

**BIORREMEDIACIÓN APLICADA A LODOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS
GENERADOS EN UNA ESTACION DE SERVICIO EN BOGOTÁ, CUNDINAMARCA**

William Manuel Nova Gómez

**UNIVERSIDAD DE BOGOTÁ JORGE TADEO LOZANO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES E INGENIERÍA
MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES
BOGOTA D.C.
2018**

**BIORREMEDIACIÓN APLICADA A LODOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS
GENERADOS EN UNA ESTACION DE SERVICIO EN BOGOTÁ, CUNDINAMARCA**

William Manuel Nova Gómez

Ing. Químico

Trabajo presentado como requisito para optar al título de
Magister en Ciencias Ambientales

Director

Dr. Joaquín Fonseca.

Ing. Químico

MSc: Saneamiento Ambiental y Sanitario

**UNIVERSIDAD DE BOGOTÁ JORGE TADEO LOZANO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES E INGENIERÍA
MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES
BOGOTA D.C.
2018**

Biorremediación aplicada a lodos contaminados con hidrocarburos generados en una estación de servicio en Bogotá Cundinamarca.

Biorremediación de lodos contaminados con hidrocarburos

William Manuel Nova Gómez*¹, José Joaquín Fonseca Salvador

Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Facultad de Ciencias Naturales e Ingeniería, Maestría en Ciencias Ambientales, Bogotá D.C., Colombia.

*¹Autor para correspondencia: wnova@educacionbogota.edu.co

RESUMEN

La presente investigación, realiza un análisis sobre lodos generados en la estación de servicio ESSO el Recuerdo, por sedimentación en las trampas de grasa y canales perimetrales, siendo residuos peligrosos (Respel) por su contenido de hidrocarburos, su disposición se realiza a través de terceros. Se busca evaluar por medio de la biorremediación dos de sus estrategias; atenuación natural y bioestimulación el tratamiento que permita eliminar su peligrosidad, se desarrollan cuatro tratamientos (con replica) a través del montaje de ocho mesocosmos, el primer tratamiento se acidifico para impedir el crecimiento bacteriano y permitir la atenuación abiótica, el segundo no se modificó, permaneció en reposo constante (atenuación natural), el tercero se estimuló con adición de agua y volteo periódico para mantener las condiciones de humedad y aireación (bioestimulación) y en el cuarto se repite el procedimiento anterior pero se adiciona suplemento alimenticio (fertilizante triple 15), (bioestimulación con nutrientes). Para cada tratamiento se hace control de las propiedades físicas, químicas y microbiológicas durante 14 semanas, obteniendo una remoción de hidrocarburos totales del petróleo de acuerdo con los tratamientos antes mencionados en su orden de 78, 83, 85 y 87 %, lo que indica que no

hay diferencia significativa en las medianas de las muestras de los tratamientos, por ende, se recomienda la bioestimulación sin nutrientes, porque logra con flexibilidad y menor costo un buen porcentaje de remoción.

Palabras clave: Atenuación natural, Bioestimulación, Remoción, Respel.

ABSTRACT

This investigation performs an analysis on the mud generated in the service station ESSO Recuerdo, given for the sedimentation on the greasy traps and channels placed around the perimeter, being that hazardous waste (in Spanish: Respel) for their hydrocarbons content, their disposition is done through third parties. It is sought to evaluate through the bioremediation two of its strategies; natural attenuation and biostimulation to the treatment so it allows to remove its dangerousness; four treatments (mirrored) are developed by means of eight mesocosms, the first treatment was established in order to fight the growth of microbes and to allow the abiotic degradation; the second one did not modify anything, it was left in constant rest (with natural attenuation), the third one was stimulated by adding water and periodical tipping in order to keep the exact same conditions for moisture and aeration levels (biostimulation) and the forth one which repeats the last mentioned procedure but additionally inserting dietary supplement (fertilizer triple 15), (biostimulation with nutrients). For each of the treatments there are physical, chemical and, microbiologic properties which are controlled for three months obtaining that way a stripping on all the hydrocarbons belonging to the oil, according to the treatments previously mentioned on their order from 78, 83, 85 to 87 %, which indicates that there is not significant difference on the average of the treatment's samples. Therefore, it is recommended the biostimulation without nutrients because it is attained with flexibility and lower cost with a high percentage on stripping.

Key words: Natural attenuation, Biostimulation, Stripping, Hazardous waste.

INTRODUCCIÓN

En el sector de hidrocarburos, en sus actividades de comercialización a través de las estaciones de servicio, se garantiza el transporte y la dinámica operativa de la ciudad (Secretaría Distrital de Ambiente, 2008); debido a que, en la prestación de estos, se liberan diferentes tipos de contaminantes (e.g., grasas, aceites, tensoactivos e hidrocarburos), considerados residuos peligrosos (respel), causando un impacto negativo al ambiente, si no son debidamente tratados y dispuestos.

En los procesos de lavado, mantenimiento y llenado de combustibles de los vehículos se forman lodos, que contienen residuos, polvo e impurezas presente en el lugar y que se depositan en los canales perimetrales de la estación de servicio, siendo arrastrados por acción de la lluvia, vientos o limpieza de la estación hasta la trampa de grasa y retenidos en el sedimentador; estos se encuentran impregnados con hidrocarburos que se derivan de pequeños derrames cuando se realiza la distribución del combustible, por ende, todo esfuerzo que lleve a mitigar estos impactos negativos, como la contaminación potencial de aguas y suelos provocando problemas de toxicidad en los organismos, se convierte en un proceso de sostenibilidad.

Entonces se aprovecha la presencia de organismos y microorganismos (e.g., bacterias, hongos, algas y anélidos) con capacidad de degradar los hidrocarburos, como una posible solución, dada su capacidad catalítica para transformarlos en formas más simples e inocuas (Aristizabal González & Gómez Torres, 2009), disminuyendo la afectación al medio donde son dispuestos los lodos, generando así procesos de biorremediación.

Se han reportado procesos de biorremediación en suelos contaminados por hidrocarburos con una reducción del 52,79 % en 3 meses, donde el 15% se atribuye a los procesos abióticos y el restante a los microorganismos (Gómez, et.al.,2009). Ñustez (2012) reporto para un proceso de biorremediación en sedimentos de estaciones de servicio, una reducción en la concentración de los hidrocarburos totales del petróleo (HTP) entre 79,7 al 95,1 %, con tiempos de cuatro meses.

Según los datos presentados en el último informe nacional de generación y manejo de residuos o desechos peligrosos del año 2014 a 2015 en Colombia, se han manejado de forma adecuada más de 1.400.000 Ton de residuos peligrosos, evitando que lleguen a afectar la calidad ambiental del territorio nacional; es importante resaltar que dentro las principales actividades generadoras de los residuos mencionados, se encuentra la explotación de hidrocarburos, el transporte de pasajeros, las mezclas y emulsiones de desechos de aceite y agua o de hidrocarburos y agua (Y9+A4060), donde se encuentran los lodos con presencia de hidrocarburos, siendo los residuos o desechos peligrosos que más se generan en el país, con el 53.5% del total de residuos generados, cabe anotar que en algunas jurisdicciones donde hay actividades económicas que suponen grandes volúmenes de generación de residuos peligrosos, las autoridades ambientales no transmitieron información que así lo evidencie; adicional a esto se redujo la transferencia de información por algunos entes de la autoridad ambiental en un 0,2 %, es decir, que el reporte no refleja la realidad con la información reportada.

