



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

**“BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON
HIDROCARBUROS DE LA PARROQUIA TARACOA EN
FRANCISCO DE ORELLANA, MEDIANTE EL HONGO *Pleurotus
ostreatus*”**

**Trabajo de titulación presentado para optar el grado académico de:
INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

AUTOR: SIMBAÑA CAZAR CARLOS JULIO

TUTOR: DR. IVÁN RAMOS

Riobamba-Ecuador

2016

© 2016 Carlos Julio Simbaña Cazar

Se utiliza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Titulación: **“BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS DE LA PARROQUIA TARACOA EN FRANCISCO DE ORELLANA, MEDIANTE EL HONGO *Pleurotus Ostreatus*”**, de responsabilidad del señor Carlos Julio Simbaña Cazar ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, quedando autorizado su presentación.

NOMBRE

FIRMA

FECHA

Dr. Iván Ramos

.....

DIRECTOR TRABAJO DE TITULACIÓN

Ing. Juan González

.....

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Carlos Julio Simbaña Cazar, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación

Riobamba, 24 de marzo del 2016

.....

Carlos Julio Simbaña Cazar

C.I. 2200118566

Yo, Carlos Julio Simbaña Cazar soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en el trabajo de titulación y el patrimonio intelectual del trabajo de titulación pertenece a la Escuela Superior Politécnica De Chimborazo

CARLOS JULIO SIMBAÑA CAZAR

C.I. 2200118566

DEDICATORIA

A mis padres que siempre me han apoyado, y han estado allí en todo momento dándome lo mejor de ellos y su valioso sacrificio, este logro es para ellos también.

Carlos

AGRADECIMIENTO

Primeramente a Dios por haberme regalado el don más hermoso que es la vida y haber podido seguir adelante gracias a su gracia.

A mi madre, Olivia Cazar quien siempre me ha brindado lo mejor de ella y ha estado allí en todo momento de mi vida, dándome consejos, motivándome, regalándome alegrías y felicidad en todo momento.

A mi padre, Carlos Simbaña por su gran apoyo en todo aspecto, y que siempre ha estado pendiente de mí, procurando que no haya necesidad en ningún aspecto, por darme palabras de aliento, y siempre regalarme sus sabios consejos.

A toda mi familia en general por brindarme la confianza, que es una motivación muy profunda en mí ser

A la Escuela Superior Politécnica De Chimborazo por darme la oportunidad de obtener mi título profesional y haber enriquecido con conocimiento por medio de sus excelentes docentes

Al Dr. Iván Ramos por haberme brindado su amistad y haber seguido de cerca mi proyecto de titulación otorgándome su apoyo en la realización del mismo.

Al Ing. Juan Carlos González por haber colaborado de gran manera respecto a mi trabajo de titulación.

A la junta parroquial de Taracoa por darme la oportunidad de desarrollar mi trabajo de titulación en sus emplazamientos.

Carlos

TABLA DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE GRÁFICOS	x
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
SUMMARY	xv
CAPÍTULO I	
INTRODUCCIÓN	1
1.1.- Identificación del problema	1
1.2.- Justificación de la investigación	2
1.3.- Objetivos de la investigación.....	3
1.3.1.- Objetivo general:	3
1.3.2.- Objetivos específicos:	3
CAPÍTULO II	
MARCO TEÓRICO.....	4
2.1.- Antecedentes de la investigación.....	4
2.2.- Marco conceptual.....	8
2.2.1.- La contaminación.....	8
2.2.2.- Contaminación del agua.....	9
2.2.3.- Contaminación atmosférica	9
2.2.4.- Contaminación del suelo.....	10
2.2.5.- Contaminación por hidrocarburos	14
2.2.6.- Recuperación del suelo	16
2.2.7.- Biorremediación	18
2.2.8.- Biorremediación de hidrocarburos por hongos.....	24
2.2.9.- Reino Fungi	25
2.2.10.- <i>Pleurotus ostreatus</i>	27
2.2.11.- Marco legal	30
CAPÍTULO III	
METODOLOGÍA	31
3.1.- Hipótesis y especificación de variables	31
3.1.1.- identificación de variables	31
3.1.2.- Hipótesis	31

3.2.- Tipo y diseño de la investigación	32
3.2.1.- Esquema del proceso	32
3.2.2.- Distribución de las unidades experimentales	33
3.3.- Unidad de análisis	33
3.4.- Población de estudio	33
3.5.- Tamaño de la muestra	33
3.6.- Selección de muestra	33
3.6.1.- Toma de muestra y caracterización del suelo	33
3.7.- Técnicas de recolección de datos	35
3.7.1.- Lugar	35
3.7.2.- Ubicación:	36
3.7.3.- Ubicación del área contaminada	36
3.7.4.- Diseño aplicado	37
3.7.5.- Lugar de la investigación	37
3.7.6.- Materiales	37
3.8.- Proceso experimental	38
3.8.1.- Obtención del micelio <i>Pleurotus ostreatus</i>	38
3.8.2.- Adecuación del trigo	39
3.8.3.- Inoculación en el trigo	40
3.8.4.- Pruebas por tratamiento	41
CAPÍTULO IV	
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
4.1.- Análisis de resultados	48
4.1.1.- Caracterización del suelo	48
4.1.2.- Obtención del micelio	50
4.1.3.- Desarrollo en el trigo	51
4.1.4.- Pruebas por tratamiento	51
4.2.- Prueba de hipótesis	55
4.2.1. Planteamiento de la hipótesis	55
4.2.2.- Decisión	55
4.3.- Discusión de resultados	58
CONCLUSIONES	60
RECOMENDACIONES	61
GLOSARIO	
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-2: Horizontes del suelo	12
Gráfico 2-2: Reino Fungi	26
Gráfico 1-3: Esquema del proceso	32
Gráfico 2-3: Mapa de la parroquia Taracoa	35
Gráfico 1-4: Concentración de TPHs de acuerdo a la profundidad	49
Gráfico 2-4: Comparación de barras TUKEY.....	56
Gráfico 3-4: Nivel de reducción de TPHs con el tratamiento C	57
Gráfico 4-4: Nivel de reducción de TPHs con el tratamiento A	57
Gráfico 5-4: Nivel de reducción de TPHs con el tratamiento B	58

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1-2: Derrame de petróleo.....	15
Fotografía 2-2: <i>Pleurotus ostreatus</i> hábitat.....	28
Fotografía 1-3: Calicata a 1 m de profundidad	34
Fotografía 2-3: Inoculación en cajas petri.....	39
Fotografía 3-3: Esterilización de botellas de vidrio	39
Fotografía 4-3: Botellas con trigo	40
Fotografía 5-3: Cajas petri con micelio <i>P.Ostreatus</i>	41
Fotografía 6-3: Tratamiento térmico.....	42
Fotografía 7-3: Mixtura.....	43
Fotografía 8-3: Bagazo de caña.....	44
Fotografía 9-3: Inóculo con <i>P.Ostreatus</i> en suelo contaminado.....	44
Fotografía 10-3: Celda con mixtura	45
Fotografía 11-3: Inoculación en cacao con <i>P. Ostreatus</i>	46
Fotografía 12-3: Condiciones controladas en invernadero	47
Fotografía 1-4: Cuerpo fructífero <i>P.Ostreatus</i>	50
Fotografía 2-4: Desarrollo del micelio <i>P.Ostreatus</i>	50
Fotografía 3-4: Desarrollo del micelio en botellas de vidrio	51
Fotografía 4-4: Adaptación del micelio al suelo contaminado y arveja.....	52
Fotografía 5-4: Micelio en suelo contaminado y bagazo de caña	52
Fotografía 6-4: Micelio en suelo contaminado y cacao	53
Fotografía 7-4: Cuerpo fructífero <i>P.Ostreatus</i> en suelo contaminado	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2: Densidad de derivados del petróleo	16
Tabla 2-2: Condiciones adecuada para el crecimiento del hongo <i>P.Ostreatus</i>	29
Tabla 3-2: Tabla 6 - Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicios	30
Tabla 1-3: Parámetros a determinar en la caracterización del suelo	35
Tabla 2-3: Descripción de la parroquia Taracoa	36
Tabla 1-4: Resultados de la caracterización del suelo	48
Tabla 2-4: Resultados de TPHs del muestreo por calicatas	49
Tabla 3-4: Condiciones para el desarrollo del <i>P.ostreatus</i>	54
Tabla 4-4: Resultados de análisis de TPHs	54
Tabla 5-4: Resultados cuadro Anova	55
Tabla 6-4: Resultados método de TUKEY	55
Tabla 7-4: Representación jerárquica de los porcentajes de degradación	56

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A: Área contaminada

Anexo B: Hidrocarburos en el suelo

Anexo C: Toma de muestra compuesta

Anexo D: Secado de sustratos

Anexo E: Pesaje se trigo con *P.Ostreatus*

Anexo F: *Pleurotus ostreatus* en nuevo sustrato

Anexo G: *Pleurotus ostreatus* en suelo contaminado

Anexo H: Cuerpo fructífero *P.Ostreatus* en suelo contaminado

Anexo I: Remojo de sustrato

Anexo J: Trigo invadido por *P.Ostreatus*

Anexo K: *P. Ostreatus* en sustrato sin suelo contaminado

Anexo L: *P.Ostreatus* en pleno desarrollo

Anexo M: *P.Ostreatus* en su máximo desarrollo (etapa de reproducción)

Anexo N: Observación de las características del sustrato

Anexo Ñ: Información nutricional *P.Ostreatus*

Anexo O: Resultados de los análisis de caracterización del suelo

Anexo P: Resultados de los análisis por tratamiento

RESUMEN

Se desarrolló la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos mediante el hongo *Pleurotus ostreatus*. Las actividades hidrocarburíferas generan un importante impacto negativo en el ambiente al no ser realizadas adecuadamente, siendo el suelo uno de los medios mayoritariamente susceptibles a sufrir contaminación por hidrocarburos. Se llevó a cabo el proceso en los laboratorios de biotecnología de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en la ciudad de Riobamba, la técnica de biorremediación fue por biopilas, misma que inició con la obtención de la cepa del hongo *Pleurotus ostreatus*, y consecuente inoculación en el trigo como sustrato inicial, una vez invadido el trigo por el micelio del hongo se inoculó sobre el suelo contaminado acondicionado con un sustrato específico. Los sustratos para la adecuación del suelo fueron; arveja, bagazo y cacao constituyéndose en tratamientos A, B, C respectivamente. Los tres tratamientos fueron replicados y colocados en celdas individuales con capacidad de 2 kg dando un total de 9 unidades experimentales. Se aplicó un diseño completamente al azar (DCA-ANOVA) con la finalidad de determinar si existe diferencia significativa entre tratamientos y modelo estadístico TUKEY para encontrar el tratamiento más adecuado. Los resultados luego de las 6 semanas de tratamiento mostraron que el tratamiento C redujo los TPHs hasta en un 92,11% disminuyendo su concentración desde 10051,52 ppm hasta 792,62 ppm, el tratamiento A, redujo los TPHs en un 85,14% desde 10051,52 ppm hasta 1493,89 ppm, mientras que el tratamiento B, redujo los TPHs en un 76,2% desde una concentración de 10051,52 ppm hasta 2399,72 ppm. Por ende se determinó que los tratamientos (A, B, C) fueron muy eficaces en la degradación de hidrocarburos totales de petróleo, considerando al hongo *Pleurotus ostreatus* como un excelente organismo biorremediador y cuyo estudio abre puertas hacia métodos de biorremediación más eficaces y menos costosos.

Palabras clave: <BIORREMEDIACIÓN>, <SUELOS CONTAMINADOS>, <HIDROCARBUROS>, <HONGO [*Pleurotus ostreatus*]>, <SUSTRATOS>, <BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL>

SUMMARY

Bioremediation of contaminated soils with hydrocarbons was developed by the fungus *Pleurotus ostreatus*. Hydrocarbons activities generate a significant negative impact on the environment not being carried out properly, the soil being one means mostly susceptible to oil pollution by hydrocarbons. The bioremediation process was carry out in the biotechnology laboratories at the Escuela Superior Politécnica de Chimborazo in the Riobamba city, technique bioremediation was by biopiling same initiated with obtaining the fungal strain *Pleurotus ostreatus*, and subsequent inoculation in wheat as initial substratum, once invaded wheat by the fungus mycelium was inoculated on contaminated soil conditioning a specific substrate. Substrates for soil suitability were; peas, bagasse and cocoa becoming treatments A, B, C respectively. The three treatments were replicated and placed in individual cells with capacity of 2 kg for a total 9 experiments units. A completely randomized design (DCA-ANOVA) in order to determine whether there is significant difference between treatments and TUKEY statistical model to find the most appropriate treatment was applied. The results after 6 weeks of treatment showed that the treatment C reduced the TPH up to 92,11% decreasing concentration from 10051,52 ppm to 792,62 ppm, treatment A, reduced TPH in a 85% from 10051,52 ppm to 1493,89 ppm, while treatment B, reduced TPH in a 76,2 % from 10051,52 ppm to 2399,72 ppm. Thus it was determined that the treatments (A, B, C) were very effective in degradation of total petroleum hydrocarbons considering the fungus *Pleurotus ostreatus* as an excellent bioremediator organism whose study opens doors to more effective costly methods of bioremediation.

Keywords: <BIOREMEDIATION>, <CONTAMINATED SOILS>, <HYDROCARBONS>, <FUNGUS [*Pleurotus ostreatus*]>, <SUBSTRATUM>, <ENVIRONMENTAL BIOTECHNOLOGY>

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1.- Identificación del problema

Los diferentes procesos industriales, domésticos, agrícolas, y actividades realizadas por el hombre generan impactos negativos sobre el ambiente. Una de las mayores problemáticas de contaminación ambiental se debe al inadecuado proceso de las actividades hidrocarburíferas.

En Ecuador se ve reflejado este problema en el Oriente donde se realiza la explotación del petróleo, en cuyas cercanías existen poblaciones que se han visto afectadas a causa de los derrames, la mala disposición e inadecuado tratamiento de los suelos contaminados.

La parroquia Taracoa perteneciente al cantón Francisco de Orellana en la provincia de Orellana es un ejemplo palpable de ello, a través de la cual cruzan las tuberías del oleoducto transecuatoriano, a lo largo de fincas, caminos, carreteras y poblados. Este escenario ha sido el causal de varios derrames de petróleo dando lugar a la generación de pasivos ambientales, los cuales afectan la calidad del agua, suelo, aire, y el deterioro de los ecosistemas.

El área donde se presenta la contaminación es de características franco-arenosa-arcillosa, la cual tiene influencia en la retención de contaminantes, además de la pérdida de vegetación en el lugar contaminado y traspaso de contaminantes desde el suelo a distintos lugares por las escorrentías que tiene el lugar, abarcando mayor proporción por contaminación, llegando incluso hacer absorbidos por los pastos los cuales sirven de alimento para el ganado de ciertas familias del lugar.

En el momento que los hidrocarburos entran en interacción con el ambiente provocan cambios en su estructura natural, como es el; aumento de la retención de agua (sedimentos), potencial hídrico, aumento de ácidos orgánicos etc.

Sobre los seres humanos, los derivados del petróleo presentan efectos cancerígenos y afectación a los sistemas orgánicos funcionales como los pulmones, aparato digestivo y el sistema nervioso.

1.2.- Justificación de la investigación

Debido a la contaminación por hidrocarburos existente en los suelos de Taracoa y consecuente generación de pasivos ambientales, los cuales son complejos y complicados de tratar por sus características físico químicas, elevados costos de control y mantenimiento, es necesario determinar un método de tratabilidad alternativo para aliviar esta problemática.

Por lo cual se establece la realización de un tratamiento utilizando el hongo *Pleurotus ostreatus* como potencial biorremediador de suelos contaminados por hidrocarburos, debido a su metabolismo mucho más desarrollado que el de las plantas, y a la generación de enzimas como; Lacasa, LiP, MnP, las cuales son altamente efectivas en la degradación de los compuestos tóxicos de estructura similar a la lignina.

De esta forma se plantea un método de biorremediación mediante la utilización del hongo *Pleurotus ostreatus* diferente a las técnicas convencionales de biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos, ya que al no existir tratabilidad de hidrocarburos en los suelos, los riesgos hacia el ambiente y la salud siguen latentes debido a su capacidad tóxica y permanencia.

El proceso de biorremediación por *Pleurotus ostreatus* presentan muchas ventajas debido a su fácil aplicación y bajos costes, de igual forma permite la utilización de sustratos lignocelulósicos que la mayoría de las veces son desechados sin aprovecharlos, generando su acumulación en el ambiente.

Las técnicas de biorremediación mediante utilización de hongos han sido optimizadas con el paso del tiempo, debido a su potencial degradativo frente a estructuras toxicas, “existe gran variedad de hongos utilizados en los proceso de biorremediación, como son; *Pleurotus Ostreatus*, *Pleurotus Eryngii*, *Trametes Versicolor*, *Bjerkandiella*”

Los hongos poseen la premisa de incluir una alta capacidad de adaptación en distintos medios, naturaleza descomponedora y resistencia a condiciones ambientales, lo cual favorece su uso en la biorremediación.

1.3.- Objetivos de la investigación

1.3.1.- Objetivo general:

- Biorremediar el suelo contaminado con hidrocarburos de la parroquia Taracoa en Francisco de Orellana, mediante el hongo *Pleurotus ostreatus*.

1.3.2.- Objetivos específicos:

- Caracterizar el suelo contaminado con hidrocarburos de petróleo.
- Determinar el método de cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* para su desarrollo en el suelo contaminado.
- Desarrollar el proceso de biorremediación del suelo contaminado.
- Evaluar el proceso de biorremediación en el suelo contaminado.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1.- Antecedentes de la investigación

Existen investigaciones relevantes sobre la aplicación de hongos en la degradación de contaminantes, como las realizadas por (BASIDIOMYCETE, P. O. L. E. F., & ON, F. 2006, pp. 61-67) en la cual se menciona la capacidad de los hongos para producir complejos enzimáticos de tipo oxidativa contra una serie de sustancias tóxicas recalcitrantes como; explosivos, compuestos aromáticos, plaguicidas entre otros, que contaminan el suelo y agua.

La investigación realizada indica la capacidad para producir enzimas ligninolíticas como son manganosa peroxidasa (MnP) y lignina peroxidasa (LiP) en cultivos correspondientes de hongos *Bjerkandera adusta* y *Phanerochaete chrysosporium* sobre tres distintos tipos de sustratos lignocelulósicos.

Conformados por el compost de jardinería, carozo de maíz y viruta de madera, lo cual dio resultados notables, mostrando que la madera permite alcanzar los mayores títulos de la enzima manganosa peroxidasa con cifras de 5,0 U/g de material seco cuando se cultiva con *Bj. Adusta*, y 1,3 U/g de material seco con *P. chrysosporium*, a diferencia del carozo de maíz, con el cual se tiene las mejores actividades de lignina peroxidasa.

Se encuentra también la investigación realizada por los autores (Pernía, B. et al. 2012, pp 1-40) la cual menciona la capacidad metabólica que tienen los distintos tipos de hongos para biotransformar compuestos tóxicos del petróleo.

Los resultados muestran que del total de hongos aislados desde hidrocarburos y sustratos impactados por contaminantes, el 83% pertenecen al *Phylum Ascomycota*, 10% al *Phylum Zygomycota*, 6% al *Phylum Glomeromycota* y 1% al *Phylum Basidiomycota*.

Los géneros de mayor frecuencia fueron *Penicillium* (18%), *Aspergillus* (17%) y *Fusarium* (6%). En función del porcentaje de degradación de hidrocarburos totales de petróleo (TPH), el grupo que presentó mayor degradación es el formado por los géneros *Phanerochaete*, *Coriolus*, *Trametes*, *Pleurotus*, *Bjerkandera*, *Rhizopus*, *Emmerliella* y *Aspergillus* (TPH: 52±3.53) y, con

respecto a las fracciones de saturados y aromáticos del crudo, los grupos formados por los géneros *Phanerochaete*, *Corioloopsis*, *Trametes*, *Pleurotus*, *Emerciella*, *Fusarium* y *Beauveria* (74.43±3.40%) y *Trametes*, *Pleurotus*, *Fusarium* y *Corioloopsis* (97.75 ± 2.25%), respectivamente.

