

**EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LA TÉCNICA DE  
BIOAUMENTACIÓN EN SEDIMENTOS CONTAMINADOS CON  
HIDROCARBUROS DE UNA ESTACIÓN DE SERVICIO DE COMBUSTIBLES  
DEL MUNICIPIO DE SAN FRANCISCO PUTUMAYO.**

**LUIS CARLOS RODRIGUEZ MONTENEGRO  
JUDY JOHANA AREVALO LOPEZ  
YEISON ANDRES ORTIZ GOMEZ**

**INSTITUTO TECNOLÓGICO DEL PUTUMAYO  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
INGENIERÍA AMBIENTAL  
SIBUNDOY PUTUMAYO  
2017**

**EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LA TÉCNICA DE  
BIOAUMENTACIÓN EN SEDIMENTOS CONTAMINADOS CON  
HIDROCARBUROS DE UNA ESTACIÓN DE SERVICIO DE COMBUSTIBLES  
DEL MUNICIPIO DE SAN FRANCISCO PUTUMAYO.**

**Auxiliares de investigación:**

**LUIS CARLOS RODRIGUEZ MONTENEGRO  
JUDY JOHANA AREVALO LOPEZ  
YEISON ANDRES ORTIZ GOMEZ**

**Trabajo de grado para optar al título de ingenieros ambientales**

**Investigadora principal:**

**ADRIANA DEL SOCORRO GUERRA ACOSTA I.A – Esp. M.Sc**

**INSTITUTO TECNOLÓGICO DEL PUTUMAYO  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
INGENIERÍA AMBIENTAL  
SIBUNDOY PUTUMAYO  
2017**

**NOTA:** Los conceptos, afirmaciones y opiniones contenidas en el presente trabajo son responsabilidad única y exclusiva de sus autores, y no comprometen al Instituto Tecnológico del Putumayo. (Lineamiento CIECYT).

NOTA DE ACEPTACIÓN

---

---

---

---

Presidente del Jurado

---

Jurado

---

Jurado

Sibundoy Putumayo, diciembre 2017

## DEDICATORIA

*Mi agradecimiento se dirige a quien ha forjado mi camino y me ha dirigido en el sendero correcto. A Dios, por permitirme llegar a esta etapa tan especial en mi vida. Por los triunfos y los momentos difíciles que me han enseñado a valorarlo cada día más.*

*A mis queridos padres, por su infinito amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores y su ejemplo de perseverancia que me han infundido siempre, gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy.*

*A mi familia en general, en especial a mis hermanos por haberme brindado su apoyo incondicional moral y económico desde el inicio de este proceso.*

*Quiero expresar también mi más sincero agradecimiento a todos los docentes que contribuyeron en mi formación profesional en especial a nuestra asesora Ing. Adriana Guerra Acosta por su importante aporte y participación en el desarrollo de este trabajo, destacando su orientación, disponibilidad, paciencia y apoyo.*

*También agradezco a mis amigos y a todos los que fueron mis compañeros de clase, en especial a mis compañeros de tesis con ustedes he compartido las experiencias más grandes de mi vida, hemos vivido los buenos y malos momentos que solo se vienen en la universidad y que más que compañeros somos verdaderamente amigos.*

*Finalmente, a todas aquellas personas que han y están marcado mi vida y que me han permitido ser parte de la suya, personas que de una u otra manera estuvieron a mi lado dándome ánimos de salir adelante, a todos ustedes GRACIAS...*

*Johana Arévalo López*

## **DEDICATORIA**

*Agradezco a Dios por concederme el privilegio de la vida por siempre guiar mi camino a pesar de todas las pruebas y obstáculos que se presentan día a día para poder mejorar como persona gracias también por ayudarme a terminar esta fase de mi carrera con la fe y grandeza que me permitió seguir a delante.*

*Quiero agradecer infinitamente a mis padres ya que gracias a ellos he podido tener esta gran oportunidad de tener un triunfo más para mi vida y a su vez me han ayudado en todos los momentos tanto buenos como malos y me han inculcado siempre el seguir adelante para alcanzar las metas que me he propuesto día a día.*

*Es importante para mí agradecerles a mis hermanos y demás familiares por estar toda la vida conmigo en cada momento y en cada instante apoyándome para nunca rendirme y aconsejándome que es lo mejor para seguir adelante y realizar tus propios sueños.*

*En esta oportunidad es importante también agradecerle a la ing. Adriana Guerra Acosta por habernos colaborado como asesora en nuestro trabajo de grado gracias a ella por haber forjado en nosotros muchos conocimientos, valores y esfuerzos para poder alcanzar una meta más para nuestra vida, gracias por todo el tiempo brindado.*

*Gracias también a mis compañeros por todos los momentos especiales que hemos atravesado en cada instante y que a su vez nos han ayudado para seguir adelante en nuestros estudios a pesar de todos los momentos difíciles y gracias especialmente por esa amistad tan especial y sincera que nos han forjado como buenos amigos.*

Yeison Ortiz Gómez

## **DEDICATORIA**

*Por todo el esfuerzo que implica cumplir las metas, mis más sincero agradecimiento a Dios, por hacer de este sueño una realidad de mi vida y de la de mi familia. Dios es amor.*

*Por todo el esfuerzo moral y económico durante este proceso le agradezco principalmente a mi madre, por ser mi punto de partida y mi apoyo incondicional por más difícil la situación, gracias mamá.*

*Porque la vida da muchas vueltas y hoy por hoy tengo a mi padre apoyándome, en esta etapa de mi vida, Gracias padre.*

*Dedico este logro a mi abuela que me apoyado, desde el inicio de este camino y a mi abuelo que con tantas ansias anhelaba verme como profesional, hoy ya es una realidad y le dedico este triunfo a ellos.*

*Por hacer parte de mi formación como persona y como profesional le agradezco a la profesora Adriana Guerra por apoyarnos a seguir adelante, y sobre todo por apoyarnos a sacar este proyecto adelante y mirar en mí un futuro ingeniero.*

*Como parte fundamental de este proceso también son mis compañeros que en algún punto de la vida fueron más que compañeros y se convirtieron en amigos, gracias.*

*Luis Carlos Rodríguez Montenegro.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Primero que todo agradecemos a Dios por habernos dado la linda oportunidad de el milagro de la vida y poder así día a día realizar todos nuestros objetivos propuestos gracias a la ayuda y grandeza que nos brindas en todo momento para que hagamos las cosas de la mejor manera y siempre de una manera razonable para beneficio de nosotros y siempre ser mejores personas capaces de lograr todo lo propuesto siempre teniendo fe en ti guiándonos al mejor camino.

Gracias al Instituto Tecnológico del Putumayo por habernos dado la oportunidad de tener un lindo campo de estudio para poder tener la oportunidad y el compromiso de poder crearnos como buenos profesionales.

En esta oportunidad es muy importante para nosotros agradecerle infinitamente a nuestra querida asesora la magister Adriana Guerra Acosta, gracias por todo el tiempo y la experiencia que nos ha brindado junto a nosotros colaborándonos e inspirando en cada uno de nosotros muchos conocimientos, esfuerzos para poder alcanzar esta meta que para todos nosotros es muy importante y de gran satisfacción para nuestro futuro gracias por todos esos consejos que nos han permitido ser mejores y servido de mucho para nuestra carrera.

Gracias también a todos nuestros profesores por todos sus conocimientos y su forma de enseñar que en algún momento no los dieron a conocer a cada uno de nosotros colaborándonos para ser mejores cada día y por todos esos consejos que nos han ayudado para poder salir adelante y nunca rendirnos a pesar de todos los obstáculos presentes.

Es importante agradecer a todas las personas que de alguna u otra manera nos han ayudado para poder salir adelante y poder lograr para nosotros este gran triunfo muchas gracias a todos.



## TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN .....	12
2. RESUMEN.....	14
3. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA .....	20
3.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	20
3.2 PREGUNTAS DE LA INVESTIGACIÓN. ....	22
4. JUSTIFICACIÓN.....	23
5. OBJETIVOS .....	25
5.1 OBJETIVO GENERAL.....	25
5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS. ....	25
6. HIPÓTESIS .....	26
6.1 HIPÓTESIS EXPERIMENTAL.....	26
6.2 HIPOTESIS ESTADISTICA .....	26
7. MARCO REFERENCIAL .....	27
7.1 MARCO CONTEXTUAL.....	27
7.2 MARCO CONCEPTUAL .....	28
7.2.1 Abono orgánico .....	28
7.2.2 Actividad biológica .....	28
7.2.3 Áreas críticas .....	28
7.2.4 Calidad de suelos.....	29
7.2.5 Estación de servicio .....	29
7.2.6 Hidrocarburos totales .....	29
7.2.7 Isla del surtidor para combustibles líquidos derivados del petróleo .....	29
7.2.8 Impacto ambiental.....	29
7.2.9 Materia orgánica.....	30
7.2.10 Mantenimiento.....	30
7.2.11 Microorganismos (Activadores) .....	30
7.2.12 Nutrientes.....	30
7.2.13 Suelo.....	30
7.3 MARCO LEGAL.....	31
7.4 MARCO TEÓRICO. ....	33
7.4.1 Impactos ambientales de los hidrocarburos .....	33

7.4.2 Suelos contaminados por hidrocarburos .....	33
7.4.3 Tecnologías de remediación biológicas (biorremediación) .....	34
7.4.4 La bioaumentación.....	35
7.4.5 La Bioestimulación.....	35
7.4.6 Métodos de biorremediación en suelos .....	35
7.4.7 Factores que influyen en la biorremediación.....	36
7.4.8 Experiencias de investigación en biorremediación en Colombia .....	41
7.4.9 Importancia de los abonos orgánicos.....	43
7.4.10 Pantotenato .....	43
7.4.11 Lombricompost.....	44
7.4.12 Abono orgánico tipo bocashi .....	44
8. METODOLOGÍA .....	45
8.1 LOCALIZACIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO.....	45
8.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN .....	45
9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	52
9.1 DIAGNÓSTICO SOBRE PRODUCCIÓN SEMANAL DE SEDIMENTOS EN LA ESTACIÓN DE SERVICIO SAN FRANCISCO.....	52
9.2 CARACTERIZACIÓN INICIAL DE LOS SEDIMENTOS .....	53
9.3 PROCEDIMIENTO PARA CADA VARIABLE.....	54
9.3.1 Hidrocarburos totales (TPH).....	54
9.3.2 Determinación de temperatura.....	55
9.3.3 Determinación de contenido de agua en el suelo (porcentaje de humedad higroscópica). .....	56
9.3.4 Determinación de densidad aparente. ....	58
9.3.5 Determinación de la densidad real. ....	60
9.3.6 Determinación de porosidad.....	62
9.3.7 Determinación de color. ....	63
9.4. ANÁLISIS DE LA VARIABLE DE RESPUESTA Y LAS VARIABLES DE CONTROL. ....	65
9.4.1 hidrocarburos totales (TPH). ....	66
9.4.2 Temperatura (°C). ....	69
9.4.3 Contenido de agua en el suelo (porcentaje de humedad higroscópica). ....	71
9.4.4 Densidad aparente (g/cm <sup>3</sup> ). ....	73

9.4.5 Densidad real (g/cm <sup>3</sup> ).....	76
9.4.6 Porosidad (%).....	77
9.4.7 Color. ....	80
9.4.8 pH (Unidades). ....	81
CONCLUSIONES .....	84
RECOMENDACIONES .....	85
BIBLIOGRAFÍA .....	86

## INTRODUCCIÓN

El aumento de la población y el desarrollo industrial sin precedentes alcanzados durante el transcurso del tiempo han elevado la presencia de contaminantes sólidos y líquidos a niveles críticos. La consecuencia ha sido la aparición de problemas de contaminación que antes se desconocían y para los cuales la sociedad no estaba preparada (Bioinformatica, 2017).

La inadecuada disposición final de lodos contaminados con residuos de aceites lubricantes usados, compuestos por hidrocarburos totales de petróleo (TPH), bifenilos policlorados (PCB), aromáticos policíclicos (HAP), metales y otros compuestos contaminantes ocasionan un deterioro en el medioambiente y la salud humana por sus efectos cancerígenos, tóxicos y venenosos, se consideran sustancias de difícil biodegradación y se clasifican como residuos peligrosos por la reglamentación establecida en el Convenio de Basilea (Arroyo, Quesada, & Quesada, Revista colombiana de biotecnología, 2010).

Los derrames y fugas de hidrocarburos constituyen los mayores contaminantes de las aguas subterráneas. En particular, los hidrocarburos líquidos en fase no acuosa (NAPL) presentan una baja solubilidad en agua, se infiltran en el subsuelo y pueden alcanzar el agua subterránea (Zhou & Blunt, 2009). Gran parte de la contaminación ocurre por fugas, derrames y disposición de NAPL en las aguas subterráneas (Rodríguez, 2009) Estos compuestos orgánicos representan el mayor riesgo por sus efectos en el ambiente y en la salud humana (EPA, 2009)

La degradación de estos contaminantes es un proceso que se puede dar de forma natural por los microorganismos de la zona contaminada siempre que tengan las características apropiadas. Por eso actualmente para mejorar estas posibilidades que los microorganismos nos ofrecen se están desarrollando metodologías basadas en el uso de los microorganismos con amplias capacidades de biodegradación para su uso en la prevención y remediación de la contaminación (Bioinformatica, 2017).

En Colombia las empresas petroleras, han venido implementando la biorremediación de lodos contaminados con hidrocarburos como alternativas, para el manejo de residuos resultantes de los derrames que se presentan en las actividades de explotación, refinación, transporte y distribución del producto, estas prácticas deben ser consideradas sustentables por su fácil implementación, por los bajos costos que generan la operación y aplicación del proceso y por el beneficio para el medio ambiente (Trujillo & Ramirez, 2017)

Por lo cual, en esta investigación, dentro de la amplitud del tema se centró en la biorremediación de hidrocarburos en una estación de servicio como lo es sus derivados ACPM y Gasolina, dado que los microorganismos desempeñan una función esencial para prevenir o controlar los daños que pueden ocasionar los vertidos o fugas de hidrocarburos.

Dentro de las técnicas que se utilizaron en el proceso de biorremediación se emplean la bioaumentación y bioestimulación. En esta investigación se evaluó la bioaumentación la cual para este caso consistió en la aplicación de un tratamiento ex situ a base de abonos orgánicos de tipo sólido (lombricompost) y (bocashi) y de tipo Líquido (pantotenato), a los cuales se aplicó los sedimentos provenientes de la estación de servicio de San Francisco, donde se evidenció la descontaminación sobre un material contaminado con hidrocarburos.

El diseño experimental que se usó es irrestrictamente al azar con tres tratamientos de los cuales se tuvo un primer tratamiento de atenuación natural que se lo compara con otros dos tratamientos donde se usaron abonos orgánicos sólidos y líquidos para la descontaminación de hidrocarburos, cada tratamiento tiene tres repeticiones, para un total de nueve unidades experimentales, transcurridos dos meses de realizar el proyecto se tomaron valores de hidrocarburos totales (TPH) y otras variables como humedad, temperatura, pH, densidad aparente, densidad real, porosidad y color; para lo cual su análisis son mediante métodos estadísticos de andeva y tukey.

## 2. RESUMEN

En la presente investigación se evaluó el efecto de la técnica de bioaumentación de sedimentos contaminados con hidrocarburos de la estación de servicio San Francisco, en el municipio de San Francisco Putumayo, estos sedimentos son producto del mantenimiento y limpieza del sitio de operación o isla, como lo es, las trampas de grasa, canales perimetrales de la zona de distribución y/o venta del combustible, canales perimetrales de la zona de llenado de tanques de almacenamiento de combustible y desarenador del lavado de vehículos. Para el desarrollo de esta investigación, en la técnica de bioaumentación se propuso establecer un diagnóstico inicial sobre la producción semanal de los sedimentos en húmedo y seco que se acumulan en las cajillas producto de las trampas de grasa, posteriormente se adicionó a los sedimentos abonos orgánicos de tipo sólido (lombricompost y bocashi) y líquido (pantotenato), el objetivo de esta propuesta fue investigar alternativas para la descontaminación de hidrocarburos con insumos de fácil adquisición.

Para esta investigación se usó un diseño experimental irrestrictamente al azar (DIA), con tres tratamientos y tres repeticiones en cada uno, el tratamiento T1 fue de atenuación natural, el T2 se le aplicó 60% (15 Kg) sedimentos contaminados con hidrocarburos de la estación de servicio, 40% (10 Kg) de abono orgánico sólido tipo humus de lombriz + (2L pantotenato + 4L de agua)., y el tratamiento T3 se le aplicó 60% (15 Kg) sedimentos contaminados con hidrocarburos de la estación de servicio, 40% (10 Kg) de abono orgánico sólido tipo Bocashi + (2L pantotenato + 4L de agua), el proceso se lo desarrollo por un lapso de dos meses, y para cada repetición se tomaron valores de hidrocarburos totales por medio de análisis de laboratorio, y valores de humedad (%), temperatura (°C), pH (Unidades), densidad aparente (g/cm<sup>3</sup>), densidad real (g/cm<sup>3</sup>), porosidad (%) y color. como variables de control.

Para la discusión de los resultados de campo, inicialmente se tomó cada una de las variables evaluadas de respuesta y control, donde se realizaron un análisis con promedios y un análisis de varianza (Andeva) para determinar si existen diferencias estadísticas significativas entre los tres tratamientos evaluados y pruebas de significancia de Tukey donde ( $P < 0.05$ ), donde se obtuvieron los siguientes resultados:

La variable de respuesta de esta investigación fueron los hidrocarburos totales, los cuales según el análisis inicial hecho en el laboratorio Ecoanálisis mediante la técnica de extracción soxleth estandarizado mediante el código SM 5529f – EPA9071 B, arrojó que los sedimentos tuvieron una concentración de 0,39% p/p, que equivale a 3900 mg/kg, estableciéndose que es una alta concentración. Según la prueba de Tukey, hay diferencia estadística significativa entre T2 y T3

con respecto a T1, pero entre T2 y T3 no hay diferencia estadísticamente significativa debido a que esta prueba lo considera como grupos homogéneos.

Para la variable de control en cuanto a temperatura (°C), presento diferencias significativas ( $P < 0,05$ ), al observar las pruebas de significancia de Tukey se determinó que al iniciar existen diferencias entre T1 con un promedio de 20,83 °C, con relación a T2 con un valor de 20,27 °C; ya para finalizar el tratamiento se encontró una diferencia estadística significativa entre T1 con valor promedio de 20,90 °C, respecto a T2 y T3 con promedios de 20,10 °C y 20,27 °C respectivamente.

Para el porcentaje de humedad higroscópica al inicio del proceso de cuantificación, existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ), entre T1 con un promedio de 1,23%, en relación a T2 con un promedio de 6,7%.

Al finalizar el proceso se cuantifico nuevamente esta variable, dando como resultado una diferencia estadísticamente significativa entre todos los tratamientos ( $p < 0,05$ ), con unos promedios para T1 de 0,83%, T2 con un promedio de 10,57% y T3 6,77%.

En cuanto a la variable densidad aparente (g/cm<sup>3</sup>), solamente se presentó diferencia estadísticamente significativa al finalizar el proceso ( $p < 0,05$ ), para T2 y T3 con promedios de 1,73 g/cm<sup>3</sup> y 1,57 g/cm<sup>3</sup>, se diferenciaron significativamente de T1 que obtuvo un promedio de densidad aparente de 2,13 g/cm<sup>3</sup>.

Para la variable de control densidad real (g/cm<sup>3</sup>), no se obtuvo diferencias estadísticamente significativas ya que los resultados arrojaron que existe una similitud en todos los tratamientos.

Según los resultados obtenidos en la porosidad (%), existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ), donde T1 con un promedio de 17,97 % de porosidad, se diferencia de T2 y T3 que obtuvieron promedios de 33,67 y 42,73%.

Para la determinación del color del suelo de cada uno de los tratamientos evaluados, se utilizó la tabla Munsell, para T1 se obtuvo un color 5Y 3/2 (gris oliva oscuro) en todo el proceso, a diferencia del T2 y T3 presentó un color 2.5Y 3/2 (gris muy oscuro) y 10YR 2.5/2 (pardo muy oscuro) respetivamente al finalizar las semanas de experimentación, esto se debe a que se les adiciono abonos orgánicos sólidos y líquidos.

Teniendo en cuenta el análisis de varianza, la variable pH (unidades) al finalizar la investigación, indica que se presentaron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ), al

observar las pruebas de significancia de Tukey se encontró una diferencia estadística significativa entre los tres tratamientos, T1 con valor promedio de 6,63 unidades de pH, T2 con promedio de 7,33 unidades de pH y T3 con 7,7 unidades de pH.



## ABSTRACT

In the following investigation, it has been evaluated the effect about bioincreasing technique of contaminated sediments with hydrocarbons of a combustible service station in municipality of San Francisco, Putumayo; these sediments are the result of maintenance and cleanliness of the operating place, such as, greasetrap, perimeter canals of distributing and/or sale combustible area, filling of storage tanks area and washing sandtrap of vehicles

In order to develop the investigation about bioincreasing, it was made a first diagnosis about weekly production of wet and dry sediments which are accumulated in greasetraps; next, it was added solid manure to the sediments (vermicompost and bocashi) and liquid (pantothenate). The objective of this proposal has been evaluate the effectiveness of bioincreasing technique of contaminated sediments using manure

For this investigation it was used randomly an experimental design DIA with three treatments and three repetitions on each one of them: treatment T1 was of natural reduction, treatment T2 was applied in a 60% (15 kg) contaminated sediments with hidrocarbons of the service station, 40% (10 Kg) of solid manure such as vermicompost + (2L pantothenate + 4L water), and treatment T3 was applied in a 60% (15 Kg) contaminated sediments with hidrocarbons of the service station, 40% (10 Kg) of solid manure such as Bocashi +(2L pantothenate + 4L water). The process has been developed during two months and for each repetition it was taken total values through of laboratory analysis and values of hygroscopic humidity (%), temperature (°C) pH (Unities), apparent density (g/cm<sup>3</sup>), real density (g/cm<sup>3</sup>), porosity (%) and color, all of them like control variables.

