

	UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA				   	
	GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS					
CARTA DE AUTORIZACIÓN						
CÓDIGO	AP-BIB-FO-06	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA 1 de 1

Neiva, 04 de abril de 2017

Señores

CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA

Ciudad

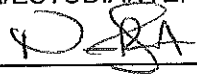
El (Los) suscrito(s):

NATALIA RODRÍGUEZ ANGULO, con C.C. No. 26429753, autor (es) de la tesis y/o trabajo de grado titulado Recuperación del suelo contaminado con hidrocarburo a través de biorremediación en una planta de tratamiento ubicada en la vereda el Dindal, zona seca del municipio de Aipe (Huila) presentado y aprobado en el año 2017 como requisito para optar al título de Magister en Ecología y Gestión de Ecosistemas Estratégicos; Autorizo (amos) al CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN de la Universidad Surcolombiana para que con fines académicos, muestre al país y al exterior la producción intelectual de la Universidad Surcolombiana, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

- Los usuarios puedan consultar el contenido de este trabajo de grado en los sitios web que administra la Universidad, en bases de datos, repositorio digital, catálogos y en otros sitios web, redes y sistemas de información nacionales e internacionales "open access" y en las redes de información con las cuales tenga convenio la Institución.
- Permita la consulta, la reproducción y préstamo a los usuarios interesados en el contenido de este trabajo, para todos los usos que tengan finalidad académica, ya sea en formato Cd-Rom o digital desde internet, intranet, etc., y en general para cualquier formato conocido o por conocer, dentro de los términos establecidos en la Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, Decreto 460 de 1995 y demás normas generales sobre la materia.
- Continúo conservando los correspondientes derechos sin modificación o restricción alguna; puesto que de acuerdo con la legislación colombiana aplicable, el presente es un acuerdo jurídico que en ningún caso conlleva la enajenación del derecho de autor y sus conexos.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, "Los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores", los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.

EL AUTOR/ESTUDIANTE:

Firma: 

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.

	UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS					
	DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO					
CÓDIGO	AP-BIB-FO-07	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA 1 de 3

TÍTULO COMPLETO DEL TRABAJO: Recuperación del suelo contaminado con hidrocarburo a través de biorremediación en una planta de tratamiento ubicada en la vereda el Dindal, zona seca del municipio de Aipe (Huila)

AUTOR O AUTORES:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Rodríguez Angulo	Natalia

DIRECTOR Y CODIRECTOR TESIS:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Cabrera Narváez Gutiérrez Guzmán	Álvaro Francisco Nelson

ASESOR (ES):

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Olaya Amaya García Gómez	Alfredo Ángela Goretty

PARA OPTAR AL TÍTULO DE: Magister en Ecología y Gestión de Ecosistemas Estratégicos

FACULTAD: Ingeniería

PROGRAMA O POSGRADO: Maestría Ecología y Gestión de Ecosistemas Estratégicos

CIUDAD: Neiva **AÑO DE PRESENTACIÓN:** 2017 **NÚMERO DE PÁGINAS:**

TIPO DE ILUSTRACIONES (Marcar con una X):

Diagramas___ Fotografías **X** Grabaciones en discos___ Ilustraciones en general___
Grabados___ Láminas___ Litografías___ Mapas **X** Música impresa___ Planos___
Retratos___ Sin ilustraciones___ Tablas o Cuadros **X**

SOFTWARE requerido y/o especializado para la lectura del documento:

MATERIAL ANEXO:

PREMIO O DISTINCIÓN (En caso de ser LAUREADAS o Meritoria):

Vigilada mieducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.

PALABRAS CLAVES EN ESPAÑOL E INGLÉS:

<u>Español</u>	<u>Inglés</u>
1. Biorremediación	Bioremediation
2. Bioestimulación	Biostimulation
3. Biodegradación	Biodegradation
4. Bopilas	Biopilas
5. Microorganismos	Microorganisms
6. Hidrocarburos	Hydrocarbons
7. Contaminantes	Contaminants
8. Suelo	Floor

RESUMEN DEL CONTENIDO: (Máximo 250 palabras)

El trabajo de investigación se fundamenta en la implementación de una técnica de biorremediación para analizar su efectividad en la recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos dentro de una planta de tratamiento propiedad de la empresa ATP Ingeniería SAS, ubicada en la vereda el Dindal, zona de vida de bosque seco Tropical del municipio de Aipe en el departamento del Huila, considerando los efectos de las condiciones ambientales propias del ecosistema.

Como técnica se utilizó un modelo de biopilas con bioestimulación de los microorganismos autóctonos presentes en el suelo del área, el cual fue mezclado con suelo contaminado proveniente de diferentes zonas de producción del Huila, Tolima y Caquetá. Este proceso de estimulación del suelo consistió en la adición de nutrientes como el Nitrógeno y el Fosforo a partir de compuestos naturales (como la boñiga, la gallinaza y la melaza) y de fertilizantes comerciales (como la urea, el fosfato de amonio DAP, el nitrato de potasio y el triple 15 NPK) para lograr unas condiciones adecuadas en la degradación microbiana, controlando la humectación y la aireación para obtener mejores resultados en la eliminación de hidrocarburos contaminantes.

El seguimiento y medición de las variables de control (temperatura, pH y humedad) y de la variable de respuesta (% de aceites) permitió conocer la acción de los microorganismos del suelo en el proceso de reducción de los contaminantes. Según el análisis de resultados, el comportamiento evolutivo del porcentaje de aceites en las muestras determinó que los tratamientos fueron efectivos con relación a la disminución del agente contaminante de manera rápida pero no alcanzó los parámetros de cumplimiento legal ambiental.

ABSTRACT: (Máximo 250 palabras)

Vigilada mieducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



In this research, a bioremediation technique was applied to analyze its effectiveness in the recovery of contaminated soils with hydrocarbons in a treatment plant of the company ATP Engineering SAS, located in the Dindal, area of tropical dry forest life of Aipe's municipality in the department of Huila, considering the effects of their own environmental ecosystem conditions.

The technique used was through biopilas with biostimulation of the native microorganisms in the soil of the area which was mixed with the contaminated soil from different production areas of Huila, Tolima and Caquetá. This stimulation process consisted in the addition of nutrients, like Nitrogen, Phosphorus and Potassium, from natural compounds (such as cow manure, gallinaza and molasses) and from commercial fertilizers (such as urea, ammonium phosphate DAP, potassium nitrate and triple 15 NPK) to achieve adequate conditions in the microbial degradation process; controlling the humidification and aeration to get better results in the degradation of polluting hydrocarbons.

The measurement of the variables of control (temperature, pH and humidity) and of the variable of response (% of oils) allowed to know the action of soil microorganisms in the process of reducing pollutants. According to the analysis of results, the evolutionary behavior of the percentage of oils in the samples, determined that the treatments were effective in relation to the reduction of the pollutant in a quick way but it did not reach the parameters of legal environmental compliance.

APROBACION DE LA TESIS

Nombre Presidente Jurado: Alfredo Olaya Amaya

Firma:

Nombre Jurado: Alfredo Olaya Amaya

Firma:

Nombre Jurado: Ángela Goretty García Gómez

Firma:

RECUPERACIÓN DEL SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBURO
A TRAVÉS DE BIORREMEDIACIÓN EN UNA PLANTA DE TRATAMIENTO
UBICADA EN LA VEREDA EL DINDAL, ZONA SECA DEL MUNICIPIO DE AIPE
(HUILA)

Natalia Rodríguez Angulo

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE INGENIERÍA
MAESTRÍA EN ECOLOGÍA Y GESTIÓN DE ECOSISTEMAS
ESTRATÉGICOS
NEIVA
2016

RECUPERACIÓN DEL SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBURO
A TRAVÉS DE BIORREMEDIACIÓN EN UNA PLANTA DE TRATAMIENTO
UBICADA EN LA VEREDA EL DINDAL, ZONA SECA DEL MUNICIPIO DE AIPE
(HUILA)

Natalia Rodríguez Angulo

Tesis de grado presentada como requisito parcial para optar el título de Magister
en Ecología y Gestión de Ecosistemas Estratégicos

Director:

MSc. Álvaro Francisco Cabrera Narváez

Co-director:

PhD. Nelson Gutiérrez Guzmán

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE INGENIERÍA
MAESTRÍA EN ECOLOGÍA Y GESTIÓN DE ECOSISTEMAS
ESTRATÉGICOS

NEIVA

2016

NOTA DE ACEPTACIÓN

PhD. ALFREDO OLAYA AMAYA
Jurado

MSc. ÁNGELA GORETTY GARCÍA GÓMEZ
Jurado

MSc. ÁLVARO FRANCISCO CABRERA NARVÁEZ
Director

MSc. NELSON GUTIÉRREZ GUZMÁN
Co-director

Dedicatoria

Este trabajo lo dedico con mucho cariño a mi madre Soledad y a mi padre Jesús María, que siempre me han motivado a luchar por las cosas y me han brindado su amor incondicional, a mi esposo Yonh Fredi y a mis hijos Samuel y Emilio por estar siempre a mi lado y ser el motor de mi vida, a mis hermanos y sobrinos por brindarme su apoyo en todo momento.

Agradecimientos

Quiero expresar primero mi gratitud a la vida por permitirme culminar esta etapa académica; mi más sincero agradecimiento al grupo de docentes y administrativos del programa de la maestría en Ecología y Gestión de Ecosistemas Estratégicos por el apoyo y confianza que me brindaron para terminar el proceso, especialmente a los docentes Alfredo Olaya Amaya y Ángela Goretty García Gómez jurados del trabajo de grado y al profesor Nelson Gutiérrez Guzmán co-director de la tesis; al ingeniero Álvaro Francisco Cabrera Narváez por su asesoría y dirección, a la empresa ATP Ingeniería SAS por permitirme realizar el estudio de investigación y a mi familia padres, hermanos, sobrinos, esposo e hijos que estuvieron presentes en los diferentes momentos vividos. Por último, dar gracias a todas las personas que de alguna forma han contribuido en la realización de este trabajo.

Resumen

El trabajo de investigación se fundamenta en la implementación de una técnica de biorremediación para analizar su efectividad en la recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos dentro de una planta de tratamiento propiedad de la empresa ATP Ingeniería SAS, ubicada en la vereda el Dindal, zona de vida de bosque seco Tropical del municipio de Aipe en el departamento del Huila, considerando los efectos de las condiciones ambientales propias del ecosistema.

La técnica utilizada fue a través de biopilas con bioestimulación de los microorganismos autóctonos presentes en el suelo del área con el cual fue mezclado el suelo contaminado proveniente de diferentes áreas de producción del Huila, Tolima y Caquetá. Este proceso de estimulación consistió en la adición de nutrientes especialmente el Nitrógeno, Fosforo y Potasio en menor cantidad, a partir de compuestos naturales (como la boñiga, la gallinaza y la melaza) y de fertilizantes comerciales (como la urea, el fosfato de amonio DAP, el nitrato de potasio y el triple 15 NPK) para lograr unas condiciones adecuadas en el proceso de degradación microbiana. Además de este factor, se controlaron otras variables de gran importancia como la humectación y la aireación para complementar el proceso anaerobio de los microorganismos y así obtener mejores resultados en la degradación de hidrocarburos contaminantes de las muestras de suelo.

Una vez determinado el montaje de las biopilas se hizo el seguimiento y medición de las variables de control (temperatura, pH y humedad) y de la variable de respuesta (% de aceites); El comportamiento de esta última variable expuso resultados de reducción de los contaminantes a través de la medición del porcentaje de aceites en las muestras, que iniciaron con un valor de 20 y 24% hasta llegar a un rango del 4 al 8% en los diferentes tratamientos aplicados. Estos tratamientos fueron efectivos con relación a la disminución del agente contaminante de manera rápida pero no tuvo la misma aplicabilidad para el cumplimiento legal ambiental de la planta Palmarito pues se esperaba reducir el porcentaje de aceites a un 2%.

Con estos resultados se hizo el análisis de los datos, concluyendo que los microorganismos presentes en el suelo cumplieron con el proceso de biodegradación de los hidrocarburos de petróleo oxidando este compuesto a dióxido de carbono, agua y energía, utilizando las moléculas de carbono del contaminante como fuente de energía propia. Es importante resaltar que en este ecosistema se cuenta con una dinámica microbiana capaz de llevar a cabo el proceso de biorremediación bajo condiciones ambientales normales, y que la bioestimulación permite acelerar dicho proceso.

Finalmente, se exponen algunas estrategias para la recuperación y la conservación de los suelos del ecosistema, dado que es una zona que ha manifestado por muchos años las consecuencias de la explotación petrolera.

Summary

In this research, a bioremediation technique was applied to analyze its effectiveness in the recovery of contaminated soils with hydrocarbons in a treatment plant of the company ATP Engineering SAS, located in the Dindal, area of tropical dry forest life of Aipe's municipality in the department of Huila, considering the effects of their own environmental ecosystem conditions.

The technique used was through biopilas with biostimulation of the native microorganisms in the soil of the area which was mixed with the contaminated soil from different production areas of Huila, Tolima and Caquetá. This stimulation process consisted in the addition of nutrients, in particular Nitrogen, Phosphorus and Potassium in a smaller quantity, from natural compounds (such as cow manure, gallinaza and molasses) and from commercial fertilizers (such as urea, ammonium phosphate DAP, potassium nitrate and triple 15 NPK) to achieve adequate conditions in the microbial degradation process. In addition to this factor, other variables of great importance such as humidification and aeration were controlled to complement the anaerobic process of the microorganisms and in this way to get better results in the degradation of polluting hydrocarbons of the soil samples

Once determined the assembly of the biopilas immediately was made the monitoring and measurement of the variables of control (temperature, pH and humidity) and of the variable of response (% of oils); The behavior of this last variable showed results of reduction of pollutants by measuring the percentage of oils in the samples, which started with a value of 20 and 24% until reaching a range of 4 to 8% in the different treatments applied. These treatments were effective in relation to the quick reduction of the pollutant agent but it did not have the same applicability for the environmental compliance of the Palmarito plant considering that was expected to reduce the percentage of oils to 2%.

With these results the data analysis was done, concluding that the existing microorganisms in the soil fulfilled the biodegradation process of petroleum

hydrocarbons' by oxidizing this compound to carbon dioxide, water and energy, using the carbon molecules of the contaminant as source of own energy. It is important to note that in this ecosystem there is a microbial dynamics capable of carrying out the biorremediation process under normal environmental conditions, and that the biostimulation allows to accelerate this process.

Finally, some strategies are presented for the recovery and conservation of ecosystem soils, considering that it is an area that has showed for many years the consequences of oil exploration.

TABLA DE CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	3
1.2	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	7
1.3	OBJETIVOS.....	7
1.3.1	General	7
1.3.2	Específicos	7
1.4	JUSTIFICACIÓN.....	8
2	MARCO REFERENCIAL	10
2.1	MARCO TEÓRICO	10
2.1.1	El petróleo como fuente de energía	10
2.1.2	Impactos ambientales de los hidrocarburos	12
2.1.3	Remediación de suelos contaminados con hidrocarburos	13
2.1.3.1	Biorremediación <i>In situ</i>	14
2.1.3.2	Biorremediación <i>Ex Situ</i>	16
2.1.4	Factores que influyen en la biorremediación	17
2.1.5	Biorremediación y Ecología	20
2.1.6	Importancia de los ecosistemas secos	21
2.2	ESTADO DEL ARTE	22
3	ÁREA DE ESTUDIO.....	31
3.1	COMPONENTE ABIÓTICO	33
3.1.1	Geología	33
3.1.2	Geomorfología.....	34
3.1.3	Morfometría	35
3.1.4	Morfodinámica	35
3.1.5	Suelos	36
3.1.6	Hidrogeología	39
3.1.7	Hidrología	40
3.2	COMPONENTE BIÓTICO	40
3.2.1	Flora.....	44
3.2.2	Fauna.....	46
3.3	COMPONENTE SOCIAL.....	47
4	METODOLOGÍA	49
4.1	MÉTODO.....	50
4.2	TÉCNICA.....	51
4.3	DISEÑO EXPERIMENTAL	51
4.3.1	Variables.....	51
4.3.2	Tratamientos aplicados	52
4.3.3	Variable de respuesta	54
4.3.4	Variables de Control	54
4.3.5	Análisis estadístico.....	55
4.3.6	Montaje de biopilas y esquema de seguimiento	56
4.3.7	Medición de variable de respuesta.....	58
4.3.8	Medición de variables de Control	59
4.4	ANÁLISIS DE RESULTADOS Y PLANTEAMIENTO DE ESTRATEGIAS PARA LA CONSERVACIÓN DEL ECOSISTEMA	60

5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	61
5.1	DESARROLLO EXPERIMENTAL	61
5.1.1	Pre-tratamiento	61
5.1.2	Montaje de las biopilas.....	62
5.1.3	Seguimiento y medición de variables	64
5.1.4	Adición única de nutrientes.....	70
5.1.5	Incidencia del factor químico del contaminante.....	71
5.2	ANÁLISIS DE RESULTADOS	73
6	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	82
6.1	RECOMENDACIONES Y ESTRATEGIAS DE CONSERVACIÓN	83
7	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
8	APÉNDICE	94

Índice de figuras

Figura 1. Municipio de Aipe, departamento del Huila (Colombia).....	31
Figura 2. División política del municipio de Aipe, ubicación Vda. el Dindal.....	31
Figura 3. Ubicación del área de estudio en vereda el Dindal, municipio de Aipe	32
Figura 4. Modelo de un sistema de biopilas.....	56
Figura 5. Montaje y características del equipo de retorta.....	59
Figura 6. Proceso de pre-tratamiento	62
Figura 7. Proceso de biotransformación natural	69

Índice de tablas

Tabla 1. Unidad de suelo presente en el área de estudio	39
Tabla 2. Cantidad de nutrientes adicionados y % de concentración.....	53
Tabla 3. Rango del % de aceites en suelos contaminados según su nivel	53
Tabla 4. Descripción de nutrientes utilizados en la bioestimulación.....	58
Tabla 5. Métodos para la medición de variables de control	60
Tabla 6. Parámetros de calidad admisible estipulados en la licencia ambiental.....	61
Tabla 7. Humedad en suelos según textura.....	67
Tabla 8. Periodo de seguimiento y medición de variables en las biopilas.....	70
Tabla 9. Degradación de los hidrocarburos con relación al % de aceites	80
Tabla 10. Resultados del seguimiento de la biopila 1	94
Tabla 11. Resultados de descripción estadística biopila 1	94
Tabla 12. Resultados del seguimiento de la biopila 5	95
Tabla 13. Resultados de descripción estadística biopila 5	95
Tabla 14. Resultados del seguimiento de la biopila 2	96
Tabla 15. Resultados de descripción estadística biopila 2	96
Tabla 16. Resultados del seguimiento de la biopila 6	97
Tabla 17. Resultados de descripción estadística biopila 6	97
Tabla 18. Resultados del seguimiento de la biopila 3	98
Tabla 19. Resultados de descripción estadística biopila 3	98
Tabla 20. Resultados del seguimiento de la biopila 7	99
Tabla 21. Resultados de descripción estadística biopila 7	99
Tabla 22. Resultados del seguimiento de la biopila 4	100
Tabla 23. Resultados de descripción estadística biopila 4	100
Tabla 24. Resultados del seguimiento de la biopila 8	101
Tabla 25. Resultados de descripción estadística biopila 8	101
Tabla 26. Cronograma de actividades del proyecto de investigación	105

Índice de gráficas

Gráfica 1. Comportamiento de la temperatura (°C) en las biopilas G1	73
Gráfica 2. Comportamiento de la temperatura (°C) en las biopilas G2.....	73
Gráfica 3. Comportamiento del pH en las biopilas G1	74
Gráfica 4. Comportamiento del pH en las biopilas G2	75
Gráfica 5. Comportamiento de la humedad en las biopilas G1	76
Gráfica 6. Comportamiento de la humedad en las biopilas G2	76
Gráfica 7. Comportamiento del % de aceites en las biopilas G1	77
Gráfica 8. Comportamiento del % de aceites en las biopilas G2	77
Gráfica 9. Porcentaje de reducción de aceites en las biopilas	81
Gráfica 10. Comportamiento de la tasa de degradación de aceites en las biopilas.....	81

Índice de fotografías

Fotografía 1. Entrada a la planta Palmarito.....	32
Fotografía 2. Erosión en Cárcavas geoformas de colinas en la Planta Palmarito	37
Fotografía 3. Vegetación propia del área (matorral arbustivo)	42
Fotografía 4. Vegetación cactácea	42
Fotografía 5. Montaje de biopilas con retroexcavadora	63
Fotografía 6. Montaje de biopilas	63
Fotografía 7. Biopilas en la terminación del montaje	63
Fotografía 8. Biopilas	64
Fotografía 9. Medición de pH a través del pH-metro	66
Fotografía 10. Medición de pH a través del papel indicador de pH	66
Fotografía 11. Quebrada el Dindal, Vda. El Dindal.....	102
Fotografía 12. Vegetación del ecosistema del área de estudio	102
Fotografía 13. Vegetación en la planta Palmarito	102
Fotografía 14. Fauna de la zona.....	103
Fotografía 15. Biopilas con tratamiento.....	103
Fotografía 16. Tratamientos aplicados a escala real	103

1 INTRODUCCIÓN

Debido al acelerado crecimiento y desarrollo que presenta la industria desde el tiempo moderno hasta nuestros días, se ha generado el aumento en la emisión de contaminantes al medio ambiente que pueden provenir de dos fuentes principales: los productos químicos creados para el uso ambiental y el material residual de los diferentes procesos (Levin, M. y Gealt, M., 1997, p. 2).