(Déley, R. 2010) desarrolló la investigación sobre biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos utilizando el hongo *Pleurotus ostreatus*, en la cual se realizó una inoculación con masa fúngica en concentraciones del 0,25; 0,5; 0,75; 1,0 g en 3000 g de sustrato respectivamente para muestras esterilizadas y concentraciones de 4, 7, 11, 17 % en volumen de inóculo para muestras no esterilizadas

Luego de haber transcurrido el proceso de biorremediación se obtuvieron valores de degradación del 94,5 – 97,5 % de TPHs en un periodo de dos meses en los medios esterilizados, mientras que para las muestras no esterilizadas se alcanzaron valores de degradación del 95,2%- 96,7% de TPHs en el mismo intervalo de tiempo. Para ambos casos se evidenció un crecimiento tardío del micelio en el medio contaminado con hidrocarburos.

(Camacho Martínez, F, 2013) realizó la investigación sobre biorremediación de zonas contaminadas por hidrocarburos con hongos comestibles, efecto del antraceno sobre el crecimiento in-vitro de *Pleurotus ostreatus*. Para este estudio se cultivó el hongo *P.ostreatus* (CP-50) en presencia del antraceno, dicha cepa se cultivó en tres condiciones 1) Agar con Extracto de Malta (EMA), CP-50 y antraceno (tratamiento); 2) EMA y CP-50 (testigo) y 3) EMA y antraceno (blanco), utilizando cuatro concentraciones de antraceno por caja petri (0.05, 0.1, 0.2 y 0.4 g).

Los resultados mostraron diferencia significativa entre los tratamientos, el testigo con el que se comparó el tratamiento de 0,05 de antraceno mostro la colonización más rápida en días con 62,69 cm², mientras que el tratamiento de 0,05 fue de 58,34 cm², presentando un 5,96% de diferencia.

La mayor producción de proteína fue con el tratamiento de 0,05 de antraceno, generando 53,90 ugml⁻¹, representando un 7,41 % más que el testigo. La mayor producción de Lacasas se obtuvo a la más elevada concentración de antraceno de 0,4g con un 23,27% más de enzima que el testigo

(Gayosso Canales, M., et al. 2007) desarrollaron una evaluación sobre la actividad enzimática de *P. ostreatus* en presencia de Bifenilos, este proceso mostro el efecto de los Bifenilos Policlorados (BPC) sobre la actividad enzimática de *Pleurotus ostreatus* en cultivo líquido.

Los resultados mostraron que la presencia de Tween 80 mejora la solubilidad de los BPC haciéndolos biodisponibles, sin embargo la concentración favorable de surfactante es de 13 mg/l.

La enzima VP se activó por la presencia de BCP, ya que se alcanzaron los mayores valores en su presencia, obteniendo una actividad enzimática superior a los 4, 12, 16 y 20 días de incubación. La presencia de BCP modifica el efecto de las condiciones de cultivo sobre la actividad de MnP, ya que en ausencia del tóxico, la actividad solo fue afectada por el tiempo de incubación

En el caso de la Lacasa hubo una producción más tardía con el tóxico, requiriendo un periodo de 20 días para dicha producción, a diferencia de una producción de Lac en un medio con ausencia de BCP, en el cual solo requiere 12 días.

(Sánchez, José E, et al, 2011) realizaron la investigación sobre degradación del insecticida edosulfan a partir de los residuos lignocelulóticos dejados por el *Pleurotus ostreatus*, se estudió el crecimiento de varias cepas de hongo en medio solido con dicho insecticida.

Luego del tratamiento se obtuvo un crecimiento de las cepas en el medio con insecticida, sin embargo existió alteración de la velocidad de crecimiento. La cepa que presento mayor capacidad degradativa fue el *P. pulmonaris*, con un porcentaje del 98.8%.

(Enríquez, Chuquín, A, 2013). Realizaron el estudio sobre la viabilidad de crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* aplicado en Inóculo líquido para uso en biorremediación, la presente investigación fue de carácter experimental, la cual utilizo 9 sustratos, y condiciones controladas.

A lo largo del tratamiento se obtuvieron cantidades de biomasa variante, la formación de pellets se formó tan solo a los 6 días, a diferencia de otros que necesitaron de un tiempo mayor de 27 días.

El efecto del procedimiento indicó una reducción de hidrocarburos de petróleo en los tratamientos T1 U1 con 90 % de eficiencia, T1 U2 88 %, T1 U3 92 %, T2 U1 91 %, T2 U2 87 % T2 U3 97 %, respectivamente, cuyos valores se ubican dentro de la norma.

(Cerrato, Ronald Ferrera, et al, 2007) desarrollaron la investigación sobre la capacidad que presenta el hongo del genero *Pleurotus* para crecer en suelos con diferentes concentraciones de petróleo, se probó el potencial con ocho cepas de *P. ostreatus* y nueve de *P. djamor*.

Los resultados mostraron que las diecisiete cepas expresaron un crecimiento micelial en los medios de cultivo. Sin embargo en el medio contaminado la velocidad de crecimiento fue menor, en relación a la cepa de *P. djamor*, la ECS fue la más sobresaliente presentando el 80% del crecimiento. En el caso del *P. ostreatus* las cepas más sobresalientes fueron CA, SK las cuales mostraron un porcentaje de crecimiento del 93 y 91 % respectivamente.

El efecto fue evaluado en suelos contaminados con la adición del 15% de la paja incorporada en macetas con suelos con una concentración de a 0, 25,000 y 45,000 mg/l de petróleo crudo, los hongos en los suelos tuvieron la capacidad de formar cuerpos fructíferos a la concentración más inferior, sin embargo la coloración que presentaron los mismos fue café oscuro, a diferencia del color gris característico del *P.ostreatus*.

(Robles-Hernández, Loreto, et al. 2008) llevaron a cabo una revisión de degradación de contaminantes ambientales por basidiomicetos de la pudrición blanca. Esta revisión se enfoca en los contaminantes más comunes y el papel de los hongos sobre la degradación de los contaminantes orgánicos.

Los resultados indicaron que los hongos de pudrición blanca mostraron un mineralización de varios de los contaminantes ambientales como el 1, 1,1-trichloro-2,2-bis (4-chlorophenyl) ethane (DDT), el 2, 4, 6-Trinitrotolueno (TNT); bifenil policlorinados (PCB's); hidrocarburos policlónicos aromáticos (PAH's).

(Díaz, Juan Carlos Quintero , 2011) efectuaron un revisión relativa a la degradación de plaguicidas mediante los hongos de pudrición blanca, los cuales se caracterizan por la capacidad de degradar y mineralizar la lignina empleado un consecuente sistema enzimático extracelular compuesto por lignino-peroxidasa(LiP), manganeso peroxidasa(MnP) y Lacasa.

De los estudios realizados se encuentran que los plaguicidas no siempre responde al proceso degradativo de las enzimas lignilíticas. En el caso del insecticida DDT a través de los hongos de pudrición blanca se han alcanzado valores de degradación de 30% - 90% y un grado de mineralización entre 5,3 - 30%.

Los compuestos organofosforados como los clorpirifos alcanzaron porcentajes de mineralización del 27,35 % por medio del *P. chrysosporium*, mientras que los hongos *Hypholoma fasciculare* y *Coriolus Versicolor* mostraron capacidad de degradar clorpirifos en un 29% y 36%. El mecanismo lignilítico muestra que interviene en la degradación de un número importante de xenobióticos como los HAPs, tintes y ciertos plaguicidas, sin embargo

su potencial oxidativo tiene una limitación en varios compuestos, estos compuestos deben presentar un potencial de oxidación inferior a 8,0 eV, para poder ser oxidados por los hongos

(Domínguez, Osmel, et al. 2010) realizaron la investigación sobre la degradación de DDT por dos cepas nativas de hongos de podredumbre blanca. Este trabajo utilizó dos cepas de hongos de podredumbre blanca, *Ganoderma Zonatum* B-18 y *Trametes Maxima* MUCL 44155, en un medio kimura con adición de diferentes concentraciones de DDT (5, 10, 15).

Los resultados revelaron que las cepas *Trametes máxima* (MUCL 44155) y *Ganoderma zonatum* (B-18) mostraron elevada capacidad degradativa sobre el DDT en un porcentaje del 93% y 73% respectivamente, ubicándose metabolitos únicamente en los cultivos de *G. zonatum*

Las enzimas Lac y MnP de *Trametes máxima* y *Ganoderma zonatum* fueron inducidas en presencia de DDT a cada una de las concentraciones de ensayo, encontrándose actividad ligninolítica en tan solo 9 días de la fermentación.

2.2.- Marco conceptual

2.2.1.- La contaminación

La contaminación hace referencia a la presencia de cualquier agente físico, químico o biológico en el ambiente, los cuales afectan el equilibrio natural, generando el deterioro de la calidad de vida y el medio ambiente. La contaminación puede provenir desde diferentes fuentes, sean estas naturales o antropogénicas, siendo estas últimas las que mayor efectos adversos han generado debido a su variable y tóxica composición. Generalmente están formadas por gases tóxicos, polvos, humos, derivados del petróleo, y todo proceso derivado de actividades humanas.

Lo que ha provocado el aumento de los niveles de contaminación es el desarrollo de las actividades industriales y la integración de diferentes tecnologías no seguras en el entorno, las cuales influyen relevantemente en el equilibrio de los ecosistemas y del mismo ser humano.

2.2.1.1.- Tipos de contaminación

De los diferentes tipos de contaminación que existe, se destaca; la contaminación del aire, agua, y suelo, debido al soporte único para la vida que estos elementos otorgan, y la importante relación que presentan por su conexión en los ecosistemas. Un hecho que aumenta la peligrosidad de contaminación es la propagación de contaminantes desde un elemento a otro,

como puede ser el traspaso de contaminantes desde el suelo al agua (Pamela, 2010, <http://contaminacion-suelos-agua.blogspot.com>).

2.2.2.- Contaminación del agua

El agua tiene la característica de presentarse en diferentes estados, siendo estos; sólidos, líquido y gaseoso, a su vez que suele encontrarse en equilibrio por procesos de precipitación, escorrentía, fenómenos de transpiración y evaporación.

El fenómeno de transpiración se realiza por medio de las plantas, las cuales liberan a través de sus pequeños poros conocidos como estomas el exceso de agua que posee. Los estomas a su vez interactúan también como intercambiadores de oxígeno y CO₂ en la fotosíntesis.

El agua no solo es vital en procesos naturales, sino también para uso del hombre, por su indispensable necesidad hacia los mismos, por lo cual es importante tener en cuenta que un volumen aproximado de 500.000 km³ circulan al año por actuaciones humanas.

Estas actividades humanas influyen en el ciclo del agua. Otros márgenes de contaminación están relacionados con el aprovechamiento de aguas superficiales y subterráneas como son; creación de canales, embalses, excavación de pozos, entre otros. El ciclo del agua revela ciertos aspectos relevantes relacionados a la contaminación antropogénica.

Haciendo referencia a ello se encuentra el hecho de que la contaminación puede extenderse a lo largo de diferentes zonas, debido a la dispersión de la contaminación como puede ser el traspaso de elementos antropogénicos desde aguas superficiales hacia las aguas subterráneas, así también desde aguas fluviales a las aguas del océano, otro aspecto es la contaminación directa del suelo, por su relación existente, como es la lluvia ácida.

2.2.3.- Contaminación atmosférica

La contaminación atmosférica es la incorporación de materias sólidas, líquidas, gaseosas o radiaciones, generando una alteración a la composición natural de la atmósfera, la contaminación atmosférica no solo hace referencia a aquellos agentes conocidos convencionalmente como son las sustancias materiales, sino que abarca también radiaciones distintas a las naturales, y el hecho de que compuestos propios de la atmósfera también pueden ser contaminantes dependiendo del grado de concentración del mismo que exista, como son CO, NO_x, SO_x, y gases en general que forman parte de la atmósfera.

Dependiendo de la fuente, la contaminación del aire puede ser natural o antropogénica, en el primer caso se hace referencia a procesos naturales como; erupciones volcánicas, incendios por elevadas temperaturas, meteoritos y casos similares, mientras que la contaminación antropogénica tiene relación con las acciones del hombre como son; combustiones, procesos industriales, transporte y actividades humanas en general.

La contaminación antropogénica tiene gran efecto sobre la contaminación atmosférica debido a su desarrollo a gran escala y características que presenta, una de estas características, es el hecho de presentarse como localizada, determinándose que en el lugar donde se origina la emisión generalmente muestra una mayor alteración, otra característica es la generación de emisiones en lugares donde la presencia de sumideros existentes es menor, como zonas industriales, urbanas, emplazamientos con materiales de construcción, asfaltos y actividades humanas, dichos emplazamientos han sustituidos a la vegetación, la cual podría actuar como sumidero.

La climatología también juega un papel importante respecto a la contaminación atmosférica, esto debido a su influencia en la dilución de contaminantes, ya que esta suele variar en diferentes partes del mundo, así como en épocas del año, por lo cual los sucesos de contaminación pueden tener episodios de mayor gravedad. Otro aspecto relevante es la capacidad de ciertos contaminantes de pasar por procesos de transformación, los cuales pueden ser inyectados al aire, alterando su composición. (Barrenetxea, Orozco, C, et al. 2003; pp. 33-328).

2.2.4.- Contaminación del suelo

2.2.4.1.- suelo

El suelo es considerado como uno de los elementos más importantes que constituyen el globo terrestre, es vital para la vida tal cual lo es el agua y el aire, siendo el enlace entre factores abióticos y bióticos, por lo cual puede ser renovable o no renovable dependiendo de su forma de utilización.

Generalmente se conoce como suelo a la parte más superficial en la corteza de la tierra, constituida por diferentes tipos de minerales y partículas generadas a partir de procesos, en los cuales han intervenido factores ambientales como el viento y el agua, tanto los suelos como su composición varía dependiendo del lugar por factores medioambientales de cada zona en particular. De la misma manera los suelos cambian en su estructura, a pesar de que estos cambios suelen ser lentos a excepción que sean originados por desastres ambientales. Diversos

componentes forman parte del suelo como son; sustancias húmicas, arena, arcilla, rocas, diversos tipos de materia orgánica y variedad de elementos en grandes o pequeñas cantidades.

Estos componentes están influenciados por procesos de fragmentación y deterioro que ocurren en la roca por acción de fenómenos naturales, estos procesos son conocidos básicamente como meteorización. Existen tres tipos de factores que influyeron en el proceso de formación del suelo, siendo estos; los factores físicos, químicos y biológicos.

Los factores físicos hacen referencia a la acción de la lluvia, vientos fuertes y otros agentes ambientales sobre rocas de gran tamaño tornándolas en de menor tamaño. Los factores químicos hacen referencia a la combinación entre el agua y minerales, los cuales se oxidan y generan sustancias con una composición distinta a la original, dándole una variabilidad a los suelos que las conforman.

Mientras que los factores biológicos abarcan los procesos en los cuales, tanto plantas como animales influyen en la fragmentación de las rocas, sea por acción de las raíces en caso de las plantas y por excavaciones o pisadas en el caso de los animales.

2.2.4.2.- *Horizontes del suelo:*

Horizonte A: Por su exposición al lavado de lluvia y erosión es conocido también como horizonte de lavado, se encuentra muy próxima a la superficie del suelo, aquí podemos encontrar microorganismos, abundantes raíces de vegetales, presenta a su vez un color oscuro por la constitución de humus.

Horizonte B: Por ser el lugar donde ocurre la acumulación de arcillas por el arrastre de agua es conocido con el nombre de horizonte de precipitación, presenta un color mucho más claro que el horizonte A, su constitución se basa a partir de fragmentos de roca y humus.

Horizonte C: Es también conocido como zona de transición o subsuelo, básicamente está formado por la roca madre fraccionada en fase de desintegración, está un poco más evolucionado que el horizonte D.

Horizonte D: Se encuentra en las profundidades del suelo, siendo el más profundo de los tres horizontes anteriores, está constituido principalmente por roca madre fragmentada, también se le conoce como horizonte R.

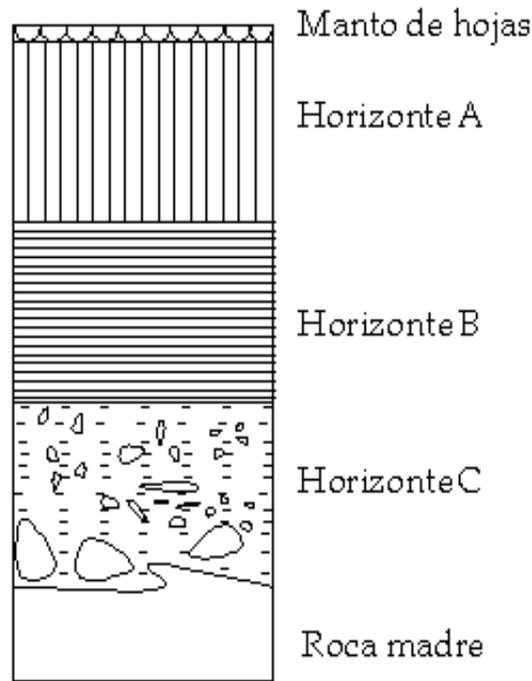


Gráfico 1-2: Horizontes del suelo

Fuente: (Pastrana, 2006)

2.2.4.3.- Suelo y la materia orgánica

La materia orgánica que forma parte del suelo es considerada como fuente de carbono y energía para los microorganismos, generalmente para organismos heterótrofos, la materia orgánica está encaminada a dos propósitos como son; el proporcionar energía para el proliferación y el suministro de carbono para la formación de material celular.

Al momento de la materia orgánica incorporarse al suelo, se generan una variedad de sucesos, como son; variaciones declinantes de las concentraciones de O₂ y el desencadenamiento de productos reducidos. De la misma manera La humedad y temperatura también intervienen en el contenido de materia orgánica presente en el suelo.

El proceso de humedecimiento y secado favorecen la evolución de dióxido de carbono, provocando la ruptura de agregados del suelo y la liberación de materia orgánica, el arado también tiene influencia sobre la humedad razón por la cual se entiende el hecho de que los suelos arados tienen menor cantidad de carbono que los suelos sin arar, afectando de manera relevante diversos procesos.

Los suelos sin arar además presentan mayor porcentaje de agua gravimétrica, este es un factor determinante ya que el porcentaje de agua en el suelo no es proporcional a la temperatura, por ende a mayor humedad menor temperatura, y si dicha temperatura es baja, también los será la

actividad microbiana presente en el suelo, una abaja actividad microbiana a su vez provoca una baja perdida de carbono durante la respiración.

En síntesis los suelos sin arar presentan una mayor evolución de dióxido de carbono que los suelos arados, debido a la cantidad de carbono disponible en mayor proporción, otros factores influyentes son; el pH, profundidad que presente el suelo y ventilación, todo esto debido a su afectación a las poblaciones microbianas.

La materia orgánica contempla al humus, que es una fracción amorfa y alterada desde un punto de vista microbiano, el humus se forma de compuestos como; los fenólicos y aminos procedentes de la degradación de la materia orgánica y condensación de los intermediarios de aminoquinona.

La característica fundamental del humus en el suelo es la resistencia que presenta a la degradación, esto por la protección física al momento del desarrollo de micro-poros y micro-agregados, así como también por su interacción con los minerales existentes en el suelo, como son; materiales amorfos, óxidos y arcillas. Su resistencia también se debe a la existencia de partículas grandes, formando en ocasiones estructuras estáticas, globulares e hidrofóbicas. (Koyne, 2000, pp 290-291).

2.2.4.4.- *Clasificación:*

- Suelos arenosos: Están constituidos en gran medida por arena, la misma que tiene un diámetro de 0,02 a 2 milímetros, estos suelos se caracterizan por tener escasa materia orgánica y porosidad muy elevada
-
- Suelos calizos: Presentan gran cantidad de sales, estas sales conllevan a una coloración blanca, son muy áridos y secos, además de tener la característica de secarse rápidamente , tampoco retienen los oligoelementos, al igual que los suelos arenosos por sus características hostiles no son aptos para la agricultura.
- Suelos húmíferos: Es la tierra negra en sí, presenta esta coloración por el elevado porcentaje de materia orgánica que la constituye, así como una formidable retención de agua, por lo cual son excelentemente cultivables
- Suelos arcillosos: Estos suelos están constituidos por finos granos de leve color amarillo, tienen una porosidad muy baja, por lo que suelen existir charcos en este tipo de suelos. Su

funcionalidad para el cultivo depende del grado de relación de mezcla que se realice con otro tipo de suelo.

