	MACROPROCESO DE APOYO	CÓDIGO: AAAR113
	PROCESO GESTIÓN APOYO ACADÉMICO	VERSIÓN: 3
	DESCRIPCIÓN, AUTORIZACIÓN Y LICENCIA DEL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	VIGENCIA: 2017-11-16
		PAGINA: 1 de 9

16.

FECHA martes, 26 de septiembre de 2018

Señores
UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA
 BIBLIOTECA
 Ciudad

UNIDAD REGIONAL	Seccional Girardot
TIPO DE DOCUMENTO	Trabajo De Grado
FACULTAD	Ciencias Agropecuarias
NIVEL ACADÉMICO DE FORMACIÓN O PROCESO	Pregrado
PROGRAMA ACADÉMICO	Ingeniería Ambiental

El Autor(Es):

APELLIDOS COMPLETOS	NOMBRES COMPLETOS	No. DOCUMENTO DE IDENTIFICACIÓN
Castaño Zambrano	Paola Andrea	1108834222
Rodríguez Rodríguez	Lucely Paola	1072428290

Diagonal 18 No. 20-29 Fusagasugá – Cundinamarca
 Teléfono (091) 8281483 Línea Gratuita 018000976000
www.ucundinamarca.edu.co E-mail: info@ucundinamarca.edu.co
 NIT: 890.680.062-2

*Documento controlado por el Sistema de Gestión de la Calidad
 Asegúrese que corresponde a la última versión consultando el Portal Institucional*



**MACROPROCESO DE APOYO
PROCESO GESTIÓN APOYO ACADÉMICO
DESCRIPCIÓN, AUTORIZACIÓN Y LICENCIA DEL
REPOSITORIO INSTITUCIONAL**

**CÓDIGO: AAAR113
VERSIÓN: 3
VIGENCIA: 2017-11-16
PAGINA: 2 de 9**

Director(Es) y/o Asesor(Es) del documento:

APELLIDOS COMPLETOS	NOMBRES COMPLETOS
Suarez Pulido	Dalia Xiomara
Gutierrez Ulloa	Carlos Emilio

TÍTULO DEL DOCUMENTO

Evaluación de la Bioestimulación en la Degradación de Hidrocarburos Totales de Petróleo (HTP) de Lodos Provenientes de una Estación de Servicio del Municipio de Girardot – Cundinamarca.

SUBTÍTULO

(Aplica solo para Tesis, Artículos Científicos, Disertaciones, Objetos Virtuales de Aprendizaje)

TRABAJO PARA OPTAR AL TÍTULO DE:

Aplica para Tesis/Trabajo de Grado/Pasantía

Ingeniera ambiental

AÑO DE EDICION DEL DOCUMENTO

21/09/2018


NÚMERO DE PÁGINAS

DESCRIPTORES O PALABRAS CLAVES EN ESPAÑOL E INGLÉS (Usar 6 descriptores o palabras claves)

ESPAÑOL	INGLÉS
1. biorremediación	bioremediation
2. bioestimulación	bioestimulation
3. hidrocarburos totales de petróleo	Total Petroleum Hydrocarbons
4. residuos peligrosos	dangerous residues
5. lodos	sludge
6. degradación	degradation

Diagonal 18 No. 20-29 Fusagasugá – Cundinamarca
Teléfono (091) 8281483 Línea Gratuita 018000976000
www.ucundinamarca.edu.co E-mail: info@ucundinamarca.edu.co
NIT: 890.680.062-2

*Documento controlado por el Sistema de Gestión de la Calidad
Asegúrese que corresponde a la última versión consultando el Portal Institucional*

	MACROPROCESO DE APOYO	CÓDIGO: AAAR113
	PROCESO GESTIÓN APOYO ACADÉMICO	VERSIÓN: 3
	DESCRIPCIÓN, AUTORIZACIÓN Y LICENCIA DEL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	VIGENCIA: 2017-11-16
		PAGINA: 3 de 9

RESUMEN DEL CONTENIDO EN ESPAÑOL E INGLÉS
(Máximo 250 palabras – 1530 caracteres, aplica para resumen en español):

Este trabajo evaluó la eficiencia de la bioestimulación frente a la atenuación natural en la degradación de Hidrocarburos Totales de Petróleo (HTP) en lodos provenientes de una estación de servicio del municipio de Girardot, permitiendo proporcionar a las estaciones de servicio una guía metodológica de tratamiento y disposición final de tales residuos peligrosos. Así, se evaluaron cuatro tratamientos experimentales, sobre lodos provenientes de la Estación de Servicio Terpel Agro S.A de Girardot. Para la bioestimulación bacteriana se adicionó Urea ($CO(NH_2)_2$), Fosfato Dibásico de Potasio (K_2HPO_4) y hojarasca.

La concentración de HTP, la humedad, nutrientes, metales pesados y microorganismos presentes en el lodo se determinaron experimentalmente a través de protocolos acreditados y estandarizados en la Dirección de Laboratorio e Innovación Ambiental (DLIA).

Los resultados obtenidos permiten observar la degradación del HTP en todos los tratamientos resaltando que en los bioestimulados se presentó una degradación mayor frente al tratamiento control o de atenuación natural. En el tratamiento suplementado con Fosfato dibásico de Potasio y Urea, se observa una degradación del 96,8 % siendo el tratamiento más adecuado para la implementación de la técnica de bioestimulación. Los demás tratamientos tuvieron porcentajes de remoción del 74%, 93,9% y 78,4 % respectivamente. Comparado con el tratamiento control en el cual se obtuvo una remoción del 41,4%. A partir de los resultados obtenidos se generó una Guía Metodológica con el tratamiento donde hubo mayor remoción, con el fin de que en las Estaciones de servicio apliquen la metodología.

Abstrac.

Executive Summary

This work evaluated the efficiency of biostimulation compared to natural care in the degradation of Total Oil Hydrocarbons (TPH) in sludge from a service station in the municipality of Girardot, which allows service stations a methodological working guide and final disposal of dangerous waste stories. Thus, four experimental treatments were



MACROPROCESO DE APOYO
PROCESO GESTIÓN APOYO ACADÉMICO
DESCRIPCIÓN, AUTORIZACIÓN Y LICENCIA DEL
REPOSITORIO INSTITUCIONAL

CÓDIGO: AAAR113
VERSIÓN: 3
VIGENCIA: 2017-11-16
PAGINA: 4 de 9

evaluated, on sludge from the Terpel Agro S. A Service Station in Girardot. Urea ($[(CO(NH)_2)_2]$), Dibasic Potassium Phosphate ($(K_2[HPO_4])$) and litter were added for bacterial biostimulation.

The concentration of HTP, moisture, nutrients, heavy metals and microorganisms present in the sludge were determined experimentally through accredited and standardized protocols in the Laboratory and Environmental Innovation Department (DLIA).

The results allowed us to observe the degradation of the HTP in all the treatments that highlighted that the biostimulants presented a greater degradation compared to the control of the treatment or of natural attenuation. In the treatment supplemented with Dibasic Phosphate of Potassium and Urea, a degradation of 96.8% was observed, being the most appropriate treatment for the implementation of the biostimulation technique. The other treatments had percentages of removal of 74%, 93.9% and 78.4% respectively. Compared with the control of employment in which a removal of 41.4% was obtained. Based on the results obtained, a Methodological Guide was generated with the treatment in which there was a greater removal, in order that in the Service Stations applicable to the Methodology.



MACROPROCESO DE APOYO	CÓDIGO: AAAR113
PROCESO GESTIÓN APOYO ACADÉMICO	VERSIÓN: 3
DESCRIPCIÓN, AUTORIZACIÓN Y LICENCIA DEL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	VIGENCIA: 2017-11-16
	PAGINA: 5 de 9

AUTORIZACION DE PUBLICACIÓN

Por medio del presente escrito autorizo (Autorizamos) a la Universidad de Cundinamarca para que, en desarrollo de la presente licencia de uso parcial, pueda ejercer sobre mí (nuestra) obra las atribuciones que se indican a continuación, teniendo en cuenta que, en cualquier caso, la finalidad perseguida será facilitar, difundir y promover el aprendizaje, la enseñanza y la investigación.

En consecuencia, las atribuciones de usos temporales y parciales que por virtud de la presente licencia se autoriza a la Universidad de Cundinamarca, a los usuarios de la Biblioteca de la Universidad; así como a los usuarios de las redes, bases de datos y demás sitios web con los que la Universidad tenga perfeccionado una alianza, son: Marque con una "X":

AUTORIZO (AUTORIZAMOS)	SI	NO
1. La reproducción por cualquier formato conocido o por conocer.	x	
2. La comunicación pública por cualquier procedimiento o medio físico o electrónico, así como su puesta a disposición en Internet.	x	
3. La inclusión en bases de datos y en sitios web sean éstos onerosos o gratuitos, existiendo con ellos previa alianza perfeccionada con la Universidad de Cundinamarca para efectos de satisfacer los fines previstos. En este evento, tales sitios y sus usuarios tendrán las mismas facultades que las aquí concedidas con las mismas limitaciones y condiciones.	x	
4. La inclusión en el Repositorio Institucional.	x	

De acuerdo con la naturaleza del uso concedido, la presente licencia parcial se otorga a título gratuito por el máximo tiempo legal colombiano, con el propósito de que en dicho lapso mi (nuestra) obra sea explotada en las condiciones aquí estipuladas y para los fines indicados, respetando siempre la titularidad de los derechos patrimoniales y morales correspondientes, de acuerdo con los usos honrados, de manera proporcional y justificada a la finalidad perseguida, sin ánimo de lucro ni de comercialización.

Para el caso de las Tesis, Trabajo de Grado o Pasantía, de manera complementaria, garantizo(garantizamos) en mi(nuestra) calidad de estudiante(s) y por ende autor(es) exclusivo(s), que la Tesis, Trabajo de Grado o Pasantía en cuestión, es producto de mi(nuestra) plena autoría, de mi(nuestro) esfuerzo personal intelectual, como consecuencia de mi(nuestra) creación original particular y, por tanto, soy(somos) el(los) único(s) titular(es) de la misma. Además, aseguro (aseguramos) que no contiene citas, ni transcripciones de otras obras protegidas, por fuera de los límites autorizados por la ley, según los usos honrados, y en proporción a los fines previstos; ni tampoco contempla declaraciones difamatorias contra terceros; respetando el

Diagonal 18 No. 20-29 Fusagasugá – Cundinamarca
 Teléfono (091) 8281483 Línea Gratuita 018000976000
 www.ucundinamarca.edu.co E-mail: info@ucundinamarca.edu.co
 NIT: 890.680.062-2



MACROPROCESO DE APOYO	CÓDIGO: AAAR113
PROCESO GESTIÓN APOYO ACADÉMICO	VERSIÓN: 3
DESCRIPCIÓN, AUTORIZACIÓN Y LICENCIA DEL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	VIGENCIA: 2017-11-16
	PAGINA: 6 de 9

derecho a la imagen, intimidad, buen nombre y demás derechos constitucionales. Adicionalmente, manifiesto (manifestamos) que no se incluyeron expresiones contrarias al orden público ni a las buenas costumbres. En consecuencia, la responsabilidad directa en la elaboración, presentación, investigación y, en general, contenidos de la Tesis o Trabajo de Grado es de mí (nuestra) competencia exclusiva, eximiendo de toda responsabilidad a la Universidad de Cundinamarca por tales aspectos.

Sin perjuicio de los usos y atribuciones otorgadas en virtud de este documento, continuaré (continuaremos) conservando los correspondientes derechos patrimoniales sin modificación o restricción alguna, puesto que, de acuerdo con la legislación colombiana aplicable, el presente es un acuerdo jurídico que en ningún caso conlleva la enajenación de los derechos patrimoniales derivados del régimen del Derecho de Autor.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, "*Los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores*", los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables. En consecuencia, la Universidad de Cundinamarca está en la obligación de RESPETARLOS Y HACERLOS RESPETAR, para lo cual tomará las medidas correspondientes para garantizar su observancia.

NOTA: (Para Tesis, Trabajo de Grado o Pasantía):

Información Confidencial:

Esta Tesis, Trabajo de Grado o Pasantía, contiene información privilegiada, estratégica, secreta, confidencial y demás similar, o hace parte de la investigación que se adelanta y cuyos resultados finales no se han publicado.

SI ___ **NO** x__.

En caso afirmativo expresamente indicaré (indicaremos), en carta adjunta tal situación con el fin de que se mantenga la restricción de acceso.

LICENCIA DE PUBLICACIÓN

Como titular(es) del derecho de autor, confiero(erimos) a la Universidad de Cundinamarca una licencia no exclusiva, limitada y gratuita sobre la obra que se integrará en el Repositorio Institucional, que se ajusta a las siguientes características:

Diagonal 18 No. 20-29 Fusagasugá – Cundinamarca
Teléfono (091) 8281483 Línea Gratuita 018000976000
www.ucundinamarca.edu.co E-mail: info@ucundinamarca.edu.co
NIT: 890.680.062-2

Documento controlado por el Sistema de Gestión de la Calidad
Asegúrese que corresponde a la última versión consultando el Portal Institucional



MACROPROCESO DE APOYO	CÓDIGO: AAAR113
PROCESO GESTIÓN APOYO ACADÉMICO	VERSIÓN: 3
DESCRIPCIÓN, AUTORIZACIÓN Y LICENCIA DEL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	VIGENCIA: 2017-11-16
	PAGINA: 7 de 9

- a) Estará vigente a partir de la fecha de inclusión en el repositorio, por un plazo de 5 años, que serán prorrogables indefinidamente por el tiempo que dure el derecho patrimonial del autor. El autor podrá dar por terminada la licencia solicitándolo a la Universidad por escrito. (Para el caso de los Recursos Educativos Digitales, la Licencia de Publicación será permanente).
- b) Autoriza a la Universidad de Cundinamarca a publicar la obra en formato y/o soporte digital, conociendo que, dado que se publica en Internet, por este hecho circula con un alcance mundial.
- c) Los titulares aceptan que la autorización se hace a título gratuito, por lo tanto, renuncian a recibir beneficio alguno por la publicación, distribución, comunicación pública y cualquier otro uso que se haga en los términos de la presente licencia y de la licencia de uso con que se publica.
- d) El(Los) Autor(es), garantizó(amos) que el documento en cuestión, es producto de mi(nuestra) plena autoría, de mi(nuestro) esfuerzo personal intelectual, como consecuencia de mi (nuestra) creación original particular y, por tanto, soy(somos) el(los) único(s) titular(es) de la misma. Además, aseguro(aseguramos) que no contiene citas, ni transcripciones de otras obras protegidas, por fuera de los límites autorizados por la ley, según los usos honrados, y en proporción a los fines previstos; ni tampoco contempla declaraciones difamatorias contra terceros; respetando el derecho a la imagen, intimidad, buen nombre y demás derechos constitucionales. Adicionalmente, manifiesto (manifestamos) que no se incluyeron expresiones contrarias al orden público ni a las buenas costumbres. En consecuencia, la responsabilidad directa en la elaboración, presentación, investigación y, en general, contenidos es de mí (nuestro) competencia exclusiva, eximiendo de toda responsabilidad a la Universidad de Cundinamarca por tales aspectos.
- e) En todo caso la Universidad de Cundinamarca se compromete a indicar siempre la autoría incluyendo el nombre del autor y la fecha de publicación.
- f) Los titulares autorizan a la Universidad para incluir la obra en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.
- g) Los titulares aceptan que la Universidad de Cundinamarca pueda convertir el documento a cualquier medio o formato para propósitos de preservación digital.
- h) Los titulares autorizan que la obra sea puesta a disposición del público en los términos autorizados en los literales anteriores bajo los límites definidos por la universidad en el "Manual del Repositorio Institucional AAAM003"
- i) Para el caso de los Recursos Educativos Digitales producidos por la Oficina de Educación Virtual, sus contenidos de publicación se rigen bajo la Licencia Creative Commons: Atribución- No comercial- Compartir Igual.



j) Para el caso de los Artículos Científicos y Revistas, sus contenidos se rigen bajo la Licencia Creative Commons Atribución- No comercial- Sin derivar.



Nota:

Si el documento se basa en un trabajo que ha sido patrocinado o apoyado por una entidad, con excepción de Universidad de Cundinamarca, los autores garantizan que se ha cumplido con los derechos y obligaciones requeridos por el respectivo contrato o acuerdo.

La obra que se integrará en el Repositorio Institucional, está en el(los) siguiente(s) archivo(s).

Nombre completo del Archivo Incluida su Extensión (Ej. PerezJuan2017.pdf)	Tipo de documento (ej. Texto, imagen, video, etc.)
1. Evaluación de la Bioestimulación en la Degradación de Hidrocarburos Totales de Petróleo (HTP) de Lodos Provenientes de una Estación de Servicio del Municipio de Girardot – Cundinamarca.	Texto, imágenes, graficas.
2.	
3.	
4.	