For the analysis of results in field, it was taken one of the variables of answer and control first, where it was made variance analysis (Vaan) in order to decide the existence of meaningful statistics differences among three evaluated treatments and significance Tukey tests where ( $P < 0.05$ )

The results gotten in the answer variable of this investigation were total hidrocarbon, where sediments had a first concentration of 3900 mg/kg, which represents a high concentration

According to Tukey test, there is a meaningful statistic difference between T2 with an average around 787,6 mg/Kg and T3 with an average in three repetitions around 826 mg/kg; respect of T1 which represents an average of 1256.6 mg/kg; but between T2 and T3 theres no a meaningful statistically difference doe to this test consider them as homogeneous groups

For the control variable regarding temperatura (°C), it presented meaningful differences ( $P < 0,05$ ); watching significance Tukey test it was established the existence of first differences between T1 with an average of 20,83 °C and T2 with an average of 20,27 °C. Finalising the treatment it was found a meaningful

statistic difference between T1 with an average value around of 20.90 °C respect of T2 and T3 with averages around 20.10 °C and 20,27 °C respectively

In the beginning of the process of quantifying for the percentage of hygroscopic humidity it was observed a meaningful statistically difference ( $p < 0,05$ ), between T1 with an average around of 1,23% respect of T2 with an average around of 6,7%, meanwhile T3 with an average around 5,10% doesn't present meaningful statistically differences with T1 and T2.

In the end of the process it was quantified this variable again, showing a meaningful statistically difference among all treatments ( $p < 0,05$ ), with averages for T1 around 0,83%, T2 around 10,57% y T3 6,77% as final a result

According to apparent density ( $\text{g/cm}^3$ ), in the end of the process, it was showed a meaningful statistically difference ( $p < 0,05$ ), for T2 and T3 with averages around 1,73  $\text{g/cm}^3$  and 1,57  $\text{g/cm}^3$ , they showed differences with T1 wich got a n average of apparent density around 2,13  $\text{g/cm}^3$ .

In the other hand, the variable of control real density ( $\text{g/cm}^3$ ), didn't present meaningful statistically differences doe to the results showed a similarity among all the treatments

According to results of porosity (%), there is a meaningful statistically difference ( $p < 0,05$ ), where T1 with an average aorund 17,97 % of porosity has a difference about T2 and T3 which got averages around 33,67 and 42,73%.

In order to decide the color of the soil for each one of the treatments evaluated, it was used Table Munsell; for T1 got a color 5Y 3/2 (dark gray olive) in all process, different of T2 and T3 which presented colors 2.5Y 3/2 (highly dark gray) and 10YR 2.5/2 (highly dark brown) respectively, in the end of the weeks of experimentation doe to the adding of solid and liquid manure

In the end of the investigation and taking into account the analysis of variance, the variable of pH (unities) shows the existence of meaningful differences ( $P < 0,05$ ); analising the significance Tukey tests, it was found a meaningful statistically difference among three treatments, T1 with an average value around 6,63 unities of pH; T2 with an average value around 7,33 unities of pH and T3 with an average value around 7,7 unities of pH.

It could be concluded that the best treatment according with averages presented during the the weeks of experimentation was treatment T2, which contains manure such as vermicompost and a liquid one such as pantothenate. Taking into account the results it can be confimed according (Velasco, 2004), that bacterias have a very fast growing and a higher adaptability on contaminated áreas, which increases the probability of biodegradation of hidrocarbon, confirming in this way that manure contributes to the descontamination and also it can be used as a bioremediation strategy.

It's recommended to practice higher applications of microorganisms, always having a control of humidity based on liquid manure diluted pantothenate in water with a lower relation according with the initial.

### **3. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA**

#### **3.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La industrialización en el mundo ha causado numerosos problemas de contaminación de suelos y aguas. En el caso de la industria petrolera, esta produce gran cantidad de desechos con contenidos de hidrocarburos. Los accidentes en la industria petrolera, como rupturas de tuberías y contenedores, originan derrames de petróleo o de sus derivados, sobre los ecosistemas terrestres y/o marinos, causando procesos de contaminación que afectan las propiedades fisicoquímicas y los componentes biológicos de los ecosistemas. Estos accidentes impiden el aprovechamiento de los recursos naturales afectados ya que son alterados los procesos productivos o se modifica directamente el hábitat de especies y la estética del paisaje natural (Eweis J. , Ergas, Chag, & Schoroeder, 2006).

El manejo inadecuado de los materiales y residuos peligrosos ha generado a escala mundial, un problema de contaminación de suelos, aire y agua. Entre las más severas contaminaciones se destacan las que se produjeron y todavía se producen a causa de la extracción y el manejo del petróleo en todos los países productores de hidrocarburos. En el suelo los hidrocarburos impiden el intercambio gaseoso con la atmósfera, iniciando una serie de procesos físico-químicos simultáneos como evaporación y penetración, que, dependiendo del tipo de hidrocarburo, temperatura, humedad, textura del suelo y cantidad vertida puede ser más o menos lentos, ocasionando una mayor toxicidad, además de tener una moderada, alta o extrema salinidad, dificultando su tratamiento. Altos gradientes de salinidad pueden destruir la estructura terciaria de las proteínas, desnaturalizar enzimas y deshidratar células, lo cual es letal para muchos microorganismos usados para el tratamiento de aguas y suelos contaminados (Benavides, 2014)

Por otra parte la inadecuada disposición final de lodos o sedimentos contaminados con residuos de aceites lubricantes, compuestos de hidrocarburos (TPH), bifenilos policlorados (PCB), aromáticos policíclicos, metales y otros compuestos contaminantes, ocasionan un deterioro en el medio ambiente y la salud humana por sus efectos cancerígenos, tóxicos y venenosos, además se consideran sustancias de difícil biodegradación se clasifican como residuos peligrosos por la reglamentación establecida en el convenio de Basilea (Arroyo, Quesada, & Quesada, Revista colombiana de biotecnología, 2010)

La contaminación de hidrocarburos en diferentes ecosistemas, se ha incrementado en los últimos años, debido al aumento en la actividad de

exploración y producción de la industria petrolera y la actividad económica respecto a la comercialización de sus derivados. En la actualidad los suelos contaminados con estos compuestos representan el 70% del total de los ecosistemas impactados (Swannell, Lee, & Donagh, 2014)

Para el departamento del Putumayo, muchas son las noticias de derrames de hidrocarburos representados en su mayoría en derrames de petróleo por cuenta de actos terroristas, sin embargo, se descuida otra forma de contaminación de hidrocarburos a suelo, aguas subterráneas y superficiales por parte de las estaciones de servicio.

Una estación de servicio, en sí misma no es una instalación contaminante, sino que los riesgos de contaminación se derivan de la naturaleza de los productos que se comercializan en ellas. El mal estado de las instalaciones de almacenamiento, y descuidos de los operarios y/o usuarios pueden provocar episodios de contaminantes (Grupo de Laboratorios ALS, 2016)

Por lo general en una estación de servicio se presentan diversas afectaciones al medio ambiente según la fuente de contaminación: En el caso de los tanques contenedores y las tuberías debido a pérdidas de producto por el mal estado de conservación o por corrosión, antigüedad u obstrucciones se puede derramar combustibles que finalmente generan filtraciones de gasolina o ACPM al medio externo contaminando el suelo, el agua subterránea y aguas superficiales; para el caso el caso de las trampas de grasa se puede generar pérdidas de residuos de combustible debido al mal estado de conservación, por corrosión o antigüedad, provocando la contaminación del medio circundante, sus sedimentos se pueden filtrar o por movimiento de agua llegar a otras instancias (Grupo de Laboratorios ALS, 2016)

Debido a los anteriores argumentos, en el municipio de San Francisco por ser una zona con alto nivel freático y nacimientos de agua, se puede ocasionar contaminación de suelos por medio del movimiento del agua. El problema aumenta cuando hay un mal manejo de los residuos que se generan por esta actividad, los sedimentos de las trampas de grasas que tienen contenidos de hidrocarburos, al depositarlos al alcantarillado o manejarlos como residuos sólidos ordinarios pueden contaminar el medio donde se depositan, en este caso los contaminantes se desplazan de las trampas de grasa hacia el agua y el suelo por medio de las paredes, es por ello que es importante generar procesos de investigación que permitan conocer alternativas de manejo como la bioaumentación que se plantea en esta propuesta.

### **3.2 PREGUNTAS DE LA INVESTIGACIÓN.**

¿La técnica de bioaumentación permite la degradación de sedimentos contaminados por hidrocarburos provenientes de una estación de servicios de combustibles?

#### 4. JUSTIFICACIÓN

Las medidas biocorrectivas o los sistemas de biorremediación consisten principalmente en el uso de los microorganismos naturales (levaduras, hongos o bacterias) existentes en el medio para descomponer o degradar sustancias peligrosas en sustancias de carácter menos tóxico o bien inocuas para el medio ambiente y la salud humana. Las medidas biocorrectoras se llevan empleando en la descontaminación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos desde hace décadas con importante éxito (Maroto Arroyo & Rogel Quesada, 2017)

El problema de la contaminación ambiental por hidrocarburos debido a una estación de servicio, por lo general no es tan visible ya que se hace de manera legal, sin embargo es un gran problema el cual está latente, en espera de llegar a ser un problema de mayor escala, por el momento, la puesta en marcha de esta propuesta se hizo como una medida preventiva y correctiva a este problema ambiental, que en caso tal que llegue a ser mayores las afectaciones del problema se verá afectado las fuentes de agua subterránea que se encuentran cercanas al área de la estación de servicio, impidiendo posteriormente los usos del agua como lo es el consumo humano.

En la actualidad la biorremediación independientemente de la técnica a utilizar, las empresas que llevan a cabo este proceso lo hacen por medio de la compra de paquetes de bacterias específicas que al ser usadas siempre habrá una tendencia hacia una respuesta positiva, pero la dificultad para personas naturales que no tengan relación directa con empresas petroleras que se encuentra en este proceso es la obtención de estas bacterias, por tal razón se quiso experimentar un proceso de bioaumentación en base a la aplicación de abonos orgánicos como lo son Lombricompost y tipo bocashi como abono sólido y Pantotenato como abono líquido, para determinar su efectividad en este proceso, además de ellos se planteó como una medida descontaminante más económica.

Los sedimentos que se reúnen en las trampas colectores deben ser tratados o de alguna manera neutralizados, por lo cual no se tiene un sistema de tratamiento para ellos, para ello se los trato usando una planta piloto mediante la técnica de bioaumentación como respuesta descontaminante.

Por otra parte, la biorremediación de contaminantes como hidrocarburos y sus derivados se refleja principalmente en el tema del petróleo, obviando la contaminación de hidrocarburos por parte de las estaciones de servicio; por tal motivo se comenzó en temas de investigación en este campo.





## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 OBJETIVO GENERAL.**

Evaluar la degradación de hidrocarburos totales (TPH), contenidos en sedimentos de las trampas de grasa, a través de la técnica de bioaumentación, en una estación de servicio del municipio de San Francisco Putumayo.

### **5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.**

Cuantificar la cantidad de sedimentos generados en la estación de servicio de combustible cada 15 días, tanto en húmedo y seco.

Determinar el contenido inicial de hidrocarburos totales de petróleo (TPH), en los sedimentos de las trampas de grasa.

Aplicar la técnica de bioaumentación en la biodegradación de hidrocarburos, en sedimentos de trampas de grasa de la estación de servicio San Francisco, midiendo las variables de control.

Determinar los porcentajes de degradación de hidrocarburos totales (TPH), y el comportamiento de variables de control en las unidades experimentales de biorremediación de suelos a tratar, a través de análisis de resultados de laboratorio.

## 6. HIPÓTESIS

### 6.1 HIPÓTESIS EXPERIMENTAL

¿Es posible la degradación de hidrocarburos totales presentes en los sedimentos contaminados de la estación de servicio, aplicando la técnica de bioaumentación?

### 6.2 HIPOTESIS ESTADISTICA

Ho:  $\mu_{Bi} = \mu_{Bj} = \mu_{Bk}$

Para Ho: no hay diferencias significativas en las medias y en las variables de los tratamientos a evaluar.

Ha:  $B_i \neq B_j \neq B_k$

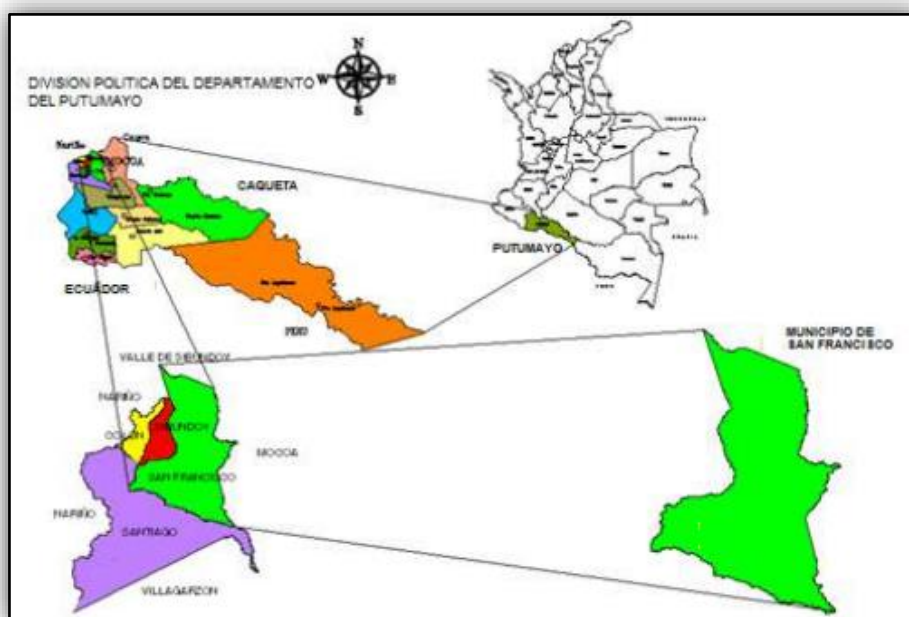
Para Ha: Existen diferencias significativas al menos entre uno de los tratamientos y variables a evaluar mediante la técnica de bioaumentación, para la degradación de hidrocarburos.

## 7. MARCO REFERENCIAL

### 7.1 MARCO CONTEXTUAL

El municipio de San Francisco se encuentra localizado en la región del Valle de Sibundoy, se ubica al noroccidente del departamento del Putumayo, sur de Colombia, en las estribaciones de las montañas del Macizo Colombiano, sector del departamento del Putumayo a una altura de 2100 msnm, hace parte de la cuenca alta del río Putumayo. Su relieve es bastante ondulado y quebrado y en parte de la zona occidental se inicia el Valle de Sibundoy. La temperatura promedio es de alrededor de los 16.2 °C, lo que, junto con una precipitación anual de cerca de 1578 mm, genera una humedad atmosférica constante y relativamente alta, superior al 83 % (Alcaldía San Francisco - Putumayo, 2016).

**Figura 1.** Localización geográfica municipio de San Francisco.



**Fuente.** Esquema de Ordenamiento Territorial, 2010.

**Sitio de desarrollo.** Con el fin de controlar las condiciones de desarrollo de las unidades experimentales, el material que se trató fue transportado a una de las viviendas de uno de los integrantes de este proyecto ubicada en el municipio de San Francisco, este sitio no tendrá interferencia de lluvias ni de vientos, por otra parte, se manejará todo bajo sombra, con el objetivo de que la luz solar no intervenga en los resultados. La estación de servicio San Francisco se encuentra en la coordenada N 01° 10' 20.8" W 76° 52' 34,3" y la casa de habitación donde se realizará el proceso está en la coordenada N 01° 10' 20.2" W 76° 52' 32.9", ubicándose tanto la estación de servicio y la casa de habitación en el barrio Pablo VI.

**Figura 2.** Estación de Servicio de San Francisco y lugar de tratamiento de los sedimentos



## 7.2 MARCO CONCEPTUAL

**7.2.1 Abono orgánico.** Según (Libreros S. S., 2012) afirma que el abono orgánico es el material resultante de la descomposición natural de la materia orgánica por acción de los microorganismos presentes en el medio, los cuales digieren los materiales, transformándolos en otros benéficos que aportan nutrimentos al suelo y, por tanto, a las plantas que crecen en él. Es un proceso controlado y acelerado de descomposición de los residuos, que puede ser aeróbico o anaerobio, dando lugar a un producto estable de alto valor como mejorador del suelo.

Los abonos orgánicos tienen altos contenidos de nitrógeno mineral y cantidades significativas de otros elementos nutritivos para las plantas (Aguero & Terry, 2014)

**7.2.2 Actividad biológica.** La mayor actividad de los microorganismos se realiza desde la superficie del suelo hasta unos 20 centímetros de profundidad. Las colonias de microorganismos permanecen adheridas a las partículas de arcilla y humus (fracción coloidal) y a las raíces de las plantas que les suministran sustancias orgánicas que les sirven de alimento y estimulan su reproducción (Higuera, 2017).

**7.2.3 Áreas críticas.** Aquellas que, por su naturaleza, ubicación y manejo de determinados productos, representan un mayor riesgo de ocurrencia de siniestro, tales como islas de abastecimiento de combustibles, ubicación de tanques de almacenamiento de éstos, puntos de desfogue y acumulación de

gases y áreas en las que se generen potenciales riesgos (Ministerio de minas y energía, 1988).

**7.2.4 Calidad de suelos.** La calidad y la salud del suelo son conceptos equivalentes, no siempre considerados sinónimos (Doran & Parkin, 1994). La calidad debe interpretarse como la utilidad del suelo para un propósito específico en una escala amplia de tiempo (Carter, y otros, 1997). El estado de las propiedades dinámicas del suelo como contenido de materia orgánica, diversidad de organismos, o productos microbianos en un tiempo particular constituye la salud del suelo (Romig, Garlynd, Harris , & McSweeney , 1995).

**7.2.5 Estación de servicio.** 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 comerciales no deberán interferir con el objeto principal para el cual se autorizó la operación de la estación de servicio, vale decir, el almacenamiento, manejo, transporte y distribución de combustibles líquidos derivados del petróleo y/o gaseosos, excepto G.L.P. (Ministerio de minas y energía, 1988).

**7.2.6 Hidrocarburos totales.** El término hidrocarburos totales de petróleo (TPH's) se usa para describir a un grupo extenso de varios cientos de sustancias químicas derivadas originalmente del petróleo crudo. En este sentido, los TPH's son realmente una mezcla de sustancias químicas. Se les llama hidrocarburos porque casi todos los componentes están formados enteramente de hidrógeno y carbono (ATSDR, 2017)

**7.2.7 Isla del surtidor para combustibles líquidos derivados del petróleo.** Es la base o soporte de material resistente y no inflamable, generalmente concreto, sobre la cual van instalados los surtidores o bombas de expendio, construida con una altura mínima de veinte (20) centímetros sobre el nivel del piso y un ancho no menor de un metro con veinte centímetros (1.20 m), (Ministerio de minas y energía, 1988).

**7.2.8 Impacto ambiental.** Cualquier alteración en el medio ambiental biótico, abiótico y socioeconómico, que sea adverso o beneficioso, total o parcial, que

pueda ser atribuido al desarrollo de un proyecto, obra o actividad (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2014)

**7.2.9 Materia orgánica.** Se considera a la materia orgánica del suelo (MOS) como un continuo de compuestos heterogéneos con base de carbono, que están formados por la acumulación de materiales de origen animal y vegetal parcial o completamente descompuestos en continuo estado de descomposición, de sustancias sintetizadas microbiológicamente y/o químicamente, del conjunto de microorganismos vivos y muertos y de animales pequeños que aún faltan descomponer (Meléndez & Soto, 2003).

**7.2.10 Mantenimiento.** Actividades tendientes a lograr el adecuado funcionamiento de equipos, elementos, accesorios, maquinarias, etc., con el fin de garantizar una eficaz y eficiente prestación del servicio al usuario (Ministerio de minas y energía, 1988).

**7.2.11 Microorganismos (Activadores).** Estos se encargan de descomponer la materia orgánica del suelo y demás residuos que se depositan en él. Algunos fijan nitrógeno de la atmósfera, controlan a otros microorganismos dañinos, incrementan la disponibilidad de nutrientes para la planta a través del reciclaje de éstos, degradan algunas sustancias tóxicas, incluyendo pesticidas y producen antibióticos y otros componentes bioactivos, mejorando la agregación del suelo, entre otras funciones (FUNDASES, 2005).

Normalmente se les llama microorganismos eficaces (EM), haciendo referencia al sistema que utiliza una selección de microorganismos que habitan el suelo naturalmente fértil y que se usan como apoyo para la producción agropecuaria. Cuando el EM es inoculado en el medio natural, el efecto individual de cada microorganismo es amplificado, o sea, crece por su acción en comunidad (Herrera., 2015).

**7.2.12 Nutrientes.** Los nutrientes son uno de los factores más relevantes por ser sustancias químicas necesarias para la actividad microbiana y metabólica de los microorganismos, por lo que estos constituyentes se deben encontrar disponibles para su asimilación y síntesis, la disponibilidad de estos aumenta la eficiencia y el buen desarrollo de la biorremediación (Gómez Romero, y otros, 2008).

**7.2.13 Suelo.** El suelo es un componente que nunca debe faltar en la formulación de un abono orgánico fermentado. En algunos casos puede ocupar hasta la tercera parte del volumen total del abono. Es el medio para iniciar el desarrollo

de la actividad microbiológica del abono, también tiene la función de dar una mayor homogeneidad física al abono y distribuir su humedad.

Otra función de suelo es servir de esponja, por tener la capacidad de retener, filtrar y liberar gradualmente los nutrientes a las plantas de acuerdo a sus necesidades. El suelo, dependiendo de su origen, puede variar en el tamaño de partículas, composición química de nutrientes e inoculación de microorganismos.

Las partículas grandes del suelo como piedras, terrones y pedazos de palos deben ser eliminados. El suelo debe obtenerse a una profundidad no mayor de 30cm, en las orillas de las labranzas y calles internas (Agroecología y ambiente, 2012)

### **7.3 MARCO LEGAL**

#### **NORMATIVIDAD GENERAL**

La Constitución Política de Colombia de 1991 elevó a norma constitucional la consideración, manejo y conservación de los recursos naturales y el medio ambiente, a través de los siguientes principios fundamentales:

##### **Derecho a un ambiente sano.**

En su Artículo 79, la Constitución Nacional (CN) consagra que: Todas las personas tienen derecho a gozar de un ambiente sano. La Ley garantizará la participación de la comunidad en las decisiones que puedan afectarlo. Es deber del Estado proteger la diversidad e integridad del ambiente, conservar las áreas de especial importancia ecológica y fomentar la educación para el logro de estos fines.

Esta norma constitucional puede interpretarse de manera solidaria con el principio fundamental del derecho a la vida, ya que éste sólo se podría garantizar bajo condiciones en las cuales la vida pueda disfrutarse con calidad.

