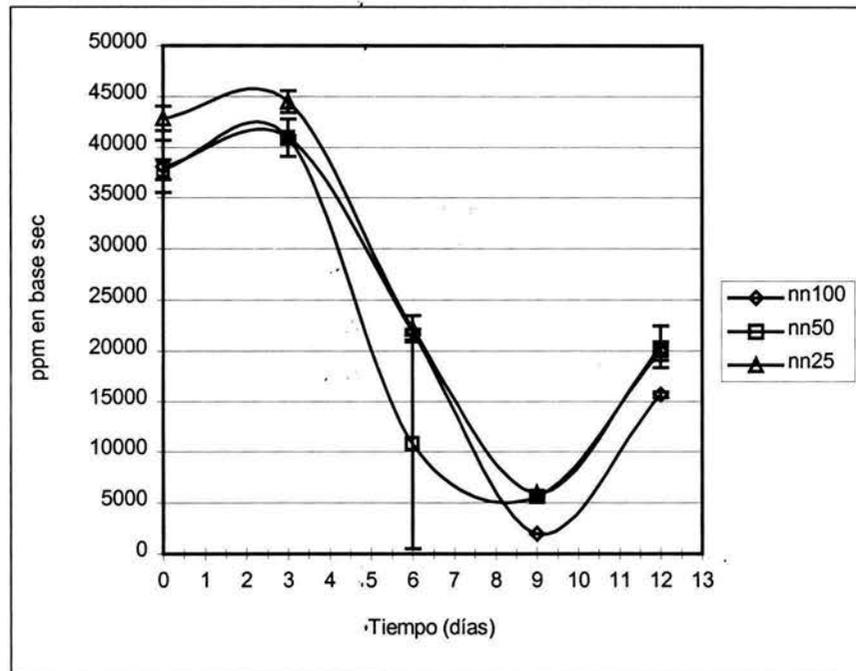


Figura 33. Disminución de hidrocarburos en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse nitrato de amonio con las tres concentraciones probadas; nn es el tratamiento con nitrato de amonio; 100, 50 y 25 corresponden a las relaciones C:N:P 100:20:1, 100:10:0.5 y 100:5:0.25 respectivamente.

En la figura 34 no se observa el aumento inicial de hidrocarburos, y sí una pendiente menor en la desaparición de éstos, lo que reafirma la explicación de que el aumento inicial de hidrocarburos es por la desaparición del bagacillo en la mezcla y la menor pendiente en este sistema es seguramente debida a la asimilación no tan rápida de la fuente de nitrógeno (nitrato de potasio) por los microorganismos.

La mayor disminución de hidrocarburos nuevamente se presenta en los días 3 al nueve y va de 31,609.42 a 21,510.15 ppm en base seca para la mayor concentración, de 30,799.40 a 15,348.39 ppm en base seca para la concentración intermedia y de 37,504.96 a 20,291.81 ppm en base seca para la menor concentración de nitrógeno. Éstos valores son menores a los encontrados con sulfato y nitrato de amonio y el posterior aumento es menos pronunciado en el día 12 obteniéndose 23,167.80, 15,143.28 y 17,868.78 ppm en base seca respectivamente para las tres dosificaciones estudiadas.

Correlacionando estos valores con los de pH y CO₂ se observa en las figuras 26 y 30 que el pH se eleva después del día 9 y prácticamente la producción de CO₂ se detiene después del día 8.

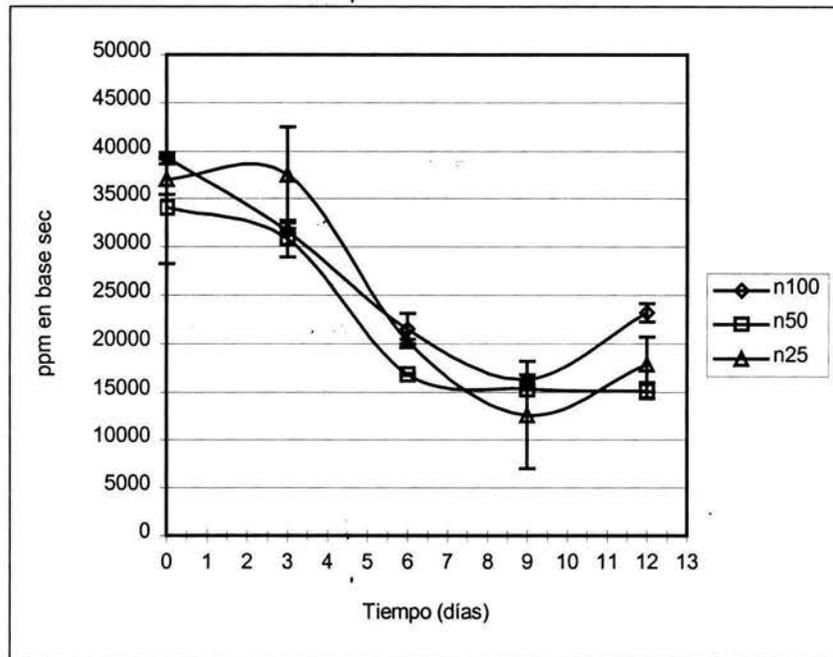


Figura 34. Disminución de hidrocarburos en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse nitrato de potasio con las tres concentraciones probadas; n es el tratamiento con nitrato de potasio; 100, 50 y 25 corresponden a las relaciones C:N:P 100:20:1, 100:10:0.5 y 100:5:0.25 respectivamente.

En la figura 35 se presenta un comportamiento similar al del sulfato de amonio, sin embargo no se observa una pendiente tan pronunciada entre los días 3 y 6 como en la figura 28, aunque si un rápido aumento de hidrocarburos entre los días 0 y 3 que concuerda con la rápida producción de CO_2 en estos días según se observa en la figura 31.

La disminución de hidrocarburos se produce entre los valores 41,92.85 y 21,157.90 ppm en base seca para la mayor concentración de nitrógeno, 41,617.51 y 18,785.77 ppm en base seca para intermedia y 40,977.92 y 17,476.15 ppm en base seca para la menor concentración de nitrógeno entre los días 3 y 9 lo que corresponde a la estabilización de pH (figura 27) y a la moderada producción de CO_2 que se observa en la figura 31, finalmente destaca que el ligero aumento de hidrocarburos residuales en el día 12, (26,284.48, 19,500.18 y 19,668.71 ppm en base seca para las tres concentraciones probadas respectivamente) nuevamente se relaciona con el aumento del pH y la casi nula producción de CO_2 (figuras 28 y 31).

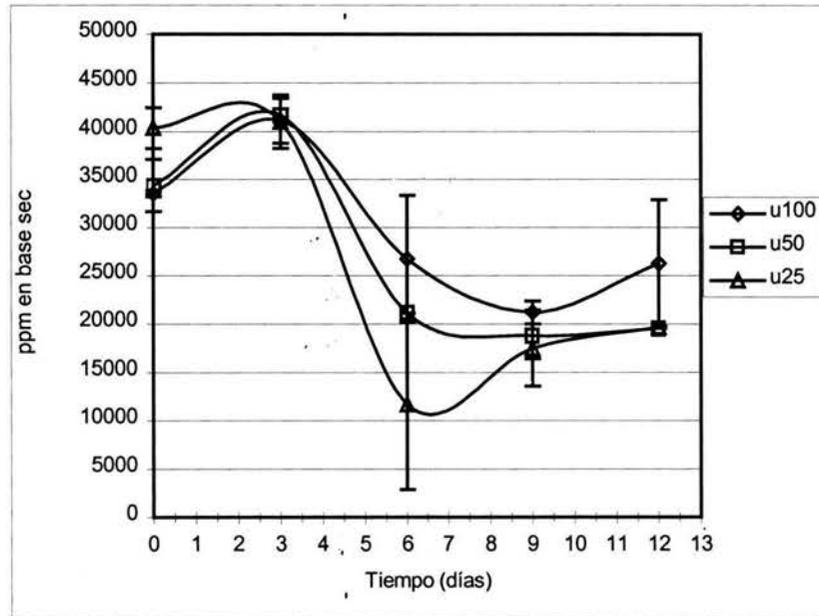


Figura 35. Disminución de hidrocarburos en el tratamiento de los desechos de la fosa Bellota 301 al utilizarse urea con las tres concentraciones probadas; u es el tratamiento con urea; 100, 50 y 25 corresponden a las relaciones C:N:P 100:20:1, 100:10:0.5 y 100:5:0.25 respectivamente.

Cabe mencionar que haciendo un análisis estadístico de estos resultados no se encontró al 95% de confianza diferencias significativas entre fuentes de nitrógeno a una misma concentración ni entre concentraciones de una misma fuente de nitrógeno, y al mismo intervalo de confianza, si hay diferencias significativas entre los tiempos inicial y final para todos los casos.

En términos de pH, producción de CO_2 e hidrocarburos residuales se encontró que la disminución mas pronunciada de HTP se halló entre los días 3 y 9 para todos lo casos; que el sulfato de amonio produjo la menor variación en el pH de la mezcla en tratamiento y que la producción de CO_2 fue mayor con esta sal; para el nitrato de amonio se encontró que éste produce una buena disminución de hidrocarburos aunque una perceptible variación en el pH en la menor concentración utilizada, y una menor producción de CO_2 en comparación con el sulfato de amonio; para el nitrato de potasio y para la urea se halló que estos producen la mayor variación en el pH, la menor disminución de hidrocarburos y una pronta reducción en la producción de CO_2 . Todos los valores señalados con anterioridad son el promedio y éstos con sus desviaciones estándar, de todos los sistemas analizados, se muestran en el anexo 2.

Porcentajes de biodegradación

En la tabla 7 se muestran los promedios en porcentaje de biodegradación de los hidrocarburos en los diferentes desechos analizados, las fuentes de nitrógeno y las concentraciones. Aquí se observa que para el sulfato de amonio el mayor porcentaje de biodegradación se obtiene con el desecho del pozo Bellota 301 igual que para el nitrato de amonio y nitrato de potasio, sin embargo para la urea se observa que el bellota 401 muestra el mayor porcentaje de biodegradación seguido muy de cerca por el Bellota 301.

En cuanto a las concentraciones de nutrientes utilizadas se obtuvo los mayores porcentajes de biodegradación en las mayores concentraciones de nitrógeno para sulfato de amonio y nitrato de amonio, mientras que para el nitrato de potasio y urea los mayores porcentajes de biodegradación se observaron en las concentraciones intermedia (aunque muy cerca de la menor concentración), y la menor concentración respectivamente.

Tabla 7. Porcentajes de biodegradación en los diferentes desechos, fuentes y concentraciones de nitrógeno probadas

Muestra	Chinchorro	Bellota 301	Bellota 401
s100	34.37%	60.47%	24.20%
s50	27.93%	42.19%	19.65%
s25	28.06%	52.15%	48.84%
nn100	26.01%	60.66%	23.06%
nn50	4.79%	47.68%	35.37%
nn25	15.92%	54.30%	48.79%
n100	25.40%	41.88%	-5.25%
n50	11.53%	54.03%	23.93%
n25	10.73%	52.51%	35.78%
u100	32.01%	22.53%	28.86%
u50	40.95%	45.17%	36.12%
u25	29.64%	50.36%	52.44%
Promedio	23.95%	48.66%	30.98%
Desvestp	10.39%	9.82%	15.19%

Desvestp es desviación estándar poblacional, s sulfato de amonio, nn nitrato de amonio, n nitrato de potasio, u urea, 100 es C:N 100:20:1, 50 es C:N 100:10:0.5 y 25 es C:N 100:5:0.25.

Con estos datos se construyeron las figuras 36, 37 y 38, en éstas se muestra el porcentaje de biodegradación a las diferentes concentraciones de los cuatro nutrientes empleados.

En la figura 36 se puede observar que los mayores porcentajes de biodegradación para el desecho de la fosa Chinchorro se obtienen con las dos sales de amonio en la relación

C:N 100:10:0.5. La menor biodegradación encontrada con las otras dos sales se deben probablemente a la limitación de nitrógeno cuando se usa nitrato de potasio, y en el caso del nitrato de amonio no es posible por los estudios realizados explicar el comportamiento de éste.