No entendemos este ítem

En constancia de lo anterior, Firmo (amos) el presente documento:

APELLIDOS Y NOMBRES COMPLETOS	FIRMA (autógrafa)
Castaño Zambrano Paola Andrea	
Rodriguez Rodriguez Lucely Paola	

21.1.50.

**EVALUACIÓN DE LA BIOESTIMULACIÓN EN LA DEGRADACIÓN DE
HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO (HTP) DE LODOS PROVENIENTES
DE UNA ESTACIÓN DE SERVICIO DEL MUNICIPIO DE GIRARDOT –
CUNDINAMARCA**

**PAOLA ANDREA CASTAÑO ZAMBRANO
LUCELY PAOLA RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ**

**UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL
GIRARDOT**

2018

**EVALUACIÓN DE LA BIOESTIMULACIÓN EN LA DEGRADACIÓN DE
HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO (HTP) DE LODOS PROVENIENTES
DE UNA ESTACIÓN DE SERVICIO DEL MUNICIPIO DE GIRARDOT –
CUNDINAMARCA**

PAOLA ANDREA CASTAÑO ZAMBRANO

LUCELY PAOLA RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ

Trabajo de grado para optar por el título de Ingeniera Ambiental

Directora Trabajo de Grado:

DALIA XIOMARA SUAREZ PULIDO

Bióloga

Codirector Trabajo de Grado:

CARLOS EMILIO GUTIERREZ ULLOA

Ph.D. en Química

UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

PROGRAMA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

GIRARDOT

2018

Contenido

Dedicatoria	
Agradecimientos	VII
Resumen ejecutivo	VIII
Abstract	IX
Introducción	11
Planteamiento del problema.....	13
Justificación	14
Objetivos	16
Objetivo general	16
Objetivos específicos.....	16
Marco referencial	17
Marco teórico	17
Los hidrocarburos en la sociedad.	17
Actividad de las estaciones de servicio.	18
Impactos que generan las estaciones de servicio.....	19
Efectos de los HTP en el ambiente.....	20
Estrategias de control para lodos contaminados con HTP en estaciones de servicio.....	21
Biorremediación para la degradación de hidrocarburos.	21
Métodos de biorremediación.	22
Factores que afectan la biorremediación	24
Marco conceptual	27
Biorremediación.	27
Carcinógenos.	27
Combustibles líquidos derivados de petróleo.....	27
Contaminación.....	28
Genotóxico.....	28
Hidrocarburos.	28
Hidrocarburos Totales de Petróleo.	28

Nutrientes.....	29
Residuo peligroso.	29
Marco legal.....	29
Estado del arte.	32
Marco metodológico	33
Ubicación	33
Materiales y métodos	35
Recolección de las muestras.....	35
Variables de respuesta o variable dependiente.....	35
Variables de control o variable independiente.	35
Diseño Experimental	35
Resultados y discusión	37
Caracterización inicial.....	37
Análisis Estadístico	39
Metodología ANOVA	39
Biodegradación de Hidrocarburos.....	41
Temperatura	44
pH.....	45
Humedad	47
Microorganismos.....	49
Coliformes Totales	49
<i>Escherichia coli.</i>	50
Comportamiento de metales pesados	52
Plomo.....	52
Comportamiento de nutrientes	54
Fosforo.....	54
Potasio.	56
Conclusiones.....	57
Recomendaciones	59
Referencias bibliográficas.....	60
Anexos	67

Registro Fotográfico.....	67
---------------------------	----

Lista de Tablas

Tabla 1: Normatividad para Estaciones de Servicio	29
Tabla 2: Parámetros determinados	37
Tabla 3: Caracterización inicial de Lodos.....	38
Tabla 4: Límites permisibles de Metales pesados en lodos según Resolución 1287 de 2014	38
Tabla 5: Porcentajes de remoción de HTP y datos Estadísticos	39
Tabla 6: Análisis de Varianza según metodología ANOVA	40

Lista de Figuras

Figura 1: Localización del municipio de Girardot en Colombia y Cundinamarca	34
Figura 2: Localización Universidad de Cundinamarca seccional Girardot.....	34

Lista de Gráficas

Gráfica 1: Comportamiento de HTP	41
Gráfica 2: Comportamiento de la temperatura durante el proceso de biorremediación.....	44
Gráfica 3: Comportamiento del pH.....	45
Gráfica 4: Comportamiento de la humedad	47
Gráfica 5: Comportamiento de Coliformes totales.	49
Gráfica 6: Comportamiento de Escherichia Coli.	51
Gráfica 7: Comportamiento del plomo en el proceso de biorremediación	53
Gráfica 8: Concentración de Fosforo durante el proceso de Biorremediación	54
Gráfica 9: Comportamiento del potasio.	56

A nuestras amadas familias

Agradecimientos

Agradecemos a Dios primeramente por habernos acompañado a lo largo de la carrera, por guiarnos y por darnos una vida llena de aprendizajes, momentos y felicidad.

A nuestras familias por su apoyo incondicional para que estudiáramos esta hermosa carrera y por ser la base de nuestra formación.

Agradecemos a la Dirección de laboratorio e Innovación Ambiental (DLIA) de la Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca (CAR) del municipio de Mosquera, por financiar y realizar la determinación de parámetros que permitieron llevar a cabo esta investigación.

A la Universidad por permitirnos el espacio académico para realizar la fase experimental del proyecto.

Agradecer de forma especial a la profesora Dalia Suarez, directora de este Trabajo de Grado, por su disposición, interés, apoyo, dedicación de tiempo, paciencia y por su rigor durante la redacción de este trabajo. Su ayuda fue muy importante desde el inicio hasta la culminación de este proyecto. De igual forma, expresamos nuestro más profundo agradecimiento al Doctor Carlos Emilio Gutiérrez Ulloa por su disponibilidad y atención para llevar a cabo esta Investigación.

La realización de este Trabajo de Grado ha sido una experiencia vital, en la que se compartieron momentos y vivencias con un gran número de personas, que directa o indirectamente participaron del trabajo realizado. Por lo tanto, quisiéramos mostrar nuestro agradecimiento de una manera general a todas las personas que han intervenido o colaboraron en esta investigación.

Resumen ejecutivo

La biorremediación se ha convertido en una de las alternativas más importantes para el tratamiento de residuos orgánicos contaminantes. Este trabajo evaluó la eficiencia de la bioestimulación frente a la atenuación natural en la degradación de Hidrocarburos Totales de Petróleo (HTP) en lodos provenientes de una estación de servicio del municipio de Girardot, permitiendo proporcionar a las estaciones de servicio una guía metodológica de tratamiento y disposición final de tales residuos peligrosos. Así, se evaluaron cuatro tratamientos experimentales, sobre lodos provenientes de la Estación de Servicio Terpel Agro S.A de Girardot. Para la bioestimulación bacteriana se adicionó Urea ($CO(NH_2)_2$) con un contenido de Nitrógeno del 46%, Fosfato Dibásico de Potasio (K_2HPO_4) y hojarasca. Cinco días a la semana se agregó 150 ml de agua y se midió el ph y la temperatura.

La concentración de HTP, la humedad, nutrientes, metales pesados y microorganismos presentes en el lodo se determinaron experimentalmente a través de protocolos acreditados y estandarizados en la Dirección de Laboratorio e Innovación Ambiental (DLIA) de la Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca del municipio de Mosquera, destacando que para la determinación de remoción de Hidrocarburos Totales de Petróleo se utilizó el método Material Extraíble con n-Hexano (USEPA 9071 B).

Los resultados obtenidos permiten observar la degradación del HTP en todos los tratamientos resaltando que en los bioestimulados se presentó una degradación mayor frente al tratamiento control o de atenuación natural. En el tratamiento suplementado con Fosfato dibásico de Potasio y Urea, se observa una degradación del 96,8 % siendo el tratamiento más adecuado para

la implementación de la técnica de bioestimulación. Los tratamientos suplementados con Urea, Fosfato dibásico de Potasio y la mezcla de urea, fosfato dibásico de Potasio y hojarasca tuvieron porcentajes de remoción del 74%, 93,9% y 78,4 % respectivamente. Comparado con el tratamiento control en el cual se obtuvo una remoción del 41, 4%, se deduce que la técnica de bioestimulación utilizando Urea más Fosfato dibásico de Potasio como nutrientes permiten obtener una degradación eficiente de HTP. A partir de los resultados obtenidos respecto a cada uno de los tratamientos se generó una Guía Metodológica con el tratamiento donde hubo mayor remoción, con el fin de que en las Estaciones de servicio se opte por una técnica biotecnológica para el tratamiento de lodos.

Abstract

Bioremediation has become one of the most important alternatives for the treatment of polluting organic waste. This work evaluated the efficiency of biostimulation compared to natural care in the degradation of Total Petroleum Hydrocarbons (TPH) in sludge from a service station in the municipality of Girardot, which allows service stations a methodological working guide and final disposal of dangerous waste stories. Thus, four experimental treatments were evaluated, on sludge from the Terpel Agro S. A Service Station in Girardot. For the bacterial biostimulation, Urea was added with a content of 46% Nitrogen, Dibasic Potassium Phosphate and litter. Five days a week, 150 ml of water was added and the pH and temperature were measured.

The concentration of HTP, moisture, nutrients, heavy metals and microorganisms present in the sludge were determined experimentally through accredited and standardized protocols in the Laboratory and Environmental Innovation Division (DLIA) of the Autonomous Regional Corporation of Cundinamarca of the municipality of Mosquera , highlighting that for the

determination of removal of Total Oil Hydrocarbons the Material Removable method with n-Hexane (USEPA 9071 B) was used.

The obtained results allow to observe the degradation of the HTP in all the treatments, highlighting that in the biostimulants there was a greater degradation compared to the control treatment or natural attenuation. In the treatment supplemented with Dibasic Phosphate of Potassium and Urea, degradation of 96.8% is observed, being the most appropriate treatment for the implementation of the biostimulation technique. The treatments supplemented with Urea, Dibasic Potassium Phosphate and the mixture of urea, potassium dibasic phosphate and litter had removal percentages of 74%, 93.9% and 78.4% respectively. Compared with the control treatment in which a 41.4% removal was obtained, it can be deduced that the biostimulation technique using Urea plus Dibasic Potassium Phosphate as nutrients allows an efficient degradation of HTP to be obtained. Based on the results obtained with respect to each of the treatments, a Methodological Guide was generated with the treatment where there was greater removal, so that in the service stations a biotechnological technique for the treatment of sludge is chosen.

Introducción

El sector de los Hidrocarburos es indudablemente un área estratégica para el desarrollo del país, así mismo, cualquier actividad vinculada a su producción y comercialización genera una cadena de servicio que garantiza la movilidad vial de las regiones. Concretamente las Estaciones de servicio son establecimientos básicos para la economía y movilidad de la mano con la sostenibilidad ambiental, de ahí la importancia de garantizar un servicio de calidad y ambientalmente sano (Alcaldía mayor de Bogotá, 2008). Sus actividades generan residuos peligrosos que impactan negativamente el medio sin una adecuada gestión, entre estos residuos se encuentran los lodos o sedimentos contaminados con Hidrocarburos Totales de Petróleo.

Un lodo se caracteriza por sus porcentajes de humedad con más del 50% en agua compuesto por partículas gruesas que puedan retener líquido, como son las arcillas. Dicho lodos, provienen de la limpieza de los tanques de almacenamiento, de los equipos de transporte dentro de las Estaciones, de las unidades conductoras y de tratamiento de aguas residuales industriales, como las rejillas perimetrales, canales, trampas de grasas, decantadores, arenas utilizadas en contención de derrames entre otras (Ñustez, 2012).

El manejo inadecuado de los lodos que contienen compuestos derivados del petróleo, generados en la operación de las estaciones de servicio, causa contaminación sobre el recurso agua, suelo y aire. Para el tratamiento de estos compuestos, existen distintos métodos entre los que figuran tratamientos fisicoquímicos (lavados químicos), térmicos (incineración y pirólisis) y biológicos (bioestimulación y bioaugmentación) (Mosquera & Serrano, 2015). Según Velásquez (2016), las investigaciones se han encaminado a la recuperación de suelos, donde se ha establecido

la utilización de elementos biológicos para la oxidación, degradación, transformación y mineralización de los hidrocarburos, mitigando los impactos ambientales negativos y mejorando la calidad de vida de la población afectada. Uno de los tratamientos biológicos usados con mayor frecuencia es la biorremediación. Esta tecnología permite reducir la concentración de contaminantes orgánicos biodegradables presentes en el medio, utilizando el potencial metabólico de los microorganismos, para transformar estos compuestos en moléculas más simples (Glazer & Nikaido, 2007).

La biorremediación puede abordarse desde dos conceptos importantes; la bioestimulación, proceso en el cual se adiciona agua, nutrientes y oxígeno, para acelerar la degradación del compuesto mediante la estimulación de organismos nativos (Taccari, Milanovic, Comitini, Casucci C, & Ciani, 2012), y la bioaumentación que consiste en la adición de cepas microbianas exógenas al medio, que aceleran el proceso de degradación del contaminante (Ta-Chen, Po-Tsen, & Sheng-Shung, 2010).

A pesar de que no todos los compuestos orgánicos son biodegradables, se ha utilizado la técnica de biorremediación en suelos, lodos y sedimentos contaminados con hidrocarburos obteniendo un resultado positivo. (Martínez, Pérez, Pinto, Gurrola y Osorio, 2011). De acuerdo con estudios realizados en Estados Unidos y Reino Unido, el mercado de la biorremediación para tratamiento de suelos contaminados se ha incrementado debido a que los costos pueden reducirse entre un 65 y 80%, con respecto a los métodos fisicoquímicos (Volke & Velasco, 2002)

Teniendo en cuenta lo anterior, esta investigación evaluó la metodología de bioestimulación, frente al proceso de atenuación natural en lodos de estaciones de servicio con el

fin de establecer la eficiencia y los beneficios que trae la biorremediación como una alternativa ambientalmente sostenible y aplicable a contaminantes persistentes en el ambiente como los HTP. Partiendo de los resultados de la investigación, se generó una Guía metodológica para el tratamiento de lodos de Estaciones de servicio, esta Guía es una herramienta pedagógica de consulta y generación de conciencia y cuidado del ambiente.

Planteamiento del problema

El sector de hidrocarburos se ha establecido como potencia para el crecimiento de la economía mundial, considerándose como principal fuente de economía de varios países, aumentando su producción de manera considerable (Castro F, citado en Velásquez, 2016). La extracción de hidrocarburos en Colombia ha mostrado un incremento en los últimos años, convirtiéndose en una actividad determinante para el desarrollo económico en el país. (Unidad De Planeación Minero Energética, 2015). Sin embargo los Hidrocarburos, son un grupo de sustancias importantes para la contaminación, por su abundancia, distribución espacial en entornos urbanos y persistencia en los recursos naturales. (Canals, 2005).

La presencia de hidrocarburos en el medio, afecta los cuerpos de agua superficiales y subterráneos, el suelo y aire, produciendo alteración del paisaje o entorno natural. (Ministerio Del Medio Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial, 1999). Las fuentes importantes de contaminación por estos compuestos, se presentan en el desarrollo de las actividades de exploración, explotación, transporte, almacenamiento y comercialización en sitios de acopio y distribución (Liliana, Castro, Carolina, Rojas, & Mesa, 2004). Algunos sitios de acopio y

distribución como estaciones de servicio, ofrecen productos derivados del petróleo como la gasolina, el queroseno y el diésel, que durante su proceso de comercialización y almacenamiento, generan sólidos con alto contenido de humedad y compuestos orgánicos volátiles. La mayoría de los sólidos generados provienen de la trampa de grasas, canales perimetrales de la zona de distribución, de la zona de llenado de tanques de almacenamiento y del desarenador del lavado de vehículos (Ñustez, 2012). La falta de buenas prácticas de tratamiento, remediación y la inadecuada disposición final de lodos contaminados con HTP, producen un deterioro tanto para el medio ambiente como para la salud humana. Según lo establecido en el convenio de Basilea (Acuerdo Multilateral sobre Medio Ambiente) estos sólidos son considerados como residuos peligrosos debido a su potencial carcinogénico y de carácter tóxico (Congreso de la República de Colombia, 2015). Sin embargo, a pesar de esta característica, estos sólidos no reciben el tratamiento adecuado para su disposición final. En la mayoría de municipios, el tratamiento es insipiente y se limita al uso de lechos de secado y la disposición final sobre terrenos aledaños a las estaciones. Esto ocurre por la ubicación geográfica, condiciones climáticas que dificultan el acceso de los gestores externos de Residuos Peligrosos (RESPEL) asociado a los costos que se generan y que son directamente proporcionales a la cantidad de sólidos producidos y el desconocimiento por parte del personal encargado de la distribución del combustible.