- Suelos pedregosos: Están constituidos por rocas de diferentes tamaños, no presentan porcentajes de materia orgánica, de la misma manera tienen una escasa retención de agua por lo que no son aptos para el cultivo.
- Suelos mixtos: Presentan características combinadas entre los suelos arenosos y los suelos arcillosos, este tipo de suelos tienden a alojar microorganismos de tipo específico, además de ser propio de tierras emergidas.

Diversos tipos de recursos naturales están ligados al suelo debido al soporte que proporciona para la vida en general, para obtener un equilibrio natural es indispensable conocer los diferentes procesos que se generan en el suelo. (Bell, 2015, <http://blogecologista.com/tipos-de-suelos/>).

EL suelo es en sí, el material no consolidado formado a partir de la degradación de rocas de gran tamaño que han tenido efectos meteorológicos, el suelo presenta la característica de estar predispuesto a procesos evolutivos, formando incluso sistemas complejos.

2.2.5.- Contaminación por hidrocarburos

La contaminación por hidrocarburos genera afectación a los seres humanos y pérdida de recursos naturales.

Los efectos provocados por un suelo contaminado puede variar en el lapso de tiempo siendo a corto o largo plazo por lo cual las consecuencias o efectos en algunos casos no se detectan inmediatamente y los efectos realmente potenciales podrían aparecer en décadas y manifestarse en su total magnitud.

Un suelo potencialmente contaminado puede presentarse en diversos sitios y está ligado a la relación que guarda con ciertos factores, esto suelos pueden ser aquellos que brinden soporte a industrias que produzcan diferente clases de sustancias susceptibles a contaminar, como son industrias productoras de químicos, productoras de plaguicidas, industrias hidrocarburiíferas, etc.

Los contaminantes presentes en el suelo pueden ser de distinto índole, considerados a su vez como sustancias que pueden acontecer un riesgo o daño en la salud de los seres humanos o valor ambiental. (Sabroso Gonzales, M, C y Pastor Eixarch, A, 2004: pp. 12-17).

La interacción de los hidrocarburos con el suelo, generan:

- Afectación de la estructura del suelo por ruptura de agregados
- Un elevado aumento de la retención normal de agua
- Su potencia hídrico
- Alteración del C orgánico
- Variación del pH
- Aumento de metales como Fe y Mn
- Aumento de P disponible

Este tipo de efectos adversos están en dependencia de la composición y volumen desembocado sobre el medio, así como el tiempo que permanecerá expuesto, las características del lugar, las variables naturales, temperatura, pH, humedad, y el estado físico del derrame en general. (Castañeda Ceja, R, 2015, <http://es.slideshare.net>)

2.2.5.1.- Operaciones hidrocarburíferas

Las operaciones hidrocarburíferas han generado una gran problemática por su relación con el ambiente, esto debido a la existencia de yacimientos de petróleo existentes en el suelo y la extracción de los mismos, en Sudamérica este recurso no renovable es una relevante fuente de ingresos. (Pérez Arias, 2015; p.15)



Fotografía 1-2: Derrame de petróleo

Fuente: (Ampudida Belling, R, 2014)

2.2.5.3.- Hidrocarburos

Los hidrocarburos están compuestos por átomos de carbono e hidrogeno y presentan una estructura a manera de armazón donde se ligan los átomos de hidrogeno, de acuerdo a la

naturaleza que muestran los enlaces C-C, se clasifican en dos tipos; hidrocarburos alifáticos e hidrocarburos aromáticos. (Mafebru, 2006, <http://tuamigoelpetroleo.blogspot.com/>)

Hidrocarburos alifáticos: los hidrocarburos alifáticos presentan una composición orgánica, formado por enlaces de carbono y hidrogeno, no presentan anillo aromático, dando lugar a la formación de cadenas de tipo cerradas y abiertas. De acuerdo al tipo de enlace c-c que presente, estos pueden ser alquinos, alquenos, alcanos y de cadena cíclica. (Méndez, A. 2010a, <http://quimica.laguia2000.com>)

Hidrocarburos aromáticos: Los hidrocarburos aromáticos son compuestos que se caracterizan por presentar olores intensos y por ser derivados del benceno, son considerados derivados del benceno debido a la presencia de su estructura cíclica en el entero grupo de los compuestos aromáticos, el benceno a su vez presenta cierta inestabilidad debido a la particularidad de disponer dobles enlaces conjugados. (Méndez, A. 2010b, <http://quimica.laguia2000.com>)

Los hidrocarburos alifático cíclicos hace referencia a; ciclo-parafinas, ciclo-alcanos y naftenos, siendo un constituyente en menor proporción en el petróleo crudo, mientras que los derivados del benceno representan la fracción más pesada y pueden ser fusionados entre ellos o reemplazados con cadena alifáticas. (Déley, R. 2010, p.15)

Los Hidrocarburos Poli-cíclicos Aromáticos conocidos generalmente como HAPs, hacen referencia a un amplio conjunto de complejos químicos. “ Se caracterizan por estar formados por átomos de carbono e hidrógeno, agrupados en anillos que contienen cinco o seis átomos de carbono” (Agudo, A. 2010, p. 9)

Tabla 1-2: Densidad de derivados del petróleo

DENSIDADES	kg/m ³	g/ml
Aceite	920	0,92
Gasolina	680	0,68
Diésel	850	0,85

Fuente: http://www.fisicanet.com.ar/fisica/estatica_fluidos/ap05_densidad.php

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

2.2.6.- Recuperación del suelo

En el momento que el suelo alcanza su madurez presenta un equilibrio en relación a sus factores medioambientales, adquiriendo por consiguiente un estado adecuado para una correcta

producción biológica, al existir una alteración en este equilibrio, se modifica el proceso natural, ocurriendo una modificación perjudicial en la calidad del suelo.

Esta modificación provoca su degradación, la cual genera el desvanecimiento de la cobertura vegetal, así como la minimización de la actividad agrícola, relacionados con importantes cambios en las características biológicas y físico-químicas del suelo. Aumentando por ende su riesgo de vulnerabilidad. (Figueroa, D, 2004, <http://www.interempresas.net>)

Por lo cual es importante aplicar medidas para la recuperación del suelo, tomando en cuenta los diversos factores existentes, ya que el suelo puede mostrar variedad de alteraciones por; degradación, desertificación, erosión o condición de contaminación por diferentes compuestos, como; lodos contaminados, agroquímicos, producción de químicos, saturaciones químicas, entre otros. Estas alteraciones pueden ser de igual forma por pérdida o reducción de la materia orgánica, fertilidad, variación de pH, conductividad eléctrica y modificación del suelo en general. (Basaure, P, 2007, <http://www.manualdelombriicultura.com>)

De acuerdo a la forma de aplicación de técnicas de recuperación de suelo, estas pueden ser; in-situ (on-site) y ex-situ (off-site), la primera actúa sobre los compuestos tóxicos en el lugar donde son detectados y las ex-situ, actúan en lugares en los cuales se requiere la extracción del suelo del área donde ha ocurrido la contaminación, siendo trasladado a un diferente lugar para darle el adecuado tratamiento. Ambas técnicas son relevantemente importantes al momento de tratar un suelo contaminado.

Los tratamientos in-situ tienden a ser más difíciles y más lentos al momento de ser llevados a la práctica por la dificultad de poner en contacto los agentes descontaminantes con el volumen del suelo. Mientras que los tratamientos ex-situ a pesar de ser más costosos, son más efectivos y rápidos en la recuperación del suelo contaminado. En función de sus propósitos al momento de recuperar un suelo contaminado se consideran:

2.2.6.1.- *Técnicas de contención:* Esta técnica es utilizada para disminuir y prevenir a gran medida el desplazamiento de contaminantes (orgánicos e inorgánicos) hacia cuerpos de agua o suelo, tienen un coste generalmente bajo y tampoco es necesaria la excavación del suelo, pero requieren de inspecciones periódicas.

2.2.6.2.- *Técnicas de confinamiento:* las técnicas de confinamiento son también conocidas como técnicas de solidificación o estabilización. La técnica de estabilización actúa reteniendo a los contaminantes, limitando su movilidad por procesos químicos y/o físicos, a través de la

conversión en formas menos tóxicas o solubles. Mientras que la solidificación hace referencia al encapsulamiento de los contaminantes en una estructura sólida.

2.2.6.3.- *Técnicas de descontaminación:* Las técnicas de descontaminación hacen referencia a reducir el porcentaje de concentración de contaminantes del suelo, sea de forma in-situ, ex-situ, por procesos de estabilización físico-química, inyección de solidificantes o vitrificación. (Ortiz Bernad, I, et al. 2010, pp.23-30).

2.2.7.- Biorremediación

La biorremediación es una tecnología basada en la utilización de organismos vivos, como; plantas, algas, hongos y bacterias, con la finalidad de absorber, degradar o transformar los contaminantes y retirarlos del medio.

A través de procesos naturales las moléculas orgánicas son convertidas en moléculas de menor tamaño y toxicidad, influenciados por la presencia de microorganismos, estos procesos naturales son conocidos como biodegradación. La degradación natural tiende a ser lenta por lo cual se suele incorporar microorganismos o plantas en el lugar contaminado, dicha incorporación de microorganismos es conocida como biorremediación.

Prácticamente lo que hace la biorremediación es eliminar, reducir o neutralizar contaminantes en suelo y agua a través de organismos vivos. La biorremediación en ocasiones emplea mezcla de microorganismos, generalmente cepas específicas de hongos o bacterias. Con los avances en tecnología se ha logrado mejorar genéticamente diversos organismos, algas y plantas para optimizar el proceso de biorremediación.

2.2.7.1.- Tipos de biorremediación

Remediación microbiana: Se considera a la utilización de microorganismos en lugar de contaminación, los microorganismos pueden ser existentes del mismo lugar o provenir de otro lado, si los microorganismos proceden de otro lugar deben ser inoculados en el foco contaminado, en caso de no ser necesaria una inoculación se enriquece el lugar con nutrientes como; N, P, para aumentar la velocidad del proceso.

Existen hongos y bacterias que pueden degradar con facilidad derivados del petróleo como; tolueno, benceno, ésteres, entre otros, del mismo modo pueden degradar otra clase de compuestos como; As, Se, PCBs.

Microrremediación: la microrremediación utiliza hongos para descontaminar el suelo, este tipo de biorremediación se basa en la capacidad metabólica y descomponedora que poseen los hongos, estos producen enzimas extracelulares y ácidos que son utilizados para degradar la lignina y celulosa, estas estructuras son similares a las de muchos contaminantes. Es importante identificar la cepa más conveniente de acuerdo al tipo de contaminante a tratar.

Degradación enzimática: la degradación enzimática hace referencia a la eliminación de sustancias tóxicas por la utilización de enzimas en el lugar contaminado, las mismas que son producidas por organismos modificados genéticamente, las enzimas tienen su naturaleza proteica y una capacidad de catalizar reacciones.

Fitorremediación: La fitorremediación utiliza plantas para reducir contaminantes, es una estrategia estudiada relevantemente debido a la capacidad de ciertos vegetales para acumular elevadas concentraciones de compuestos tóxicos, entre los cuales están; metales pesados, compuestos radioactivos y orgánicos. Una importante ventaja del proceso de fitorremediación sobre otros procesos es su bajo costo y eficiencia en el proceso degradativo. (ArgenBio, 2007, <http://www.argenbio.org/index.php?action=novedades¬e=202>)

2.2.7.2.- Técnicas de biorremediación

Biorremediación in-situ

Es generalmente la opción más aplicada para la recuperación de suelos, al no ser necesaria la excavación, extracción o preparación del elemento contaminado. Básicamente se puede considerar dos tipos de tratamiento; el de compuestos volátiles y compuestos no volátiles. Al momento de aplicación se debe tomar en cuenta diversos factores.

- ✚ Actividades de ámbito industrial que se puedan ver afectadas
- ✚ Impacto en el lugar
- ✚ Análisis de costos en relación a otros tratamientos
- ✚ El acceso al lugar, en caso de ser necesario suministrar nutrientes y oxígeno
- ✚ Velocidad del tratamiento
- ✚ Potencial expansión de contaminación

Bioventeo o bioventing: Mediante pozos de inyección ocurre la ventilación del suelo de forma forzada al utilizar oxígeno, dando lugar a una elevada aireación del suelo, el suelo al tener una buena aireación favorece la eliminación de hidrocarburos.

Los hidrocarburos se degradan por esta técnica debido a la facilidad de volatilización de los compuestos contaminantes y al incrementar la actividad microbiana estimulada por el oxígeno inyectado.

Existen varios factores que hay que tomar en cuenta al momento de su aplicación, ya que esta técnica tiende a facilitar la degradación de moléculas pequeñas, favoreciendo la degradación de compuestos de cadenas lineales a diferencia de compuestos aromáticos. Son favorables del mismo modo los compuestos con elevada volatilidad.

Otro factor influyente para esta técnica es el nivel de porosidad que pueda presentar el suelo, por lo cual se recomienda que el suelo presente bajos contenidos de porcentaje de arcilla, con un valor de permeabilidad de aire apropiado, del mismo modo que presente adecuada biodisponibilidad de microorganismos, ya que está influenciada por la solubilidad que tengan los contaminantes.

El oxígeno suministrado debe ser suficiente, al igual que la fuente de carbono, el pH en el lugar debe presentar valores de 6 a 8, humedad con porcentajes del 12-30 % en peso, el potencial redox superior -50 mv, la relación N: P en relación 1:10 y una temperatura de 0-40 °C, tampoco debe haber flotación de producto libre a nivel freático.

Inyección de aire a presión o bioesparcing: Esta técnica se basa en la inyección de aire a presión desde la parte inferior, logrando desplazar el agua que se encuentra en los espacios intersticiales del suelo. La inyección lleva a cabo dos consecuencias; en la primera, el aire se inyecta, absorbiendo una elevada cantidad de hidrocarburos de característica volátil que se encuentran en el suelo y agua. En la segunda, el aire inyectado aumenta los niveles de oxígenos existentes en el agua, mejorando relevantemente la degradación de compuestos contaminantes. (Castro, M. 2014, <https://prezi.com>)

Estos mecanismos por inyección de aire provocan concretamente, la volatilización de compuestos contaminantes de la zona no saturada, y la degradación de contaminantes en la fase acuosa, el mecanismo que se lleve a cabo estará en relación de las características que presenten los distintos contaminantes.

Atenuación natural: Es una técnica in-situ de bajo coste, que presenta la característica de utilizar procesos físico-químicos en cuanto a interacción contaminante-suelo, así como como la degradación natural que ocurre en el medio. Estos procesos llevan el nombre de biotransformación natural, los cuales reducen la concentración de compuestos contaminantes,

comúnmente son; dispersión, dilución, volatilización y reacciones químicas en general, que son llevadas a cabo en el suelo y contribuyen a la reducción de contaminantes.

La técnica es aplicada generalmente en aquellos casos en los que existe contaminación por hidrocarburos no halogenados o halogenados, la técnica de atenuación natural a su vez puede darse en condiciones con presencia de oxígeno y en ausencia del mismo, aerobia y anaerobia respectivamente.

En un estado aerobio los microorganismos transforman los compuestos contaminantes a masa microbiana, dióxido de carbono y H₂O. Mientras que en una fase anaeróbica los microorganismos dependerán de otra clase de aceptores de electrones dispuestos, como; sulfato, nitrato y formas oxidadas.

Bioestimulación: La técnica de bioestimulación consiste en la incitación de las poblaciones nativas de determinados lugares mediante condiciones apropiadas de pH, condiciones redox y presencia suficiente de nutrientes, que favorezcan el aumento de las poblaciones nativas del lugar de contaminación.

Por medio de pozos de extracción se procede a extraer el agua que se encuentran bajo el suelo (agua subterránea) la cual es llevada hacia la superficie donde se procede a acomodarla en un reactor para inyectarla nuevamente, estimulando la degradación por medio de bacterias a los contaminantes del acuífero y subsuelo.

El agua que ha sido extraída y se encuentra en el reactor de la superficie, le debe ser añadida microorganismos específicos adaptados previamente, nutrientes y oxígeno antes de ser devuelta al subsuelo. Esta agua es devuelta básicamente por dispositivos de inyección que se encuentran ubicados a lo largo del lugar a remediar, esta técnica en ocasiones suele utilizar surfactantes para el lavado de compuestos contaminantes.

Bioaumentación: La bioaumentación hace referencia al aumento de algún tipo de agente descontaminante, sean; bacterias, microorganismos, actinomicetos, entre otros. Este proceso generalmente es de modo in-situ. Diferentes líneas de investigación han tenido éxito cambiando genéticamente la estructura de diversos organismos aclimatándolos a determinadas condiciones para mejorar el proceso de biodegradación.

La técnica funciona adecuadamente a escala laboratorio, pero en el momento de darle una aplicación al suelo o agua se debe considerar varios aspectos; como el porcentaje adecuado de

materia orgánica y nutrientes, resistencia de los microorganismos añadidos ante depredadores y fraternización con poblaciones autóctonas del lugar, por ende es importante el uso de consorcios microbianos que favorezcan el proceso de bioaumentación.

Biorremediación ex-situ

Consiste en la extracción del área con contaminación para ser ubicado en un sitio diferente, en la biorremediación ex-situ son fundamentalmente dos los tratamientos llevados a cabo, siendo estos; vía suspensión y vía sólida, en el primer caso se tiende a tratar las capas menos profundas que constituyen el suelo, generalmente la parte extraída es ubicada en un reactor. Mientras que en el segundo caso como su nombre lo indica se necesitan de considerables apilamientos de materia biodegradable.

La diferencia más relevante existente entre estos dos tipos de tratamiento se basa en el modo de aireación, la cual difiere del uno al otro, por lo que dependiendo del lugar y el tipo de contaminante se escogerá el adecuado. (Osinaga, N, 2011, <http://es.slideshare.net/nataliaosinaga/biorremediacion-de-suelos-agua-y-aire>)

Biopilas o biocelda: Esta técnica es utilizada básicamente para degradar hidrocarburos derivados del petróleo, la biopila posee una base impermeable sobre la cual ira la pila para evitar el paso de lixiviados hacia el suelo. Los contaminantes tratados en esta biopila son generalmente hidrocarburos alifáticos y aromáticos, a pesar de que este tratamiento ha tenido también gran éxito al tratar contaminantes explosivos como el trinitrotolueno (TNT).

La transformación de los contaminantes por biodegradación es en dióxido de carbono y H₂O, así como también en metabolitos, los mismos que en un periodo de tiempo pueden ser absorbidos por el suelo. Los microorganismos influyentes en este proceso presentan enzimas que catalizan biológicamente la oxidación de los hidrocarburos provocando la biodegradación.

La técnica de biopilas es utilizada a diferencia de otras técnicas cuando las sustancias presentan una alta volatilización. Al igual que otras técnicas se debe controlar factores como; pH, temperatura, humedad y nutrientes. Los montones de suelo deben presentar dimensiones de 2 a 3 metros sin excederse, de ser necesario se debe colocar plástico sobre las pilas evitando la volatilización del contaminante. (Solanas, A.M. 2009, pp. 2-7)

Compost: Es un proceso que utiliza desperdicios orgánicos, los cuales son degradados por microorganismos, generalmente a temperaturas elevadas. Estas temperaturas se encuentran en

rangos de 55 a 65 °C, producto de la degradación de la materia orgánica por los microorganismos. La aplicación de esta técnica sigue el siguiente proceso:

- Primeramente el suelo contaminado es extraído del lugar y distribuido para separar grandes piedras o partículas. Luego de ello el suelo es transportado hacia un lugar con condiciones y contención adecuada, para prevenir de agresiones climáticas.
- Para este procesos son utilizados sustratos como; paja, alfalfa, pedazos de madera y desperdicios de la agricultura en general, los cuales brindan una fuente adecuada de carbono aumentando la masa microbiana.
- El suelo junto con el sustrato es colocado en largas pilas, donde se le debe mezclar para darle la aireación adecuada, y controlar factores como; temperatura, pH y humedad. Al término de la fase del tratamiento se procederá a darle su disposición final. (Shukla Prasad, K. et al, 2010, pp. 3-4)

Landfarming: Esta técnica de biorremediación es aplicada generalmente para suelos contaminados por hidrocarburos, en la cual los microorganismos metabolizan los compuestos tóxicos transformándolas en anhídrido carbónico y H₂O.