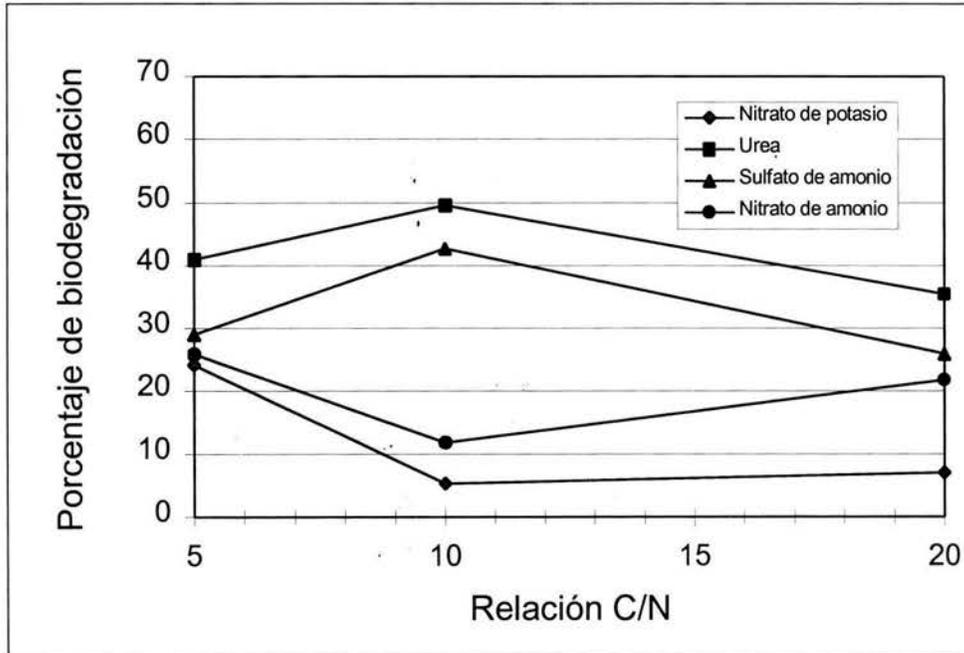


Figura 36. Porcentajes de biodegradación en los desechos de la fosa Chinchorro en las fuentes y concentraciones de nitrógeno probadas

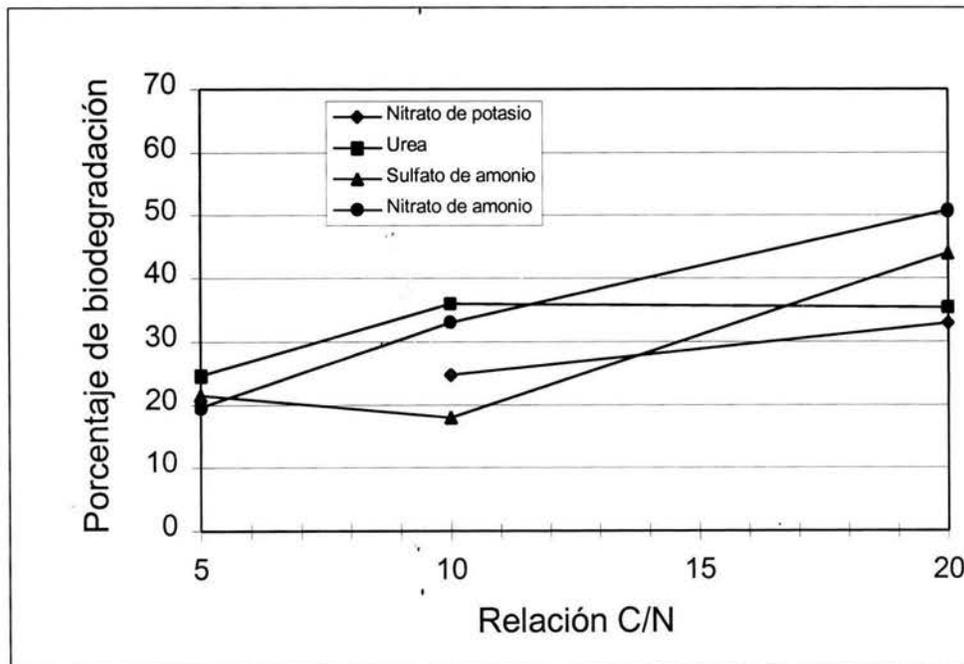


Figura 37. Porcentajes de biodegradación en los desechos de la fosa Bellota 401 en las fuentes y concentraciones de nitrógeno probadas

Para los desechos de la fosa Bellota 401 (figura 37) se obtuvieron, igual que en el caso anterior, los mejores porcentajes de biodegradación cuando se usan las sales de amonio y en este caso la menor concentración de nitrógeno es donde se observa la mejor biodegradación.

Finalmente para el desecho de la fosa Bellota 301 (figura 38) se observa un comportamiento diferente al de las figuras 36 y 37, esta heterogeneidad en el comportamiento de la biodegradación puede atribuirse a la diferente composición de los hidrocarburos en el contaminante, sin embargo las sales de amonio son las que proveen nuevamente la mayor biodegradación de hidrocarburos. En este caso la mayor concentración de nitrógeno es la que provee una mejor biodegradación, cabe mencionar que en este desecho y en el anterior el nitrato de amonio es de las sales que mejor funciona para la biodegradación, no siendo así para el desecho de la fosa Chinchorro, debido a esta heterogeneidad de resultados con relación a la fuente de nitrógeno y a la concentración a la cual se observan mayores porcentajes de biodegradación, es necesario hacer un análisis estadístico que discrimine, de entre todos los efectos (contaminante, fuente y concentración de nitrógeno) y entre todos los valores obtenidos, en donde se obtienen los mejores resultados para la generación de los índices.

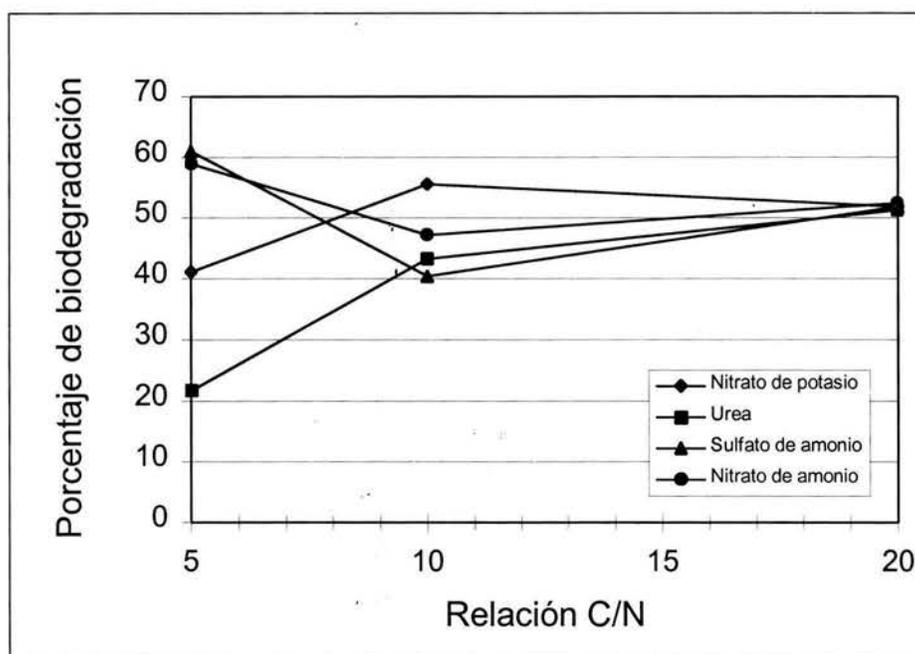


Figura 38. Porcentajes de biodegradación en los desechos de la fosa Bellota 301 en las fuentes y concentraciones de nitrógeno probadas

En la tabla 8 se muestra el resultado obtenido en el análisis de bloques divididos alimentado con los datos de porcentaje de biodegradación; aquí hay que destacar que en el rubro de significancia (Sig), los valores menores a 0.05 (95% de confianza), denotan la existencia de diferencias significativas entre los valores comparados. En otras palabras, dentro de los efectos principales se observa que sí hay diferencias en los porcentajes de biodegradación obtenidos entre los diferentes desechos, las diferentes

fuentes de nitrógeno y las diferentes concentraciones probadas. Para las interacciones de orden 2 no hay diferencia significativa entre los datos obtenidos para la interacción entre desechos y fuentes de nitrógeno, y si hay diferencias entre desechos y concentración de nitrógeno y entre fuentes y concentración de nitrógeno.

Cuando se analizan las interacciones de orden 3 es decir todos los factores entre si no se observan diferencias significativas en la biodegradación de hidrocarburos. En otras palabras cuando se analizan los efectos por separado de cada una de las variables probadas, si hay diferencias en términos de biodegradación, pero cuando se analiza la biodegradación obtenida con los diferentes tratamientos no se observan diferencias significativas.

Tabla 8. Análisis de varianza entre los diferentes tratamientos y las interacciones entre éstos

			ANOVA ^a				
			Método jerárquico				
			Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig
porcentajes	Efectos principales	(Combinadas)	13507.655	7	1929.665	19.578	.000
		DESECHO	11469.252	2	5734.626	58.184	.000
		CN	662.135	2	331.068	3.359	.048
	Interacciones de orden 2	FUENTES	1376.269	3	458.756	4.655	.008
		(Combinadas)	5601.071	16	350.067	3.552	.001
		DESECHO * CN	1887.750	4	471.937	4.788	.004
		DESECHO * FUENTES	1987.325	6	331.221	3.361	.011
		CN * FUENTES	1600.644	6	266.774	2.707	.031
		DESECHO * CN * FUENTES	1839.742	12	153.312	1.556	.157
	Modelo		20948.468	35	598.528	6.073	.000
	Residual		3055.391	31	98.561		
	Total		24003.859	66	363.695		

DESECHO Tipos de desechos, CN relaciones carbono:nitrógeno, FUENTES tipos de fuentes de nitrógeno

En la tabla 9 se muestran las medias obtenidas en el análisis de comparación múltiple, aquí se observan los valores corregidos para los porcentajes de biodegradación según cada uno de los parámetros analizados. Para los desechos se tiene que el mayor porcentaje de biodegradación se observa en el desecho del Bellota 301, para la concentración de nitrógeno el mejor valor se tiene en la concentración mas baja utilizada, y para las fuentes de nitrógeno se observa que el sulfato de amonio es el que provee una mayor biodegradación de hidrocarburos.

Como en el análisis se encontró que no hay diferencias entre desechos y fuentes de nitrógeno se utilizaron los datos obtenidos en el análisis de comparación múltiple, por lo que se eligió para los términos de comparación y de generación de los índices los resultados obtenidos con el sulfato de amonio.

Tabla 9. Análisis de comparación múltiple donde se determinan las diferencias estadísticas entre tratamientos así como las interacciones entre éstos

ACM^a

			N	Media pronosticada		Desviación	
				Sin corregir	Corregida por los factores	Sin corregir	Corregida por los factores
porcentajes	DESECHO	B401	24	18.5921	18.6295	-11.2970	-11.2596
		B301	21	48.9676	49.6075	19.0785	19.7184
		CHIN	22	24.0018	23.3502	-5.8873	-6.5389
	CN	100	22	25.6586	25.5526	-4.2305	-4.3365
		50	21	30.0514	30.9388	.1623	1.0497
		25	24	33.6250	32.9457	3.7359	3.0566
	FUENTES	SULFATO	16	35.0263	36.6520	5.1371	6.7629
		NITRATO	16	25.5719	23.9154	-4.3172	-5.9737
		AMONIO	18	28.5694	28.0062	-1.3197	-1.8829
		UREA	17	30.5147	31.1400	.6256	1.2509

DESECHO Tipos de desechos, CN relaciones carbono:nitrógeno, FUENTES tipos de fuentes de nitrógeno

En la tabla 10 se muestran en negritas los mayores porcentajes de biodegradación con sulfato de amonio en las diferentes concentraciones de nitrógeno y en los diferentes desechos.

Tabla 10. Porcentajes de biodegradación en los diferentes tratamientos

Muestra	5	10	20
Chinchorro	28.92%	42.66%	25.89%
Bellota 301	60.92%	40.38%	51.81%
Bellota 401	21.46%	17.93%	43.98%

En la tabla 11 se muestra un comparativo de los resultados obtenidos en la caracterización del desecho y en la biodegradación de hidrocarburos, aquí podemos ver que la mayor degradación de hidrocarburos en el caso del Bellota 301 está principalmente afectada por la cantidad de microorganismos tanto totales como degradadores de hidrocarburos. En este rubro se aprecia que éstos se encuentran en un orden mayor de magnitud a los valores encontrados en el desecho de la fosa Bellota 401 y de dos ordenes comparándolos con los resultados de la fosa Chinchorro así como también por las concentraciones de hidrocarburos aromáticos y poliaromáticos.

Comparando los porcentajes de biodegradación de hidrocarburos de los desechos de las fosas Bellota 301 y Chinchorro se observan muy similares y probablemente esto se deba a la diferencia que existe entre la concentración de microorganismos degradadores de hidrocarburos. Hay que recordar que dentro del sistema de fermentación sólida se favorece la proliferación de la mayoría de los microorganismos presentes en el material de partida y la similitud de la biodegradación de hidrocarburos muy probablemente se

deba a la capacidad metabólica de éstos, es decir, como el desecho de la fosa Bellota 401 es mas viejo que el de la fosa Chinchorro aquí se deben encontrar microorganismos mejor adaptados, capaces de degradar y/o subsistir en concentraciones mas altas de hidrocarburos poliaromáticos.

Finalmente hay que destacar que la concentración de hidrocarburos totales es mayor en las fosas Bellota 401 y Chinchorro, lo que también puede ser un factor limitante para la biodegradación de microorganismos, ya que a mayor cantidad de hidrocarburos tóxicos la biodegradación se esperaría fuera menor.