Para el tratamiento de los residuos peligrosos, se modifican sus características, teniendo en cuenta el riesgo y grado de peligrosidad, para minimizar los impactos negativos en la salud humana y el ambiente. Durante el año 2015, fueron manejados un total de 239.231 Ton de residuos o desechos peligrosos; por medio del tratamiento fisicoquímico se manejó el 32,5% de los residuos (77.965 Ton), seguido por tecnologías avanzadas (e.g., oxidación química avanzada; plasma no térmico, descarga electrohidráulica con ultrasonido, haces de electrones, clorinólisis, Oxidación electrolítica) que representó un 25,5% (61.163 Ton), tratamiento térmico (e.g., incineración, pirolisis, gasificación, incineración con IR, oxidación con sales fundidas, incineración con hornos eléctricos, plasma térmico, desorción térmica) que fue manejado en un 22,8% (54.554 Ton), y biológico que fue de un 14% (33.494 Ton) (IDEAM 2016).

Respecto del tratamiento interno, este mismo año se trataron alrededor de 73.594 Ton de residuos o desechos peligrosos, los cuales representan el 30,7% de los residuos totales tratados en el país; el tipo

de residuo más representativo en este tratamiento correspondiente al Y9 + A4060, con él se utilizaron tecnologías avanzadas en el 62,14 % y el tratamiento biológico solo el 0,8%.

En este mismo año, se manejaron por medio de tratamiento externo 165.637 Ton de residuos peligrosos, que representan el 69% del total de los residuos tratados. El residuo que recibió mayor tratamiento externo fue el correspondiente a Y9 + A4060 con el 43,5% del total tratado externamente por medios fisicoquímicos y 10,1% por medios biológicos (IDEAM, 2016). Las estaciones de servicio son generadoras de lodos contaminados con hidrocarburos; según el Ministerio de Minas y Energía (2015) existen 5970 estaciones de servicio registradas que aportan a la generación de este residuo peligroso.

Según González (2010), la biorremediación es una de las vías más efectiva para la remediación de suelos contaminados, en contraste a alternativas más costosas (e.g., el depósito, incineración, estabilización). Existen muchas clases de biorremediación, dos métodos utilizados son la atenuación natural y la bioestimulación, por ser técnicas *in situ* y de bajo costo, que podrían ser aplicables en los espacios presentes en las estaciones de servicio. La atenuación natural consiste en la utilización de los factores fisicoquímicos de interacción contaminante-lodo y los procesos de biodegradación que tienen lugar de forma natural en el medio, esto se conocen como biotransformación natural, en donde se reduce la concentración de los contaminantes por la acción metabólica de los microorganismos y también por factores físicos como la dilución, dispersión, volatilización, adsorción (inmovilización) y reacciones químicas que se producen en el suelo o en el agua y que contribuyen de alguna forma a la disminución de la contaminación como la fotodescomposición, la formación de enlaces e hidrolisis con los componentes del lodo (Castro, Rojas, & Mesa, 2004). Esta técnica se aplica en aquellos casos en los que exista contaminación tanto en suelos como aguas subterráneas producida por hidrocarburos. (Arroyo, et al., 2002)

Otra técnica utilizada es la bioestimulación, entendida como la adición de nutrientes, principalmente fuentes de nitrógeno, fósforo, potasio, agua y oxígeno que por adición, humectación y

volteo que favorecen el crecimiento y desarrollo microbiano (Ñustez, 2012), permitiendo así la biotratabilidad de los lodos.

En esta investigación se evaluó el proceso de degradación de los hidrocarburos presentes en los lodos de la estación de servicio ESSO el Recuerdo, mediante las estrategias de atenuación natural y bioestimulación, estableciendo las tasas de reducción de la concentración HTP, y la selección del proceso para su futura aplicación.

MATERIALES Y METODOS

Lugar de estudio

La presente investigación se realizó en la estación de servicio Esso el Recuerdo ubicada en la localidad 5 de Usme, al suroriente de Bogotá (Colombia), en la dirección Carrera 1 # 73B-27 Sur, que opera desde el año 1977. Realiza actividades de distribución de combustible, lavado de vehículos y lubricación. Por la prestación de estos servicios son generados en promedio 1700 Kg de lodo al año, los cuales son dispuestos por la empresa Biolodos S.A. E.S.P. la cual realiza un tratamiento *ex situ* con un costo de 1100 pesos por Kg de lodo en el año de 2016.

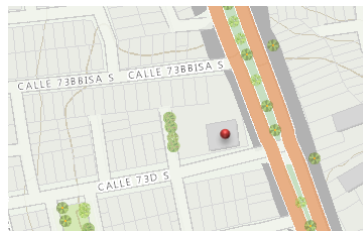


Figura 1 Mapa de Ubicación de la estación de servicio Esso el Recuerdo. Fuente: IDECA, 2017



Figura 2 Foto estación de servicio ubicación del cuarto de lodos. Fuente: autores

Descripción del montaje de los mesocosmos.

Los lodos son extraídos de las trampas de grasa y canales perimetrales de las islas distribuidoras de combustible y lavado de vehículos, luego son almacenados en el cuarto de lodos, con un proceso de secado y escurrimiento de aproximadamente tres meses, para su posterior disposición a través de terceros. Las muestras de lodo contaminado con hidrocarburos se tomaron en el momento de la limpieza de los canales perimetrales y trampa de grasa, (se efectúa cada 15 días), con el ánimo de aprovechar todos los microorganismos presentes en ellos, sin esperar que las condiciones de almacenamiento los afectara, dado que en estas condiciones los microorganismos pierden humedad y no tiene oxigenación por estancamiento, generando zonas anóxicas que disminuyen la biodiversidad de organismos que podrían llegar a tener capacidad de biodegradar los hidrocarburos. El trabajo se desarrolló tomando muestras de estos a partir de la extracción en la trampa de grasa y canales perimetrales, determinando algunas de las propiedades físicas, químicas y biológicas en los laboratorios de físico-química y microbiología de la sede principal de la Universidad Jorge Tadeo Lozano, así como el contenido de nutrientes en el centro de bio-sistemas ubicado en Chía y en los laboratorios del IED Gran Yomasa, (ver tabla 1).

Se tomaron cinco submuestras de lodo de la estación de servicio (dos de la trampa de grasas, una de los canales perimetral y dos de rejilla de la zona de lavado de vehículos) las muestras se almacenaron en lonas, se escurrieron por tres días y luego fueron mezcladas, retirando manualmente los residuos sólidos de mayor tamaño. A través del proceso de cuarteo se redistribuyeron en 8 partes de igual tamaño y se ubicaron en cajas plásticas (Air pack de material PET con capacidad de 5 Kg), se llenaron hasta alcanzar una altura de 10 cm, con 5 Kg de lodo, para la formación de cada mesocosmos, las muestras fueron ubicadas en las instalaciones del aula ambiental del IED Gran Yomasa. De manera aleatoria se asignaron los siguientes tratamientos con su respectiva replica:

Atenuación Natural (LN): lodo tomado directamente de las lonas de almacenaje sin ningún tipo de modificación.

Acidificado (LR): se acidifica con ácido clorhídrico 1 M hasta obtener un pH 4, para impedir el crecimiento bacteriano, y se toma como tratamiento control (Vallejo, et al., 2016).