Se deben controlar condiciones como la humedad, misma que debe representar un porcentaje del 50-60 %, si los valores son inferiores aumentarían el tiempo de tratamiento por la baja actividad microbiana.

Otro importante variable de control es la aireación, por lo cual se tiende a voltear el suelo tres veces por semana, a su vez los valores de pH debe entrar en un rango de 6-8, una temperatura de 37-50°C y la cantidad correcta de nutrientes para que se pueda producir un máximo nivel de degradación por la actividad microbiana.

Para la técnica de Landfarming se construyen celdas sobre las cuales irán ubicados los suelos a tratar, se prepara con los insumos una solución de características acuosa, regularmente se debe humedecer la mezcla junto con una aireación adecuada.

Una vez terminado el proceso de biorremediación, el suelo extraído será colocado en el lugar originario. (Florero Maldonado, E.A, 2014, <http://es.slideshare.net/erlanandresfloreromaldonado/landfarming-biorremediacion>)

2.2.8.- Biorremediación de hidrocarburos por hongos

Los procesos de biorremediación utilizando hongos han resultado tener un alto grado de eficiencia para la degradación de diferentes compuestos tóxicos persistentes. Sobre todo hongos pertenecientes a la familia *Phanerochaete* donde se ubica el hongo *Pleurotus ostreatus*. La eficacia de este tipo de hongo se basa en su capacidad de producir enzimas extracelulares que catalizan reacciones en la degradación de lignina.

La mineralización de la lignina por parte de los hongos de podredumbre blanca o lignilolíticos se basa en la elaboración de radicales libres, básicamente a través de enzimas extracelulares como la LiP, MnP, y Lacasa. Diversos estudios han comprobado la capacidad de degradación de estas enzimas sobre los PAHs, plaguicidas, fenoles clorados, y otros compuestos tóxicos. (Torres, C, et al. 2007, <http://www.smbb.com>)

Las enzimas que catalizan estas reacciones necesitan de peróxido de hidrogeno, el cual es generado por el mismo hongo. Los hongos de putrefacción blanca son capaces de atacar compuestos orgánicos hidrofóbicos, los cuales presentan un elevado grado de toxicidad como de mutagenicidad y cuya producción se ha dado a gran escala por procesos industriales.

Entre estos compuestos se encuentran; el antraceno, fluoreno, fenantreno. Los hongos a su vez poseen la habilidad de acumular metales pesados como Pb, Cu y Zn, que suelen ser alojarse en organismos vivos causando efectos adversos.

En el caso del *Pleurotus ostreatus*, comienza a atacar la lignina luego de haber sido degradada considerablemente la celulosa, al comparar la capacidad de mineralización del hongo *Pleurotus ostreatus* con la micro-flora del suelo contaminado, el *P. Ostreatus* tiene relevante eficiencia en la mineralización de PAHs de 5 anillos a diferencia de la micro-flora, la cual tiene mayor eficiencia de mineralización de PHAs de 3-4 anillos. (Acevedo,D. 2010, <http://davidysuidioteque.blogspot.com/2010/04/hongos-en-la-biorremediacion.html>)

Otros hongos como los del genero *Aspergillus* son capaces de tolerar altas concentraciones de compuestos tóxicos, adecuándolos a procesos de biorremediación de acuerdo a las características del medio a remediar.

Los procesos de biorremediación comúnmente utilizan hongos, bacterias y actinomicetos por sus capacidades únicas que presentan ante las características y comportamiento de los contaminantes antropogénicos en el medio natural.

Con la finalidad de potenciar el proceso de biorremediación se han logrado obtener cepas genéticamente modificadas, incrementando la eficacia en la degradación de compuestos tóxicos, los cuales a su vez han mostrado resultados relevantemente eficientes en la degradación de contaminantes derivados del petróleo. (Dávila, R. 2010, <https://journalmex.wordpress.com>)

La diferencia del proceso de biorremediación utilizando hongos respecto a procesos que utilizan bacterias u otros organismos biorremediadores se basa en el metabolismo de los hongos, el cual es mucho más evolucionados para degradar hidrocarburos que tengan un peso molecular superior, como los hidrocarburos aromáticos poli-cíclicos(HAPS), cuyos compuestos son altamente tóxicos y complejos de degradar. (Luna, N. 2013, <http://www.unsam.edu.ar>)

2.2.9.- Reino Fungi

Corresponden a una división aparte del reino animal y vegetal, el reino fungí presenta una inmensa variedad de especies con diversas formas, tamaños y colores. Diferentes pueden ser las formas de los hongos pero el verdadero cuerpo del hongo constituye el micelio, el cual está compuesto por largas extensiones conocidas como hifas, que a su vez se introducen en el sustrato y lo invaden por completo.

El micelio forma los primordios, donde posteriormente dará lugar al cuerpo fructífero del hongo encargado de la producción de esporas para la reproducción. (Kuhar, F, et al. 2013, p. 11)

2.2.9.1.- Clasificación:

- *Chytridiomycota*: Hace referencia a los hongos microscópicos acuáticos, esta clase de hongos puede desarrollarse sobre seres vivos; como plantas, insectos, gusanos, incluso otros hongos. Poseen zoosporas las cuales tienen flagelos que le dan la facilidad de desplazarse a través de medios líquidos.
- *Zygomycota*: Son de tipo terrestre, la mayor parte de ellos se desarrolla tomando como alimento plantas y materia orgánica descompuesta, tienen la capacidad de ingresar al tracto digestivo de ciertos insectos con la finalidad de garantizar su supervivencia.
- *Ascomycota*: Constituye el grupo más extenso, por lo general tienen diversas formas, siendo estas a manera de botón, disco, copas, entre otras. La conforman hongos de características patógenas hacia animales y plantas, incluso se puede dar su crecimiento sobre papel, cuero, tela, etc.

Esta clase de hongos poseen ascas, que son micro estructuras reproductoras las cual dan origen a las esporas (ascosporas).

- *Basidiomycota*: Su forma general es a manera de sombrilla, seta o sombrero, pueden desarrollarse sobre diversas plantas, flores y frutos. La clase basidiomycota presenta basidios, que son estructuras especializadas reproductoras, las mimas que dan origen a las esporas(basidioesporas)
- *hongos imperfectos*: Es tos hongos forman parte del amplio grupo de los Deuteromycetes, terrestres en su mayoría, los cuales se caracterizan por tener hifas septadas y cuya reproducción es por conidios, careciendo de la fase perfecta o sexual, estos hongos en sí son imperfectos por no tener definida su forma de reproducción, sin embargo presentan relevante importancia para las investigaciones en la generación de antibióticos hacia el ser humado y control biológico.

Phylum	Nº de especies	Enfermedades que causan	Importancia económica
Chytridiomycota	793	Parasitan algas y plantas de importancia económica	Ninguna
Zygomycota	1056	Parásitos facultativos de algunas plantas y animales	Producción de alimentos fermentados, enzimas, ácidos orgánicos, micorrizas
Ascomycota	32.267	Parasitan enfermando manzanas, uvas, etc.	Alimento: trufas y colmenillas; fabricación del vino, cerveza, panificados (levaduras)
Basidiomycota	22.244	Enfermedades a árboles forestales por destruir la madera	Alimento de las setas de los hongos. Ej. <i>Agaricus sp.</i> (Champiñón)
Hongos imperfectos	15.000	Parásitos de animales y plantas. Productores de miotoxinas.	Para producir quesos, antibióticos (<i>Penicillium sp.</i>), control biológico etc.

Gráfico 2-2: Reino Fungi

Fuente: (Ignacio, 2009, <http://biologialatina.blogspot.com/2009/01/reino-fungi-en-este-reino-comienzan.html>)

Los hongos de la clase *Basidiomycota* provocan la destrucción de la madera, reduciendo totalmente su resistencia, en relación a esta destrucción, se distinguen tres tipos de pudrición de madera, los cuales son:

2.2.9.2.- *Pudrición blanda*

Este tipo de pudrición es causada por hongos de la familia ascomicetos, al igual que ciertos basidiomicetos, el método de pudrición que utilizan estos tipos de hongos es semejante al utilizado por los hongos de podredumbre marrón, degradando la celulosa preferentemente y formando generalmente micro-cavidades en la pared celular.

La pudrición blanda presenta un color paja en etapas desarrolladas, a este tipo de pudrición se debe la actividad por parte de hongos como *ustulina deusta* que provoca la pudrición en arboles vivos.

2.2.9.3.- *Pudrición marrón*

La pudrición marrón es llevada a cabo por hongos en menor proporción que los de podredumbre blanca, atacando generalmente las coníferas, su forma de descomposición de la madera es mediante la eliminación de componentes celulósicos.

Dejan como resultado un color marrón producto de la descomposición y modificación de la lignina sobrante, *Laetiporus sulphureus* es un hongo causante de la podredumbre marrón que normalmente afecta coníferas.

2.2.9.4- *Pudrición blanca*

La pudrición blanca se debe a la degradación causada por ciertos hongos sobre la lignina, la cual presenta un color oscuro, dejando como resultado una coloración blanca producto de la celulosa en las últimas fases de pudrición, *Pleurotus Ostreatus* es uno de los hongos causantes de este tipo de pudrición blanca. (Luley, J, 2006, <http://www.isahispana.com/treecare/articles/decay-fungi.aspx>)

2.2.10.- *Pleurotus ostreatus*

El hongo *Pleurotus ostreatus* es un hongo de podredumbre blanca perteneciente al grupo de los basidiomicetos, presenta un gran número de filamentos pluricelulares conocidas como hifas, las cuales forman el micelio, su forma de reproducción puede darse de manera asexual y sexual.

Taxonomía:

Nombre Científico: *Pleurotus* spp.

Subreino: Fungi superior

Superdivisión: Basidiomycotera

División: Basidiomycota

Superclase: Homobasidiomycia

Clase: Himenomycetes

Orden: Agaricales

Familia: Pleurotaceae

Género: *Pleurotus*

El tamaño del hongo *Pleurotus ostreatus* presenta dimensiones de 5-15 cm en relación a su edad. El sombrero del hongo tiene una forma redondeada de superficie lisa en la parte superior, mientras que en la parte inferior presenta laminillas en sentido vertical

El pie del hongo generalmente es corto, el cual puede crecer sobre un medio en sentido horizontal o formando repisas en los árboles. (Fundación Germen de Paz, 2010, <http://orellanasdepaz.blogspot.com/2010/04/caracteristicas-de-la-orellana.html>)



Fotografía 2-2: *Pleurotus ostreatus* hábitat

Fuente: (Fuentes, J, 2009)

Por sus facilidades de producción el hongo *Pleurotus ostreatus* es generalmente cultivado en diferentes lugares, dicho cultivo tiene básicamente tres etapas, las cuales inician desde la obtención de la semilla, el desarrollo del micelio, y la fructificación tiene una duración de

tiempo por cada etapa de 30-15-30 días respectivamente, representando un tiempo aproximado de 2 meses para su producción.

Tabla 2-2: Condiciones adecuada para el crecimiento del hongo *P.Ostreatus*

Parámetro	Micelio	Fructificación
Temperatura (°C)	24-30	15-18
pH	5-6	5-6
Humedad (%)	30-40	85-90
Luminosidad	Oscuro	Luz indirecta

Fuente: (Sánchez, J y Royse, D, 2001, pp. 59-66)

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

Los hongos de podredumbre blanca, básicamente invaden los tejidos vegetativos, secretando ciertas enzimas que poseen la capacidad de degradar la lignina y diferentes componentes de la madera, o distintos sustratos que posean similares características, estas enzimas son:

- Lignina Peroxidasas (LiP): Se diferencia del resto de peroxidasas no lignolíticas por su elevado potencial oxido-reductor, con tendencia a oxidar compuestos aromáticos de características no fenólicas, a través de la sustracción de un electrón perteneciente al anillo aromático, formando radicales catiónicos aromáticos.
- Manganeso peroxidasas (MnP): Las enzimas manganeso peroxidasas necesitan de iones (Mn²⁺) para poder cerrar el ciclo catalítico, este elemento existe en proporciones elevadas en sustratos lignocelulósicos
- Lacasas: Este tipo de enzimas catalizan la oxidación de aminas aromáticas y di-fenoles, mediante la eliminación de un protón y electrón perteneciente al grupo hidroxilo dando lugar a un radical fenoxilo o amino correspondientemente, presenta tal capacidad de oxidación que puede incluso oxidar compuestos no fenólicos.

El método para catalizar procesos de depolimerización y polimerización que utiliza la lacasa es por medio de transferencia de electrones desde el sustrato al O, el cual es reducido a agua, dándole una ventaja sobre ciertas enzimas, las cuales necesitan peróxido para desenvolverse (Toledano, M, 2012, <https://prezi.com/ribc35kzxcnc/hongos-de-la-podredumbre-blanca/>)

Tal es la capacidad metabólica y descomponedora del *P.ostreatus*, que se han desarrollado nuevas tecnologías para dar control y tratamiento a contaminantes difíciles de descomponer.

2.2.11.- Marco legal

Los principios básicos para la generación de leyes eficaces respecto a medio ambiente que los Estados deben proclamar respectivamente, son establecidos a partir de la declaración sobre Medio Ambiente y Desarrollo llevada a cabo en Rio de Janeiro en el año de 1992. Por disposiciones reglamentarias de acuerdo al Art. 1 de la constitución del Ecuador, es considerado al Ecuador como un estado soberano, el cual velará por el derecho de la población a residir en un ambiente ecológicamente equilibrado y sano, garantizando su desarrollo. Declara que la preservación del medio ambiente sea de interés público y regulado de acuerdo a la ley.

A finalidad de llevar a cabo adecuadamente las diferentes disposiciones encaminadas a la preservación del medio ambiente por decreto ejecutivo 2982 notificado en 24 de agosto del año 1995 es expedido concretamente el Reglamento Ambiental para Operaciones Hidrocarburíferas en Ecuador, siendo reformado en el año 2001 Tornándose a Reglamento Sustitutivo al Reglamento Ambiental para Operaciones Hidrocarburíferas (Decreto 1215).

Atendiendo lo estipulado en el mencionado decreto de acuerdo al artículo 1 tiene por objetivo regular las operaciones desde exploración hasta comercialización de los hidrocarburos y sus derivados. Las operadoras en su desenvolvimiento deberán ejecutar los respectivos procesos, respetando los límites permisibles ubicados en los anexos 1, 2, 3 del presente reglamento. Reflejados en tablas, las cuales proporcionan los valores admisibles que deben ser alcanzados como margen. Para suelos que presenten contaminación por hidrocarburos, se pueden ubicar los márgenes permisibles de los componentes de los hidrocarburos en el anexo 2 - tabla 6 del Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas en Ecuador (RAOHE, Decreto 1215).

Tabla 3-2: Tabla 6 - Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicios.

Parámetro	Expresado en	Unidad ¹⁾	Uso agrícola ²⁾	Uso industrial ³⁾	Ecosistemas sensibles ⁴⁾
Hidrocarburos totales	TPH	mg/kg	<2500	<4000	<1000
Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs)	C	mg/kg	<2	<5	<1
Cadmio	Cd	mg/kg	<2	<10	<1
Níquel	Ni	mg/kg	<50	<100	<40
Plomo	Pb	mg/kg	<100	<500	<80

Fuente: Decreto ejecutivo 1215, Tabla 6 RAOHE, Registro Oficial No. 265

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1.- Hipótesis y especificación de variables

3.1.1.- identificación de variables

Variables Dependientes
- Hidrocarburos
- Biomasa fúngica
Variables independientes
- Temperatura
- pH
- Humedad

3.1.2.- Hipótesis

3.1.2.1. Hipótesis General

- ❖ El hongo *Pleurotus ostreatus* tiene elevado potencial degradativo de los hidrocarburos presentes en el suelo.

3.1.2.2. Hipótesis Específicas

- ❖ Los hidrocarburos afectan los parámetros físico-químicos del suelo
- ❖ Es posible cultivar el *Pleurotus ostreatus* en residuales lignocelulolíticos para ser utilizado como biorremediador.
- ❖ El proceso de biorremediación utilizando el hongo *Pleurotus ostreatus* eficaz para degradar hidrocarburos.
- ❖ La concentración de hidrocarburos es disminuida por la acción del *Pleurotus ostreatus*.

3.2.- Tipo y diseño de la investigación

El tipo de investigación es de carácter explicativo debido a la interpretación de los efectos causales de las variables independientes sobre la o las variables dependientes.

El diseño de la investigación es experimental, ya que se manipulara variables causales en relación a la variable de interés. De los resultados obtenidos se genera información, la cual corrobora al descubrimiento de un nuevo hecho, o confirmara los ya existentes

3.2.1.- Esquema del proceso

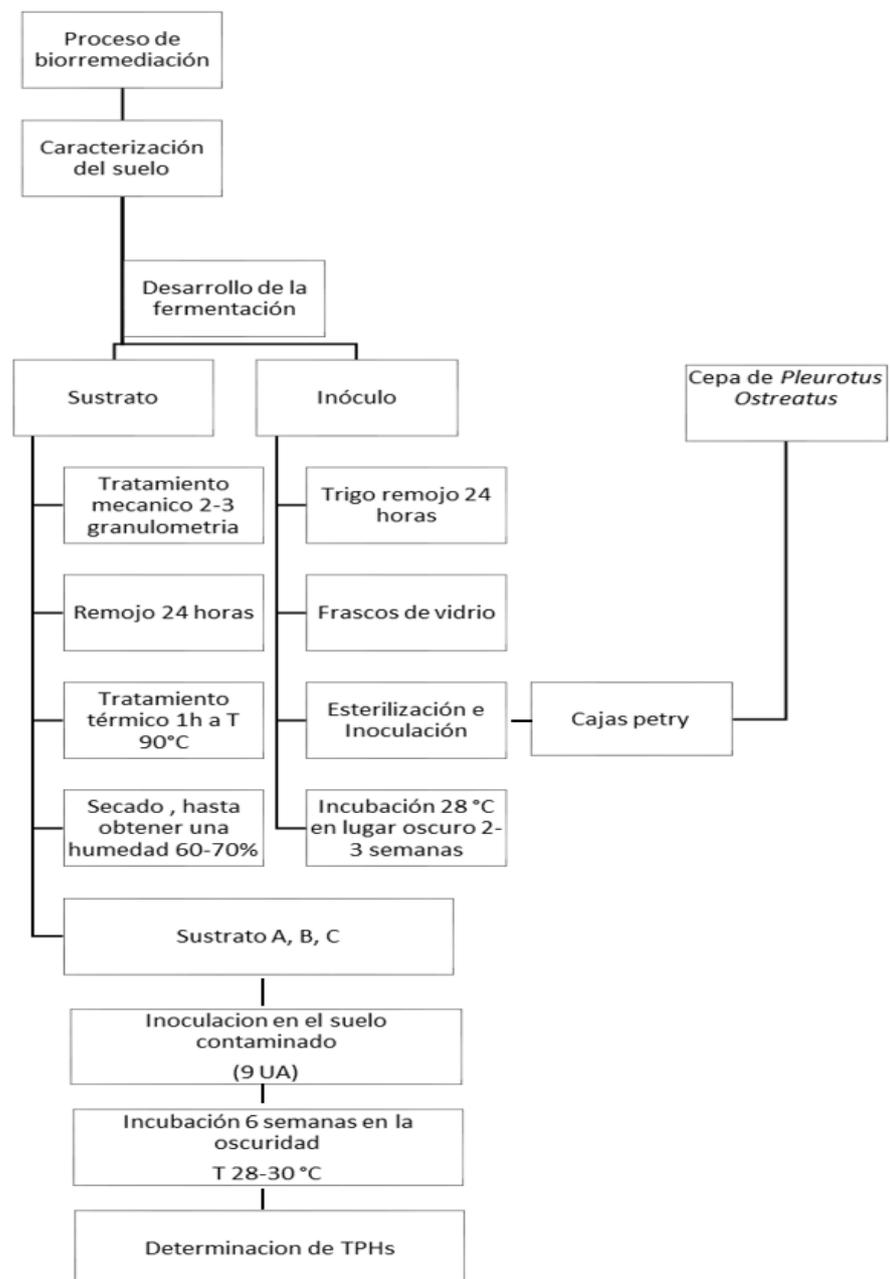


Gráfico 1-3: Esquema del proceso

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

3.2.2.- Distribución de las unidades experimentales

A, B, C= tratamientos

r1, r2, r3= réplicas

A	r1	r2	r3
B	r1	r2	r3
C	r1	r2	r3

3.3.- Unidad de análisis

La unidad de análisis para este proyecto es de 1kg de suelo contaminado por tratamiento y replica

3.4.- Población de estudio

La población de estudio es el área contaminada que abarca una extensión de 650 m²

3.5.- Tamaño de la muestra

Se recolectaron aproximadamente 80 libras de suelo del área a tratar para la determinación de ensayos en los laboratorios.