Tabla 11. Porcentaje de biodegradación y factores mas importantes que influyen este proceso en los diferentes desechos analizados

Muestra	Biodegradación	Microorganismos totales	Microorganismos hidrocarbonoclasticos	Hidrocarburos alifáticos y aromáticos	Hidrocarburos poliaromáticos	Concentración de hidrocarburos totales
Bellota 301	60.92%	90,648	14,970	40.34%	4.32%	4.79%
Chinchorro	42.66%	9,471	249	12.56%	2.46%	11.72%
Bellota 401	43.98%	1,497	1,500	52.90%	15.73%	12.71%
				27.76%		
				29.73%		
				57.49%		
				34.08%		
				23.03%		
				57.11%		

Obtención de índices

Dentro de los análisis de caracterización de los desechos a estudiar los siguientes parámetros tienen implicaciones que permiten o no que se lleve a cabo la biodegradación de los contaminantes, estos son:

Textura,
pH, y
Nitrógeno

Sin embargo al diseñar la prueba de tratabilidad se proporcionaron los medios físicos y químicos suficientes para que estos parámetros no afectaran de manera negativa el desarrollo de los microorganismos; los parámetros que no se modificaron fueron:

Hidrocarburos totales del petróleo,
Número más probable de microorganismos totales,
Número más probable de microorganismos degradadores de hidrocarburos,
Hidrocarburos alifáticos,
Hidrocarburos aromáticos,
Hidrocarburos poliaromáticos,
Compuestos polares, e
Insolubles en pentano o asfaltenos.

De la relación de todos estos parámetros, se entiende que la biodegradación de un contaminante es dependiente, de manera primordial, de:

la concentración y tipo de los microorganismos que lo pueden degradar,
la concentración en que se encuentra el contaminante, y
la concentración y tipo del contaminante a biodegradar.

Por lo tanto se plantean tres tipos de índices, uno relacionado al tipo de microorganismos (I_1), otro con la concentración de hidrocarburos totales (I_2) y otro con la concentración de alifáticos, aromáticos, poliaromáticos y polares en relación a la concentración de hidrocarburos totales (I_3).

$I_1 = \text{Log del NMP de microorganismos totales} + \text{Log} \left(\frac{\text{NMP de microorganismos degradadores}}{\text{NMP de microorganismos totales}} \right)$

En este índice hay dos conceptos involucrados en la expresión, el primero es la cantidad de microorganismos totales en el término "Log del NMP", obteniéndose aquí valores de 0 a 12 lo que implica tener desde 1 microorganismo (el logaritmo de 1 es 0) hasta 10^{12} microorganismos (cuyo logaritmo es 12) lo que significaría que toda la muestra es pura biomasa. El otro concepto involucrado en la segunda parte de la expresión es el logaritmo de la fracción de los microorganismos degradadores respecto de los totales en donde los valores serían de 0 -en el caso de que los todos los microorganismos presentes en la muestra sean degradadores- hasta números negativos cuando los totales sean mayores que los degradadores ya que el logaritmo de un número fraccionario es negativo.

La suma de los dos términos de la expresión sirve para que a los valores obtenidos de los microorganismos totales se le reste el factor relativo a la cantidad de microorganismos con capacidad degradadora de hidrocarburos. Por lo tanto los valores mas altos en este índice denotan una mayor biodegradabilidad del sustrato a tratar.

El índice relacionado con la concentración de hidrocarburos totales se define con la siguiente expresión:

$I_2 = 1.5 - \text{Log del \% de HTP}$

Aquí se obtienen valores tanto negativos como positivos para el segundo término de la expresión. Los primeros se obtienen del logaritmo de números fraccionarios, dicho de otra forma, por debajo del 1% de hidrocarburos en la muestra -esto es menos de 10,000 ppm-; los valores positivos se obtienen del logaritmo de concentraciones mayores a 1% y hasta el 100% de hidrocarburos, sin embargo cabe mencionar que la biodegradación es difícil que se lleve a cabo en concentraciones por encima de 300,000 ppm (30%). Por lo tanto para concentraciones mayores al 31.6% no se puede utilizar este índice ya que es muy difícil que se lleve a cabo la biodegradación y éste es el origen del primer término de la expresión (el antilogaritmo de 31.6 es 1.5).

El otro límite del índice es para concentraciones menores a 10,000 ppm ya que el logaritmo de concentraciones menores, al 1%, arroja números negativos que se sumarían al primer término de la fórmula, obteniéndose así valores del índice cada vez más altos a concentraciones menores de hidrocarburos. Esto indicaría que el sustrato es muy biodegradable, sin embargo este fenómeno no concordaría con la realidad ya que a menores concentraciones de sustrato (hidrocarburos) éstos se encontrarían cada vez más lejos o menos disponibles para los microorganismos y por lo tanto no serían más biodegradables o dicho de otra forma el proceso sería más lento al igual que a concentraciones altas (más de 30%).

Este índice entonces fluctuaría entre 0 a 1.5 siendo este último valor el que indicaría la mayor biodegradabilidad de los contaminantes.

El último de los índices se relaciona con la concentración de los diferentes componentes del contaminante en relación a la concentración de hidrocarburos totales.

$$I_{3A} = 1.5 - \text{Log del \% de HTP} + \text{Fracción de Alifáticos}$$

$$I_{3B} = 1.5 - \text{Log del \% de HTP} + \text{Fracción de Aromáticos}$$

$$I_{3C} = 1.5 - \text{Log del \% de HTP} + \text{Fracción de Poliaromáticos}$$

$$I_{3D} = 1.5 - \text{Log del \% de HTP} + \text{Fracción de Polares}$$

$$I_{3E} = 1.5 - \text{Log del \% de HTP} + \text{Fracción de Asfaltenos}$$

En este índice se suma a I_2 la fracción de hidrocarburos en la muestra, de esta forma se obtendrían valores más altos para I_3 , que para I_2 , hay que considerar también para éste índice los límites señalados para I_2 . Cabe mencionar que I_{3E} , relaciona en la tercer parte del término los hidrocarburos no biodegradables por lo que su inverso puede también ser utilizado, esto es la fracción de maltenos o de hidrocarburos biodegradables. En la tabla 12 se muestran los valores obtenidos para cada uno de los índices de acuerdo a los resultados obtenidos en la caracterización y en las pruebas de tratabilidad.

Como se observa en la tabla 12 los índices que mejor se relacionan en su comportamiento a los resultados obtenidos en términos de porcentaje de biodegradación son I_2 , I_{3B} , I_{3C} e I_{3E} . Estos índices involucran la concentración de hidrocarburos totales, de aromáticos, de poliaromáticos y la cantidad de hidrocarburos que podían ser biodegradables (maltenos) respectivamente. Los índices indican que la cantidad de microorganismos o las capacidades metabólicas de éstos, así como la composición del contaminante no son tan importantes en el fenómeno de biodegradabilidad como la concentración total de hidrocarburos y la proporción de éstos que pueden ser biodegradables. Los valores señalados con negritas en la tabla 12 muestran que en todos los casos todos los índices presentaron los valores más altos para el desecho de la fosa Bellota 301 la cual mostró el mayor porcentaje de biodegradación. El Bellota 401 presentó el menor porcentaje de biodegradación en promedio, la mayor concentración de hidrocarburos y los valores menores en los índices mencionados al principio el párrafo.

Tabla 12. Datos y generación de índices de biodegradabilidad

PARAMETRO	CARACTERÍSTICAS DEL RESIDUO			INDICES			
	BELLOTA 401	BELLOTA 301	CHINCHORRO	BELLOTA 401	BELLOTA 301	CHINCHORRO	
NMP de microorganismos degradadores de hidrocarburos	1,500.00	14,970.05	249.5	3.176	4.175	2.397	I1
NMP de microorganismos heterótrofos totales	1,497.00	90,648.85	9,471.58				
Alifáticos	40.34%	27.76%	34.08%	2.799	3.097	2.772	I3A
Aromáticos	12.56%	29.73%	23.03%	2.521	3.116	2.661	I3B
Poliaromáticos	4.32%	2.46%	15.73%	2.439	2.844	2.588	I3C
Polares	14.32%	13.09%	10.61%	2.539	2.950	2.537	I3D
Insolubles en pentano*	28.47%	26.96%	16.56%	2.680	3.089	2.597	I3E
Biodegradación (% promedio)	23.95%	48.66%	30.98%	3.111	3.549	3.265	I3E*
HTP (ppm)	127,117.62	47,966.62	117,221.62	2.396	2.819	2.431	I2

El % de biodegradación se tomó de la tabla 7

*Este índice se calculó con el inverso de los insolubles en pentano, es decir, los maltenos o biodegradables.

CONCLUSIONES

El método de cuantificación de hidrocarburos probó ser adecuado para los fines perseguidos.

Dentro del montaje de las pruebas de biodegradabilidad se observó que la medición del pH es importante pues explica el comportamiento de la biodegradación en los sistemas implementados.

Dentro del diseño experimental se concluye que el de bloques divididos es una valiosa herramienta que aporta vasta información de las interacciones existentes entre los parámetros que se prueban en el montaje de los sistemas de tratabilidad permitiendo evaluar varios tratamientos con pocas repeticiones.

También se concluye que la biodegradabilidad obtenida en los diferentes desechos esta influenciada principalmente por la concentración de hidrocarburos totales.

Finalmente una de las maneras en las cuales es posible generar los índices de biodegradabilidad es refiriéndola a la cantidad de los hidrocarburos totales biodegradables.

RECOMENDACIONES

En lo referente al CO₂ se encontró que el método de medición es laborioso, complicado y tomando los problemas que se pueden presentar durante el seguimiento de la prueba (obtención de anaerobiosis en ciertos momentos) es necesario implementar un mejor sistema de monitoreo de la respiración de los desechos analizados.

La cuantificación de hidrocarburos durante la evaluación de las pruebas puede referirse a una base diferente a la seca como lo es la cenizas para evitar los comportamientos extraños de elevación de los hidrocarburos al inicio de las pruebas.

Los índices pueden ser utilizados posteriormente, con la debida experiencia adquirida, como un parámetro de clasificación de los desechos de perforación en términos de su biodegradabilidad.

Es necesario realizar pruebas a mayor escala para determinar si los resultados obtenidos en matraces son equiparables a sistemas en escalas mayores.

BIBLIOGRAFÍA

1. NOM-052-ECOL-1993. Norma oficial mexicana que establece las características de los residuos peligrosos, el listado de los mismos y los límites que hacen a un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente. Diario Oficial de la Federación 22 de octubre de 1993.
2. Baker, R., "A primer of oilwell drilling", Sexta Edición, Ed. Petroleum Extensive Service, USA, 2001, 61-62 pp.
3. Frankenberger, Jr., W. T., "The need for a feasibility study in bioremediation of petroleum hydrocarbons", en Hydrocarbon Contaminated Soils and groundwater, Ed. Lewis Publishers, Vol 2, 1991, 237-293 pp.
4. Baker, R., "A primer of oilwell drilling", Sexta Edición, Ed. Petroleum Extensive Service, USA, 2001, 9-18, 110-118 pp.
5. Baker, R., A primer of oilwell drilling, Sexta Edición, Ed. Petroleum Extensive Service, USA, 2001, 161-164 pp.
6. Smith, K. P., "Waste minimization in the oil and gas exploration and production industry", NTIS 408391, Environmental Assessment and Information Sciences Division, Argonne National Laboratory, Argonne Illinois, September 1990.
7. Montgomery, M., y J. O. Pruett II, "Solids control reduces cost of SBM", The American Oil & Gas Reporter, 38(8):78-80, 1995.
8. Fraser, L., "Synthetics winning approval in gulf", The American Oil & Gas Reporter, 38(9):81-83, 1995.
9. Ezzat, M., y Al-Buraik, K. A., "Environmentally acceptable drilling fluids for offshore Saudi Arabia", 1997 SPE Middle East Oil Show & Conference.
10. Churan, M., Candler, J. E., y Freeman, M., "On site and offsite monitoring of synthetic based drilling fluids for oil contamination", 1997 SPE/EPA Exploration and Production Environmental Conference.
11. INEGI, Censos Económicos 1995, 5 pp.
12. INEGI, Censos Económicos 1995, 296 pp.
13. Saval, S., "Biorremediación: Alternativa para la limpieza de acuíferos y suelos contaminados con hidrocarburos", Ingeniería y Ciencias Ambientales No. 34, 1998.
14. Alexander, M., "Biodegradation and bioremediation", Segunda Edición, Ed. Academic Press, USA, 1999, 325-392 pp.