##### **Ley 99 de 1993.**

Crea el Ministerio del Medio Ambiente y Organiza el Sistema Nacional Ambiental (SINA). Reforma el sector Público encargado de la gestión ambiental. Organiza el sistema Nacional Ambiental y exige la Planificación de la gestión ambiental de proyectos. Los principios que se destacan y que están relacionados con las actividades portuarias son: La definición de los fundamentos de la política ambiental, la estructura del SINA en cabeza del Ministerio del Medio Ambiente, los procedimientos de licenciamiento ambiental como requisito para la ejecución de proyectos o actividades que puedan causar daño al ambiente y los

mecanismos de participación ciudadana en todas las etapas de desarrollo de este tipo de proyectos.

**Decreto ley 2811 de 1.974.**

Código nacional de los recursos naturales renovables RNR y no renovables y de protección al medio ambiente. El ambiente es patrimonio común, el estado y los particulares deben participar en su preservación y manejo. Regula el manejo de los RNR, la defensa del ambiente y sus elementos.

**Decreto 1521 DE 1998.** (agosto 4).

MINISTERIO DE MINAS Y ENERGIA Por el cual se reglamenta el almacenamiento, manejo, transporte y distribución de combustibles líquidos derivados del petróleo, para estaciones de servicio.

**Ley 23 de 1973.**

Principios fundamentales sobre prevención y control de la contaminación del aire, agua y suelo y otorgó facultades al Presidente de la República para expedir el Código de los Recursos Naturales.

**Decreto 2150 de 1995 y sus normas reglamentarias.**

Reglamenta la licencia ambiental y otros permisos. Define los casos en que se debe presentar Diagnóstico Ambiental de Alternativas, Plan de Manejo Ambiental y Estudio de Impacto Ambiental. Suprime la licencia ambiental ordinaria.

**Normatividad específica ambiental concerniente al derrame con hidrocarburos**

**Decreto 1449 de 1977.** Disposiciones sobre conservación y protección de aguas, bosques, fauna terrestre y acuática.

**Decreto 1594 de 1984.** Normas de vertimientos de residuos líquidos.

**Decreto 2655 de 1988.** Código de Minas.

**Ley 388 de 1997.** Ley de ordenamiento territorial, que reglamenta los usos del suelo.

**Decreto 321 de 1999.** Por el cual se adopta el plan nacional de contingencias contra derrame de hidrocarburos, derivados y sustancias nocivas.



## 7.4 MARCO TEÓRICO.

**7.4.1 Impactos ambientales de los hidrocarburos.** En la actividad petrolera, las disposiciones y el manejo habitual de hidrocarburos y combustibles, en algunos casos conlleva a la contaminación del ambiente, cuando tanques, oleoductos y diversas instalaciones sufren daños. Los líquidos migran hacia el suelo, subsuelo (zona vadosa) y hacia el agua subterránea (zona saturada – acuífero) o superficialmente hacia un bajo topográfico o curso de agua, y sus componentes volátiles a la atmósfera. No solo las contaminaciones se producen por roturas de los sistemas de almacenaje o de transporte, sino que el mal manejo del producto puede provocar impactos negativos en la ecología regional (Vasallo & Herrera , 2002).

La industria petrolera en su conjunto ha tenido un gran impacto negativo en materia ambiental. Debido a la amplia gama de productos derivados del petróleo que se manejan y que no ha sido posible evaluar cuantitativamente la contaminación involucrada desde la fase de explotación hasta la obtención de los petroquímicos básicos, ni del seguimiento a la infraestructura petrolera, esta se integrada por:

- Pozos de explotación.
- Baterías de separación.
- Complejos procesadores de gas.
- Centrales de almacenamiento y bombeo.
- Redes de ductos y piletas para el confinamiento de desechos sólidos y líquidos procedentes de la perforación y mantenimiento de los pozos.
- Transporte y distribución en general.
- Estaciones de servicio de combustible.

Estas instalaciones poseen riesgos inherentes de fugas de petróleo, diésel y gasolina por roturas de los ductos, por filtración de aguas aceitosas, por daños en las estructuras de almacenamiento y transporte, por malas prácticas, entre otras, lo cual genera un riesgo a nivel de la contaminación ambiental e impactos negativos a los ecosistemas (Vasallo & Herrera , 2002).

**7.4.2 Suelos contaminados por hidrocarburos.** Los procesos de combustión dan lugar a un tipo de contaminación difusa que afecta mayoritariamente a la atmósfera, pero que a causa de procesos de precipitación y lixiviado se puede acumular en suelos y sedimentos en cambio, las actividades de producción, transporte y utilización de combustibles fósiles dan lugar a emplazamientos definidos, con la posibilidad de la existencia de un alto grado de contaminación. Los hidrocarburos se encuentran en el suelo en forma de mezclas complejas que

suelen constituir fases líquidas no acuosas (NAPLs, en inglés) (Estela, Pérez, & Saavedra, 2014)

Como respuesta a la creciente contaminación tanto de suelo y agua, generada por derrames accidentales de hidrocarburos del petróleo, se han implementado diversos sistemas biológicos encaminados a la limpieza y recuperación de las áreas impactadas por estos contaminantes orgánicos (Ferrera R. , Rojas, Poggi, Alarcón, & Cañizares, 2006)

Por lo general en una estación de servicio se presentan diversas afectaciones al medio ambiente según la fuente de contaminación: En el caso de los tanques contenedores y las tuberías debido a pérdidas de producto por el mal estado de conservación o por corrosión, antigüedad u obstrucciones se puede derramar combustibles que finalmente generan filtraciones de gasolina o ACPM al medio externo contaminando el suelo, el agua subterránea y aguas superficiales; para el caso el caso de las trampas de grasa se puede generar pérdidas de residuos de combustible debido al mal estado de conservación, por corrosión o antigüedad, provocando la contaminación del medio circundante, sus sedimentos se pueden filtrar o por movimiento de agua llegar a otras instancias (Grupo de Laboratorios ALS, 2016)

**7.4.3 Tecnologías de remediación biológicas (biorremediación).** El término biorremediación se utiliza para describir una variedad de sistemas que utilizan organismos vivos (plantas, hongos, bacterias, etc.) para degradar, transformar o remover compuestos orgánicos tóxicos a productos metabólicos inocuos o menos tóxicos. Esta estrategia biológica depende de las actividades catabólicas de los organismos, y por consiguiente de su capacidad para utilizar los contaminantes como fuente de alimento y energía. Para que esto ocurra, es necesario favorecer las condiciones para el crecimiento y la degradación (Van Deuren , Ledbetter, & Wang, 1997)

Las rutas de biodegradación de los contaminantes orgánicos, varían en función de la estructura química del compuesto y de las especies microbianas degradadoras. El proceso de biorremediación incluye reacciones de óxido reducción, procesos de sorción e intercambio iónico, e incluso reacciones de acomplejamiento y quelación que resultan en la inmovilización de metales (Eweis J. , Ergas , Chang, & Schroeder, 1998).

La biorremediación puede emplear organismos propios del sitio contaminado (autóctonos) o de otros sitios (exógenos), puede realizarse in situ o ex situ, en condiciones aerobias (en presencia de oxígeno) o anaerobias (sin oxígeno) (Eweis J. , Ergas , Chang, & Schroeder, 1998). Aunque no todos los compuestos orgánicos son susceptibles a la biodegradación, los procesos de biorremediación

se han usado con éxito para tratar suelos, lodos y sedimentos contaminados con hidrocarburos del petróleo (HTP), solventes (benceno y tolueno), explosivos (TNT), clorofenoles (PCP), pesticidas (2,4-D), conservadores de madera (creosota) e hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) (Semple, Reid, & Fermor, 2001)

**7.4.4 La bioaumentación.** Se entiende como la introducción de especies de microorganismos que ayuden a la biodegradación de los contaminantes presentes en el suelo. Las uniones de estos sistemas de múltiples microorganismos conforman lo que se conoce como consorcio microbiano y representa un acercamiento a los modelos naturales (Ledin, 2000), pero con microorganismos especializados en la biodegradación de compuestos como el diésel. Sin embargo, numerosos estudios muestran que los factores bióticos y abióticos influyen en la adaptación de la micro biota introducida y por lo tanto influye significativamente en el proceso de biorremediación (Gentry, Rensing, & Pepper, 2004).

**Limitaciones.** Antes de llevar a cabo la Bioaumentación en un sitio, deben realizarse cultivos de enriquecimiento, aislar microorganismos capaces de cometabolizar o utilizar el contaminante como fuente de carbono, y cultivarlos hasta obtener grandes cantidades de biomasa (Alexander M., 1994).

**Costos y tiempos de remediación.** Es una tecnología que puede durar varios meses o años, y su utilización no implica mucho capital ni costos de operación.

**7.4.5 La Bioestimulación.** Es la introducción de nutrientes y sustancias químicas que estimulan el crecimiento de los microorganismos nativos del suelo para mejorar el proceso biológico de remediación (Bento, Camargo, Okeke, & Frankenberg, 2003). Diversos estudios han comprobado que la biorremediación de diésel puede ser inducida por medio de la estimulación de los microorganismos autóctonos, la adición de nutrientes y oxígeno en el suelo (seklemova, Pavlova, & Kovacheva, 2001) o a través de la inoculación de un consorcio microbiano en el suelo.

**7.4.6 Métodos de biorremediación en suelos.** La biorremediación puede llevarse a cabo In Situ: excavando el terreno y tratándolo a pie de excavación, o bien Ex Situ, en instalaciones aparte. La técnica apropiada para llevar a cabo este proceso, debe ser el resultado de la valoración de una serie de variables y de características del sitio o del contaminante por tratar (Torres & Zuluaga, 2009).

**7.4.6.1 Biorremediación ex situ.** Se lleva a cabo cuando el procedimiento se realiza fuera del lugar donde está la contaminación. Entre las técnicas más

utilizadas se tienen la disposición sobre el suelo (Landfarming), Bioceldas o biopilas, Tratamiento de biosuspensión (Torres & Zuluaga, 2009)

**7.4.7 Factores que influyen en la biorremediación.** Uno de los principales problemas de la biodegradación, es que, en presencia de altas concentraciones del contaminante en el suelo, pueden existir efectos de toxicidad sobre la población microbiana. Otro, es la insuficiencia de nutrientes en el suelo; sin embargo, la presencia de cantidades mínimas de nitrógeno y fósforo permiten la biodegradación, aunque en tiempos más largos. Los factores ambientales que influyen en la biodegradación son: temperatura, pH, humedad, nutrientes (principalmente nitrógeno y fósforo), aceptores de electrones (oxígeno, nitrato, sulfato) y presencia de microorganismos (Roldan & Iturbe, 2002)

**7.4.7.1 Temperatura.** Es uno de los factores ambientales más importantes, esta tiene una gran influencia en la biodegradación por su efecto sobre la naturaleza física y química del petróleo y sus derivados (Pardo, Perdomo, & Benavides, 2004). A bajas temperaturas la viscosidad de los hidrocarburos aumenta, la volatilización de alcanos de cadena corta se reduce y disminuye la solubilidad del O<sub>2</sub> en agua, afectando así la biodegradación. Las tasas de degradación generalmente aumentan cuando la temperatura incrementa (Ríos, 2005).

La temperatura también afecta la actividad metabólica de los microorganismos y la tasa de biodegradación. Generalmente, las especies bacterianas crecen a intervalos de temperatura bastante reducidos, entre 18 °C y 30 °C (condiciones mesófilas), cuando supera los 40°C se produce una disminución de la actividad microbiana, una rotación poblacional hacia especies más resistentes a las altas temperaturas o puede decrecer la biorremediación debido a la desnaturalización de enzimas y proteínas de las bacterias. Cuando la temperatura está a 0°C se detiene substancialmente la biodegradación (Gómez Romero, y otros, 2008), también se ha dado la biodegradación de hidrocarburos a temperaturas extremas: a 10°C en suelos subárticos y subalpinos, a 5°C en suelos árticos, a 60°C por una cepa termófila de *Bacillus stearothermophilus* aislada de un suelo contaminado con crudo de petróleo del desierto (Torres & Zuluaga, 2009). Los cambios climáticos y de estaciones, seleccionan de manera natural a las poblaciones de los microorganismos degradadores de hidrocarburos, los cuales se adaptan a las temperaturas ambientales (Ríos, 2005).

**7.4.7.2 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 & Velasco, Tecnologías de remediación para suelos cantaminados , 2002)

Las formas catiónicas ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ) son más solubles a pH ácido mientras que las formas aniónicas ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $(\text{PO}_4)^{3-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ) son más solubles a pH alcalino. Por lo tanto, si es necesario alcalinizar un suelo se utiliza arena de caliza e iones  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ , mientras que para acidificar un suelo se utiliza  $\text{FeSO}_4$ . En otros estudios se ha reportado que la acidificación o la reducción del pH en el suelo se puede realizar adicionando compuestos del azufre (Gómez Romero, y otros, 2008).

El pH afecta las poblaciones microbianas, por la biodisponibilidad de fuentes de carbono y energía. A pH extremadamente alcalinos o extremadamente ácidos la biodegradación se hace lenta. Generalmente los suelos contaminados por hidrocarburos tienden a ser ácidos, lo cual limita el crecimiento y la actividad de los microorganismos. El rango óptimo para la biodegradación está entre 6 – 8 unidades de pH. Sin embargo, para mantener una mejor capacidad degradante, por periodos de tiempo prolongados, el pH debe ser neutro, entre 7.4–7.8, evitando al máximo las fluctuaciones. El pH también tiene efecto en la disponibilidad de nutrientes, debido a que afecta la solubilidad y estado de los compuestos. La solubilidad del fósforo se maximiza a pH de 6.5, mientras que el plomo se encuentra menos soluble a pH de 7 a 8. En general para minimizar el transporte de metales se recomienda un pH mayor a 6 (Ríos, 2005).

**7.4.7.3 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 Romero, y otros, 2008). Un exceso de humedad inhibirá el crecimiento bacteriano al reducir la concentración de oxígeno en el suelo y una poca o nula humedad priva el intercambio de gases y da como resultado zonas anaeróbicas. Por lo anterior, la humedad del suelo puede limitar de forma severa la biodegradación (Torres & Zuluaga, 2009).

**7.4.7.4 Nutrientes.** Son uno de los factores más relevantes por ser sustancias químicas necesarias para la actividad microbiana y metabólica de los microorganismos, por lo que estos constituyentes se deben encontrar disponibles para su asimilación y síntesis, las disponibilidades de estos aumentan la eficiencia y el buen desarrollo de la biorremediación (Gómez Romero, y otros, 2008).

Los nutrientes se dividen en dos grandes grupos: macronutrientes y micronutrientes. Los macronutrientes de mayor importancia metabólica se encuentran; el carbono © en este caso los hidrocarburos como contaminantes proporcionan la energía necesaria para la fabricación de compuestos celulares

y productos metabólicos (dióxido de carbono, agua, enzimas); el Nitrógeno (N), forma parte principal de las biomoléculas de las células, es un elemento necesario para la producción de aminoácidos, proteínas, enzimas, ácidos nucleicos y otros constituyentes celulares. En ocasiones la utilización de estos nutrientes es rápida, los suelos no alcanzan a cubrir todas las necesidades, siendo un factor limitante para la degradación, por lo cual se puede incorporar fertilizantes de uso agrícola como urea o sulfato de amonio y de origen orgánico como estiércol, para acelerar el proceso de biorremediación (Gómez Romero, y otros, 2008).

El fósforo (P) que 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, puede ser adicionado al suelo como fosfato diamónico o fosfato tricálcico. El Potasio (K) requerido por una gran cantidad de enzimas para catalizar diferentes reacciones. Por lo general suele haber en el suelo una concentración de macronutrientes suficiente, sin embargo, si estos no se encuentran en el rango normal se pueden adicionar al suelo (Vallejo, Salgado, & Roldan , 2005)

Si la concentración de nutrientes inorgánicos como N y P es baja, se produce una relación C/N y C/P muy altas, lo que no es favorable el crecimiento microbiano, la relación C:N:P debe estar dentro de un rango normal de 100:10:2 a 100:2:0,4, que beneficia los procesos de metabolismo microbiano en el suelo y contribuyen al proceso de degradación del contaminante. La fuente de micronutrientes, oligoelementos o elementos minoritarios constituye un conjunto variado de elementos entre los que se encuentra el hierro (Fe), cobre (Cu), zinc (Zn), azufre (S), cobalto (Co), manganeso (Mn), magnesio (Mg) y calcio (Ca), normalmente no se incorporan en el proceso de biorremediación, puesto que el suelo provee estos elementos en cantidades suficientes (Gómez Romero, y otros, 2008).

Una característica común en suelos contaminados con hidrocarburos, es que presente altas concentraciones de carbono, sin las cantidades suficientes de nitrógeno y fósforo en el suelo, se pueden limitar los procesos de crecimiento y la actividad metabólica de los microorganismos degradadores, disminuyendo las tasas de biodegradación. La adición de fuentes de N y P inorgánicas, suplen las necesidades fisiológicas de los microorganismos, dando como resultado el incrementando de las poblaciones microbianas y las tasas de biodegradación de hidrocarburos en suelos contaminados (Vallejo, Salgado, & Roldan , 2005).

**7.4.7.5 Aceptor de electrones.** Estos aumentan la actividad de las poblaciones microbiana nativas o inoculadas (Hamdi, Benzarti, Manusadzianas, Aoyama, & Naceur, 2007). En la biorremediación es fundamental el proceso metabólico de

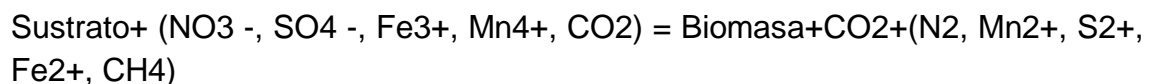
transferencia de electrones. La energía necesaria para el crecimiento microbiano se obtiene durante el proceso de oxidación de materiales reducidos, donde las enzimas microbianas catalizan la transferencia de los electrones. Los aceptores más utilizados por los microorganismos, son el oxígeno y los nitratos. Cuando el oxígeno es utilizado como aceptor de electrones la respiración microbiana se produce en condiciones aerobias, los microorganismos convierten en última instancia los contaminantes en dióxido de carbono, agua y masa celular, por enzimas oxigenasas. Sin embargo, sí utiliza los sulfatos o el dióxido de carbono, se produce en condiciones reductoras o anaerobias (Gómez Romero, y otros, 2008)

El proceso de biorremediación aerobia y anaerobia puede esquematizarse de la siguiente manera:

Degradación aerobia:



Degradación anaerobia:



El oxígeno generalmente es el mejor aceptor de electrones, es decir, el que produce la mayor energía libre en una reacción completa. En consecuencia, para un mismo sustrato orgánico, los microorganismos que emplean el oxígeno como agente oxidante pueden generar mayor energía que aquellos que emplean nitratos, sulfatos u otros aceptores de electrones alternativos, logrando de esta forma crecer a mayor velocidad, lo que implica un mayor consumo del sustrato. Por lo tanto, la biorremediación aerobia es típicamente más eficiente que la biorremediación en forma anaerobia (Gómez Romero, y otros, 2008).

**7.4.7.6 Microorganismos.** La biodegradación de hidrocarburos en diferentes ecosistemas (suelo y agua) requiere de la presencia de microorganismos (bacterias, hongos, algas) que, a través de la actividad bioquímica, oxiden los hidrocarburos. Algunas especies de microorganismos pueden metabolizar un número limitado de hidrocarburos, de manera que la presencia de poblaciones mixtas con diferentes capacidades metabólicas, es necesaria para degradar mezclas complejas de hidrocarburos como el crudo. La degradación de hidrocarburos se lleva a cabo principalmente por bacterias, seguidas por los hongos, levaduras y algas, entre otros (Ríos, 2005)

Los reportes del porcentaje de bacterias y hongos presentes en suelos, varían de forma importante de entre 0.13% y 50% para bacterias, y de 6% a 82% para

hongos, con respecto a la comunidad heterótrofa total del suelo. La proporción de hongos y bacterias dependerá de las condiciones del sitio. El número de microorganismos heterótrofos totales en suelo, considerado como típica se encuentra en una cuenta total de  $10^7$  a  $10^9$  UFC/g de suelo; para degradadoras potenciales en suelos no contaminados entre  $10^5$  y  $10^6$  UFC/g; y entre  $10^6$  y  $10^8$  UFC/g en suelos contaminados (Ríos, 2005).

En ecosistemas en donde las poblaciones microbiológicas degradadoras no son significativas, se han utilizado la Bioaumentación con el propósito de incrementar la tasa de biodegradación de los contaminantes. Se prefiere la Bioaumentación empleando microorganismos nativos, ya que otros microorganismos pueden presentar problemas de adaptación. Recientemente se ha considerado el uso de microorganismos genéticamente manipulados para la biorremediación de sitios contaminados (Ríos, 2005).

Los derrames incontrolados de combustibles causan deterioro de la calidad del ambiente, especialmente en lo relacionado a impactos negativos a las propiedades del suelo y agua, como resultado de afectaciones a la estabilidad química intrínseca y a la pérdida de capacidad de degradación de los diferentes microorganismos presentes en estos medios así como también pueden causar variaciones en la diversidad microbial (Serrano, Torrado, & Pérez, 2013)

Ante la presencia de aceite, por ejemplo, un suelo arenoso saturado por este tipo de derrame tiende a perder fricción (Evgin & Das , 1992) y parámetros como la permeabilidad y la compactación sufren variaciones cuyos comportamientos están asociados a la saturación del aceite en el medio (Alsanad & Ismail, 1997).

En cuanto a la compresibilidad y la capacidad de deformación del suelo, (Aiban, 1998) encontró que estos parámetros variaban cuando la temperatura a la cual se sometía el suelo, era superior a la temperatura ambiente y que los parámetros de resistencia al corte no eran sensibles a la temperatura de ensayo, cuando las muestras estaban compactadas a su máxima densidad seca. Además, (Shin & Das, 2001) encontraron que suelos arenosos con concentraciones de aceites superiores hasta del 6% pueden reducir drásticamente la capacidad de carga de los suelos.

Estudios similares sobre las variaciones mecánicas en los suelos han sido adelantados en suelos finos. Es así como, las arcillas y los limos, ante la presencia de aceite sufren un aumento en la capacidad de compresión por la presencia del fluido en los intersticios del suelo, haciéndose necesario incluso el uso de factores de corrección para tomar en cuenta el cambio en el índice de compresión (Meegoda & Ratnaweera, , 1994). Se destaca, que las alteraciones



en el comportamiento mecánico están condicionadas al tipo de suelo y a las concentraciones de las distintas sustancias.