3.6.- Selección de muestra

3.6.1.- Toma de muestra y caracterización del suelo

El muestreo desarrollado para esta investigación fue por calicatas debido a la accesible inspección directa del suelo que se desea analizar brindando la información más completa y confiable.

- Se acondicionó el terreno haciendo un recorrido y verificando que no se encuentren elementos adversos que puedan intervenir en el muestreo como residuos sólidos.

- Se procedió a determinar el área de suelo contaminada que abarca una extensión de 650 m², y una profundidad de 1 m.
- Se realizaron aproximadamente 12 calicatas en secuencia de zigzag de 1m² de dimensión dentro del área contaminada.



Fotografía 1-3: Calicata a 1 m de profundidad

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

- Se tomó la primera muestra compuesta a 25 cm de profundidad a partir de las 12 sub-muestras de 1 kg aproximadamente, homogenizadas correspondientemente, se la enumero y se registró la hora de muestreo.
- La segunda muestra compuesta se obtuvo a 50 cm de profundidad a partir de sub-muestras de 1kg homogenizadas correspondientemente, se la enumero y se registró la hora de muestreo.
- La tercera muestra compuesta se obtuvo a la profundidad de 1 m a partir de sub-muestras de 1kg homogenizadas correspondientemente, se la enumero y se registró la hora de muestreo.
- Los análisis correspondientes, se determinaron en base al sistema de calidad para suelos agrícolas y en relación a la tabla 6 del RAOHE-1215 relativo a caracterización de suelos contaminado por hidrocarburos para biorremediación
- Las muestras obtenidas se colocaron en fundas ziploc y se guardaron un termo a baja temperatura para luego ser trasladadas a los Laboratorios de Análisis y Evaluación

Ambiental (AQLAB) evitando de esta manera la volatilización de los contaminantes presentes en el suelo.

Tabla 1-3: Parámetros a determinar en la caracterización del suelo

Parámetro	Método	Referencia
Hidrocarburos totales	ITE-AQLAB-56	EPA 3550 B, 418.1
Hidrocarburos aromáticos	ITE-AQLAB-55	EPA 8270 B,3550 C, 3630 C
Cadmio	ITE-AQLAB-34	SM 3030 ,B 3111 B
Níquel	ITE-AQLAB-43	SM 3030 ,B 3111 B
Plomo	ITE-AQLAB-45	SM 3030 ,B 3111 B

Fuente: Decreto ejecutivo 1215, Tabla 6 RAOHE, Registro Oficial No. 265(b)

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

3.7.- Técnicas de recolección de datos

3.7.1.- Lugar

La parroquia Taracoa, se ubica a 36 kilómetros al sur de Puerto Francisco de Orellana (Coca), está compuesta principalmente por 8 barrios y una población de 2000 habitantes, es en un 80% zona petrolera, el resto de la población se dedica a ganadería y agricultura.

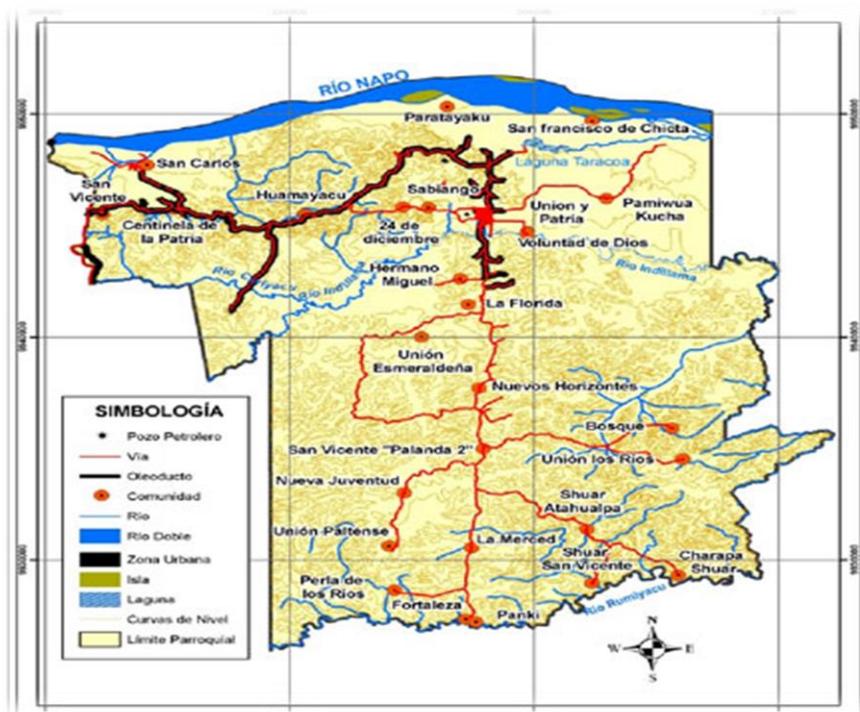


Gráfico 2-3: Mapa de la parroquia Taracoa

Fuente: (TARACOA, Gobierno Parroquial, 2014)

3.7.2.- Ubicación:

Se encuentra ubicada en las coordenadas UTM; Este: 301154.54 m E, Norte: 9843281.35 m S

Tabla 2-3: Descripción de la parroquia Taracoa

Provincia	Cantón	Parroquia
Orellana	Francisco de Orellana	Taracoa
LÍMITES		
NORTE	Cantón Joya de los Sachas	
SUR	Parroquia Dayuma	
ESTE	Parroquia Alejandro Labaka y Parroquia Dayuma	
OESTE	Parroquia Dayuma, Parroquia El Dorado y Parroquia Pto. Francisco de Orellana	
Características generales		
	Indicador	Valor
Población	habitantes	2000
Altitud	m.s.n.m	233-372
Clima	estación	Magnético lluvioso
Temperatura	°C	28-33
Precipitación (anual)	Mm	2000-3000

Fuente: (Junta parroquial de Taracoa, 2015)

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

3.7.3.- Ubicación del área contaminada

✚ Longitud: - 76,777401

✚ Latitud: - 0,489979

✚ Geo referencia: El área contaminada se encuentra ubicada a 200 metros del centro poblado de Taracoa vía La Primavera.

La investigación realizada es por observación directa de los hechos, en la cual se observa el caso, tomando la información adecuada para registrarla y obtener una interpretación y/o análisis del caso.

De acuerdo con (Morán, 2007) la observación es la capacidad para percibir información del medio manifiesto, basándose en el propósito de generar registros para entender los fenómenos más adelante, de esta forma se generan resultados totalmente notables en la investigación.

3.7.4.- Diseño aplicado

El diseño aplicado es completamente al azar, el cual consiste en la asignación de los tratamientos de manera completamente aleatoria a las unidades experimentales, el diseño se asocia a los análisis de covarianza y arreglos de tratamiento de tipo factorial.

Modelo estadístico

$$Y_{ij} = u + T_i + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable respuesta en la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento

u = Media general

T_i = Denota el efecto del tratamiento i

E_{ij} = Denota el efecto aleatorio del error asociado en la observación yij

3.7.5.- Lugar de la investigación

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de biotecnología en la facultad de ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo ‘‘ESPOCH’’.

Los métodos de ensayos fueron realizados en los laboratorios AQLAB en Puerto Francisco de Orellana los cuales cuentan con la respectiva acreditación

3.7.6.- Materiales

El suelo contaminado para la investigación experimental fue obtenido desde la parroquia Taracoa en Francisco de Orellana

El sustrato cascara de arveja fue obtenido de los mercados de la ciudad de Riobamba, el cual cuenta con una característica adecuada para el proceso de biorremediación.

El sustrato bagazo de caña fue donado por parte del laboratorio donde se realizó la investigación experimental.

El sustrato cacao fue obtenido desde el oriente, donde existe gran proporción del mismo debido a los cultivos existentes sobre todo en la parroquia Taracoa.

El micelio del hongo *Pleurotus ostreatus* para la investigación experimental se obtuvo a partir del cuerpo fructífero a través del adecuado procedimiento, estos hongos con cuerpo fructífero fueron adquiridos del Sumaco donde se realiza su comercialización.

3.8.- Proceso experimental

3.8.1.- Obtención del micelio *Pleurotus ostreatus*

La obtención del micelio puede ser adquirida a partir de la cepa del hongo, aquí se corta una fracción del micelio y se distribuye en cajas petri con un medio adecuado (agar), el agar es sustrato que brinda los nutrientes necesarios para el desarrollo del hongo.

Para nuestra investigación el micelio fue obtenido directamente a partir del cuerpo fructífero del hongo *Pleurotus ostreatus*

El agar utilizado para la producción del inóculo fue el sabouraud debido a su alto contenido de glucosa, presencia de cloranfenicol, y un pH de 5.6 que favorece el crecimiento de los hongos sobre bacterias.

Materiales, equipos y reactivos

- Cámara de flujo laminar
- Autoclave
- Balanza analítica
- Cajas Petri
- Agar sabouraud
- Mechero con alcohol
- Bisturí
- Asa para la inoculación
- Cuerpo fructífero *Pleurotus ostreatus*

Procedimiento

1. Preparar el agar sabouraud y luego esterilizar en el autoclave a 121 °C durante un tiempo de 20 minutos
2. Se retira el agar del autoclave y se deja enfriar alrededor de 30 minutos a temperatura ambiente

3. Se preparan las cajas petri colocando el agar en cada una de ellas, este paso debe realizarse en un lugar adecuado (cámara de flujo laminar)



Fotografía 2-3: Inoculación en cajas petri

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

4. Con un bisturí se obtiene una pequeña fracción
5. Se coloca la fracción del hongo en las cajas Petri
6. Cerrar las cajas petri e incubar a una temperatura optima de 28 °C

3.8.2.- Adecuación del trigo

1. Limpiar el trigo con abundante agua, liberándolo de impurezas.
2. Dejar en remojo por un periodo de 24 horas, para que alcance la humedad adecuada.
3. Escurrir el exceso de agua (hidratación de 50-60% y pH de 6.2)
4. Se procede a colocar en solución Benomil 0,02% por 20 min
5. Se colocan los granos de trigo en los frascos de vidrio (botellas de gatorade y nescafé hasta llenar 2/3 partes del mismo (225 g de trigo gatorade), (350g de trigo NESCAFE)
6. Se tapa las botellas con algodón y aluminio, para que no haya ausencia total de oxígeno.
7. Autoclavar a una temperatura de 121 °C por 45 min



Fotografía 3-3: Esterilización de botellas de vidrio

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

8. Sacar los frascos y dejar secar a temperatura ambiente, hasta que se encuentren fácilmente manipulables.
9. Una vez enfriado los frascos, se agitan para separar los granos entre sí de tal manera que haya una aireación e hidratación homogénea



Fotografía 4-3: Botellas con trigo

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

3.8.3.- Inoculación en el trigo

Materiales, equipos y reactivos

- Cámara de flujo laminar
- Agua destilada
- Cajas petri con micelio *P.ostreatus*
- Mechero con alcohol
- Alcohol
- Bisturí
- Asa para la inoculación
- Botellas de vidrio
- Guantes

Procedimiento

1. En la cámara de flujo laminar, ubicar las cajas petri colonizadas con el micelio del hongo *Pleurotus ostreatus*
2. Colocar las botellas de vidrio con trigo junto a las cajas petri para la inoculación
3. Se cortan fracciones pequeñas del micelio presente en las cajas petri respectivamente (225g trigo).



Fotografía 5-3: Cajas petri con micelio *P.ostreatus*

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

4. Mover ligeramente las botellas para que quede cubierto el micelio por el trigo
5. Se colocan las botellas en un lugar cerrado y oscuro a temperatura de 28°C.
6. Esperar el tiempo correspondiente hasta que todo el trigo quede invadido totalmente por el hongo.

3.8.4.- Pruebas por tratamiento

Materiales, equipos y reactivos

- Humidímetro
- Triturador Miller
- Plástico
- Recipiente
- Sustrato
- Fundas
- Estufa
- Botellas colonizadas
- Balanza
- Celdas
- Plástico impermeable
- Espátula
- Mechero con alcohol
- Medio esterilizado
- Guantes
- Suelo contaminado

3.8.4.1. Tratamiento A (T-A)

El tratamiento A está conformado por; *Pleurotus ostreatus*, sustrato arveja, suelo contaminado

Preparación del sustrato arveja

Procedimiento

1. Se tritura el sustrato para obtener una granulometría de 2-3 cm
2. Se remoja la cascara de arveja durante 24 horas
3. Luego de haber transcurrido el tiempo correspondiente, se da un tratamiento térmico de 1 hora a 90°C



Fotografía 6-3: Tratamiento térmico

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

4. Se deja secar al sol, hasta obtener una humedad del 60-70%

Preparación del suelo

Procedimiento

1. Se pesa 1kg de suelo contaminado
2. Se homogeniza el suelo para obtener uniformidad
3. Humedecer el suelo con agua para obtener una humedad del 70%

Inoculación con *Pleurotus ostreatus*

Procedimiento:

1. Colocar 200 g de semilla de trigo colonizado sobre el sustrato de cascara de alverja
2. La relación es del 10% del sustrato total por cual se debe mezclar con 800g de sustrato de cascara de arveja y 1000 g de suelo contaminado
3. Colocar los sustratos mezclados sobre el medio esterilizado
4. Mezclar el suelo contaminado con los sustratos



Fotografía 7-3: Mixtura
Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

5. Homogenizar los sustratos adecuadamente para que exista una apropiada aireación
6. El peso de la mixtura total es de 2000 g(2kg)
7. Se coloca la mixtura sobre la caja de madera previamente cubierta con plástico impermeable
8. La caja se ubica en un lugar oscuro y con una temperatura de 28 °C

3.8.4.2. Tratamiento B (T-B)

El tratamiento B está conformado por; *Pleurotus ostreatus*, sustrato bagazo de caña, suelo contaminado

Preparación del sustrato bagazo de caña

Procedimiento

1. Se tritura el sustrato bagazo de caña para obtener una granulometría adecuada
2. Remojar por 24 horas



Fotografía 8-3: Bagazo de caña

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

3. Se procede a dar un tratamiento térmico de 1 hora a 90°C
4. Secar al sol, hasta obtener una humedad del 60-70%

Preparación del suelo

Procedimiento

1. Pesar 1kg de suelo contaminado
2. Homogenizar el suelo para obtener una correcta uniformidad
3. Humedecer el suelo con agua para obtener una humedad del 70%

Inoculación con *Pleurotus ostreatus*

Procedimiento:

1. Colocar 200 g de semilla de trigo colonizado con *Pleurotus ostreatus* sobre el sustrato bagazo de caña previamente acondicionado.



Fotografía 9-3: Inóculo con *P.ostreatus* en suelo contaminado

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

2. La relación es del 10% del sustrato total por lo que se debe mezclar con 800 g de sustrato bagazo de caña y 1000 g de suelo contaminado.
3. Colocar el suelo contaminado con el sustrato inoculado por *Pleurotus ostreatus*
4. Homogenizar los sustratos para que haya una apropiada aireación
5. El peso de la mixtura total es de 2000 g(2kg)
6. Colocar la mixtura en la caja de madera previamente cubierta con plástico impermeable
7. Ubicar la caja en un lugar oscuro y con una temperatura de 28 °C



Fotografía 10-3: Celda con mixtura
Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

3.8.4.3 *Tratamiento C (T-C)*

El tratamiento C está conformado por; *Pleurotus ostreatus*, sustrato residual cacao y suelo contaminado

Preparación del sustrato residual cacao

Procedimiento

1. Triturar el sustrato cacao, hasta obtener una granulometría adecuada de 2-3 cm
2. Remojar la cascara de cacao durante 24 horas para que alcance una humedad óptima
3. Luego de haber transcurrido el tiempo correspondiente, darle un tratamiento térmico de 1 hora a 90°C
4. Dejar secar al sol, hasta obtener una humedad del 60-70%, La retención de humedad por el cacao es mayor por sus características intrínsecas

Preparación del suelo

Procedimiento

1. Pesar 1kg de suelo contaminado
2. Homogenizar el suelo
3. Humedecer el suelo con agua

Inoculación con *Pleurotus ostreatus*

Procedimiento:

1. Se coloca 200 g de semilla de trigo colonizado sobre el sustrato cacao



Fotografía 11-3: Inoculación en cacao con *P. Ostreatus*
Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

2. La relación es del 10% del peso total por lo que se debe mezclar con 800g de sustrato cacao y 1000 g de suelo contaminado
3. Colocar los sustratos mezclados sobre el medio esterilizado,
4. Ubicar el suelo contaminado junto con los sustratos mezclados y acondicionados previamente
5. El peso de la mixtura total es de 2000 g(2kg),
6. Colocar la mixtura en la caja de madera con plástico impermeable
7. La caja se coloca en un lugar oscuro y con una temperatura de 28 °C, donde permanecerá el tiempo pertinente, otorgándole la humedad, temperatura, y condiciones adecuadas.



Fotografía 12-3: Condiciones controladas en invernadero
Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.- Análisis de resultados

4.1.1.- Caracterización del suelo

El área donde se desarrolló la investigación se encontró un suelo de características facan (franco +arenoso + arcilloso), el contenido de carbono es de 1,57 % y un contenido de materia orgánica de 2,70 %, el pH del suelo es de 7,5 pero en el área contaminada presenta un pH de 7,42, la influencia de los hidrocarburos en el suelo no tiene mucha afectación en el pH, según (Martínez, Víctor E., et al,2001) los hidrocarburos afectan varias de las propiedades físico-químicas del suelo, sin embargo tanto la densidad aparente, conductividad y pH no presentan mayor variación.

Los resultados de metales pesados en las tres diferentes capas, no presentaron una concentración relevante para ser considerado como suelo contaminado con metales pesados, tanto el Cd, Ni, Pb presentan concentraciones bajo la norma, sin embargo la permanencia de un metal, está relacionado con las características del suelo, según (PUGA, Soraya, et al, 2006), el Ni y el Pb se asocian a la textura que presente el suelo, mientras que el Cd se asocia con el pH y profundidad.

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) al igual que los metales pesados tampoco presentaron contaminación de acuerdo a la tabla 6 del RAOHE-1215. Mientras que los Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPHs) se encontraron concentraciones elevadas en la segunda y tercera capa, superando los límites permisibles de la tabla 6 del RAOHE-1215

Tabla 1-4: Resultados de la caracterización del suelo

Parámetro	Método	Referencia	unidad	resultado
TPHs	ITE-AQLAB-56	EPA 3550 B, 418.1	mg/kg	10 051,52
HAPs	ITE-AQLAB-55	EPA 8270 B,3550 C, 3630 C	mg/kg	0,27
Cadmio	ITE-AQLAB-34	SM 3030 ,B 3111 B	mg/kg	< 1,5
Níquel	ITE-AQLAB-43	SM 3030 ,B 3111 B	mg/kg	14,84
Plomo	ITE-AQLAB-45	SM 3030 ,B 3111 B	mg/kg	13,44

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

La presencia de TPHs varía de acuerdo a la profundidad, se determinó que la capa más superficial (25 cm) presenta una concentración de TPHs muy inferior y cuyos valores se encuentran bajo la norma, por lo que no se considera como suelo contaminado

En la capa subsiguiente (50 cm) se encontró una concentración de TPH igual a 8437,07 ppm, la cual se encuentra fuera de los límites permisibles establecidos por la RAOHE-1215 para todo tipo de actividad.

La última capa se encontró a 100 cm de profundidad, la cual presento una concentración de partes por millón mayor a la segunda capa, teniendo una concentración de TPH de 10051,52 ppm, cada una de las capas fueron fácilmente identificables por la coloración que mostraron.

Tabla 2-4: Resultado de TPHs del muestreo por calicatas

TIPO	PROFUNDIDAD	TPHS
Muestra compuesta	25 cm	1649,47 ppm
Muestra compuesta	50 cm	8437,07 ppm
Muestra compuesta	100 cm	10051,52 ppm

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

En la figura 4-1 se encuentra plasmada la concentración de TPH en relación a la profundidad que presenta el área contaminada.