Estimulado con aireación (LVH): se realiza volteos periódicos para permitir la aireación del mesocosmos, y se mantiene controlada la humedad con adición de agua (ver tabla 1)

Lodo estimulado con nutrientes (LNVH): se realizan volteos periódicos y humectación (ver tabla 1), se adicionan como nutrientes nitrógeno amoniacal y orgánico, fosforo asimilable (P₂O) y potasio soluble (K₂O), en proporción al 15 % por kg de fertilizante (Castro, et al., 2004). Para alcanzar una relación (C:N:P) de 100:10:2, (Ñustez, 2012). Tomando como punto de partida la relación carbono orgánico: nitrógeno CO:N. procedimiento realizado una solo vez, como el lodo inicial presentó una concentración de N = 0,3%, P = 0,1%, y K = 0,2%, se adiciono fertilizante triple 15, para alcázar una mayor concentración de estos nutrientes; N = 0,52 %, P = 0,32 %, y K = 0,42 %, facilitando la disponibilidad en el proceso biocorrectivo.

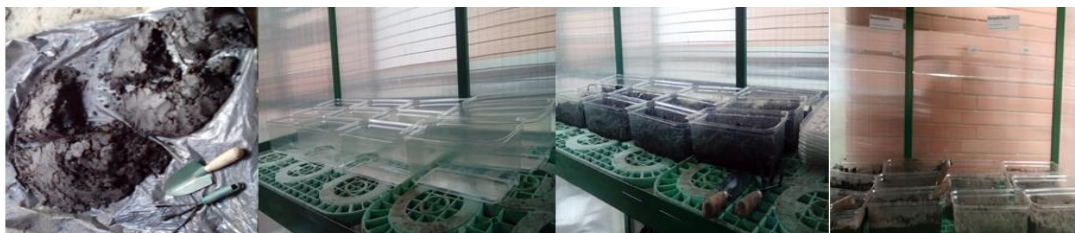


Figura 3 Foto método de cuarteo y distribución de lodos para los mesocosmos. Fuente: autores

Los tratamientos se mantuvieron por 14 semanas a temperatura ambiente, realizando los análisis de laboratorio y determinación de parámetros con la frecuencia que muestra la tabla 1.

Tabla 1 Método de análisis, laboratorio y frecuencia por variable.

Análisis o Actividad	Método	Laboratorio	Frecuencia
Temperatura	Se introduce el termómetro de punzón en el lodo y se realiza lectura (Arrieta Ramírez, 2011).		
Volteo	Pala manual, movimiento del lodo por 10 minutos con homogenización de la humectación.	In situ Aula Ambiental IED Gran Yomasa	3 veces por semana
Humectación	Se adicionan 250 ml de agua con regadera, por la extensión del lodo.		
Capacidad de campo	Método gravimétrico, se establece el peso inicial en gramos con humedad y se elimina el exceso de agua por gravedad, escorrentía durante 24 horas, la muestra se seca a 105 °C durante 16 horas, se determina el peso del lodo seco y se establece la capacidad de campo en porcentaje. (Contreras & Soledad, 2014)	Laboratorio Química IED Gran Yomasa	1 vez durante la experimentación
Humedad	Método gravimétrico, se establece el peso inicial en gramos con humedad, la muestra se seca a 80 °C durante 24 horas, se determina el peso del lodo seco y se establece el porcentaje de humedad por gravimetría. (Linares Fernández, 2006)	Laboratorio Química IED Gran Yomasa	
Densidad	Método estándar de laboratorio		2 veces por semana
pH	Se mezcla un 1g de lodo con 10 ml de agua destilada, se realiza agitación, se deja reposar 10 minutos y se realiza lectura con pH-metro directamente sobre la suspensión. (Linares Fernández, 2006)	Laboratorio Química IED Gran Yomasa, Laboratorio de Química Universidad Jorge Tadeo lozano	
Concentración HTP	Extracción agitación-centrifugación, 3500B y 3540C de la US EPA cuantificación gravimétrica y confirmación de contenido HTP con FTIR (Linares Fernández, 2006)	Laboratorio de físico química y análisis instrumental Universidad Jorge Tadeo Lozano sede principal.	Cada 15 días.
Conteo de Bacterias	Recuento en placa profunda (Ñustez, 2012)	Laboratorio de Microbiología Universidad Jorge Tadeo lozano sede principal	
Carbono Orgánico	Carbono orgánico por calcinación. (SM 5310 B.)		
Materia Orgánica	Determinación del Carbono Orgánico (NTC5403:2006-02-22)		
Cenizas	Método Gravimétrico IGAC, Sexta Edición, 2006		
Nitrógeno Total (N):	N según Kjeldahl, (Macro-Kjeldahl, Destilación y Volumétrico, SM 4500-NOrg B, 4500-NH3 B, C)		
Fósforo (P):	P por colorimetría, Fusión con NaNO ₃ /KNO ₃ y Cuantificación Colorimétrica del Azul de Molibdeno, IGAC, 6ª Edición, 2006.	Centro de Bio-sistemas Universidad Jorge Tadeo Lozano sede Chía	Cada 30 días
Potasio (K):	K por absorción atómica. Digestión HNO ₃ – H ₂ O ₂ - Espectrofotometría de Absorción Atómica con llama directa aire – acetileno, EPA 3050 B, SM 3111 B		

Fuente: autores

Medios de cultivo: bacterias heterótrofas e hidrocarburoclastas

Para el recuento de bacterias heterótrofas e hidrocarburoclastas, se utilizó el medio de cultivo plate count agar (PCA) (Merck), con la técnica en placa profunda, la cual permite cuantificar el número de microorganismos presentes por gramo de lodo (UFC/gss); se tomó una muestra de 10 gr de este, adicionándolo a 90 ml de agua peptonada (Merck) estéril en un erlenmeyer, se agitó en el equipo shaker (Heidolph) durante 15 min y a partir de esta dilución (10^{-1}), se realizaron las respectivas diluciones seriadas, hasta 10^{-8} , empleando para los recuentos las diluciones entre 10^{-3} hasta 10^{-8} , excepto para el tratamiento acidificado que se realizó entre 10^{-1} hasta 10^{-5} todos con agitación en vórtex (Thermolyne); la siembra se realizó en cámara de flujo laminar.

Para generar una atmosfera saturada de hidrocarburo se utilizó una mezcla 1:1 de gasolina: diésel comercial (Gómez et al., 2009), se impregnan discos de papel craft estériles con una concentración aproximada de 39 %, ubicados en la tapa de la caja de Petri, las cuales fueron incubadas a temperatura ambiente durante 24 h (Ñustez, 2012). Estas pruebas fueron realizadas en el laboratorio de microbiología de la Universidad Jorge Tadeo Lozano, contando solo en las cajas con 30 a 300 UFC.