**7.4.8 Experiencias de investigación en biorremediación en Colombia.** Se han realizado en forma experimental por centros académicos y de investigación, buscando crear o importar nuevas tecnologías para la remediación de lugares contaminados por lodos, a continuación, algunas experiencias:

(Muskus Morales, Santoyo Muñoz, & Plata Quintero, 2013), estudiaron la evaluación de las técnicas de atenuación natural, bioventing, bioaumentación y bioaumentación- bioventing, para la biodegradación de diésel en un suelo arenoso, en experimentos en columna, con el fin de dar solución a una problemática que se presenta en las zonas de manejo de hidrocarburos, donde se evidencian suelos arenosos contaminados con diésel hasta concentraciones del 6% y a una profundidad máxima de 80 cm. Para el desarrollo metodológico se contaminó un suelo artificialmente con diésel para evaluar las técnicas de Bioventing, Atenuación Natural, Bioaumentación y Bioventing-Bioaumentación, utilizando montajes en columnas. Se definieron los parámetros de diseño y seguimiento como dimensiones de las columnas, caudal de entrada, concentración de diésel, oxígeno disuelto y crecimiento bacteriano; para la bioaumentación se inoculó el suelo con un consorcio bacteriano producido por el Instituto Colombiano de Petróleos.

Se realizaron los montajes experimentales por triplicado y se controló el proceso durante cuatro meses. Los resultados obtenidos mostraron que en la técnica de Bioventing se obtuvieron porcentajes de remoción de diésel hasta del 97%. Con la técnica de Bioventing-Bioaumentación se alcanzaron porcentajes de remoción hasta del 75% y con las técnicas de Atenuación Natural y Bioaumentación, los porcentajes de remoción no superaron el 48%. El estudio mostró que el consorcio bacteriano utilizado y evaluado mediante las técnicas de Bioaumentación y Bioventing-Bioaumentación, no potencializó la eficiencia de los procesos de biorremediación del suelo arenoso contaminado con diésel.

(Arrieta Ramirez, y otros, 2012), estudiaron la biorremediación de un suelo con diésel mediante el uso de microorganismos autóctonos de un suelo extraído de los predios de la Universidad Nacional de Colombia, en el cual se hizo un estudio en donde se aisló y caracterizó bioquímica y molecularmente un consorcio bacteriano capaz de degradar los diferentes hidrocarburos presentes en un combustible diésel, conformado por los siguientes géneros: *Enterobacter* sp, *Bacillus* sp, *Staphylococcus aureus*, *Sanguibactersoli*, *Arthrobacter* sp y *Flavobacterium* sp, a partir de un suelo contaminado con diésel a escala de laboratorio, y tratado mediante 2 tecnologías de biorremediación: atenuación natural y bioestimulación. Se definió como parámetro de control la concentración

de Hidrocarburos Totales del petróleo (HTP) y para el cual, se obtuvo una reducción en la concentración en un periodo de 4 meses de 36,86% para atenuación natural y 50,99% para bioestimulación. La medición de la eficiencia de remoción de hidrocarburos se cuantificó por cromatografía de gases acoplada a masas.

Según (Ñustez Cuartas, 2012), el cual estudio biorremediación para la degradación de hidrocarburos totales presentes en los sedimentos de una estación de servicio de combustible ubicada en Dosquebradas Risaralda Colombia, estos sedimentos son producto del mantenimiento de las unidades de tratamiento de aguas residuales industriales, como son: la trampa de grasa, canales perimetrales de la zona de distribución y/o venta del combustible, canales perimetrales de la zona de llenado de tanques de almacenamiento de combustible y desarenador del lavado de vehículos en la Estación de Servicio.

Para el desarrollo de esta investigación, en la técnica de bioaumentación se adicionaron a los sedimentos de la Estación de Servicio, microorganismos adaptados a hidrocarburos, los cuales fueron incorporados con un suelo que fue contaminado anteriormente por un derrame de combustible, para la técnica de bioestimulación, a los sedimentos contaminados, se les adicionó un nutriente (Urea), se les agregaba agua y se realizaba un volteo manual, beneficiando el desarrollo y crecimiento de los microorganismos degradadores.

Para esta investigación se utilizaron ocho (8) mesocosmos, compuestos por canastas de polietileno de alta densidad (57x37x15 cm), estos estaban conformados, primero, solo los sedimentos contaminados de la Estación de Servicio, segundo se tomaron sedimentos contaminados y se les adicionó urea como nutriente, tercero se tomaron 40% de suelos con microorganismos adaptados, más 60% de sedimentos contaminados y cuarto se tomó nuevamente 40% de suelos con microorganismos adaptados, más 60% de sedimentos contaminados y se le adicionó urea como nutriente, a cada mesocosmo se les realizó una réplica.

Para su seguimiento y control, se realizaron mediciones a lo largo de los experimentos, de temperatura, pH, y porcentaje de humedad una vez por semana, hidrocarburos totales de petróleo dos veces al mes, porcentaje de nitrógeno, porcentaje de materia orgánica, Fósforo, Potasio y microorganismos degradadores de hidrocarburos, una vez al mes. La duración total fue de veintitrés (23) semanas.

Los mesocosmos presentaron tasas de degradación entre el 87,32 mg de Hidrocarburos totales de petróleo (HTP)/kg de suelo seco y 105,41 mg de HTP/kg de suelo seco, con porcentajes de reducción de contenido de

hidrocarburo entre 79,7% y 95,1%. Las dos estrategias de biorremediación, la bioestimulación y bioaumentación, no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

**7.4.9 Importancia de los abonos orgánicos.** Según (Libreros S. , 2014), afirma que los abonos orgánicos es el material resultante de la descomposición natural de la materia orgánica por acción de los microorganismos presentes en el medio, los cuales digieren los materiales, transformándolos en otros benéficos que aportan nutrimentos al suelo y, por tanto a las plantas que crecen en él. Es un proceso controlado y acelerado de descomposición de los residuos, que puede ser aeróbico o anaerobio, dando lugar a un producto estable de alto valor como mejorador del suelo.

Los abonos orgánicos tienen altos contenidos de nitrógeno mineral y cantidades significativas de otros elementos nutritivos para las plantas (Cegarra, y otros, 2014). Dependiendo del nivel aplicado, originan un aumento en los contenidos de materia orgánica del suelo, en la capacidad de retención de humedad y en el pH, también aumentan el potasio disponible, y el calcio y el magnesio (Courtney & Mullen, 2014)

En cuanto a las propiedades físicas, mejoran la infiltración de agua, la estructura del suelo y la conductividad hidráulica; disminuyen la densidad aparente y la tasa de evaporación, así como promueven un mejor estado fitosanitario de las plantas (Andrea, 2014).

**7.4.10 Pantotenato.** Según (FENALCE, 2013) actualmente se trabaja con un caldo en base a levadura de cerveza o panificación para la obtención de pantotenato de calcio (vitamina B5), nucleótidos, componentes estructurales de pared celular, para promover una estimulación fisiológica que mejora los procesos de equilibrio hormonal y de defensa a factores adversos, incluidos los patógenos. La adición de carbón vegetal molido influye positivamente en la actividad fotosintetizante, como en el equilibrio de cargas electromagnéticas. Se recomiendan aplicaciones periódicas durante el cultivo, haciendo aspersiones a la planta y remojes en la base. La preparación se hace de la siguiente manera.

**A. Crecimiento de levaduras:** En una caneca o tarro plástico de 20 litros de capacidad se colocan ortiga o alfalfa picada, melaza dispersa en agua, de leche cruda, de urea y levadura, agregando aguas hasta las tres cuartas partes para revolver y cerrar herméticamente, accionando el sistema de salida y recepción de burbujas en una botella de aguas conectada a la caneca por medio de una manguera la cual es colocada dentro de la caneca pero sin que toque la superficie del líquido para que no se impida la salida de los gases.

**B. Adición de cal y estiércol de ganado:** Un mes después, una vez que disminuye significativamente la emisión de burbujas, se destapa el tanque para agregar cal dolomita y estiércol fresco de ganado, para revolver y cerrar de manera hermética. Ocurre nuevamente producción de burbujas, lo que se detecta en la botella con agua.

**C. Enriquecimiento y adición de carbón:** Al reducirse la emisión de burbujas, se destapará el tanque para agregar de NPK y de agrimins para añadir elementos menores, agregando aguas hasta cerca del borde, revolviendo sin cerrar para favorecer reacciones de ionización y oxidación.

Por último, según el procedimiento es para la elaboración de 20 litros de pantotenato, la cantidad de cada material se duplico para la elaboración de 40 litros de este líquido.

**7.4.11 Lombricompost.** Según Mosquera (2016), el lombricompost puede llegar a tener un potencial descontaminante de toxinas (metales pesados e hidrocarburos) de algún tipo de suelo, para este proceso se es necesario la aplicación de materia orgánica que al mezclarse con las toxinas será más fácil la ingesta de estas, dentro de cada lombriz se realizan los procesos metabólicos que a su vez se van bioacumulando de manera cutánea en cada lombriz, y por otra parte los hidrocarburos son transformados en agua y dióxido de carbono.

**7.4.12 Abono orgánico tipo bocashi.** El abono orgánico fermentado tipo Bocashi es un producto sólido, la elaboración de los abonos orgánicos fermentados se puede entender como un proceso de semi-descomposición aeróbica (con presencia de oxígeno) de residuos orgánicos por medio de poblaciones de microorganismos, quimioorganotróficos, que existen en los propios residuos, con condiciones controladas, y que producen un material parcialmente estable de lenta descomposición en condiciones favorables y que son capaces de fertilizar a las plantas y al mismo tiempo nutrir la tierra (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2017).

## 8. METODOLOGÍA

### 8.1 LOCALIZACIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO

El procedimiento es de carácter ex situ, por tal razón se extrajo el material de sedimentos de la trampa de grasa de la estación de servicio de combustible de San Francisco y se procedió a transportarlos a una casa de habitación ubicada en el barrio Pablo VI frente a la estación, con las siguientes coordenadas, para la estación de servicio es N 01° 10' 20.8" W 76° 52' 34,3" y la casa de habitación donde se realizará el proceso está en la coordenada N 01° 10' 20.2" W 76° 52' 32.9".

### 8.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN

La investigación evaluó el desarrollo de la técnica de bioaumentación para el proceso de biorremediación de sedimentos provenientes de la estación de servicio de San Francisco, aplicando tratamientos a base de abonos orgánicos sólidos (lombricompost y bocashi) y líquido (pantotenato), se realizó con un tipo de investigación experimental, que permitió evidenciar el potencial de descontaminación de la técnica a aplicar.

### 8.3 DISEÑO METODOLÓGICO

Para el desarrollo de la metodología se tuvo en cuenta la siguiente información.

**Factor o variable:** Biorremediación.

**Tratamientos a aplicar:**

T1: Se adiciono agua y se volteó manualmente (oxigeno) como control biótico.

T2: Aplicación de abono orgánico sólido tipo humus de lombriz + Pantotenato como abono orgánico líquido.

T3: Aplicación de abono orgánico sólido tipo Bocashi + Pantotenato como abono orgánico líquido.

Los tratamientos se manejaron de la siguiente manera:

T1: Sedimento contaminado: 100% (25 Kg) de sedimentos contaminados provenientes de la estación de servicio.

T2: 60% (15 Kg) sedimentos contaminados con hidrocarburos de la estación de servicio, 40% (10 Kg) de abono orgánico sólido tipo humus de lombriz + (2L pantotenato + 4L de agua).

T3: 60% (15 Kg) sedimentos contaminados con hidrocarburos de la estación de servicio, 40% (10 Kg) de abono orgánico sólido tipo Bocashi + (2L pantotenato + 4L de agua).

**Variabes de respuesta:** Hidrocarburos totales (TPH), según análisis de laboratorio, se espera que después del tiempo de biorremediación se haya disminuido el contenido de TPH, para lo cual se tomaron muestras al inicio y al finalizar el proceso, las cuales fueron enviadas al laboratorio para determinar la eficiencia de los tratamientos evaluados.

**Variabes de control:** Humedad (%), temperatura (°C), pH (Unidades), densidad aparente (g/cm<sup>3</sup>), densidad real (g/cm<sup>3</sup>), porosidad (%) y color.


### Diseño Estadístico

El diseño estadístico de la presente investigación fue un diseño irrestrictamente al azar (DIA) (Figura 3), con tres tratamientos y tres repeticiones, para un total de 9 unidades experimentales, entre los niveles de la investigación la respuesta más importante que se analizó son los hidrocarburos totales.

**Figura 3.** Diseño de las unidades experimentales

	REPETICIÓN 1 R1	REPETICIÓN 2 R2	REPETICIÓN 3 R3
TRATAMIENTO 1 T1	1. T1R1	2. T3R1	3. T2R1
TRATAMIENTO 2 T2	4. T2R2	5. T1R2	6. T3R2
TRATAMIENTO 3 T3	7. T3R3	8. T2R3	9. T1R3

	<b>INVESTIGADORES:</b> ADRIANA GUERRA ACOSTA JUDY JOHANA AREVALO LOPEZ YEISON ANDRES ORTIZ GOMEZ LUIS CARLOS RODRIGUEZ M.	TRABAJO DE GRADO, MODALIDAD SEMILLERO DE INVESTIGACIÓN T1: 100% Sedimento contaminado T2: 60% sedimentos contaminados con hidrocarburos, 40% humus de lombriz + Pantotenato T3: 60% sedimentos contaminados con hidrocarburos, 40% de abono Bocashi + Pantotenato.	<b>UNIDAD EXPERIMENTAL</b> 1. T1R1
---	---	---	---------------------------------------

## Análisis de la información

Para la discusión de los resultados de campo, inicialmente se tomó cada una de las variables evaluadas de respuesta y control, se realizó un análisis con promedios y un análisis de varianza (Andeva) para determinar si existen diferencias estadísticas significativas entre los tres tratamientos evaluados y pruebas de significancia de Tukey donde ( $P < 0.05$ ).

## Montaje de las unidades experimentales.

Para el montaje de las unidades experimentales que son los sitios donde se ubicaron los diferentes tratamientos de la investigación, se requirieron los siguientes materiales (Figura 4).

- Sedimentos contaminados de la estación de servicio.
- Abono orgánico sólido humus de lombriz y bocashi y líquido Pantotenato.
- 9 recipientes de polietileno de alta densidad, este material es escogido por su baja permeabilidad y mínima absorción de hidrocarburos (Vallejo, Salgado, & Roldan, 2012)
- Palas de jardinería para mezclar los sedimentos.

**Figura 4.** Sedimentos contaminados y recipientes de polietileno



Para el montaje de las unidades experimentales se realizaron los siguientes pasos, esto referenciando a (Ñustez Cuartas, 2012), en su tesis "*Biorremediación para la degradación de hidrocarburos totales presentes en los sedimentos de una estación de servicio de combustible*", la cual plantea:

1. Se recolecto los sedimentos de las trampas de grasa.

**Figura 5.** Extracción de los sedimentos de la trampa de grasa.



2. Se depositaron los sedimentos en un lecho de secado, para bajar los niveles de humedad, esto durante un plazo de una semana.

**Figura 6.** Sedimentos contaminados en el lecho de secado.



Al transcurrir este tiempo, se recolectaron muestras mediante las recomendaciones de la norma (ICONTEC 3656, 1994) y mediante análisis de laboratorio tomar datos de hidrocarburos totales (TPH); las características físicas Humedad (%), temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), pH (Unidades), densidad real ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ), densidad aparente ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ), porosidad (%) y color, según la tabla No. 1 de seguimiento de variable.

**Tabla No. 1** Seguimiento de variables



VARIABLE	MÉTODO	FRECUENCIA	LABORATORIO
Temperatura (°C)	Termómetro	Tres veces por semana por triplicado en cada unidad experimental	Laboratorio del Instituto Tecnológico del Putumayo
Humedad	Método gravimétrico	Una vez por semana	Laboratorio del Instituto Tecnológico del Putumayo sede Sibundoy.
TPH (hidrocarburos totales)	Extracción por soxhlet-método gravimétrico	Al inicio y final del tratamiento	ECOANALISIS Y ANALQUIM Ltda.
pH (Unidades)	Potenciométrico	Al inicio y final del tratamiento	Laboratorio del Instituto Tecnológico del Putumayo
Densidad aparente (g/cm <sup>3</sup> )	Con probeta graduada	Una vez por semana	Laboratorio del Instituto Tecnológico del Putumayo
Densidad Real (g/cm <sup>3</sup> )	picnómetro	Una vez por semana	Laboratorio del Instituto Tecnológico del Putumayo
Porosidad (%)	Por fórmula	Una vez por semana	Laboratorio del Instituto Tecnológico del Putumayo
Color	Tabla Munsell	Una vez por cada dos semanas	Laboratorio del Instituto Tecnológico del Putumayo

3. A las unidades experimentales se les adiciono agua, una vez por semana, con el fin de mantener la humedad necesaria para el proceso de degradación que llevan a cabo los microorganismos, ya que estos, pueden acceder más fácilmente al contaminante en estado acuoso, para

determinar la humedad se usó el método de capacidad de campo de los suelos, en algunas ocasiones, cuando se trata de suelos contaminados, por ejemplo con hidrocarburos del petróleo, es difícil llevar a cabo esta medición por la dificultad de rehidratar suelos secos con estas características. Por lo que la medición de humedad se realizó sólo en función del porcentaje de agua que retiene este tipo de suelos, esta prueba fue con el fin de tener el dato de humedad que requiere este tipo de suelos.

4. En cada unidad experimental de los tratamientos T2 y T3 se realizó una mezcla que contenga un 60% (15Kg) de sedimento contaminado con hidrocarburos y un 40% (10Kg) de abono orgánico sólido humedecido con abono orgánico líquido (2L pantotenato + 4L de agua). una única vez al inicio del procedimiento, el volumen de esta mezcla llegó hasta un 80% del recipiente de polietileno de alta densidad; por otra parte, el tratamiento T1 solo contendrá sedimentos contaminados.

**Figura 7.** Montaje de unidades experimentales



5. Se realizó volteo manual tres veces por semana para incrementar el contenido de oxígeno y aplicación de agua para un correcto contenido de humedad.
6. Al cabo de dos meses, de seguido este procedimiento, se recolectaron y enviaron muestras al laboratorio para toma de nuevos valores de las variables de respuesta que fue hidrocarburos totales (TPH) (ICONTEC 3656, 1994)

7. Análisis de los valores de hidrocarburos totales y para las variables de control, mediante un análisis de varianza (Andeva) para determinar si existen diferencias estadísticas significativas entre los tres tratamientos evaluados y pruebas de significancia de Tukey donde ( $P < 0.05$ ).

## 9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El presente capítulo se divide en cuatro partes: El primero reúne la información en base a un diagnóstico sobre la producción semanal de sedimentos en la estación de servicio de San Francisco, la segunda presenta una caracterización inicial de los sedimentos, en la tercera se da a conocer el procedimiento que se llevó a cabo para cada una de las variables evaluadas, en la cuarta parte se expone la discusión de las variables de control y de la variable de respuesta evaluadas en función del tiempo en cada uno de los tratamientos, desarrollándose un análisis de varianza ANOVA y una prueba de significancia de Tukey.

### 9.1 DIAGNÓSTICO SOBRE PRODUCCIÓN SEMANAL DE SEDIMENTOS EN LA ESTACIÓN DE SERVICIO SAN FRANCISCO.

En cumplimiento de los objetivos de esta investigación, se propuso establecer un diagnóstico inicial sobre la producción semanal de los sedimentos en húmedo y seco que se acumulan en las cajillas producto de las trampas de grasa.

En desarrollo de esta actividad se procedió a extraer los sedimentos durante 7 semanas y pensarlos en húmedo para así hacer una estimación semanal y mensual de la posible producción de estos.

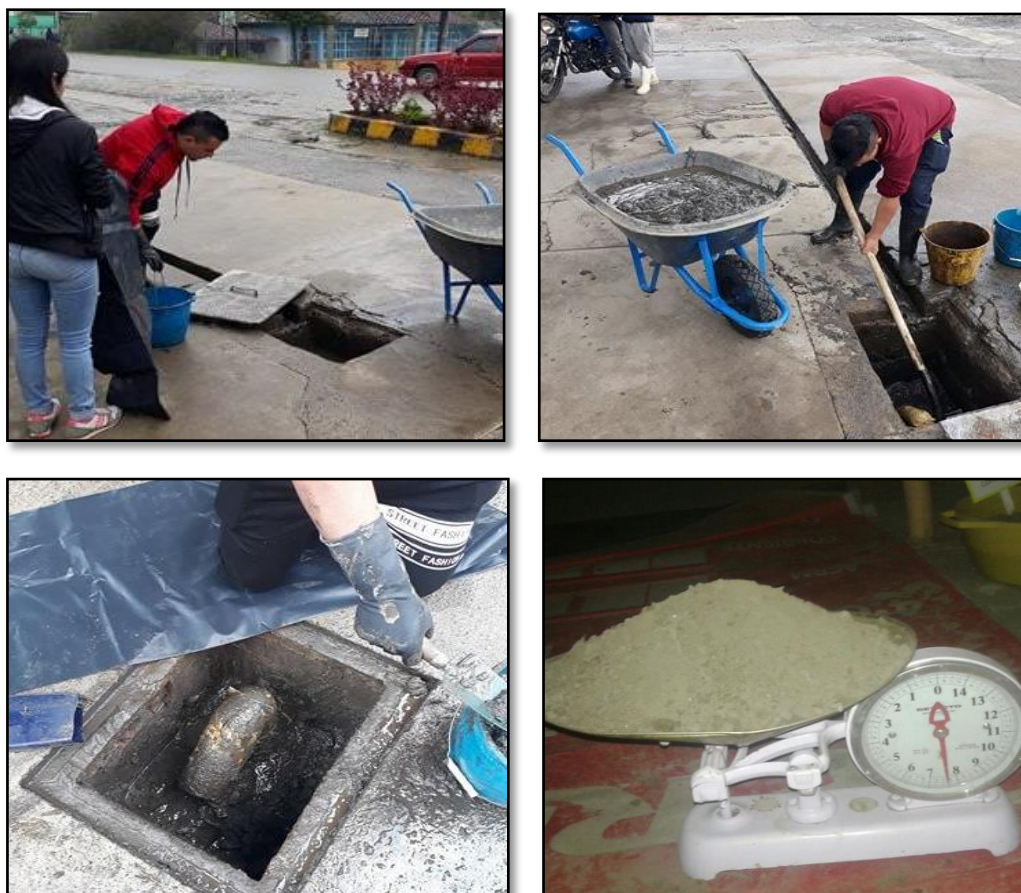
Como resultado se obtuvo que la producción promedio semanal corresponde a 9,5 Kg en húmedo y 5,795 Kg en seco según los siguientes datos recolectados en campo.