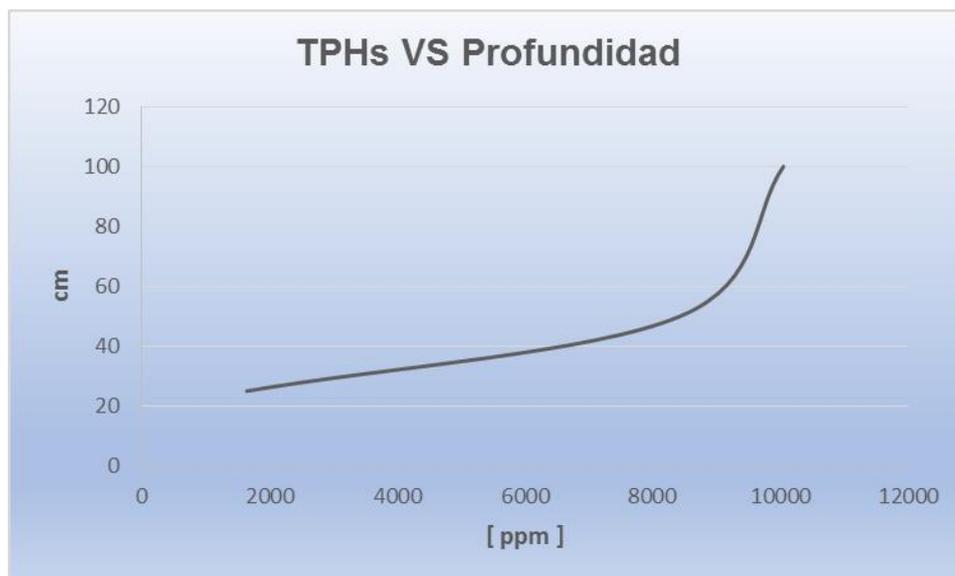
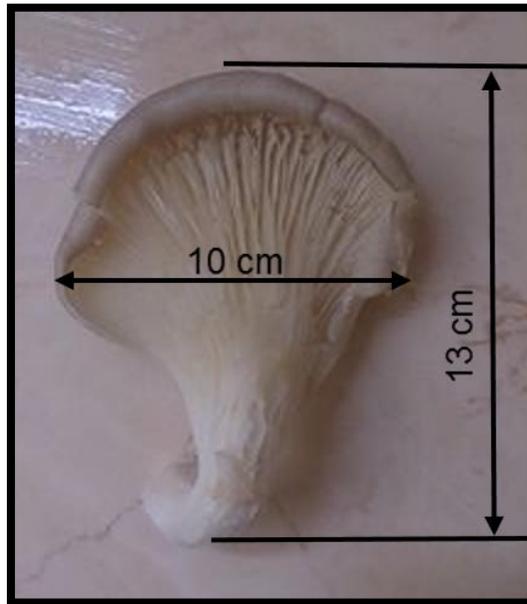


Gráfico 1-4: Concentración de TPHs de acuerdo a la profundidad

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

4.1.2.- Obtención del micelio

Los cuerpos fructíferos a partir de los cuales se obtuvo el micelio, mostraban las características de desarrollo adecuadas, los cuales se mantuvieron en refrigeración a temperatura de 10°C. Se escogió los hongos más bien jóvenes y de proporciones relevantes en tamaño, cuyas dimensiones se ubican en la fotografía 4-1.



Fotografía 1-4: Cuerpo fructífero *P.Ostreatus*
Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

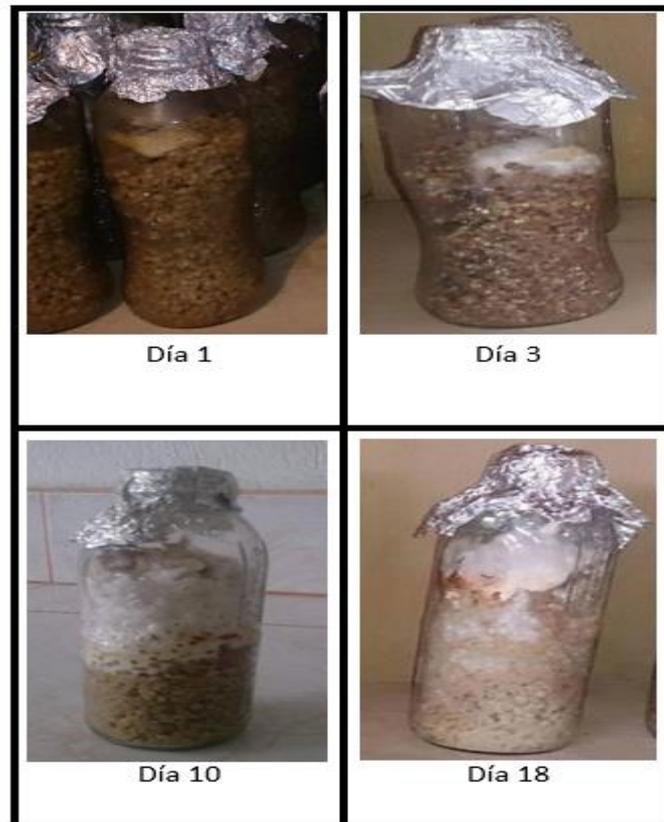
Luego de haber sido realizado el proceso de inoculación, se evidenció el crecimiento del hongo sin rastros de contaminación, lo cual fue notable por su coloración, mientras que su proporción micelial se expandió un 90% en un tiempo aproximado de 8 días.



Fotografía 2-4: Desarrollo del micelio *P.Ostreatus*
Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

4.1.3.- Desarrollo en el trigo

El micelio del hongo *Pleurotus ostreatus* se esparce rápidamente en el sustrato con condiciones adecuadas, por lo cual los resultados ya son notorios en los primeros días, requiriendo de un lapso de alrededor de 3 semanas para que haya cubierto todo el trigo



Fotografía 3-4: Desarrollo del micelio en botellas de vidrio

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

4.1.4.- Pruebas por tratamiento

4.1.4.1.- Tratamiento A (T-A)

El sustrato utilizado en el tratamiento A fue la cascara de arveja, en este sustrato el micelio del hongo comenzó a invadirlo junto con el suelo contaminado de manera proporcional, fue necesario esta acondición del suelo con sustrato, debido a la granulometría demasiado fina del suelo y para una adaptación eficaz del hongo *Pleurotus ostreatus*,

El crecimiento del micelio del hongo *Pleurotus ostreatus* se diferenció claramente en las primeras semanas, luego de 6 semanas de tratamiento se evidenció un crecimiento micelial del 65%.



Fotografía 4-4: Adaptación del micelio al suelo contaminado y arveja
Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

4.1.4.2. Tratamiento B (T-B)

El sustrato utilizado en el tratamiento B fue el bagazo, el cual presentó un mayor volumen de mixtura y aireación, sin embargo el hongo *P. ostreatus* presentó una adaptación considerable, pero en menor proporción que el sustrato arveja

El crecimiento micelial fue más limitado que la del sustrato A, notándose pequeñas manchas blancas en las primeras semanas, sin embargo al término del tratamiento el micelio había invadido el 55% del total del sustrato.



Fotografía 5-4: Micelio en suelo contaminado y bagazo de caña
Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

4.1.4.3. Tratamiento C (T-C)

El sustrato utilizado para el tratamiento C fue el cacao, este sustrato presento una mayor retención de humedad, por lo que su secado al sol fue más prolongado que el sustrato bagazo y cascara de arveja

La adaptación del micelio del hongo *Pleurotus ostreatus* al sustrato cacao fue superior a los dos sustratos anteriores, notándose pequeñas manchas blanquecinas sobre el suelo en la primera semana, de igual forma el crecimiento micelial fue más acelerado y de mejor calidad, llegando a invadir el 90% del sustrato total.



Fotografía 6-4: Micelio en suelo contaminado y cacao

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

Al término del tratamiento se evidencio no solo crecimiento micelial, sino también la formación del cuerpo fructífero.



Fotografía 7-4: Cuerpo fructífero del *P. Ostreatus* en suelo contaminado

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

En condiciones controladas de temperatura y humedad, el periodo de biorremediación utilizando *Pleurotus ostreatus* en los tres diferentes tratamientos A, B, C tuvo una duración de 6 semanas desde la inoculación del micelio en el suelo contaminado, dicho tiempo de duración está en relación al metabolismo del *Pleurotus ostreatus* y su ciclo de desarrollo.

De acuerdo a (Bazán, et al. 2004) el crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* requiere de condiciones controladas, el cual tendrá un tiempo de desarrollo de 2-3 semanas desde la inoculación en semillas el trigo previo a la inoculación en un próximo sustrato, de 3-4 semanas en la siguiente fase de total oscuridad, y una semana para la producción cuerpo fructífero, dando un total aproximado de 2 meses para su producción.

Tabla 3-4: Condiciones para el desarrollo del *P.ostreatus*

Inoculación en el trigo	
Parámetros	Valores
Humedad	55%
Temperatura	28 °C
Luz	Nula
Inoculación en el suelo	
Parámetros	Valores
Humedad	70%
Temperatura	28-30 °C
Luz	Nula

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

Luego de haber transcurrido un periodo de 6 semanas de tratamiento del suelo contaminado desde la inoculación con el hongo *Pleurotus ostreatus* con tres diferentes tratamientos; A, B, C, y sus réplicas por cada sustrato se obtuvieron los siguientes resultados de TPHs.

Tabla 4-4: Resultados de análisis de TPHs

Tratamientos	Replicas		
	I	II	III
A	1474,24	1554,12	1453,32
C	788,42	799,33	790,12
B	2392,71	2401,12	2405,32

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

4.2.- Prueba de hipótesis

4.2.1. Planteamiento de la hipótesis

Ho: Todos los tratamientos son iguales; $P \geq 0,05$

Hi: Al menos un tratamiento es diferente, $P < 0,05$

Se realizó el análisis de varianza para determinar si existe una diferencia entre tratamientos o si todos los tratamientos son iguales para rechazar o aceptar la hipótesis nula.

Tabla 5-4: Resultados cuadro Anova

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	P
Entre grupos	3895044,506	2	1947522,253	2010,839	0,00
Dentro de grupos	5811,074	6	968,512		
Total	3900855,581	8			

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

4.2.2.- Decisión

Como P valor es igual a 0,00 y menor que 0,005 entonces se desecha la hipótesis nula y se determina que al menos uno de los tratamientos es diferente.

Debido a que los tratamientos son diferentes se realizó una comparación de medias con la finalidad de conocer cuál de los tratamientos es el más adecuado (A, B, C). Para realizar este proceso se aplicó el método de Tukey, obteniéndose los siguientes resultados.

Tabla 6-4: Resultados método de TUKEY

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Cacao	3	792,6233		
Arveja	3		1493,8933	
Bagazo	3			2399,7167
Sig.		1,000	1,000	1,000

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

Los resultados aplicando el método de Tukey reflejan que existe clara diferencia entre los tratamientos ubicando en primer lugar al Tratamiento C, luego se ubica el tratamiento A, y por último el tratamiento B, los valores se ubican en la ilustración 4-9.

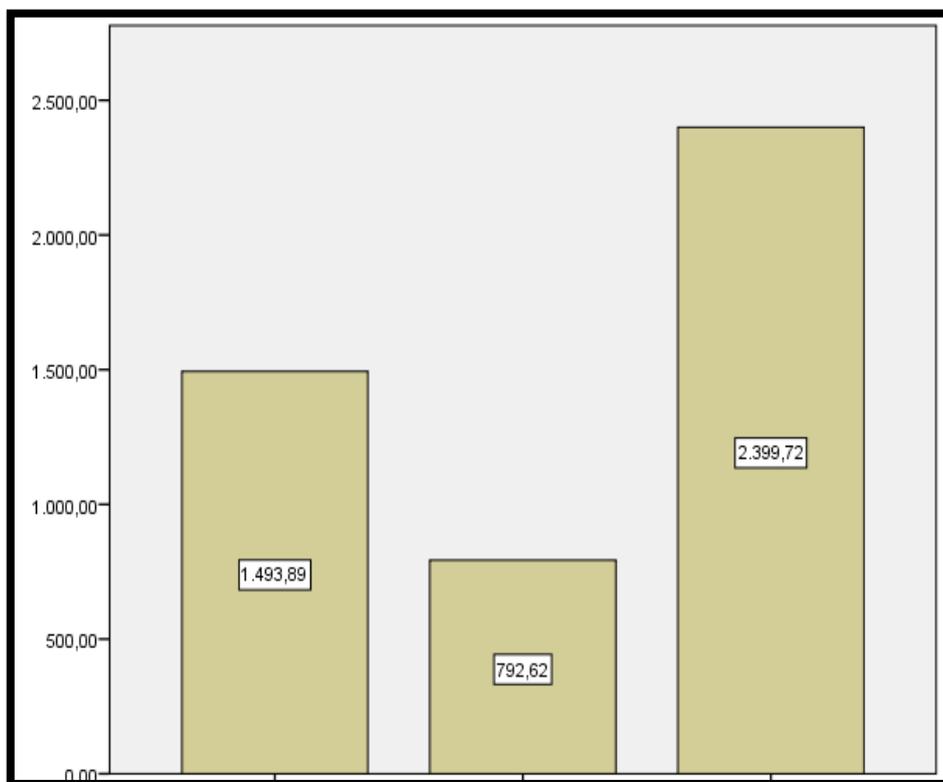


Gráfico 2-4: Comparación de barras TUKEY

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

A continuación se muestra la tabla 7-4, la cual refleja la relación descendente de los sustratos de acuerdo a su capacidad de degradación, expresada en porcentaje de reducción por cada uno de los tratamientos

Tabla 7-4: Representación jerárquica de los porcentajes de degradación

Tratamientos	Replicas	Estructura	% degradación
C	3	H/C/S	92.11
A	3	H/A/S	85.14
B	3	H/B/S	76.2

Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

De acuerdo a la tabla 7-4 el tratamiento C correspondiente al hongo *Pleurotus ostreatus* + cacao y suelo contaminado, mostro mayor relevancia degradativa, el cual redujo los TPHs desde un valor de 10051,52 ppm hasta 792,62 ppm

Estos valores se encuentran dentro de los límites permisibles de la tabla 6 del RAOHE-1215, considerándose el suelo como remediado.

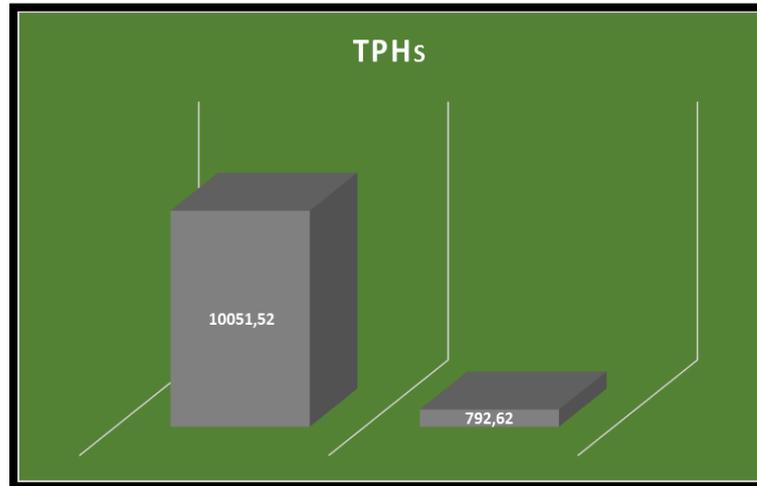


Gráfico 3-4: Nivel de reducción de TPHs con el tratamiento C
Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

El tratamiento A correspondiente al hongo *Pleurotus ostreatus* + arveja, y suelo contaminado presento una buena capacidad degradativa pero en menor proporción que el tratamiento con cacao (C).

El tratamiento A redujo los valores desde 10051, 51 ppm de TPH hasta 1493,92 ppm de TPH, este valor de igual forma se encuentra dentro de los límites permisibles mostrados en la Tabla 6 del RAOHE-1215.

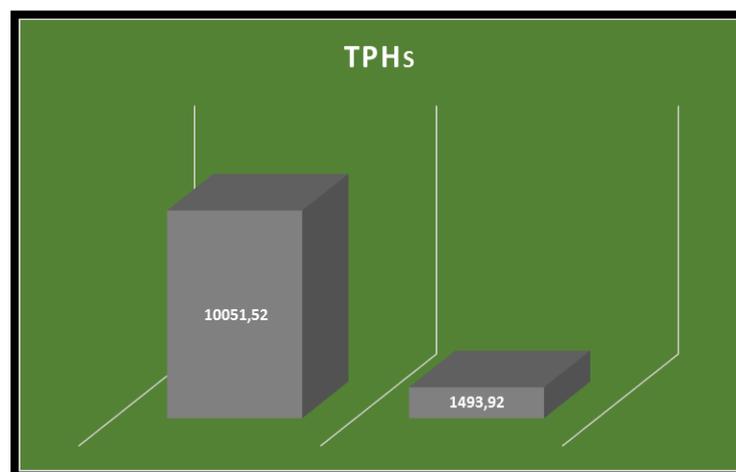


Gráfico 4-4: Nivel de reducción de TPHs con el tratamiento A
Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

En el último lugar se encuentra el tratamiento B correspondiente al hongo *Pleurotus Ostreatus* + bagazo de caña, y suelo contaminado el cual mostro menor capacidad degradativa que el tratamiento C y A.

Este tratamiento redujo los valores de TPHs, desde 10051 ppm hasta 2399,72 ppm. De igual forma este valor se encuentra dentro de los límites permisibles de la tabla 6 del RAHOE-1215

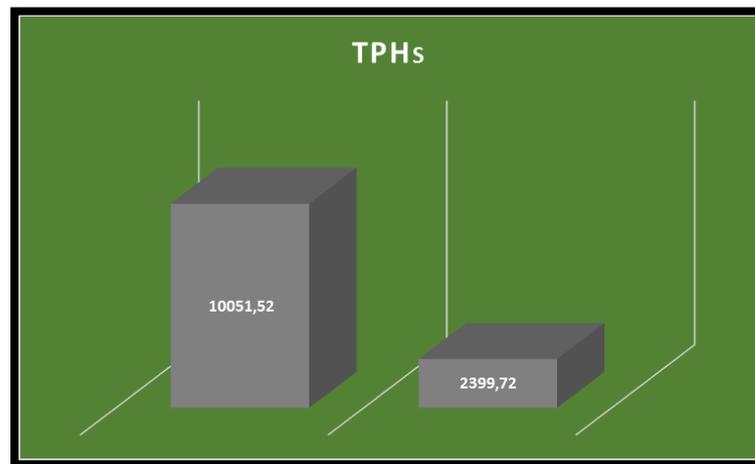


Gráfico 5-4: Nivel de reducción de TPHs con el tratamiento B
Realizado por: Carlos Simbaña, 2015

Todos los tratamientos (A, B, C) fueron altamente efectivos en la degradación de TPHs, reduciendo los valores de Hidrocarburos Totales hasta su ubicación dentro de la norma, considerándolos como suelos remediados.

4.3.- Discusión de resultados

El tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos por biorremediación utilizando el hongo *Pleurotus ostreatus* mostró resultados efectivos, el hongo tiene la capacidad de adaptarse al suelo contaminado debido a las estructuras presentes en el mismo, las cuales tienen similitud a la lignina. La lignina es requerida por el hongo en su desarrollo.

Los valores de TPHs fueron reducidos a niveles inferiores de los límites permisibles, <2500 ppm para suelos agrícolas de acuerdo a la tabla 6 de la RAOHE-1215, por lo que se considera suelo completamente remediado.

Existen investigaciones similares como la desarrollada por (Adenipekun, C. O, Et al, 2013) los cuales realizaron la aplicación del hongo *Pleurotus pulmonaris* sobre suelos contaminados intencionalmente con diésel usado, en concentraciones del 5%,10%,15% peso/volumen. La inoculación de *Pleurotus pulmonaris* en peso fueron de 10 g, los resultaron mostraron, dentro

del lapso de 2 meses que los niveles de carbón se incrementaron desde 7.126 hasta 8.010 en el rango más alto del 15 %, de igual manera hubo un incremento de la materia orgánica, y diferentes nutrientes.