Estos contaminantes afectan directamente los ecosistemas hasta el punto de interrumpir su dinámica, provocando el deterioro y/o la desaparición de los mismos, sin tener en cuenta que los ecosistemas brindan el soporte ecológico al desarrollo social, cultural y económico de una sociedad. Esta dinámica de los sistemas socio-ecológicos depende en gran parte del cambio en diferentes factores como el clima, los usos de los suelos, las reservas de nutrientes, los valores humanos y las políticas (Restrepo, 2005).

Es así como los ecosistemas pueden adaptarse a los cambios a partir de la capacidad de absorber perturbaciones sin alterar significativamente sus características de estructura y funcionalidad, pudiendo regresar a su estado original una vez que la perturbación ha cesado. Por lo tanto, uno de los principales problemas es evaluar los bienes y servicios que proveen estos ecosistemas y de esta forma establecer estrategias para su preservación y conservación con el objeto de mantener un equilibrio natural (Levin, M. y Gealt, M., 1997, p. 4).

Desde esta percepción, surgen alternativas para mitigar el impacto ambiental que generan los diferentes procesos, especialmente en el sector petrolero, pues es evidente que el petróleo es materia prima fundamental en el desarrollo industrial y económico de todo un país.

Para comprender la naturaleza química de los diferentes derivados del petróleo que potencialmente pueden ser contaminantes en el medio ambiente, hay que entender el

proceso de refinado del crudo utilizado para la obtención de estos productos petrolíferos. El refinado pasa por un proceso de destilación, con la finalidad de eliminar el color y olor, así como también, los compuestos del azufre. Se destila a temperaturas crecientes obteniendo 4 fracciones principales: gasolina, queroseno, destilados medios (querosenos, gasoil, aceites lubricantes) y un residuo. Este residuo se destila al vacío obteniéndose otros aceites lubricantes (más pesados), ceras, parafinas y betunes asfálticos (alquitranes) (Viñas, 2005, p. 31).

Después de dicho proceso se obtienen los productos que son comercializados, pero también se generan remanentes a los cuales se debe dar una disposición según la legislación de cada lugar.

Según Levin (1998), las soluciones viables y permanentes para los problemas de evacuación de estos desechos son taxativas. Durante muchos años han existido procesos alternativos como el entierro en vertederos bajo unas condiciones estandarizadas, la incineración y la implementación de la biodegradación.

Este proceso de biodegradación es una de las opciones más amigables con el ambiente debido a que es un proceso natural realizado por microorganismos (bacterias, hongos o algas), plantas o enzimas, que hacen parte de un sistema de descontaminación basado en la digestión de las sustancias orgánicas de las cuales obtienen la fuente de carbono necesaria para el crecimiento de sus células y una fuente de energía para llevar a cabo todas las funciones metabólicas que necesitan sus células para su crecimiento. Para que estos procesos metabólicos se lleven a cabo, y puedan ser utilizados como una técnica remediativa, será necesario que existan en el medio unas condiciones fisico-químicas óptimas (Maroto, M. y Rogel, J. 2001).

De ahí que la degradación microbiana se convierta en el principal proceso de descontaminación natural (Prince, 1993 citado por Viñas, 2005), el cual se puede acelerar y/o mejorar mediante la aplicación de tecnologías de biorremediación (Alexander, 1999 citado por Viñas, 2005).

Entre las estrategias de biorremediación se puede implementar la bioestimulación, basada en la adición de nutrientes principalmente fuentes de nitrógeno y fósforo para favorecer el crecimiento y desarrollo microbiano, al igual que la estimulación por medio de adición de agua, oxígeno y otros elementos que mejoren el desarrollo de los microorganismos (Pardo, J., *et al.*, 2004 citado por Núñez, 2012).

Teniendo en cuenta este concepto, se desarrollará un proceso de recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos provenientes de diferentes zonas del Huila y otros departamentos aledaños, a través de la técnica de biorremediación, dentro de una planta de tratamiento de residuos localizada en un ecosistema con características de zona seca tropical.

1.1 PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

En el mundo son muchos los casos de contaminación con hidrocarburos que han afectado los ecosistemas tanto acuáticos como terrestres, y de los cuales todavía se sufren las consecuencias que pueden ser persistentes en el tiempo.

De acuerdo a investigaciones de Castro (2014), durante la Guerra del Golfo Pérsico, en 1991, Saddam Hussein mandó a un ejército a encender 600 pozos. El Golfo se convirtió en un lugar tóxico, con mucho humo, hollín y cenizas. Según la Nasa se crearon lagos de aceite; la arena y la grava, combinada con aceite y hollín, formaron una especie de asfalto que endureció el 5% de la superficie del país. Cientos de animales murieron a causa de la niebla aceitosa. Mientras tanto, en mar se han presentado casos como el del buque Exxon Valdez en costas de Prince William Sound, Alaska en 1989, el hundimiento del Prestige en el 2002 frente a las costas españolas o el derrame en el Golfo de México en el 2010 debido a una explosión en la plataforma de perforación Deepwater Horizon, de la compañía British Petroleum, son algunos de los desastres ecológicos más graves de la historia causados por la acción del petróleo y sus componentes.

En Colombia las principales fuentes de contaminación por hidrocarburos son las actividades relacionadas con la explotación, el transporte y almacenamiento de combustibles (Pardo, J., *et al.*, 2004 citado por Núñez, 2012). También se han presentado derrames accidentales de petróleo en el país, la mayoría provocados por las voladuras de oleoductos por parte de grupos al margen de la ley.

Entre los años 1986 y 1998 las incursiones violentas de los grupos al margen de la ley ocasionaron el derramamiento de cerca de dos millones de barriles de petróleo, 7.6 veces el petróleo que se derramo en el desastre del buque Exxon Valdez, sobre ciénagas, pantanos, ríos, quebradas y suelos en su mayoría con vocación agrícola, pecuaria y pesquera; hasta dicha fecha el estimativo de las áreas afectadas fue de 6000 hectáreas de terrenos con potencial agrícola y pecuario, 2600 kilómetros de ríos y quebradas y 1600 hectáreas de ciénagas y humedales, originando grandes impactos negativos de carácter económico social y ambiental (Benavides, J. *et al.*, 2006).

Hasta noviembre de 1998 en Colombia se presentaron 920 ataques contra la infraestructura petrolera, 575 de ellos en el oleoducto Caño limón – Coveñas (el más grande del país, que inicia en el municipio de Arauquita (Arauca) y termina en el municipio de Coveñas (Sucre), que mediante roturas y abolladuras han perjudicado no solo a los ecosistemas y fuentes de producción y abastecimiento de las comunidades aledañas al oleoducto, sino a regiones por donde este transita. Las áreas perjudicadas por los derrames de petróleo se ubican principalmente en la zona alta de la llanura Araucana, en la región de la cuenca del río Catatumbo, en la llanura del valle medio y medio bajo del río Magdalena; departamentos de Santander, Cesar y Sucre, principalmente, y en los departamentos del Putumayo y Nariño (Benavides, J. *et al.*, 2006).

El paso de oleoductos y líneas de transferencia por lomas y medias laderas inestables produjo durante los años 90, 17 derrames de crudo que afectaron al Río Magdalena y a varios de sus afluentes. Durante 1990 es conocido el derrame de crudo en el pozo San Francisco 21, ubicado en la vereda San Francisco del municipio de Aipe

(Huila), que produjo una emergencia ambiental en todo el Alto Magdalena, por la ruptura de una tubería de transferencia de la cual drenaron de manera incontrolada al Río Bache y el Magdalena cerca de 200 barriles (Avellaneda, 2004).

Aunque los ataques han disminuido en la actualidad, los impactos ambientales permanecen en los diferentes ecosistemas afectados y se ven representados en las consecuencias ambientales. En el caso del 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 pueden ser procesos más o menos lentos lo que ocasiona una mayor toxicidad. Además de tener una moderada, alta o extrema salinidad, lo que dificulta su tratamiento, debido a que 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, J. *et al.*, 2006).

Dicha contaminación está ocasionando el deterioro progresivo de la calidad del medio ambiente y genera una amenaza real a la salud pública, así como la extinción de gran cantidad de especies vegetales y animales debido a la afectación que se puede producir en la cadena alimenticia. Según estudios, la contaminación con hidrocarburos en la germinación y crecimiento vegetativo de diferentes especies de pastos sometidos a diferentes concentraciones, provoca una inhibición en la germinación y en ecosistemas forestales y plantas madereras, produce un efecto de necrosis foliar, enfermedad caracterizada por la muerte prematura de las células de las hojas. A esto se suma que para descontaminar un lugar es necesario remover la vegetación y la parte del suelo que entró en contacto con el petróleo, que es generalmente la parte orgánica, donde se encuentran los microorganismos que fertilizan el suelo y dan consistencia al mismo (Benavides, J. *et al.*, 2006).

El comportamiento del petróleo en el suelo depende tanto de las características del suelo como de la composición y propiedades físico-químicas del petróleo. Las

características del suelo están referidas al tipo de suelo, tamaño del grano, porosidad y permeabilidad, contenido de materia orgánica y su capacidad de intercambio iónico; por otra parte la composición química y las propiedades físico-químicas como la solubilidad en medio acuoso, el punto de ebullición, el coeficiente de difusión en el aire y la presión de vapor, son parámetros importante del petróleo a la hora de caracterizar la contaminación de un suelo (Montoya, J. 2002, pp. 68-69).

Dentro de este contexto, a través de la técnica de biorremediación, se busca acelerar el proceso de degradación de los hidrocarburos en el ambiente de manera que se disminuya el impacto negativo causado por la contaminación, usando microorganismos que restauren la calidad ambiental, de acuerdo a las necesidades y dimensiones de la problemática (Pardo, J., *et al.*, 2004 citado por Núñez, 2012).

La técnica se implementará como una prueba piloto en una planta de tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos provenientes de diferentes áreas del Huila, Tolima y Caquetá donde se desarrollan procesos de explotación y producción de petróleo. Esta planta se localiza en la vereda el Dindal del municipio de Aipe (Huila), un ecosistema seco que presenta procesos de desertificación, a una altura promedio de 460 m.s.n.m., con temperatura media anual mayor a 27 °C y precipitaciones promedio al año de 1319 mm, condiciones climáticas que lo sitúan en la zona de vida (bs-T) bosque seco Tropical (Holdridge, 1978 citado por Méndez *et al.*, 2012).

Este factor es determinante en la interacción tanto de especies animales, como en el aprovechamiento de los recursos, debido a que en el bosque seco existen zonas con suelos relativamente fértiles, que han sido altamente intervenidos para la producción agrícola y ganadera, la minería, el desarrollo urbano y el turismo. Dicha transformación es negativa para la biodiversidad y los servicios que presta el ecosistema (Pizano *et al.*, 2014).

1.2 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Qué tan efectivo es el proceso de biorremediación a través de la bioestimulación bajo las condiciones ambientales características de un ecosistema seco ubicado en la vereda el Dindal del municipio de Aipe?

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 General

Implementar un proceso de biorremediación que sea efectivo para la recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos tratados en una planta ubicada en la vereda el Dindal del municipio de Aipe, ecosistema seco que presenta procesos de desertificación.

1.3.2 Específicos

- I. Aplicar la bioestimulación como parte del proceso de biorremediación para lograr la recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos dentro de una planta de tratamiento ubicada en una zona vida de bosque seco Tropical.
- II. Determinar la efectividad de la técnica de biorremediación aplicada para recuperar el suelo contaminado con hidrocarburos en un ecosistema seco a partir del comportamiento de los organismos autóctonos y de las condiciones ambientales.
- III. Plantear estrategias para la recuperación y conservación del ecosistema de bosque seco que caracteriza el área de estudio teniendo en cuenta los beneficios que ofrece el proceso de biorremediación.

1.4 JUSTIFICACIÓN

En Colombia, los residuos sólidos y líquidos contaminados con aceites e hidrocarburos son considerados como residuos peligrosos según el anexo I y II numeral 9 del convenio de Basilea, aprobado por la Ley 253 de 1996 del Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial (2005). Así mismo, el Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria (CEPIS), del cual hace parte nuestro país y otros países de América Latina y el Caribe, ha establecido el Programa Regional para el Manejo de Residuos Peligrosos (RESPEL), en el cual se determina que un residuo peligroso es aquel que, en función de sus características de corrosividad, reactividad, explosividad, toxicidad, inflamabilidad y patogenicidad puede presentar riesgo a la salud pública o causar efectos adversos al medio ambiente (Ñústez, 2012, p.6).

Partiendo de esta determinación legal, en Colombia se debe dar un buen manejo a los residuos peligrosos generados dentro de los diferentes procesos industriales, los cuales, finalmente serán expuestos al medio ambiente bajo condiciones estandarizadas.

Actualmente, la biorremediación es una alternativa para llevar a cabo dicho cumplimiento legal ambiental. Esta técnica se basa en la degradación microbiana, principal proceso de descontaminación natural, el cual se puede acelerar y/o mejorar mediante la aplicación de diferentes técnicas logrando grandes resultados en el manejo de los residuos peligrosos provenientes de la contaminación con hidrocarburos (Prince, 1993; Alexander, 1999 citado por Viñas, 2005).

Esta tecnología se ha transformado en la colaboradora directa de la naturaleza, que no siempre es capaz de superar por sí sola los desequilibrios causados por la acción del hombre. Ibarra y Redondo (2011), exponen que durante la biorremediación se logra la mineralización total de algunos contaminantes gracias a la acción de microorganismos que degradan los desechos en productos menos tóxicos permitiendo la restauración y conservación de los ecosistemas intervenidos.

Con base en estos fundamentos, se implementará la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos a través de la técnica de bioestimulación, en una planta de tratamiento ubicada dentro de una zona de vida de bosque seco Tropical (bs-T), en la vereda el Dindal del municipio de Aipe (Huila), área que a través del tiempo ha sido explotada y afectada por la industria petrolera. Los resultados permitirán analizar las ventajas y desventajas de esta técnica y determinar la efectividad del proceso al trabajar con organismos nativos bajo condiciones ambientales controladas.

2 MARCO REFERENCIAL

2.1 MARCO TEÓRICO

2.1.1 El petróleo como fuente de energía

Desde el momento que aparecieron las plantas en el planeta tierra, estas han estado utilizando la energía del Sol para convertir dióxido de carbono y agua en oxígeno y las sustancias químicas orgánicas de la vida, en un proceso llamado *fotosíntesis*. Los animales, ya sea directamente al comer las plantas o de manera indirecta, adquieren estos materiales orgánicos de las plantas y los modifican para su propia existencia. Cuando utilizan estos compuestos orgánicos para conseguir energía, utilizan oxígeno del aire y devuelven dióxido de carbono y agua. De esta forma se completa el ciclo del carbono. Conforme los ciclos vitales normales de crecimiento, muerte y descomposición continuaron tras siglos, los restos de la vida vegetal y animal prehistórica se asentaron en el fondo de lagos, pantanos y océanos acumulándose a lo largo del tiempo; bajo ciertas condiciones de temperatura y presión se convirtieron en una mezcla compleja de compuestos orgánicos llamada petróleo y, en otras, en enormes depósitos de hulla (Bailey, 1998, p. 63).

El petróleo crudo es ordinariamente un líquido negro, viscoso y maloliente compuesto por diferentes moléculas de hidrocarburos, que varían en peso molecular desde el gas metano hasta los altos pesos moleculares de alquitranes y bitúmenes. Estos hidrocarburos pueden presentarse en un amplio rango de estructuras moleculares: cadenas lineales y ramificadas, anillos sencillos, condensados o aromáticos. Los dos grupos principales de hidrocarburos aromáticos son los monocíclicos, el benceno, tolueno y xileno (BTEX) y los hidrocarburos policíclicos (PAHs) tales como el naftaleno, antraceno y fenantreno (Vargas, P., *et al.*, 2004 citado por Núñez, 2012, p. 9).

El petróleo y sus derivados, han sido una fuente de energía y materia prima, que el hombre ha aprovechado en su beneficio, para el transporte aéreo, acuático y terrestre, se utiliza en las industrias químicas, farmacéuticas, manufactura de plásticos y materiales diversos, incluyendo sus primeros usos: de impermeabilización, iluminación, como generador de electricidad, este corresponde al energético más importante en la historia de la humanidad; alimenta un porcentaje muy alto del consumo de energía del mundo, entre el 32% de Europa y Asia, hasta el 53% de Oriente Medio, en Sudamérica y América Central el 44%, África el 41% y Norteamérica el 40%. Un barril de petróleo se convierte en combustibles: más del 40% en gasolina, de 30 a 35 % en combustóleo para calefacción y otros fines; y de 7 a 10 % en turbosina o combustible para motores de reacción; gran parte de lo que resta se vende como gasolina de avión, gas licuado de petróleo, aceites lubricantes, grasas y asfaltos. Sólo una pequeña fracción, alrededor del 5% de esta rica provisión de materiales orgánicos se usa en la industria petroquímica para fabricar fármacos, colorantes, plásticos y otros productos de uso común en la cultura actual (Ñústez, 2012; Bailey, 1998).

La historia del petróleo como elemento vital y factor estratégico de desarrollo es relativamente reciente, de menos de 200 años. Se comercializó por primera vez bajo el nombre de "aceite de roca", en el año 1850, Samuel Kier, un boticario de Pittsburg, Pennsylvania de EE.UU., a partir de entonces se puede decir que comenzó el desarrollo de la industria del petróleo y el verdadero aprovechamiento de un recurso que indudablemente ha contribuido a la formación del mundo actual (Vasallo, J., y Herrera, D., 2002 citado por Ñústez, 2012).

El sector petrolero en Colombia ha tenido una importancia creciente en la economía del país en los últimos años. Este sector es estratégico para la economía por su alta participación en el producto interno bruto, porque genera un porcentaje muy alto de las exportaciones totales y porque es también una fuente muy importante de recursos fiscales para el gobierno nacional y para los gobiernos seccionales (Vargas, P., *et al.*, 2004 citado por Ñústez, 2012).

2.1.2 Impactos ambientales de los hidrocarburos

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 (Benavides *et al.*, 2006). Son muchas los aspectos que influyen en esta situación, siendo una de las principales la acción terrorista de grupos al margen de la ley.

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 atmosfera. No solo las contaminaciones se producen por roturas de los sistemas de almacenaje o de transporte, sino que el mal manejo del producto y sus residuos puede provocar impactos negativos en la ecología regional (Vasallo, J., y Herrera, D., 2002 citado por Núñez, 2012, p. 10).

Para Benavides *et al.* (2006), 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 pueden ser procesos más o menos lentos, lo que ocasiona una mayor toxicidad. Además de tener una moderada, alta o extrema salinidad, lo que dificulta su tratamiento, debido a que 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.

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. El petróleo y sus componentes en el suelo, se convierte en un riesgo para la salud humana y los ecosistemas. En algunos casos, la contaminación no solo provoca problemas de toxicidad, sino que además puede ocasionar grandes riesgos de explosiones y/o incendios.

2.1.3 Remediación de suelos contaminados con hidrocarburos

Las estrategias para el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos pueden ser físicas-químicas-biológicas según Nústez (2012), entre las más comunes se encuentran:

- a. Físico-química: Extracción con disolventes (lavado con agua y disolventes orgánicos, agentes tenso activos, ciclo dextrinas, aceite vegetal), extracción con fluidos supercríticos, la extracción con fluido subcrítico.
- b. Químico: Oxidación química con diversos oxidantes (por ejemplo, el reactivo de Fenton, el ozono, peróxido-ácido, KMnO_4 , H_2O_2 , Persulfato de sodio), la degradación foto catalítica y la remediación electrocinética.
- c. Físicos-Térmicos: La incineración, desorción térmica, el suelo térmicamente mejorado con la extracción de vapor.
- d. Biológico: La biorremediación *in situ* como la biolabranza y el compostaje, tratamiento aeróbico, anaeróbico y la fitorremediación.

A nivel biológico, la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos se ha convertido en un tema importante en la investigación ambiental; muchas de las estrategias de biorremediación se han desarrollado y mejorado para tratar los suelos contaminados a través de la aceleración de los procesos naturales de biodegradación, mediante bacterias u otros microorganismos que alteran y convierten moléculas orgánicas en otras sustancias, como CO_2 , agua y metano. La biorremediación por lo general, consiste

en la aplicación de fertilizantes nitrogenados y/o de fósforo, en ajustar el pH, mantener el contenido de agua necesaria, oxigenar y se acompaña a menudo con la adición de bacterias. Además, cuando los contaminantes tienen mala solubilidad del agua, la adición de emulsionantes y agentes de superficie activa (surfactantes) aumenta la velocidad de biodegradación mediante el aumento de la biodisponibilidad del contaminante (Xu, Y., y Lu, M., 2010; Calvo, C., *et al*, 2009 citados por Núñez, 2012).

En la biorremediación de suelos se pueden presentar estrategias *in situ* y *ex situ*. La biorremediación *in situ* se refiere al tratamiento biológico de suelos contaminados sin excavar antes del tratamiento y *ex situ* a tratar el suelo contaminada en un lugar dispuesto para esto, las estrategias *in situ* presentan mayores ventajas sobre las *ex situ*, por su menor costo en traslado y la poca generación de residuos en el proceso (Xu, Y., y Lu, M., 2010 citados por Núñez, 2012).

Las estrategias, más empleadas en biorremediación son:

2.1.3.1 Biorremediación *In situ*

Entre estas estrategias encontramos la biolabranza, la cual hace parte de un proceso en el cual el suelo contaminado se mezcla con agentes de volumen y se la realiza una labranza periódica para favorecer la aireación. Dentro de las ventajas se puede decir que es un proceso considerado de bajo nivel tecnológico que no requiere exigentes consideraciones de ingeniería, y a la vez permite una fácil manipulación y control de las variables de diseño y operación. Entre sus desventajas está que requiere grandes extensiones de área, otro inconveniente es que si los hidrocarburos contaminantes son livianos, estos pueden volatilizarse, lo cual generaría problemas en el aire y cuando la contaminación es profunda los costos de excavación y movimiento de tierras pueden ser muy altos, esta estrategia puede aplicarse *ex situ* de igual manera (Duran, M., y Contreras, N., 2006 citado por Núñez, 2012, p. 20).