**Tabla No. 2** Peso de los sedimentos en húmedo

SEMANA	PESO DE LOS SEDIMENTOS EN HUMEDO (39% humedad) (Kg)	PESO DE LOS SEDIMENTOS EN SECO (0% humedad) (Kg)
1	8,5	5,185
2	9	5,49
3	10,5	6,4
4	11,3	6,9
5	8,4	5,12
6	8,1	4,9

7	10,5	6,4
TOTAL	66,3	40,443
PROMEDIO	9,5	5,795

**Figura 8.** Extracción y peso de los sedimentos semanalmente.



## 9.2 CARACTERIZACIÓN INICIAL DE LOS SEDIMENTOS

Como punto de partida de esta investigación se determinó los valores iniciales de las variables de control y de la variable de respuesta (tabla No.2), según el laboratorio certificado por el Idean los sedimentos extraídos dieron una concentración inicial de 0,39% p/p, es decir que por cada Kilogramo de sedimento extraído se tenía 3,9 gramos correspondientes a hidrocarburos totales y 6,74 unidades para pH.

**Tabla No. 3.** Valores iniciales para las variables de control y de respuesta.

Variable o parámetro	Unidad de medida o de concentración	Valor
----------------------	-------------------------------------	-------

Temperatura	°C	20,5
Humedad	Porcentaje %	39%
Densidad aparente	g/cm <sup>3</sup>	2,6
Densidad real	g/cm <sup>3</sup>	2,7
Porosidad	%	5,0
pH	Unidades	6,74
Hidrocarburos totales	Porcentaje % p/p	0,39

De acuerdo con estos parámetros los sedimentos de cada unidad experimental, presentan las siguientes características, la temperatura se encuentra dentro del rango óptimo 18 y 30°C, que permite la actividad enzimática y el intercambio celular (Gómez Romero, y otros, 2008), el pH con un valor de 6,74, se encuentra entre los valores de rango óptimos entre 6,0 y 8,0 unidades, este intervalo es adecuado para el crecimiento de bacterias (Ríos, 2005), la humedad con un 39% está en el rango aconsejable que va del 20% - 75% de humedad, que es importante porque actúa como medio de transporte de nutrientes y oxígeno a la célula (Gómez, y otros, 2008).

### **9.3 PROCEDIMIENTO PARA CADA VARIABLE.**

#### **9.3.1 Hidrocarburos totales (TPH).**

Para obtener los resultados de hidrocarburos totales se enviaron muestras de los sedimentos al inicio y al final del procedimiento obtenidos en las trampas de grasa de la estación de servicio de combustible y de las nueve unidades experimentales al concluir el tratamiento, las cuales fueron puestas en fundas ziploc herméticas para evitar alteraciones y etiquetadas con el nombre del proyecto, unidad de muestreo, fecha y hora de la toma de muestras, número de la muestra, parámetro a analizar y lo que contiene; las muestras iniciales y finales fueron enviadas respectivamente mediante transporte terrestre hacia la ciudad de Bogotá en donde se encuentran los laboratorios ECOÁNALISIS LTDA. Y ANALQUIM LTDA.



**Figura 8.** Toma y envío de muestras para análisis de laboratorio.



### 9.3.2 Determinación de temperatura.

#### Materiales y Equipos.

- Termómetro

#### Procedimiento.

Se toma la temperatura a las 9 unidades experimentales 3 veces por semana y se hace por triplicado en cada unidad experimental.

**Figura 9.** Determinación de temperatura.



### 9.3.3 Determinación de contenido de agua en el suelo (porcentaje de humedad higroscópica).

#### **Materiales y equipos.**

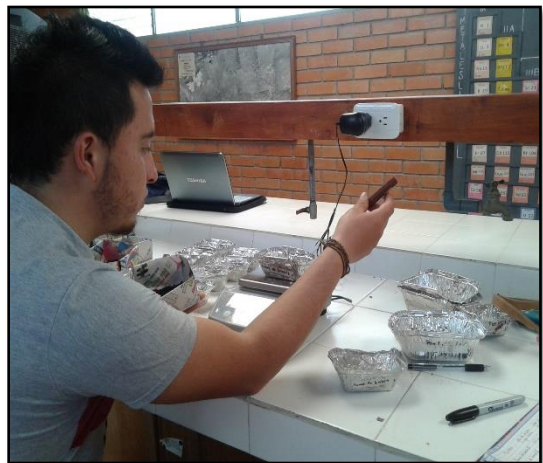
- Horno
- Balanza electrónica
- Tara o Capsulas
- de las unidades experimentales a humedad higroscópica.
- Espátula
- Muestras

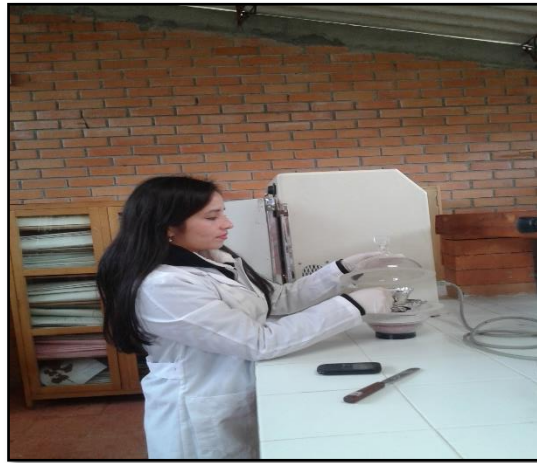
#### **Procedimiento.**

- Extraer las muestras de las unidades experimentales y dejarlas en laboratorio hasta que la humedad se estabilice con la humedad del aire (humedad higroscópica).
- Pesar la capsula vacía.
- Pesar la muestra más la capsula que lo contenga.
- Colocar la muestra en el horno a una temperatura de 105°C durante 24 horas
- Sacar las muestras del horno y dejarlas enfriar en un desecador.
- Pesar la muestra seca más la capsula.

**Figura 10.** Determinación de humedad.







### Cálculos.

La humedad gravimétrica se obtiene calculando de la siguiente formula:

$$\%H = \frac{m_{sh+a} - m_{ss+a}}{m_{ss+a} - m_a}$$

Donde.

$m_{sh+a}$  = Peso del sedimento húmedo + capsula.

$m_{ss+a}$  = Peso del sedimento seco a 105°C + capsula.

$m_a$  = Peso de la capsula.

### 9.3.4 Determinación de densidad aparente.

#### Materiales y equipos.

- Probeta graduada de 10 ml.

- Balanza eléctrica.
- Estufa con control de temperatura.
- Cápsulas de aluminio.
- Plancha de calefacción.
- Tamiz N° 10

**Procedimiento.**

- En una capsula de aluminio pesar aproximadamente 10 g sedimento seco al aire.
- Meter las capsulas destapadas en la estufa y dejar durante 24 horas a una temperatura de 105°C.
- Sacar las capsulas de la estufa, tapar y dejar enfriar.
- Pesar una probeta de 10ml y tamizar las muestras con tamiz N°10 (2ml).
- Con suelo seco a la estufa, llenar la probeta poco a poco hasta una quinta parte de su volumen. Compactar el suelo de la probeta con golpes de mano.
- Pesar nuevamente la probeta y anotar el volumen ocupado por el sedimento.

- **Figura 11.** Determinación de densidad aparente.







### Cálculos.

La densidad aparente se obtiene calculando de la siguiente formula:

$$D_b = \frac{P_{vs} - P_v}{P_w}$$

$D_b$ = Densidad aparente ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )

$P_{vs}$ = Peso de la probeta vacía más sedimento.

$P_v$ = Peso de la probeta vacía.

$P_w$ = Volumen ocupado después del golpe.

### 9.3.5 Determinación de la densidad real.

#### Materiales y Equipos.

- Balanza electrónica
- Picnómetros
- Estufa con control de temperatura
- Capsulas para humedad
- Plancha de calefacción

## Procedimiento.

- Se utiliza suficiente cantidad de agua hervida para realizar los laboratorios
- Lavar, secar y pesar los picnómetros llenos de aire ( $W_a$ )
- Lavar el picnómetro se lo llena de agua hervida hasta el capilar de la tapa se limpia y se seca la superficie externa y se pesa ( $W_w$ ).
- Se Llena el picnómetro hasta 1/3 del volumen con suelo seco (aproximadamente 2g), que haya sido pasado por un tamiz N°10 y luego se pesa ( $W_s$ ).
- Se agrega agua hasta la mitad del picnómetro.
- Se calienta el picnómetro sin tapa y se lleva a ebullición por tres minutos, luego se deja enfriar por dos horas.
- Luego de pasar el tiempo de reposo se agrega agua hervida llenando el picnómetro incluyendo el capilar de la tapa, se limpia y se seca la superficie externa y se pesa en la balanza eléctrica. ( $W_{sw}$ )

- **Figura 12.** Determinación de densidad real.





### Cálculos.

La densidad real se obtiene calculando de la siguiente manera:

$$Dr = \frac{Dw (Ws - Wa)}{Ww + Ws - Wa - Wsw}$$

**Dr:** Densidad real (g/cm<sup>3</sup>).

**Dw:** Densidad del agua

**Ws** Picnómetro vacío + 2g de suelo

**Wa:** Picnómetro vacío

**Ww:** Picnómetro lleno con agua hervida

**Wsw:** Picnómetro + agua + sedimentos después de hervir

### 9.3.6 Determinación de porosidad.

Esta característica se determina con base a la densidad real y aparente.



**Figura 13.** Determinación de porosidad.



### **Cálculos.**

La porosidad se obtiene calculando de la siguiente manera:

$$P(\%) = 100\left(1 - \frac{D_a}{D_r}\right)$$

Donde:

P(%)= Porosidad total.

Da= Densidad aparente.

Dr= Densidad real.

### **9.3.7 Determinación de color.**

#### **Materiales y Equipos.**

- Tabla Munsell

#### **Procedimiento.**

- Se recolectan muestras de cada una de las unidades experimentales.
- Con la tabla Munsell se compara la muestra a la cual sea acorde, donde se determina el matiz y el color del sedimento.

**Figura 14.** Determinación de color.



### 9.3.8 Determinación de pH.

#### Materiales y Equipos.

- Phmetro
- Batidora
- Balanza electrónica
- Tamiz N°2
- Capsulas o tara
- Vaso de precipitación
- Agua destilada
- Espátula

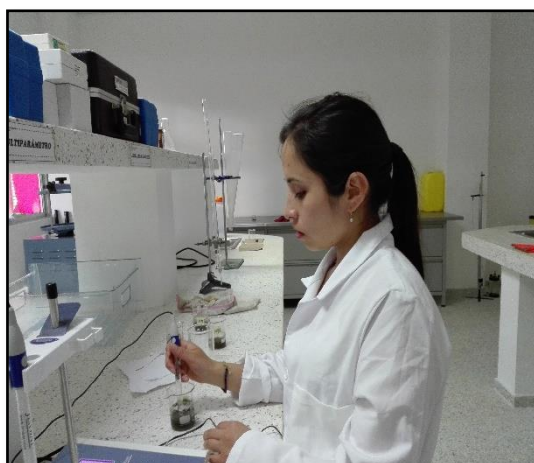
#### Procedimiento.

- Tamizar 20 g de suelo seco al aire
- Agrega 20 cm<sup>3</sup> de agua destilada
- Mezclar con un agitador por 30 seg 3 veces durante una hora
- Determinar el pH potenciómetro

**Figura 15.** Determinación de pH







#### **9.4. ANÁLISIS DE LA VARIABLE DE RESPUESTA Y LAS VARIABLES DE CONTROL.**

A continuación, se presenta los resultados de las variables evaluadas para lo cual se realizó un análisis estadístico de varianza Anova (Tabla 4) y para las variables donde existieron diferencias estadísticas significativas se aplicó una prueba de significancia de Tukey, realizada al inicio y final de cada del proceso investigativo para cada variable.

**Tabla No. 4.** Valor p, para variables de control y variable de respuesta

Valor P		
Variable	Inicial	Final
Temperatura	0,0465*	0,0033*
Humedad	0,0456*	0,0001*
Densidad aparente	0,0769	0,0012*
Densidad real	0,8503	0,729
Porosidad	0,3775	0,0065*
Hidrocarburos totales		0.0004*
pH		0,0002*

P<0,05 existe diferencia estadística significativa

#### 9.4.1 hidrocarburos totales (TPH).

**Tabla No. 5.** Anova para concentración de hidrocarburos totales por tratamiento

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	406904,	2	203452,	37,22	0,0004
Intra grupos	32793,3	6	5465,56		
Total (Corr.)	439698,	8			

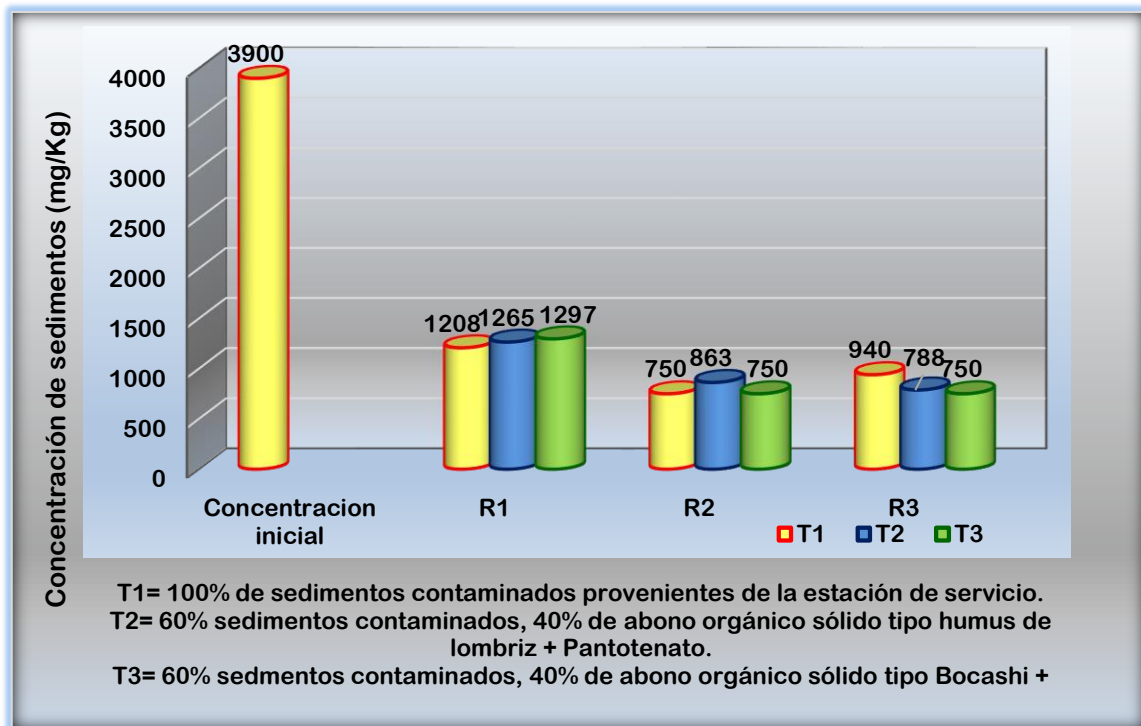
El análisis de varianza se encuentra en la tabla 5, la cual muestra diferencias estadísticas significativas respecto a hidrocarburos totales en los tres tratamientos evaluados (P<0,05).

**Tabla No. 6.** Pruebas de Tukey para concentración de hidrocarburos totales por tratamiento.

Tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
T2	3	787,667	A
T3	3	826,0	A
T1	3	1256,67	B

Según la prueba de Tukey (tabla No. 6), hay diferencia estadística significativa entre T2 y T3 con respecto a T1, pero entre T2 y T3 no hay diferencia estadísticamente significativa debido a que esta prueba lo considera como grupos homogéneos.

**Grafica No. 1.** Concentración de hidrocarburos totales en cada unidad experimental después de acabado el proceso.



La variable de respuesta de esta investigación fueron los hidrocarburos totales, los cuales según el análisis inicial hecho en el laboratorio Ecoanálisis mediante la técnica de extracción Soxhlet estandarizado mediante el código SM 5529f – EPA9071 B, arrojó que los sedimentos tuvieron una concentración de 0,39% p/p, que equivale a 3900 mg/kg, estableciéndose que es una alta concentración. Por otra parte, se tiene que si los resultados son menores de 750 mg/kg los hidrocarburos totales se hacen indetectables.

Transcurrido las ocho semanas del manejo en los diferentes tratamientos los sedimentos finales se enviaron al laboratorio Analquin Ltda, con los siguientes resultados.

El tratamiento 1 que fue el testigo al cual solo se aplicó agua y aireación, obtuvo los resultados más altos, que según la hipótesis alternativa se acepta, debido a que existen diferencias significativas con los otros tratamientos evaluados, en las tres repeticiones de este tratamiento los valores obtenidos fueron 1208, 1265, 1297 mg/kg respectivamente, que en promedio representa 1256.6 mg/kg,

obteniéndose una disminución del contenido de hidrocarburos totales de 2643.4 mg/kg.

El T2 al cual se aplicó un 60% de sedimentos contaminados y un 40% de abono orgánico tipo humus de lombriz, se diferenció en gran medida del testigo ya que el resultado más elevado corresponde a un promedio en las tres repeticiones de 787,6 mg/kg, lo que representa una disminución de 2643,3 mg/kg.

El T3 al cual se aplicó un 60% de sedimentos contaminados y un 40% de abono orgánico tipo bocashi, no presento diferencias estadísticas significativas con relación al T2, pero si respecto a T1, este tratamiento obtuvo un promedio en las tres repeticiones de 826 mg/kg, lo que representa una disminución de 3074 mg/kg.

El comportamiento de esta variable ya en cada tratamiento se debe a la forma experimental en cómo se lo trato según las diferencias observadas en los resultados.

Por otra parte en los tres tratamientos se evidencio disminución de hidrocarburos totales en comparación al análisis inicial, esto debido a factores que los tres tratamientos comparten en común como lo es el manejo de humedad y aireación que influyen directamente en la biorremediación según lo afirma Roldan & Iturbe (2002), ayudado de las variables de control como temperatura que jugó un papel importante ya que el metabolismo de los microorganismos, la actividad enzimática y celular dependen de la temperatura, así mismo esta influye en los cambios estructurales y químicos del petróleo y sus derivados (Ñustez Cuartas, 2012), por lo cual se mantuvo condiciones favorables a los microorganismos añadidos por el abono organico liquido pantotenato al inicio del proceso.

Parte fundamental de este proceso involucro la adición de materia orgánica, la que sirve como alojamiento y alimento de las bacterias (Meléndez & Soto, 2003), donde según Bento *et al*, (2003), los directamente relacionados con la biorremediación de sustancias toxicas son los microorganismos.

El éxito de los tratamientos fue debido a las bacterias que tienen un crecimiento muy rápido y una mayor capacidad de adaptación a los medios contaminados, lo que incrementa la probabilidad de biodegradación del hidrocarburo (Velasco, 2004).

### 9.4.2 Temperatura (°C).

Teniendo en cuenta el análisis de varianza de las tablas 7 y 8, donde se analiza esta variable al iniciar y al finalizar la investigación, indica que se presentaron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ), al observar las pruebas de significancia de Tukey se determinó que al iniciar existen diferencias entre T1 con un promedio de 20,83 °C, con relación a T2 con un valor de 20,27 °C; ya para finalizar el tratamiento se encontró una diferencia estadística significativa entre T1 con valor promedio de 20.90 °C, respecto a T2 y T3 con promedios de 20.10 °C y 20,27 °C respectivamente.

**Tabla No. 7.** Anova y prueba de Tukey para temperaturas iniciales.

Fuente	Suma de Cuadros	GL	Cuadro Medio	Razón - F	Valor - P		
Modelo	0,49	2	0,24	5,34	0,0465		
Tratamiento	0,49	2	0,24	5,34	0,0465		
Error	0,27	6	0,05				
Total	0,76	8					
Tratamiento			Medios	casos	E.E.		
T1			20,83	3	0,12	A	
T3			20,5	3	0,12	A	B
T2			20,27	3	0,12		B

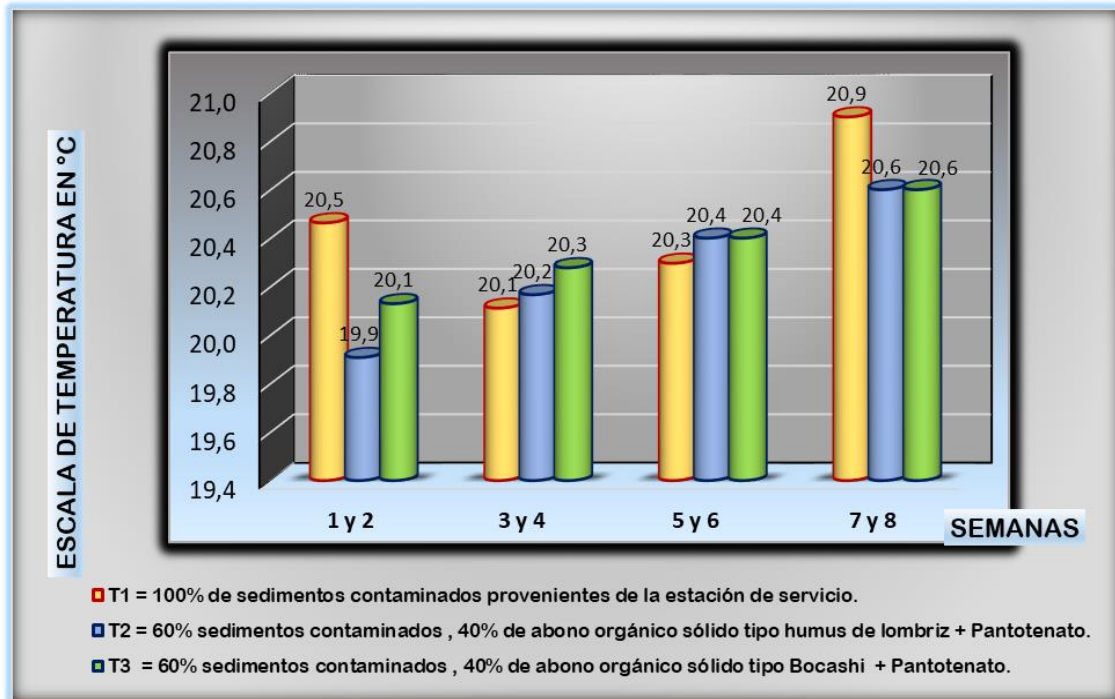
*Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

**Tabla No. 8.** Anova y prueba de Tukay para temperaturas finales.

Fuente	Suma de Cuadros	GL	Cuadro Medio	Razón - F	Valor - P		
Modelo	1,07	2	0,53	17,18	0,0033		
Tratamiento	1,07	2	0,53	17,18	0,033		
Error	0,19	6	0,03				
Total	1,26	8					
Tratamiento			Medios	casos	E.E.		
T1			20,90	3	0,10	A	
T3			20,27	3	0,10		B
T2			20,10	3	0,10		B

*Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

**Gráfica 2.** Promedio de temperaturas cada dos semanas por cada tratamiento



En la gráfica N°2 se observa que la temperatura promedio para el primer tratamiento oscila entre 20,1°C - 20,91°C, presentando los mayores valores en la evaluación de este parámetro., para el segundo y tercero tratamiento fluctúan entre 19,9°C - 20, 6°C y 20,1°C - 20,6°C respectivamente en el transcurso de dos meses, esto es causado por las condiciones climáticas del sitio del experimento donde se llevó a cabo. Aunque la temperatura ambiental podría variar entre 18 y 25 °C dentro del proceso, se detectaron diferencias significativas como se analizó anteriormente en la tabla de Anova y prueba de Tukey.