Los Hidrocarburos Totales de Petróleo se redujeron en un porcentaje del 84.41% al 5%, 62,87% al 10 %, y 44,27% al 15%, y ciertos metales pesados, determinando la efectividad del hongo *Pleurotus pulmonaris* en la degradación de los mismos.

(Zitte, L. F, et al, 2015) Llevaron a cabo la investigación en la universidad de Port Harcourt en Nigeria sobre el comportamiento micelial del hongo *Pleurotus ostreatus* en hidrocarburos de petróleo, el cual se encamino a determinación del grado de reducción de las cadenas C-H presentes en el petróleo, el sustrato complementario utilizado fue aserrín, enriquecido con nutrientes para permitir una correcta proliferación. El proceso fue dividido en tres tratamientos, A, B, C, los cuales fueron contaminados intencionalmente respectivamente con 20 ml, 40 ml, 60ml, de petróleo respectivamente.

El experimento fue monitoreado en un lapso de cuatro semanas, luego de las cuales se determinó que el tratamiento A redujo el 90%, el tratamiento B redujo 87%, y el tratamiento C, redujo 85%, por lo que se definió la efectividad del micelio del hongo *Pleurotus ostreatus* en la remediación de sitios contaminados con hidrocarburos en un corto periodo de tiempo, a diferencia de otros métodos convencionales.

De igual forma (Okwujiako, I. A, et al, 2013) realizaron una investigación con el hongo de podredumbre blanca, *Pleurotus florida*, en la degradación de suelos contaminados por combustibles, las muestras de suelo estéril fueron colocadas en sacos de polipropileno (12cm diámetro x 30 alto) las cuales fueron contaminadas con aceite de motor al 5, 10, 15, 20, 25 % (v/w) inoculadas con micelio de *Pleurotus florida* incubados a 28-30°C durante 60 días.

Las muestras fueron analizadas luego de la incubación, las mismas que mostraron variaciones de pH, y reducción de TPH. La cantidad de TPH reducidos fue mayor a una concentración de 5% con un 89,12%, la cual fue reduciéndose secuencialmente de acuerdo a la concentración que aceite de motor que contenía el suelo, llegando a un 65,92%, en una concentración del 25%.

Dando como resultado una relativa diferencia conforme las concentraciones aplicadas por tratamiento, sin embargo en todos los casos los TPH fueron reducidos, considerando al hongo del genero *Pleurotus florida*, con potencial uso en la biorremediación de ambientes contaminados por hidrocarburos.

CONCLUSIONES

- ❖ Mediante la aplicación del hongo *Pleurotus ostreatus* se logró degradar los TPHs presentes en el área contaminada desde una concentración de 10051,52 ppm hasta una concentración de TPHs de 792,62 ppm con el tratamiento más efectivo (C), considerando al suelo como totalmente remediado para uso agrícola de acuerdo a la tabla 6 del Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas en Ecuador.(RAOHE-1215)
- ❖ Los resultados de la caracterización del suelo mostraron una contaminación por TPHs, valores que se ubicaron sobre los límites permisibles establecidos en la tabla 6 del RAOHE con una concentración de TPHs de 10051,59 ppm, mientras la concentración de HAPs fue inferior a los límites permisibles de dicha tabla como para considerarse como contaminado, tampoco se encontró contaminación por metales pesados (Pb, Cd, Ni).
- ❖ El hongo *Pleurotus ostreatus* necesita de un sustrato adecuado para su óptimo desarrollo, por lo que el suelo contaminado tiene que ser acondicionado para permitir la correcta adaptación del micelio y su consecuente propagación, dicho suelo fue acondicionado con tres distintos sustratos y condiciones controladas (pH, T, H), el sustrato más adecuado fue el residual cacao, del cual se obtuvo una mayor adaptación del hongo y mejores resultados.
- ❖ El proceso de biorremediación fue ex-situ (Biopilas), a partir de celdas con capacidad de 2kg, obteniéndose un total de 9 celdas. Otorgando versatilidad de las muestras de suelo contaminado, estas celdas estuvieron revestidas por plástico impermeable para evitar el paso de lixiviados y fueron ubicadas en un invernadero bajo condiciones controladas para el óptimo desarrollo del hongo *Pleurotus ostreatus*.
- ❖ El desarrollo del hongo *Pleurotus ostreatus* requirió de un periodo de 6 semanas desde la inoculación del micelio en el suelo contaminado con hidrocarburos, periodo luego del cual se determinó la efectividad de degradación del hongo *Pleurotus ostreatus* hasta en un 92% con el tratamiento más adecuado sobre los TPHs encontrados en el suelo.

RECOMENDACIONES

- ❖ La caracterización del suelo tiene que realizarse de manera adecuada y cubriendo la mayor proporción del emplazamiento, realizando un muestreo que abarque toda el área para obtener muestras representativas.
- ❖ Las muestras de suelo tomadas tienen que ser transportadas bajo condiciones estrictas, de otro modo puede ocurrir volatilización de compuestos propensos a ella, como los HAPs.
- ❖ Los hongos requieren de un sustrato óptimo para poder desarrollarse por lo que se debe definir el más apropiado, que cumpla con las características que requieren los hongos de podredumbre blanca.
- ❖ El lugar donde se desarrolle la inoculación de la cepa del hongo *Pleurotus ostreatus* tiene que proveer de condiciones adecuadas otorgando un medio estéril, el cual impida la contaminación de la cepa del hongo por agentes adversos
- ❖ Se debe mantener condiciones controladas durante todo el proceso de biorremediación, para obtener los resultados más eficaces posibles.
- ❖ Es importante darle una disposición final al suelo remediado, por ende se puede ubicar el suelo en maceteros para la siembra de plantas ornamentales.

GLOSARIO

CO₂: Dióxido de carbono

ppm: Partes por millón

HAPs: Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos

TPHs: Hidrocarburos Totales de Petróleo

PCBs: Bifenilos Policlorados

MnP: Enzima manganeso peroxidasa

LiP: Enzima lignina peroxidasa

Pleurotus spp: Especies de *Pleurotus*

Humus: sustancia formada a partir de materia orgánica

Fenoles: compuestos orgánicos que poseen anillo aromático.

Aminos: compuestos orgánicos derivados del amoniaco

Hidrofóbico: No presenta afinidad por el agua

PH: Coeficiente de acides o basicidad

BL/D: Barriles diarios

API: Medida de densidad para el petróleo

Alifático: Compuesto orgánico de cadena abierta

Ex-situ: En diferente sitio

N: P: Relación Nitrógeno-Fosforo

TNT: Trinitrotolueno

Cd: Cadmio

Ni: Níquel

Pb: Plomo

°C: Grados centígrados

UA: Unidad de análisis

m²: Metros cuadrados

m³: Metros cúbicos

DCA: Diseño experimental Completo al Azar

msnm: Metros sobre el nivel del mar

BIBLIOGRAFÍA

ACEVEDO, D. *Hongos en la Biorremediación* [blog] [Consulta: 10 Diciembre 2015]. Disponible en: <http://davidysuidioteque.blogspot.com/2010/04/hongos-en-la-biorremediacion.html>

ADENIPEKUN, C. O, et al. Bioremediation of soil contaminated by spent diesel oil using *Pleurotus Pulmonarius* Fries (Quelet) and its effects on the growth of *Corchorus Olitorius* (L). *Journal of Applied Biosciences*, 2013, vol. 68, pp. 5366-5373

AGUDO, A, *Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP) Acercamiento a su problemática como riesgo laboral* [en línea]. España: UGT Comisión Ejecutiva confederal, 2010. [Consulta: 17 Diciembre 2015]. Disponible en: http://portal.ugt.org/saludlaboral/publicaciones/manual_estudio/Hidrocarburos.pdf

ARGENBIO, *La Biotecnología*. [en línea]. Argentina, 2007. [Consulta: 05 Diciembre 2015]. Disponible en: <http://www.argenbio.org/index.php?action=novedades¬e=202>

AMPUDIA BELLING, R. (2014), PETROPERÚ, Continúa remediación ambiental en Cuninico, [Imagen]. Recuperado de: <http://proactivo.com.pe/petroperu-continua-remediacion-ambiental-en-cuninico/>

BASIDIOMYCETE, PRODUCTION OF LIGNINOLYTIC ENZYMES FROM; ON, FUNGI. Producción de enzimas ligninolíticas con hongos basidiomicetos cultivados sobre materiales lignocelulósicos. *Vitae*, 2006, 13(2), pp. 61-67.

BARRENETXEA OROZCO, C, et al. *Contaminación Ambiental*. [ed.] Carmen Lara Carmona. Madrid-España : Paraninfo SA, 2003. págs. 33-328. 9788497321785.

BASAURE, P, *Recuperación de suelos: factores a considerar*. [en línea]. Manualdelombricultura.com. 2007. [Consulta: 02 Diciembre 2015]. Disponible en: <http://www.manualdelombricultura.com/foro/mensajes/14866.html>

BAZÁN, D, et al. " análisis comparativo del cultivo de cepas de *Pleurotus Ostreatus* y *Pleurotus Eringii*" *Rev. Per. Quím. Ing. Quím.* [en línea], 2004, (Perú), 7(1), pp. 25-28. [Consulta 23 enero 2015]. Disponible en: <file:///D:/Downloads/4640-15615-1-PB.pdf>

BELL, E. *Tipos de suelos* [Blog-Ecologista]. [Consulta: 17 Noviembre 2015]. Disponible en: <http://blogecologista.com/tipos-de-suelos/>

CASTAÑEDA CEJA, R. *Contaminación del suelo por hidrocarburos*. [en línea], 2015. [Consulta: 26 noviembre 2015]. Disponible en: <http://es.slideshare.net/raulcc1950/contaminacion-del-suelo-por-hidrocarburos>

CASTRO, M. *Aplicación de la Biorremediación en la descontaminación en el suelo y agua en metales pesados e insecticidas*. [en línea]. prezi.com. 2014. [Consulta: 07 Diciembre 2015]. Disponible en: <https://prezi.com/tdlsljvfyh2g/aplicacion-de-la-biorremediacion-en-la-descontaminacion-en-e/>

CAMACHO MARTÍNEZ, F J. Biorremediación de zonas contaminadas por hidrocarburos empleando hongos comestibles: efecto del antraceno sobre el crecimiento in vitro de *Pleurotus Ostreatus* (Tesis Pregrado) [En línea]. Colegio de postgrados, postgrado en estrategias para el desarrollo agrícola regional, Puebla, México. 2013. pp: 1-44 [Consulta: 11 noviembre 2015]. Disponible en: http://www.biblio.colpos.mx:8080/xmlui/bitstream/10521/2198/1/Camacho_Martinez_FJ_MC_EDAR_2013.pdf

CERRATO, R F, et al. El género *Pleurotus* y su capacidad de crecer en medios de cultivo y suelo con diferentes concentraciones de petróleo. 2007. *El cultivo de setas Pleurotus spp en México*, p. 185.

DÁVILA, R. “Con hongos se crea sistemas de biorremediación para suelos contaminados”. *Journalmex* [en línea]. 2010. [Consulta: 11 Diciembre 2015]. Disponible en: <https://journalmex.wordpress.com/2010/02/19/con-hongos-se-crea-sistemas-de-biorremediacion-para-suelos-contaminados/>

DÉLEY, R. *Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo del campamento sacha 161 utilizando el hongo Pleurotus Ostreatus* (Tesis Pregrado). [en línea]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de ciencias, Escuela de ciencias químicas. Riobamba-Ecuador. 2010. p. 15. [Consulta: 20 Diciembre 2015]. Disponible en: <http://dspace.espech.edu.ec/bitstream/123456789/1627/1/236T0045.pdf>

DÍAZ QUINTERO, J C. Revisión: Degradación de plaguicidas mediante hongos de la pudrición blanca de la madera. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín*, 2011, vol. 64, no 1, p. 5867-5882.

DOMÍNGUEZ, O, et al. Biodegradación de DDT por dos cepas nativas de hongos de la podredumbre blanca DDT. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 2010, vol. 41, pp. 1-12.

EP PETROECUADOR. *Memoria de Sostenibilidad*. Quito-Ecuador : Cassolution, 2015. pp. 27-36.

ENRÍQUEZ, CHUQUÍN, A. Estudio de la Viabilidad de Crecimiento del Hongo *Pleurotus Ostreatus* Aplicado en Inóculo Líquido para Uso en Biorremediación (Tesis). [En línea]. ESPOCH, Facultad de Ciencias, CCQQ. Riobamba, Ecuador. 2013. pp 24-64. [Consulta: 11 noviembre 2015]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2641/1/236T0073.pdf>

FIGUEROA, D, *Estrategias para la recuperación de suelos degradados*. [en línea]. 2004. [Consulta: 01 Diciembre 2015]. Disponible en: <http://www.interempresas.net/Horticola/Articulos/73362-Estrategias-para-la-recuperacion-de-suelos-degradados.html>

FISICANET, Densidades de ciertos hidrocarburos, [en línea]. 2000. Disponible en: http://www.fisicanet.com.ar/fisica/estatica_fluidos/ap05_densidad.php

FLOREIRO MALDONADO, E A, *Landfarming biorremediación*. [en línea] Es.slideshare.net. 2014. [Consulta: 22 Diciembre 2015] Disponible en: <http://es.slideshare.net/erlanandresfloreromaldonado/landfarming-biorremediacion>

FUNDACIÓN GERMEN DE PAZ, *Características de la Orellana*. [Orellanasdepaz.blogspot.com]. 2010. [Consulta: 28 Diciembre 2015]. Disponible en: <http://orellanasdepaz.blogspot.com/2010/04/caracteristicas-de-la-orellana.html>

FUENTES, J *Pleurotus Ostreatus Hábitat*. [Imagen]. Recuperado de: http://www.granadanatural.com/ficha_hongos.php?cod=234

GAYOSSO CANALES, M., et al. Evaluación de la actividad enzimática de *Pleurotus Ostreatus* en presencia de Bifenilos Policlorados en: El cultivo de setas *Pleurotus spp* en México. [En línea]. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México. 2007. pp 191-196. Editores Sánchez-Vázquez, J.E., Martínez Carrera, D., Mata, G. y Leal Lara, H. ECOSUR. Preprinted. [Consulta: 11 noviembre 2015]. Disponible en: http://www.uaeh.edu.mx/investigacion/icap/LI_BiotHongos/Martha_Gayo/6.pdf

IGNACIO, *Reino Fungi*. [Biologicalatina.blogspot.com] 2009. [Consulta: 24 Diciembre 2015]. Disponible en: <http://biologicalatina.blogspot.com/2009/01/reino-fungi-en-este-reino-comienzan.html>

KOYNE, M, *Microbiología del suelo*. Translated by: Martin Rasskin. Madrid-España: S.A Ediciones Paraninfo, 2000. pp. 290-291. 8428326487

KUHAR, F, et al. " Reino Fungi: Morfologías y estructuras de los hongos". *Revista Boletín Biológica* [En línea]. 2013. (Argentina). (28), p. 11. [Consulta: 20 Diciembre 2015] Disponible en: <http://www.boletinbiologica.com.ar/pdfs/N28/kuhar%28teoria28%29.pdf.pdf>

LUNA, N. *Hongos para degradar hidrocarburos*. [en línea]. Unsam.edu.ar. 2013. [Consulta: 11 Diciembre 2015]. Disponible en: <http://www.unsam.edu.ar/tss/hongos-contra-la-contaminacion/>

LULEY, J, *Identificación del tipo de pudrición de la madera y hongos xilófagos en árboles urbanos*. Translated by: Jacobo Llorens. ISA Hispana. 2006. [Consulta: 27 de Diciembre 2015]. Disponible en: <http://www.isahispana.com/treecare/articles/decay-fungi.aspx>

MAFEBRU, *Todo Acerca del Petróleo*. [Tuamigoelpetroleo.blogspot.com]. 2006. [Consulta: 16 Diciembre 2015]. Disponible en: <http://tuamigoelpetroleo.blogspot.com/>

MARTÍNEZ, V E., et al. Efecto de hidrocarburos en las propiedades físicas y químicas de suelo arcilloso. *Terra latinoamericana*, 2001, vol. 19, no 1, pp. 9-17.

MENDOZA, A, *El petróleo e hidrocarburos*. [en línea]. Es.slideshare.net. 2012. [Consulta: 15 Diciembre 2015]. Disponible en: <http://es.slideshare.net/DarkYoshi0307/el-petrleo-e-hidrocarburos>

MÉNDEZ, Á. *Hidrocarburos alifáticos*. [en línea]. Quimica.laguia2000.com. 2010. [Consulta: 15 Diciembre 2015]. Disponible en: <http://quimica.laguia2000.com/conceptos-basicos/hidrocarburos-alifaticos>

MÉNDEZ, Á. *Hidrocarburos aromáticos*. [en línea]. Quimica.laguia2000.com. 2010. [Consulta: 15 Diciembre 2015]. Disponible en: <http://quimica.laguia2000.com/quimica-organica/hidrocarburos-aromaticos>

MORÁN, J.L. “*La Observación*”, Contribuciones a la Economía, 2007. Disponible en: <http://www.eumed.net/ce/2007b/jlm.htm>

OKWUJIAKO, I. A.; et al. Mycoremediation of engine oil-polluted soil using the white rot fungus, *Pleurotus Florida* (Mont.) Singer, an edible fungus. *Research Journal of Agriculture and Environmental Management*. 2013, 2(11), pp. 354-357.

ORTIZ BERNAD, I, et al. *Técnicas de recuperación de suelos contaminados* [en línea]. España: Sistema Madrid, 2010, pp.23-30 [Consulta: 04 Diciembre 2015]. Disponible en: <http://www.revistavirtualpro.com/biblioteca/tecnicas-de-recuperacion-de-suelos-contaminados>

OSINAGA, N. *Biorremediación de suelos, agua y aire*. [en línea]. Es.slideshare.net. 2011. [Consulta: 07 Diciembre 2015]. Disponible en: <http://es.slideshare.net/nataliaosinaga/biorremediacion-de-suelos-agua-y-aire>

PASTRANA, S (2006). Horizontes del suelo [Dibujo]. Recuperado de: [http://enciclopedia.us.es/index.php/Archivo:Horizontes del suelo.png](http://enciclopedia.us.es/index.php/Archivo:Horizontes_del_suelo.png)

PAMELA. *La contaminación de los suelos: la contaminación de los suelos en el ecuador*. [Contaminacion-suelos-agua.blogspot.com]. [Consulta: 18 Noviembre 2015]. Disponible en: <http://contaminacion-suelos-agua.blogspot.com/2010/07/la-contaminacion-de-los-suelos-en-el.html>

PERNÍA, B, et al. Biodiversidad y potencial hidrocarbonoclástico de hongos aislados de crudo y sus derivados: Un meta-análisis. *Rev Latinoam Biotecnol Amb Algal*, 2012, vol. 3, no 1, pp. 1-40.

PEREZ ARIAS, J D. *SOBRE VIVIR- La huella nefasta de Texaco en el Ecuador.* Ecuador : Imprenta Mariscal, 2015. p. 15. 9789942210883.

PUGA, S, et al. Contaminación por metales pesados en suelo provocada por la industria minera: Heavy metals pollution in soils damaged by mining industry. *Ecología Aplicada*, 2006, vol. 5, no 1-2, p. 149-155.

RAHOE 1215, *Reglamento Ambiental para Operaciones Hidrocarburíferas Ecuador*, Decreto 1215, 2001

RAMÍREZ, M. *Tipos de transporte de hidrocarburos.* [en línea]. 2013. [Consulta: 29 noviembre 2015]. Disponible en: <http://es.slideshare.net/meelyramirez/tipos-de-transporte-de-hidrocarburos>

ROBLES-HERNÁNDEZ, L, et al. Review of environmental organopollutants degradation by white-rot basidiomycete mushrooms. *Tecnociencia Chihuahua*, 2008, vol. 2, no 1, pp. 32-39.

SABROSO GONZALES, M y PASTOR EIXARCH, A, *Guía sobre suelos contaminados* [en línea] Zaragoza-España, 2004. CEPYME Aragón. [Consulta: 19 de Noviembre 2015]. Disponible en: http://www.conectapyme.com/files/medio/guia_suelos_contaminados.pdf

SÁNCHEZ, J y ROYSE, D. *La biología y el cultivo de Pleurotus spp.* [en línea]. Mexico : UTEHA, 2001. pp. 59-66. [Consulta: 16 Diciembre 2015]. Disponible en: <http://mushroomtime.org/wp-content/uploads/2014/06/01-La-biologia-y-el-cultivo-de-Pleurotus-spp.-S%C3%83%C2%81NCHEZ-J.-y-ROYSE-D.-ECOSUR-.pdf>

SÁNCHEZ, J E., et al. El sustrato degradado por *Pleurotus Pulmonarius* para la degradación del insecticida endosulfán. 2011. *El cultivo de setas Pleurotus spp en México*, p. 199.