La bioaireación es otra práctica, que consiste en proporcionar oxígeno al subsuelo estimulando la degradación por medio de microorganismos nativos, se ha convertido en una de las estrategias *in situ* más costo-efectivas disponibles para hacer frente a derrames de hidrocarburos de petróleo, ya que el aire se suministra mediante un sistema de inyección, en cuanto a costos no requiere maquinaria pesada ni excavaciones grandes, ni áreas adicionales para llevar a cabo el tratamiento, Sin embargo, la aplicación de esta estrategia tiene obstáculos considerables debido a la biodisponibilidad de los diferentes contaminantes y esto influye en la velocidad de degradación (García, J., *et al*, 2010 citado por Núñez, 2012, p. 20).

La bioestimulación consiste en la estimulación de los microorganismos nativos, para activar y acelerar la degradación de contaminantes; se puede llevar a cabo con la adición de agua, oxígeno, nutrientes, aceptor de electrones, entre otros parámetros que permitan el buen desarrollo de los microorganismos. Dentro de los nutrientes se encuentran principalmente el nitrógeno y fósforo, el nitrógeno proporciona el elemento necesario para la producción de aminoácidos y enzimas, y la fuente de fósforo interviene en la formación de compuestos energéticos dentro de la célula que se utilizan en los procesos de reproducción y degradación, estos fertilizantes pueden ser de uso agrícola o de origen orgánico como estiércol. Para que esta condiciones funcionen, el contaminante no debe ser recalcitrante, es decir, los microorganismos deben ser capaces genética y fisiológicamente suficiente como para degradar la sustancia (Taccaria, M., *et al*, 2012; Atlas, 2002 citados por Núñez, 2012, p. 21).

Finalmente la bioaumentación, la cual se fundamenta en la adición de cepas microbianas externas (diferentes a las nativas), al suelo contaminado, estos microorganismos están adaptados o incluso modificados genéticamente y cuentan con la capacidad de degradar el contaminante. Esta estrategia no requiere área adicional, ni maquinaria pesada; como desventaja esta la inoculación a gran escala, el que entra a competir con los microorganismos nativos y pueden tener limitaciones con las condiciones climáticas del sitio a tratar. Con un buen estudio de las condiciones del área a inocular, esta estrategia puede aumentar las tasas de remoción del contaminante

mediante el aumento de la población bacteriana (Ta-Chen, L., *et al*, 2010 citados por Núñez, 2012, p. 21).

2.1.3.2 Biorremediación Ex Situ

El Compostaje es un proceso biológico controlado y funciona como un sistemas cerrado, ofreciendo la oportunidad de asegurar el uso de altas temperaturas ($> 70^{\circ}\text{C}$) con el fin de cumplir con requisitos regulatorios para el control de patógenos; esta estrategia debe ser más controlada por los operadores y permite seleccionar los parámetros adecuados de operación por ejemplo, temperatura, contenido de humedad (CH), las proporciones de mezcla (agentes de volumen, paja, aserrín, estiércol, desechos agrícolas) para promover tanto la actividad microbiana y la degradación del contaminantes. La aplicación de compostaje como una estrategia de biorremediación tiene como objetivo maximizar la eliminación del contaminante y producir un compuesto maduro que podría ser utilizado en la restauración de la tierra para uso industrial. Los sistemas de compostaje incluyen tambores rotatorios, tanques circulares, recipientes abiertos y biopilas (Ladislao, B., *et al*, 2007 citado por Núñez, 2012, p. 21).

Los biorreactores se utilizan para suelos que se caracterizan por un alto contenido de arcilla y materia orgánica, acoplado a baja conductividad hidráulica y la baja permeabilidad, se caracteriza por ser de contacto líquido-sólido, el suelo es depositado en tanques cerrados, donde se le adicionan nutrientes, agua, oxígeno y cultivos microbianos adecuados, se mezclan para que se lleve a cabo la degradación, en comparación con otras estrategias de biorremediación este proporciona el mayor contacto entre los contaminantes, los microorganismos, el oxígeno, el agua y los nutrientes, lo cual, lo hace una tecnología más efectiva. Como desventaja esta estrategia es más costosa y requiere un tratamiento adicional del agua resultante al realizar la separación del líquido y el suelo, no es viable para contaminantes volátiles (González, I., *et al*, 2006 citado por Núñez, 2012, p. 22).

2.1.4 Factores que influyen en la biorremediación

Dentro del proceso de biorremediación se deben tener en cuenta los factores ambientales que influyen en la biodegradación tales como: temperatura, pH, humedad, nutrientes (principalmente nitrógeno y fósforo), aceptores de electrones (oxígeno, nitrato, sulfato) y presencia de microorganismos (Ñústez, D. 2012, p. 24).

La **temperatura** es uno de los factores ambientales más importantes pues tiene una gran influencia en la biodegradación por su efecto sobre la naturaleza física y química del petróleo y sus derivados. A bajas temperaturas la viscosidad de los hidrocarburos aumenta, la volatilización de alcanos de cadena corta se reduce y disminuye la solubilidad del O₂ en agua, afectando así la biodegradación. Las tasas de degradación generalmente aumentan cuando la temperatura incrementa (Pardo, J., *et al.*, 2004; Ríos, R., 2005 citados por Ñústez, 2012, p. 24).

Esta 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 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, S., *et al.*, 2008 citado por Ñústez, 2012, p. 24)

Por otro lado, el **pH** es un factor químico importante que influye en la recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos, ya que determina el grado de adsorción de iones por las partículas del suelo, afectando así su solubilidad, movilidad, disponibilidad y sus formas (Volke, T., y Velasco, J., 2002 citado por Ñústez, 2012). Las formas catiónicas (NH⁴⁺, Mg²⁺, Ca²⁺) son más solubles a pH ácido mientras que las formas aniónicas (NO₃⁻, NO₂⁻, (PO₄)₃⁻, Cl⁻) son más solubles a pH alcalino. Por lo tanto, si es necesario alcalinizar un suelo se utiliza arena de caliza e iones Ca²⁺ y Mg²⁺, mientras que

para acidificar un suelo se utiliza FeSO_4 ; estudios demuestran que la acidificación o la reducción del pH en el suelo se pueden realizar adicionando compuestos del azufre. 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 (Gómez, S., *et al.*, 2008 citados por Núñez, 2012, p. 25).

La **humedad** también 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, S., *et al.*, 2008 citado por Núñez, 2012). Un exceso de humedad inhibirá el crecimiento bacteriano al reducir la concentración de oxígeno en el suelo y una poco 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, K. y Zuluaga, T., 2009 citados por Núñez, 2012, p. 25).

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 aumentan la eficiencia y el buen desarrollo de la biorremediación. Estos se dividen en dos grandes grupos: macronutrientes y micronutrientes. Entre los macronutrientes de mayor importancia metabólica se encuentran el carbono (C) 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 ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) y de origen orgánico como estiércol, para acelerar el proceso de biorremediación. 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 (Vallejo, V., *et al.*, 2005; Gómez, S., *et al.*, 2008 citados por Núñez, 2012, p. 26).

Los **Aceptores de electrones**, son otro factor importante en el proceso de biorremediación porque aumentan la actividad de las poblaciones microbianas nativas o inoculadas, por lo cual 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, si utiliza los sulfatos o el dióxido de carbono, se produce en condiciones reductoras o anaerobias (Hamdi, H., *et al.*, 2007; Gómez, S., *et al.*, 2008 citado por Núñez, 2012, p. 27).

Finalmente los **microorganismos** son la base del todo el proceso pues algunas especies pueden metabolizar un número limitado de hidrocarburos, de manera que la presencia de poblaciones mixtas o heterogéneas 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, R., 2005 citado por Núñez, 2012, p. 28).

El factor microbiológico más importante en la biorremediación es la transformación biológica de compuestos orgánicos, catalizada por acción de las enzimas. Frecuentemente, los organismos que tienen las enzimas para degradar están presentes en el suelo, como en el caso de las bacterias, que son el grupo de organismos más abundante en los suelos y la cantidad de especies presentes en el mismo parece relativamente constante alrededor del mundo. Estos organismos son un grupo diverso con variaciones extensivas en las propiedades morfológicas, ecológicas y fisiológicas. Entre las más comunes se encuentran: *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Vibrio*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Spirillum*, *Xanthomonas*, *Alcaligenes*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium* y *Flavobacterium*, entre otras (Torres, K. y Zuluaga, T., 2009, p. 43).

Por su diversidad, las bacterias se encuentran regularmente en comunidades donde algunas especies son degradadores primarios, es decir, ellas inician la degradación de la materia orgánica en el suelo y otras crecen en compuestos resultantes de la degradación parcial de complejos orgánicos o productos residuales de degradadores primarios. Aunque en muchos casos sea el tipo de suelo el que determina la composición de las comunidades bacterianas, en otros casos es la forma de manejo el parámetro más relevante puesto que la diversidad de estos microorganismos puede verse reducida por actividades antrópicas (Torres, K. y Zuluaga, T., 2009).

2.1.5 Biorremediación y Ecología

Tradicionalmente, el campo de la biorremediación ha estado dominado por un enfoque característico de trabajos de ingeniería. Para Garbisu, C., Amézaga, I. y Alkorta, I. (2012) subyace una filosofía más preocupada por cuestiones tales como el estudio de equilibrios de masa y ecuaciones aplicadas al funcionamiento de biorreactores, entre otros, que por los principios ecológicos que gobiernan los procesos naturales de selección natural, idoneidad y adaptación a los nichos ecológicos, especificidad, y diversidad biológica, entre otros. Estos procesos, en último término, son los responsables de que una bacteria degrade un contaminante, ya sea para utilizarlo como sustrato de crecimiento

(con el consiguiente beneficio energético que ello conlleva para el microorganismo) o, simplemente, para transformarlo en una sustancia inocua o menos tóxica mediante un mecanismo de destoxificación.

Es importante combinar este enfoque con un esquema más ecológico donde se dé prioridad al comportamiento de los organismos degradadores y a las condiciones ambientales que favorecen el proceso de selección natural, dejando una vez más que la naturaleza repare los daños causados por la especie humana.

De esta manera, se podrá abrir camino al proceso de recuperación de los ecosistemas secos intervenidos en el área de estudio, uno de los más degradados, menos conservados y poco conocidos, restaurando los suelos y repoblando la vegetación para tener bosques sostenibles que beneficien no solo a la comunidad circundante, sino también al resto de seres vivos que habitan en ellos.

2.1.6 Importancia de los ecosistemas secos

El bosque seco Tropical (bs-T) se constituye como un ecosistema propio que mantiene atributos climáticos de la región donde se desarrolla, siendo parte de un zonobioma tropical alternohigróico o tropical con lluvias de verano, lo que establece una marcada estacionalidad de las lluvias (Otero, E. *et al.*, 2006). En Colombia se encuentra en seis regiones: el Caribe, los valles interandinos de los ríos Cauca y Magdalena, la región Nor-Andina en Santander y Norte de Santander, el valle del Patía, Arauca y Vichada en los Llanos.

Originalmente este ecosistema cubría más de 9 millones de hectáreas en nuestro país, de las cuales quedan en la actualidad apenas un 8%, por lo cual es uno de los ecosistemas más amenazados en el país. Esto se debe a que el bosque seco existe en zonas con suelos relativamente fértiles, que han sido altamente intervenidos para la producción agrícola y ganadera, la minería, el desarrollo urbano y el turismo. Esta transformación es

nefasta para la biodiversidad asociada al bosque seco y los servicios que presta este bosque (Pizano *et al.*, 2014).

El bs-T tiene una biodiversidad única de plantas y animales que se han adaptado a condiciones de estrés hídrico, por lo cual presenta altos niveles de endemismo. Es decir que contiene especies que no se dan en ningún otro tipo de ecosistema. Por ejemplo, la vegetación del bosque seco tropical se caracteriza por estar adaptada al déficit de agua con estrategias como la pérdida de hojas durante la época de sequía. Además presenta modificaciones físicas en su estructura como hojas compuestas pequeñas, cortezas de troncos lisas y presencia de aguijones o espinas. Otros organismos como los insectos y los mamíferos, presentan particularidades fisiológicas como adaptación a la fuerte estacionalidad y largos periodos de sequía (Pizano *et al.*, 2014).

Además presta servicios fundamentales para las comunidades humanas como la regulación hídrica, la retención de suelos, y la captura de carbono que regula el clima y la disponibilidad de agua y nutrientes. Finalmente, los bosques secos suministran especies de leguminosas forrajeras, ornamentales y frutales importantes para el sustento y el bienestar de los pobladores aledaños a ellos. Por su ubicación dentro de mosaicos de paisajes dominados por zonas agrícolas y ganaderas, estos bosques secos brindan la posibilidad de mantener especies de insectos que ayudan en el control de plagas y vectores de enfermedades (Pizano *et al.*, 2014).

2.2 ESTADO DEL ARTE

La elevada complejidad de la composición del crudo de petróleo y sus derivados, requiere una alta capacidad enzimática si se quiere conseguir una degradación significativa del mismo. La mayor parte de los estudios realizados se han llevado a cabo con cepas bacterianas individuales o con la combinación de diferentes cepas aisladas (Bayona *et al.*, 1986; Palittapongarnpim *et al.*, 1998; Solanas *et al.*, 1984 citado por Viñas, 2005), las cuales especializan en degradar alcanos debido a que los alcanos son los

componentes más abundantes del crudo de petróleo y los más fáciles de degradar por su estructura química, pues una parte de ellos se volatiliza debido a la exposición solar. No obstante en algunos casos, estas cepas tienen la capacidad de oxidar selectivamente las cadenas alquílicas de ciertos HAPs alquilados, compuestos abundantes en el crudo (Davis y Raymond, 1961 citado por Viñas, 2005).

Las primeras estrategias de biorremediación que se aplicaron fueron similares a la “biolabranza”, lógicamente fueron utilizadas por compañías petroleras, fundamentalmente para la remediación de vertidos de gasolina en los años 70. En los años 80 se generalizó el uso del aire y peróxidos para suministrar oxígeno a las zonas contaminadas mejorando la eficiencia de los procesos de degradación y ya durante los años 90, el desarrollo de estrategias de “burbujeo de oxígeno” hizo posible la biorremediación en zonas por debajo del nivel freático. Al mismo tiempo, la implementación en la práctica de aproximaciones experimentales en el laboratorio permitió el tratamiento de hidrocarburos clorados, los primeros intentos con metales pesados, el trabajo en ambientes anaerobios, etc. Paralelamente, se desarrollaron métodos de ingeniería que mejoraron los rendimientos de las estrategias más populares para suelos contaminados (“biolabranza”, “compostaje”) (Torres, K. y Zuluaga, T., 2009 citado por Núñez, D., 2012, p. 30).

Saval, S., y Lesser, J. (2000) documentaron una experiencia de caracterización y remediación de un suelo arcilloso contaminado con hidrocarburos sobre la superficie de un terreno en el que existieron fugas de combustibles con anterioridad, este fue sometido a tratamiento de biorremediación por medio de reactores a nivel piloto agregando microorganismos y algunos nutrientes. El estudio concluyó que la concentración de diésel se redujo de 20000 a menos de 300 mg/l y el contenido de gasolina no fue detectable (Núñez, D. 2012, p. 30).

Schmidt, W. (2002) evaluó la biorremediación como una solución ecológicamente compatible y encontró que en comparación con las tecnologías disponibles, la biorremediación, aún de larga duración (mayor a 90 días) y de extensa labor, alcanza

costos de limpieza por tonelada de suelo tratado considerablemente más bajos que cualquier otra tecnología disponible en el mercado. Mehrasbi, M., *et al.* (2003), estudiaron la adición de nutrientes para la biodegradación de hidrocarburos presentes en el suelo durante un período de 5 meses y los análisis mostraron la descontaminación biológica para gasolina, queroseno y una mezcla sintética de gasolina, queroseno y aceite de caldera los porcentajes fueron del 60%, 36% y 55%, respectivamente (Ñústez, D. 2012, p. 30).

Ayotamuno, M., y Okparanma, N. (2007), demostraron que con labores regulares de adición de agua y mezclado, se pueden alcanzar reducciones de hidrocarburos totales en lodos contaminados con hidrocarburos, que varían entre 40.7% y 53.2% en dos semanas de tratamiento y entre 63.7% y 84.5% después de 6 semanas de tratamiento (Ñústez, D., 2012, p. 31).

A nivel mundial las investigaciones de suelos contaminados con hidrocarburos han aumentado gracias a la implementación de diferentes estrategias de biorremediación; por ejemplo, en china, Xu, Y. y Lu, M. (2010) emplearon la bioestimulación con fertilizantes inorgánicos y bioaumentación con bacterias nativas para el tratamiento de suelo contaminado con aceite de crudo por 12 semanas, el suelo fue recogido en la provincia de Liaoning y se utilizó un bioportador de microorganismos preparado y manejado en el laboratorio que consistía en cascara de maní en polvo por sus propiedades porosas, granulares y de fácil acceso económico, las bacterias fueron cultivadas desde una muestra de suelo contaminado con aceite de crudo y puestas en el bioportador, para luego ser puestas en el sistema de tratamiento, el fertilizante aplicado fue $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ y K_2HPO_4 , cada unidad se mezcló a fondo cada dos días para permitir una buena aireación, las bandejas se incubaron en un invernadero a 25-30°C, y el porcentaje de humedad se mantenía entre un 18% a 20% con la adición de agua, este estudio demostró que la bioaumentación con especies nativas y el bioportador era la manera más eficaz para eliminar el petróleo con remociones del 26 al 61% (Ñústez, D., 2012, p. 31).

Una revisión en Portugal por Tyagi, M., y Fonseca, M. (2010), dio como resultado que la efectividad y las limitaciones de los procesos de bioaumentación y la

bioestimulación, bajo condiciones controladas (laboratorio) y de estudios de casos reales en el campo, deducen que las estrategias tienen buenos resultados en condiciones controladas, hay diferencias en la aplicación en campo ya que se deben considerar las condiciones ambientales y parámetros asociados al suelo, como el contenido de nutrientes y su disponibilidad, la población microbiana, la temperatura, pH y entre otras, antes de su implementación, pero la combinación de las dos estrategias aplicados en condiciones de campo han generado buenos resultados en la reducción de contaminantes. Estas estrategias también se han considerado para climas muy fríos (Ñústez, D., 2012, p. 31)

En Finlandia por Kauppi, S., *et al.*, (2011) se plantearon como primer objetivo el de determinar si la manipulación de los niveles de nutrientes del suelo y la porosidad, tienen un efecto significativo en la biorremediación en condiciones boreales, el segundo objetivo fue comprobar si la bioaumentación con un consorcio de enriquecimiento o de una cepa aislada degradadora, podría acelerar la degradación del aceite de hidrocarburo y/o influir en la población microbiana en el suelo tratado, llegando a la conclusión de que la bioestimulación mediante la optimización de nitrógeno y oxígeno mejora de manera significativa la biorremediación de aceite de petróleo en el suelo contaminado, mientras que la bioaumentación no tuvo ningún efecto adicional (Ñústez, D., 2012, p. 31).

En Barcelona - España, Sayara, T., *et al.*, (2011) señalaron la influencia de la bioestimulación y bioaumentación, en el compostaje de suelos contaminados con hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), en la bioestimulación se usó compost de una fracción orgánica seleccionada de los residuos sólidos municipales (FORM) y comida de conejo como sustratos orgánicos, la bioaumentación con los hongos de pudrición blanca *Trametes-versicolor*, el proceso duro treinta (30) días de incubación, se evaluó a través de diferentes aspectos como el índice de respiración dinámica (DRI), el consumo de oxígeno acumulado durante 5 días (AT5), la actividad enzimática y biomasa de hongos; después de los análisis se demostró que el hongo no mejora significativamente la degradación de los HAPs, sin embargo, la bioestimulación fue capaz de mejorar la degradación de HAPs en un 89% del total PAHs en el período de compostaje (30 días) en

comparación con el 29,5% del total PAHs, que logró los microorganismos nativos del suelo sin sustrato (control, no modificado) (Núñez, D., 2012, p. 32).

Allí mismo, desde el año 1976 un grupo de investigación de la Universidad de Barcelona, ha trabajado principalmente en el campo de los procesos de biodegradación microbiana aeróbica de hidrocarburos del petróleo a escala de laboratorio. En las primeras fases de estudio, se aislaron cepas marinas degradadoras de crudo de petróleo, entre las que cabe destacar la cepa *Pseudomonas* sp. F21, capaz de degradar tanto la fracción saturada como los compuestos aromáticos de un crudo de petróleo ligero (Solanas, 1981 citado por Viñas, 2005). Los estudios de biodegradación se combinaron con estudios de genotoxicidad ambiental de matrices contaminantes enriquecidas en hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en los que quedó reflejado la importancia de los HAPs en la genotoxicidad en diferentes ambientes y matrices ambientales. Sobre la base de los conocimientos adquiridos en la biodegradación de las distintas fracciones químicas del petróleo, y de la genotoxicidad de los HAPs y sus metabolitos resultantes de la biodegradación microbiana detectados en una gran variedad de ambientes y matrices contaminantes, se inició una nueva línea de investigación basada en el estudio del metabolismo bacteriano de HAPs específicos (Grifoll *et al.*, 1990 y 1992; Casellas, 1995 citados por Viñas, M., 2005).