Hidrocarburos

La extracción de los HTP se realizó a través de la técnica agitación-centrifugación, basada en los métodos 3500B y 3540C de la US EPA (1996) y el reportado por (Schwab et al. 1999), con algunas modificaciones en cuanto a la velocidad de agitación y volúmenes de solvente (Linares, 2006), este método es seleccionado porque optimiza el tiempo y cantidad de solvente en la extracción y el procesamiento de más muestras en menor tiempo. Aunque el análisis de hidrocarburos puede hacerse con muestras húmedas, se recomienda secarlas y molerlas para hacerlas más homogéneas, el secado de la muestra de lodo para extracción se lleva a cabo en una cápsula de porcelana, donde se depositan (5 g) de esta extendida a 30 °C, durante 48 h, en incubadora (marca WTB Binder) en el laboratorio de IED Gran Yomasa, después de seca, se muele en un mortero hasta obtener partículas finas que son guardadas

en tubos de ensayo plástico para centrifugar, y llevados al laboratorio de físico química de la Universidad Jorge Tadeo Lozano donde se pesan entre 0,5 y 2 g de lodo seco al cual se adiciona 3 gramos de sulfato de sodio anhidro (Panreac) y 5 ml de diclorometano (Panreac). Este método se basa en la extracción de hidrocarburos no volátiles y semivolátiles de muestras de lodo a través del contacto con el solvente, mediante la agitación en vórtex (Thermolyne) en un tubo para centrifuga 10 ml hasta homogeneizar, produciendo un efecto de extracciones sucesivas, y separando posteriormente el solvente del lodo por centrifugación a 6000 rpm durante 10 min en centrifuga (Hettich), se filtra el sobrenadante al momento de trasvasarlo a un matraz de vidrio, se repite este procedimiento dos veces más sobre el residuo sólido extraído, hasta obtener aproximadamente 15 ml de sobrenadante (extracto orgánico), del cual se evapora el disolvente (diclorometano) en un rotaevaporador (Ayela) a 740 ± 50 mbar y 45°C hasta concentrar a sequedad. El residuo obtenido contiene todos los hidrocarburos solubles en diclorometano. Después de realizar la extracción de los hidrocarburos contenidos en una muestra de lodo, estos se cuantifican por el método gravimétrico, el cual es recomendado para la medición de HTP provenientes de muestras acuosas (US EPA 821-B94-004, 1995). (Linares, 2006). Pero tienen la limitante que no ofrece información respecto al tipo de compuesto presente en la extracción, motivo por el cual el extracto es evaluado en un espectrofotómetro de infrarrojo con reflectancia total atenuada (Agilent Technologies Cary 630 FTIR), del laboratorio de análisis instrumental de la Universidad Jorge Tadeo Lozano con el cual se verifica la presencia de los HTP.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se llevó a cabo por medio de la herramienta Statgraphics, se realizó la comparación de la concentración HTP mediante prueba de Kruskal-Wallis en donde se evalúa la hipótesis nula de que las medianas dentro de cada una de los tratamientos es la misma, ($P < 0,05$) y la prueba de medianas de Mood evalúa la hipótesis de que las medianas de todos los 4 tratamientos son iguales ($P < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSION

Las medidas biocorrectivas se han empleado en la descontaminación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos desde hace décadas con éxito (Arroyo, et al., 2002). Los sistemas de biorremediación cuentan con técnicas que permiten remediar los daños generados a los ecosistemas. En la primera fase de evaluación se pudieron determinar las características iniciales del lodo, punto de partida para la biotratabilidad (ver tabla 2);

Características del lodo

Tabla 2 Algunas propiedades físicas, químicas y biológicas iniciales del lodo.

Parámetro	Valor	Unidad
Densidad	1,602	g/ml
Humedad	43,89	%
Capacidad de campo	29,38	%
pH	8,45	Und
Concentración de HTP	139667	Ppm
Conteo de microorganismos	1,09 x 10 ⁷	UFC/gss
Materia Orgánica	14.0	%
Carbón Orgánico	6.5	%
Nitrógeno Total (N)	0.3	%
Relación Carbono: Nitrógeno	22.3	%
Fósforo (P)	0.1	%
Potasio (K)	0.2	%

Fuente: autores

La relación entre masa y volumen permiten observar las características físicas y el comportamiento de los lodos a través de la experimentación, notándose un descenso para los tratamientos que no recibieron humectación, la densidad disminuye a medida que se evapora el agua y los elementos volátiles presentes en el lodo, hasta un rango de 0,9 a 1,1 g/ml, mientras que los tratamientos estimulados (humectados), se encuentran entre un rango de 1,6 a 1,7 g/ml permaneciendo con las características iniciales del lodo.

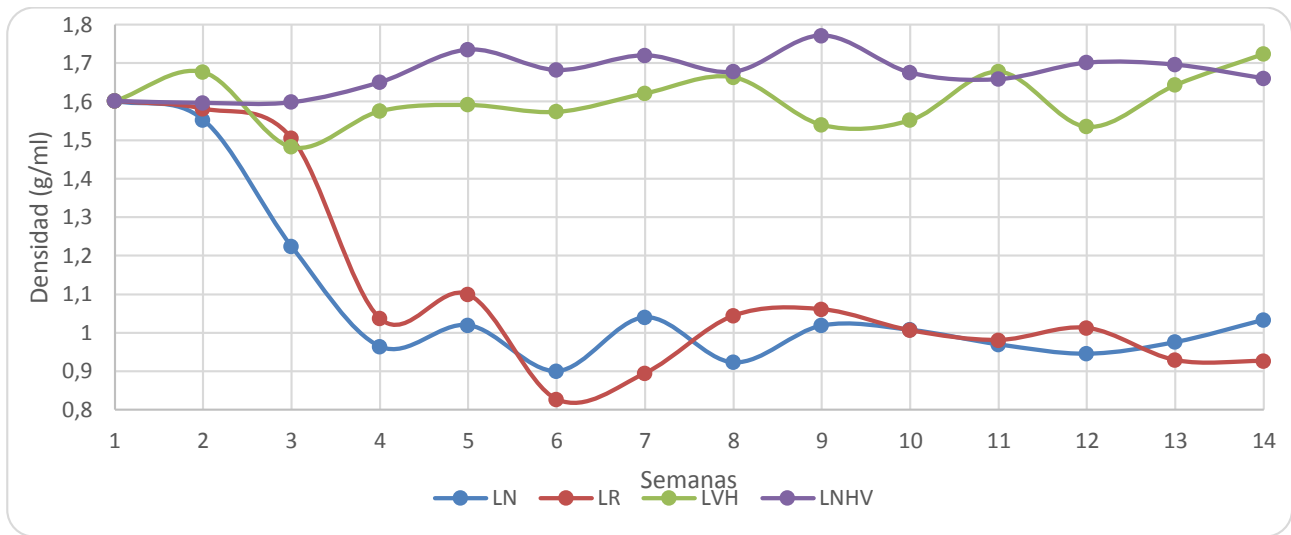


Figura 4 Densidad. Fuente: autores

La humedad tiene un papel importante en la biotratibilidad de los lodos, permite la solubilidad de los nutrientes, mejorando la disponibilidad para los microorganismos y facilitando el acceso al contaminante para su degradación, sin embargo, a humedades altas se puede inhibir el intercambio gaseoso generando zonas anóxicas en consecuencia disminuye la tasa de biotratibilidad (Gómez, et al., 2008).