SHUKLA PRASAD, K, et al. "Bioremediation: Developments, Current Practices and Perspectives". *Genetic Engineering and Biotechnology Journal* [en línea], 2010, pp. 3-4. [Consulta: 24 Diciembre 2015]. Disponible en: http://astonjournals.com/manuscripts/Vol2010/GEBJ-3_Vol2010.pdf

SOLANAS, A M *La biodegradación de hidrocarburos y su aplicación en la biorremediación de suelos* [en línea]. Barcelona-España.2009. [Consulta: 20 Diciembre 2015]. Disponible en: <http://congress.cimne.com/zns09/admin/files/filepaper/p422.pdf>

TARACOA, Gobierno Parroquial, *Ubicación de la Parroquia Taracoa en Orellana*. [en línea]. Ecuador, 2014. [Consulta: 03 febrero 2016]. Disponible en: http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/ciencias/2000352/html/un1/cont_101-01.html

TARAZONA, I. *Los hongos y la contaminación* [Cesta y Setas, blog & tienda de setas y micología]. [Consulta: 15 Noviembre 2015]. Disponible en: <http://www.cestaysetas.com/los-hongos-y-la-contaminacion/>

TORRES DELGADO, K Y ZULUAGA MONTOYA, T. Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos [en línea] (tesis) Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Minas, Ingeniería Química. Medellín, Colombia.2009.pp.32-33. [Consulta: 2015-11-27]. Disponible en: http://www.bdigital.unal.edu.co/815/1/32242005_2009.pdf

TORRES, C. “ Degradación de plaguicidas por el sistema de lacasa-mediador de Coriolopsis Gallicais”. *XII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería*. [en línea]. 2007. México. [Consulta: 28 Diciembre 2015]. Disponible en: http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/morelia07/TRABAJOS/Area_I/Carteles/CI-3.pdf

TOLEDANO, M, *Hongos de la podredumbre blanca*. [en línea]. prezi.com. 2012. [Consulta: 28 Diciembre 2015]. Disponible en: <https://prezi.com/ribc35kzxcnc/hongos-de-la-podedumbre-blanca/>

ZITTE, L. F.; et al. Effect of oyster mushroom (*Pleurotus Ostreatus*) mycelia on petroleum hydrocarbon contaminated substrate. *Journal of Agriculture and Social Research (JASR)*, 2015, 12(2), pp. 115-121.

ANEXOS

Anexo A: Área contaminada



Anexo B: Hidrocarburos en el suelo



Anexo C: Toma de muestra compuesta



Anexo D: Secado de sustratos



Anexo E: Pesaje se trigo con *P.Ostreatus*



Anexo F: *Pleurotus ostreatus* en nuevo sustrato



Anexo G: *Pleurotus ostreatus* en suelo contaminado



Anexo H: Cuerpo fructífero *P.Ostreatus* en suelo contaminado



Anexo I: Remojo de sustrato



Anexo J: Trigo invadido por *P.Ostreatus*



Anexo K: *P. Ostreatus* en sustrato sin suelo contaminado



Anexo L: *P. Ostreatus* en pleno desarrollo



Anexo M: *P.Ostreatus* en su máximo desarrollo (Etapa de reproducción)



Anexo N: Observación de las características del sustrato



Anexo Ñ: Información nutricional *P. Ostreatus*

	Cantidades por porción (100g.)	% Recomendado diario
Calorías		33
Grasas totales	0g	0%
Grasas saturadas	0g	0%
Colesterol	0mg	0%
Sodio	33mg	1%
Total Carbohidratos	3g	1%
Fibra dietética	< 1g	3%
Azúcares	< 1g	
Proteínas	4.4g	
Vitamina A		0%
Vitamina C		0%
Calcio		0%
Hierro		0%

Anexo O: Resultados de los análisis de caracterización del suelo



Laboratorios de Análisis y Evaluación Ambiental

INFORME DE ENSAYO N°: 3851

SR. CARLOS SIMBAÑA

Dirección: Coca.

SAS: 16-003

Código de Muestra: s 0471

Identificación: Suelo Compuesto, Taracoa.

Parámetros, métodos y resultados:

Parámetros	Método de Ensayo	Referencia	Uso Agrícola ²⁾	Uso Industrial ³⁾	Ecosistemas Sensibles ⁴⁾	Unidad ¹⁾	s 0471	Incertidumbre (K = 2)
*Potencial de Hidrogeno	ITE-AQLAB-52	EPA 9045 D	**	**	**	~	7,42	~
*Cadmio	ITE-AQLAB-34	SM 3030 B, 3111 B	< 2	< 10	< 1	mg/Kg	< 1,5	~
*Níquel	ITE-AQLAB-43	SM 3030 B, 3111 B	< 50	< 100	< 40	mg/Kg	14,84	~
*Plomo	ITE-AQLAB-45	SM 3030 B, 3111 B	< 100	< 500	< 80	mg/Kg	13,44	~

Fuente: Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas, Decreto 1215, febrero del 2001.

Tabla # 6: Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicio.

1). Expresado en base de sustancia seca (gravimétrico; 105°C, 24 horas).

2). Valores límites permisibles enfocados en la protección de suelos y cultivos.

3). Valores límites permisibles para sitios de uso industrial (construcción, etc.).

4). Valores límites permisibles para la protección de ecosistemas sensibles tales como Patrimonio Nacional de Áreas Naturales y otros identificados en el correspondiente Estudio Ambiental.

** No contemplado en la norma




Ing. Nelson Shiguango

ASISTENTE DE LA DIRECCIÓN TÉCNICA

Los ensayos marcados con (*) no están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.

El informe sólo afecta a la muestra sometida a ensayo. Prohibida la reproducción total o parcial por cualquier medio sin el permiso escrito del laboratorio

Calle Juan Huncite y Fray Gregorio de Alumina, detrás de Concesionario Mazda. Barrio Con Hogar.

e-mail: laboratorio@aqlabec.com · web: www.aqlabec.com Teléfono: (593) 6 2881715 Celular: 0991666858

MC2301-02

Página 1 de 1

INFORME DE ENSAYO N°: 3497

SR. CARLOS SIMBAÑA

Solicitado por: Sr. Carlos Simbaña.
Dirección: Coca.

SAS: 15-142

Fecha y hora de ingreso al laboratorio:	2015/10/29 14:54	Fecha final de Análisis	2015/11/14	T máx: 32°C T mín: 21°C
Toma de muestra:	Sr. Carlos Simbaña	Fecha y Hora	2015/10/29	10:30

Código de Muestra: s 0451

Identificación: Suelo, # 01 a 25 cm de profundidad, Parroquia Taracoa.

Parámetros, métodos y resultados:

Parámetros	Método de Ensayo	Referencia	Uso Agrícola ²⁾	Uso Industrial ³⁾	Ecosistemas Sensibles ⁴⁾	Unidad ¹⁾	s 0451	Incertidumbre (K = 2)
*Hidrocarburos totales	ITE-AQLAB-56	EPA 3550 B, 418.1	< 2 500	< 4 000	< 1 000	mg/Kg	1 649,47	~
*Hidrocarburos aromáticos	ITE-AQLAB-55	EPA 8270B,3550 C, 3630 C	< 2	< 5	< 1	mg/Kg	< 0,10	~

Fuente: Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas, Decreto 1215, febrero del 2001;

Tabla # 6: Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicio.

1). Expresado en base de sustancia seca (gravimétrico; 105°C, 24 horas).

2). Valores límites permisibles enfocados en la protección de suelos y cultivos.

3). Valores límites permisibles para sitios de uso industrial (construcción, etc.).

4). Valores límites permisibles para la protección de ecosistemas sensibles tales como Patrimonio Nacional de Áreas Naturales y otros identificados en el correspondiente Estudio Ambiental.




Ing. Armando Meléndrez
DIRECTOR TÉCNICO

Francisco de Orellana, 23 de noviembre de 2015

Los ensayos marcados con (*) no están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.

El informe sólo afecta a la muestra sometida a ensayo. Prohibida la reproducción total o parcial por cualquier medio sin el permiso escrito del laboratorio

Calle Juan Huncite y Fray Gregorio de Alumina, detrás de Concesionario Mazda. Barrio Con Hogar.

e-mail: laboratorio@aqlabec.com · web: www.aqlabec.com Teléfono.: (593) 6 2881715 Celular: 0991666858

INFORME DE ENSAYO N°: 3498

SR. CARLOS SIMBAÑA

Solicitado por: Sr. Carlos Simbaña.
Dirección: Coca.

SAS: 15-142

Fecha y hora de ingreso al laboratorio:	2015/10/29 14:54	Fecha final de Análisis	2015/11/14	T máx: 32°C T mín: 21°C
Toma de muestra:	Sr. Carlos Simbaña	Fecha y Hora	2015/10/29	10:51

Código de Muestra: s 0452

Identificación: Suelo, # 02 a 50 cm de profundidad, Parroquia Taracoa.

Parámetros, métodos y resultados:

Parámetros	Método de Ensayo	Referencia	Uso Agrícola 2)	Uso Industrial 3)	Ecosistemas Sensibles 4)	Unidad 1)	s 0452	Incertidumbre (K = 2)
*Hidrocarburos totales	ITE-AQLAB-56	EPA 3550 B, 418.1	< 2 500	< 4 000	< 1 000	mg/Kg	8 437,07	~
*Hidrocarburos aromáticos	ITE-AQLAB-55	EPA 8270B,3550 C, 3630 C	< 2	< 5	< 1	mg/Kg	0,27	~

Fuente: Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas, Decreto 1215, febrero del 2001;

Tabla # 6: Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicio.

1). Expresado en base de sustancia seca (gravimétrico; 105°C, 24 horas).

2). Valores límites permisibles enfocados en la protección de suelos y cultivos.

3). Valores límites permisibles para sitios de uso industrial (construcción, etc.).

4). Valores límites permisibles para la protección de ecosistemas sensibles tales como Patrimonio Nacional de Áreas Naturales y otros identificados en el correspondiente Estudio Ambiental.



Ing. Armando Meléndrez
DIRECTOR TÉCNICO

Francisco de Orellana, 23 de noviembre de 2015

Los ensayos marcados con (*) no están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.

El informe sólo afecta a la muestra sometida a ensayo. Prohibida la reproducción total o parcial por cualquier medio sin el permiso escrito del laboratorio

Calle Juan Huncite y Fray Gregorio de Aluminia, detrás de Concesionario Mazda. Barrio Con Hogar.

e-mail: laboratorio@aqlabec.com · web: www.aqlabec.com Teléfono.: (593) 6 2881715 Celular: 0991666858

INFORME DE ENSAYO N°: 3503

SR. CARLOS SIMBAÑA

Solicitado por: Sr. Carlos Simbaña.
Dirección: Coca.

SAS: 15-142

Fecha y hora de ingreso al laboratorio:	2015/10/29 14:54	Fecha final de Análisis	2015/11/14	T máx: 32°C T mín: 21°C
Toma de muestra:	Sr. Carlos Simbaña	Fecha y Hora	2015/10/29	11:02

Código de Muestra: s 0453

Identificación: Suelo, # 03 a 100 cm de profundidad, Parroquia Taracoa.

Parámetros, métodos y resultados:

Parámetros	Método de Ensayo	Referencia	Uso Agrícola ²⁾	Uso Industrial ³⁾	Ecosistemas Sensibles ⁴⁾	Unidad ¹⁾	s 0453	Incertidumbre (K = 2)
*Hidrocarburos totales	ITE-AQLAB-56	EPA 3550 B, 418.1	< 2 500	< 4 000	< 1 000	mg/Kg	10 051,52	~
*Hidrocarburos aromáticos	ITE-AQLAB-55	EPA 8270B,3550 C, 3630 C	< 2	< 5	< 1	mg/Kg	0,18	~

Fuente: Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas, Decreto 1215, febrero del 2001;

Tabla # 6: Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicio.

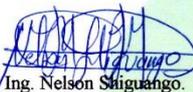
1). Expresado en base de sustancia seca (gravimétrico; 105°C, 24 horas).

2). Valores límites permisibles enfocados en la protección de suelos y cultivos.

3). Valores límites permisibles para sitios de uso industrial (construcción, etc.).

4). Valores límites permisibles para la protección de ecosistemas sensibles tales como Patrimonio Nacional de Áreas Naturales y otros identificados en el correspondiente Estudio Ambiental.




Ing. Nelson Shiguango.

ASISTENTE DE LA DIRECCIÓN TÉCNICA

Francisco de Orellana, 23 de noviembre de 2015

Los ensayos marcados con (*) no están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.

El informe sólo afecta a la muestra sometida a ensayo. Prohibida la reproducción total o parcial por cualquier medio sin el permiso escrito del laboratorio

Calle Juan Huncite y Fray Gregorio de Alumina, detrás de Concesionario Mazda, Barrio Con Hogar.

e-mail: laboratorio@aqlabec.com · web: www.aqlabec.com Teléfono.: (593) 6 2881715 Celular: 0991666858

MC2301-02

Página 1 de 1

Anexo P: Resultados de los análisis por tratamiento



Laboratorios de Análisis y Evaluación Ambiental

INFORME DE ENSAYO N°: 3620

SR. CARLOS SIMBAÑA

Solicitado por: Sr. Carlos Simbaña.
Dirección: Coca.

SAS: 15-150

Fecha y hora de ingreso al laboratorio:	2015/12/14 11:09	Fecha final de Análisis	2015/12/18	T máx: 32°C T mín: 22°C
Toma de muestra:	Sr. Carlos Simbaña	Fecha y Hora	2015/12/13	No proporcionado

Código de Muestra: s 0463

Identificación: Suelo, Con Sustrato # 1.

Parámetros, métodos y resultados:

Parámetros	Método de Ensayo	Referencia	Uso Agrícola ²⁾	Uso Industrial ³⁾	Ecosistemas Sensibles ⁴⁾	Unidad ¹⁾	s 0463	Incertidumbre (K = 2)
*Hidrocarburos totales	ITE-AQLAB-56	EPA 3550 B, 418.1	< 2 500	< 4 000	< 1 000	mg/Kg	1 474,24	~
*Hidrocarburos aromáticos	ITE-AQLAB-55	EPA 8270B,3550 C, 3630 C	< 2	< 5	< 1	mg/Kg	< 0,10	~

Fuente: Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas, Decreto 1215, febrero del 2001;

Tabla # 6: Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicio.

1). Expresado en base de sustancia seca (gravimétrico; 105°C, 24 horas).

2). Valores límites permisibles enfocados en la protección de suelos y cultivos.

3). Valores límites permisibles para sitios de uso industrial (construcción, etc.).

4). Valores límites permisibles para la protección de ecosistemas sensibles tales como Patrimonio Nacional de Áreas Naturales y otros identificados en el correspondiente Estudio Ambiental.



Ing. Armando Mejéndrez
DIRECTOR TÉCNICO

Francisco de Orellana, 18 de diciembre de 2015

Los ensayos marcados con (*) no están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.

El informe sólo afecta a la muestra sometida a ensayo. Prohibida la reproducción total o parcial por cualquier medio sin el permiso escrito del laboratorio

Calle Juan Huncite y Fray Gregorio de Aluminia, detrás de Concesionario Mazda. Barrio Con Hogar.

e-mail: laboratorio@aqlabec.com · web: www.aqlabec.com Teléfono.: (593) 6 2881715 Celular: 0991666858

MC2301-02

Página 1 de 1

INFORME DE ENSAYO N°: 3621

SR. CARLOS SIMBAÑA

Solicitado por: Sr. Carlos Simbaña.
Dirección: Coca.

SAS: 15-150

Fecha y hora de ingreso al laboratorio:	2015/12/14 11:09	Fecha final de Análisis	2015/12/18	T máx: 32°C T mín: 22°C
Toma de muestra:	Sr. Carlos Simbaña	Fecha y Hora	2015/12/13	No proporcionado

Código de Muestra: s 0464

Identificación: Suelo, Con Sustrato # 2.

Parámetros, métodos y resultados:

Parámetros	Método de Ensayo	Referencia	Uso Agrícola ₂₎	Uso Industrial ₃₎	Ecosistemas Sensibles ₄₎	Unidad ₁₎	s 0464	Incertidumbre (K = 2)
*Hidrocarburos totales	ITE-AQLAB-56	EPA 3550 B, 418.1	< 2 500	< 4 000	< 1 000	mg/Kg	2 392,71	~
*Hidrocarburos aromáticos	ITE-AQLAB-55	EPA 8270B,3550 C, 3630 C	< 2	< 5	< 1	mg/Kg	< 0,10	~

Fuente: Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas, Decreto 1215, febrero del 2001;

Tabla # 6: Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicio.

- 1). Expresado en base de sustancia seca (gravimétrico; 105°C, 24 horas).
- 2). Valores límites permisibles enfocados en la protección de suelos y cultivos.
- 3). Valores límites permisibles para sitios de uso industrial (construcción, etc.).
- 4). Valores límites permisibles para la protección de ecosistemas sensibles tales como Patrimonio Nacional de Áreas Naturales y otros identificados en el correspondiente Estudio Ambiental.



Armando Meléndrez
Ing. Armando Meléndrez
DIRECTOR TÉCNICO

Francisco de Orellana, 18 de diciembre de 2015

Los ensayos marcados con (*) no están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.

El informe sólo afecta a la muestra sometida a ensayo. Prohibida la reproducción total o parcial por cualquier medio sin el permiso escrito del laboratorio

Calle Juan Huncite y Fray Gregorio de Aluminia, detrás de Concesionario Mazda. Barrio Con Hogar.

e-mail: laboratorio@aqlabec.com · web: www.aqlabec.com Teléfono.: (593) 6 2881715 Celular: 0991666858

INFORME DE ENSAYO N°: 3622

SR. CARLOS SIMBAÑA

SAS: 15-150

Solicitado por: Sr. Carlos Simbaña.
Dirección: Coca.

Fecha y hora de ingreso al laboratorio:	2015/12/14 11:09	Fecha final de Análisis	2015/12/18	T máx: 32°C T mín: 22°C
Toma de muestra:	Sr. Carlos Simbaña	Fecha y Hora	2015/12/13	No proporcionado

Código de Muestra: s 0465

Identificación: Suelo, Con Sustrato # 3.

Parámetros, métodos y resultados:

Parámetros	Método de Ensayo	Referencia	Uso Agrícola ²⁾	Uso Industrial ³⁾	Ecosistemas Sensibles ⁴⁾	Unidad ¹⁾	s 0465	Incertidumbre (K = 2)
*Hidrocarburos totales	ITE-AQLAB-56	EPA 3550 B, 418.1	< 2 500	< 4 000	< 1 000	mg/Kg	788,42	~
*Hidrocarburos aromáticos	ITE-AQLAB-55	EPA 8270B,3550 C, 3630 C	< 2	< 5	< 1	mg/Kg	< 0,10	~

Fuente: Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas, Decreto 1215, febrero del 2001;

Tabla # 6: Límites permisibles para la identificación y remediación de suelos contaminados en todas las fases de la industria hidrocarburífera, incluidas las estaciones de servicio.

1). Expresado en base de sustancia seca (gravimétrico; 105°C, 24 horas).

2). Valores límites permisibles enfocados en la protección de suelos y cultivos.

3). Valores límites permisibles para sitios de uso industrial (construcción, etc.).

4). Valores límites permisibles para la protección de ecosistemas sensibles tales como Patrimonio Nacional de Áreas Naturales y otros identificados en el correspondiente Estudio Ambiental.



Ing. Armando Meléndrez
DIRECTOR TÉCNICO

Francisco de Orellana, 18 de diciembre de 2015

Los ensayos marcados con (*) no están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE.

El informe sólo afecta a la muestra sometida a ensayo. Prohibida la reproducción total o parcial por cualquier medio sin el permiso escrito del laboratorio

Calle Juan Huncite y Fray Gregorio de Aluminia, detrás de Concesionario Mazda. Barrio Con Hogar.

e-mail: laboratorio@aqlabec.com · web: www.aqlabec.com · Teléfono.: (593) 6 2881715 Celular: 0991666858