Justificación

Según las Memorias al Congreso de la República (2016-2017) del Ministerio de Minas y Energía se determina el comportamiento del consumo de combustibles en el país desde el año 2012 hasta el año 2016. Este documento muestra una tendencia de crecimiento en el uso y consumo de combustibles de gasolina y ACPM. Por esta razón también se ha incrementado el número de

estaciones de servicio, posicionando al departamento de Cundinamarca como el quinto con mayor cantidad de estaciones de servicio en funcionamiento (359), fuera de las ubicadas en el distrito capital. Esto se traduce en un aumento significativo de residuos contaminados con hidrocarburos generados en las actividades de operación.

Según el anexo I y II numeral nueve (9) del convenio de Basilea, aprobado por la ley 253 de 1996 para Colombia (Congreso de la Republica de Colombia, 2015) los residuos sólidos y líquidos contaminados con aceites e hidrocarburos están considerados como residuos peligrosos. Adicionalmente, el decreto 4741 de 2005 emitido por el Ministerio de Medio Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, tiene como objetivo prevenir y regular la generación de residuos o desechos peligrosos, con el fin de proteger la salud humana y el medio ambiente (Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial, 2005).

En función de este objetivo, esta investigación proporciona a las estaciones de servicio, principalmente del municipio de Girardot - Cundinamarca, la bioestimulación como una alternativa costo/eficiente, *in situ* y ambientalmente amigable respecto a otros tratamientos que son más impactantes con el medio, ya que no genera subproductos tóxicos y por lo tanto no implica la necesidad de un tratamiento posterior, esta alternativa permite reducir la peligrosidad de los residuos, en este caso lodos de las Estaciones de Servicio y a su vez el impacto negativo que se está generando por el inapropiado tratamiento y disposición final de estos residuos.

En efecto, la investigación proporciona estrategias que las estaciones de servicio pueden implementar en sus planes de contingencia y que sirven como alternativas de cumplimiento de los planes de manejo y los lineamientos normativos establecidos por la Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca (CAR), para evitar sanciones que pueden generar un costo adicional

e inconvenientes en la operación y el funcionamiento de las estaciones de servicio.

Como complemento se generó una guía metodología, donde se describe el tratamiento más eficiente para el proceso de biorremediación en estaciones de servicio que presentan dificultades para la gestión de los residuos peligrosos. Así mismo, este trabajo sirve como referente para futuras investigaciones y para la implementación de la estrategia de biorremediación en lugares o empresas con condiciones similares

Objetivos

Objetivo general

Evaluar la bioestimulación en la degradación de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) en los lodos provenientes de una estación de servicio del municipio de Girardot-Cundinamarca

Objetivos específicos

1. Determinar la actividad microbiana general que lleva a cabo la degradación de HTP presentes en los lodos de la Estación de Servicio.
2. Establecer porcentajes de degradación para los Hidrocarburos Totales de Petróleo en cada tratamiento mediante la adición de los nutrientes Urea, Fosfato Dibásico de Potasio y materia orgánica (Hojarasca) para cada tratamiento.
3. Definir el Tratamiento bioestimulado con mayor eficiencia en la remoción de Hidrocarburos Totales de Petróleo.
4. Generar una guía metodológica para el tratamiento de lodos en las estaciones de servicio del municipio de Girardot- Cundinamarca.

Marco referencial

Marco teórico

Los hidrocarburos en la sociedad.

El petróleo es el producto de la degradación anaeróbica de materia orgánica durante largos períodos de tiempo y bajo condiciones de alta presión y temperatura, que la convierte en gas natural, crudo y derivados del petróleo. (Torres k, Zuluaga T, 2009). Es actualmente, la principal fuente de energía, y la materia prima más importante objeto de comercio entre los países (Dirección general de industria, energía y minas, Madrid, 2002).

El petróleo se caracteriza por ser un líquido negro, viscoso y con una composición química sumamente compleja, pudiendo contener miles de compuestos, básicamente de la familia de los hidrocarburos (Rosini, 1960), que representan entre el 50 y 98% en peso del contenido total del crudo (Casellas, Fernandez, Bayona y Solanas. 1995). Los hidrocarburos son compuestos orgánicos formados por átomos de carbono (C) e hidrógeno (H) en cantidades variables dependiendo de la naturaleza del hidrocarburo y con contenidos menores de otros elementos como azufre, oxígeno, nitrógeno o trazas de metales, dependiendo del lugar de donde provengan (Pardo, Perdomo y Benavidez 2004).

Los Hidrocarburos son uno de los grupos de sustancias potencialmente contaminantes más importantes, por su abundancia, por su distribución espacial en entornos urbanos y por su persistencia en distintos sectores ambientales. (Viñas, 2005). Estos compuestos presentan formulas químicas diversas y están divididos en tres familias: existen hidrocarburos lineales, cíclicos y aromáticos y su poder calorífico es de unas 10.000 kcal/kg. (Fernández,. Grifoll, Solanas, Bayona y Albaigés, 1992).

De esta manera se ha generado una amplia diversidad de productos obtenidos de la destilación del petróleo, que fue necesario el desarrollo de una completa red de sistema distribuidores para poner al alcance de los usuarios (Dirección general de industria, energía y minas, Madrid, 2002).

Existen diferentes tipos de distribuidores, según el Decreto 1521 de 1998, está el Gran distribuidor mayorista que es la empresa, en el caso de Colombia, de petróleos Ecopetrol, están los distribuidores mayoristas que es toda persona natural o jurídica que, a través de una planta de abastecimiento, almacene y distribuya al por mayor combustibles líquidos derivados del Petróleo, están las estaciones de servicio y finalmente los distribuidores minoristas.

Actividad de las estaciones de servicio.

Según el Decreto 1521 de 1998 se define Estación de servicio como:

“Establecimiento destinado al almacenamiento y distribución de combustibles líquidos derivados del petróleo y/o gaseosos, excepto gas licuado del petróleo (GLP), para vehículos automotores, a través de equipos fijos (surtidores) que llena directamente los tanques de combustible. Además, puede incluir facilidades para prestar uno o varios de los siguientes servicios: lubricación, lavado general y/o de motor, cambio y reparación de llantas, alineación y balanceo, servicio de diagnóstico, trabajos menores de mantenimiento automotor, venta de llantas, neumáticos, lubricantes, baterías y accesorios y demás servicios afines”.

Estas actividades requieren de medidas de manejo ambiental enmarcadas dentro de la normatividad que establezca la nación, puesto que, son susceptibles de generar impactos negativos al ambiente.

Impactos que generan las estaciones de servicio.

Las Estaciones de servicio en sus actividades básicas como complementarias están en constante relación con el ambiente y esto implica que haya efectos sobre el mismo, derivados de sus actividades. Entre los impactos negativos se destacan la contaminación potencial de los cuerpos de agua superficiales y subterráneos; contaminación de suelos, contaminación del aire, alteración del paisaje, afectación sobre infraestructura y población adyacente. Dichos impactos se producen en las etapas de construcción, operación, cierre, desmantelamiento y abandono. Simultáneamente, su operación genera impactos positivos para la sociedad, tales como la generación de empleo, aumento del Producto Interno Bruto (PIB) local y regional y abastecimiento de la población en cuanto a combustibles.(Guía de Manejo Ambiental para Estaciones de Servicio, 1999).

En consecuencia de la actividad descrita anteriormente se generan residuos sólidos como líquidos contaminados con Hidrocarburos Totales de Petróleo (HTP), estos compuestos son clasificados como genotóxicos y carcinógenos según la Agencia de Protección Ambiental (EPA: Environmental Protection Agency) ocasionando un deterioro en el ambiente y salud humana, siendo venenosos por clasificarse como residuos peligrosos según el convenio de Basilea (Arroyo, Quesada, Quesada, 2008)

Entre los residuos sólidos están los lodos o sedimentos que se generan en las Estaciones de Servicio en las zonas de distribución de combustible y que caen a una trampa de grasas mediante las rejillas perimetrales.

Efectos de los HTP en el ambiente.

Los compuestos de HTP liberados al ambiente, bien sea, por la inadecuada disposición o por derrames, generan deterioro a cuerpos de agua, ya que ciertas fracciones del contaminante forman una capa superficial y otras se adhieren al sedimento, afectando la fauna que se beneficia de los servicios ecosistémicos de dicha fuente, así mismo, se adhieren a las partículas del suelo, donde pueden permanecer un largo tiempo y finalmente afecta al componente aire, ya que algunos compuestos se irán evaporando. (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades: siglas en inglés: ATSDR, 1998).

De esta manera los compuestos de HTP liberados al ambiente afectan la salud, los efectos dependen de factores como el tiempo a la exposición y la cantidad de sustancias químicas con las que entra en contacto. La exposición a fracciones de compuestos de HTP altas por inhalación superior a 100 ppm ocasionan fatiga, dolor de cabeza, náuseas y adormecimiento, la exposición a fracciones más pequeñas que se encuentran en la gasolina pueden producir efectos en el sistema nervioso, por ejemplo, el n-hexano, puede producir una alteración de los nervios conocida como «neuropatía periférica,» caracterizada por pérdida de la sensación en los pies y las piernas y, en casos graves, parálisis. Los estudios sobre animales han arrojado efectos sobre los pulmones, el hígado, sistema reproductivo y feto después de inhalación e ingestión. (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades: siglas en inglés: ATSDR, 1998)

La Agencia Internacional para la investigación del cáncer (IARC, por sus siglas en inglés), ha clasificado los HTP en diferentes grupos determinando el benceno como carcinogénico en seres humanos, pues puede producir leucemia y el benzo(a) pireno y la gasolina, como

cancerígenos respectivamente. (Agencia Internacional para la Investigación del cáncer, s.f).

Estrategias de control para lodos contaminados con HTP en estaciones de servicio.

Según la guía de manejo ambiental, las estaciones de servicio deben realizar un tratamiento de lodos. Una vez los lodos son extraídos de la trampa de grasas, se depositan en una caja de secado donde por medio de la activación microbiana y el suministro de oxígeno, se disminuya las concentraciones de hidrocarburos presentes en él. Sin embargo, este método no es suficiente para lograr la descontaminación de los residuos, requiriendo un tratamiento más complejo. (Guía de Manejo Ambiental Para Estaciones De Servicio, 1999).

Biorremediación para la degradación de hidrocarburos.

Los métodos para la remediación de ambientes contaminados se pueden agrupar en 3 tipos de acuerdo a Volke y Velasco (2002): a) biológicos (biorremediación, bioestimulación, fitorremediación, biolabranza, etc.), en donde las actividades metabólicas de ciertos organismos permiten la degradación, transformación o remoción de los contaminantes a productos metabólicos inocuos; b) fisicoquímicos (electrorremediación, lavado, solidificación/estabilización, etc.), aquí se toma ventaja de las propiedades físicas y químicas de los contaminantes para destruir, separar o contener la contaminación; y c) térmicos (incineración, vitrificación, desorción térmica, etc.), en los cuales se utiliza calor para promover la volatilización, quemar, descomponer o inmovilizar los contaminantes en un suelo. Los métodos físico-químicos resultan costosos y pueden producir

diferentes tóxicos que son capaces de permanecer en el suelo, migrar hacia las aguas superficiales o subterráneas, o son emitidos a la atmósfera (Eweis *et al.*, 1998; citado por Volke y Velasco, 2002; Ifeanyichukwu, 2011).

De los métodos descritos anteriormente la técnica de Biorremediación presenta grandes ventajas en contraste con las demás técnicas, pues es una tecnología poco invasiva y generalmente no requiere componentes estructurales o mecánicos que signifiquen una amenaza para el medio (Torres k, Zuluaga T, 2009), no se requiere de más tratamientos adicionales ya que los subproductos que se forman generalmente son dióxido de carbono, agua y biomasa (Gan, S., *et al*, 2009), es efectiva en cuanto a costos y es una tecnología más amigable con el ambiente ((Volke, T., y Velasco, J., 2002),

El proceso de biorremediación se lleva a cabo básicamente con una reacción de óxido-reducción. La cadena la inicia un sustrato orgánico externo a la célula que actúa como dador de electrones, donde la actividad metabólica de la célula degradadora convierte el contaminante en alimento siendo la fuente de energía del microorganismo. Los aceptores utilizados por microorganismos son oxígeno, nitratos, hierro, sulfatos y dióxido de carbono (Torres & Zuluaga, 2009).

Métodos de biorremediación.

La biorremediación puede llevarse a cabo *In Situ*: excavando el terreno y tratándolo a pie de excavación, o bien *ex Situ*, en instalaciones aparte.

In situ. Entre las técnicas más utilizadas se tienen: bioaireación o bioventeo, inyección de aire a presión, atenuación natural, bioestimulación, bioaugmentación. (Torres y Zuluaga, 2009)

Atenuación natural. Su característica principal es la utilización de los procesos fisico-químicos de interacción contaminante-suelo y los procesos de biodegradación que tienen lugar de

forma natural en el medio. Estos procesos se conocen como procesos de biotransformación natural (Maroto E, Rogel J,S.F).

La Bioestimulación. Se define como la estimulación de los microorganismos nativos, para activar y acelerar la degradación de contaminantes, se puede llevar a cabo con la adición de agua, oxígeno, nutrientes, aceptor de electrones, entre otros parámetros que permitan el buen desarrollo de los microorganismos, dentro de los nutrientes se encuentran principalmente el nitrógeno y fósforo. (Taccaria, M., *et al*, 2012).

La Bioaumentación. Consiste en la adición de cepas microbianas externas (diferentes a las nativas), al suelo contaminado, estos microorganismos están adaptados o incluso modificados genéticamente y cuentan con la capacidad de degradar el contaminante. Ta-Chen, L., *et al*, 2010).

Bioventing. La técnica del bioventing es un tratamiento de biorrecuperación de tipo “in situ”, consistente en la ventilación forzada del suelo mediante la inyección a presión de oxígeno (aire) en la zona no saturada del suelo a través de pozos de inyección. Debido a la aireación del suelo se va a favorecer la degradación de los hidrocarburos por dos motivos: por volatilización, facilitando la migración de la fase volátil de los contaminantes, y por biodegradación, ya que al incrementar la oxigenación del suelo se van a estimular la actividad bacteriana.(Maroto E, Rogel J,S.F)

Ex situ. Se lleva a cabo cuando el procedimiento se realiza fuera del lugar donde está la contaminación (Torres y Zuluaga, 2009; Atlas y Bartha, 2006). Entre este método se encuentran:

El Compostaje. Es un proceso biológico controlado, esta estrategia de compostaje se diferencian de los sistemas convencionales de compostaje, ya que son sistemas cerrados, como las incubadoras de gran tamaño, ofreciendo la oportunidad de asegurar el uso de altas temperaturas (>

70 ° C) con el fin de cumplir con requisitos regulatorios para el control de patógenos Los sistemas de compostaje incluyen tambores rotatorios, tanques circulares, recipientes abiertos y biopilas (Ladislao, B., *et al*, 2007)).

Biopilas. Las biopilas son biorremediación *ex situ* en condiciones no saturadas, consiste en reducción de concentración de contaminantes derivados del petróleo de suelos (Benavides *et al.*, 2006). La elección de biopilas depende de condiciones climáticas y estructura de compuestos orgánicos volátiles del suelo. Las biopilas se diseñan como sistemas cerrados para mantener la temperatura, evitar la saturación de agua de lluvias y disminuir evaporación de agua y compuestos orgánicos volátiles (Eweis *et al.*, 1998; citado por Volke y Velasco, 2002).

Factores que afectan la biorremediación

La biodegradabilidad del contaminante depende de cuatro factores importantes, estos corresponden a los medioambientales, los físicos, los químicos y los microbiológicos. (Torres k, Zuluaga T, 2009).

Factores ambientales.

Temperatura. Cuando la temperatura es baja, la viscosidad del petróleo aumenta variando su solubilidad en agua se disminuye la volatilización de algunas fracciones tóxicas que pueden afectar la actividad degradadora de los microorganismos. Con temperaturas muy altas, se incrementa la toxicidad de los hidrocarburos inhibiendo la actividad microbiana. El rango de temperatura más apropiado para la biorremediación se presenta entre 18°C y 30°C, a la que se intensifica la actividad enzimática de los microorganismos acelerando al máximo los procesos de biodegradación.

Ph. El pH es un factor químico importante que influye en la recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos, ya que determina el grado de adsorción de iones por las partículas del suelo, afectando así su solubilidad, movilidad, disponibilidad y sus formas (Volke, T., y Velasco, J., 2002).