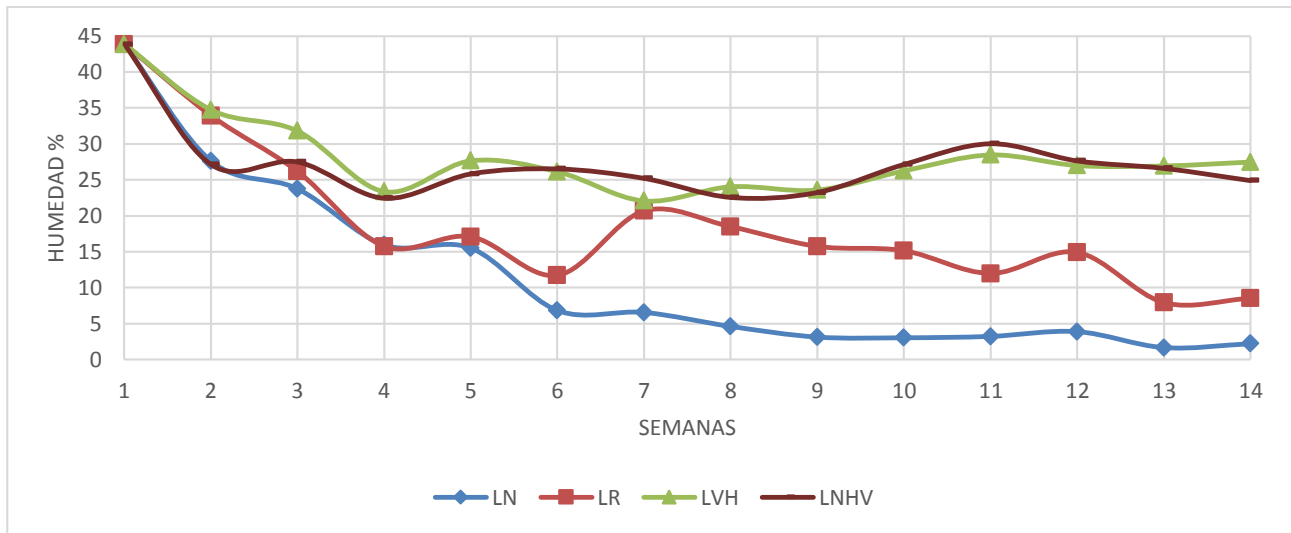


Figura 5 Humedad. Fuente: autores

La humedad disminuye en los tratamientos LN y LR (ver figura 5) dado que estos tratamientos no fueron humectados y ésta se fue perdiendo por evaporación, los estimulados LVH y LNVH se estabilizaron en promedio de 27,2 % y 28,7 % respectivamente, encontrándose dentro de los parámetros establecidos por Schroeder (1999) que son entre el 50 y el 75 % de la capacidad de campo o valores entre el 30 y 90% de saturación del suelo ya que en valores menores se presenta inhibición (Castro, et al., 2004).

El volteo que se realizó a los tratamientos estimulados, permitió la aireación para la oxidación de los hidrocarburos, así como mejorar la volatilización de los mismos (Castro, et al., 2004). Este es recomendado en la guía de manejo ambiental para estaciones de servicio, pero no es aplicado, además indica que se deben secar los lodos estableciendo algunos criterios sobre la zona de almacenaje principalmente en la inclinación del suelo y el techo translucido que permita este proceso, lo que finalmente no es adecuado dado que no se interpreta la necesidad de humedad para los microorganismos que pueden biorremediar los lodos bajo mejores condiciones.

Existe una relación directa entre la temperatura y la biodegradación, a mayor temperatura disminuye la viscosidad de los hidrocarburos mejorando la disponibilidad del carbono presente para los microorganismos, pero incrementa la toxicidad de los mismos inhibiendo la actividad microbiana (Castro, et al., 2004), y a bajas temperaturas se retrasa los procesos metabólicos y disminuye la volatilización.

Se deben tener en cuenta que el rango entre 20 a 40 °C permite el proceso acelerado de la biorremediación (Gómez et al., 2008). Sin embargo, se puede dar en rangos más amplios entre 5 a 35 °C (Trujillo Toro & Ramírez Quirama, 2015), como los presentados en los mesocosmos con un rango entre 13 a 21 °C; debido a las condiciones presentes en el aula ambiental (invernadero) y los procesos metabólicos de los microorganismos.

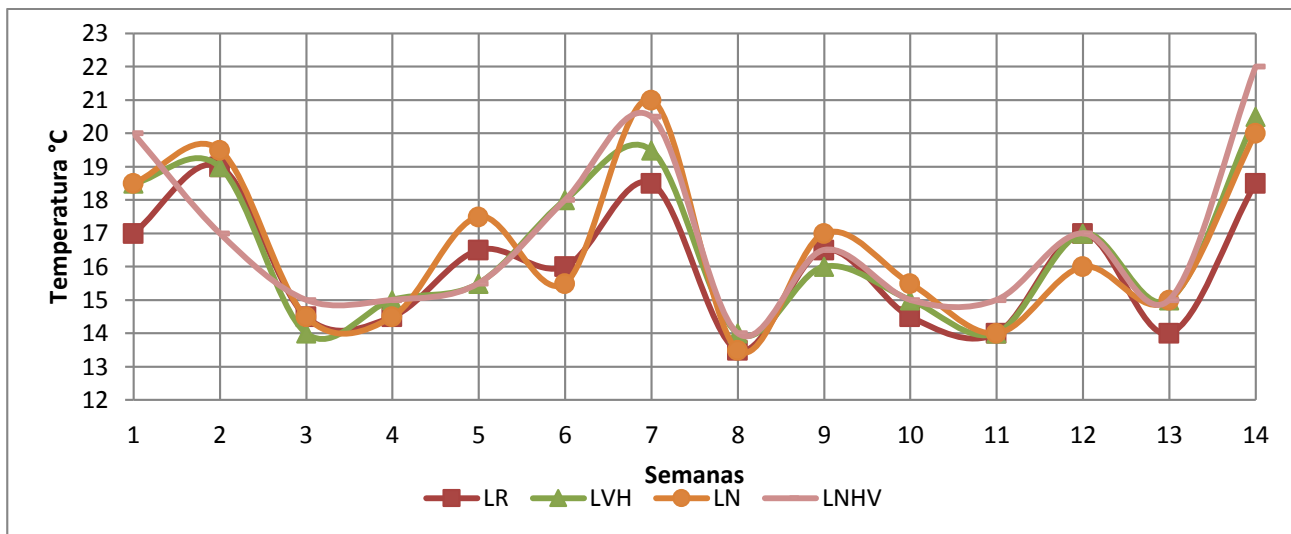


Figura 6 Temperatura. Fuente: autores

El pH es una variable que debe ser monitoreada, pues afecta la biodisponibilidad de las fuentes de carbono (Gómez et al., 2009). Las variaciones presentes en el experimento se encuentran en un rango de 7,2 a 7,5 para los tratamientos de atenuación natural con tendencia a la neutralidad lo cual permite realizar procesos de biodegradación más prolongados.