Los hidrocarburos en el suelo ocasionan cambios tanto en las propiedades físicas como en las propiedades químicas que, dependiendo del tipo y cantidad vertida del hidrocarburo, además de la temperatura, textura del suelo y humedad hacen que los procesos sean más o menos lentos, lo que conlleva a un grado mayor de toxicidad (de Mesa., Quintero, Guevara, Jaimes, & Garcia, 2006).

Al respecto (Gómez, y otros, 2008) afirman que la temperatura influye directamente en el incremento de la volatilidad (separación) y velocidad de degradación de contaminantes (Volke & Velasco, Tecnologías de remediación para suelos contaminados, 2005), valores bajos de temperatura aumentarán la viscosidad del hidrocarburo y por consiguiente aumentaría el tiempo de remediación.

Según Maroto & Rogel (2008), quienes afirman que la temperatura óptima para el aumento del metabolismo de los microorganismos mesófilos varía entre 15 y

45 °C y decrece la remediación en temperaturas superiores a 40 °C y debajo de 0 °C.

Comparando el tratamiento T1 con T2 y T3, el comportamiento de la temperatura se debió a cada tratamiento, ya que estadísticamente el p valor es menor a 0.05, lo que demuestra que hubo una diferencia estadísticamente significativa tanto al inicio como al final del tratamiento.

### 9.4.3 Contenido de agua en el suelo (porcentaje de humedad higroscópica).

Según la tabla 9, las cuales analizan la estadística de esta variable, se observa que al inicio del proceso de cuantificación de humedad higroscópica, existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ), entre T1 con un promedio de 1,23% de humedad higroscópica, en relación a T2 con un promedio de humedad higroscópica de 6,7%.

Al finalizar el proceso se cuantifico nuevamente esta variable (tabla 10), dando como resultado una diferencia estadísticamente significativa entre todos los tratamientos ( $p < 0,05$ ), con unos promedios para T1 de 0,83% de humedad higroscópica, T2 con un promedio de 10,57% de humedad higroscópica y T3 6,77% de humedad higroscópica.

**Tabla No. 9.** Anova y prueba de Tukey para porcentaje de humedad higroscópica al inicio del proceso.

Fuente	Suma de Cuadros	GL	Cuadro Medio	Razón – F	Valor – P
Modelo	47,40	2	23,70	5,40	0,0456
Tratamiento	47,40	2	23,70	5,40	0,0456
Error	26,35	6	4,39		
Total	73,74	8			
Tratamiento	Medios	casos	E.E.		
T2	6,70	3	1,21	A	
T3	5,10	3	1,21	A	B
T1	1,23	3	1,21		B

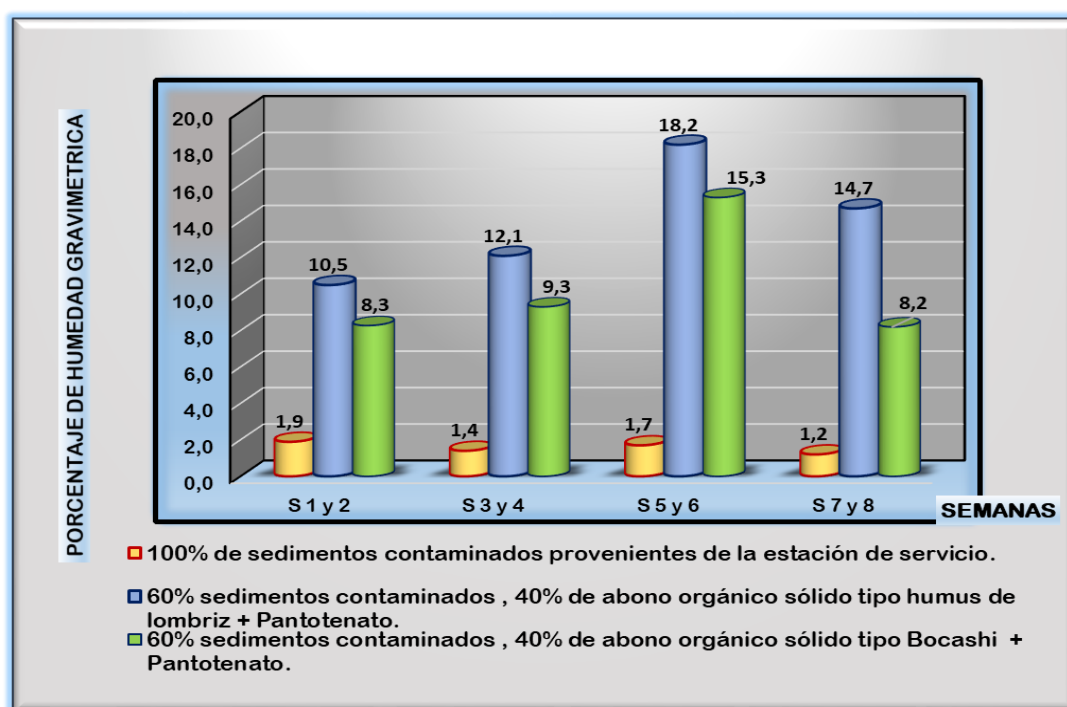
*Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

**Tabla No. 10.** Anova y prueba de Tukey para porcentaje de humedad higroscópica al finalizar el proceso.

Fuente	Suma de Cuadros	GL	Cuadro Medio	Razón - F	Valor - P	
Modelo	144,38	2	72,19	70,78	0,0001	
Tratamiento	144,38	2	72,19	70,78	0,0001	
Error	6,12	6	1,02			
Total	0,83	8				
Tratamiento	Medios	casos	E.E.			
T2	10,57	3	0,58	A		
T3	6,77	3	0,58		B	
T1	0,83	3	0,58			C

*Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

**Gráfica 3.** Promedio de porcentaje de humedad cada dos semanas por cada tratamiento.



En el transcurso de la investigación se realizó riego a las nueve unidades experimentales, tratando de mantener el porcentaje de humedad en el rango óptimo para mejorar la toma de nutrientes para el crecimiento microbiano, con respecto a la gráfica N° 3 en el tratamiento 1 la humedad se encuentra entre 1,2 y 1,9% debido a que no cuenta con la presencia de microorganismo, a diferencia del tratamiento 2 cuentan con humedad entre 10,5% y 18,2% y en el tratamiento 3 la humedad oscila entre 8,2 y 15,3%; estos resultados se deben a que las muestras de las unidades experimentales se encontraban en humedad higroscópica; sin embargo existe diferencias significativas en los tratamientos,



resultado de la efectividad en la aplicación de los abonos orgánicos líquido y sólidos. (Asocam, 2017), Cuando los suelos no tienen suficiente materia orgánica, entonces falta suficiente vida, que permita el correcto funcionamiento del mismo, faltando también las características que permiten al suelo tener una estructura que realice la absorción del agua, la liberación de nutrientes y la resistencia a condiciones extremas.

En cuanto a las condiciones físicas y químicas, existen varios factores que condicionan la biorremediación de un suelo; entre las físicas se encuentran factores ambientales como es la humedad del suelo (Ferrera R. , Rojas, Poggi, Alarcón, & Cañizares, 2006).

En el estudio de (Gómez, y otros, 2008) quienes afirman que la humedad del sitio a tratar es un factor importante que se debe tener en cuenta en el momento de la aplicación de la técnica de biorremediación, así como en la evaluación de la eficacia del procedimiento.

La humedad también puede afectar los procesos de biorremediación debido a que, en general, aunque todos los microorganismos necesitan agua para subsistir, esta forma parte del protoplasma bacteriano y sirve como medio de transporte a través del cual los compuestos orgánicos y nutrientes son movilizados hasta el interior de las células (Torres & Zuluaga , 2009); es por ello que debe existir un balance, ya que si el contenido de agua es muy bajo, la actividad microbiana se detiene, y si es muy alto, disminuye el intercambio gaseoso a través del suelo. (Volke & Velasco, Tecnologías de remediación para suelos contaminados, 2005)

Los datos de % Humedad se encuentra entre los niveles 20% - 75% por lo que garantizaría el transporte de compuestos orgánicos, oxígeno y nutrientes hacia las células (Maroto & Rogel, 2008).

#### 9.4.4 Densidad aparente (g/cm<sup>3</sup>).

Para esta variable, solamente se presentó diferencia estadísticamente significativa al finalizar el proceso ( $p < 0,05$ ), ya que según la tabla 11, T2 y T3 con promedios de 1,73 g/cm<sup>3</sup> y 1,57 g/cm<sup>3</sup>, se diferenciaron significativamente de T1 que obtuvo un promedio de densidad aparente de 2,13 g/cm<sup>3</sup>.

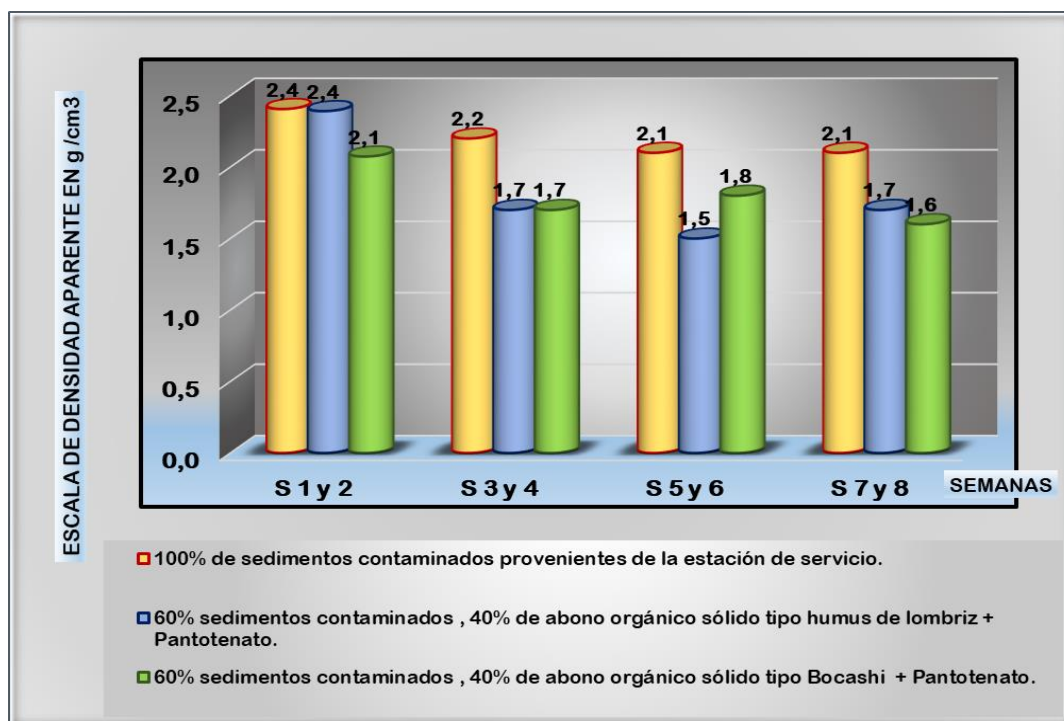
**Tabla No. 11.** Anova y prueba de Tukey para densidad aparente al finalizar el proceso

Fuente	Suma de Cuadros	GL	Cuadro Medio	Razón - F	Valor - P
Modelo	0,51	2	0,25	25,44	0,0012
Tratamiento	0,51	2	0,25	25,44	0,0012
Error	0,06	6	0,01		
Total	0,57	8			

Tratamiento	Medios	casos	E.E.		
T1	2,13	3	0,06	A	
T2	1,73	3	0,06		B
T3	1,57	3	0,06		B

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ( $p>0,05$ )

**Gráfica 4.** Promedio de densidad aparente por cada dos semanas en cada tratamiento.



Hablando de manera específica el T1 inicia con una densidad aparente de 2,4 g/cm<sup>3</sup>, y ya por cuestiones del control biótico (añadir agua para buena humedad y al volteo manual para la aireación) se redujo los valores para las semanas 2, 3, 4 y 5 siendo el valor más bajo en las semanas 5 y 6 con 2,1 g/cm<sup>3</sup>, para luego en las dos últimas semanas llegar a 2,3 g/cm<sup>3</sup> y se puede deducir que es por cuestiones de madurez del proceso.

Por otra parte, el T2 inicia con un valor igual al T1 de 2,4 g/cm<sup>3</sup> y teniendo el mismo comportamiento de disminuir hasta 1,6 g/cm<sup>3</sup> en las semanas 5 y 6 que en comparación al dato inicial tuvo una gran reducción, se puede deducir que este se debe a la materia orgánica añadida en el abono y al control biótico de aireación y volteo, ya para las semanas 7 y 8 se puede inferir que hubo una madurez del proceso aumentado el valor del dato hasta 1,7 g/cm<sup>3</sup>.

El tratamiento T3 tuvo un comportamiento con la misma tendencia de bajar los valores de densidad aparente durante las semanas intermedias y de aumentar

para las dos últimas semanas; este inicia con un valor de 2,1 g/cm<sup>3</sup> y bajo hasta 1,7g/cm<sup>3</sup> en las semanas 3 y 4 y ya para las semanas finales tuvo una mínima disminución para llegar a 1,6 g/cm<sup>3</sup>.

Para el caso de densidad aparente primero que todo hay que tener en cuenta el tipo de suelo con el que se trabajó, y partiendo de que los tratamientos se hicieron en base a sedimentos se puede clasificarlos como suelos arenosos. Por otra parte, los valores que puede tomar la densidad aparente dependen de muchos factores, incluyendo la textura, estructura y contenido de materia orgánica del suelo, así como del manejo del mismo. En contraste con la densidad real, que es más o menos constante, la densidad aparente es altamente variable debido a variaciones en la cantidad / calidad del espacio poroso (Rubio, 2010).

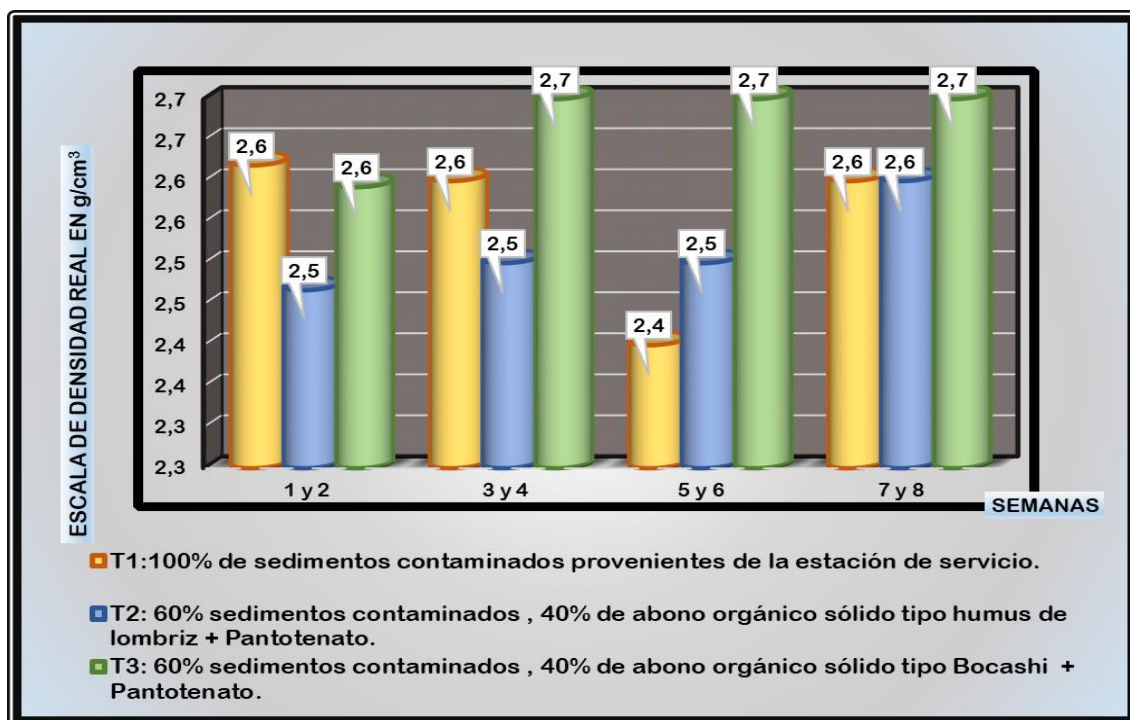
Por otra parte cambios en la densidad aparente reflejan cambios en la estructura del suelo, debido a la relación existente entre la densidad aparente y la porosidad total (Ingaramo, Paz Gonzales, & Dugo Paton, 2003). Debido a que son sedimentos no se puede manejar como suelos compactados, pero si por cuestión del contenido de arenas las densidades aparentes del T1 son altas, pero al agregar materia orgánica en T2 y T3 estas disminuyen en comparación al testigo ya que cuando la densidad aparente del suelo aumenta se afectan las condiciones de retención de humedad. Otros autores afirman que la densidad aparente es afectada por las partículas sólidas y por el espacio poroso, el cual a su vez está determinado principalmente por la materia orgánica del suelo, a medida que aumenta la materia orgánica y el espacio poroso, disminuye la densidad aparente y viceversa (Salamanca Jimenez & Sadeghian Khalajabadi, 2005).

Los abonos tuvieron gran influencia directa, disminuyendo los valores de densidad aparente, es decir que afecto positivamente otras propiedades al aumentar los espacios porosos y mejorar la relación entre aire y aire.

Comparando el tratamiento T1 con T2 y T3, el comportamiento de la densidad aparente se debió a cada tratamiento ya que estadísticamente el p valor es menor a 0.05, lo que demuestra que hubo una diferencia estadísticamente significativa al final del tratamiento.

#### 9.4.5 Densidad real (g/cm<sup>3</sup>).

**Gráfica 5.** Promedio de densidad real por cada dos semanas en cada tratamiento.



Por cuestiones de manejo de información se optó por simplificar la cantidad de datos, promediando los valores de densidad real de cada tratamiento durante dos semanas teniendo así cuatro espacios de tiempo para los tres tratamientos.

El tratamiento testigo T1 mantuvo su valor de densidad real estable con un valor de 2,6 g/cm<sup>3</sup> durante casi todo el tiempo que duro el proceso, teniendo leves variaciones en cuanto a esta variable.

El tratamiento T2 se mantuvo estable con un valor de 2,5 g/cm<sup>3</sup> como promedio a lo largo de las semanas 1, 2, 3, 4, 5 y 6 para finalmente en las semanas 7 y 8 subir hasta 2,6 g/cm<sup>3</sup>.

El tratamiento T3 durante las semanas 1, 2, se mantuvo con un valor alrededor de 2,6 g/cm<sup>3</sup>, para ya las semanas 7 y 8 subir a 2,9 g/cm<sup>3</sup>.

Según Unigarro *et al.* (2009), esta propiedad se refiere al peso del suelo donde solo se considera las partículas solidad del mismo, esta densidad siempre es mayor que la aparente, los valores de densidad real de los suelos varían generalmente entre 2,6 g/cm<sup>3</sup> y 2,75 g/cm<sup>3</sup>. En promedio se considera 2,65

g/cm<sup>3</sup> por cuanto es la densidad aproximada de los minerales más comunes del suelo, este resultado es influenciado por la composición mineralógica y el contenido de materia orgánica.

En cuanto a los tratamientos en esta variable de densidad real se mantuvo constante ya que no hubo mayores variaciones en ella.

Comparando el tratamiento T1 con T2 y T3, el comportamiento de la densidad real no se debió a cada tratamiento debido a que estadísticamente el p valor es mayor a 0.05, lo que demuestra que no hubo una diferencia estadísticamente significativa tanto al inicio como al final del tratamiento, ya que como afirman los autores anteriormente citados la densidad real es una variable que es constante y muy difícil de cambiar.

#### 9.4.6 Porosidad (%).

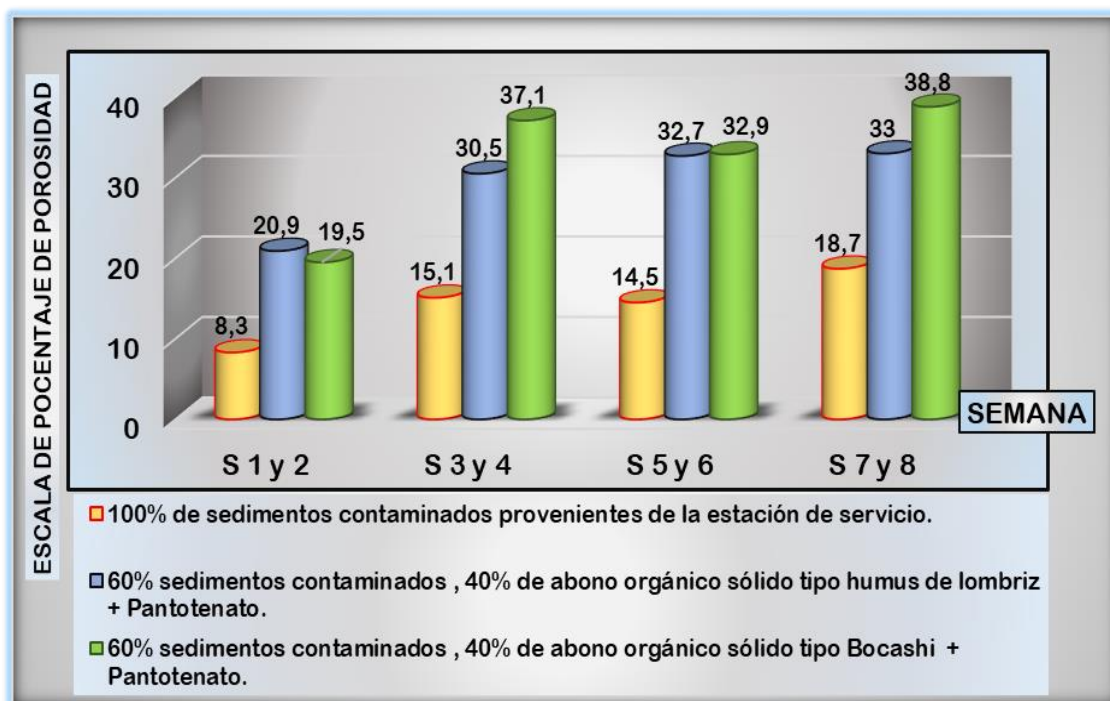
**Tabla No. 12.** Anova y prueba de Tukey para porcentaje de porosidad al finalizar el proceso.