En Italia, Taccaria, M., *et al.* (2012) examinó la evolución de la comunidad bacteriana durante la remoción de suelo contaminado con diésel, utilizando biorreactores a escala de laboratorio, la evaluación de la influencia de la adición individual o conjunta, de un compost, un agente tenso activo (b-ciclodextrina) y un consorcio bacteriano, esto por 120 días, durante la etapa inicial del proceso, en la bioestimulación y la bioaumentación alcanzaron mayor diversidad de especies (evaluados por análisis Electroforesis en Geles con Gradiente Desnaturalizante DGGE) y un aumento del contenido de biomasa, después se presentó una caída transitoria causada por el contaminante, al final del proceso se encontró diversa comunidad bacteriana y alto contenido de biomasa, la densidad y la actividad de la microflora fueron similares en biorreactores con o sin b-ciclodextrina, pero bajo las condiciones ensayadas, una

reducción en la eliminación de los hidrocarburos totales de petróleo (HTP) se observó en el biorreactor que contenía b-ciclodextrina, el uso combinado de compost maduro y de un consorcio microbiano seleccionado, es la estrategia más útil para la eliminación HTP, logrando una degradación del 96% de HTP al final del proceso de biorremediación (Núñez, D., 2012, p. 32).

Las experiencias en biorremediación que tiene 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 hidrocarburos. Algunas experiencias como el Proyecto liderado por la Universidad de Santander: biorremediación de lodos contaminados con aceites lubricantes usados o el Proyecto liderado por el centro de investigaciones microbiológicas – CIMIC: biorremediación de residuos del petróleo, son muestra de ello.

Generalmente los procesos de biodegradación han sido enfocados principalmente al tratamiento de suelos. El Centro de Investigaciones Microbiológicas de la Universidad de los Andes ha desarrollado diferentes estudios encaminados al aislamiento y bioaumentación de bacterias nativas degradadoras de crudo en suelos impactados por derrames del oleoducto Caño Limón Coveñas. En estos estudios se han tratado suelos a través de biolabranza y adición de nutrientes, obteniendo porcentajes de degradación de hidrocarburos totales del petróleo entre el 35%-61% (Castro, L., *et al.*, 2004; Vallejo, V., *et al.*, 2005 citados por Núñez, D. 2012, p.33).

En el 2004, Vargas, P., *et al.*, resaltan la importancia de la selección de microorganismos nativos aislados del lugar contaminado para llevar a cabo el proceso de biorremediación, debido a que estos, se encuentran mejor adaptados al contaminante, a diferencia de otros microorganismos foráneos, que aunque con una gran actividad biorremediadora, pueden no funcionar bajo las condiciones ambientales del lugar. Un año después se realizó un estudio para evaluar el efecto de la adición de nutrientes (N - nitrógeno y P - fósforo) en forma de sales inorgánicas simples (SIS) y un fertilizante inorgánico compuesto (FIC) en la biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo

(TPHs). Se emplearon mesocosmos con suelo contaminado (20,000 mgTPH/kgps) y se evaluó un control abiótico y un control sin nutrientes (n=3). El estudio se realizó durante 125 días con 5 eventos de muestreo (EM). Durante el estudio se evaluaron y compararon dos métodos analíticos para la cuantificación de TPHs: el método D-5831 (ASTM, 1995) y el método modificado de extracción por agitación mecánica y determinación gravimétrica (EAMG) (EPA, 1994; Schawab et ál., 1999). Para monitorear la biorremediación se evaluaron parámetros físico-químicos: pH, porcentaje de humedad y nutrientes, y microbiológicos: recuento en placa de heterótrofos y degradadores de HCs por la técnica del número más probable (NMP-INT). Finalmente, se realizó una caracterización bioquímica de los degradadores. Las mayores tasas de degradación de TPHs se observaron durante los primeros 28 días en SIS y FIC (278 y 235 mgTPHs/kgps/d, respectivamente) con relación a los controles (110 mgTPHs/kgps/d). (Núñez, D. 2012, p.34).

En el 2010, Roldan, F., *et al*, evaluaron la biodegradación y la lixiviación de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) durante la atenuación natural (AN) en los procesos de los lodos aceitosos utilizados en el mantenimiento de caminos no pavimentados, este estudio fue realizado por un camino situado en Arauca (Colombia) y al mismo tiempo en el laboratorio donde las condiciones de lluvia se han simulado mediante el uso de columnas. En el estudio *in situ*, se evaluaron tres profundidades (5, 50 y 80 cm). La degradación de HTP se evaluó mediante el control de las condiciones fisicoquímicas y microbiológicas *in situ* y en las columnas durante 538 y 119 días, respectivamente. Los niveles de pH observados durante el estudio fueron relativamente constantes, oscilando entre los valores óptimos para la biodegradación ($6,2 \pm 0,9$). El contenido de agua *in situ* fue baja (<14%) y las concentraciones observadas de nitrógeno (amoníaco y nitrato) fueron <30 y <10 mg/kgdw, respectivamente, lo que indica que ningún balance de masa se mantuvo, ambos factores limitaron las posibilidades de biodegradación intrínseca. Durante el estudio *in situ* un 95% de degradación de HTP se observó a 5 cm de profundidad, mientras que no era evidente la degradación de 50 y 80 cm de profundidad. En los experimentos de las columnas, la concentración de HTP en el

lixiviado fue menor a 1 mg/l, lo que indicó que el proceso de lixiviación no jugó un papel clave en este estudio.

En el año siguiente (2011), de nuevo se evaluó el proceso de bioestimulación por nutrientes utilizando *Fertilizantes Inorgánicos Compuestos* (FIC) N:P:K 28:12:7 y *Sales Inorgánicas Simples* (SIS) NH_4NO_3 y K_2HPO_4 en suelos contaminados con hidrocarburos a través de la técnica de respirometría. El suelo fue contaminado con lodos aceitosos a una mayor concentración que en el estudio realizado en el 2005 (40.000 mgHTP/kgps) en condiciones de laboratorio y con menor tiempo de seguimiento. Para cuantificar el consumo de oxígeno se utilizaron dos respirómetros de medición manométrica HACH® 2173b y OXITOP® PF600 durante ensayos de 13 días (n=3). Se evaluaron dos estrategias (FIC y SIS) y tres controles (abiótico, sustrato de referencia y sin nutrientes). Se analizaron parámetros físico-químicos (pH, nutrientes y HTP) y microbiológicos (heterótrofos y degradadores) al inicio y al final de cada ensayo. SIS y el control sin nutrientes presentaron las mayores tasas de respiración, indicando que los nutrientes estimularon el metabolismo microbiano (Núñez, D., 2012, p. 34).

Para el año 2012, se realizó un estudio de biorremediación de un suelo con diésel en la ciudad de Medellín, mediante el uso de microorganismos autóctonos. En este proceso se aisló y caracterizó bioquímica y molecularmente un consorcio bacteriano capaz de degradar los diferentes hidrocarburos presentes en un combustible diésel a partir de un suelo contaminado en el laboratorio y tratado mediante dos tecnologías de biorremediación: la atenuación natural y la bioestimulación. Se definió como parámetro de control la concentración de TPH, para el cual se obtuvo una reducción en la concentración en un periodo de 4 meses de 36,86% y 50,99% respectivamente (Arrieta, O. *et al.*, 2012).

En el 2015 se presentó el resultado de un estudio donde evaluó el efecto de la bioestimulación en la biorremediación de un suelo contaminado con alquitrán generado durante la producción de carbón vegetal artesanal. Se empleó suelo contaminado con alquitrán (~12,000 mg TPH/kgps) proveniente del área de estudio y se montaron ocho (8)

mesocosmos (n=2), simulando condiciones de biolabranza bajo un entorno controlado en laboratorio por un periodo de 60 días. Se evaluaron dos tratamientos: fertilizante inorgánico compuesto (FIC) y urea más K_2HPO_4 (U), además de dos controles: atenuación natural y abiótico. Adicionalmente, se realizó el seguimiento del proceso de biorremediación a través de la medición de variables fisicoquímicas (Temperatura, pH, porcentaje de humedad, carbono orgánico, nutrientes e hidrocarburos totales de petróleo-TPHs) y microbiológicas (Recuento en placa de microorganismos heterótrofos y de degradadores de alquitrán). El mayor porcentaje de remoción de TPHs, se obtuvo en el tratamiento con FIC (28%), seguido del tratamiento con U (24%) y por último, el control de Atenuación Natural (6%). Se concluyó, que la adición de nutrientes estimuló la densidad de microorganismos heterótrofos y degradadores, lo cual optimizó el proceso de biodegradación de suelos contaminados con alquitrán, evidenciado por una disminución significativa en la concentración de TPHs en los tratamientos al final del estudio (Vallejo, V. *et al.*, 2015).

Es así como mucho se ha incursionado en el desarrollo de tecnologías emergentes e innovadoras dentro de la rama de la biorremediación, sin embargo las investigaciones desarrolladas se centran en dar solución a estudios de caso por contaminación.

En el país, las empresas petroleras implementan la biorremediación de lodos contaminados con hidrocarburos como alternativa 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 son 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.

3 ÁREA DE ESTUDIO

La planta de tratamiento se localiza en la vereda el Dindal del municipio de Aipe, Departamento del Huila (ver figura 1, 2 y 3), entre la vertiente oriental de la Cordillera Central y la vertiente occidental de la Cordillera Oriental, a una altura que oscila entre los 350 y 600 m.s.n.m. En esta zona la influencia de la convergencia intertropical (ZCIT) es notoria, interviniendo en el régimen pluviométrico. Además, por encontrarse en el Valle del Magdalena, el comportamiento de las lluvias pertenece al tipo de circulación valle-montaña (Méndez, G., *et al.*, 2012).



Figura 1. Municipio de Aipe, departamento del Huila (Colombia)

Fuente: <https://www.google.com.co/search>

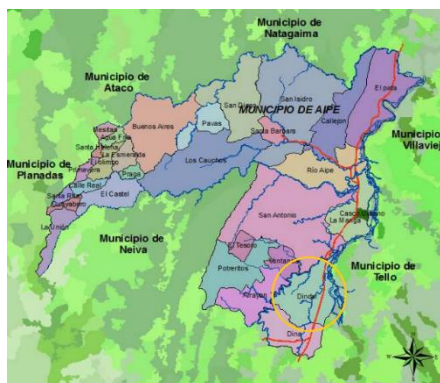


Figura 2. División política del municipio de Aipe, ubicación Vda. el Dindal

Fuente: Secretaría de planeación municipal *cartografía EOT*

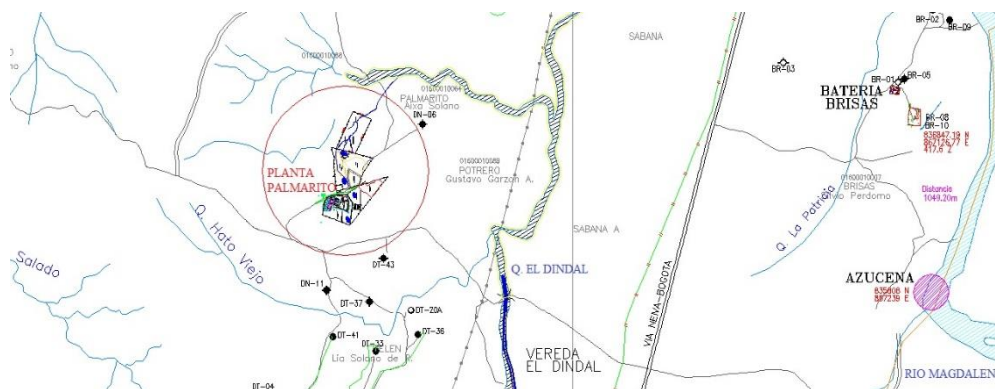


Figura 3. Ubicación del área de estudio en vereda el Dindal, municipio de Aipe
Fuente: Topógrafo Oscar Vera, ATP Ingeniería SAS



Fotografía 1. Entrada a la planta Palmarito
Fuente: EIA Planta Palmarito – ATP INGENIERIA SAS

Esta zona se caracteriza por presentar valores altos y continuos de temperatura, niveles altos de evaporación, alto régimen de horas brillo solar/día y precipitaciones relativamente altas. Las estaciones presentan valores medios multianuales de precipitación entre 1091 mm. – 1716 mm. La pluviosidad presenta un comportamiento similar para todas las estaciones, evidenciando un comportamiento bimodal, con características de tipo valle montaña. Se puede apreciar que de los dos períodos de lluvia, es más acentuado el período entre los meses de octubre y noviembre, y que de los dos períodos secos, es más acentuado entre los meses de junio y agosto (Méndez, G., *et al.*, 2012, p. 9, cap. 3).

El comportamiento de la temperatura a lo largo del año se caracteriza por una temperatura máxima local en el mes de agosto, un marcado descenso en los meses de noviembre y diciembre. El descenso se produce en meses de alta precipitación en donde la humedad relativa es la más alta del año y el brillo solar desciende notoriamente. En los meses de julio a septiembre se presentan las máximas temperaturas. Las temperaturas mínimas, se presentan de octubre a diciembre y de abril a mayo, siendo noviembre y diciembre los meses más frescos del año con temperaturas que pueden descender hasta los 25 °C (Méndez, G., *et al.*, 2012, p. 10, cap. 3).

En el área, la humedad relativa media mensual multianual es de 67 % y presenta una variación a lo largo del año entre 55 y 74 %. Los valores mínimos de humedad relativa se presentan entre Julio y Septiembre. Los máximos valores ocurren para los meses de mayor pluviosidad como son Abril, Noviembre y Diciembre; también se caracteriza porque predomina la influencia de los vientos regionales del valle del Magdalena, sobresaliendo los meses de junio a agosto por registrar las mayores velocidades de viento. En los meses de marzo y abril, los vientos del sur suavizan la temperatura y son causantes de la época de lluvias, mientras que a mediados de septiembre y principios de octubre entran los vientos del Norte que tienen origen en el valle del Magdalena Medio (Méndez, G., *et al.*, 2012. pp. 11-13, cap. 3).

3.1 COMPONENTE ABIÓTICO

3.1.1 Geología

Desde el punto de vista fisiográfico el área de estudio se encuentra referida a la parte meridional del Valle Superior del Magdalena (VSM) conformada por un relieve que va de ondulado a quebrado, delimitado en sentido Este-Oeste por los flancos de las cordilleras Oriental y Central respectivamente (Méndez, G., *et al.*, 2012).

El VSM corresponde a una depresión alargada con dirección NNE-SSE que separa la mitad meridional las cordilleras Central y Oriental y se extiende desde Pitalito (al sur) en la bifurcación de las Cordilleras Central y Oriental, hasta Honda (al norte) en el sitio donde la Falla de Cámbra cruza el Río Magdalena, es decir en una distancia de aproximadamente 400 Km con un área alrededor de 20.000 Km² (Van Houten y Travis, 1968). En Honda, el fondo del valle se presenta a unos 140 m sobre el nivel del mar, en Neiva a 500 m y a aproximadamente a 1.200 m en Pitalito, si se toma como referencia la altura de 1.000 m.s.n.m, la anchura del Valle se incrementa paulatinamente de sur a norte, hasta alcanzar un máximo de 65 Km en la región entre Ibagué y Girardot, alcanzando los sedimentos un espesor de hasta 5.000 m en algunos sectores (Mojica y Dorado, 1987; Mojica y Franco, 1990 citados por Méndez, G. *et al.*, 2012, pp. 14-15, cap. 3).

A nivel local, las unidades litológicas superficiales y cartografiables que afloran en el área de estudio están conformadas básicamente por rocas sedimentarias de edad Neógeno, representadas por secuencias arenosas y arcillosas principalmente. En el subsuelo se encuentran rocas del Terciario y Cretáceo sobre un basamento pre-cretácico (Méndez, G., *et al.*, 2012, p. 16, cap. 3).

3.1.2 Geomorfología

La variedad de las geoformas actuales del terreno obedecen a la interacción dinámica de factores de tipo geológico (litológicos y tectónicos), hidrológico, la acción continuada de los procesos de denudación de la corteza terrestre tanto antiguos como actuales (erosión y remoción en masa) enmarcados en la variable tiempo, los cuales en muchos casos son acelerados por actividades antrópicas inadecuadas y otros factores como el clima (alta insolación y lluvias esporádicas torrenciales, evapotranspiración) y la cobertura vegetal inciden en el modelamiento del relieve, dando como resultado los diferentes tipos de paisajes (Méndez, G., *et al.*, 2012, p. 20, cap. 3).

Dentro del área de estudio se encuentran unidades geomorfológicas clasificadas según su génesis (Morfogénesis), en unidades de origen denudacional y unidades de origen fluvial; las Colinas Denudacionales (CD), son unidades geomorfológicas predominantes, que presentan suaves ondulaciones del terreno, de forma redondeada, con pendientes suaves a medias y un grado de erosión de medio a alto. Estas geoformas han sido modeladas por la acción de las aguas meteóricas sobre areniscas y arcillolitas levemente plegadas, las cuales presentan geoformas con formas alargadas, evidenciando un control litológico en zonas de areniscas y más suaves en zonas de arcillolitas. (Méndez, G., *et al.*, 2012, p. 20, cap. 3).

Desde el punto de vista de las características hidrogeológicas superficiales estas unidades actúan como zonas de escorrentía, en menor proporción los niveles permeables recargan los acuíferos confinados, asociadas con suelos superficiales de composición areno-arcillosa, con baja retención de humedad y baja fertilidad (Méndez, G., *et al.*, 2012, p. 21, cap.3).

3.1.3 Morfometría

A nivel regional el área de estudio presenta una morfometría variable, producto de la actividad erosiva y el control estructural que actúa sobre materiales de diferentes resistencias. Sin embargo a nivel local en el área de la planta de tratamiento Palmarito predomina rangos de pendiente entre 0° a 15°, correspondiente a terrenos planos a suavemente inclinados (Méndez, G., *et al.*, 2012 p. 22, cap.3).

3.1.4 Morfodinámica

En la generación y activación de un proceso morfodinámico, intervienen varios factores tanto externos como internos que originan inestabilidad en un terreno. Dentro del área de estudio se presentan procesos erosivos que obedecen fundamentalmente a la

acción natural, dentro de la cual se conjugan diversos factores tales como: la constitución y condiciones geológicas de la zona, los agentes ambientales y la erosión antrópica, esta última causada por la actividad industrial, el pastoreo y sobrepastoreo y el laboreo intensivo del suelo; y procesos de meteorización de suelos debido principalmente a factores externos como el clima, laboreo intensivo del suelo e intervención antrópica (cambio en el uso del suelo) y factores internos tales como características litológicas de los materiales, influencia estructural de las rocas, grado de meteorización y erodabilidad de la matriz de los depósitos (Méndez, G., *et al.*, 2012, pp. 22-23, cap. 3).

3.1.5 Suelos

Para entender los principales tipos de suelos en Colombia hay que hacer relación a los elementos biofísicos que conforman las regiones naturales. En la Cordillera Andina, donde se ubica el departamento del Huila, se ha recibido aportes de cenizas volcánicas y por su ubicación en zonas de pendientes, presenta procesos erosivos y movimientos en masa, lo que afecta su estabilidad y desarrollo evolutivo. Por esta razón se consideran suelos más jóvenes y menos alterados que los de otras regiones (Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura - FAO, 2009).

Específicamente en la zona de la planta Palmarito, se identifican lomas y colinas, habituales de los suelos de este tipo de paisaje, dominados por un clima cálido seco, presentando un relieve ligeramente inclinado a escarpado, con procesos erosivos moderados a severos, evidenciados en escurrimiento difuso y concentrado, surcos y cárcavas en algunas áreas (ver fotografía 2). La unidad de suelos que predomina en el área de estudio, desarrollados a partir de los niveles de areniscas, arcillolitas y limolitas de los miembros del Grupo Honda (Formación Villavieja) y areniscas, conglomeráticas, conglomerados y limolitas de los miembros de la Formación Gigante en la microcuenca de la quebrada el Dindal, conformando colinas y lomas disectadas, desarrollando un relieve que va desde ligeramente ondulado con pendientes muy bajas (0° - 7°) a medias (8° -

15°) a ligeramente ondulado con pendientes altas (16-25°) en algunos sectores (Méndez, G., *et al.*, 2012, p. 25, cap. 3)).



Fotografía 2. Erosión en Cárcavas geoformas de colinas en la Planta Palmarito
Fuente: EIA Planta Palmarito – ATP INGENIERIA SAS

Este paisaje de colinas y lomas es el resultado de la disección de una red más o menos densa de drenajes. La cobertura vegetal desarrollada a partir de este tipo de suelos está representada por pastos naturales y rastrojos empleados en el desarrollo de la ganadería extensiva; de igual forma es posible encontrar en menor proporción hacia los cauces de escorrentía la presencia de rastrojo alto y bosques riparios. Según análisis químicos de esta unidad, tiene una correspondencia a suelos de reacción neutra, bajos contenidos de materia orgánica y fertilidad baja. Los anteriores factores de formación han propiciado el desarrollo de suelos muy superficiales a superficiales, bien a excesivamente drenados, pedregosos de texturas medias a gruesas y sin desarrollo de estructura (Méndez, G., *et al.*, 2012, p. 26, cap. 3).