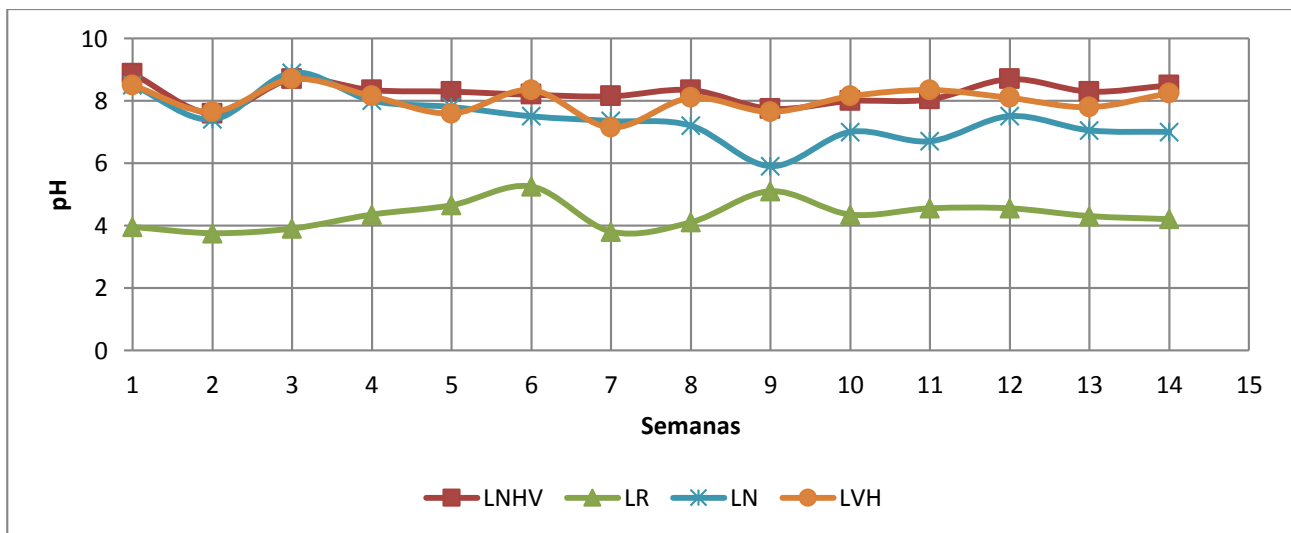


Figura 7 pH. Fuente: autores

El tratamiento estimulado se encuentra en rango de 8,0 a 8,3, que aun encontrándose en los límites de los rangos de biodegradación (5 a 9) para la mayoría de las bacterias (Gómez et al., 2009) son extremos

y pueden haber afectado la biotratabilidad; esto es causado probablemente por la estimulación con nutrientes, que al hidrolizarse incrementan el amonio y así mismo su pH.

Los nutrientes son una variable de importancia; sin éstos los microorganismos no pueden desarrollar sus actividades metabólicas, por este motivo deben estar en disponibilidad principalmente nitrógeno, fosforo y potasio NPK; los cuales se puede ajustar mediante la adición de urea, fosfato, fertilizantes N-P-K y sales de amonio (Castro, et al., 2004).

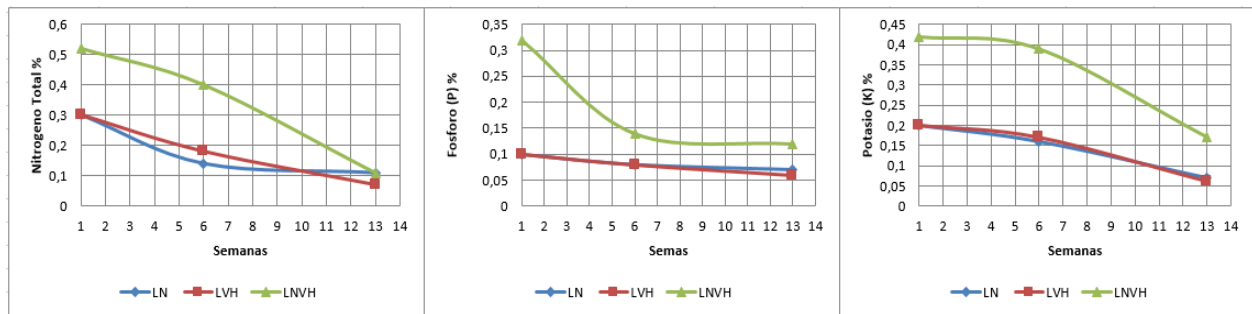


Figura 8 Nutrientes nitrógeno, fosforo, potasio. Fuente: autores

En los tratamientos los nutrientes iniciales van decreciendo sus valores hasta prácticamente su agotamiento. El carbono orgánico y materia orgánica presentan una disminución conjunta; lo cual puede suceder por la biotransformación de los hidrocarburos presentes en el lodo como fuente de carbono en CO₂, por lo que disminuyen las fuentes orgánicas presentes en los lodos, ocasionando que la relación carbono nitrógeno disminuya siendo más pronunciada en el mesocosmos estimulado con nutrientes (LNVH), por incrementar la concentración de nitrógeno, en los meses siguientes la concentración de nitrógeno decae (ver Figura 8), debido al consumo de éste por parte de los microorganismos, incrementando la relación C:N lo que desfavorece el crecimiento microbiano (Castro, et al., 2004).

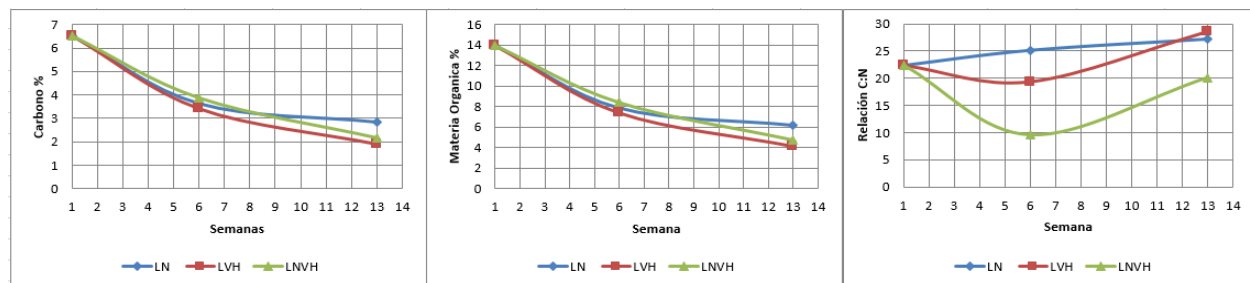


Figura 9 Carbono orgánico y materia orgánica. Fuente: autores

Recuento de bacterias

Todos los ecosistemas contienen microorganismos capaces de biodegradar HTP, solo que varía su diversidad y abundancia (Vallejo, et al., 2016). Utilizar los microorganismos presentes en los lodos tiene la ventaja, que estos se encuentran adaptados a las condiciones del medio y su desarrollo se da de forma natural, en contraste con los microorganismos comerciales que presentan necesidades especiales (Schroeder, et al., 1999).

El conteo se realizó para los microorganismos capaces de soportar atmosferas con concentración de hidrocarburos y con la posibilidad de biodegradarlos. Se toma como punto de partida el conteo inicial para todos los mesocosmos (ver tabla 2).