Fuente	Suma de Cuadros	GL	Cuadro Medio	Razón - F	Valor - P
Modelo	942,08	2	471,04	13,04	0,0065
Tratamiento	942,08	2	471,04	13,04	0,0065
Error	216,78	6	36,13		
Total	1158,86	8			
Tratamiento	Medios	casos	E.E.		
T3	42,73	3	3,47	A	
T2	33,67	3	3,47	A	
T1	17,97	3	3,47		B

*Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

Según la prueba de Tukey y el análisis de varianza (tabla 12), existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ), donde T1 con un promedio de 17,97 % de porosidad, se diferencia de T2 y T3 que obtuvieron promedios de 33,67 y 42,73% de porosidad.

**Gráfica 6.** Promedio de porcentaje de porosidad cada dos semanas por cada tratamiento.



En cuanto a la gráfica N°6 se puede observar que si se presenta una diferencia significativa del tratamiento 1 con respecto a los tratamientos 2 y 3 debido a que estos dos tratamientos representan un aumento del porcentaje de porosidad esto se debe a que se adicionaron abonos orgánicos como humus de lombriz y bocashi, y un abono líquido pantotenato por lo cual estos abonos sólidos y líquido, permiten que mejoren las propiedades físicas y químicas de los sedimentos.

Como se puede apreciar el tratamiento 1 presenta una porosidad máxima del 18,7%, lo cual es demasiado bajo con respecto al tratamiento 2 que presenta porosidad máxima del 33% y el tratamiento 3 con una porosidad máxima del 38,8%. Lo cual se puede afirmar que la diferencia de porosidad es el doble para los tratamientos 2 y 3 con respecto al tratamiento 1.

Al observar en la gráfica podemos apreciar que en el tratamiento 1 no se presentó un aumento significativo del porcentaje de porosidad al transcurrir las semanas de experimentación ya que se ha obtenido entre la semana 1 y 2 un porcentaje de porosidad de 8,3% y entre las semanas 7 y 8 un porcentaje de porosidad de 18,7% lo cual permite establecer que no hay un aumento comprensible de porosidad por lo tanto estos sedimentos no mantuvieron un buen sistema de microorganismos que permitan una degradación de la contaminación por hidrocarburos presentes.

Al apreciar los tratamientos 2 y 3 se presentó un aumento significativo del porcentaje de porosidad al transcurrir las semanas de experimentación ya que se ha obtenido entre la semana 1 y 2 un porcentaje de porosidad de 20,9% para el tratamiento 2 y 19,5% para el tratamiento 3, y entre las semanas 7 y 8 un porcentaje de porosidad de 33% para el tratamiento 2 y 38,8% para el tratamiento 3, lo cual permite establecer que si hubo un aumento comprensible de porosidad gracias a los abonos presentes en estos dos tratamientos por lo tanto estos sedimentos mantuvieron un buen sistema de microorganismos que permitieron disminuir la contaminación presente de hidrocarburos.

La porosidad está estrechamente relacionada con la densidad real y la densidad aparente, de tal forma que, si existen cambios en ellas, existe un cambio en el porcentaje de porosidad (Perez, Iturbe , & Flores, 2006)

La porosidad disminuye notablemente por la ocupación del hidrocarburo en los espacios porosos, como la porosidad se determina a partir de los datos de densidad real y densidad aparente, si algunos de estos datos aumentan o disminuyen (en función de la concentración y tipo de hidrocarburo, así como por el tipo de suelo), se reflejará directamente en la porosidad (Lopez & Martinez, 2001).

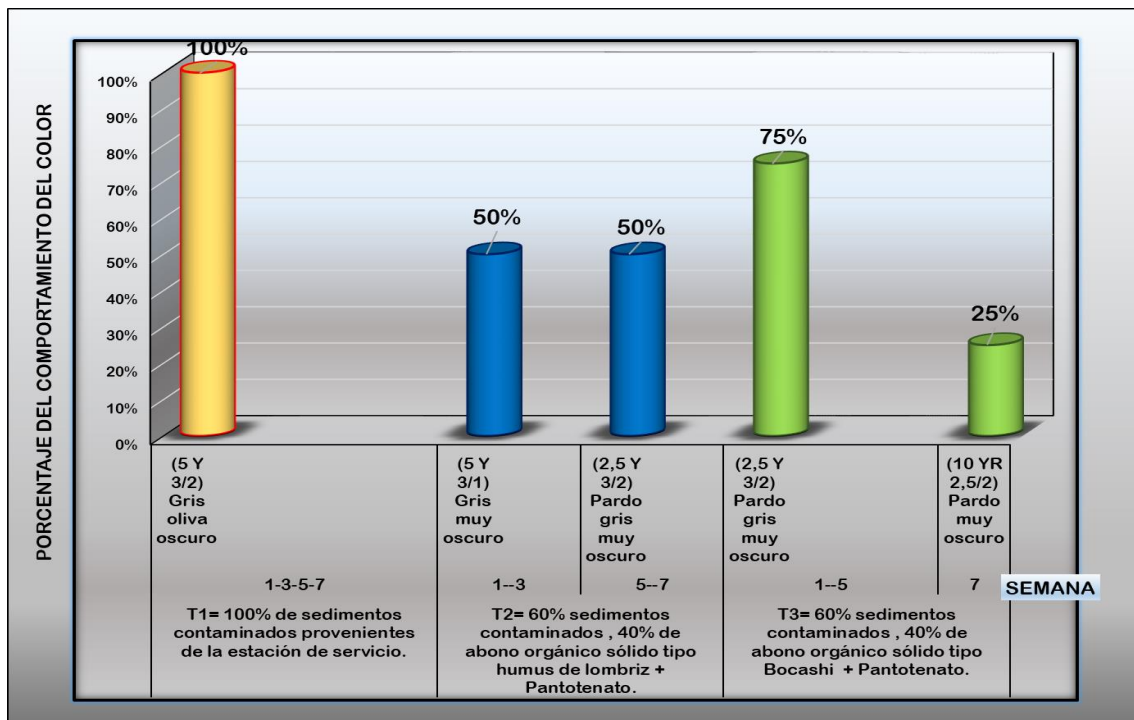
Según (Perez, Iturbe , & Flores, 2006) los suelos arenosos superficiales se establecen valores de porosidad típicos entre 35 y 50 %.

Los abonos orgánicos influyen favorablemente sobre las características físicas del suelo (fertilidad física); estas características son: estructura, porosidad, aireación, capacidad de retención de agua, infiltración, conductividad hidráulica y estabilidad de agregados (SAGARPA, s.f.).

Comparando el tratamiento T1 con T2 y T3, el comportamiento de la temperatura se debió a cada tratamiento, ya que estadísticamente el p valor es menor a 0.05, lo que demuestra que hubo una diferencia estadísticamente significativa tanto al inicio como al final del tratamiento.

### 9.4.7 Color.

**Gráfica 7.** Porcentaje de variación de color en las semanas del tratamiento.



Para la determinación del color del suelo de cada uno de los tratamientos evaluados, se utilizó la tabla Munsell, donde se evaluó el matiz, valor y croma del color con su respectivo código siendo este la notación Munsell para el color.

En esta grafica podemos observar que hay diferencia significativa del tratamiento 1 con respecto a los tratamientos 2 y 3, ya que se puede apreciar que en el tratamiento 1 se mantuvo constante al transcurrir las semanas de experimentación un solo color 5Y 3/2 (gris oliva oscuro) el cual representa el 100%, en cuanto al tratamiento 2 se han detonado dos tipos de colores para los cuales en las primeras semanas (1-3) se presentó un color 2.5Y 3/2 (gris muy oscuro) que representa el 50% y en las dos últimas semanas (5-7) se presentó un color 10YR 3/2 (pardo gris muy oscuro) que representa el otro 50%, en cuanto al tratamiento 3 se presencié dos tipos de colores los cuales para las semanas (1-3-5) presento un color 10YR 3/2 (pardo gris muy oscuro) que representa el 75%, y para la última semana (7) presento un color 10YR 2.5/2 (pardo muy oscuro) que representa el otro 25%.

Al apreciar estos resultados o lecturas en cuanto al color de los sedimentos se puede apreciar una gran diferencia del tratamiento 1 con relación a los tratamientos 2 y 3 ya que el primer tratamiento presento un solo tipo de color (gris oliva oscuro) y los tratamientos 2 y 3 presentaron colores pardos lo cual se



debe a que estos tratamientos contienen abonos orgánicos sólidos tipo humus de lombriz, bocashi y un abono líquido tipo pantotenato lo cual permite establecer que son suelos totalmente diferentes con respecto al tratamiento 1 ya que los sedimentos de los tratamientos 2 y 3 se encuentran combinados que permiten tener otras características físicas y químicas en cuanto al color.

El color es, probablemente, la característica más evidente cuando se observa la superficie o el perfil de un suelo y constituye su respuesta a la radiación electromagnética en la región visible del espectro. Es, además, una característica muy utilizada por el edafólogo para obtener información sobre la génesis del suelo y sobre sus propiedades físicas y químicas (Torrent, 1978).

según (Burbano, 1989), quien afirma que el típico color oscuro de muchos suelos se debe a los contenidos de materia orgánica, influenciada su intensidad por el contenido de humedad, situación que según (Gliessman, 2002) los colores oscuros son una indicación de altos contenidos de materia orgánica.

Además, ante un dominio de pigmentaciones pardas, color característico que según (Valenzuela & Torrente, 2013), se denota la presencia de óxidos de hierro en adición a la materia orgánica, que está asociado a estados iniciales a intermedios de alteración del suelo.

#### 9.4.8 pH (Unidades).

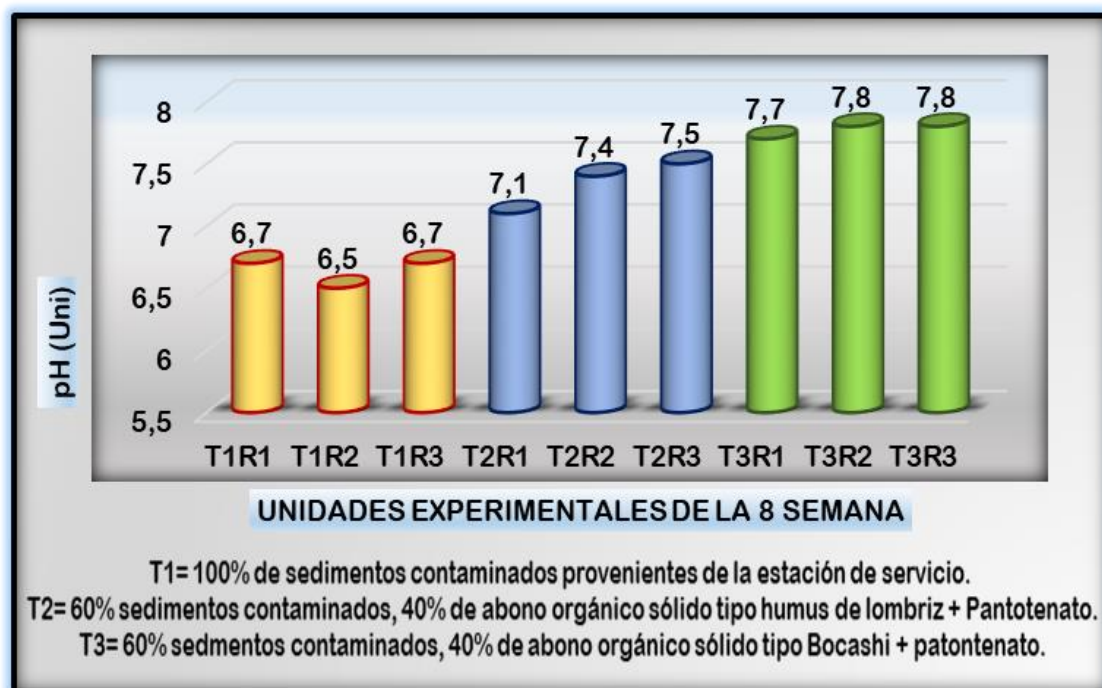
Teniendo en cuenta el análisis de varianza de la tabla 13, donde se analiza esta variable al finalizar la investigación, indica que se presentaron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ), al observar las pruebas de significancia de Tukey se encontró una diferencia estadística significativa entre los tres tratamientos, T1 con valor promedio de 6,63 unidades de pH, T2 con promedio de 7,33 unidades de pH y T3 con 7,7 unidades de pH.

**Tabla No. 13.** Anova y prueba de Tukey para pH al finalizar el proceso

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1,96222	2	0,981111	49,06	0,0002
Intra grupos	0,12	6	0,02		
Total (Corr.)	2,08222	8			
Tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos		
T1	3	6,63333	A		
T2	3	7,33333	B		
T3	3	7,76667	C		

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Gráfica 8.** Comportamiento de pH en las unidades experimentales de 8 Semana



Con respecto a la gráfica N° 8 podemos observar que el tratamiento N°1 con sus tres repeticiones tienen pH de 6,7 - 6,5 - 6,7 unidades, mientras que el tratamiento 2 posee pH de 7,1 - 7,4 - 7,5 unidades en sus tres repeticiones a diferencia del tratamiento 3 contiene pH de 7,7 - 7,8 y 7,8 unidades en lo referente a la última semana del proceso que se llevó a cabo.

Con respecto a lo anterior el tratamiento 1 se determinó un promedio de pH de 6,6 unidades, el cual se diferencia de los otros tratamientos que tienen promedios de pH 7,3 unidades para el tratamiento 2 y 7,8 unidades para el tratamiento 3, por lo tanto, se puede afirmar que los tratamientos 2 y 3 contienen un mejor pH esto se debe a que se les adiciono abonos orgánicos sólidos tipo humus de lombriz, bocashi y un abono líquido tipo pantoténico, lo cual hace que de alguna manera permitan que estos sedimentos contaminados disminuyan la cantidad o el grado de contaminación al ser aplicados o mezclados estos abonos orgánicos sólidos y líquido.

Según (Maier, Pepper, & Gerba, 2008) afirman que el pH influye en la actividad microbiana del suelo. Las bacterias se desarrollan mejor en pH neutro y los hongos filamentosos en pH ácidos; así, la degradación de hidrocarburos es mejor en condiciones de pH neutro y alcalino que en pH ácidos, (Maier, Pepper, & Gerba, 2008).

El pH es un factor químico importante que influye en la recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos, ya que puede afectar principalmente a las poblaciones de microorganismos y la biodisponibilidad de las fuentes de carbono y energía. Este factor se constituye como uno de los indicadores del proceso de biorremediación y tienen un determinado rango de tolerancia (Hambrick , DeLaune, & Patrick, 2008). Corroborando lo encontrado en la investigación donde se usaron abonos orgánicos sólidos los pH tendieron hacia la neutralidad.

A pH extremadamente alcalinos o extremadamente ácidos la biodegradación se hace lenta (Huertos & Romero, 2008). Generalmente los suelos contaminados por hidrocarburos tienden a ser ácidos, lo cual limita el crecimiento y la actividad microbiana. El rango óptimo para la biodegradación está entre 6–8 pH (Alexander M. , 1994). Sin embargo, para mantener una mejor capacidad degradante, por periodos de tiempo prolongados, el pH debe ser neutro, entre 7.4–7.8, evitando al máximo las fluctuaciones (Leahy & Colwell, 1990).

Es necesario tener en cuenta que la variación del pH, además de afectar la actividad microbiana, también afecta la solubilización, adsorción y absorción de los contaminantes y de los iones (Staunton, 1996). Las formas catiónicas ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ) son más solubles a pH ácido mientras que las formas aniónicas ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ) son más solubles a pH alcalino (Singh, Walker , Morgan, & Wright , 2003).

## CONCLUSIONES

- El depósito de los sedimentos corresponde a un espacio al aire libre, donde hay contaminación del suelo y de aguas superficiales y subterráneas, con los resultados de esta investigación se planteó una alternativa de solución ambientalmente sostenible para la descontaminación de los sedimentos que la estación de servicio produce, donde se pudo evidenciar que el uso de abonos orgánicos contribuye al éxito de la biorremediación.
- La variable de respuesta tuvo una concentración inicial de 3900 mg/kg, una vez finalizado el proceso, se considera que el tratamiento dos fue el que mejor resultado obtuvo con un promedio de concentración final 787,6 mg/kg, lo que representa una disminución de 2643,3 mg/kg.
- Para las variables de hidrocarburos totales, temperatura, humedad higroscópica, porosidad y densidad aparente existió diferencias estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ), donde T2 y T3 se diferenciaron de T1, lo que acepta la hipótesis alternativa.
- Comparando el tratamiento T1 con T2 y T3, el comportamiento de la densidad real no se debió a cada tratamiento debido a que el p valor es mayor a 0,05 lo que demuestra que no hubo una diferencia estadísticamente significativa tanto al inicio como al final del tratamiento.
- Como resultado de la investigación se demostró que la hipótesis alternativa planteada se acepta al presentar diferencias significativas, por lo cual se concluye que los tratamientos si tuvieron respuesta diferenciada en comparación al testigo.

## RECOMENDACIONES

- Es importante considerar en el diseño experimental y en el seguimiento de las unidades experimentales, la implementación de un control abiótico, para poder definir el alcance de los procesos bióticos y abióticos, en la remoción de hidrocarburos totales dentro de cada unidad experimental.
- Realizar aplicaciones más frecuentes de microorganismos, teniendo un control de humedad a base de abono orgánico líquido pantotenato diluido en agua en una relación menor a la inicial.
- Los sedimentos ya tratados se recomienda una disposición final adecuada ya que estos son clasificados aun como residuos peligrosos, pero por su bajo nivel de concentración de contaminante se recomienda usarlos en plantaciones de árboles.
- Los insumos con los que se trabajó esta investigación son de fácil consecución por lo cual se recomienda aplicar la misma técnica en suelos contaminados con petróleo.

## BIBLIOGRAFÍA

- Agroecología y ambiente. (11 de Noviembre de 2012). *Producción de abonos orgánicos*. Obtenido de <http://agroecologiayambiental.blogspot.com.co/2012/11/produccion-de-abonos-organicos.html>
- Aguero, D. R., & Terry, E. (2014). *Generalidades de los abonos orgánicos* . Obtenido de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362014000400007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362014000400007)
- Aiban. (1998). *El efecto de la temperatura en las propiedades de la ingeniería de aceite- Arenas Contaminadas* . Obtenido de Internacional Ambiental.: <http://www.scielo.org.co/pdf/recig/v11n12/v11n12a12.pdf>
- Alcaldía San Francisco - Putumayo. (27 de Septiembre de 2016). *Esquema de Ordenamiento Territorial*. Obtenido de [http://sanfrancisco-putumayo.gov.co/Nuestros\\_planes.shtml?apc=gbPlan%20de%20Ordenamiento%20Territorial-1-&x=2699845](http://sanfrancisco-putumayo.gov.co/Nuestros_planes.shtml?apc=gbPlan%20de%20Ordenamiento%20Territorial-1-&x=2699845)
- Alexander, M. (1994). *Biodegradación y biorremediación*. Obtenido de <http://congress.cimne.com/zns09/admin/files/filepaper/p422.pdf>
- Alexander, M. (1994). *Biodegradación y biorremediación* .
- Alsanad, H., & Ismail, N. (1997). *Efecto de envejecimiento en el aceite Contaminado arena de Kuwait*. Obtenido de <file:///C:/Users/Johana/Downloads/AN%20OVERVIEW%20ON%20OIL%20CONTAMINATED%20SAND%20AND%20ITS%20ENGINEERING%20APPLICATIONS.pdf>
- Alsanad, H., & Ismail, N. (1997). *Efecto de envejecimiento en el aceite Contaminado arena de Kuwait*. Obtenido de <file:///C:/Users/Johana/Downloads/AN%20OVERVIEW%20ON%20OIL%20CONTAMINATED%20SAND%20AND%20ITS%20ENGINEERING%20APPLICATIONS.pdf>
- Andrea, B. (Diciembre de 2014). *Generalidades de los abonos orgánicos: Importancia del Bocashi como alternativa nutricional para suelos y plantas*. Obtenido de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362014000400007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362014000400007)
- Arrieta Ramirez, O. M., Rivera Rivera, A. P., Arias Marin , L., Rojano , B. A., Ruiz, O., & Cardona Gallo, S. A. (Abril de 2012). *Biorremediación de un*

- suel con diesel mediante el uso de microorganismos autoctonos.*  
Obtenido de  
<http://revistas.unal.edu.co/index.php/gestion/article/view/30815>
- Arroyo, M., Quesada, M., & Quesada, R. (2010). *Revista colombiana de biotecnología.* Obtenido de  
<http://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/15579/38076>
- Arroyo, M., Quesada, M., & Quesada, R. (2010). *Revista colombiana de biotecnología.* Obtenido de  
<http://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/15579/38076>
- Asocam. (19 de Noviembre de 2017). *Manual para extensionistas, promotores y productores del campo.* Obtenido de Biblioteca Asocam:  
[http://anfaca.org/media/Biblioteca\\_Digital/Agricultura/Neutralizacion\\_de\\_Suelos\\_Acidos/JM-Chapter7\\_Como\\_mejorar\\_el\\_suelo.pdf](http://anfaca.org/media/Biblioteca_Digital/Agricultura/Neutralizacion_de_Suelos_Acidos/JM-Chapter7_Como_mejorar_el_suelo.pdf)
- ATSDR. (2017). *Agencia para sustancias tóxicas y el registro de enfermedades.* Obtenido de Hidrocarburos totales de petróleo.:  
[https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs123.html](https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs123.html)
- Benavides, L. (Junio de 2014). *Aislamiento y adaptación de microorganismos fúngicos con actividad hidrocarburoclasta.* Obtenido de  
<https://core.ac.uk/download/pdf/33659393.pdf>
- Bento, F., Camargo, F., Okeke, B., & Frankenberg, w. (2003). *Bioremediación de suelos contaminados por gasóleo.* *Revista Brasileña de Microbiología.* Obtenido de  
<http://revistas.unal.edu.co/index.php/gestion/article/view/39565/42035>
- Bioinformatica. (2017). *Introduccion a la biorremediacion.* Obtenido de  
<http://bioinformatica.uab.es/biocomputacio/treballs02-03/RBurgos/dades/INDICE.html>
- Carter, M., Gregorich, E., Anderson , D., Doran, J., Janzen, H., & Pierce, F. (1997). *Conceptos de la calidad del suelo y su importancia en calidad del suelo para la producción agrícola y la salud del ecosistema.*
- Cegarra, J., Roig, A., Navarro, M., Bernal, M., Abad, M., Climent, D., & Aragón , P. (Diciembre de 2014). *Generalidades de los abonos orgánicos: Importancia del Bocashi como alternativa nutricional para suelos y plantas.* Obtenido de

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362014000400007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362014000400007)

Courtney, R., & Mullen, G. (Diciembre de 2014). *Generalidades de los abonos orgánicos: Importancia del Bocashi como alternativa nutricional para suelos y plantas*. Obtenido de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362014000400007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362014000400007)

de Mesa., J., Quintero, G., Guevara, A., Jaimes, D., & Garcia, J. (22 de Junio de 2006). *Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo*. Obtenido de "NOVA" Publicaciones científicas en ciencia biomedicas: <http://unicolmayor.edu.co/publicaciones/index.php/nova/article/view/60/119>

dfdgf, fgfg; sdfsfhd, fghf;. (s.f.).