15. Jobson, A., Cook F. D., y Westlake, D. W. S., "Microbial utilization of crude oil", *Applied Microbiology*, 23(6):1082-9, 1972.
16. Chhatre, S., Porohit, H., Shanker, R., y Khanna, P., "Bacterial consortia for crude oil spill remediation", *Water Science & Technology*, 34(10):187-93, 1996.
17. Tabak, H. H., Govind, R., Fu, C., Yan, X., Gao C., y Pfanstiel, S., "Development of bioavailability and biokinetics determination methods for organic pollutants in soil to enhance in-situ and on-site bioremediation", *Biotechnology Progress*, 13(1):43-52, 1997.
18. Aronstein, B. N., y Alexander, M., "Effect of a non-ionic surfactant added to the soil surface on the biodegradation of aromatic hydrocarbons within the soil", *Applied Microbiology & Biotechnology*, 39:386-90, 1993.
19. Alexander, M., "Biodegradation and bioremediation", Segunda Edición, Ed. Academic Press, USA, 1999, 195-248 pp.
20. Rogers, D., Tedalti, J., y Kavanaugh, M. C., "A screening protocol for bioremediation of contaminated soil", *Environmental Progress*, 12(2):146-56, 1993.
21. Blackburn, J. W., "Bioremediation scaleup effectiveness: A review", *Bioremediation Journal*, 1(3):265-282, 1998
22. Carter, M. R., "Soil Sampling and methods of analysis", Ed. Lewis Publishers, 1993, 141-2 pp.
23. Tavera, S. G., "Criterios para la interpretación de los reportes de laboratorio para las áreas de asistencia técnica", Publicación No. 3, Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, Delegación Laguna, Matamoros Coahuila, 1985.
24. Method 3050B. "Acid digestion of sediments, sludges and soils", EPA Document SW-846 Ch 3.2, 1996.
25. Method 7000A. "Metals by AA (Atomic Absorption Methods)", EPA Document SW-846 Ch 3.3, 1992.
26. Method 6020. "Metals by ICP/MS", EPA Document SW-846 Ch 3.3, 1994.
27. Method 418.1. "Petroleum hydrocarbons total recoverable", EPA Document 600/4-79-020, 1979.
28. Method 3540C. "Soxhlet Extraction Organics", EPA Document SW-846 Ch 4.2, 1996.

29. Ilias, A. M. y Jaeger, C., "Evaluation of sampling techniques for the analyses of volatiles and total recoverable petroleum hydrocarbons (TRPH) by IR, GC, GC/MS methods", en *Hydrocarbon Contaminated Soil*, 1993, Vol. 3, 147-165 pp.
30. Wang Z., Fingas, M., y Li, K., "Fracturation of a light crude oil and identification and quantitation of aliphatic, aromatic, and biomarker compounds by GC-FID and GC-MS, part I", *Journal of Chromatographic Science*, 32(September):361-366, 1994.
31. Karlsen, D. A., y Later, S. R., "Analysis of petroleum fraction by TLC-FID: applications to petroleum reservoir description", *Organic Geochemistry*, 17(5):602-617, 1991.
32. Braddock, J. F. y Catterall, P. H., "A simple method for enumerating gasoline- and diesel-degrading microorganisms", *Journal of Bioremediation*, 3(2):81-81, 1999.
33. Karimi, S., Pickard, M., y Gray, M., "Reactions of polynuclear aromatic hydrocarbons on soil", *Environmental Science & Technology*, 30:1145-1151, 1996.
34. Aguilera-Vázquez, L., Soto-Cruz, N. O., Saucedo-Castañeda, G., y Gutiérrez-Rojas, M., "A model system for cocomposting hydrocarbon contaminated soil by using water activity and porosity as response variables", *Chemical Engineering Journal*, 81:197-202, 2001.
35. Haug, R. T., "The practical handbook of compost engineering", Ed. Lewis Publishers, USA, 1993, 1, 2, 9 y 10 pp.
36. Rodríguez Fuentes, H., y Rodríguez Absi, J., "Métodos de análisis de suelos y plantas. Criterios de interpretación", Ed. Trillas, México, 2002, 113-18, 111-113 y 63-72. pp.
37. Etienne, B. G., Hebrero, R. J., y Garduño, O. R. A., "Microorganismos para degradar residuos de derrames accidentales de petróleo crudo en suelo", XI Petroleum World Congress, August-September, 1983, London, U.K.
38. Bartha, R., y Pramer, D., "Features of a flask and method for measuring the persistence and biological effects of pesticides in soil", *Soil Science*, 100:68-70, 1965.
39. Macmillen, S. J., y Gray, N. R., "Biotreatment of exploration and production wastes", Second International Conference on Health, Safety & Environmental in Oil & Gas Exploration & Production SPE, January 1994.
40. Pollard, S. J. T., Hrudey, S. F., y Fedorak, P. M., "Bioremediation of petroleum- and creosote-contaminated soils: A review of constraints", *Waste Management & Research*, 12(2):173-94, 1994.

41. Srivastava, V. J., Paterek, J. R., Liu, B. Y., y Hayes, T. D., "Integrated chemical & biological treatment of polynuclear aromatic hydrocarbon contaminated soils at manufactured gas plant sites", 1995 International Gas Research Conference, 464-77 pp.
42. Stavaski, D. F., Korner, L. A., Guest, P. R., y Meldrum, J. W., "Bioremediation of diesel fuel and bunker C fuel oil at multiple railroad sites", en Remediation of diesel fuel contaminated Oils Symposium, Principles and Practices for Diesel Contaminated Soils, 1995, Vol.4., 82-105 pp.
43. Naugle, G. D., Sterrett, R. J., Meldrum, J. W. y Burda, M. L., "An investigation of potential methods, to enhance in situ bioremediation of diesel fuel", en Principles and Practices for diesel contaminated soils, Ed. Amherst Scientific Publishers, USA, 1995, Vol 3, 193-232 pp.
44. Davis, K. J., y Russell, D. J., "Soil treatment technologies combined", Pollution Engineering, March:78-82, 1994.
45. Funk, S. B., Roberts, D. J., Crawford, D. L., y Crawford, R. L., "Initial phase optimization for bioremediation of munition compound-contaminated soils", Applied & Environmental Microbiology, 57(7):2171-7, 1993.
46. McMullen, P. T., y Regan, R. W., "Thermophilic composting of a synthetic JP-4 fuel mixture", Purdue University 46th Industrial Waste Conference Proceedings, 1992, 113-8 pp.
47. Potter, C. L., Glaser, J. A., Chang, L. W., Meier, J. R., Dosani, M. A., y Herrmann, R. F., "Degradation of polynuclear aromatic hydrocarbons under bench-scale compost conditions", Environmental Science & Technology, 33(10):1717-25, 1999.
48. Mueller, J. G., Lantz, S. E., Blattman, B. O., y Chapman, P. J., "Bench-scale evaluation of alternative biological treatment processes for the remediation of pentachlorophenol and creosote-contaminated materials: solid phase bioremediation", Environmental Science and Technology, 25:1045-55, 1991.
49. McGugan, B. R., Lees, Z. M., y Senior, E., "Bioremediation of an oil-contaminated soil by fungal intervention", en Bioaugmentation for Site Remediation, 149-56, 1995.
50. Myler, C. A., y Sisk, W., "Bioremediation of explosives contaminated soils (Scientific questions/Engineering realities)", en Environmental Biotechnology for Waste Treatment, Ed. Plenum Press, USA, 1991, 137-46 pp.
51. Xu, R., Johnson, L., Yeung, P. Y., y Wang, Y., "Nitrogen transformations in oil contaminated, bioremediated solvent extracted and uncontaminated soils", Toxicological Environmental Chemical, 47:109-18, 1995.

52. Song H., Wang, X., y Bartha, R., "Bioremediation potential of terrestrial fuel spills", Applied Environmental Microbiology, March:652-6, 1990.
53. Mills, W., y Frankenberger, Jr., T., "Evaluation of phosphorus sources promoting bioremediation of diesel fuel in soil", Bulletin of Environmental Contamination Toxicology, 53:280-4, 1994.
54. León-Fajardo R., Yáñez-Mondragón M. y Jiménez-Domínguez A., "Los fluidos de perforación y el medio ambiente", Revista del Instituto Mexicano del Petróleo, Diciembre:17-31, 1993.
55. Calabrese M., Elsave, R. E., Bissonnette, G. K., y Sextone, A. J., "Mobility and enhanced biodegradation of a dilute waste oil emulsion during land treatment", Journal of Industrial Microbiology, 12:13-20, 1993.
56. Hinchee, R. E., y Arthur, M., "Bench scale studies of the soil aeration process for bioremediation of petroleum hydrocarbons", Applied Biochemistry and Biotechnology, 28/29:901-6, 1991.
57. Kampbell, D. H., y Wilson, J. T., "Bioventing to treat fuel spills from underground storage tanks", Journal of Hazardous Material, 28:75-80, 1991.
58. Faessler, D. L., Crawford, D., Emery, D., y Sproull, R. D., "Bioremediation bench-scale treatability study of a superfund site containing oily filter cake waste", Applied Biotechnology Site Remediation, (pap. Int. Symp In-situ On-site Bioreclam. J. 2nd. Pub 1994), 452-6, 1993.
59. Raymond, J., Hudson, O., y Jamison, V. W., "Oil degradation soil", Applied Environmental Microbiology, April: 522-35, 1976.
60. Dibble, y Bartha, R., "Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge", Applied Environmental Microbiology, Abril:729-39, 1979.
61. Tavera, S. G., "Criterios para la interpretación de los reportes de laboratorio para las áreas de asistencia técnica", Publicación No. 3, Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, Delegación Laguna, Matamoros Coahuila, 1985.
62. Deschenes, L., Lafrance, P., Villanueva, J.P., y Samson, R., "Adding sodium dodecyl sulfate to *Pseudomonas aureoginosa* UG2 biosurfactant inhibits polycyclic hydrocarbon biodegradation in a weathered creosote-contaminated soil" Applied Microbiology Biotechnology, 46:638-646, 1996.
63. Sigiura, K., Ishidihara, M., Shimauchi, T., y Harayma, S., "Physicochemical properties and biodegradability in crude oil", Environmental Science and Technology, 31:45-51, 1997.

METODOS

pH

Introducción

Muchas de las reacciones químicas y biológicas del suelo son controladas por el pH de la solución de suelo en equilibrio con la superficie de las partículas del mismo. El pH del suelo es medido en una matriz acuosa como agua o una solución diluida de sal. Esta medida es el pH mas cercano a la solución de suelo en el campo, lo cual es válido para suelos con baja conductividad eléctrica y sin fertilizar, pero es dependiente del grado de dilución. Una variante para la medición de pH, es utilizar una matriz de CaCl_2 0.01 M, lo cual es preferido para suelos fertilizados ya que esta medición es menos dependiente de la reciente historia de fertilización del suelo.

Cuando la medición del pH es en agua se debe tomar en cuenta que un incremento en la cantidad de agua adicionada causará un incremento del pH, por lo tanto debe mantenerse la relación constante y, tan baja como sea posible cuidando que el sobrenadante sea suficiente para mantener inmerso el electrodo.

Reactivos

CaCl_2 0.01 M: Disolver 2.94 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en agua desionizada en un matraz volumétrico de 2 l. La conductividad eléctrica de esta solución debe ser entre 2.24 y 2.40 mS/cm a 25°C.

Procedimiento

Se pesan 10 g de suelo mineral secado al aire en un vaso de precipitados y se adicionan 20 ml de agua desionizada. Para muestras orgánicas usar 2 g en 20 ml. Debe incluirse duplicados y muestras de control de calidad.

Se agita intermitentemente durante 30 minutos.

Se deja reposar 1 hora y se mide el pH en el sobrenadante claro con el potenciómetro calibrado a dos puntos.

Comentarios. El uso de CaCl_2 tiene algunas ventajas en la medición del pH: éste no se afecta cuando se varia la relaciones suelo-solución, es casi independiente de la concentración de sal soluble para suelos no salinos, es una muy cercana aproximación al pH de campo para suelos agrícolas, no hay diferencias significantes en la determinación para suelos secos o húmedos y el almacenamiento del suelo seco por un año no afecta el pH.

Las muestras que contienen grandes cantidades de materia orgánica tienden a formar una nata cuando se utiliza la relación para suelos minerales por lo que una disminución en esta relación puede ser benéfica (1:5 ó 1:10). Los estándares de pH para calibración deben seleccionarse de acuerdo al intervalo de pH esperado (entre 4 y 7 o entre 7 y 10).

Humedad

La determinación del contenido de agua es uno de los análisis más comunes dentro del análisis del suelo, sin embargo el contenido de agua no indica la cantidad de agua que está disponible para el crecimiento de las plantas ni cuánto está fuertemente retenida en las partículas del suelo. Además el contenido de agua es un parámetro dinámico en base al tiempo, y depende también de factores como la textura, estructura del suelo y drenaje entre otros y afecta directamente el crecimiento de cultivos, microbios e insectos.

Procedimiento

Se pesa exactamente 1 g de muestra en un crisol o cápsula de porcelana previamente tarada y a peso constante y se deposita en una estufa a 105°C. Después de 12 h se pasa a un desecador y una vez a temperatura ambiente se vuelve a pesar; se considera la muestra seca cuando la variación de peso es menor al 0.1% en 6 h de secado. Normalmente una muestra se seca en 24 o 48 h.

Cálculos

$$100 \left[\frac{(\text{peso muestra húmeda} + \text{peso del crisol}) - (\text{peso muestra seca} + \text{peso del crisol})}{\text{peso muestra húmeda}} \right]$$

El resultado se expresa en porcentaje.