La mayoría de bacterias heterótrofas se desarrollan óptimamente en pH cercanos a la neutralidad, por lo cual es de esperarse que pH extremos en el medio afectarán de manera negativa a las comunidades microbianas inhibiendo su capacidad para degradar hidrocarburos. El rango óptimo para la biodegradación está entre 6 – 8 unidades de pH.

Humedad. La humedad es un factor importante porque actúa como medio de transporte de nutrientes y oxígeno a la célula ya que forma parte de su protoplasma bacteriano, este proceso es necesario para su crecimiento y desarrollo. Es conveniente mantener una humedad del orden del 20 - 75 % de la capacidad de campo, la cual se define como la masa de agua que admite el suelo hasta la saturación, (Gómez, Gutiérrez, Hernández, Hernández, Losada, y Mantilla, 2008).

Factores Químicos

Aceptor de electrones. Los aceptores más utilizados son el oxígeno y los nitratos, el oxígeno generalmente es el mejor aceptor de electrones, puesto que, produce la mayor energía libre en una reacción completa (Ñustez, 2012).

La oxigenación del suelo permite la volatilización de los compuestos tóxicos (Geo Ambiental de México S.A. de C.V, 2000). Cuando el oxígeno es utilizado como aceptor de electrones la

respiración microbiana se produce en condiciones aerobias, y los procesos de biodegradación serán de tipo aerobio (Torres k, Zuluaga T, 2009). Las reacciones que se dan tanto aerobíamente como anaeróbicamente son:

Degradación aerobia.

Hidrocarburo+ oxígeno = biomasa + CO₂ + H₂O

Degradación anaerobia.

Sustrato+ (NO₃⁻, SO₄⁻, Fe₃⁺, Mn₄⁺, CO₂) = Biomasa+CO₂+(N₂, Mn₂⁺, S₂⁺, Fe₂⁺, CH₄)

(Torres k, Zuluaga T, 2009).

Nutrientes. El nitrógeno es necesario para la síntesis de proteínas y la pared celular y puede perderse por lixiviación de amonio y nitratos y por desnitrificación del suelo. El fósforo es útil para formar ácidos nucleicos y el ATP y está limitado por baja solubilidad y disponibilidad. (Roldán e Iturbe, 2005).

Factores microbiológicos. Entre los factores biológicos que constituyen un recurso importante en la eliminación de contaminantes se encuentran, la diversidad de especies microbianas y sus capacidades metabólicas. (Martínez y Gaju, 2005). El factor microbiológico más importante en la biorremediación es la transformación biológica de compuestos orgánicos, catalizada por acción de las enzimas. La biodegradación de un compuesto específico es frecuentemente un proceso que se realiza paso a paso en el cual se involucran muchas enzimas y muchos organismos. Según Narváez, Gómez y Martínez (2008) hay diferentes clases de bacterias que tienen la capacidad enzimática para degradar HTP correspondiente a los géneros de *Klebsiella*, *Chromobacterium*, *Flavimonas*,

enterobacter, *Pseudomonas* y *Bacillus* siendo capaz de metabolizar alimento en diferentes condiciones climáticas teniendo la facilidad de adaptación del medio.

Marco conceptual

Biorremediación. Es una técnica que utiliza organismos vivos como microorganismos, hongos y plantas para disminuir o eliminar los contaminantes que se encuentran en un medio que ha sido alterado negativamente (Trujillo & Ramírez, 2012). Esta técnica usa el potencial metabólico de los microorganismos, para limpiar terrenos o aguas contaminadas aplicando sistemas biológicos para catalizar la destrucción o transformación de compuestos químicos en compuestos menos tóxicos (González, 2011).

Carcinógenos. Son sustancias químicas que inducen cáncer, también llamado neoplasia o tumor (crecimiento anormal e incontrolado de células). Todos los tipos de cáncer están relacionados con factores ambientales que pueden estar asociados con el estilo de vida, la exposición industrial y ocupacional. (Seoánez M, 2002 citado por Zuluaga M, Valencia AM, Ortiz IC.2009)

Combustibles líquidos derivados de petróleo. De acuerdo con el decreto 4299 de 2005: “Son todos los productos clasificables dentro de las categorías de las gasolinas, gasóleos, querosenes y fuelóleos, entre los cuales se cuentan: Combustibles para aviación (avigás), gasolina motor (gasolina extra, gasolina corriente, gasolina corriente oxigenada, gasolina extraoxigenada), combustibles de aviación para motores tipo turbina, queroseno, diésel extra o de bajo azufre, diésel corriente (ACPM), diésel marino (se conoce también con los siguientes nombres: diésel fluvial, marine diésel, gas oil, intersol, diésel número 2), y combustible para quemadores industriales (combustóleos-fuel oil)”.

Contaminación. Hace referencia al proceso por el cual se causa una alteración negativa al medio ambiente, producto de la presencia de agente externo que cambia las condiciones del lugar. Estos cambios ambientales se pueden generar por actividad natural o por acción antropogénica, afectando la calidad de vida de los humanos y alterando el funcionamiento natural de los ecosistemas (Maldondo, 2012).

Genotóxico. Contaminante tóxico que produce algún tipo de alteración en el material genético o en sus componentes asociados, por lo que se les reconoce como agentes genotóxicos dentro de este término se incluyen los agentes que interaccionan tanto directa como indirectamente con el ADN, lo que provoca mutaciones. (González R, Romay C, Díaz S. 2004. Du Four A, Van Larebeke N, Janssen C, 2004, citado por Zuluaga M, Valencia AM, Ortiz IC, 2009).

Hidrocarburos. Los hidrocarburos hacen parte de una mezcla de compuestos orgánicos que genera el petróleo, estos varían en peso molecular desde el gas metano hasta los de alquitranes y bitúmenes. Los hidrocarburos presentan un amplio rango de estructuras moleculares las cuales pueden ser, cadenas lineales y ramificadas, anillos sencillos, condensados o aromáticos (Torres & Zuluaga, 2009), por ende son considerados uno de los compuestos más dispersos en la biosfera y en los ecosistemas marinos. (Echeverri G, Manjarrez G y Cabrera M., 2011)

Hidrocarburos Totales de Petróleo. Según la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades son:

“Grupo extenso de varios cientos de sustancias químicas derivadas originalmente del petróleo crudo. En este sentido, los HTP son realmente una mezcla de sustancias químicas. Se les llama hidrocarburos porque casi todos los componentes están formados enteramente de hidrógeno y

carbono. Los crudos de petróleo pueden tener diferentes cantidades de sustancias químicas; asimismo, los productos de petróleo también varían dependiendo del crudo de petróleo del que se produjeron. Algunos HTP son líquidos incoloros o de color claro que se evaporan fácilmente, mientras que otros son líquidos espesos de color oscuro o semisólidos que no se evaporan.”

Nutrientes. Los nutrientes son compuestos químicos que contribuyen positivamente a la actividad microbiana, por lo que se considera que es necesario la disponibilidad de estos para la síntesis de contaminantes. Los nutrientes de mayor importancia en la actividad metabólica de los micrororganismos son: el carbono, nitrógeno, fósforo, potasio, entre otros (Gómez et al., 2008).

Residuo peligroso. Se entiende por "residuos peligrosos" a los residuos que debido a su peligrosidad intrínseca (tóxico, corrosivo, reactivo, inflamable, explosivo, infeccioso, ecotóxico) pueden causar daños a la salud o el ambiente. (Guía para la gestión Integral de residuos peligrosos, 2005)

Marco legal.

A continuación se presenta un marco normativo que es aplicable para las Estaciones de Servicio:

Tabla 1: Normatividad para Estaciones de Servicio

NORMA	DESCRIPCIÓN
Código de Recursos Naturales (Decreto 2811/74)	Utilización de los recursos naturales renovables y del medio Art. 35: Se prohíbe descargar sin autorización, los residuos, basuras y desperdicios y en general, desechos que deterioren los

	suelos o causen daños o molestia a individuos o núcleos humanos. (Decreto Ley 2811, 1974).
Ley 253 de 1996	“Por medio de la cual se aprueba el Convenio de Basilea sobre el control de los movimientos transfronterizos de los desechos peligrosos y su eliminación, clasificando los hidrocarburos como desechos peligrosos hecho en Basilea el 22 de marzo de 1989”.
Resolución 1170 del 11 de Noviembre de 1997 del DAMA.	“Por medio de la cual se dictan normas sobre estaciones de servicio e instalaciones afines y se deroga la Resolución 245 del 15 abril de 1997”.
Resolución 0415 del 13 de mayo de 1998. Minambiente	“Por la cual se establecen los casos en los cuales se permite la combustión de los aceites de desecho y las condiciones técnicas para realizar la misma”
Decreto 1521 de 1998:	“Por el cual se reglamenta el almacenamiento, manejo, transporte y distribución de combustibles líquidos derivados del petróleo, para estaciones de servicio”. (Ministerio de Minas y Energía, 1998)
Ley No. 430 de 1998.	“Por la cual se dictan normas prohibitivas en materia ambiental, referentes a los desechos peligrosos y se dictan otras disposiciones”.

	Art. 6: El generador de desechos peligrosos es responsable de los residuos que él genere. La responsabilidad se extiende a sus afluentes, emisiones, productos y subproductos por todos los efectos ocasionados a la salud y al ambiente.
Resolución 187 de Mayo 22 de 1998. (DAGMA)	Se establecen y se unifican los criterios para el cumplimiento de las obligaciones ambientales ante el D.A.G.M.A, a las que quedan sujetas las Estaciones de Servicio Clase A, B, Servicio Privado y centros de servicio automotor.
Guía de Manejo Ambiental para Estaciones de Servicio de Combustible, Santafé de Bogotá, 1999.	Presenta un marco de referencia, básico y conciso, para el manejo ambiental de las estaciones de servicio, de tal manera, que sirva para unificar criterios de evaluación ambiental, definir procedimientos a desarrollar en la elaboración de los estudios ambientales y fortalecer la gestión ambiental optimizando los recursos.
Resolución 318 del 14 de febrero del 2000 DAMA	"Por la cual se adopta el manual de normas y procedimientos para la gestión de aceites usados en el Distrito Capital" Se establecen algunos aspectos del manejo técnico de los aceites usados.
Decreto 4741 de 2005	"Por el cual se reglamenta parcialmente la prevención y el manejo de los residuos o desechos peligrosos generados en el marco de la gestión integral".

Decreto 1073 de 2015	“Por medio del cual se expide el decreto único reglamentario del sector Administrativo de minas y energía. Título I, Capítulo 2 Sobre distribución de combustibles”.
Decreto Único Reglamentario 1076 de 2015:	“Por medio del cual se expide el Decreto Único Reglamentario del Sector Ambiente y Desarrollo Sostenible”

Fuente: Elaboración Propia

Estado del arte.

La biorremediación es una técnica, que se utiliza para disminuir o eliminar la concentración de contaminantes orgánicos presentes en un lugar específico, el cual causa un impacto negativo al ambiente y se basa en la utilización de organismos vivos como microorganismos, hongos y plantas (Trujillo & Ramírez, 2012). Teniendo en cuenta lo anterior, la guía para el control y prevención de la contaminación industrial (2001) plantea que existen diversas actividades que ayudan al buen desempeño de los proceso en las estaciones de servicio. Así, se define la biorremediación como una estrategia amigable con el ambiente, donde se utiliza el potencial metabólico de los microorganismos para catalizar los compuestos químicos tóxicos y disminuir su toxicidad (González, 2011). Los tratamientos naturales controlados para la degradación de hidrocarburos son eficientes en un lapso de corto, mediano y largo plazo, siendo de gran importancia la presencia de los microorganismos, ya que son estos los encargados de transformar el contaminante, utilizándolo como fuente de energía. (Vásquez, Guerrero, Quintero., 2010; Echeverri *et al.*, 2011). Esta transformación del alimento se realiza por el proceso de cometabolismo, teniendo en cuenta que *“En general las transformaciones cometabólicas ocurren cuando la enzima de un microorganismo*

que crece a partir de un sustrato “A” reconoce al compuesto “B” como sustrato y lo transforma en un producto” (García M y Peralta M, 2008).

Según Martínez, Pérez, Pinto, Gurrola y Osorio (2011) debemos tener en cuenta diferentes parámetros como la humedad, pH, densidad y oxigenación para la degradación de HTP, siendo esto clave para la eficiencia del tratamiento, así mismo, se debe tener en cuenta los nutrientes que requieren los microorganismos en su actividad metabólica. La biorremediación *in situ* es utilizada por sus ventajas en los costos de operación y baja generación de residuos (Benavidez *et al.*, 2006). Mosquera, Serrano y Cárdenas (2015), afirman que la técnica de biorremediación reduce hasta un 90% de la contaminación de HTP siguiendo los parámetros establecidos en la literatura para su eficiencia.

Marco metodológico

Ubicación

La investigación se desarrolló en el municipio de Girardot que se encuentra ubicado en el suroccidente del departamento de Cundinamarca (Colombia) en la provincia del Alto Magdalena. a una altura de 269 msnm, con una temperatura promedio de 30°C. (Ver figura 1).

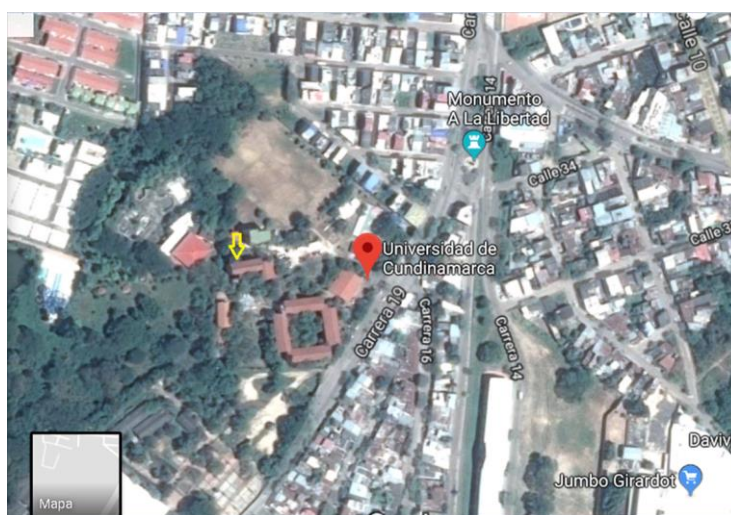
Figura 1: Localización del municipio de Girardot en Colombia y Cundinamarca



Fuente: Google Maps

El montaje experimental se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de aguas de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Programa de Ingeniería Ambiental de la Universidad de Cundinamarca seccional Girardot con coordenadas $4^{\circ}18'39''$ N y $74^{\circ}48'38''$ W (Ver figura 2)

Figura 2: Localización Universidad de Cundinamarca seccional Girardot



Fuente: Google Maps

Materiales y métodos

El análisis preliminar de esta investigación se realiza teniendo en cuenta las problemáticas que presentan diferentes estaciones de servicio con respecto al tratamiento de los lodos generados en las trampas de grasas, se debe resaltar que el tratamiento convencional genera un sobre costo para las empresas ya que los lodos se encuentran clasificados como residuos peligrosos.

Recolección de las muestras

El muestreo se realizó en la estación de servicio AGRO S.A. ubicada en el municipio de Girardot Cundinamarca donde se extrajeron 45 kilogramos de lodo de la trampa de grasas y se dispusieron 3000gr en cada uno de los mesocosmos de los cinco tratamientos.

VARIABLES DE RESPUESTA O VARIABLE DEPENDIENTE.

Concentración de Hidrocarburos Totales de Petróleo

VARIABLES DE CONTROL O VARIABLE INDEPENDIENTE.

VARIABLES FÍSICOQUÍMICAS: Temperatura, pH, humedad, nutrientes (Urea con un 46% de Nitrógeno , Fosfato dibásico de Potasio y hojarasca) y actividad microbiana general.

Diseño Experimental

Se evaluaron cinco tratamientos por un tiempo experimental de 75 días, cada uno con dos replicas para un total de 15 mesocosmos. El primer tratamiento o control evaluó el proceso de atenuación natural, los 4 tratamientos restantes la estrategia de bioestimulación así:

Tratamiento dos: Lodos+ Urea

Tratamiento tres: Lodos+ fosfato dibásico de potasio.

Tratamiento cuatro: Lodos+ Urea+Fosfato dibásico de Potasio.

Tratamiento cinco: Lodos+ Urea+ Fosfato dibásico de Potasio+ Materia Orgánica (Hojarasca), la hojarasca se sometió a un proceso de triturado manual y tamizado en malla con zarandeos.

La adición de nutriente Urea para cada uno de los mesocosmos que se establecieron fue de 33,3 gr diluidos, para los tratamientos con fosfato dibásico de potasio, la concentración adicionada fue de 25 gr.