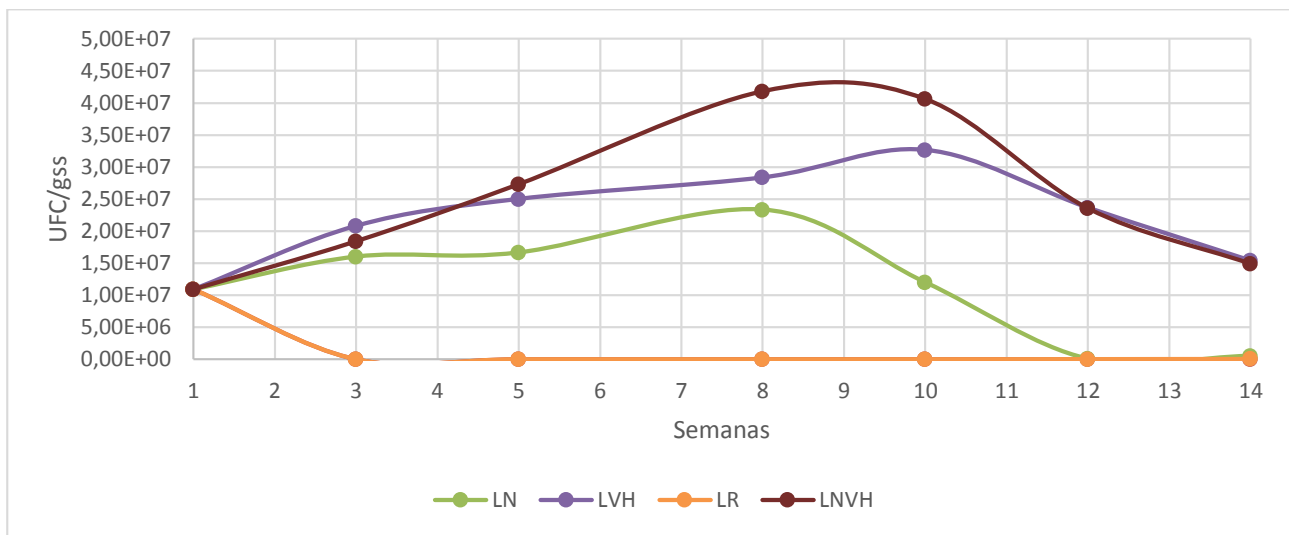


Figura 10 Bacterias heterótrofos e hidrocarburoclastas. Fuente: autores

Teniendo en cuenta los diferentes tratamientos; en el de control LR, se presenta una acidificación del medio, generando las condiciones para que se inhiba el crecimiento de microorganismos, son entonces los elementos abióticos para este tratamiento los causantes de la degradación de los hidrocarburos.

Como se observa en la gráfica de nutrientes (ver figura 8), estos decrecen en el tiempo al ser utilizados en los procesos metabólicos de crecimiento microbiano para los diferentes tratamientos; En la atenuación natural LN se incrementa la población hasta la octava semana, la cual declina hasta la semana

doce, debido a dos factores el primero la disminución de la humedad por no ser hidratados y la volatilización del agua cuya concentración se reduce por debajo del 5% (ver figura 5) y el agotamiento de los macronutrientes (ver figura 8) que permiten el desarrollo de los microorganismos, siendo el primero en terminar el crecimiento exponencial.

El tratamiento estimulado con nutrientes LNVH presenta mayor crecimiento, comparados con los de estimulación solo con volteo y humectación LVH, debido a la disponibilidad de los nutrientes, pero ambos tratamientos LNVH y LVH presentan mayor crecimiento microbiano comparado con la atenuación natural LN, debido a las condiciones de humedad y aireación.

Se puede considerar que los microorganismos se encuentran adaptados como se observa en la gráfica (ver figura 10) por la ausencia del periodo de adaptación dado que se encontraban presentes en el medio y describen en la fase de declinación entre las semanas 10 a la 14, donde la concentración de nutrientes se ha reducido y es limitada lo que nos indica que el tiempo determinado para el proceso es adecuado ya que culmina con la fase generacional de los microorganismos, lo que coincide con el tiempo que normalmente los lodos son almacenados para su disposición.

Remoción de HTP en comparación de los procesos de biorremediación:

Para poder comparar el proceso de biodegradación de HTP a través de los métodos de biorremediación: atenuación natural y bioestimulación es necesario confrontar los porcentajes de remoción de las diferentes estrategias planteadas, los cuales se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 3 Remoción de los HTP por tratamiento.

Parámetro	Mesocosmos HTP			
	LR	LN	LVH	LNHV
Concentración Inicial (mg/kg)	13966,7	13966,7	13966,7	13966,7
Concentración Final (mg/kg)	3016,7	2438,9	2127,1	1748,0
Remoción (mg/kg)	10950,0	11527,8	11839,6	12218,7
% de Remoción	78	83	85	87

Fuente: autores

El tratamiento de control LR presenta degradación de los HTP debido a factores abióticos tales como volatilización, reacciones con sustancias presentes en los lodos y las transformaciones químicas por la adición del ácido clorhídrico (Gómez et al., 2009). Las remociones realizadas por los factores bióticos en comparación con la muestra de control son del; 4% para LN, 6% para LVH y el 9% para LNVH, sin que presenten una diferencia significativa (Kruskal-Wallis $p = 0,43$ medianas de Mood $p=0,90$).

Los factores abióticos monitoreados como: pH, temperatura y densidad se encontraron dentro de unos rangos que permitieron el desarrollo de los microorganismos, sin presentar una diferencia frente a la remoción de HTP.

En los conteos de los microorganismos se observa diferencias en los ciclos de vida de las poblaciones bacterianas, para cada uno de los tratamientos, estas se encuentran adaptadas y en las ocho primeras semanas presentan un crecimiento exponencial donde se evidencia la mayor reducción de HTP a partir de la semana ocho y hasta la semana 14, la degradación es más lenta porque los microorganismos decaen y las fracciones volátiles disminuyen, quedando al final algunos elementos recalcitrantes que los microorganismos no tienen la disponibilidad o factibilidad de degradar, esta concentración residual se encuentra entre 13 al 22 % para los diferentes tratamientos, que está dentro del rango propuesto por Allard y Nielson, (2007) para las estructuras recalcitrantes y de muy limitada biodisponibilidad.

De acuerdo con la normatividad colombiana en la Resolución 1170 de 1997 teniendo en cuenta los valores obtenidos al finalizar las pruebas de los HTP remanentes presentan valores entre 1600 a 2500 mg/kg para los tratamientos con procesos de biorremediación los cuales se encuentran dentro de un mediano impacto, para los límites de limpieza para suelos expuestos a hidrocarburos de esta norma y de esta manera presentar los programas de descontaminación o remediación (Resolución 1170, 1997, art. 40).

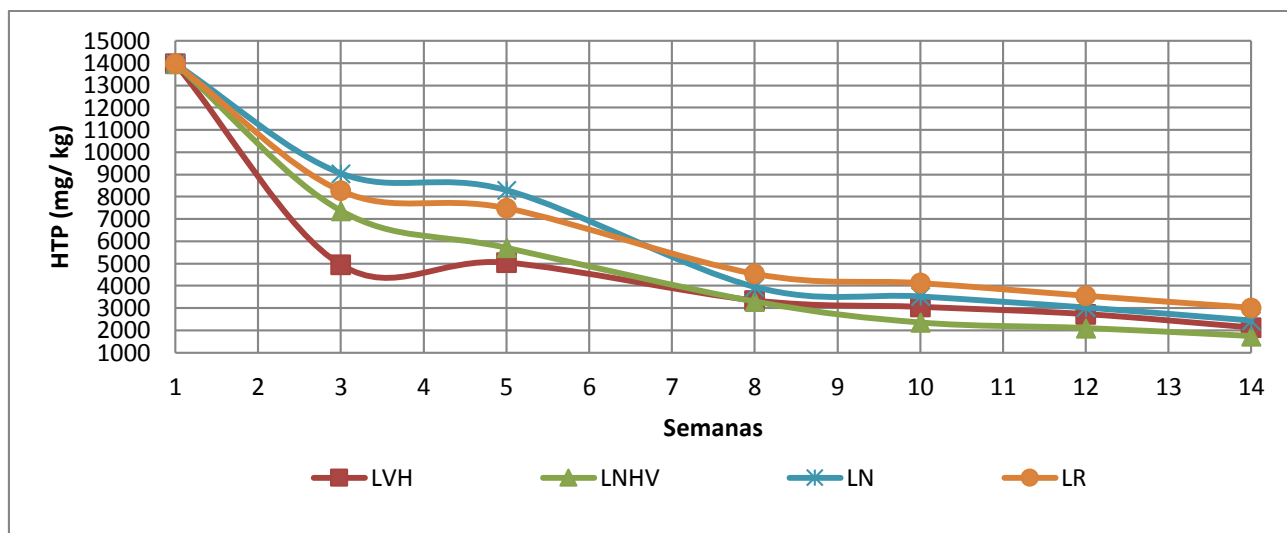


Figura 21 Hidrocarburos totales del petróleo. Fuente: autores

Para verificar la presencia de los HTP se realiza una comparación por medio de una huella digital característica en infrarrojo, la cual produce 3 picos en 2 956, 2 926 y 2 855 cm^{-1} ; este espectro de infrarrojo es típico de una muestra que contiene HTP (Linares, 2006). Todas las muestras fueron pasadas por Infrarrojo indicando una huella digital similar lo que nos indica la presencia de HTP a lo largo del trabajo experimental y en todos los mesocosmos. Este patrón se presentó para todos los tratamientos.