De acuerdo con las características anteriormente enunciadas, Méndez, G. *et al.* (2012) hace una clasificación taxonómica del suelo como Typic Ustorthents, Lithic Ustorthents y Typic Ustipsamments. Dentro de esta unidad se delimitó por pendiente y erosión, la siguiente fase presente en el área de estudio:

PXEd2 Relieve quebrado, pendiente simple entre 12-25 %, erosión moderada

También es importante tener en cuenta la clasificación del suelo por su capacidad de uso, a través del sistema de clasificación de acuerdo a la producción de plantas cultivadas (cultivos, pastos y bosques comerciales), utilizado por el departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) ya que este permite interpretar las condiciones agrícolas del suelo como medio para determinar el capacidad productiva de las tierras. Los suelos son agrupados de acuerdo a sus limitaciones, riesgos de daño y formas como responden al manejo. A partir de esto se establecen criterios que constituyen los elementos básicos para establecer las clases de capacidad definidas en el manual No. 210 del servicio de conservación de suelos de los Estados Unidos y adaptado a nuestro medio por la Subdirección Agrológica del Instituto Geográfico "Agustín Codazzi". Las clases por capacidad son ocho y se designan con números romanos de I a VIII representa y/o agrupa unidades cartográficas de suelos que presentan el mismo grado relativo de limitaciones o riesgos, aumentando estos de la clase I a la VIII. Por lo tanto el grado de capacidad va disminuyendo de la clase I a la clase VIII en cuanto más drásticos y más numerosos sean los factores limitantes. De las ocho clases de capacidad, las cuatro primeras (I a IV) se considerarán adecuadas para cultivos normales, si se emplean prácticas específicas de manejo de suelos, como rotación de cultivos, uso de variedades adecuadas, encalamiento y fertilización adecuada; prácticas culturales como arada, desyerbadas, fumigadas, etc., y obras de adecuación como riego, drenaje y nivelación, entre otras. Las clases V a VII son apropiadas para cultivos permanentes con sombrío de vegetación arbustiva y nativa. La clase VIII corresponde a tierras no aptas para actividades agropecuarias (FAO, 2009).

También se tiene en cuenta los factores limitantes de los cuales se obtienen las subclases. Estos limitantes son básicamente: Susceptibilidad a la erosión, exceso de humedad, limitaciones en la profundidad efectiva sea por factores físicos químicos y clima adverso. Se representan con letras minúsculas e, h, s, c haciendo referencia a erosión, humedad, suelo y clima respectivamente. Finalmente se establecen los grupos de manejo con números arábigos después de las letras minúsculas (FAO, 2009).

Como resultado se tiene que la unidad de suelo predominante en el área de estudio, según parámetros establecidos en el Estudio general de suelos del Departamento del Huila en el año 2002 realizado por la Corporación Autónoma Regional del Alto Magdalena (CAM), es la siguiente según:

Tabla 1. Unidad de suelo presente en el área de estudio

UNIDAD CARTOGRÁFICA	CLASE – GRUPO DE MANEJO	DESCRIPCIÓN
PXEd2	VI	No mecanizables, aptas para cultivos de semi-bosque, ganadería semi-intensiva y uso forestal, requieren prácticas moderadas de fertilización, prevención y control de la erosión.

Fuente: EIA Planta Palmarito – ATP INGENIERIA SAS

3.1.6 Hidrogeología

De acuerdo con las características y estudios de la zona, los acuíferos más importantes de la región están asociados principalmente a la cuenca del Valle Superior del Magdalena (vertiente oriental de la Cordillera Central). Estas unidades hidrogeológicas están constituidas por sedimentos permeables, rocas permeables y rocas poco permeables, con propiedades hidráulicas particulares que permiten clasificarlas en acuíferos (unidades capaces de almacenar y permitir el flujo del agua, a través de ellas con relativa facilidad), acuitardos (rocas que pueden almacenar grandes volúmenes de agua, pero que no permiten su flujo fácilmente a través de ellas o lo permiten lentamente) y acuicludos (rocas que aunque contienen cantidades apreciables de agua, carecen de capacidad para transmitirla o permitir su flujo). Con base en estos referentes, en la zona se identificó una unidad hidrogeológica referida al miembro inferior del Grupo Honda, conformado por rocas y sedimentos con porosidad primaria (poros intercomunicados) que se disponen sobre una base regional impermeable constituida por rocas arcillosas (Méndez, G., *et al.*, 2012, pp. 29-30, cap. 3).

3.1.7 Hidrología

El área de estudio es una zona que se caracteriza por presentar pequeños arroyos y canales que solo conducen agua a nivel superficial en tiempo de lluvias, es decir, de flujo intermitente, y un acuífero de gran importancia perteneciente a la formación Honda (Th), que hace parte de la mayor extensión en la cuenca del río Bache. Según INGEOMINAS su reserva está calculada en 6,47 millones de metros cúbicos aprovechables por año y de este acuífero se surte el acueducto de la vereda Dindal, dónde se ubica la planta de tratamiento (Forero, 2013 citado por Méndez, G., *et al.*, 2012).

Algunos de estos afluentes hídricos presentes en el área de influencia son:

- I. Microcuenca Quebrada el Dindal: se localiza en la zona plana de influencia petrolera sobre las veredas DINA y DINDAL y actúa como afluente del río grande de la Magdalena, limita al norte y al occidente con la cuenca del río Bache, al sur con su nacimiento y al oriente se halla el río Magdalena. Esta microcuenca ocupa un área total de 2780,2 Ha que corresponde al 3,4% del territorio del municipio y está determinada como una zona de riesgo y amenaza a nivel hidrometeorológico (Fuente: P.O.T.M., 2000 citado en Repizo, O. *et al.*, 2010).
- II. Caño el Sapo: se localiza sobre la vereda el DINDAL y actúa como afluente intermitente. No existen estaciones de aforos, ni otro tipo de información.
- III. Pozo Belén: Abastece a la planta de tratamiento y otros predios cercanos. Es un pozo profundo que cuenta con la concesión de aguas según Resolución 2724 del 30 de junio de 2010.

3.2 COMPONENTE BIÓTICO

La vegetación presente en el área de interés, se identificó con base en el sistema de clasificación de zonas de vida de L. R. Holdrige, adaptada para Colombia por el IGAC. Esta área presenta una altura promedio de 460 m.s.n.m., con temperatura media anual mayor a 27 °C y precipitaciones promedio al año de 1319 mm, condiciones climáticas que lo sitúan en la zona de vida bs-T (Méndez, G., *et al.*, 2012, p. 34, cap.3).

En el bosque seco Tropical la formación vegetal presenta una cobertura boscosa continua con pérdida completa o parcial del follaje durante las épocas secas cada año consecuencia de adaptaciones fisiológicas de las plantas debido al déficit de agua; se distribuye entre los 0-1000 m de altitud, con temperaturas superiores a 24°C, precipitación entre 700-2000 mm anuales y el clima presenta uno o dos periodos marcados de sequía al año (Espinal 1985; Murphy y Lugo 1986; IAVH, 1998).

Los bosques secos también presentan características como: intensa radiación solar, baja humedad relativa y fuertes vientos. Estas condiciones exigen de las especies que los habitan toda una serie de adaptaciones morfológicas y fisiológicas producto de millones de años de evolución. La vegetación típica de las formaciones xéricas y subxéricas comprende árboles pequeños y arbustos achaparrados que pierden sus hojas en verano, o bien cuyas hojas son persistentes, coriáceas y rígidas con gruesa cutícula, plantas espinosas y suculentas, rosuletos de hojas rígidas y pequeños sufrútices y gramíneas que se secan en el verano. La gran mayoría de estos bosques (ver fotografía 3 y 4) se presentan como un matorral arbustivo a arborescente integrado de manera dominante por Cactáceas y Fabáceas (Ricardi, 1996 citado por Méndez, G. *et al.*, 2012). A estos ecosistemas presentes en todas las zonas áridas y semiáridas de América se les agregan especies leñosas pertenecientes a otras familias tales como Bignoniaceae y Rubiaceae (Cabrera y Galindo 2006, citados por Méndez, G. *et al.*, 2012).



Fotografía 3. Vegetación propia del área (matorral arbustivo)
Fuente: Natalia Rodríguez Angulo



Fotografía 4. Vegetación cactácea
Fuente: Natalia Rodríguez Angulo

En la zona del bosque seco tropical, correspondiente a la cuenca baja del río Bache, donde se encuentran los campos petroleros de HOCOL y otras empresas, la mayor parte de la superficie se encuentra dedicada a la ganadería extensiva, con lo cual las áreas boscosas de especies nativas se han eliminado en forma significativa para el establecimiento de potreros con pastos naturales y el cultivo de pastos introducidos. Por lo tanto, la vegetación típica asociada a dichos campos se encuentra reducida a manchas de plantas arbóreas y arbustivas que se observan en cañones o laderas inclinadas y en estrechas franjas de terrenos que se localizan a lado y lado de los ríos Bache y Yaya y quebradas afluentes de éstos, así como en 22 predios que se han dedicado, tanto a la

conservación ambiental como a la instalación y protección de infraestructura petrolera; predios que, en conjunto, tienen una superficie aproximada de 940 hectárea. Entre éstos, se destaca por su extensión y función social el predio del Centro de Investigación y Educación Ambiental La Tribuna, cuya unidad de reserva natural y de manejo, con una superficie de 128 hectáreas, se localiza en la cuenca de la quebrada El Neme (Olaya, A. *et al.*, 2008)

En Colombia, la familia con mayor número de especies a nivel vegetal dentro de esta zona de vida, en muestreos de 0.1 Ha, es la de las Leguminosas seguida de la familia Bignoniaceae, Sapindaceae y Capparidaceae (IAVH, 1998).

Del más de millón y medio de hectáreas de bosques caducifolios entremezclados con sabanas naturales que existían a lo largo de una franja adyacente al río Magdalena, sobre llanuras de desborde y sectores de terrazas disectadas de pendientes cortas y fuertes, quedan menos de 5.000 ha, dispersas en unos 35 parches de extensión variable, entre 50 y 200 ha, que se concentran en la parte norte del departamento del Tolima en los municipios de Armero, Mariquita y Melgar. Otros fragmentos mucho más pequeños, riparios y aislados, que no sobrepasan una hectárea, se hallan en terrenos muy inclinados y a lo largo de cañadas de fincas ganaderas de los departamentos de Cundinamarca, Caldas, Tolima y Huila (Otero, E. *et al.*, 2006)

En el Huila el bs-T se extiende sobre el valle del río Magdalena desde los 450 hasta los 1000 msnm, incluyendo parte de los municipios de Neiva, Palermo, Rivera, Campoalegre, Aipe, Tello, Baraya, Villavieja y Algeciras. La vegetación arbórea y arbustiva es escasa y discontinua, se encuentra replegada hacia las márgenes de los ríos principales, quebradas y cauces de escorrentía, por presentar suelos mejor desarrollados y con mayor contenido de humedad. La vegetación arbustiva se encuentra dentro de los remanentes arbóreos y a manera de pequeños parches aislados en las áreas de pastizales. De esta manera las fuentes hídricas sostienen una vegetación que aunque alterada en muchas regiones, permite mantener las condiciones climáticas que a su vez crean condiciones óptimas a la comunidad huilense. Es tan importante la influencia de la

vegetación en el ciclo hidrobiológico, que el deterioro o destrucción de cualquier tipo de vegetación afecta directamente el bienestar humano e incrementa la erosión y las inundaciones (Llanos *et al.*, 2003, p. 97).

A pesar de la poca importancia que se les ha conferido a estos ecosistemas, son una fuente económica importante de especies de plantas para uso humano, la mayoría maderables como el cedro (*Cedrela odorata*), forrajeras como el mata ratón (*Glicirida sepium*), y varias frutales como el mango (*Mangifera indica*), pitahaya (*Acanthocereus pitahaya*) y el mamoncillo (*Melicoccus bijugatus*) entre otras. Es así como estas áreas se pueden considerar zonas de regeneración para conservar una muestra de las mismas (IAVH, 1997 citado en Morales y Sarmiento, 2008 p. 9), gracias a su alta capacidad de recuperación o resiliencia (Murphy y Lugo, 1986 citado en IAVH, 1998).

3.2.1 Flora

En cuanto a la flora de la zona, la cobertura vegetal que predominó en la geografía del municipio, ha sido totalmente intervenida hasta el punto de que muchas especies presentan tendencia a la extinción debido a las diferentes actividades que se han venido desarrollando. Sin embargo existe una clasificación por áreas de acuerdo a la ubicación geográfica:

- a. Zona Alta: elevación 1050 - 2000 m.s.n.m. y precipitación de 1900 a 2200 mm anuales, con un relieve escarpado donde se presentan especies como el nacedero (*Trichanthera gigantea*), chachafruto (*Erythrina edulis*), guamo machete (*Inga desinflora*), guamo rabo de mico (*Inga edulis*), higuerón (*Ficus glabrata*), yarumo (*secropia* sp.), achiote enano (*Adipera tomentosa*), borrachero (*Datura arborea*), entre otras.
- b. Zona Intermedia: precipitación 1100 a 1900 mm promedio anual, caracterizado por un relieve ondulado y muy escarpado donde se presentan especies como el arrayán (*Myrcia* sp.), gualanday (*Jacaranda mimosifolia*),

guadua (*Bambusa guadua*), Chirlobirlo (*Tecoma stans*), cachimbo (*Eriythyina poeppigiana*), balso (*Ochroma piramidales*), cañafistol (*Cassia fistula*), higuierilla (*Ricinus communis*) y mata ratón (*Gliricidia sepium*).

- c. Zona Baja: precipitación 1000 a 1700 mm promedio anual, presenta un relieve entre plano y fuertemente quebrado donde se presentan especies como el guácimo (*Guazuma ulmifolia*), caracolí (*Anacardium excelsum*), algodón de castilla (*Calotropis procesa*), tatamaco (*Bursera graveolens*), arepo (*Opuntia pittleri*), chaparro (*Curatella americana*), chicható (*Muntingia calabura*), mosquetero, algarrobo (*Ceratonia siliqua L.*), pelá (*Acacia farnesiana L.*), payandé (*Pithecellobium dulce*), cruceto (*Duranta mutisii L.f.*), almendrón (*Prunus Dulcis*), entre otras (Repizo et al., 2010).

De acuerdo a un inventario forestal realizado en el área de estudio, la vegetación característica es la asociación chaparral compuesta por especies como el chaparro (*Curatella americana*), peraleja (*Byrsonima crassifolia*) y el sémbe (*Xylopia aromática*). También se encontraron especies como: guácimo (*Guazuma ulmifolia*), tachuelo (*Zanthoxylum rigidum*), iguá (*Pseudosamanea guachapele*) y leucaena (*Leucaena leucocephala*), en zonas circundantes a la planta (Méndez, G. et al., 2012, p. 38, cap. 3).

Existen otros estudios, en áreas de la cuenca baja del río Bache, asociadas a los campos de San Francisco y Balcón, situados sobre diferentes veredas del municipio de Aipe, donde se identifican, entre otras especies arbóreas y arbustivas las siguientes: payandé (*Pithecellobium dulce*), dinde (*Chlorophora tinctoria*), diomate (*Astronium graveolens*), caracolí (*Anacardium excelsum*), caucho (*Ficus sp.*), higuérón (*Ficus glabrata*), ceiba (*Ceiba pentandra*), guadua (*Guadua angustifolia*), chicható (*Muntingia calabura*), sauce playero (*Tessaria integrifolia*), mamoncillo (*Melicocca bijuga*), carreto (*Aspidosperma dugandii*), balso (*Ochroma lagopus*), yarumo (*Cecropia peltata*), hobo o jobo (*Spondias sp.*), totumo (*Crescentia cujete*), palma de cuesco (*Scheelea butyracea*), chaparro o peralejo (*Curatella americana*), peraleja o molón (*Byrsonima crassifolia*), sembé (*Xylopia sp.*), guayabo (*Psidium guajava*), guayabilla (*Psidium sp.*), espino de oro (*Xanthoxylon sp.*), cruceto (*Randia sp.*), pelá (*Acacia farnesiana*), cachovenado (*Xylosma*

sp.), Raspayuco, cardón común, cardón gris y pitahaya roja (*Hylocereus undatus*), capote (*Machaerium* sp.), bilibil o trompillo (*Guarea* sp.), helecho arborescente, cachimbo (*Erythrina* sp.), palmicha (*Carludovica palmata*), aráceas trepadoras, cardos epífitos y bromeliáceas aéreas (García, 1999; González y Hurtado, 1999; Oviedo y Pastrana, 1999 citados por Olaya, A. *et al.*, 2008).

3.2.2 Fauna

El componente faunístico se refiere al conjunto de animales que no han sido objeto de domesticación y que se encuentran en estado salvaje en el medio natural; incluye insectos, mamíferos, aves, reptiles y anfibios; estos organismos son de gran importancia desde el punto de vista socioeconómico y ecológico, y son muy sensibles a las actividades antrópicas que alteran las características de sus hábitats naturales, ocasionando modificaciones en su comportamiento de nidación, apareamiento, rutas migratorias, y relaciones tróficas (Méndez, G. *et al.*, 2012, p. 40, cap. 3).

Desafortunadamente, la deforestación y la presión del hombre sobre la fauna silvestre, han llevado al desplazamiento e incluso a la desaparición de muchas especies de animales, sobreviviendo solo algunas especies como: Reptiles entre los que se destacan la culebra Cascabel, cazadora, cuatro narices, pudridora y talla X, así como algunos Caimanes, Babillas y Morrocayos; Anfibios como sapos y ranas; insectos como hormigas y alacranes; aves como azulejos, perdices, palomas, embarradores, muchileros, pitohuis, cucaracheros, mirlas, toches, chilgas, guacharacas, garzas pequeñas, carpinteros, loros, periquitos, gavilanes y colibríes; y mamíferos como la ardilla, el tigrillo, el oso hormiguero, el zorro, el chuco, el cusumbo, el guatín, el mico maicero, el conejo y el venado gris (Repizo, O. *et al.*, 2010).

La fauna terrestre ha sido eliminada en su gran mayoría, debido principalmente a la eliminación de su hábitat, y en la actualidad, se compone de especies resistentes a la intervención humana, siendo su diversidad muy baja para la zona de estudio, pues casi en

su totalidad el paisaje natural de bosques ha sido transformado en sabanas de pastos y cultivos, restringiendo el número de individuos por unidad de área (Méndez, G. *et al.*, 2012, p. 40, cap. 3).

3.3 COMPONENTE SOCIAL

El municipio de Aipe está ocupado principalmente por viviendas rurales que se basan en el desarrollo de actividades agropecuarias, en las cuales los cultivos que se tienen generalmente son transitorios y permanentes con un dueño, ya que el porcentaje de asociatividad es bajo. Actualmente, la fuente principal de recursos económicos del territorio constituye a las transferencias que por concepto de regalías petroleras le son trasladadas por la Nación, pues es un área de gran producción de petróleo, donde son explotados más de 120 pozos, y donde también se desarrollan otras actividades agropecuarias, industriales y mineras. Dentro de las actividades agropecuarias se destaca la cría de mojarra roja, cachama y carpa; producción de pollos y huevos; la cría de ganado con doble propósito (ceba y cría); en la explotación minera se extraen minerales como: roca fosfórica, carbón, barita y arcilla; y en la actividad turística se tiene la visión de promover este sector utilizando la existencia de grandes riquezas naturales (Alcaldía de Aipe, s.f.)

Las veredas DINA y DINDAL, hacen parte de la zona baja del municipio de Aipe y se ubican en sectores de estratos 1 y 2, con un nivel de escolaridad bajo. Sus habitantes realizan actividades del campo y/o pertenecen a las contrataciones de las petroleras devengando un salario mínimo; también se encuentran personas desplazadas y desempleadas, que no tienen acceso al servicio de salud o como en su gran mayoría al Sisben; con relación a la prestación de servicios públicos, no todas las viviendas cuentan con abastecimiento directo del acueducto, por lo cual implementan el uso de pozos subterráneos a través de moto bombas. El servicio de alcantarillado y recolección de basuras es deficiente en la zona, razón por la cual los habitantes deben improvisar otros sistemas poco amigables con el ambiente (Repizo, O. *et al.*, 2010).

Resaltando la actividad petrolera en el área de estudio, se puede inferir según Avellaneda (2008), que esta actividad en sus diferentes etapas ocasiona contaminación y cambios en el uso del suelo, remoción de materiales para la construcción de vías e instalaciones y pozos, contaminación de aguas superficiales y subterráneas, modificaciones bióticas sobre hábitats naturales, modificación de patrones socio-culturales y procesos inflacionarios propios de estos enclaves económicos. Como hechos positivos genera empleo, fortalecido el fisco nacional, departamental y municipal a través de regalías y genera divisas al país.

En el 2015, se realizó en Aipe, un seminario taller sobre la incorporación de la gestión del cambio climático en el Esquema de Ordenamiento Territorial (E.O.T), adelantado por académicos de la Universidad Tecnológica de Pereira, en el cual se expuso un panorama del municipio poco alentador. Según las predicciones del futuro climático, en esta zona se exigen urgentes medidas de transformación en las políticas y conductas sociales de producción que reparen la afectación causada por años de irresponsabilidad ambiental. Después de 50 años de explotación petrolera en las veredas de la zona baja, se presenta un paisaje árido y desolador, la desaparición de quebradas y nacederos, la pérdida de especies nativas de flora, y la migración y extinción de animales, son indicadores de los daños producidos por el calor en la región; de acuerdo al comportamiento del clima y la incidencia del fenómeno del Niño y la Niña en dos periodos del año, se estima que en los últimos 10 años se han presentado temperaturas que llegan hasta los 40 °C; estas han incrementado debido a la quema de combustibles fósiles permanentes, producto de la actividad petrolera, lo que significa la pérdida paulatina de las escasas zonas de bosque seco en la región, sobre todo en la zona adjunta a la cordillera Central (Revista virtual Aipe Lea, 2015).

Como conclusión de la actividad se planteó la necesidad de una política de conservación ambiental que garantice la biodiversidad natural en los procesos agrícolas de producción y una compensación adecuada que permita mitigar los daños ambientales causados por la explotación petrolera (Revista virtual Aipe Lea, 2015).