En la estación de servicio Agro S.A se generan en un promedio 15 Kilogramos de lodos mensuales, lo que indica que la muestra recolectada representa el 8.33 % de lodos generados anualmente. Una vez se hizo el montaje de los cinco tratamientos, se procedió a realizar el muestro inicial sistemático en rejilla para establecer las concentraciones iniciales de HTP, Fosforo, Potasio, mercurio, plomo y parámetros como Ph, temperatura y humedad. Estas muestras se enviaron a la Dirección de laboratorio e Innovación ambiental (DLIA) de la Corporación Autónoma Regional Cundinamarca (CAR) del municipio de Mosquera - Cundinamarca para su análisis. El análisis de los parámetros se realizó cada 15 días (ver tabla 1), para un total de seis muestreos. Se tomaron las variables fisicoquímicas como temperatura y pH cinco días a la semana (ver Tabla 1). Para el mesocosmos control no se agregó agua ni se suministró aireación. Por el contrario, a los cuatro tratamientos de bioestimulación, se les agregó 150 ml de agua y se realizaron volteos manuales cinco veces por semana, con el fin de mantener la humedad óptima e incrementar el contenido de oxígeno, de tal manera que se mantuvieran las condiciones requeridas para la degradación.

Tabla 2: Parámetros determinados

PARÁMETRO	MÉTODO ANÁLITICO	FRECUENCIA	SITIO
pH	Phmetro STARTER 300	Cinco días a la semana	In situ
TEMPERATURA	Phmetro STARTER 300	Cinco días a la semana	In situ
HUMEDAD	Método gravimétrico estufa 105°C	Cada 15 días	DUA-CAR
HTP	Material extraíble con n-Hexano	Cada 15 días	DUA-CAR
MICROORGANISMOS:	Ensayo de Sustrato Enzimático SM 9223 B Modificado	Cada 15 días	DUA-CAR
<i>Escherichia Coli</i>			
Coliformes Totales			
PLOMO	Digestión acida asistida por microondas de muestras y extractos acuosos EPA-3015 ² . Lectura por espectrometría de plasma acoplado inductivamente	Cada 15 días	DUA-CAR
FÓSFORO TOTAL	Flujo contenido, extracción extracción Bray II	Cada 15 días	DUA-CAR
POTASIO	Digestión acida asistida por microondas de muestras y extractos acuosos EPA-3015 ² . Lectura por espectrometría de plasma acoplado inductivamente	Cada 15 días	DUA-CAR

Fuente: Elaboración propia

Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico se realizó un análisis de varianza mediante la metodología ANOVA.

Resultados y discusión

Caracterización inicial

Se realizó una caracterización de las condiciones iniciales de la muestra de lodos provenientes de la estación de servicio Agro S.A, las cuales se pueden observar en la tabla 2

Tabla 3: Caracterización inicial de Lodos

TR	Control			Urea			Fosfato			Urea-Fosfato			Materia Orgánica		
PARAMETRO	Tr1	R1	R2	Tr2	R1	R2	Tr 3	R1	R2	Tr4	R1	R2	Tr5	R1	R2
COLIFORMES TOTALES NMP/g	1.4E+07	5.5E+06	3.9E+06	6.4E+06	3.6E+06	7.4E+06	5.5E+06	2.3E+06	4.4E+06	3.5E+06	3.6E+06	8.76E+06	3.2E+06	8.1E+06	9.26E+06
E. COLI NMP/g	<1.7E+	<1.8E+	<1.8E+	1.7E+	6.4E+	<1.7E+	9.4E+	<1.5E+	<1.8E+	<1.6E+	<2.0E+	<1.96E+	2.0E+	<1.8E+	3.7E+04
FOSFORO TOTAL mg/Kg	205.0	293.7	185.9	171.1	131.1	153.5	207.8	229.1	265.7	280.5	182.7	400.6	241.9	210.2	211.6
HIP mg/Kg	2396.7	2446.7	1844.1	4440.7	3749.8	3628.5	2597.5	3488.9	1452.7	2745.7	2587.3	2599.4	4435.9	3625.40	6396.70
HUMEDAD %	1.08	0.80	4.49	0.91	0.50	0.76	1.33	1.47	1.11	1.16	1.00	9.69	0.60	0.70	0.85
PH	7.2	7.0	7.1	7.1	7.0	7.0	7.1	7.0	7.1	7.0	6.9	7.0	7.1	6.8	6.8
POTASIO mg/kg	3.28	3.41	2.95	2.91	3.76	2.61	2.98	2.16	3.11	3.39	3.00	3.57	4.07	2.78	3.69m
CADMIO mg/kg	0.0559	0.0471	0.0457	0.0396	0.0470	0.0546	0.0450	0.0532	0.0546	0.0488	0.0521	0.0524	0.0504	0.0490	0.0447
PLOMO mg/kg	0,2679	0,261	0,0765	0,5064	0,5472	0,6074	0,2215	0,2703	0,2859	0,1366	0,6911	0,3562	0,2578	0,1389	0,4513

De acuerdo a lo observado en la tabla 3, los lodos presentan un pH neutro, el cual es el indicado para la actividad microbiana, recomendando como rango óptimo entre 6,0 y 8,0 unidades, así mismo, se presenta una concentración mínima de metales pesados, que no superan los límites permisibles (Resolución 1287 de 2014) (ver Tabla 4) y una baja proporción de nutrientes como nitrógeno y fósforo. A partir de la caracterización inicial se realizó el monitoreo constante de los mesocosmos, haciendo muestreos con una periodicidad de 15 días para los parámetros establecidos en la tabla 2. Para la humedad y temperatura se realizó la toma de datos diariamente como se observa en la Tabla 2.

Tabla 4: Límites permisibles de Metales pesados en lodos según Resolución 1287 de 2014

Resolución 1287 de 2014			
Criterio	Variable	Unidad de medida	Valores máximos permisibles
químicos - Metales	Cadmio	mg/Kg base seca	8.0
	Plomo	mg/Kg base seca	300.0

Análisis Estadístico

Metodología ANOVA

El valor que nos sirve de referencia para esta metodología a la hora de aceptar o rechazar la hipótesis nula es el nivel de significación. Si el nivel de significación es mayor que 0,05, aceptaremos la hipótesis nula de independencia entre las variables (no existen efectos diferenciales entre los tratamientos). Si el nivel de significación es menor que 0,05 rechazaremos la hipótesis nula y aceptaremos la hipótesis alternativa, es decir, concluiremos que existe una relación de dependencia entre las variables.

Tabla 5: Porcentajes de remoción de HTP y datos Estadísticos

Tiempo (Días)	Control	Urea	Fosfato	Mezcla	Mezcla + MO
15	21390	25630	22902	23480	24049
30	18709	18187	16876	19128	17193
45	16371	13330	14220	15379	15081
60	14232	12120	11168	13807	14071
75	13751	11040	7766	7102	9712
% de Remoción	41%	74%	94%	97%	78%
Media	16890,60	16061,40	14586,40	15779,20	16021,20
Mediana	16371,00	13330,00	14220,00	15379,00	15081,00
Desviación estándar	3191,65	6005,95	5760,40	6120,87	5251,47
Varianza de la muestra	10186601,30	36071479,80	33182258,80	37465078,70	27577987,20
% del Coeficiente de Variación	18,90	37,39	39,49	38,79	32,78
ANOVA	<i>p=0,97</i>				

Tabla 6: Análisis de Varianza según metodología ANOVA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	13784841,4	4	3446210,34	0,119259728	0,97404358	2,866081402
Dentro de los grupos	577933623	20	28896681,2			
Total	591718465	24				

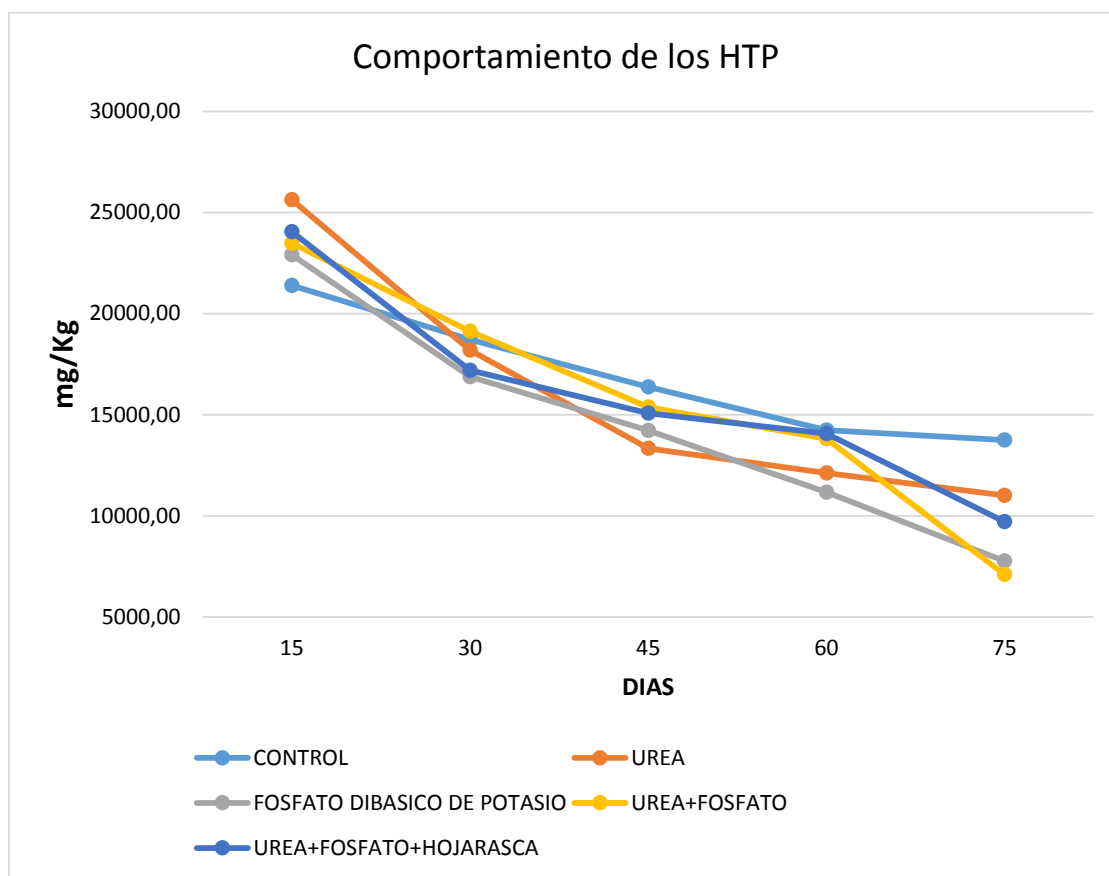
Se evaluó el efecto de los diferentes tratamientos para la degradación de lodos contaminados con HTP de concentración en mg/Kg en un periodo experimental de 75 días con observaciones tomadas a los días 15, 45, 60 y 75. En la tabla 5 se presentan los tratamientos bajo investigación y los porcentajes de remoción de TPH de cada tratamiento al final.

La gráfica 1 muestra el cambio en la concentración de TPH en mg/Kg. Todas los tratamientos bajo estudio presentaron una disminución en la concentración de TPH en el periodo experimental observándose mayor remoción en los tratamientos de Fosfato dibásico de Potasio y la mezcla de Urea más Fosfato dibásico. .

A los datos de la investigación se aplicó la metodología ANOVA. El modelo reveló que el análisis de significancia para los niveles de esta investigación no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos con respecto al comportamiento de la concentración de Hidrocarburos, sin embargo, es importante aclarar que los tratamientos bioestimulados presentan mayor degradación con respecto a la pila control y las concentraciones finales que son importantes para la disposición final de los lodos.

Biodegradación de Hidrocarburos

Gráfica 1: Comportamiento de HTP



Se estableció el comportamiento de la concentración de Hidrocarburos Totales de Petróleo, frente al tiempo de biorremediación y el tipo de tratamiento. Se realizaron cinco muestreos, de los cuales se determinó el porcentaje de remoción de muestreo a muestro y finalmente una eficiencia final del tratamiento. Los resultados arrojaron que el tratamiento a través de atenuación natural tuvo una degradación de 41,5%, comparado con los tratamientos bioestimulados, donde el más eficiente fue el suplementado con Urea más fosfato dibásico de potasio que obtuvo el 96,8% de remoción, el tratamiento con fosfato reflejo una remoción del 93,9%, seguido por el tratamiento con mezcla de fosfato, Urea y hojarasca con una remoción del 78,4% y finalmente un 74% para el

tratamiento suplementado con Urea, Los porcentajes obtenidos para cada tratamiento reflejan la eficiencia de la técnica de biorremediación para la degradación de HTP.

Lee S.H., Lee S., Kim D.Y y Kim J.G. (2007). en su investigación determinaron que la velocidad de remoción de contaminantes aumenta con la adición de nutrientes como el nitrógeno y el fosforo, lo cual sustenta los resultados que se obtuvieron en esta investigación en los tratamientos bioestimulados, sin embargo, estos autores obtuvieron porcentajes de remoción entre el 42 y 51% después de 105 días, atribuyendo mayores remociones para la presente investigación gracias a la oxigenación frecuente del medio que permite la volatilización de los compuestos tóxicos (Geo Ambiental de México S.A. de C.V, 2000) y el crecimiento de los microorganismos.

Mosquera y Serrano (2015), reportan una remoción de 96% en 12 semanas en el tratamiento suplementado con Urea y fosforo, sustentando los resultados de esta investigación, donde la mejor remoción esta dado para la mezcla de estos dos nutrientes en un tiempo de 11 semanas. De esta manera, se deduce que la implementación de este tratamiento estimula el metabolismo microbiano que acelera procesos de degradación.

En el caso del tratamiento control, observamos un porcentaje de la degradación de HTP, esto se debe a otros factores, tal como se presenta en (Arrieta, *et al.* 2012) que atribuye la degradación por atenuación natural a la presencia de procesos como transformaciones químicas y en menor medida volatilización o fotólisis. Sin embargo se recomienda la bioestimulación para la aceleración de los procesos microbianos.

Para el tratamiento suplementado con urea, fosfato dibásico de potasio y hojarasca, podemos observar que la reducción del contaminante fue menor en comparación con el tratamiento cuatro (Urea+ Fosfato dibásico de Potasio),este resultado se puede atribuir a que si la

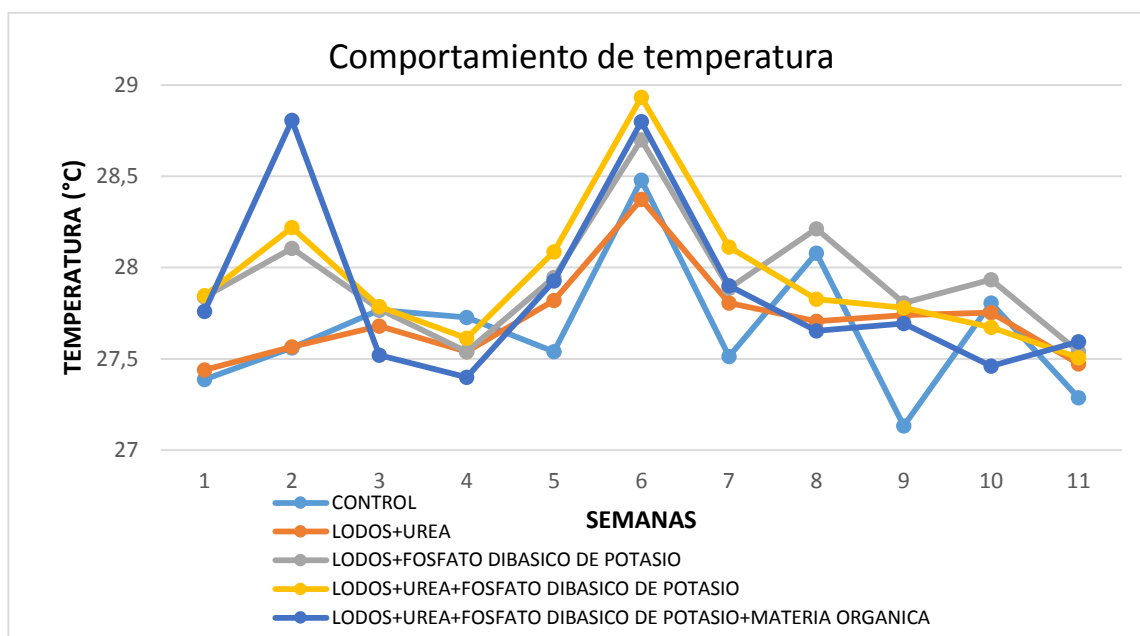
concentración de carbono aumenta significativamente no favorece el crecimiento bacteriano de acuerdo a la relación C:N:P (Gómez y Gutiérrez), la adición de hojarasca para el tratamiento aumenta la concentración de carbono en el medio, lo que dicho anteriormente pudo afectar la degradación del HTP, puesto que cuando dichas relaciones son altas las tasas de mineralización son bajas y cuando estas relaciones son bajas las tasas de mineralización son altas. (Pardo J et al, 2004)

El tratamiento de Urea arrojó un 74% de remoción, durante los primeros 45 días se observa una degradación importante atribuida al crecimiento poblacional de los microorganismos, posterior al día 45 hasta el 75 esa degradación se ralentiza y es atribuible a un descenso en la población microbiana para ese tiempo.