Textura

El análisis del tamaño de partícula es la medición de la proporción de los diferentes tamaños de las principales partículas del suelo, esto se determina usualmente por la capacidad de estas partículas para atravesar mallas de diferentes tamaños de abertura o por su velocidad de sedimentación en agua. Esta proporción resultante es representada por los pesos relativos de las partículas dentro de ciertos tamaños establecidos. Los límites de estos tamaños establecidos difieren de acuerdo a la clasificación utilizada por las agencias relacionadas al suelo en cada país. Dentro de los métodos basados en la velocidad de sedimentación se encuentra el del hidrómetro este se basa en la ley de Stokes, esta describe a una partícula pequeña y esférica de una densidad PS y diámetro D sedimentando a través de un líquido de densidad PL y viscosidad n a una velocidad de

$$v = \frac{D^2 g (PS - PL)}{18n}$$

Donde g es la aceleración de la gravedad, cabe mencionar que para este análisis se deben hacer las siguientes consideraciones: 1) las partículas del suelo son esféricas (de hecho las arcillas son aplanadas), 2) $PS = 2.65$ o 2.60 g/cm^3 (la densidad puede variar de 2.0 a 3.2 g/cm^3), 3) la temperatura debe ser constante durante la sedimentación y 4) se asume que la sedimentación de las partículas del suelo en el cilindro no es afectada por otras partículas o por las paredes del cilindro.

Reactivos

Hidrómetro ASTM No.1 152 H con escala de Bouyoucos en g/l

Agitador eléctrico con recipientes

Solución acuosa de hexametáfosfato de sodio al 10%

Cilindros con marca de un litro con marca de 36 ± 2 cm desde el fondo.

Alcohol amílico

Solución de Calgon (50 g/l)

Cuarzo a temperatura constante

Procedimiento

Se calibra el hidrómetro adicionando 100 ml de la solución de Calgon al cilindro y se lleva a un volumen de 1000 ml con agua destilada, se agita y se deja reposar. Se introduce el hidrómetro cuidadosamente en la solución y se toma la lectura en la parte superior del menisco que rodea el hidrómetro (R_L).

Se pesan 40 g de suelo en un vaso de precipitados de 600 ml, se adicionan 100 ml de la solución de Calgon y 300 ml de agua destilada, se deja reposar toda la noche. Se agita por 15 minutos en el agitador eléctrico (de malteadas). Se transfiere a un cilindro y se adiciona agua destilada hasta 1000 ml. Se agita con una varilla y se adiciona un agota de alcohol amílico si hay formación de espuma. Se introduce el hidrómetro y pasados 40 s se toma la lectura (R_{40s}). Se retira y se seca el hidrómetro y se vuelve a colocar a las 7 h para tomar la lectura (R_{7h}).

Simultáneamente se realiza una prueba de humedad con 10 g de suelo a 105°C por 12 h. Para la textura se consulta una tabla donde de acuerdo al porcentaje de cada uno de las partículas se define la textura del suelo analizado.

Cálculos

$$\% \text{ de arena} = 100 - (R_{40s} - R_L) \left(\frac{100}{\text{peso del suelo seco en g}} \right)$$

$$\% \text{ de arcilla} = (R_{7h} - R_L) \left(\frac{100}{\text{peso del suelo seco en g}} \right)$$

$$\% \text{ de limo} = 100 - (\% \text{ de arena} + \% \text{ de arcilla})$$

Nitrógeno total

Reactivos

H₂SO₄ concentrado

CuSO₄ • 5H₂O

K₂SO₄ anhidro o Na₂SO₄

Granalla de zinc (30 mallas)

Solución de H₃BO₃ al 4% (40 g de H₃BO₃ diluidos y aforados a 1 l de agua destilada)

Solución de NaOH al 40% (40 g de sosa diluidos y aforados en 600 ml de agua destilada)

Indicador (solución alcohólica que se prepara disolviendo 0.1 g de rojo de metilo y 0.5 g de verde de bromocresol, en 100 ml de alcohol etílico al 95%)

Solución valorada de HCl 0.1 N.

Digestión

Del suelo secado al aire, molido y pasado por un tamiz (100 mallas), pesar 10 g sobre un papel filtro delgado. En caso de que el suelo contenga bastante materia orgánica es conveniente pesar solamente 1 g, y si el suelo es arenoso se recomienda pesar 20 g (si se trata de estiércol o tejido vegetal se pesa 1 g). En cualquier caso la muestra se envuelve en el papel filtro y se introduce en el matraz Kjeldahl de 800 ml.

Agregar 10 g de K₂SO₄ (para aumentar el punto de ebullición y acortar el tiempo de digestión).

Agregar 0.5g de CuSO₄ • 5H₂O (catalizador).

Agregar algunas perlas de vidrio (de 8 a 10).

Agregar 35 ml de H₂SO₄ concentrado. El ácido se vierte haciéndolo resbalar el cuello para arrastrar partículas de suelo o reactivos que pudieron haber quedado adheridos. Se agita cuidadosamente procurando que la muestra no se quede en las paredes del matraz. Si el suelo es arcilloso, se deja remojar media hora con 50 ml de agua antes de la adición del ácido sulfúrico.

Prender el aparato extractor de humos (CO₂ y SO₂).

Colocar el matraz en el tren de digestión (parte inferior del aparato Kieldahl).

Enciender la parrilla del tren de digestión para calentar con calor bajo durante los primeros 10 a 30 min hasta que termine la formación de espuma.

Elevar gradualmente la temperatura hasta que el ácido hierva, evitando un calentamiento demasiado alto porque habría grandes pérdidas de ácido, el cual volatizaría sin haber

oxidado la materia orgánica y además porque se elevaría la temperatura de ebullición a más de 410°C, presentándose pérdidas de nitrógeno bajo la forma de amoníaco.

Durante la digestión es conveniente dar movimiento de rotación al matraz para que las partículas de materia orgánica no digerida sean arrastradas por el H₂SO₄.

La digestión se considera terminada en el momento que aparece la solución de un olor gris, azul verdoso o ligeramente amarillo y para asegurarse que ha terminado se prosigue el calentamiento para un total de 1 h 15 min.

Apagar la parrilla, pero dejar prendido el extractor de humos, y dejar enfriar el contenido hasta una temperatura aproximada entre 40 y 50°C (que es el punto de formación de cristales, los cuales se disuelven lentamente).

Añadir 300 ml de agua destilada que esté libre de amoníaco. Esta adición de agua se efectúa con cuidado haciéndola resbalar poco a poco y agitando. Si se tiene un suelo arenoso, antes de la destilación es conveniente decantar la solución ácida a otro matraz Kjeldahl, con el fin de eliminar las arenas, las que si permanecen durante el calentamiento hacen irregular la ebullición, y provocan que el matraz salte sobre la parrilla, con el riesgo de que se caiga del tren de destilación.

Destilación

En un matraz Erlenmeyer de 500 ml se vierten 25 ml de H₃BO₃ al 4% y cuatro gotas de indicador (rojo de metilo y verde de bromocresol).

El tubo inferior del refrigerante del tren de destilación se coloca dentro del matraz Erlenmeyer en tal forma que su extremo quede sumergido en el ácido bórico que contiene dicho matraz.

Se enciende la parrilla del tren de destilación para calentar con calor bajo (parte superior del aparato Kjeldahl).

Se abre la llave de agua del refrigerante.

Al matraz Kjeldahl se le agrega lo siguiente: un trocito de parafina no para tejido vegetal), varias granallas de zinc (para regular la ebullición) y 100 ml de NaOH al 40%. La sosa (NaOH) se resbala por el cuello del matraz, que se mantiene inclinado a 45°, con objeto de que la sosa llegue al fondo del matraz sin mezclarse con su contenido.

El matraz Kjeldahl se conecta al refrigerante procurando que el tapón de hule quede bien apretado.

Se agita el matraz mediante un movimiento giratorio para mezclar las dos capas formadas al añadir la sosa (el agitado no debe efectuarse hasta que el matraz Kjeldahl haya sido conectado al bulbo de seguridad del refrigerante para evitar que haya escape de NH₃)

Cuando se hayan recibido aproximadamente 150 ml de destilado (color azul), se retira el matraz Erlenmeyer del tubo del refrigerante y se suspende el calentamiento. Si se apaga la parrilla antes de quitar el matraz Erlenmeyer, el destilado se regresa al Kjeldahl, teniéndose que repetir toda la determinación.

Se cierra la llave del agua.

Titulación

En una bureta de 50 ml se pone el HCl 0.1N, el cual se agrega lentamente al matraz Erlenmeyer (que contiene el destilado de color azul) y éste se mantiene en movimiento giratorio. Cuando el color cambie a ámbar se da por terminada la titulación, anotando enseguida los mililitros de HCl gastados.

Cálculos

Cada dos moléculas del HCl titulan (determinan) una molécula de borato de amonio, que contiene dos átomos de nitrógeno. Es decir, hay una relación directa, 1 equivalente gramo de HCl (36.458 g) titula (determina) 1 equivalente gramo de N (14.008 g de N).

Esto significa que si se tuviera una solución de HCl 1 N (36.458 g HCl puro/1000 ml) podríamos determinar 14.008 g de nitrógeno del borato de amonio, y si se tuviera una solución de 0.1 N de HCl (3.6458 g de HCl puro/1000 ml) se podría determinar 1.4008 g de nitrógeno del borato de amonio. De éste se obtiene la siguiente relación:

$$\begin{aligned} 1000 \text{ ml HCl } 0.1 \text{ N titula } 1.4008 \text{ g de N} \\ 1 \text{ ml de HCl } 0.1 \text{ N titula } 0.0014008 \text{ g de N} \end{aligned}$$

o sea que cada mililitro de HCl 0.1 N titula (determina) 0.0014 g de N.

De este modo se tiene que la fórmula final para calcular el porcentaje de nitrógeno total, es:

$$\text{Porcentaje de N total} = \frac{\text{ml de HCl } 0.1 \text{ N gastados} \times 0.0014 \times 100}{\text{Peso de la muestra de suelo}}$$

$$\text{Porcentaje de N total} = \frac{\text{ml de HCl } 0.1 \text{ N gastados} \times 0.0014 \times 100}{10 \text{ g}}$$

$$\text{Porcentaje de N total} = \text{ml de HCl } 0.1 \text{ N gastados} \times 0.014$$

Hidrocarburos totales del petróleo método EPA 418.1

Reactivos

Aceite de referencia: Pipetear 15 ml de hexadecano, 15 ml de isooctano y 10 ml de clorobenceno en un recipiente de vidrio.

Estándar stock: Pipetear 1 ml del aceite de referencia en un matraz volumétrico tarado de 200 ml y tapar inmediatamente. Pesar y diluir a volumen con tetracloruro de carbono.

Estándares de trabajo: Pipetear volúmenes apropiados del estándar stock en matraces volumétricos de 100 ml de acuerdo a la longitud de celda usada, llevar a volumen con tetracloruro de carbono y calcular la concentración de cada estándar de trabajo de acuerdo a la concentración del estándar stock.

Se calibra el aparato y con los estándares de trabajo se calcula la concentración del extracto extrapolando en la curva de calibración.

Procedimiento

Se deposita 1 g de muestra en un matraz Erlenmeyer de 125 ml, se adicionan 30 ml de tetracloruro de carbono y se agita vigorosamente por dos minutos, se filtra a través de papel Whatman # 40 con 1 g de sulfato de sodio anhidro. Se repite la extracción con dos volúmenes mas de disolvente fresco y se reciben en un matraz volumétrico de 100 ml. Se enjuaga el embudo y el papel filtro con disolvente y aforar. Se descartan los primeros 5 o 10 ml del matraz y se agregan 3 g de sílica gel y agitar por 5 minutos. Transcurrido este tiempo se filtra nuevamente en Whatman # 42 y se analiza en un espectrómetro infrarrojo.

Fraccionamiento del contaminante

Material

sílica gel malla 100-200, tamaño de poro 150Å, poro 1.2 cm³/g, superficie activa 320 m²/g
n-hexano grado cromatográfico
benzeno grado cromatográfico
diclorometano grado cromatográfico
pentano grado cromatográfico
tetrahidrofurano grado cromatográfico
metanol grado cromatográfico
acetona grado cromatográfico
columnas de vidrio para cromatografía
columnas de vidrio para lavar la sílica
estufa con salida para vapores
estándares: 200 a 400 µl de la mezcla sintética de hidrocarburos alifáticos y poliaromáticos o crudo (100 mg/ml)
fibra de vidrio
sulfato de sodio anhidro
columnas de 200 X 10.5 mm con llave de teflón
columna de 90 x 4 cm con llave de teflón

Se lava la cantidad de sílica necesaria para todas las muestras a fraccionar, colocándola en una columna de 90 x 4 cm y se enjuaga con 3 porciones de 250 ml de cada una de los siguientes disolventes en este orden: acetona, hexano y diclorometano. Se seca en una estufa con ventilación por una noche a 40-50°C. Se activa en una estufa a 180°C por 20 horas en un recipiente poco profundo cubierto con papel aluminio no herméticamente.