4 METODOLOGÍA

La biorremediación en suelos contaminados puede llevarse a cabo “*In Situ*”: excavando el terreno y tratándolo a pie de excavación, o bien “*Ex Situ*”, en instalaciones aparte. Existen parámetros que aumentan o disminuyen la probabilidad de obtener buenos resultados en el proceso de biorremediación en un medio contaminado por hidrocarburos. 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 a tratar (Torres, K. y Zuluaga, T. 2009, p.49).

Con base en lo anterior se establecieron 3 fases para el desarrollo del proyecto:

Fase 1. Planteamiento del trabajo de investigación y revisión bibliográfica:

En esta etapa se elaboró el anteproyecto definiendo los objetivos y métodos, se recopilaron los referentes bibliográficos y estado del arte, y se determinó la ubicación geográfica y características del área de estudio a través de la visita de campo y de trabajos previos como el Estudio de Impacto Ambiental (EIA) de la planta.

Fase 2. Trabajo de campo y laboratorio: Se llevó a cabo de forma alterna la etapa de campo y de laboratorio apoyada de procedimientos, métodos y técnicas estandarizadas establecidas por la empresa que administra la planta de tratamiento, teniendo en cuenta la norma colombiana que regula el manejo de residuos peligrosos (Decreto 4741 de 2005: por el cual se reglamenta parcialmente la prevención y el manejo de los residuos o desechos peligrosos generados en el marco de la gestión integral) y la normatividad internacional (Protocolo de Louisiana 29B y estándares de calidad según la ISO 9001: 2008).

Fase 3. Análisis de resultados y presentación del documento final: Se desarrolló después de realizar el trabajo experimental, del cual se obtuvieron datos que

fueron analizados estadísticamente para establecer la efectividad del proceso de biorremediación en la recuperación de los suelos tratados.

4.1 MÉTODO

El método implementado fue “*Ex Situ*” a través de biopilas, un tratamiento de biorremediación en condiciones no saturadas, que consiste en la reducción de la concentración de contaminantes derivados del petróleo en suelos excavados mediante el uso de la biodegradación a partir de la construcción de un sistema cerrado que permita controlar lixiviados, hidrocarburos volátiles y algunas variables de diseño mediante el suministro de nutrientes y oxígeno (Torres, K. & Zuluaga, T. 2009, p. 49).

Se analizó la evolución del proceso de biorremediación a partir de la adición única de nutrientes y la modificación de variables operacionales como la humedad, el pH y la temperatura. Con el manejo de estas variables se logró alterar la actividad de los microorganismos presentes en el suelo acelerando sus procesos metabólicos y, de esta manera, retornar las condiciones naturales de los suelos contaminados (Infante, 2001 citado por Trujillo, M. y Ramírez, J., 2012).

Con base en los resultados obtenidos se pudo establecer la efectividad de esta técnica de acuerdo a 3 factores importantes que influyen en la aplicación de biopilas (Maroto, M. y Rogel, J. 2001, p. 3):

- I. Los hidrocarburos deben ser no halogenados y deben encontrarse en el suelo en concentraciones menores a 50.000 ppm.
- II. La necesidad de una densidad de poblaciones microbianas (>1.000 CFU/gramo de suelo), condiciones de humedad (40-85% de capacidad de campo), temperatura (10 y 45°C), textura (baja proporción de arcillas), pH del suelo (entre 6 y 8) y baja presencia de metales pesados (< 2.500 ppm).

- III. La concentración de nutrientes en el suelo cuyo rango normal de C:N:P sea de 100:10:1.

4.2 TÉCNICA

La *técnica documental* se desarrolló a partir de la recopilación de información que sustenta el estudio, como la revisión bibliográfica y las entrevistas en campo.

La *técnica de campo* permitió la organización de pilas de material biodegradable de dimensiones variables, formadas por una mezcla de suelo contaminado y suelo limpio en condiciones favorables para el desarrollo de los procesos de biodegradación de los contaminantes. En el fondo de la pila se empleó un sistema que funcionaba como aislante (geomembranas o canales plásticos) para el control de lixiviados.

Este sistema fue aireado de forma activa, volteando la pila manualmente con distribución permanente de nutrientes y aire, y con distribución de agua periódica. La medición de las variables se realizó semanalmente y se tomó una biopila de control.

4.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental permitió la manipulación de variables para llevar a cabo un análisis de las mismas, con el propósito de confrontar los resultados del trabajo de campo con los objetivos propuestos.

4.3.1 Variables

El factor controlado durante la experimentación es la biorremediación a través de biopilas como un tratamiento de bioestimulación de tipo “ex situ” en condiciones no saturadas.

En el proceso se manejó la adición única de nutrientes al inicio y la medición de variables de control como la humedad, el pH y la temperatura, teniendo claro tres momentos según su orden: (a) la biodegradación, como proceso natural mediante el cual las bacterias u otros microorganismos alteran y convierten moléculas orgánicas en otras sustancias, como ácidos grasos y CO_2 ; (b) la propia biorremediación, que es la adición de materiales a ambientes contaminados para producir una aceleración del proceso natural de biodegradación; y (c) la fertilización, que es la adición de nutrientes, como N o P a un medio contaminado para estimular el crecimiento de microorganismos nativos (Lú Chau, 2000 citado por Trujillo, M. y Ramírez, J. 2012).

4.3.2 Tratamientos aplicados

En el proceso de bioestimulación se consideraron los siguientes ensayos:

- a. Suelo contaminado + UREA + DAP + KNO_3
- b. Suelo contaminado + boñiga + Melaza
- c. Suelo contaminado + gallinaza + NPK
- d. Suelo contaminado (control)

Se utilizaron compuestos como urea, fosfato de amonio (DAP), triple 15 (NPK), estiércol (boñiga y gallinaza) y melaza, los cuales aportaron nutrientes como el nitrógeno y el fósforo para estimular el crecimiento de los microorganismos nativos y de esta manera optimizar el proceso de biodegradación. La adición de los nutrientes se realizó en dilución con agua para facilitar su aprovechamiento por parte de los microorganismos y se efectuó al inicio de la investigación, como adición única con cantidades específicas según la concentración del nutriente dado en cada compuesto (ver tabla 2). No se cuenta con

información precisa o con clasificaciones generalizadas de rangos óptimos para cada parámetro, que se relacione con un buen resultado de degradación de hidrocarburos, en cambio se habla de las relaciones de C:P:N necesarias con que debe contar el suelo, para su biorremediación, esta relación debe estar en un rango normal de 100:2:0,4 a 100:10:2, que beneficia los procesos de metabolismo microbiano (Vallejo, V., *et al.*, 2005, Gómez, S., *et al.*, 2008 citado por Núñez, D., 2012, p. 49).

Tabla 2. Cantidad de nutrientes adicionados y % de concentración

COMPUESTO	CANTIDAD (Kg)		% N		% P	
	G1	G2	G1	G2	G1	G2
UREA	0.97	3.24	0.446	1.490	-	-
DAP	0.073	0.24	0.015	0.050	0.171	0.056
NITRATO DE POTASIO	0.119	0.40	0.045	0.152	-	-
BOÑIGA	7.71	23.7	0.092	0.284	0.061	0.189
MELAZA	0.001	0.001	1.5×10^{-5}	1.5×10^{-5}	-	-
GALLINAZA	7.71	23.7	0.285	0.876	0.169	0.521
TRIPLE 15	0.297	0.99	0.044	0.148	0.019	0.065

Fuente: Elaboración de estudio (%N: porcentaje de Nitrógeno aplicado; %P: porcentaje de Fósforo aplicado)

Los ensayos se llevaron a cabo teniendo en cuenta la clasificación de las muestras según los niveles de contaminación establecidos por la empresa de acuerdo al % de aceites presentes en el suelo a tratar (ver tabla 3), el cual debe llegar a un rango del 2% según parámetro del límite de calidad admisible (protocolo de Louisiana sección 29B descrito en la Licencia Ambiental de la planta Palmarito Resolución 1363 del 2013).

Tabla 3. Rango del % de aceites en suelos contaminados según su nivel

NIVEL DE CONTAMINACIÓN DEL SUELO	% DE ACEITES EN LA MUESTRA
Alto	Mayor a 24%
Medio	Entre 18 y 24%
Bajo	Entre 1 y 17%

Fuente: ATP Ingeniería SAS

Finalmente, el número de biopilas está dado por el producto de los tratamientos aplicados y la cantidad de ensayos que se realicen; para esta investigación se emplearon tres (3) tratamientos que se repitieron en dos grupos de biopilas y una muestra control en

cada grupo, para un total de (8) seguimientos. Los tratamientos se realizaron con un suelo clasificado en un nivel de contaminación medio, según lo expuesto en la tabla 3 y se empleó el proceso de aireación y adición de agua (H_2O), de manera conjunta, dos veces por semana.

4.3.3 Variable de respuesta

Para la investigación se estableció la variable de respuesta determinada por el % de aceites presente en el suelo analizado, dado que representa la presencia hidrocarburos saturados y no saturados, ambos procedentes del petróleo.

Esta variable depende de la acción directa de los microorganismos presentes en el suelo; normalmente el porcentaje de bacterias y hongos presentes varían de forma importante 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 107 a 109 UFC/g (Unidades Formadoras de Colonia por gramo) de suelo (Ríos, R., 2005 citado por Núñez, 2012, p. 56).

De acuerdo a las condiciones para el trabajo de investigación, se emplearon las poblaciones microbiológicas nativas. Sin embargo no se determinó el número relativo de microorganismos, pues solo se propone medir la efectividad de estos en el proceso de degradación, teniendo en cuenta los resultados de las mediciones del % de aceite dentro de una línea de evolución de tiempo.

4.3.4 Variables de Control

Las variables de control están dadas por la medición de tres factores físicos que cambian según las condiciones ambientales de la zona:

- Temperatura
- pH
- Humedad

Estos factores físicos fueron determinantes para el proyecto, pues la temperatura define la vida de los microorganismos dado que las especies bacterianas crecen a intervalos bastante reducidos, entre 15 y 45 °C (condiciones mesófilas); a esto se suma el estado de acidificación del suelo, debido a que el pH afecta significativamente en la actividad microbiana teniendo en cuenta que el crecimiento de la mayor parte de los microorganismos es máximo dentro de un intervalo de pH situado entre 6 y 8.

Así mismo los microorganismos requieren unas condiciones mínimas de humedad para su crecimiento. El agua 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. Un exceso de humedad inhibirá el crecimiento bacteriano al reducir la concentración de oxígeno en el suelo. El rango varía en función de la técnica utilizada (Torres y Zuluaga, 2009).

4.3.5 Análisis estadístico

Se utilizó el análisis estadístico descriptivo a través de gráficas representativas del comportamiento de las variables en el tiempo (evolución) y técnicas numéricas de tendencia central como la media aritmética, la mediana y la moda de los datos obtenidos en los ensayos.

A partir del análisis de los datos obtenidos en la medición de variables (% de aceite, temperatura, pH y humedad) se estableció la efectividad de los tratamientos

aplicados bajo condiciones específicas del medio y las ventajas de la biorremediación aplicada en este tipo de ecosistemas de bs-T.

La herramienta a emplear es el programa Microsoft Office Excel 2007.

4.3.6 Montaje de biopilas y esquema de seguimiento

Para el desarrollo de los diferentes tratamientos se construyeron biopilas, luego de mezclar los suelos contaminados con suelos limpios provenientes de terrenos de la planta (pre-tratamiento).

Las biopilas constituyen la tecnología de la biorremediación *ex situ* donde el suelo contaminado con hidrocarburos es extraído y dispuesto en un área de tratamiento (ver figura 4). Los montones de suelo en cada biopila no suele exceder 2 o 3 metros como máximo y pueden estar cubiertos en la parte superior por un impermeable para controlar la volatilización de acuerdo a las necesidades.

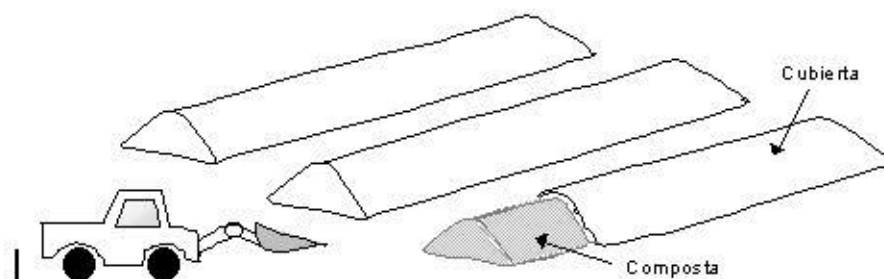


Figura 4. Modelo de un sistema de biopilas

Fuente: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/gacetas/381/volke.html>

El montaje presentó un manejo de lixiviados y un sistema de aireación para garantizar el control sobre las condiciones de remediación y el medio.

Para el montaje se utilizaron los siguientes materiales:

- Tabla de madera de 1m de largo (40 unidades) para realizar cajones con capacidad de 1m³.
- Plástico negro calibre 600 para impermeabilizar el interior de la biopila.
- Suelo contaminado con hidrocarburos de diferentes áreas de producción en campos del Huila, Tolima y Caquetá (desechos aceitosos: lodos de perforación, suelos contaminados por derrames, entre otros).
- Nutrientes: Se utilizan compuestos naturales y fertilizantes comerciales que proporcionan los nutrientes que se requieren de acuerdo a su concentración (ver tabla 4)
- Microorganismos: bacterias nativas presentes en el suelo receptor.
- Otras sustancias: Agua (H₂O). Esta se tomará del reservorio de aguas lluvia.

Tabla 4. Descripción de nutrientes utilizados en la bioestimulación

NUTRIENTE	DESCRIPCIÓN	N	P	REFERENCIA
UREA	$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ Fertilizante conocido como carbamida, importante por su concentración de nitrógeno. Sintéticamente se produce a partir del amoníaco y del dióxido de carbono.	46	N/A	Sosa, O. 2005
DAP	$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ Fosfato de amonio cuya composición comprende Nitrógeno total, Nitrógeno Amoniacal, Fósforo asimilable (P_2O_5) y un porcentaje de humedad. Es utilizado como fertilizante compuesto granulado N-P para aplicación al suelo.	21.2	23.5	Sosa, O. 2005
NITRATO DE POTASIO	KNO_3 Es un compuesto que ofrece Nitrógeno y Potasio a los microorganismos, de fácil absorción y aplicación.	38	N/A	Sosa, O. 2005
BOÑIGA	Excremento de vaca o caballo, cuya composición comprende en mayor proporción la materia orgánica, Nitrógeno total, Fósforo asimilable, Potasio, Calcio, Magnesio y una humedad relativa.	1.2	0.8	Aso & Bustos 1991 citado por Sosa, O. 2005
GALLINAZA	Estiércol de gallina utilizado como abono por su importante nivel de nitrógeno y carbono, y en menor porcentaje fósforo y potasio.	3.7	2.2	Aso & Bustos 1991 citado por Sosa, O. 2005
TRIPLE 15	NPK Es un fertilizante que suministra tres elementos químicos Nitrógeno (N), Fósforo (P) y Potasio (K).	15	6.5	Sosa, O. 2005
MELAZA	Esta sustancia espesa, dulce y de color oscuro es el residuo de la cristalización del azúcar de caña y beneficia las propiedades químicas del suelo, de la cual se utiliza la sacarosa ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$), compuesto formado por glucosa y fructosa que proporciona moléculas de C como fuente de energía a los organismos vivos que la consumen.	1.5	N/A	Recuperado de http://www.camabiscafe.net/

4.3.7 Medición de variable de respuesta

Esta medición se efectuó en el laboratorio a través de la técnica planteada en el procedimiento interno para la “Determinación de los porcentajes de aceite y humedad en

muestras de suelo mediante desorción por retorta”, establecido para la planta Palmarito basado en los Métodos Estándar para el análisis de fluidos aceitosos (Standard Methods) y en el manual de instrucción del equipo (Instruction Manual for 50 ml Retort Kit. OFI Testing Equipe. Houston, Texas. 2013. 16 p.). El sistema permitió la medición del porcentaje de crudo (% de aceites) y agua presentes en una muestra, y la estimación de sólidos en la misma.

En la retorta se calentó un volumen conocido de las muestras (diluidas en agua) para permitir la vaporización de sus componentes líquidos. El fluido se ubicó en un contenedor de acero hasta que se evaporaron los componentes líquidos, los cuales pasaron a través de un condensador y se recolectaron en una probeta graduada para así calcular el porcentaje en volumen (ver figura 5).

Los volúmenes líquidos se determinaron con la lectura de las fases oleosa y acuosa en la probeta graduada. El porcentaje de aceites, entonces, se pudo hallar por diferencia.

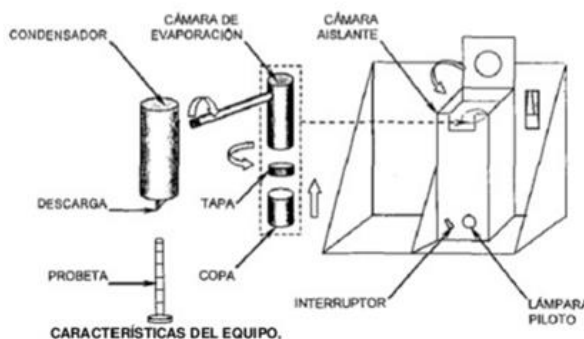


Figura 5. Montaje y características del equipo de retorta

4.3.8 Medición de variables de Control

Las variables de control presentaron el comportamiento de las condiciones ambientales de la zona, influyendo directamente en el proceso de biorremediación.

El grupo de estas variables (temperatura, humedad y pH) se midieron periódicamente utilizando equipos específicos de laboratorio tales como el termómetro, el multiparámetro y la retorta (ver tabla 5), siguiendo procedimientos internos de la planta.

Tabla 5. Métodos para la medición de variables de control

VARIABLE	MÉTODO	EQUIPO
Temperatura	Procedimiento LA-017 temperatura mediante el método de laboratorio y campo 2550 B. Standard Methods	Termómetro de mercurio 0 – 100 °C
pH	Procedimiento Determinación del valor de pH en extracto de suelo mediante el método electrométrico 4500-H ⁺ B. SM También se empleará el procedimiento de	Medidor de pH (pH metro o sonda multiparamétrica) HQ 30d <i>flexi</i> Cinta de pH
Humedad	Procedimiento Determinación de los porcentajes de aceite y humedad en muestras de suelo mediante desorción por retorta	Retorta

4.4 ANÁLISIS DE RESULTADOS Y PLANTEAMIENTO DE ESTRATEGIAS PARA LA CONSERVACIÓN DEL ECOSISTEMA

Una vez realizado la fase experimental, se llevó a cabo el análisis de los resultados basado en el comportamiento estadístico de los datos obtenidos y se determinó la efectividad de la técnica aplicada. A partir de esto, se plantearon los beneficios que ofrece la biorremediación en condiciones ambientales específicas de un ecosistema de b-sT, demostrando la capacidad descomponedora de las poblaciones microbianas presentes en el suelo que puede llegar a convertirse en una solución para recuperar las diferentes zonas afectadas por contaminaciones con hidrocarburos.

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 DESARROLLO EXPERIMENTAL

El trabajo experimental se llevó a cabo con base en el comportamiento de suelos contaminados provenientes de diferentes áreas de producción petrolera del departamento del Huila, Tolima y Caquetá. El manejo de estos residuos debe cumplir los parámetros establecidos en la licencia ambiental que sostiene la planta de tratamiento donde se realizaron los ensayos de biorremediación, la cual dispone los siguientes valores según el límite de calidad admisible para suelos tratados (protocolo de Louisiana sección 29B):

Tabla 6. Parámetros de calidad admisible estipulados en la licencia ambiental

PARÁMETRO	LÍMITE DE CALIDAD ADMISIBLE
pH*	6-9 unidades
Conductividad	< 40000 us/cm
Humedad*	20 %
Grasas y aceites*	2 %
HAPT's (16 carcinogénicos)	20 mg/Km
BTEX	1 mg/Kg
TPH	1 %

Fuente: Licencia Ambiental Resolución 1363 del 2013, ATP Ingeniería SAS

* Parámetros que se analizarán en el trabajo de investigación

Dentro del proceso de biorremediación se hizo seguimiento a algunos parámetros como el pH, la humedad, la temperatura y el porcentaje de aceites y grasas, a partir de los cuales se determina la efectividad del proceso, siendo este un cumplimiento legal por parte de la empresa.

5.1.1 Pre-tratamiento

El suelo contaminado fue recepcionado en la planta bajo unos parámetros de entrada que permitieron seleccionar el sitio de descargue. Luego se dejó secar por una semana aproximadamente (algunos residuos pueden haber estado en el sitio de recepción más de una semana) y se prosiguió a trasladarlo al sitio donde se llevaría a cabo la mezcla con material limpio (ver figura 6). Para el proceso se empleó una retroexcavadora y una volqueta sencilla.

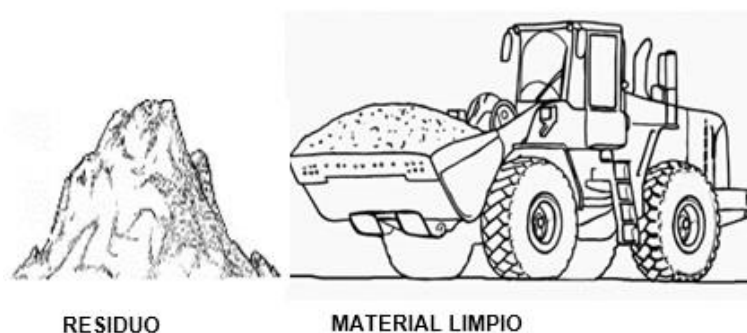


Figura 6. Proceso de pre-tratamiento

Cuando el tratamiento se quiso llevar a escala real, se implementó un sistema de volteo mecánico basado en el funcionamiento de un tractor sujeto a una máquina volteadora.