Los resultados obtenidos para cada uno de los tratamientos en la degradación de HTP se atribuye principalmente a la capacidad de los grupos bacterianos como de *E. Coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Acinetobacter spp.*, que a través de sus procesos metabólicos producen enzimas que “actúan reduciendo el O_2 e incorporando un átomo de oxígeno en el alcano, produciendo un alcohol primario que posteriormente puede oxidarse hasta CO_2 o bien quedarse en un aldehído o un alcohol intermedio”. (García y Peralta, 2008), lo que se traduce en la capacidad metabólica que tienen las bacterias de sintetizar compuestos peligrosos en menos contaminantes

Temperatura

Gráfica 2: Comportamiento de la temperatura durante el proceso de biorremediación



Como se puede apreciar en la gráfica durante la investigación la temperatura se mantuvo en un rango de 27° C a 29°C, que esta dentro del rango de temperatura optimo al cual se encuentran adaptados los microorganismos. En la segunda semana hay un incremento de temperatura para el tratamiento urea+ fosfato+ materia orgánica respecto a los demás tratamientos y en la semana seis se observa un incremento notorio de temperatura para todos los tratamientos, esto se atribuye a diferentes variables, por un lado, tenemos el clima y por el otro el tipo de poblaciones microbianas presentes.

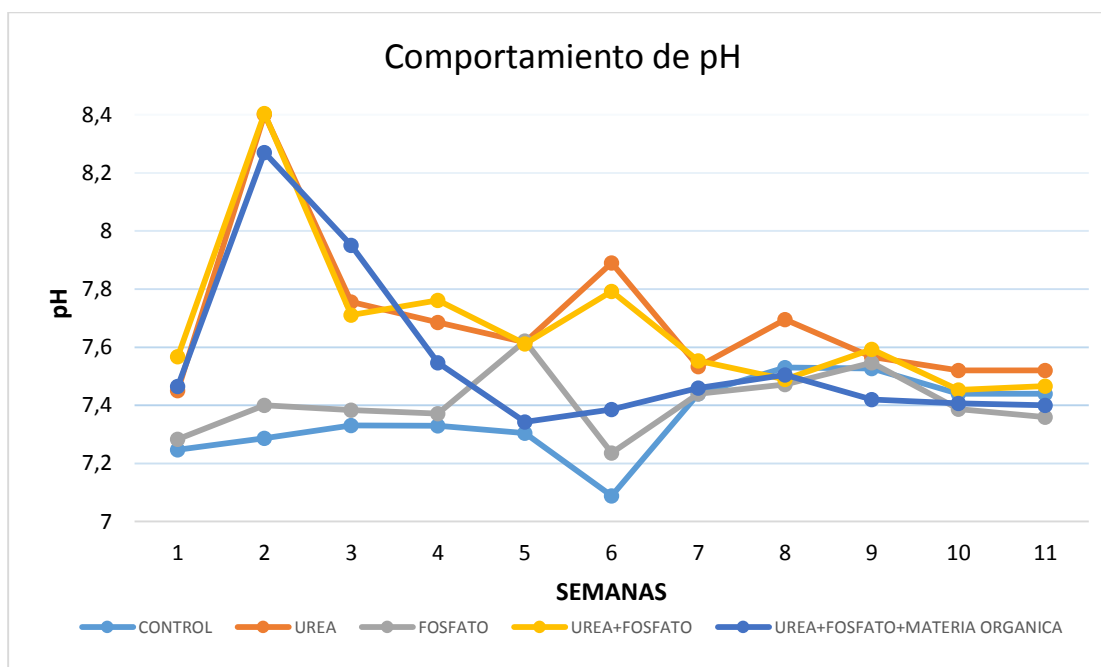
El hecho de que los rangos de temperatura hayan sido estables favoreció el proceso de degradación de hidrocarburos, puesto que el metabolismo microbiano, la actividad celular y enzimática dependen de la temperatura. Se recomienda un rango de temperatura mesofílico entre

20 y 40°C (Lladó S, 2008, p.41), en el cual se dan las tasas más elevadas de crecimiento y reproducción de los microorganismos (Atlas RM, Bartha R. 1987) .

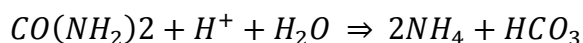
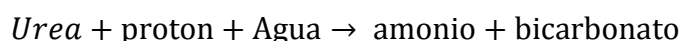
Ñustez (2012) evaluó el efecto de bioestimulación y bioaumentación de lodos contaminados con Hidrocarburos Totales de Petróleo y reporto temperaturas entre 19°C y 22°C, y un promedio de 21°C, condición que favoreció el proceso de degradación de hidrocarburos, Mosquera (2015) reporto temperaturas entre 28°C y 32°C en la biorremediación de lodos de una planta regeneradora de aceites lubricantes usados, recuperando el suelo para uso industrial, Anza *et al.*,(2016) reportaron rangos entre 25°C y 37°C, lo que indica que los rangos de temperatura que se evidenciaron durante el tiempo de experimentación de nuestra investigación corresponden a un rango adecuado para el proceso de biorremediación.

pH

Gráfica 3: Comportamiento del pH

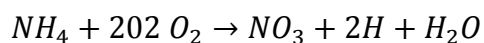
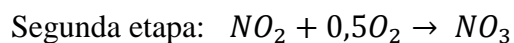
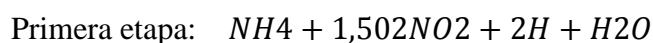


La variabilidad del pH afecta tanto a la actividad microbiana, como a la solubilidad y adsorción de contaminantes (Lladó S, 2008, p.41). El rango óptimo para la biorremediación está dado entre 6 y 8 unidades de pH, sin embargo, se recomienda manejar rangos de pH neutros (7.4 y 7.8) para la degradación de hidrocarburos (Lladó S, 2008). En la gráfica se observa un incremento en las semanas uno, dos y tres para los tratamientos suplementados con urea, urea+ Fosfato Dibásico de Potasio y urea + fosfato dibásico de Potasio + Materia Orgánica. El incremento de pH para estos tratamientos se atribuye a la urea pues esta sufre un proceso de hidrólisis (Vallejo, V. *et al.*, 2005), de acuerdo a la siguiente reacción:



La hidrólisis hace que el pH incremente de manera importante debido al consumo de protones que ocurre en el proceso (Ñustez, 2012), por su parte los tratamientos que no contenían urea se mantuvieron dentro de los rangos recomendados de pH. Los tratamientos con Urea manejaron rangos entre 7.4 y 8,4, el tratamiento control y el de fosfato dibásico de potasio entre 7.0 y 7.6.

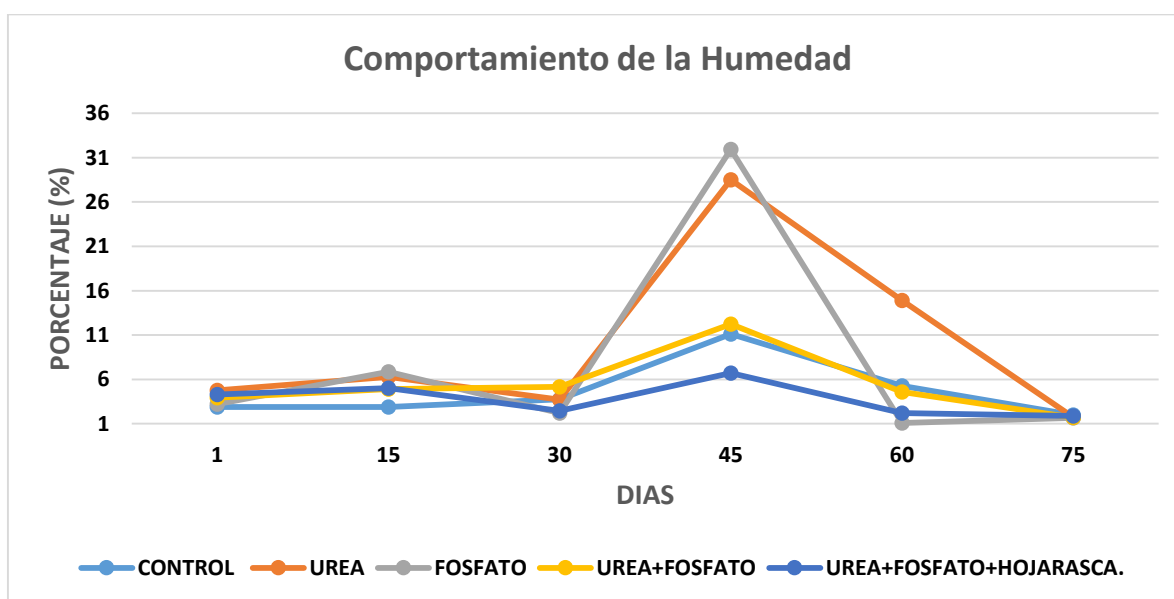
A partir de la semana seis se presentan una reducción para los mesocosmos que contenían urea, debido a que ocurre una asimilación y fijación del Nitrógeno, donde las bacterias oxidan el amonio convirtiéndolo en nitritos y nitratos. (Rodríguez L, 2008).



El pH durante el proceso experimental mantuvo un comportamiento similar a lo reportado en los estudios de Mosquera (2015) con rangos de pH adecuados durante cuatro meses de tratamiento, exceptuando fluctuaciones de pH para los tratamientos adicionados con urea en rangos entre 8 y 8,5 en las semanas 4 y 7 y Ñustez (2012) quien observo que el pH aumento para las tres primeras semanas en los tratamientos suplementados con nutrientes entre 7,5 y 9,0 y que con el paso del tiempo se presentó la reducción de ese valor para los mesocosmos entre 7,0 y 7,5 unidades.,

Humedad

Gráfica 4: Comportamiento de la humedad



La humedad es fundamental para llevar a cabo un proceso de degradación, ya que el agua es parte del protoplasma bacteriano, lo que la convierte en un medio de transporte mediante el cual los compuestos orgánicos y nutrientes son movilizados hasta el interior de las células, (Torres K, Zuluaga T, 2009).

El rango recomendado esta entre 20% a un 75% (Gómez, S., *et al.*, 2008). En el 2012 Ñustez D (2012), evaluó el efecto de bioestimulación y bioaumentación de lodos contaminados con Hidrocarburos Totales de Petróleo y reporto humedades entre 20 y 31,7 %, Mosquera (2015) tuvo porcentajes de humedad comprendidos entre 20% a 40% en la biorremediación de lodos de una planta regeneradora de aceites lubricantes usados, sin embargo, como se evidencia en la gráfica 5 los porcentajes reportados de humedad para esta investigación están muy por debajo del rango recomendado, y con estos reportes prácticamente datos implican que las muestras estarían secas y no habrían las condiciones óptimas para crecimiento microbiano y la asimilación de los nutrientes. Es importante aclarar que, como se describe en la metodología, a cada tratamiento, se agregó agua cinco veces por semana. Sin embargo, la humedad no tuvo un comportamiento constante, pues las condiciones ambientales de Girardot, especialmente la temperatura que tiene promedios mensuales de 29°C, favorecerían procesos de deshidratación de los lodos especialmente en la parte superficial. ,

Se observa que para los primeros tres muestreos la humedad es baja en todos los tratamientos y en el día 45 hay un incremento, especialmente para los tratamientos de Urea y Fosfato dibásico de potasio, que reportan una humedad entre el 25 al 30% y del 30 al 35% respectivamente, lo que favoreció el crecimiento microbiano para esta semana. A sí mismo, estos porcentajes se atribuyen al tiempo en que se realizó el muestreo y la determinación de este factor por parte del laboratorio, ya que con el paso de los días la humedad se pierde por evaporación y no será la misma que había inicialmente.

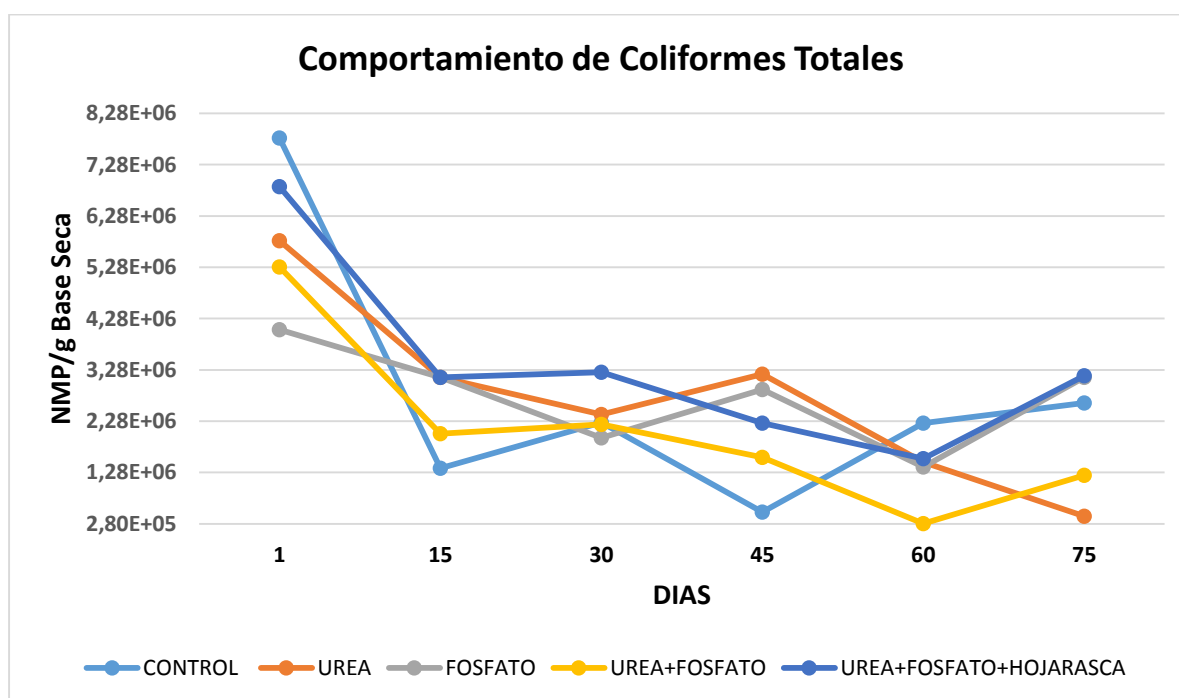
Microorganismos

En su gran mayoría las bacterias degradadoras de hidrocarburos son gram negativas (Ruberto *et al.*, 2003), los lipopolisacáridos presentes en sus membranas ayudan a la formación y estabilización de emulsiones de hidrocarburos en sistemas acuosos y contribuyen al incremento en la superficie de ataque sobre el contaminante, para su posterior asimilación (Sikkema *et al.*, 1995).

A nivel microbiológico se identificaron Coliformes Totales, este grupo comprende géneros de *Escherichia Coli sp*, *Enterobacter sp*, *Klebsiella sp* y *Citrobacter sp*, bacterias capaces de degradar hidrocarburos.

Coliformes Totales

Gráfica 5: Comportamiento de Coliformes totales.



En la gráfica se evidencia que la población inicial de Coliformes Totales está dentro del rango establecido por la literatura para llevar a cabo el proceso de degradación de Hidrocarburos

equivalente a 10^6 y 10^8 , luego presenta un descenso poblacional para el día quince correspondiente a la semana tres pero se mantiene en el rango exponencial en todos los tratamientos, ese descenso es atribuible a dos factores, principalmente a la pérdida de humedad que presentaban los lodos de un día para otro y que afectaba el crecimiento bacteriano y a los procesos de competencia que se presentan dentro del mesocosmo. Existen mecanismos biológicos muy importantes asociados al crecimiento poblacional, como la predación, descensos metabólicos, inactivación o muerte natural. La predación se realiza principalmente por el género *pseudomona*, uno de los principales géneros bacterianos que realizan el proceso de degradación de Hidrocarburos. (Guchi 2015, Donison 2004).