Preparación del material

Se prepara una columna cromatográfica, con fibra de vidrio en el fondo, y se lava con 20 ml de cada uno de los siguientes disolventes: metanol hexano y diclorometano, se empaca la columna con 3 g de la sílica limpia y activada, adicionando primero 15 ml de hexano y después la sílica poco a poco, en la parte superior se colocan 0.5 g de sulfato de sodio anhidro seco (a 110°C por 4 horas). Se adicionan 20 ml de hexano y se elimina el exceso sin que se seque la columna. Sobre el sulfato de sodio se adicionan los estándares y/o la muestra.

Preparación de la muestra

Se remueven los asfaltenos depositando 1 g de muestra en un vaso de precipitados de 50 ml y adicionando 20 ml de pentano. Se calienta ligeramente en un baño de agua para acelerar la disolución y se agita intermitentemente. Se deja reposar por 30 minutos a temperatura ambiente y se filtra a través de papel filtro Whatman 41.

Se enjuaga el vaso de precipitados con 10 ml de pentano y se filtra. Se enjuaga también el papel filtro con otros 10 ml de pentano. El filtrado se evapora bajo una corriente de nitrógeno, se pesa y se registra el peso cuando la variación sea menor a 10 mg en 10 minutos. La diferencia de peso entre el filtrado y la muestra original es el contenido de asfaltenos.

Elución

Doce ml de hexano se usan para eluir los hidrocarburos alifáticos, 12 ml de una mezcla hexano-benzeno al 50% v/v para eluir los hidrocarburos aromáticos, 12 ml de benzeno para los poliaromáticos, 12 ml de acetona metanol para los polares y 15 ml de tetrahidrofurano para los poliaromático polares.

Se toman fracciones de 2 ml cada una y se corren placas cromatográficas, las fracciones que corren a la misma distancia se juntan. Se evapora a sequedad el disolvente de cada fracción y se pesan en una balanza analítica.

Con la suma de todas las fracciones se obtiene el porcentaje de recuperación y con la cuantificación de los estándares internos se calcula la eficiencia de la separación. Se corren al mismo tiempo blancos y muestras de control de calidad.

NOTA: La sílica de cada columna no debe reutilizarse así como los disolventes empleados en la elución para fines cromatográficos, todo el material a utilizar en esta prueba debe ser lavado con mezcla crómica.

NMP

Por cada dilución se esterilizan en la autoclave cuatro tubos de ensaye, 9 ml de solución salina fisiológica (0.85%), 27 ml de medio mineral, una pipeta de 1 ml o una punta para pipeta automática y una pipeta de 0.1 ml o una punta para pipeta automática junto con dos pipetas de 10 ml o puntas para pipeta automática para adicional el queroseno, la solución salina y el medio mineral a todos los tubos. Por filtración se esterilizan 0.3 ml de queroseno por dilución (con membrana de 0.22 μm). Una vez estéril se adiciona a uno de los cuatro tubos 9 ml de solución salina y a los otros tres 9 ml de medio mineral y 0.1 ml de queroseno.

Se pesa aproximadamente un gramo de muestra y se adiciona al tubo de solución salina, se agita con un agitador vortex, con esto se tiene hecha la dilución 10^{-1} , de esta solución se adiciona 1 ml a cada uno de los tubos con medio mineral, con lo que se tiene inoculado el medio para revelar la actividad deseada (degradación de hidrocarburos), después se adiciona del tubo de la dilución 10^{-1} 1 ml a otro tubo con solución salina con lo que tenemos la dilución 10^{-2} y se inoculan los tubos para revelar la actividad deseada, esto se repite normalmente hasta la dilución 10^{-9} .

Se incuban los tubos a la temperatura donde se requiere revelar la actividad que normalmente es a temperatura ambiente (25°C) durante 72 horas. Se comparan los tubos inoculados con uno control (sin inóculo) se saca el número característico de tres dígitos empezando con la dilución donde mas tubos positivos hubieron. Si en la dilución 10^{-2} hubieron tres tubos positivos, en la dilución 10^{-3} dos tubos positivos y en la dilución 10^{-4} ningún tubo positivo el número característico es 320 en la dilución 10^{-3} . Posteriormente en la tablas de Turkey utilizando el número característico se obtiene el número mas probable de microorganismos encontrados que para el caso de ejemplo es 9.5 y como es en la dilución 10^{-3} tenemos que 9,500 es el número mas probable de microorganismos en la cantidad de muestra usada ya sea en base húmeda o seca.

Para el caso de bacterias heterótrofas totales en lugar de medio mineral se utiliza caldo nutritivo.

TABLAS DE RESULTADOS

pH

Chinchorro

Promedio

Desviación estándar poblacional

Muestra	0	3	6	9	12	Muestra	0	3	6	9	12
s100	7.35	7.00	8.13	7.17	7.28	s100	0.00	0.05	0.00	0.01	0.00
s50	7.25	7.06	7.22	7.10	7.42	s50	0.05	0.03	0.01	0.02	0.12
s25	7.45	7.13	7.30	7.20	7.51	s25	0.01	0.01	0.11	0.06	0.01
nn100	7.38	6.93	7.12	7.42	7.11	nn100	0.02	0.03	0.02	0.38	0.03
nn50	7.47	7.05	7.24	7.18	7.35	nn50	0.03	0.02	0.00	0.01	0.00
nn25	7.32	7.17	7.27	6.94	7.44	nn25	0.00	0.01	0.10	0.20	0.04
n100	7.58	7.23	7.22	7.08	7.46	n100	0.01	0.04	0.02	0.21	0.01
n50	7.36	7.09	7.76	7.21	7.62	n50	0.04	0.09	0.26	0.00	0.15
n25	7.65	7.23	7.43	7.22	7.52	n25	0.01	0.00	0.05	0.07	0.02
u100	7.39	7.61	8.22	7.79	8.16	u100	0.01	0.01	0.00	0.01	0.16
u50	7.28	7.66	7.82	7.65	7.85	u50	0.02	0.02	0.03	0.02	0.04
u25	7.31	7.51	7.77	7.52	7.80	u25	0.02	0.00	0.02	0.01	0.09

Bellota 301

Promedio

Desviación estándar poblacional

Muestra	0	3	6	9	12	Muestra	0	3	6	9	12
s100	7.61	7.27	7.36	7.36	7.51	s100	0.03	0.01	0.01	0.08	0.03
s50	7.53	7.35	7.48	7.31	7.60	s50	0.00	0.03	0.09	0.15	0.02
s25	7.39	7.41	7.40	7.43	7.57	s25	0.01	0.01	0.06	0.01	0.09
nn100	7.37	7.25	7.43	7.31	7.44	nn100	0.02	0.01	0.08	0.02	0.02
nn50	7.40	7.39	7.55	7.34	7.67	nn50	0.00	0.03	0.00	0.10	0.01
nn25	7.69	7.30	7.04	7.64	7.84	nn25	0.00	0.01	0.16	0.01	0.01
n100	7.89	7.55	7.82	7.44	8.58	n100	0.01	0.05	0.08	0.31	0.00
n50	7.91	7.79	8.16	8.14	8.32	n50	0.02	0.10	0.14	0.05	0.06
n25	7.89	7.78	8.17	8.22	8.56	n25	0.01	0.01	0.11	0.05	0.01
u100	7.58	7.82	8.24	7.92	8.29	u100	0.00	0.03	0.07	0.08	0.15
u50	7.51	7.76	8.07	7.97	8.16	u50	0.02	0.02	0.00	0.09	0.05
u25	7.40	7.77	7.86	7.75	8.06	u25	0.01	0.05	0.10	0.02	0.11

Bellota 401**Promedio****Desviación estándar poblacional**

Muestra	0	3	6	9	12	Muestra	0	3	6	9	12
s100	7.22	7.62	7.11	7.47	6.94	s100	0.19	0.07	0.02	0.47	0.09
s50	7.38	7.17	7.45	7.66	7.10	s50	0.22	0.17	0.01	0.48	0.16
s25	7.27	7.26	7.60	7.62	7.50	s25	0.18	0.19	0.03	0.11	0.03
nn100	7.39	7.65	7.43	7.08	7.08	nn100	0.28	0.12	0.04	0.05	0.08
nn50	7.61	7.25	7.49	7.56	7.59	nn50	0.21	0.22	0.03	0.02	0.12
nn25	7.38	7.88	7.70	7.86	7.52	nn25	0.17	0.02	0.03	0.09	0.06
n100	7.39	7.71	7.53	7.75	7.46	n100	0.21	0.21	0.12	0.05	0.04
n50	7.67	7.58	8.05	7.77	7.98	n50	0.07	0.29	0.01	0.54	0.04
n25	7.60	7.49	8.04	8.41	8.23	n25	0.24	0.20	0.07	0.02	0.01
u100	8.06	8.54	8.54	8.63	8.61	u100	0.23	0.02	0.06	0.05	0.06
u50	7.87	8.00	8.45	8.42	8.25	u50	0.25	0.27	0.05	0.04	0.08
u25	7.95	8.44	8.42	8.24	8.29	u25	0.14	0.16	0.02	0.06	0.02

% de Humedad**Chinchorro****Promedio****Desviación estándar poblacional**

Muestra	0	3	6	9	12	Muestra	0	3	6	9	12
s100	59.46	62.19	60.99	60.35	60.90	s100	1.80	1.16	0.74	0.76	0.77
s50	59.76	62.60	62.22	62.24	61.88	s50	0.49	1.91	1.23	0.38	0.04
s25	64.19	63.96	65.32	63.10	66.28	s25	0.21	0.24	1.72	1.17	0.19
nn100	64.15	60.27	62.55	61.09	58.65	nn100	0.54	0.35	0.01	0.44	0.03
nn50	64.31	64.34	60.14	60.48	58.97	nn50	0.23	0.00	0.31	0.16	1.27
nn25	67.25	68.69	66.35	64.58	64.35	nn25	0.78	4.31	0.01	1.81	1.36
n100	60.51	65.45	62.22	58.36	63.69	n100	2.40	0.28	2.33	0.06	1.03
n50	65.29	64.64	64.16	61.98	56.73	n50	2.06	0.11	0.14	1.62	0.24
n25	66.74	66.00	64.98	67.58	67.77	n25	0.12	2.97	0.18	1.35	0.58
u100	60.06	64.37	62.21	61.24	60.21	u100	0.74	1.34	1.24	0.70	0.58
u50	63.77	59.15	58.78	62.75	60.92	u50	1.61	0.65	1.19	0.41	1.00
u25	65.75	63.70	66.24	65.52	63.54	u25	1.08	0.00	0.08	0.39	1.20

Bellota 301**Promedio****Desviación estándar poblacional**

Muestra	0	3	6	9	12	Muestra	0	3	6	9	12
s100	59.36	59.31	60.02	60.23	59.73	s100	0.04	0.53	1.17	0.10	0.44
s50	59.43	60.37	60.93	60.42	60.44	s50	1.06	0.72	1.16	0.03	0.64
s25	62.65	62.10	62.87	62.55	62.07	s25	0.15	0.74	0.29	0.13	0.77
nn100	59.50	60.09	60.30	59.71	60.05	nn100	0.10	0.28	0.62	0.08	0.61
nn50	59.97	59.28	59.29	59.88	60.21	nn50	0.38	0.81	0.88	0.03	0.17
nn25	62.20	62.44	63.23	62.93	62.59	nn25	0.07	0.13	0.84	0.70	0.18
n100	59.41	58.56	58.85	59.12	59.57	n100	0.65	0.29	0.61	0.31	0.25
n50	57.80	60.00	59.71	59.63	59.62	n50	1.37	0.06	0.14	0.35	0.35
n25	62.14	62.00	63.90	62.85	62.27	n25	0.40	0.74	0.06	0.07	0.72
u100	58.80	60.73	61.07	60.19	60.67	u100	1.12	0.00	0.03	0.55	0.58
u50	59.32	60.50	59.93	61.01	59.77	u50	1.35	0.17	0.69	0.01	0.25
u25	60.87	63.07	63.34	62.16	62.36	u25	0.00	0.22	0.50	0.18	0.03

Bellota 401**Promedio****Desviación estándar poblacional**

Muestra	0	3	6	9	12	Muestra	0	3	6	9	12
s100	59.06	58.38	58.26	60.25	60.43	s100	0.30	0.15	1.48	0.74	0.26
s50	58.96	59.32	62.36	59.97	59.83	s50	0.24	0.14	3.29	0.42	0.44
s25	58.44	58.75	60.90	57.92	60.72	s25	0.28	0.32	0.55	0.55	0.88
nn100	59.20	59.57	59.99	61.90	61.08	nn100	0.19	0.24	1.11	0.79	0.29
nn50	59.86	59.19	60.76	60.66	61.27	nn50	0.18	0.67	0.10	0.09	0.31
nn25	58.92	59.72	59.90	59.72	57.39	nn25	0.43	0.26	0.09	0.20	0.23
n100	57.59	57.70	58.90	58.37	58.29	n100	0.35	0.41	0.25	0.17	0.12
n50	59.03	58.34	59.57	59.20	58.16	n50	0.41	0.12	0.10	0.80	0.24
n25	58.41	59.06	59.97	61.16	60.21	n25	0.21	0.45	0.34	0.79	1.48
u100	57.20	62.36	60.21	60.67	59.64	u100	0.21	4.64	0.63	0.37	0.27
u50	58.21	56.99	60.30	61.23	58.31	u50	0.42	0.20	0.21	1.48	0.68
u25	59.02	58.07	60.00	58.51	61.05	u25	0.14	0.21	0.50	0.26	0.81