Doran , J., & Parkin, B. (1994). *Definición de la calidad del suelo para un ambiente*. Obtenido de Sociedad Americana de las Ciencias del Suelo.

EPA. (Marzo de 2009). *Contaminación de aguas subterráneas por hidrocarburos líquidos livianos en fase no acuosa*. Obtenido de <http://www.ceiucaweb.com.ar/documentos/2-ambiental/3er-anio-1er-cuatri/geologia/apunte/Extra/FLNA.pdf>

Estela, L., Pérez, S., & Saavedra, J. (2014). *Biorremediación de suelos degradados*. Obtenido de EAP Ingeniería Ambiental. Universidad Peruana - Tarapoto: conacin. [upei.edu.pe/wp-content/uploads/2014/10/Cln\\_3279.pdf](http://upei.edu.pe/wp-content/uploads/2014/10/Cln_3279.pdf)

Evgin, E., & Das , B. (1992). *Comportamiento mecánico de arena contaminada con aceite*. . Obtenido de Ambiental y Tecnología: <http://www.scielo.org.co/pdf/recig/v11n12/v11n12a12.pdf>

Eweis , J., Ergas , S., Chang, D., & Schroeder, E. (1998). *Principios de Biorremediación*.

Eweis, J., Ergas, S., Chag, D., & Schoroeder, E. (2006). *Lodos estabilizados y cepas bacterianas en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos*.

FENALCE. (2013). *Propuesta para una sostenibilidad productiva del frijol voluble*. Valle de Sibundoy.



- Ferrera, R., Rojas, N., Poggi, H., Alarcón, A., & Cañizares, R. (Abril- Junio de 2006). *Procesos de biorremediación de suelo y agua contaminados por hidrocarburos del petróleo y otros compuestos orgánicos*. Obtenido de Revista Latinoamericana Microbiología ALAM: <http://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2006/mi062s.pdf>
- Ferrera, R., Rojas, N., Poggi, H., Alarcón, A., & Cañizares, R. (2006). Procesos de biorremediación de suelo y agua que fueron. *Rev Latinoam Microbiol*. Obtenido de Rev Latinoam Microbiol: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17578090>
- FUNDASES. (27 de Mayo de 2005). *Fundacion de Asesorías para el sector Rural*. Obtenido de Microorganismos benéficos y efectivos para la agricultura y medio ambiente sostenible.: <http://www.fundases.org/p/pub-micro15.html>.
- Gentry, H., Rensing, C., & Pepper, I. (2004). *Nuevos enfoques para la bioaumentación como tecnología de remediación*. Obtenido de Revisiones críticas en ciencia y tecnología ambiental: <http://revistas.unal.edu.co/index.php/gestion/article/view/39565/42035>
- Gómez Romero, S. E., Gutiérrez Bustos, D. C., Hernández Marín, A. M., Hernández Rodríguez, C. Z., Losada Casallas, M., & Mantilla Vargas, P. (25 de Abril de 2008). *Factores bióticos y abióticos que condicionan la biorremediación por hidrocarburos*. Obtenido de [http://www.unicolmayor.edu.co/invest\\_nova/NOVA/NOVA9\\_ART8\\_PSEUDO.pdf](http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/NOVA9_ART8_PSEUDO.pdf)
- Gómez, S., Gutiérrez, D., Hernández, A., Hernández, C., Losada, M., & Mantilla, P. (9 de Enero - Junio de 2008). *Factores bióticos y abióticos que condicionan la biorremediación por Pseudomas en suelos contaminados por hidrocarburos*. Obtenido de NOVA - Publicación Científica EN CIENCIAS BIOMÉDICAS: [http://www.unicolmayor.edu.co/invest\\_nova/NOVA/NOVA9\\_ART8\\_PSEUDO.pdf](http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/NOVA9_ART8_PSEUDO.pdf)
- Grupo de Laboratorios ALS. (06 de Mayo de 2016). *Contaminación en estaciones de servicio*. Obtenido de [http://www.alsglobal.es/noticias/CONTAMINACION-EN-ESTACIONES-DE-SERVICIO\\_291](http://www.alsglobal.es/noticias/CONTAMINACION-EN-ESTACIONES-DE-SERVICIO_291)
- Hambrick, G., DeLaune, R., & Patrick, W. (2008). *El pH del sedimento estuarino y el potencial de oxidación - reducción en degradación microbiana de hidrocarburos*. Obtenido de

[http://www.unicolmayor.edu.co/invest\\_nova/NOVA/NOVA9\\_ART8\\_PSEUDO.pdf](http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/NOVA9_ART8_PSEUDO.pdf)

Hamdi, H., Benzarti, S., Manusadzianas, L., Aoyama, I., & Naceur, J. (2007). *Efectos de bioaumentación y bioestimulación sobre la disipación de HAP y la ecotoxicidad del suelo bajo condiciones controladas*. Obtenido de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0964830506001314>

Herrera., A. A. (Noviembre de 2015). *Aprovechamiento de los desechos orgánicos, para la elaboración de una abonera aérea que va a reducir la contaminación del ambiente, en el Instituto Nacional Educación Básica de Telesecundaria, aldea La Cruz de Palibatz, Joyabaj, Quiché*. Obtenido de [http://biblioteca.usac.edu.gt/EPS/07/07\\_6142.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/EPS/07/07_6142.pdf)

Higuera, M. D. (2017). *Los microorganismos del suelo en la nutrición vegetal*. Obtenido de [https://www.oriusbiochem.com/escrito?nom=Los\\_microorganismos\\_del\\_suelo\\_en\\_la\\_nutrici%C3%B3n\\_vegetal](https://www.oriusbiochem.com/escrito?nom=Los_microorganismos_del_suelo_en_la_nutrici%C3%B3n_vegetal).

Huertos, E., & Romero, A. (2008). *Contaminación de suelos por metales pesados*. Obtenido de [http://www.ehu.es/sem/macla\\_pdf/macla10/Macla10\\_48.pdf](http://www.ehu.es/sem/macla_pdf/macla10/Macla10_48.pdf)

ICONTEC 3656. (23 de Noviembre de 1994). *Norma Técnica Colombiana 3656*. Obtenido de <https://tienda.icontec.org/wp-content/uploads/pdfs/NTC3656.pdf>

Ingaramo, O., Paz Gonzales, A., & Dugo Paton, M. (2003). *Evaluación de la densidad aparente en diferentes sistemas de laboreos de suelo,*. Obtenido de Universidad Nacional del Nordeste: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2003/comunicaciones/05-Agrarias/A-032.pdf>

Leahy, J., & Colwell, R. (1990). *Degradación microbiana de hidrocarburos en el Ambiente*. Obtenido de Departamento de Microbiología, Universidad de Maryland, College Park, Maryland: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC372779/pdf/microrev00038-0103.pdf>

Ledin, M. (1- 4 de Agosto de 2000). *Acumulación de metal por microorganismos-procesos e importancia para sistemas de suelo*. Obtenido de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0012825200000088>

- Libreros, S. (Diciembre de 2014). *Generalidades de los abonos orgánicos: Importancia del Bocashi como alternativa nutricional para suelos y plantas*. Obtenido de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362014000400007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362014000400007)
- Libreros, S. S. (2012). Compostaje de residuos industriales en Colombia. *Técnicaña*.
- Lopez, F., & Martinez, V. (2001). *efecto de hidrocarburos en las propiedades físicas y químicas de suelo arcilloso*. Obtenido de <https://chapingo.mx/terra/contenido/19/1/art9-17.pdf>
- Maier, R., Pepper, I., & Gerba, C. (7 de Julio de 2008). *Microbiología ambiental*. Obtenido de [https://booksite.elsevier.com/samplechapters/9780123705198/Sample\\_Chapters/01~Front\\_Matter.pdf](https://booksite.elsevier.com/samplechapters/9780123705198/Sample_Chapters/01~Front_Matter.pdf)
- Maroto Arroyo, M., & Rogel Quesada, J. (2017). *Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos*. Obtenido de [http://aguas.igme.es/igme/publica/con\\_recu\\_acuiferos/028.pdf](http://aguas.igme.es/igme/publica/con_recu_acuiferos/028.pdf)
- Maroto, M., & Rogel, J. (2008). *Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos*. Obtenido de GEOCISA. Div. Protección Ambiental de Suelos.: [http://aguas.igme.es/igme/publica/con\\_recu\\_acuiferos/028.pdf](http://aguas.igme.es/igme/publica/con_recu_acuiferos/028.pdf)
- Meegoda, N., & Ratnaweera, P. (1994). *Compresibilidad de suelos contaminados de grano fino*. Obtenido de Geotechnical Testing Journal: <http://www.scielo.org.co/pdf/recig/v11n12/v11n12a12.pdf>
- Meléndez, G., & Soto, G. (3 - 4 de Marzo de 2003). *Taller de Abonos Orgánicos*. Obtenido de <http://www.cia.ucr.ac.cr/pdf/Memorias/Memoria%20Taller%20Abonos%20Org%C3%A1nicos.pdf>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2017). *Elaboración y uso del Bocashi*. Obtenido de Programa especial para la seguridad alimentaria en el Salvador : [www.fao.org/3/a-at788s.pdf](http://www.fao.org/3/a-at788s.pdf)
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. (15 de Octubre de 2014). *Decreto 2041 de 2014*. Obtenido de <http://www.ideam.gov.co/documents/51310/536020/Decreto+2041+de+15+de+octubre+de++2014.pdf/eedd74bc-73c7-411e-babe-9cfb098cf737>

- Ministerio de minas y energia. (6 de Agosto de 1988). *Decreto 1521 de 1998* .  
Obtenido de  
<https://redjusticiaambientalcolombia.files.wordpress.com/2012/09/decreto-1521-de-1998-por-el-cual-se-reglamenta-el-almacenamiento-manejo-transporte-y-distribucion-de-combustibles-licuados-derivados-del-petroleo-para-estaciones-de-servicio.pdf>
- Mosquera, T. (2016). *Eficiencia del lombricompostaje en la biorremediación de suelos degradados por la minería a cielo abierto en el municipio de Unión Panamericana departamento del Chocó*. Obtenido de Universidad de Manizales. Maestría en Desarrollo sostenible y medio ambiente:  
[http://ridum.umanizales.edu.co:8080/xmlui/bitstream/handle/6789/2929/Mosquera%20\\_%20C%C3%B3rdoba\\_Tatiana%20\\_%202016.pdf?sequence=1](http://ridum.umanizales.edu.co:8080/xmlui/bitstream/handle/6789/2929/Mosquera%20_%20C%C3%B3rdoba_Tatiana%20_%202016.pdf?sequence=1)
- Muskus Morales, A. M., Santoyo Muñoz, C., & Plata Quintero, L. S. (15 de Mayo de 2013). *Evaluación de las técnicas de atenuación natural, bioventing, bioaumentación y bioaumentación- bioventing, para la biodegradación de diésel en un suelo arenoso, en experimentos de columna*. Obtenido de  
<http://revistas.unal.edu.co/index.php/gestion/article/view/39565>
- Ñustez Cuartas, D. (Mayo de 2012). *Biorremediación para la degradación de hidrocarburos totales presentes en los sedimentos de una estación de servicio de combustible*. Obtenido de  
<http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/2779/6281683N975.pdf;jsessionid=9BA80AA246B440B4DC978407696E8E88?sequence=1>
- Pardo, L., Perdomo, M., & Benavides, J. (02 de Septiembre de 2004). *Efecto de la adición de fertilizantes inorgánicos compuestos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con petróleo*. Obtenido de  
[http://www.unicolmayor.edu.co/invest\\_nova/NOVA/artorig4\\_2.pdf](http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/artorig4_2.pdf)
- Perez, G., Iturbe, R., & Flores, R. M. (2006). *CAMBIO EN LAS PROPIEDADES FÍSICAS DE UN SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS DEBIDO A LA APLICACIÓN DE UNA TECNOLOGÍA DE REMEDIACIÓN*. Obtenido de 2.  
[https://www.researchgate.net/profile/Rosario\\_Iturbe2/publication/267367877\\_CAMBIO\\_EN\\_LAS\\_PROPIEDADES\\_FISICAS\\_DE\\_UN\\_SUELO\\_CONTAMINADO\\_CON\\_HIDROCARBUROS\\_DEBIDO\\_A\\_LA\\_APLICACION\\_DE\\_UNA\\_TECNOLOGIA\\_DE\\_REMEDIACION/links/55df590408aeb1a7cc1a06b/CAMBIO-EN-LAS-](https://www.researchgate.net/profile/Rosario_Iturbe2/publication/267367877_CAMBIO_EN_LAS_PROPIEDADES_FISICAS_DE_UN_SUELO_CONTAMINADO_CON_HIDROCARBUROS_DEBIDO_A_LA_APLICACION_DE_UNA_TECNOLOGIA_DE_REMEDIACION/links/55df590408aeb1a7cc1a06b/CAMBIO-EN-LAS-)

- Ríos, R. (4 de Mayo de 2005). *Estudio de la estimulación biológica para el tratamiento de residuos de perforación petrolera empleando lisímetros*. Obtenido de Universidad Autónoma Metropolitana.: <https://docslide.net/documents/estudio-de-la-estimulacion-biologica-para-el-tratamiento.html>
- Rodríguez, R. (Marzo de 2009). *Contaminación de aguas subterráneas por hidrocarburos líquidos livianos en fase no acuosa*. Obtenido de <http://www.ceiucaweb.com.ar/documentos/2-ambiental/3er-ano-1er-cuatricuatri/geologia/apunte/Extra/FLNA.pdf>
- Roldan , A., & Iturbe, R. (2002). *Saneamiento de suelos contaminados con hidrocarburos mediante biopilas*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/profile/Rosario\\_Iturbe2/publication/237751497\\_SANEAMIENTO\\_DE\\_SUELOS\\_CONTAMINADOS\\_CON\\_HIDROCARBUROS\\_MEDIANTE\\_BIOPILAS/links/55cce69208aebbb8f577ade/SANEAMIENTO-DE-SUELOS-CONTAMINADOS-CON-HIDROCARBUROS-MEDIANTE-BIOPILAS.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Rosario_Iturbe2/publication/237751497_SANEAMIENTO_DE_SUELOS_CONTAMINADOS_CON_HIDROCARBUROS_MEDIANTE_BIOPILAS/links/55cce69208aebbb8f577ade/SANEAMIENTO-DE-SUELOS-CONTAMINADOS-CON-HIDROCARBUROS-MEDIANTE-BIOPILAS.pdf)
- Romig, D., Garlynd, M., Harris , R., & McSweeney , K. (1995). *Los agricultores evalúan la salud y la calidad del suelo*. Obtenido de Conservacion del agua en el suelo.
- Rubio, A. (Julio de 2010). *LA DENSIDAD APARENTE EN SUELOS FORESTALES DEL PARQUE NATURAL LOS ALCORNOQUES*. Obtenido de <http://digital.csic.es/bitstream/10261/57951/1/La%20densidad%20aparente%20en%20suelos%20forestales%20.pdf>
- SAGARPA. (s.f.). *secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural pesca y alimentación*. Obtenido de <http://www.sagarpa.gob.mx/desarrolloRural/Documents/fichasCOUSSA/Abonos%20organicos.pdf>
- Salamanca Jimenez, A., & Sadeghian Khalajabadi, S. (2005). *La densidad aparente y su relación con otras propiedades en suelos de la zona cafetera Colombiana*. Obtenido de [http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/163/1/arc056\(04\)381-397.pdf](http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/163/1/arc056(04)381-397.pdf)
- seklemova, E., Pavlova, & Kovacheva, K. (2001). *Bioestimulación basada en Biorremediación de combustible diesel: demostración de campo. Biodegradación*. Obtenido de <http://revistas.unal.edu.co/index.php/gestion/article/view/39565/42035>

- Semple, K., Reid, B., & Fermor, T. (2001). *Impacto de las estrategias de compostaje en el tratamiento de suelos contaminados con contaminantes orgánicos*.
- Serrano, M., Torrado, L., & Pérez, D. (24 de Septiembre de 2013). *Impacto de los derrames de crudo en las propiedades mecánicas de suelos arenosos*. Obtenido de <http://www.redalyc.org/pdf/4762/476248925012.pdf>
- Shin, E., & Das, B. (2001). *Capacidad de carga de arena contaminada con aceite no saturado*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/recig/v11n12/v11n12a12.pdf>
- Singh, B., Walker, A., Morgan, J., & Wright, D. (2003). *Efectos del suelo pH en la biodegradación de clorpirifos y aislamiento de una bacteria que degrada el clorpirifos*. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC194978/>
- Staunton, S. (1996). *Efecto del pH y algunos aniones orgánicos en el*. Obtenido de [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2389.1996.tb01394.x/epdf?r3\\_referer=wol&tracking\\_action=preview\\_click&show\\_checkout=1&purchase\\_referrer=www.google.com.co&purchase\\_site\\_license=LICENSE\\_DENIED](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2389.1996.tb01394.x/epdf?r3_referer=wol&tracking_action=preview_click&show_checkout=1&purchase_referrer=www.google.com.co&purchase_site_license=LICENSE_DENIED)
- Swannell, Lee, K., & Donagh, M. (2014). *Biorremediación de suelos contaminados por derrames de hidrocarburos derivados del petróleo en Colombia*. Obtenido de [https://www.academia.edu/14634884/BIORREMEDIACION\\_DE\\_SUELOS\\_CONTAMINADOS\\_POR\\_DERRAMES\\_DE\\_HIDROCARBUROS\\_DERIVADOS\\_DEL\\_PETROLEO\\_EN\\_COLOMBIA](https://www.academia.edu/14634884/BIORREMEDIACION_DE_SUELOS_CONTAMINADOS_POR_DERRAMES_DE_HIDROCARBUROS_DERIVADOS_DEL_PETROLEO_EN_COLOMBIA)
- Torres, K., & Zuluaga, T. (2009). *Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos*. Obtenido de [http://www.bdigital.unal.edu.co/815/1/32242005\\_2009.pdf](http://www.bdigital.unal.edu.co/815/1/32242005_2009.pdf)
- Torres, K., & Zuluaga, T. (2009). *BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR HIDROCARBUROS*. Obtenido de Trabajo de grado para optar el título de Ingeniería Química: [http://www.bdigital.unal.edu.co/815/1/32242005\\_2009.pdf](http://www.bdigital.unal.edu.co/815/1/32242005_2009.pdf)
- Trujillo, M., & Ramirez, J. (2017). *Biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos en Colombia*. Obtenido de <http://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/rt/printerFriendly/952/0>

- Unigarro, A., Insuasty, R., & Chaves, G. (2009). *Manual de laboratorio de suelos generales*. Obtenido de Universidad de Nariño.
- Vallejo, V., Salgado, L., & Roldan, F. (2 de Diciembre de 2005). *Evaluación de la bioestimulación en la biodegradación de TPHs en suelos contaminados con petróleo*. Obtenido de Rev. Colomb. Biotecnol.:  
file:///C:/Users/Johana/Downloads/Dialnet-EvaluacionDeLaBioestimulacionEnLaBiodegradacionDeT-2351601.pdf
- Vallejo, V., Salgado, L., & Roldan, F. (Mayo de 2012). *Biorremediación para la degradación de hidrocarburos totales presentes en los sedimentos de una estación de servicio de combustible*. Obtenido de  
<http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/2779/6281683N975.pdf;jsessionid=9BA80AA246B440B4DC978407696E8E88?sequence=1>
- Van Deuren, J., Ledbetter, J., & Wang, Z. (1997). *Tecnologías de remediación, matriz de c*. Obtenido de Agencia de Protección Ambiental.:  
<http://www.epa.gov/tio/remed.htm>.
- Vasallo, J., & Herrera, D. (2002). *Seminario de hidrocarburos*. Obtenido de Escuela Superior de Salud y Ambiente.
- Velasco, N. (2004). *Efecto de Pretratamientos Físicoquímicos en la Biodegradación de Hidrocarburos del Petróleo en un Suelo Intemperizado, por Composteo*. Obtenido de Especialista en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. México D.F.
- Volke, T., & Velasco, J. (2002). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados*. Obtenido de  
<http://www.inecc.gob.mx/descargas/publicaciones/372.pdf>
- Volke, T., & Velasco, J. A. (2005). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados*. Obtenido de  
<http://www.inecc.gob.mx/descargas/publicaciones/372.pdf>
- Zhou, M., & Blunt, M. (Marzo de 2009). *Contaminación de aguas subterráneas por hidrocarburos líquidos livianos en fase no acuosa*. Obtenido de  
<http://www.ceiucaweb.com.ar/documentos/2-ambiental/3er-anio-1er-cuatri/geologia/apunte/Extra/FLNA.pdf>