5.1.2 Montaje de las biopilas

Una vez mezclado el material, se dispuso en unidades experimentales de 1 m^3 empleando plástico negro calibre 600 para impermeabilizar el interior de la biopila (ver fotografía 5 y 6), siendo este material escogido por su baja permeabilidad y mínima absorción de HTP.



Fotografía 5. Montaje de biopilas con retroexcavadora
Fuente: Archivo fotográfico de la planta Palmarito 2013



Fotografía 6. Montaje de biopilas
Fuente: Archivo fotográfico de la planta Palmarito 2013

Los montajes quedaron situados en espacio abierto para el aprovechamiento directo de las condiciones ambientales (ver fotografía 7 y 8).



Fotografía 7. Biopilas en la terminación del montaje

Fuente: Archivo fotográfico de la planta Palmarito 2013



Fotografía 8. Biopilas

Fuente: Archivo fotográfico de la planta Palmarito 2013

5.1.3 Seguimiento y medición de variables

La variable de respuesta depende directamente de la medición del % de aceites que se encuentre en los suelos tratados. Este porcentaje demuestra la cantidad de aceite mineral en el suelo, el cual está formado por hidrocarburos saturados y no saturados, ambos procedentes del petróleo. Según Torres y Zuluaga (2009), los hidrocarburos saturados son muy estables a la acción del oxígeno, de la luz, temperatura y menos viscosos. (Hidrocarburos parafínicos y naftalénicos); mientras tanto los hidrocarburos no saturados son muy inestables y más viscosos (Hidrocarburos olefínicos y aromáticos).

Teniendo en cuenta esta característica, se realizó el seguimiento y medición del % de aceites, de manera conjunta con la determinación del % de humedad bajo el mismo método de retorta. Este factor es concluyente para evaluar la efectividad de cada ensayo porque la disminución del % de aceites en las muestras de suelo indicarían el buen desarrollo de la acción bacteriana dentro del proceso de biodegradación de los contaminantes provenientes de hidrocarburos.

Las variables de control dependen directamente de los factores medio ambientales, necesarios a la hora de proporcionar las condiciones óptimas para el crecimiento de los microorganismos que llevan a cabo la recuperación del suelo. Los microorganismos son muy sensibles a los cambios de temperatura, pH, disponibilidad de nutrientes, oxígeno y humedad (Torres, K. & Zuluaga, T., 2009, p. 38).

La temperatura es uno de los factores ambientales más importantes que afecta la actividad metabólica de los microorganismos y la tasa de biodegradación. Generalmente, las especies bacterianas crecen a intervalos de temperatura bastante reducidos, entre 15 y 45 °C (condiciones mesófilas), decreciendo la biodegradación por desnaturalización de las enzimas a temperaturas superiores a 40°C e inhibiéndose a inferiores a 0°C (Maroto, M. y Rogel, J. 2001, p. 3).

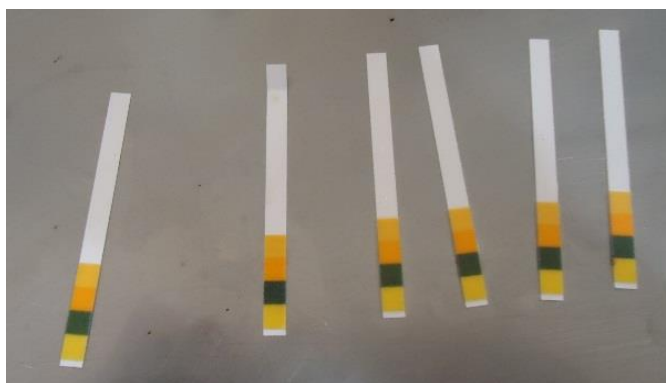
En la medición de la temperatura se implementó un termómetro de mercurio con una escala de 0 a 100 °C, el cual se introdujo en la biopila a diferentes profundidades para obtener varias lecturas que fueron promediadas.

Por otro lado, para la medición del pH se utilizó un pH-metro (HQ 30d *flexi*) y la cinta de pH (ver fotografía 9 y 10). Este es un factor importante en el momento del análisis de resultados porque afecta significativamente la actividad microbiana y en consecuencia, cuanto mayor sea la diversidad de microorganismos existentes, potencialmente mayor será el rango de tolerancia. No existen unas condiciones preestablecidas que sean óptimas en todos los casos, pero en términos generales el crecimiento de la mayor parte de los microorganismos está dentro de un intervalo de pH situado entre 6 y 8. El pH óptimo establecido para procesos de biodegradación es neutro (pH 7,4 - 7,8) (Dibble y Bartha, 1979 citados por Torres, K. y Zuluaga, T., 2009, p. 38).

Este proceso se implementó teniendo en cuenta el procedimiento interno para la “Determinación del valor de pH en extracto de suelo mediante el método electrométrico 4500-h⁺ b. sm” establecido por la empresa.



Fotografía 9. Medición de pH a través del pH-metro
Fuente: Archivo fotográfico de la planta Palmarito 2013



Fotografía 10. Medición de pH a través del papel indicador de pH
Fuente: Archivo fotográfico de la planta Palmarito 2013

Con relación al porcentaje de humedad, los montajes recibieron adición de agua una vez por semana para mantener la humedad en las células bacterianas lo cual optimiza el proceso de degradación que llevan a cabo estos microorganismos, ya que pueden acceder más fácilmente al contaminante en estado acuoso. Un exceso de humedad inhibiría el crecimiento bacteriano al reducir la concentración de oxígeno en el suelo. Por lo anterior, la humedad del suelo puede limitar de forma severa la biodegradación, fundamentalmente en suelos superficiales afectados por oscilaciones importantes en el contenido de agua. No obstante el nivel óptimo de humedad depende de las propiedades de cada suelo, el tipo de contaminación y si la biodegradación es aeróbica o anaeróbica (Torres, K. & Zuluaga, T., 2009).

El suelo que se utilizó para realizar los ensayos (pre-tratamiento: mezcla de suelos contaminados con suelos limpios) es un suelo superficial de composición areno-arcillosa, con baja retención de humedad, reacción neutra, bajo contenido de materia orgánica y fuerte acción erosiva. Se encuentra en una zona con alta incidencia solar y de evapotranspiración, además de ser un terreno plano a suavemente inclinado (Méndez, G. *et al.*, 2012).

La capacidad del suelo de acuerdo a su textura y el punto de marchitez (*capacidad de absorción de agua por parte de las plantas de la zona*) determinan los límites máximo y mínimo de la humedad de este y se puede tomar de referencia teniendo en cuenta que existe una dinámica entre las plantas y los microorganismos presentes en el mismo. La cantidad de agua comprendida entre estos dos valores se define como agua útil o humedad disponible (ver tabla 8).

Tabla 7. Humedad en suelos según textura

HUMEDAD EN EL SUELO			
Textura del suelo	Capacidad del campo	Punto de marchitamiento	Humedad disponible
Arenoso	9%	2%	7%
Arenoso – franco	14%	4%	10%
Franco arenoso – limoso	23%	9%	14%
Franco arenoso + materia orgánica	29%	10%	19%
Franco	34%	12%	22%
Franco – arcilloso	30%	16%	14%
Arcilloso	38%	34%	14%
Arcilloso con buena estructura	50%	30%	20%

Fuente: TRAXCO SA <http://www.traxco.es/blog/tecnologia-del-riego/humedad-en-suelos-de-diferente-textura>

De acuerdo a los referentes presentados en la tabla 7 y 8, se determinó que la humedad propicia para los ensayos fluctúa entre el 25 y el 35%, siendo estos los valores

mínimos y máximos respectivamente. Sin embargo, 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, S., *et al.*, 2008 citado por Núñez, D., 2012, p. 54).

Para los ensayos se adicionó agua a partir del siguiente cálculo, según la humedad relativa:

% de humedad en retorta (m^3), ejemplo:

$$0.24\% \quad \longrightarrow \quad 0.24m^3$$

$$\frac{0.24m^3 \text{ H}_2\text{O}}{m^3 \text{ suelo}} \text{ se lleva a una humedad del 35\% (máxima)}$$

$$\frac{0.24m^3 \text{ H}_2\text{O}}{m^3 \text{ suelo}} + X = \frac{0.35m^3 \text{ H}_2\text{O}}{m^3 \text{ suelo}}$$

(agua a adicionar)

$$X = 0.35m^3 \text{ H}_2\text{O}/m^3 \text{ suelo} - 0.24m^3 \text{ H}_2\text{O}/m^3 \text{ suelo}$$

$$X = 0.11m^3 \text{ H}_2\text{O}/m^3 \text{ suelo}$$

$$\frac{0.11m^3 \text{ H}_2\text{O}}{m^3 \text{ suelo}} \times 0.3m^3 \text{ suelo} = 0.33 m^3 \text{ H}_2\text{O}$$

(biopila)

$$0.33 m^3 \text{ H}_2\text{O} = 33 \text{ litros H}_2\text{O}$$

Teniendo en cuenta el % de humedad medido semanalmente a través del método de retorta según el procedimiento interno para la “Determinación de los porcentajes de aceite y humedad en muestras de suelo mediante desorción por retorta”, implementada por la empresa, se calcularon las cantidades de agua a adicionarse. El agua utilizada para

los ensayos fue suministrada en su totalidad por la piscina de recolección de aguas lluvias a través de un sistema de bombeo donde se utilizó una motobomba y una manguera de ½ pulgada.

Por otro lado, también fue relevante mantener el nivel de oxígeno óptimo en las biopilas, dado que en condiciones aerobias los microorganismos tienen un proceso más efectivo, porque la transformación de los hidrocarburos del petróleo en condiciones anaerobias es muy lenta o algunas veces inexistente (Gibson y Subramaina, 1984 citado por Núñez, D. 2012, p. 29).

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 (Gómez, S., *et al.*, 2008 citado por Núñez, D., 2012, p. 28):

Degradación aerobia: $\text{Sustrato (suelo)} + \text{O}_2 = \text{biomasa (humus)} + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$

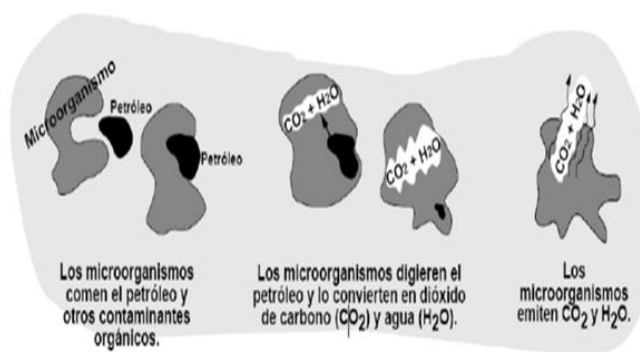


Figura 7. Proceso de biotransformación natural

Fuente: <http://www.miliarium.com/Prontuario/TratamientoSuelos/Biopilas.asp>

Durante la biodegradación de los hidrocarburos del petróleo presentes en los suelos contaminados, las bacterias oxidan el petróleo a dióxido de carbono, agua y energía (ver figura 7), y aproximadamente 50 % del carbono en el petróleo es usado para biomasa bacteriana. Algunos de los hidrocarburos son muy resistentes, especialmente los hidrocarburos poliaromáticos (HPAs), los cuales no son utilizados totalmente, pero pueden ser oxidados parcialmente e incorporados en el material húmico del suelo (Atlas, R. y Bartha, R. 2002).

De acuerdo a lo anterior, se determina el proceso de aireación manualmente con la técnica de paleo, realizándolo un vez por semana, sumado al proceso que se lleva a cabo en el suelo de manera natural. A continuación se relaciona el periodo en el que se realizó el proyecto y las fechas de monitoreo:

Tabla 8. Periodo de seguimiento y medición de variables en las biopilas

SEMANA	FECHA DE MUESTREO
Inicio	22/11/2013
Semana 2	04/12/2013
Semana 3	16/12/2013
Semana 4	30/12/2013
Semana 5	11/01/2014
Semana 6	21/01/2014
Semana 7	31/01/2014
Semana 8	10/02/2014
Semana 9	20/02/2014
Semana 10	02/03/2014
Semana 11	12/03/2014
Semana 12	22/03/2014
Semana 13	01/04/2014
Semana 14	11/04/2014

Fuente: ATP Ingeniería SAS

5.1.4 Adición única de nutrientes

Generalmente en suelos contaminados con hidrocarburos se genera un desbalance del nitrógeno y fosforo del suelo, disminuyendo las concentraciones de los nutrientes, lo

cual disminuye la velocidad de degradación microbiana. Para compensar la ausencia de estos nutrientes en este tipo de procesos de biorremediación, se adicionan nutrientes orgánicos en forma de estiércol, compost o lodos residuales, o inorgánicos como los fertilizantes químicos comerciales (Dibble y Bartha, 1979; Hueseman y Moore, 1993; Vivaldi, 2001 citados por Dueñas, M. y Santos, L. 2006, p. 18)

La adición de nutrientes como el nitrógeno y el fósforo a un medio contaminado permite entonces estimular el crecimiento de los microorganismos nativos y de esta manera optimizar el proceso de biodegradación. No se cuenta con información precisa o con clasificaciones generalizadas de rangos óptimos para cada parámetro, que se relacione con un buen resultado de degradación de hidrocarburos, en cambio se habla de las relaciones de C:P:N necesarias con que debe contar el suelo, para su biorremediación, esta relación debe estar en un rango normal de 100:2:0,4 a 100:10:2, que beneficia los procesos de metabolismo microbiano (Vallejo, V., *et al.*, 2005, Gómez, S., *et al.*, 2008 citado por Núñez, D., 2012, p. 27).

La concentración de nitrógeno debe oscilar entre 0,13% y 0,22%, valores que compensarán la relación de C/N, por la contaminación del hidrocarburo y le permitirá a los microorganismos contar con nutrientes suficientes para llevar a cabo el proceso de biorremediación (Ríos, R., 2005; Vallejo, V., *et al.*, 2005, citados por Núñez, D., 2012, p.27).

5.1.5 Incidencia del factor químico del contaminante

El factor químico más importante en la biorremediación es precisamente la estructura molecular del contaminante y la capacidad de los microorganismos para biodegradarlo. Esta característica está relacionada con factores tales como la solubilidad, el grado de ramificación, el grado de saturación, la naturaleza y el efecto de los sustituyentes.

De acuerdo a las características del hidrocarburo, se presenta su descomposición; habitualmente, todos los hidrocarburos de petróleo (no degradados) contienen alcanos (de cadena lineal y ramificada, de C1 a C40 aproximadamente), ciclo alcanos o naftenos e hidrocarburos aromáticos. Howe-Grant (1996), denomina el crudo parafínico o ligero cuando el crudo contiene una elevada proporción de parafinas (n – alcanos y alcanos ramificados), y asfáltico o pesado si predominan naftenos (ciclo alcanos), alcanos de cadena larga (C30 a C45) y HAPs. (Torres, K. y Zuluaga, T., 2009, p. 27).

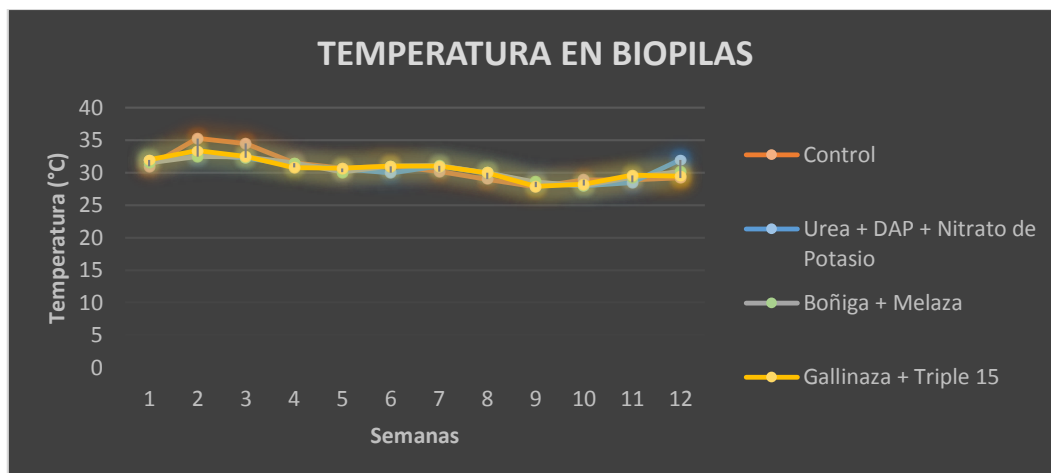
De las distintas familias de hidrocarburos del petróleo, los n -alcanos y los alcanos ramificados de cadena intermedia (C10-C20) son los sustratos más fácilmente degradables por los microorganismos del suelo. De igual forma, los HAPs que contienen de 2 a 3 anillos aromáticos pueden ser biodegradados eficazmente en el suelo en condiciones ambientales óptimas, mientras que los HAP con 4 o más anillos bencénicos, presentan una mayor recalcitrancia inherente y una baja solubilidad (Torres, K. y Zuluaga, T., 2009).

Comercialmente, los hidrocarburos también se pueden clasificar de acuerdo a la gravedad API (*American Petroleum Institute*), creada para catalogar líquidos menos densos que el agua en una escala relacionada con la gravedad específica de dicho fluido. Los petróleos con menores gravedades específicas (más livianos), tendrán mayores valores API. Es así como el crudo de petróleo ligero o liviano contienen gran concentración de hidrocarburos de bajo peso molecular (Nava, N., 2014).

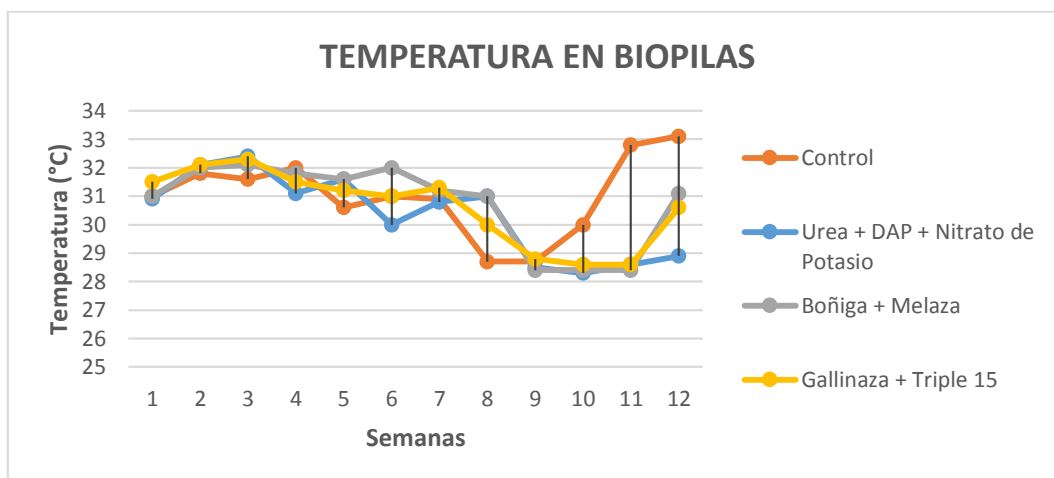
De acuerdo a la información suministrada por el ingeniero jefe de la planta Palmarito, “los contaminantes presentes en los suelos tratados para el proyecto de investigación, provienen de hidrocarburos de petróleo parafínicos o ligeros de las diferentes zonas de producción del Huila, Tolima y Caquetá, lo cual hace que el proceso de biodegradación sea más efectivo por las condiciones dadas del compuesto” (A. Cabrera, comunicación personal, 15 de enero de 2016).