Producción diaria de CO₂ en mg/g de mezcla húmeda

Chinchorro

Promedio

Muestra	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
s100	0	0.00	8.12	8.12	9.75	9.75	11.37	11.37	21.94	21.94	23.56	23.56	24.37
s50	0	0.74	3.70	5.92	6.66	10.37	13.33	16.29	17.03	20.00	20.74	20.74	20.74
s25	0	0.62	3.74	4.37	10.61	11.23	12.48	13.11	13.11	13.11	15.61	15.61	15.61
nn100	0	1.49	6.71	9.70	13.43	14.18	16.42	18.66	19.41	22.39	22.39	23.88	23.88
nn50	0	0.75	6.00	9.00	9.00	9.75	12.00	15.75	19.50	21.00	21.76	22.51	22.51
nn25	0	2.50	6.26	11.27	11.27	14.40	18.79	20.04	24.43	24.43	26.93	26.93	29.44
n100	0	0.00	1.44	4.31	5.03	7.19	11.51	15.11	21.59	22.31	24.47	24.47	25.91
n50	0	0.00	1.46	2.92	5.84	9.49	10.22	13.87	18.98	20.44	21.17	21.90	22.63
n25	0	0.00	1.25	3.76	3.76	7.53	7.53	10.04	12.55	12.55	12.55	12.55	13.17
u100	0	0.74	1.48	7.43	7.43	9.67	10.41	17.85	20.82	23.80	27.52	28.26	28.26
u50	0	0.00	4.44	6.66	7.40	8.14	9.62	9.62	15.54	16.28	17.76	18.51	19.99
u25	0	0.62	1.25	3.77	3.77	7.54	8.80	11.31	11.31	12.57	13.20	15.09	15.09

Desviación estándar poblacional

Muestra	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
s100	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	2.438	0.000	0.000	0.000	0.813
s50	0	0.741	0.741	0.000	0.741	0.000	0.000	0.000	0.741	2.222	0.000	0.000	0.000
s25	0	0.624	0.000	0.624	0.000	0.624	0.624	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
nn100	0	0.000	0.747	0.747	0.000	0.747	1.493	0.747	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
nn50	0	0.750	0.000	0.000	0.000	0.750	1.501	0.750	0.000	0.000	0.750	0.000	0.000
nn25	0	0.000	0.000	0.000	0.000	1.879	0.626	0.626	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
n100	0	0.000	0.000	0.000	0.720	1.440	0.000	0.720	2.879	0.720	0.000	0.000	0.000
n50	0	0.000	0.000	0.000	1.460	0.730	0.000	0.730	5.841	0.000	0.730	0.000	0.730
n25	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.628
u100	0	0.744	0.000	0.000	2.976	0.744	0.000	1.488	0.000	0.000	0.744	0.000	0.000
u50	0	0.000	0.000	0.740	0.000	0.740	0.740	0.740	0.740	0.740	0.740	1.481	0.000
U25	0	0.629	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.629	0.000	0.000

Bellota 301**Promedio**

Muestra	0	1	2	4	5	6	7	8	10	11	12		
s100	0	2.31	6.17	11.5	12.34	17.73	19.28	23.13	29.30	34.7	35.47	40.10	40.10
s50	0	0.78	6.29	7.8	7.86	8.65	11.01	14.16	20.45	21.2	22.02	23.60	23.60
s25	0	0.00	3.76	5.0	6.28	6.91	10.05	11.30	11.93	14.4	16.96	19.47	20.10
nn100	0	1.49	6.71	10.4	11.18	12.67	16.40	17.89	23.11	26.0	26.09	29.08	29.08
nn50	0	0.72	5.78	7.2	7.22	9.39	11.56	14.45	18.79	21.6	22.40	27.46	27.46
nn25	0	0.62	5.03	7.5	8.80	11.31	13.83	18.86	23.89	25.1	26.40	26.40	26.40
n100	0	0.00	3.62	7.2	8.70	11.60	13.78	16.68	23.21	26.1	26.11	26.11	26.11
n50	0	0.00	0.77	6.9	7.76	12.42	13.98	17.86	24.07	24.8	27.18	27.18	27.18
n25	0	0.00	3.74	5.6	7.48	9.35	9.97	12.46	20.57	21.8	22.44	23.06	23.06
u100	0	1.58	6.32	11.8	11.86	14.23	15.02	19.77	20.56	24.5	25.30	25.30	25.30
u50	0	1.54	7.71	8.4	9.25	12.34	17.73	17.73	17.73	20.8	20.82	20.82	24.68
u25	0	1.25	5.01	8.1	8.77	11.28	13.78	15.04	15.04	16.2	18.17	18.17	18.80

Desviación estándar poblacional

Muestra	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
s100	0	0.771	0.000	2.314	0.000	0.771	0.771	0.000	0.000	0.771	0.000	0.000	1.543
s50	0	0.787	0.000	0.000	0.000	0.787	1.573	0.000	0.000	0.787	0.000	0.000	0.000
s25	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.628	1.884	0.628	0.000	0.000	0.000	0.000	3.141
nn100	0	0.000	0.746	0.000	0.746	0.746	0.000	0.000	0.746	1.491	0.000	1.491	0.000
nn50	0	0.723	0.000	0.000	0.000	0.723	0.000	0.000	1.445	0.000	0.723	1.445	0.000
nn25	0	0.629	0.000	0.000	0.000	0.000	1.258	0.000	0.000	1.258	0.000	0.000	0.000
n100	0	0.000	0.725	0.000	0.000	1.451	0.725	0.725	1.451	0.000	0.000	0.000	0.000
n50	0	0.000	0.777	0.777	0.000	0.000	0.000	0.777	0.777	0.777	0.000	1.553	0.000
n25	0	0.000	0.000	0.623	0.000	1.870	0.000	0.000	1.870	0.000	0.623	0.000	0.000
u100	0	0.000	0.000	0.791	0.791	1.582	0.791	0.791	0.000	0.791	0.000	0.000	0.000
u50	0	0.000	1.543	0.771	1.543	0.000	0.771	2.314	0.771	1.543	0.000	0.000	0.771
u25	0	0.000	0.000	0.627	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.627	0.627	0.000

Bellota 401**Promedio****Desviación estándar poblacional**

Muestra	0	3	6	9	12	Muestra	0	3	6	9	12
s100	0	3.94	9.58	16.34	16.34	S100	0	0.398	0.398	0.398	0.398
s50	0	4.50	10.42	16.62	20.28	S50	0	0.398	3.260	1.054	0.000
s25	0	3.94	13.24	16.62	19.43	S25	0	0.398	0.398	1.054	0.000
nn100	0	3.38	10.14	18.03	20.84	NN100	0	0.000	0.000	0.398	0.398
nn50	0	2.25	11.83	16.34	19.15	NN50	0	0.398	0.690	0.797	0.398
nn25	0	3.66	9.01	14.36	18.31	NN25	0	0.398	1.593	2.390	0.398
n100	0	1.41	7.04	10.98	10.42	N100	0	0.398	0.398	0.690	0.398
n50	0	2.53	7.89	10.70	14.08	N50	0	0.000	0.398	0.398	0.398
n25	0	1.41	9.86	13.52	16.90	N25	0	1.053	0.398	0.000	0.000
u100	0	3.38	9.58	17.74	16.05	U100	0	0.398	0.398	1.825	0.000
u50	0	3.38	10.98	15.21	17.18	U50	0	0.000	0.690	0.690	0.398
u25	0	4.22	10.42	14.36	18.03	U25	0	0.000	0.398	0.000	0.398

HTP en ppm base seca**Chinchorro****Promedio**

Muestra	0	3	9	12
s100	88,734.87	103,171.10	60,587.8	50,923.40 63,076.15
s50	109,336.64	96,818.82	73,404.8	68,075.07 62,690.03
s25	98,168.57	99,758.64	83,608.5	69,826.24 72,757.37
nn100	89,613.67	86,533.70	72,855.3	52,242.18 66,370.21
nn50	89,508.39	76,690.36	60,540.3	70,548.63 78,959.03
nn25	87,891.53	78,125.29	77,450.3	64,579.43 68,778.85
n100	79,769.28	87,189.11	52,506.8	50,316.68 60,487.60
n50	72,296.63	84,981.21	82,433.3	57,005.85 68,509.62
n25	80,391.04	95,783.33	85,107.9	50,771.55 74,791.70
u100	90,123.22	73,768.36	76,717.0	39,534.87 53,182.56
u50	95,112.35	90,239.11	57,098.3	36,516.46 47,918.05
u25	94,579.59	106,555.85	74,330.7	54,895.35 61,122.13

Desviación estándar poblacional

Muestra	0	3	6	12	
s100	4,098	2,922	3,314	2,74	2,269
s50	6,092	3,465	7,785	4,39	5,949
s25	3,215	3,035	4,790		1,823
nn100	3,755	578	6,059	4,02	1,570
nn50	1,019	3,120	728	3,53	2,217
nn25	8,441	2,883	11,385	8,03	88
n100	0	7,041	3,912	11,20	4,268
n50	0	83	548	6,03	3,627
n25	11,343	3,205	8,966		636
u100	808	1,033	6,875	1,02	6,155
u50	11,005	1,078	5,940	5,49	2,388
U25	156	449	15,974	93	412

Bellota 301**Promedio**

Muestra	0	3	6	12	
s100	36,840.85	39,659.80	19,534.60	14,396.00	
s50	32,648.34	40,994.84	20,956.46	18,994.4	19,465.71
s25	36,333.84	44,009.42	14,221.10	22,242.7	17,511.03
nn100	38,099.38	40,929.87	21,865.39	1,994.6	15,650.30
nn50	37,792.26	40,899.94	10,789.64	5,613.6	19,956.46
nn25	42,831.01	44,475.57	22,202.17	5,937.6	20,393.87
n100	39,314.98	31,609.42	21,510.15	16,320.1	23,167.80
n50	34,054.85	30,799.40	16,846.92	15,348.3	15,143.28
n25	37,047.85	37,504.96	20,291.81	12,586.2	17,868.78
u100	33,534.30	41,092.85	26,753.12	21,157.9	26,284.48
u50	34,370.67	41,617.51	21,129.90	18,785.7	19,500.18
u25	40,344.06	40,977.92	11,714.38		19,668.71

Desviación estándar poblacional

Muestra	0	3	9	12
s100	1	591	83	0
s50	2,054	241	93	6,068
s25	1,558	1,724	9,17	2,415
nn100	2,575	1,835	24	0
nn50	984	222	10,28	36
nn25	1,233	1,075	1,29	0
n100	149	242	1,63	513
n50	5,815	1,904	8	121
n25	1,616	5,051	23	5,619
u100	331	2,319	6,60	1,166
u50	2,702	724		2,404
u25	2,083	2,752	8,82	

Bellota 401**Promedio**

Muestra	0	3	9	12
s100	92,863.30	89,553.50	69,118.4	72,932.77
s50	93,374.00	90,019.72	87,240.5	76,634.85
s25		99,509.95		52,097.76
nn100	92,453.90	91,982.60	85,845.7	74,373.06
nn50	101,412.00	97,135.69		67,894.86
nn25	98,405.50	93,776.13		48,379.19
n100	89,573.60			95,833.65
n50	94,015.50	92,917.09		70,764.93
n25	97,713.80	92,270.59		65,591.47
u100	103,163.00	109,042.90		77,810.77
u50	91,726.10	95,251.41	76,113.8	58,750.79
u25	100,264.00	94,483.59		64,794.04

Desviación estándar poblacional

Muestra	0	3	6	9	12
s100	2,256	1,368	902		5,648
s50	213	6,079	2,959		2,750
s25		4,449			2,586
nn100	4,010	1,790			764
nn50	1,712	408			1,080
nn25	3,241	4,427			4,668
n100	2,198				1,138
n50	409	37			0
n25	1,232	0			1,253
u100	662	2,332			2,958
u50	1,261	5,232	2,169		2,433
u25	39,741	0			0

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Análisis de varianza de un factor sobre los resultados obtenidos en el CO₂, pH y HTP del residuo Bellota 301 al 95% de confianza

CO₂

Diferencias en el tiempo todos los tratamientos

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	13	272.2545	20.9429	199.0628
Fila 2	13	167.5688	12.8899	72.4679
Fila 3	13	126.2578	9.7121	45.9421
Fila 4	13	210.2757	16.1750	101.5068
Fila 5	13	174.1783	13.3983	89.1127
Fila 6	13	194.2919	14.9455	102.2765
Fila 7	13	189.3402	14.5646	104.5042
Fila 8	13	190.3029	14.6386	117.3333
Fila 9	13	159.5705	12.2746	79.2852
Fila 10	13	201.6830	15.5140	80.0216
Fila 11	13	179.7055	13.8235	61.8115
Fila 12	13	149.7907	11.5223	41.1485