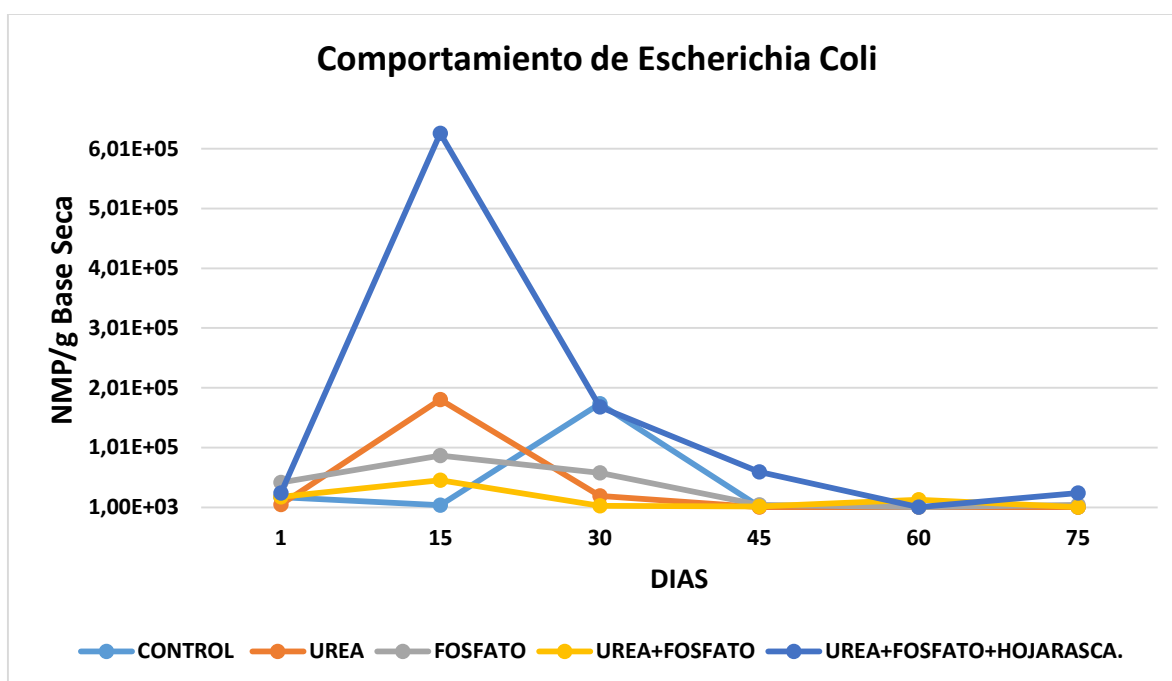
Para el día 45 se observa un crecimiento en los mesocosmos Urea, y mesocosmo fosfato dibásico de potasio, lo que podría indicar que la adición de nutrientes, incrementa la densidad microbiana en pequeños rangos. Esto sucede ya que estos nutrientes catalizan diversas reacciones, por lo tanto, los mesocosmos muestran una gran presencia de microorganismos responsables de la degradación de Hidrocarburos, esto indica, que los sedimentos cuentan con poblaciones autóctonas, adaptadas a diferentes condiciones de pH, temperatura y humedad.

Ñustez (2012) reportó rangos de 10^6 – 10^8 en sus mesocosmos, el comportamiento de la población de las bacterias hidrocarbocíclicas mostró un crecimiento constante en su población en la mayor parte del tiempo de la investigación, resaltando que las condiciones de humedad para esa investigación estuvieron dentro de los rangos adecuados.

Escherichia coli.

La presencia de *E coli* favorece el proceso de degradación ya que está demostrado que es capaz de detoxificar el medio con presencia de agua.(Lorenzetti, Grillo, Scaravaglio, Cerioni, Volentini y Montelongo, 2012).

Gráfica 6: Comportamiento de *Escherichia Coli*.



De los géneros que hacen parte de los Coliformes Totales se hizo la determinación poblacional para *E.Coli*. En la gráfica puede observarse que se presenta un crecimiento del día 1 al día 15 para todos los tratamientos de bioestimulación, exceptuando el tratamiento de atenuación natural donde se observa un comportamiento decreciente. El tratamiento con la mezcla de nutrientes y materia orgánica fue el que mayor crecimiento reportó, el aumento en las primeras semanas se debe a que las bacterias sintetizaron los nutrientes suplementados, lo que se traduce en la favorabilidad de

degradación de hidrocarburos. La *E coli* ha sido aislada para procesos de biorremediación junto con otras especies, así como lo reporta Vásquez, Guerreo y Quintero (2010).

La *Escherichia coli* es capaz de degradar compuestos de aminoácidos presentes en los hidrocarburos como aminoácidos aromáticos, lo que traduce alcalinidad en el medio, (Panigatti, griffa, boglione, gentinetta y cassina, 2011, p.15). El día 15 el tratamiento donde hubo un crecimiento poblacional fue el de urea + Fosfato + Materia Orgánica, lo que refleja la asimilación de los nutrientes suplementados, consecuente a lo afirmado anteriormente, el pH para el mismo tiempo se mantuvo en un rango alcalino, de la misma forma se observó un aumento de la temperatura.

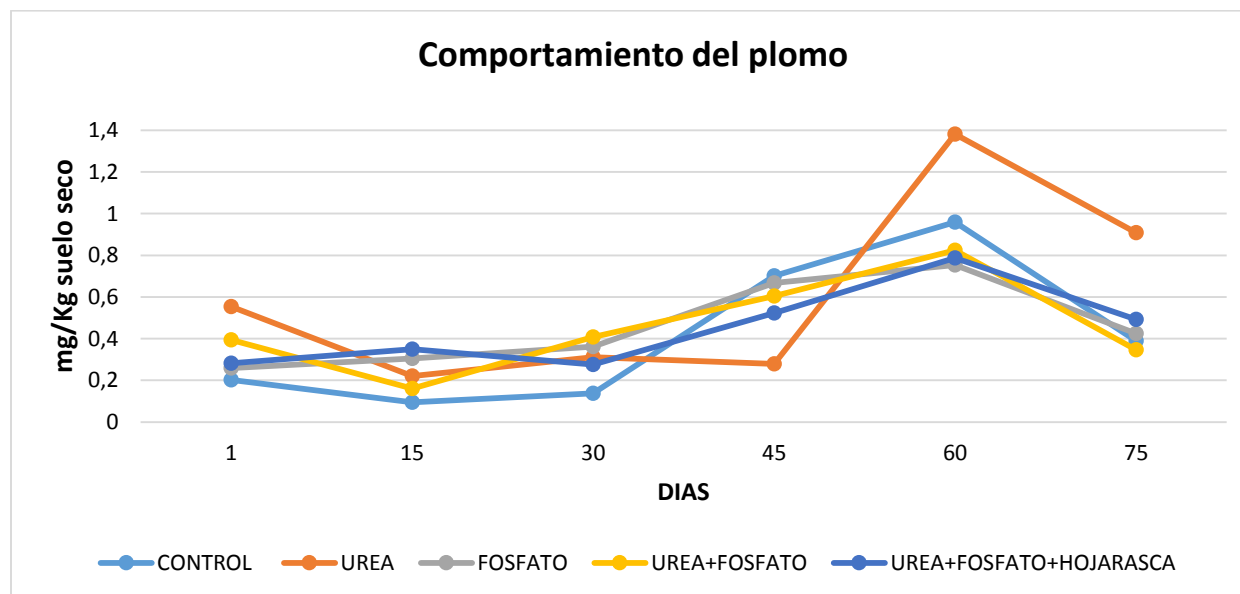
Finalmente se observa una disminución poblacional, atribuida a la pérdida de humedad con el paso de los días, razón por la que se reduce o detiene la tasa de crecimiento bacteriano; lo que explica el descenso poblacional de microorganismos al finalizar el tratamiento.

Comportamiento de metales pesados

Plomo

El plomo encontrado en las muestras de lodos se puede presentar ya que algunos “residuos como filtros de aceites usados y combustibles pueden contener trazas de metales pesados” (citado en Cortez J, 2011 p.34) desechos que se generan en las actividades de las estaciones de servicio y que deben ser tratados como residuos peligrosos según el decreto 4741 de 2005.

Gráfica 7: Comportamiento del plomo en el proceso de biorremediación



Se observa que las concentraciones presentes de Plomo en las muestras de lodos no superan 1,4 mg/kg, siendo el tratamiento suplementado con urea el que presenta mayor valor. , La concentraciones de plomo en esta investigación no tiene ninguna influencia sobre el proceso de degradación de HTP según lo reportado por Roldán e Iturbe (2005), quienes recomiendan que para procesos de biorremediación, los metales pesados deben presentar concentraciones menores a 2500 mg/Kg.

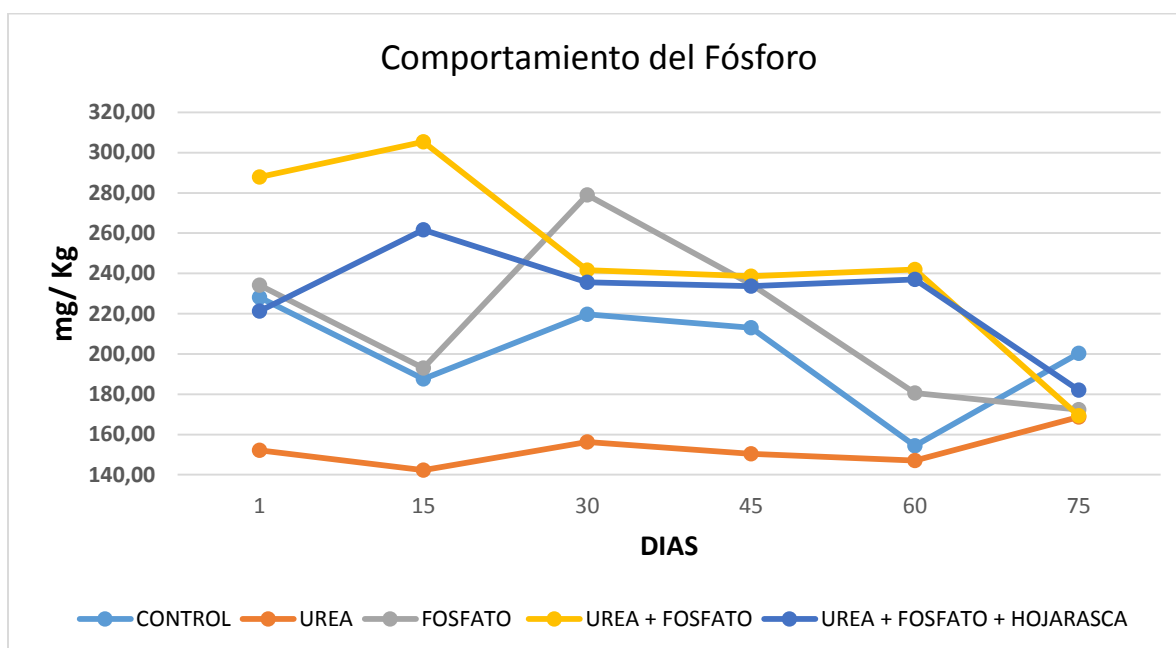
A partir del día 30 hasta el día 60, se observa un incremento similar para todos los tratamientos, dicho comportamiento se puede asociar a que ciertas especies bacterianas que tienen el gen *pbrA* y que mediante el mecanismo ATPasa tipo P pueden funcionar como sistema de expulsión de metales pesados o sustratos tóxicos, donde dichas sustancias son expulsadas del citoplasma celular (Cervantes, et al. 2006).

Comportamiento de nutrientes

Fosforo.

El fósforo (P) interviene en la formación de compuestos energéticos dentro de las células y es requerido para la síntesis de ácidos nucleicos y fosfolípidos en los procesos de reproducción y degradación (Gómez, S., *et al*, 2008).

Gráfica 8: Concentración de Fósforo durante el proceso de Biorremediación



En los tres tratamientos que se agregó fosfato no hubo una reducción total del nutriente, atribuyéndose a que el rango de pH fue de 7 a 8, teniendo en cuenta que la acidificación del medio favorece la solubilización de fosfatos (Fernández *et al.*, 2005 citado por Patiño, 2014, p.292). Como se puede observar en Pardo, *et al.* (2004) donde se evidenció un pH de 4, por ende se presentó una gran absorción del nutriente.

En el tratamiento con Fosfato dibásico de Potasio se observa del día 15 al día 30 un incremento en la concentración del nutriente luego de la adición inicial, atribuible al proceso por el cual bacterias gram negativas como Coliformes Totales expulsan ácidos orgánicos y pueden liberar grandes cantidades de fosfatos hacia el exterior de las células (Perez *et al.*, 2007 citado por Beltran M, 2014, p.106). Del día 30 al día 75 se evidencia el descenso en la concentración de este nutriente, debido a la asimilación por parte de bacterias favoreciendo el crecimiento microbiano de Coliformes para esos días, lo que permitió que este tratamiento fuera uno de los que mayor remoción de HTP presento en el tiempo experimental.

En la Gráfica se evidencia un comportamiento similar para los tratamientos de Urea más Fosfato dibásico de Potasio y el tratamiento que contiene la mezcla de los dos anteriores nutrientes más Hojarasca, la asimilación de estos nutrientes se traducen en los porcentajes de remoción para estos dos tratamientos 93,9% y 78,4% respectivamente, sin embargo el tratamiento que contenía Hojarasca no presento una mayor remoción de HTP frente al Fosfato más Urea a pesar de su comportamiento similar, debido a que al añadir hojarasca aumenta la fuente carbono en los lodos, de manera que las relaciones Carbono nutriente son altas generando remociones más bajas (Pardo J, *et al* 2004)

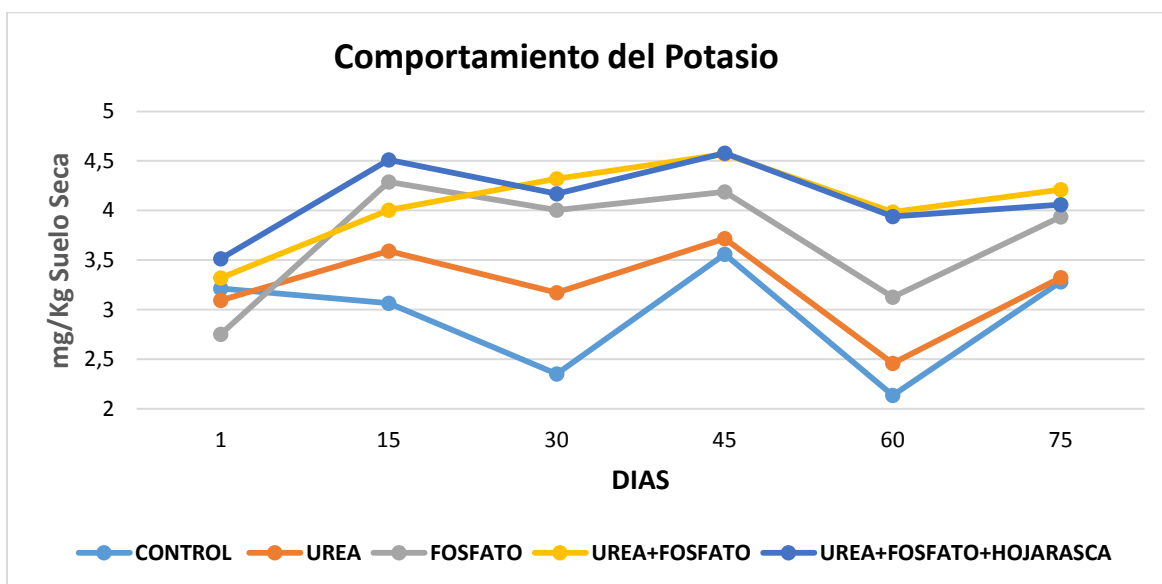
El incremento del fósforo en los mesocosmos puede ser debido a una liberación de fosfatos en los procesos de metabolismo microbiano y del decaimiento de la población microbiana (Si-Zhong, Y., *et al*, 2009). La posterior disminución en la concentración de fosforo en los tratamientos realizados se puede atribuir a un proceso llamado respiración microbiana, donde la cadena transportadora de electrones de la célula realiza una reacción oxido-reducción con el fin de obtener la energía consumiendo o degradando los sustratos necesarios para el crecimiento microbiano (Gomez *et al*, 2008 p.77). Tal como se presentó en Ñustez (2012), donde se obtuvo una

disminución parcial del fósforo y se atribuye a la incorporación del nutriente en las células microbianas.

Potasio.