CONCLUSIONES

En el presente estudio se compararon dos estrategias de biorremediación: atenuación natural y bioestimulación, aunque no presentaron una diferencia significativa en la biodegradación de los HTP, se observa una remoción del 4% para la atenuación natural, del 6% para la estimulación sin nutrientes y del 9% para la estimulada con nutrientes, respecto al tratamiento de control biológico, siendo este el que presento mayor remoción, indicando que las condiciones presentes en los mesocosmos estimulados favorecen la biorremediación y permite alcanzar los parámetros planteados por la normatividad colombiana.

Como resultado de la investigación y de los datos obtenidos, se recomienda a la estación de servicio tomar en consideración implementar en su plan de gestión integral de los residuos o desechos peligrosos generados, la estrategia de bioestimulación sin nutrientes ya que esta alternativa presenta fácil aplicación con la capacitación de sus operarios, bajos costos, se aprovechan los espacios presentes y dispuestos por la estación de servicio para el almacenamiento de los lodos, mejorando las condiciones y logrando así procesos que permitan disminuir la concentración de HTP e incluso eliminar su peligrosidad y de esta manera prevenir los efectos negativos de éstos sobre el ambiente.

AGRADECIMIENTOS.

A la universidad Jorge Tadeo Lozano, Secretaria de Educación de Bogotá, IED Gran Yomasa y Estación de Servicio Esso el Recuerdo, por el apoyo como instituciones, así como a los laboratorios de Microbiología, Físicoquímica, Análisis instrumental, por su valiosa colaboración para el desarrollo de este trabajo de investigación y a todas las personas que con sus valiosos aportes contribuyeron con este artículo.

BIBLIOGRAFÍA:

Araujo, I. (2006). Lodos estabilizados y cepas bacterianas en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. *Interciencia*, 31(4), 268-275.

Aristizabal González, G., & Gómez Torres, M. D. R. (2009). ¿Es viable la biorremediación como alternativa de descontaminación en Colombia? (Bachelor's thesis).

Arrieta Ramírez, O. M. (2011). Evaluación de la influencia del Bioestímulo sobre un suelo contaminado con diesel y su integración a la Gestión Ambiental (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín).

Arroyo, M., Quesada, J., Quesada, R., & Geocisa, J. (2002). Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos. MMWR URL disponible [En línea] En: <http://aguas.igme.es/igme/publica/pdflib15/028.pdf>, [Consulta: 03 de septiembre de 2010].

Agenda Ambiental de Localidad 5 Usme. 2009. Instituto de estudios Ambientales IDEA Universidad Nacional de Colombia sede Bogota, PROGRAMA DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LOS ASENTAMIENTOS HUMANOS - UN HABITAT, Bogotá, DC.

Castro, J. L. P., Rojas, M. C. P., & de Mesa, J. B. L. (2004). Efecto de la adición de fertilizantes inorgánicos compuestos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con petróleo. *Nova*, 2(2).

Departamento Administrativo de Medio Ambiente (11 de noviembre de 1997) Artículo 40, Resolución 1170.

Contreras, P., & Soledad, D. (2014). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos.

Gómez, W., Gaviria, J., & Cardona, S. (2009). Evaluación de la bioestimulación frente a la atenuación natural y la bioaugmentación en un suelo contaminado con una mezcla de gasolina-suelo contaminado con una mezcla de gasolina. *Dyna*, 76(160), 83-93.

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. *Bacteriología y Laboratorio Clínico de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca*. Bogotá. Colombia.

González, H., Bustillos, L., Fernández, I., Cortes, J., & Moroyoqui, P. (2010). Efectos de los surfactantes en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. *Química Viva*, 9(3), 120-145.

IDEAM, Informe Nacional Generación y Manejo de Residuos o Desechos Peligrosos en Colombia, 2014 y 2015. Bogotá, D.C., 2016. 96 páginas.

IDECA (2015). Galería de mapas de la ciudad de Bogotá. Disponible en:

<http://www.ideca.gov.co/>

Ministerio De Ambiente, Vivienda Y Desarrollo Territorial. (30 Diciembre 2005), Articulo 10 Capitulo [3] la prevención y manejo de los residuos o desechos peligrosos generados en el marco de la gestión integral [DECRETO NUMERO 4741] DO: 46.137

Ministerio del Medio Ambiente, Guía De Manejo Ambiental Para estaciones de Servicio De Combustible. Santafé de Bogotá, D.C. septiembre de 1999. 237 páginas. (Ministerio del Medio Ambiente 1999)

Listado de estaciones de servicio automotriz certificadas septiembre 21 de (2015). Ministerio de Minas y Energía.

Molano F., Parra A., Romero E., Montealegre M., Garibello O., 2008 Manual de buenas prácticas ambientales para la operación de una estación de servicio automotriz, Secretaría Distrital De Ambiente Dirección De Evaluación, Control Y Seguimiento Ambiental. Bogotá, Colombia.

Mexicana, N. O., LAS, S. Y., & REMEDIACIÓN, E. P. S. C. Y. (2003). NOM-138-SEMARNAT/SS-2003. Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación. (Norma Oficial Mexicana Nom-138-Semarnat/Ss-2003)

Ñustez, D. (2012). Biorremediación para la degradación de hidrocarburos totales presentes en los sedimentos de una estación de servicio de combustible (tesis de maestría). Universidad Tecnológica de Pereira, Facultad de Ciencias Ambientales. Pereira, Colombia.

Linares, L. C. F. (2006). Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados. Instituto Nacional de Ecología.

Localidad, A. A. (5). Usme. 2009. Instituto De Estudios Ambientales – IDEA. Universidad Nacional De Colombia, Programa De Las Naciones Unidas Para Los Asentamientos Humanos - Un HABITAT, Bogotá, DC.

Toro, M. A. T., & Quirama, J. F. R. (2015). Biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos en Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental (RIAA)*, 3(2), 37-48.

Vallejo Quintero, V. E., Sandoval Cobo, J. J., Barahona, G., Catalina, S., & Bastos Arenas, J. (2016). Evaluation of the biostimulation over the bioremediation of hydrocarbons in contaminated soils with tar in Soacha, Cundinamarca-Colombia. *Acta Agronómica*, 65(4), 354-361.

Schroeder, R. H. A., Rodríguez, V. I. D., & Hernández, L. G. (1999). Potencial de la biorremediación de suelo y agua impactados por petróleo en el trópico mexicano. *Terra*, 17(2), 159-174. (Schroeder, et al., 1999).

Zagal, E., & Sadzawka, A. (2007). Protocolo de métodos de análisis para suelos y lodos. Universidad de Concepción, Servicio Agrícola y Ganadero: Santiago, Chile.