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1,111.4208	11	101.0382	1.1078	0.3593	1.8556
Dentro de los grupos	13,133.6840	144	91.2061			
Total	14,245.1048	155				

Diferencias entre concentraciones de sulfato de amonio

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	13	272.2577	20.9429	199.0628
Fila 2	13	167.5688	12.8899	72.4679
Fila 3	13	126.2578	9.7121	45.9421

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F
Entre grupos	871.3420	2	435.6710	4.1169
Dentro de los grupos	3,809.6763	36	105.8243	
Total	4,681.0183	38		

Diferencias entre concentraciones de nitrato de amonio

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	13	210.2757	16.1750	101.5068
Fila 2	13	174.1783	13.3983	89.1127
Fila 3	13	194.2919	14.9455	102.2765

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	50.3348	2	25.1674	0.2577	0.7741	3.2594
Dentro de los grupos	3,514.7539	36	97.6320			
Total	3,565.0888	38				

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Diferencias entre concentraciones de nitrato de potasio

RESUMEN

Grupos Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	13 189.3402	14.5646	104.5042
Fila 2	13 190.3029	14.6386	117.3333
Fila 3	13 159.5705	12.2746	79.2852

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	46.9652	2	23.4826	0.2339	0.7925	3.2594
Dentro de los grupos	3,613.4728	36	100.3742			
Total	3,660.4380	38				

Diferencias entre concentraciones de urea

RESUMEN

Grupos Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	13 201.6830	15.5140	80.0216
Fila 2	13 179.7055	13.8235	61.8115
Fila 3	13 149.7907	11.5223	41.1485

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	104.3772	2	52.1886	0.8556	0.4334	3.2594
Dentro de los grupos	2,195.7808	36	60.9939			
Total	2,300.1580	38				

Diferencias entre fuentes de nitrógeno en la relación C:N 100:20:1

RESUMEN

Grupos Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	13 272.2577	20.9429	199.0628
Fila 2	13 210.2757	16.1750	101.5068
Fila 3	13 189.3402	14.5646	104.5042
Fila 4	13 201.6830	15.5140	80.0216

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	314.6603	3	104.8867	0.8648	0.4658	2.7980
Dentro de los grupos	5,821.1465	48	121.2738			
Total	6,135.8069	51				

Diferencias entre fuentes de nitrógeno en la relación C:N 100:10:0.5

RESUMEN

Grupos Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	13 167.5688	12.8899	72.4679
Fila 2	13 174.1783	13.3983	89.1127
Fila 3	13 190.3029	14.6386	117.3333
Fila 4	13 179.7055	13.8235	61.8115

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	21.3593	3	7.1197	0.0835	0.9686	2.7980
Dentro de los grupos	4,088.7068	48	85.1813			
Total	4,110.0661	51				

Diferencias entre fuentes de nitrógeno en la relación C:N 100:5:0.25

RESUMEN

Grupos Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	13 126.2578	9.7121	45.9421
Fila 2	13 194.2919	14.9455	102.2765
Fila 3	13 159.5705	12.2746	79.2852
Fila 4	13 149.7907	11.5223	41.1485

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	184.1106	3	61.3702	0.9137	0.4413	2.7980
Dentro de los grupos	3,223.8305	48	67.1631			
Total	3,407.9412	51				

Diferencias totales entre fuentes y concentraciones

RESUMEN

Grupos Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	13 272.2577	20.9429	199.0628
Fila 2	13 167.5688	12.8899	72.4679
Fila 3	13 126.2578	9.7121	45.9421
Fila 4	13 210.2757	16.1750	101.5068
Fila 5	13 174.1783	13.3983	89.1127
Fila 6	13 194.2919	14.9455	102.2765
Fila 7	13 189.3402	14.5646	104.5042
Fila 8	13 190.3029	14.6386	117.3333
Fila 9	13 159.5705	12.2746	79.2852
Fila 10	13 201.6830	15.5140	80.0216
Fila 11	13 179.7055	13.8235	61.8115
Fila 12	13 149.7907	11.5223	41.1485

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1,111.4208	11	101.0382	1.1078	0.3593	1.8556
Dentro de los grupos	13,133.6840	144	91.2061			
Total	14,245.1048	155				

pH

Diferencia para sulfato de amonio en el tiempo

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	3	22.5350	7.5116	0.0118
Columna 2	3	22.0350	7.345	0.0049
Columna 3	3	22.2450	7.415	0.0034
Columna 4	3	22.1150	7.3716	0.0036
Columna 5	3	22.6800	7.5600	0.0021

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.1015	4	0.0253	4.8842	0.0191	3.4780
Dentro de los grupos	0.0519	10	0.0051			
Total	0.1535	14				

Diferencia para nitrato de amonio en el tiempo

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	3	22.4650	7.4883	0.0306
Columna 2	3	21.9450	7.3150	0.0049
Columna 3	3	22.0200	7.3400	0.0711
Columna 4	3	22.3050	7.4350	0.0333
Columna 5	3	22.9550	7.6516	0.0404

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.2178	4	0.0544	1.5089	0.2717	3.4780
Dentro de los grupos	0.3608	10	0.0360			
Total	0.5787	14				

Diferencia para nitrato de potasio en el tiempo

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	3	23.7000	7.9000	7.5E-05
Columna 2	3	23.1300	7.7100	0.0192
Columna 3	3	24.1550	8.0516	0.0402
Columna 4	3	23.8000	7.9333	0.1841
Columna 5	3	25.4650	8.4883	0.0201

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1.0148	4	0.2537	4.8089	0.0200	3.4780
Dentro de los grupos	0.5276	10	0.0527			
Total	1.5424	14				

Diferencia para urea en el tiempo

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	3	22.5000	7.5000	0.0078
Columna 2	3	23.3550	7.7850	0.0012
Columna 3	3	24.1700	8.0566	0.0362
Columna 4	3	23.6500	7.8833	0.0139
Columna 5	3	24.5150	8.1716	0.0127

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.8091	4	0.2022	14.0476	0.0004	3.4780
Dentro de los grupos	0.1440	10	0.0144			
Total	0.9531	14				

Diferencias entre fuentes de nitrógeno en la relación C:N 100:20:1

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	5	37.1200	7.4240	0.0181
Fila 2	5	36.8100	7.3620	0.0064
Fila 3	5	39.2850	7.8570	0.1984
Fila 4	5	39.8600	7.9720	0.0876

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1.4024	3	0.4674	6.0204	0.0060	3.2388
Dentro de los grupos	1.2424	16	0.0776			
Total	2.6448	19				

Diferencias entre fuentes de nitrógeno en la relación C:N 100:10:0.5

RESUMEN

Grupos Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	5 37.2800	7.4560	0.0142
Fila 2	5 37.3600	7.4720	0.0188
Fila 3	5 40.3350	8.0670	0.0450
Fila 4	5 39.480	7.8960	0.0674

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1.4127	3	0.4709	12.9419	0.0001	3.2388
Dentro de los grupos	0.5822	16	0.0363			
Total	1.9949	19				

Diferencias entre fuentes de nitrógeno en la relación C:N 100:5:0.25

RESUMEN

Grupos Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	5 37.2100	7.4420	0.0053
Fila 2	5 37.5200	7.5040	0.1055
Fila 3	5 40.6300	8.1260	0.0921
Fila 4	5 38.8500	7.7700	0.0571

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1.4545	3	0.4848	7.4506	0.0024	3.2388
Dentro de los grupos	1.0412	16	0.0650			
Total	2.4957	19				

Diferencia entre concentraciones para sulfato de amonio

RESUMEN

Grupos Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	537.1200	7.4240	0.0181
Fila 2	537.2800	7.4560	0.0142
Fila 3	537.2100	7.4420	0.0053

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.0025	2	0.0012	0.1022	0.9035	3.8852
Dentro de los grupos	0.1509	12	0.0125			
Total	0.1535	14				

Diferencia entre concentraciones para nitrato de amonio

RESUMEN

Grupos Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	536.8100	7.3620	0.0064
Fila 2	537.3600	7.4720	0.0188
Fila 3	537.5200	7.5040	0.1055

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.0554	2	0.0277	0.6362	0.5462	3.8852
Dentro de los grupos	0.5232	12	0.0436			
Total	0.5787	14				

Diferencia entre concentraciones para nitrato de potasio

RESUMEN

Grupos Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	539.2850	7.8570	0.1984
Fila 2	540.3350	8.0670	0.0450
Fila 3	540.6300	8.1260	0.0921

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.1999	2	0.0999	0.8933	0.4348	3.8852
Dentro de los grupos	1.3425	12	0.1118			
Total	1.5424	14				

Diferencia entre concentraciones para urea

RESUMEN

Grupos Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	539.8600	7.9720	0.0876
Fila 2	539.4800	7.8960	0.0674
Fila 3	538.8500	7.7700	0.0571

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.1040	2	0.0520	0.7355	0.4996	3.8852
Dentro de los grupos	0.8490	12	0.0707			
Total	0.9531	14				

HTP

Diferencias entre tiempo inicial y final

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	12	443,212.3770	36,934.3648	9'030,349.3100
Columna 2	12	229,006.5970	19,083.8831	11'355,446.1000

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1,911'838,172	1	1,911'838,172	187.5657	3.0193E-12	4.3009
Dentro de los grupos	224'243,749	22	10'192,897			
Total	2,136'081,922	23				

Diferencias entre concentraciones para urea

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	5	148,822.6440	29,764.5288	59'448,879
Fila 2	5	135,404.0230	27,080.8045	106'536,189
Fila 3	4	112,705.0670	28,176.2667	218'436,655

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	18'179,404	2	9'089,702	0.0757	0.9274	3.9823
Dentro de los grupos	1,319'250,238	11	119'931,840			
Total	1,337'429,643	13				

Diferencias entre concentraciones para nitrato de potasio

RESUMEN

Grupos Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	5 131,922.5410	26,384.5082	82'473,511
Fila 2	5 112,192.8350	22,438.5670	84'899,945
Fila 3	5 125,299.6550	25,059.9311	132'157,202

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	40'327,510	2	20'163,755	0.2019	0.8198	3.8852
Dentro de los grupos	1,198'122,636	12	99'843,553			
Total	1,238'450,146	14				

Diferencias entre concentraciones para sulfato de amonio

RESUMEN

Grupos Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	4 110,431.2580	27,607.8144	156'742,746
Fila 2	5 133,059.8310	26,611.9661	96'096,174
Fila 3	5 134,318.1620	26,863.6324	163'079,967

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2'320,986	2	1'160,493	0.0084	0.9915	3.9823
Dentro de los grupos	1,506'932,802	11	136'993,891			
Total	1,509'253,789	13				

Diferencias entre concentraciones para nitrato de amonio

RESUMEN

Grupos Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	5 118,539.5630	23,707.9126	260'874,284
Fila 2	5 115,051.9700	23,010.3939	249'964,674
Fila 3	5 135,840.2990	27,168.0599	266'539,157

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	49'575,562	2	24'787,781	0.0956	0.9094	3.8852
Dentro de los grupos	3,109'512,459	12	259'126,038			
Total	3,159'088,022	14				

Diferencias entre fuentes de nitrógeno en la relación C:N 100:20:1

RESUMEN

Grupos Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	5 148,822.6440	29,764.5288	59'448,879
Fila 2	5 131,922.5410	26,384.5082	82'473,511
Fila 3	4 110,431.2580	27,607.8144	156'742,746
Fila 4	5 118,539.5630	23,707.9126	260'874,284

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	95'206,585	3	31'735,528	0.2287	0.8749	3.2873
Dentro de los grupos	2,081'414,935	15	138'760,996			
Total	2,176'621,520	18				

Diferencias entre fuentes de nitrógeno en la relación C:N 100:10:0.5

RESUMEN

Grupos Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	5 135,404.0230	27,080.8045	106'536,189
Fila 2	5 112,192.8350	22,438.5670	84'899,945
Fila 3	5 133,059.8310	26,611.9661	96'096,174
Fila 4	5 115,051.9700	23,010.3939	249'964,674

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	86'317,487	3	28'772,495	0.2141	0.8851	3.2388
Dentro de los grupos	2,149'987,928	16	134'374,245			
Total	2,236'305,415	19				

Diferencias entre fuentes de nitrógeno en la relación C:N 100:5:0.25

RESUMEN

Grupos Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Fila 1	4 112,705.0670	28,176.2667	218'436,655
Fila 2	5 125,299.6550	25,059.9311	132'157,202
Fila 3	5 134,318.1620	26,863.6324	163'079,967
Fila 4	5 135,840.2990	27,168.0599	266'539,157

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	23'356,647	3	7'785,549	0.0402	0.9887	3.2873
Dentro de los grupos	2,902'415,272	15	193'494,351			
Total	2,925'771,919	18				