Se determinó un aumento significativo en la concentración de potasio para los primeros muestreos en los tratamientos a los cuales se adiciona fosfato dibásico de potasio, para suplementar los microorganismos con nutrientes básicos y generar la activación (Castro *et al.*, 2004). El potasio incrementa la densidad microbiana, ya que cataliza reacciones bacterianas y de esta forma ayuda a diferentes procesos químicos dentro de las células y contribuye a mantener el agua dentro de las mismas. (Mosquera, 2015, p.35) En los tratamientos a los cuales no se les adiciona el suplemento también reportó una concentración parcial más baja.

Gráfica 9: Comportamiento del potasio.



En los resultados arrojados se observa que el potasio presenta comportamientos similares para los tratamientos, con fluctuaciones durante el tiempo experimental, estos ascensos y

descensos se atribuye a la cantidad de procesos metabólicos de los microorganismos que liberan y asimilan compuestos dentro de los lodos (Ríos R 2005). Del día 30 al día 45 como del día 60 al 75, se puede observar un aumento en la concentración del compuesto, especialmente en los tratamientos a los cuales se les adiciono fosfato dibásico de potasio y en menor medida los tratamientos control y Urea, asumiendo la asimilación del nutriente, los descensos en la concentración se debe al consumo del potasio por parte de los microorganismos para su desarrollo celular (Bobadilla y Rincón, 2008). El comportamiento de este nutriente en esta investigación es similar a lo que presenta Ñustez (2012, p.73), quien lo atribuye igualmente al metabolismo de los microorganismos.

Conclusiones

- La estrategia de bioestimulación para tratamiento de lodos de estaciones de servicio es una alternativa eficiente en la degradación de Hidrocarburos Totales de Petróleo, ya que los resultados de la investigación permiten evidenciar remociones en la concentración de HTP hasta de un 97%.
- La degradación de los Hidrocarburos se asocia a la presencia de *E. Coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Acinetobacter spp.*, que se encuentran agrupados dentro de las Coliformes Totales, los cuales están reportados por la literatura como especies con capacidad degradadora, los conteos de microorganismos de los lodos permitieron evidenciar, a lo largo del tiempo de experimentación, los diferentes comportamientos y la degradación intensiva del contaminante. determinando que la actividad bacteriana aumenta cuando el medio presenta una concentración de nutrientes mayor.

- La degradación de hidrocarburos puede presentarse de una manera más eficiente si se suplementa con la mezcla de nutrientes esenciales para el crecimiento de los microorganismos como Urea y Fosfato dibásico de Potasio
- La técnica de bioestimulación alcanzó porcentajes de remoción en la concentración de Hidrocarburos Totales de Petróleo entre un 74% y un 97%, donde el tratamiento suplementado con la mezcla de Urea y Fosfato dibásico de potasio presentó la mejor remoción con un 96,8%, seguido por el tratamiento suplementado con Fosfato dibásico de potasio con un 93,9%, el tratamiento con la mezcla de nutrientes más hojarasca un 78,4% y finalmente el tratamiento con Urea un 74% de remoción de HTP.
- Con los resultados de la investigación se deduce que el tratamiento control no es un proceso rápido, si no que por el contrario, requiere de un tiempo de tratamiento mayor a los bioestimulados para una reducción de HTP, lo que hace necesario la implementación de alternativas como las biotecnológicas que generen una mayor eficiencia de degradación para la disposición final de lodos generados en las estaciones de servicio.
- Con la investigación se pudo determinar que los lodos provenientes de la estación de servicio contenían trazas de metales pesados en concentraciones mínimas, que no superan el límite máximo permisible que estipula la normatividad para depósito de suelos contaminados con metales pesados, por consiguiente, no se establece un tratamiento secundario para dichos residuos.
- El proyecto estableció que para llevar a cabo el proceso de biodegradación de manera eficiente es necesario suplementar con nutrientes esenciales como el nitrógeno, fósforo y potasio, así mismo es de gran importancia tener en cuenta los parámetros como humedad,

pH, temperatura y oxigenación, ya que los microorganismos necesitan condiciones adecuadas para realizar los procesos de metabolización de los contaminantes.

- La estrategia propuesta se convierte en una alternativa que puede ser utilizada en las Estaciones de Servicio, en miras a reducir costos con respecto al transporte de RESPEL y tratamientos convencionales, generando un residuo menos peligroso e impactante para el ambiente.
- La investigación generó una Guía metodológica con miras educativas, dirigida a las Estaciones de Servicio, como una herramienta para el tratamiento adecuado y disposición de lodos contaminados que se generan en estos establecimientos.

Recomendaciones

- Es de gran importancia para las investigaciones identificar la concentración de microorganismos presentes en las muestras tratadas, las cuales realizan la degradación de los hidrocarburos y determinar si es necesario la bioaumentación en el medio.
- Debe realizarse una adición de nutrientes más amplia en el tiempo para los tratamientos de acuerdo a las concentraciones que van reportando los muestreos, de manera que, permita manejar condiciones óptimas de nutrientes.

- Es importante determinar para futuras investigaciones cual es la función que cumple cada una de las especies microbianas dentro del medio, ya que cada una ejerce una función diferente en la degradación de HTP
- Es necesario recomendar que para los tratamientos de bioestimulación se debe realizar un control minucioso de las condiciones ambientales del medio como la humedad, oxigenación y temperatura que pueden afectar la estabilidad de los procesos microbianos.

Referencias bibliográficas

- Adams, R. Domínguez, V. y García L, (1999). Potencial de la biorremediación de suelo y agua impactados por el petróleo en el trópico mexicano.
- Agencia para sustancias toxicas y el registro de enfermedades (ATSDR). (2016). Resúmenes de Salud Pública - Hidrocarburos totales de petróleo (Total Petroleum Hydrocarbons (TPH)). Recuperado de: https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs123.html
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (ATSDR). 1998.
- Alcaldía Mayor de Bogotá. (2008). Manual de buenas prácticas ambientales para la operación de una estación de servicio automotriz
- Anza, H. Orantes, P. Herreram R. Ruiz, A. Espinoza, E. Martinez, R. Garcia, C. y Vera, P. (2016), revista innovación mas desarrollo, vol 12.
- Arce, G. (2016). Memorias al congreso de la republica 2016 – 2017/ Ministerio de Minar y Energia, libro.

- Arrieta, O. Arias, L. Rojano, B. Ruiz, O. Cardona, S. (2012). Biorremediación de un suelo con diesel mediante el uso de microorganismos autóctonos. *Revista gestión y ambiente*, vol 15, num 1.
- Arroyo, M., Quesada, M., Quesada, R. (2008). Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos. Geocisa. Div. Protección Ambiental de Suelos: 297-305.
- Atlas RM, Bartha R.: *Fundamentals and Applications*. Second Edition. Edited
- Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE. UU. Toxicológica de Hidrocarburos totales de petróleo (HTP) Atlanta, Servicio de Salud Pública.
- Beltran, M. (2014), La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal, *Corpoica Cienc.* 101-113.
- Benavides, L. y Quintero, G. (2006). Biorremediación de Suelos Contaminados con Hidrocarburos Derivados del Petróleo. *Publicación Científica Nova* 4: 4.
- Bobadilla, C. y Rincon, S. (2008). Aislamiento y evaluación de bacterias fosfato solubilizadoras a partir de compost obtenido de residuos plaza. Pontificia Universidad Javeriana.
- Casellas, M., Fernandez, P., Bayona, J.M., Solanas, A.M. (1995). Bioassay-directed chemical analysis of genotoxic components in urban airborne particulate matter from Barcelona (Spain). *Chemosphere*, 30(4), 725-40

- Castro, L., Perdomo, M., y Benavides, J. 2004. Efecto de la Adición de Fertilizantes Inorgánicos Compuestos en la Degradación de Hidrocarburos en Suelos Contaminados con Petróleo. NOVA, 2(2): 39-49.
- Cervantes. C, Espino. E, Acevedo. F, León, R. Rivera. M, Avila. R, Wróbel. K, Wróbel. Z, Gutiérrez. J, Rodríguez. J, Moreno. R, (2006). Interacciones microbianas con metales pesados. vol, 48, 203–210.
- Convención de Basilea sobre el control del movimiento transfronterizo de desechos peligrosos y su eliminación. (2000). Guía metodología para la realización de inventarios nacionales de desechos peligrosos en el marco de la convención de Basilea. Primera versión, serie de la Convención de Basilea/SBC 99/009 (S), Ginebra.
- Cortés, J. (2011), Plan piloto de manejo de residuos peligrosos (RESPEL) para las estaciones de servicio (EDS) de los departamentos del Valle del Cauca y el Cauca – Colombia. Universidad autónoma de occidente.
- Echaverri, G. Manjarrez, G. y Cabrera, M. (2011), Aislamiento de bacterias potencialmente degradadoras de petróleo en hábitats de ecosistemas costeros en la bahía de Cartagena Colombia. Nova – publicación científica en ciencias biomédicas, vol 8, 1-120.
- Eweis, J.B., S.J. Ergas, D.P. Chang y E.D. Schroeder 1998. Bioremediation Principles. McGraw-Hill International Editions. 296 pp.
- Fernández, P., M. Grifoll, A. M. Solanas, J. M. Bayona y J. Albaigés. (1992). Bioassay-directed chemical analysis of genotoxic components in coastal sediments. Environ. Sci. Technol. 26:817-829.

- Garcia, M. y Peralta, M. (2008), Cometabolismo en la biodegradación de hidrocarburos. Revista mexicana de ingeniería química, vol 7, 1-12.
- Geo Ambiental de México S.A. de C.V. Tecnologías Biológicas de Remediación. México: 400-403. 2000.
- Glazer, A y Nikaido, H. 1995. Microbial Biotechnology: Fundamentals of Applied Microbiology. W. H. Freeman and Company, New York.
- Gonzalez, E. (2011), Concepto y estrategia de biorremediación. Revista ingecuan, vol 1.
- Gómez, S. Gutiérrez, D. Hernández, A. Hernández, C. Losada, M. y Mantilla, P. (2008), Factores bióticos y abióticos que condicionan la biorremediación por Pseudomonas en suelos contaminados por hidrocarburos. Nova – publicación científica Vol 6, 101-212.
- Ladislao, B., Beck, A., Spanova, K., Real, J., Russell, N. (2007). The influence of different temperature programmes on the bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in a coal-tar contaminated soil by in-vessel composting. Journal of Hazardous Materials 144, 340–347. London.
- Lladó, S. (2008). Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos pesados y caracterización de comunidades microbianas implicadas. Universidad de Barcelona.
- Leavy J, Colwell R. Microbial Degradation of Hidrocarbons in the Enviroment. Microbiological Reviews; 305-15. 1990
- Lee S.H., Lee S., Kim D.Y y Kim J.G. (2007) Degradation characteristics of waste lubricanst under different nutrient conditions. J. Hazardous Materials. vol. 143, 65-72.

- Lorenzetti, Y, Grillo, M, Scaravaglio, O, Cerioni, L, Volentini, S, Rodríguez, L, (2012). Biorremediación de suelos y aguas contaminadas con cobre. cepas mutantes de escherichia coli presentan diferentes capacidades depuradoras del metal.
- Maldonado, L. (2012), Evaluación del comportamiento de la pluma contaminante ante eventuales escenarios de contaminación por hidrocarburo liviano en aguas subterráneas dentro de dos instalaciones industriales utilizando el software visual modflow. Universidad pontificia bolivariana.
- Maroto, M. y Quesada, R. Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos. Revista Geosisa.
- Martínez, A. Gaju, N. (2005) El papel de los tapetes microbianos en la biorecuperación de zonas litorales sometidas a la contaminación por vertidos de petróleo.
- Martínez, A. Pérez, E. Pinto, J. Gurrola, B. Osorio, A. Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos empleando lodos residuales como fuente alterna de nutrientes. Revista contam. Ambien. 241-152.
- Méndez, María, Rennola, Leonardo, Peña, Mariano, Rodríguez, Pedro, Determinación de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) usando CG-FID en suelos de un patio de tanques en desuso situado en Catia La Mar–Venezuela. Ciencia e Ingeniería.
- Ministerio del Medio Ambiente y Alcaldía de Bogotá (1999). Guía de manejo ambiental para estaciones de servicio de combustible.
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, Decreto 2811 de 1974, Código Nacional de Recursos Naturales, República de Colombia.

- Mosquera, S. (2015) Bioremediation of sludge from a regenerating plant of used lubricating oils, recovering the and for industrial use. *Revista Researchgate*, 293.
- Ñustez, C. (2012). Biorremediación para la degradación de hidrocarburos totales presente en los sedimentos de una estación de servicio de combustible. Universidad tecnológica de Pereira.
- Panigatti, M. Griffa. C, Boglione. R, Gentinetta. F. Cassina. D, (2011), Uso de *Escherichia Coli* para la biorremediación de efluentes contaminados por cromo, Universidad Tecnológica de Pereira.
- Pardo J, Perdomo, M y Benavidez J. (2004), Efecto de la adición de fertilizantes inorgánicos compuestos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con petróleo. Nova – publicación científica, vol 2.
- Patiño, C. Reyes, O. (2014). Los microorganismos solubilizadores de fosforo: una alternativa biotecnológica para una egracultura sostenible. *Universidad libre*, vol 10, 288 – 297.
- Rodríguez, L. (2008). Evaluación de Dos Sustratos en la Técnica de Landfarming Para el Tratamiento de Suelos Contaminados con Hidrocarburos. Ingeniería en Biotecnología Ambiental. Escuela de Ciencias Químicas. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba. Ecuador.
- Roldán M. A. y Iturbe Arguelles R. (2005). Saneamiento de suelos contaminados con hidrocarburos mediante biopilas. Instituto de Ingeniería, unam. Cd. Universitaria.
- Rosini, F. D. (1960) Hydrocarbons in petroleum. *Journal of Chem.Educ.* **39**:554-561.

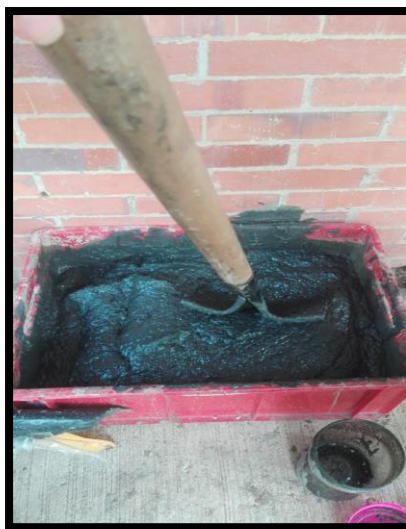
- Taccaria, M., Milanovic, V., Comitini, F., Casucci, C., Ciani, M. 2012. Effects of biostimulation and bioaugmentation on diesel removal and bacterial community. *International Biodeterioration & Biodegradation* 66, 39-46 Ancona, Italia
- Ta-Chen, L., Po-Tsen, P., Sheng-Shung, C. (2010). *Ex situ* bioremediation of oil contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials* 176, 27–34. Taiwan.
- Torres, K., y Zuluaga, T. (2009). *Biorremediación de Suelos Contaminados por Hidrocarburos*. Proyecto de Grado. Universidad Nacional de Colombia. Medellín.
- Trujillo, M. y Ramírez, J. (2012), *Biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos en Colombia*. *Revista de investigación agraria y ambiental*. Vol 3.
- Unidad de Planeación Minero Energetica. (2015), *Evaluación de la contribución económica del sector de hidrocarburos colombiano frente a diversos escenarios de producción*. Libro.
- Velásquez, J. (2017), *Contaminación de suelos y aguas por hidrocarburos en Colombia. Análisis de la fitorremediación como estrategia biotecnológica de recuperación*. *Revista de investigación agraria y ambiental*, vol 8, 1.
- Volke, T., y Velasco, J. 2002. *Tecnologías de Remediación para Suelos Contaminados*. Instituto Nacional de Ecología. INE-SEMARNAT. México. D.F.
- Viñas M. (2005). *Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos: caracterización microbiológica, química y ecotoxicológica*. Universitat de Barcelona.

Anexos

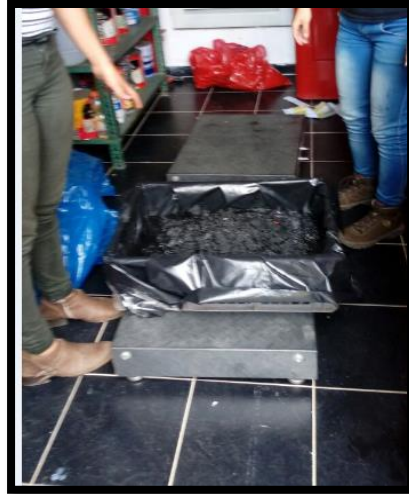
Registro Fotográfico



Toma de muestras de lodo de la trampa de grasas de la EDS AGRO S.A



Homogenización de los lodos para muestreo inicial



Pesaje de lodos



Disposición de los lodos en los quince mesocosmos