5.2 ANÁLISIS DE RESULTADOS

En cada tratamiento se hizo seguimiento a nivel evolutivo de las diferentes variables con relación a la biopila de control, en la cual solo se implementó el proceso de aireación y humectación. El comportamiento se muestra en las siguientes gráficas (ver tablas de resultados en el APÉNDICE):



Gráfica 1. Comportamiento de la temperatura (°C) en las biopilas G1



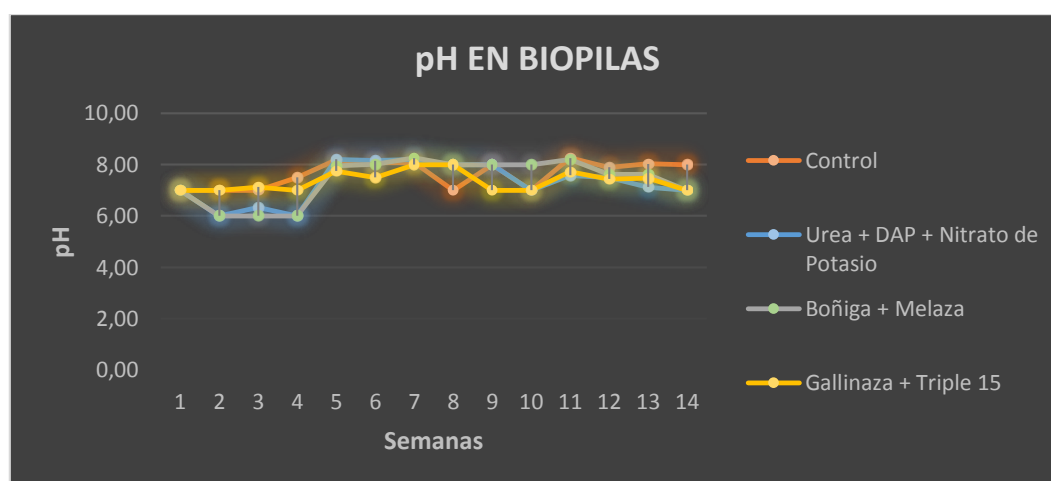
Gráfica 2. Comportamiento de la temperatura (°C) en las biopilas G2

En la gráfica 1 y 2, se observa que la temperatura medida en los dos grupos de biopilas con tratamientos fluctúa entre los 28 y 33°C durante el periodo de los ensayos, con un promedio de 30,7°C mostrando una condición favorable para la actividad

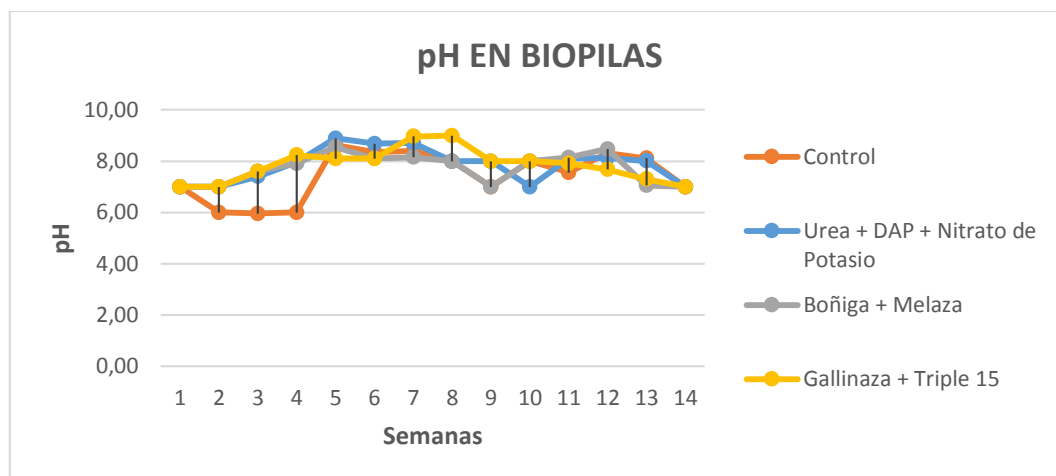
metabólica de los microorganismos y la biodegradación de los contaminantes dado que a bajas temperaturas, la viscosidad de los compuestos de hidrocarburo incrementan y sus componentes tóxicos de bajo peso se reducen, retrasando el proceso de biodegradación, por lo cual el rango optimo es de 18 a 30°C (Gómez, S., *et al.*, 2008; Atlas, R., 1996., Levin, M., y Gealt, M., 1997 citados por Núñez, D. 2012).

La temperatura presentó para todas las biopilas un descenso a partir de la semana 7 y se mantuvo estable hasta la semana 11 cuando de nuevo ascendió. Sin embargo, para la biopila # 8 del grupo 2 (de control), la temperatura aumento a partir de la semana 10 de manera considerable por encima de los demás ensayos, este comportamiento se puede atribuir a la actividad microbiana dentro de las biopilas, debido al trabajo de los microorganismos en el proceso de biodegradación.

Esta condición de la temperatura está sujeta al comportamiento ambiental de la zona que para los meses de diciembre a abril, presentan temperaturas mínimas, que pueden descender hasta los 25 °C (Méndez, G., *et al.*, 2012).



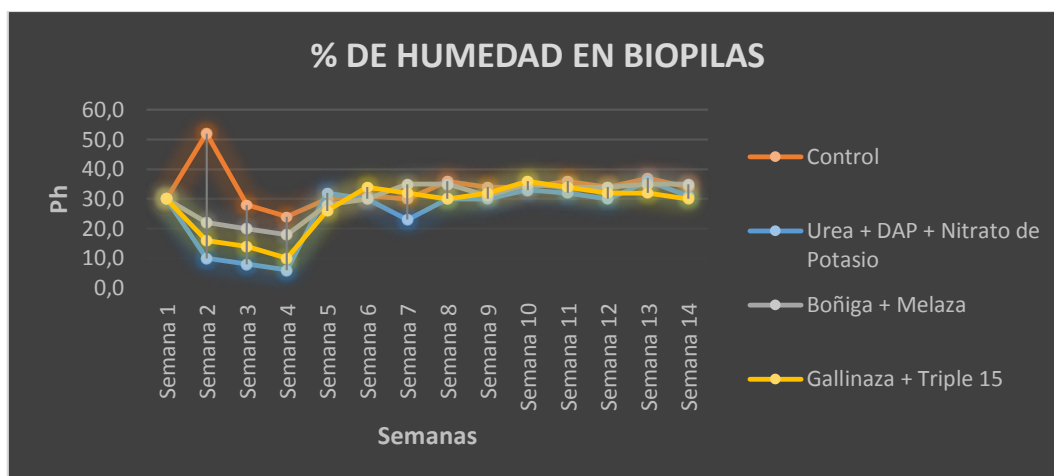
Gráfica 3. Comportamiento del pH en las biopilas G1



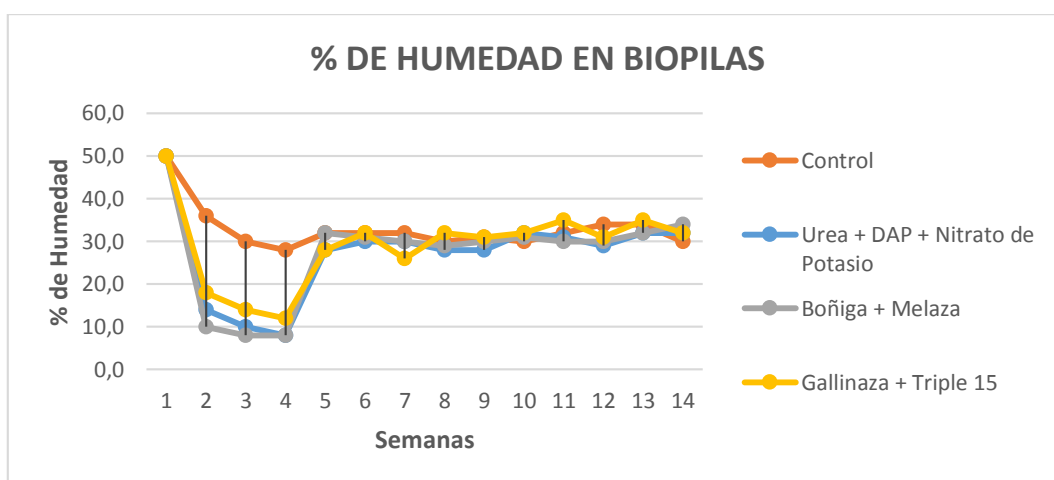
Gráfica 4. Comportamiento del pH en las biopilas G2

Los valores de pH que presentan las graficas 3 y 4 muestran un rango tolerable para el crecimiento y desarrollo de los microorganismos durante las primeras semanas, que está dentro de un intervalo entre 6 y 8. Aunque el pH óptimo establecido para procesos de biodegradación es neutro (Torres, K. y Zuluaga, T., 2009), los valores no presentaron diferencias significativas permitiendo una condición apropiada para el proceso de biorremediación con promedios de 7.3 7.4, 7.3 y 7.6 para las biopilas del primer grupo y 7.8, 7.7, 7.8 y 7.5 para las biopilas del segundo grupo. Después de la semana 4 se mostró un leve aumento del valor del pH que se mantuvo entre 7.0 y 8.3, considerado como un estado neutro a ligeramente básico.

El comportamiento del pH afecta directamente la solubilidad de nutrientes como el fósforo y el nitrógeno. La acidificación o la reducción de este parámetro en el suelo inhibirían el ingreso de dichas moléculas, esenciales para el trabajo de metabolización que realizan las células bacterianas en el proceso de biorremediación (Ñústez, D., 2012, p. 25). Con base en esta relación, el comportamiento del pH que presentaron las biopilas en los ensayos permitió el buen desarrollo de los microorganismos a la hora de iniciar su proceso metabólico para reducir el % de aceites traducido en la biodegradación de los hidrocarburos contaminantes del suelo.



Gráfica 5. Comportamiento de la humedad en las biopilas G1

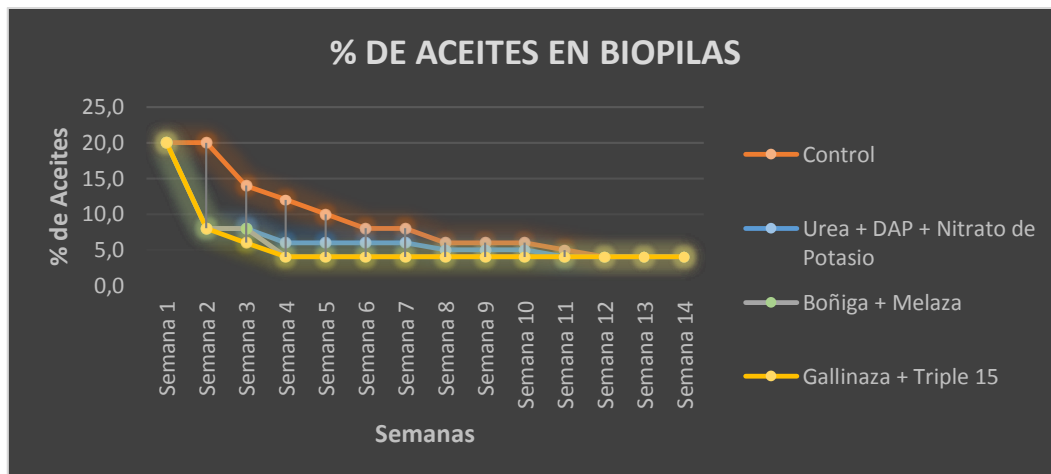


Gráfica 6. Comportamiento de la humedad en las biopilas G2

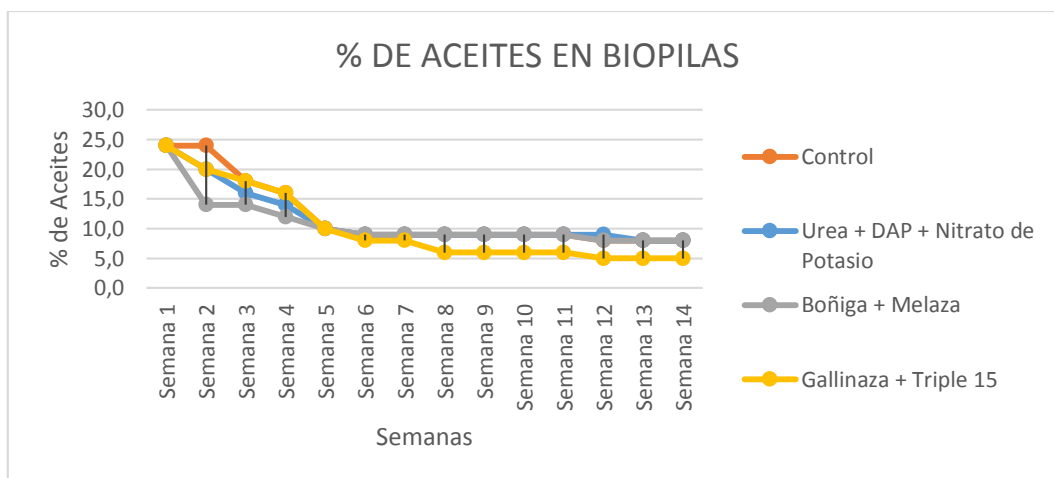
Con relación al porcentaje de humedad, se puede inferir de las gráficas 5 y 6 que se inició con un valor alto de humedad dado que se hace la primera adición de agua antes de iniciar cualquier proceso, pero luego se presentaron valores bajos en las biopilas con tratamientos, hasta la semana 5 donde se estabiliza. El promedio del % de humedad se mantuvo entre 27,3 y 33,6%, siendo los valores más altos el de las biopilas # 4 y # 8 (de control). Estos resultados permiten unas condiciones favorables a los microorganismos que toman los nutrientes necesarios para su crecimiento de la fase líquida, siendo el agua un medio de transporte a través del cual los componentes orgánicos y nutrientes son movilizadas hasta el interior de las células (Si-Zhong, Y., *et al.*, 2009; Ruberto, L., *et al.*,

2003 citados por Núñez, D., 2012, p. 53); por esta razón a menor humedad en el suelo menor será la actividad microbiana.

En el transcurso de la investigación se realizó la adición de agua, tratando de mantener el porcentaje de humedad entre un rango óptimo del 25 al 35% y así mejorar la toma de nutrientes y el crecimiento microbiano; sin embargo, este factor es atribuible a las condiciones climáticas de la zona que tiene una alta incidencia solar y de evapotranspiración, y a las características del tipo de suelo de composición areno-arcillosa con baja retención de humedad, reacción neutra, bajo contenido de materia orgánica y fuerte acción erosiva (Méndez, G., *et al.*, 2012).



Gráfica 7. Comportamiento del % de aceites en las biopilas G1



Gráfica 8. Comportamiento del % de aceites en las biopilas G2

Partiendo del fundamento bioquímico de la biorremediación, que se basa en que en la cadena respiratoria o transportadora de electrones de las células bacterianas, se van a producir una serie de reacciones de óxido-reducción cuyo fin es la obtención de energía y que dicho proceso lo inicia un sustrato orgánico, en este caso los compuestos de hidrocarburos que actúan como dadores de electrones, de modo que la actividad metabólica de la célula acaba degradándolos y consumiendo dicha sustancia (Maroto, M. y Rogel, J. 2001), se analiza el comportamiento de la variación del % de aceites de las biopilas en la gráfica 7 y 8 que demuestran la incidencia de estos microorganismos y la acción de las variables de control para la disminución de los contaminantes en el suelo.

El % de aceites en las biopilas del segundo grupo decrece gradualmente en todos los tratamientos con relación al primer grupo, en donde a partir de la segunda semana los valores bajaron en un 60% la concentración de aceites después de haber adicionado los nutrientes. En el grupo 1 se observa que los tratamientos de las biopilas # 3 (gallinaza + triple 15) y # 2 (boñiga + melaza) son más efectivos a la hora de disminuir el porcentaje de aceites de manera rápida pero una vez presentan un valor bajo, se mantiene constante a partir de la semana 4 y no muestra ningún otro cambio. Al analizar los compuestos adicionados en estos tratamientos, tanto la gallinaza como la boñiga son de carácter natural y proporcionan un importante contenido de nitrógeno, fósforo y en menor relación potasio; la gallinaza es considerada como uno de los fertilizantes más completos y que mejores nutrientes puede dar al suelo, además que contiene fuentes de carbono. Por otro lado el triple 15 es un fertilizante muy completo que permite tener una fuente óptima de los tres macro nutrientes primarios (N-P-K), mejorando también la calidad de los suelos.

En el grupo 2 se inició con una concentración mayor de aceites en el suelo contaminado, y durante el periodo de seguimiento se evidenció un comportamiento decreciente reflejado en la gráfica 8, dando como resultado final un 8% en aceites para los dos primeros tratamientos (biopilas # 1 y # 2); sin embargo en la biopila # 3 (tratamiento con gallinaza + triple 15) el resultado fue favorable, con una disminución del 80% de los aceites contaminantes del suelo, siendo este el tratamiento con mejores resultados.

Con el tratamiento de urea + DAP + nitrato de potasio, en los dos grupos de biopilas, la disminución del porcentaje de aceites se muestra de manera escalonada pero llega a la misma concentración de los otros tratamientos, lo cual lo hace igual de eficiente.

Aunque los tratamientos dieron resultados positivos porque disminuyeron las concentraciones de aceite, al hacer un comparativo con las biopilas de control, demostraron que la adición de nutrientes acelera el proceso de biorremediación pero finalmente se obtienen los mismo resultados que la muestra de suelo de control, es decir, que las variables que inciden directamente en el proceso de biorremediación (temperatura, pH y humedad) son favorables en este tipo de ecosistemas independientemente de la estimulación con nutrientes que se genere a los microorganismos autóctonos.

Al realizar una descripción estadística de los datos de concentración de aceites (ver tablas de resultados de descripción estadísticas en APÉNDICE) para las biopilas con bioestimulación, se encontraron valores muy cercanos entre las medias y entre el nivel de confianza (95%), lo que indica que los datos de concentración de hidrocarburos a través del tiempo de la investigación, presentan una distribución normal.

También se hace un análisis del % de reducción de aceites y de la tasa de degradación de acuerdo al comportamiento que presentó cada biopila (ver tabla 10) y se obtienen valores uniformes para las biopilas de cada grupo; sin embargo al hacer una comparación entre los mismos tratamientos del grupo 1 y 2, se observa una variación del 14% aproximadamente, lo cual indica que el porcentaje de reducción de aceites disminuyo de manera considerable en las biopilas del primer grupo. En relación con la tasa de degradación se mantuvo igual para todas las biopilas (ver gráfica 9 y 10).

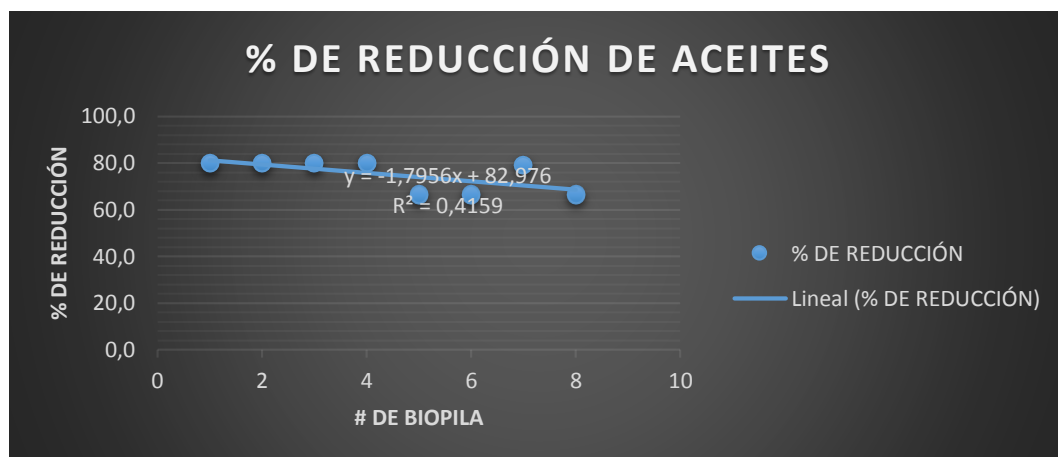
Tabla 9. Degradación de los hidrocarburos con relación al % de aceites

BIOPILA	% DE ACEITE INICIAL	% DE ACEITE FINAL	REDUCCIÓN EN 141 DÍAS (14 SEMANAS)	% DE REDUCCIÓN DE ACEITES	TASA DE DEGRADACIÓN DE ACEITES
1	20	4	16	80,0	0,1
2	20	4	16	80,0	0,1
3	20	4	16	80,0	0,1
4	20	4	16	80,0	0,1
5	24	8	16	66,7	0,1
6	24	8	16	66,7	0,1
7	24	5	19	79,2	0,1
8	24	8	16	66,7	0,1

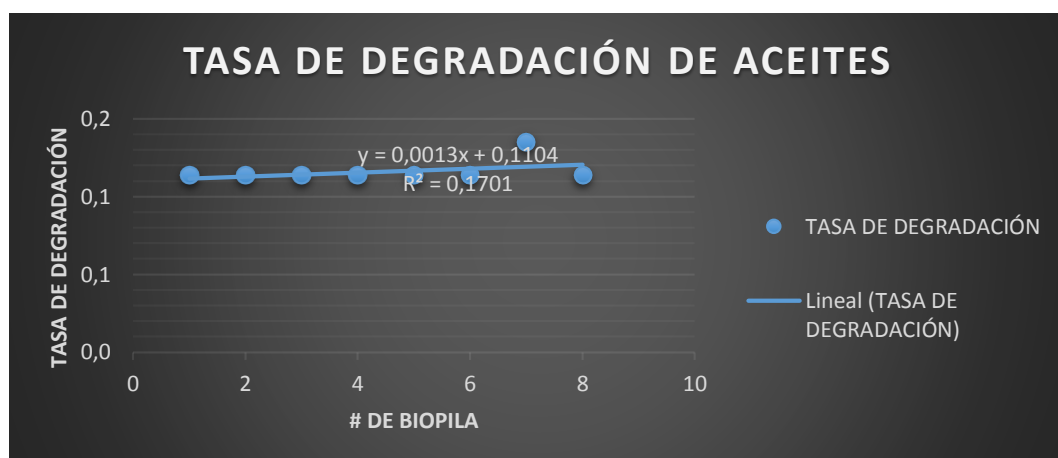
Fuente: Elaboración de estudio

Finalmente se tiene que el % de aceites obtenido como resultado en los ensayos de las biopilas del grupo 1 y del grupo 2 (4 y 8% respectivamente), está por encima del parámetro del límite de calidad admisible establecido en la Licencia Ambiental de la planta Palmarito donde se realizaron las pruebas de biorremediación, por lo tanto no se considera una técnica tan efectiva desde el punto de vista del cumplimiento legal ambiental, pero los resultados del sistema de biopilas demostraron eficacia para la recuperación de suelos con un nivel de contaminación medio al adicionar fertilizantes comunes, agua e implementar un sistema de aireación como el volteo manual, obteniendo buenos resultados en el tratamiento de estos residuos bajo las condiciones propias del ecosistema seco.

Esto demuestra que la abundancia de fuentes de carbono presentes en el sustrato al tener un suelo contaminado con hidrocarburo, puede intensificar la actividad microbiana, pero las bajas concentraciones de nutrientes aceleran o retrasan los procesos de biodegradación de dichos contaminantes (Pardo, J., Perdomo, M. y Benavides, J. 2004).



Gráfica 9. Porcentaje de reducción de aceites en las biopilas



Gráfica 10. Comportamiento de la tasa de degradación de aceites en las biopilas

6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Las estrategias de bioestimulación utilizadas en las biopilas con suelos contaminados de una planta de tratamiento de residuos ubicada en la vereda el Dindal del municipio de Aipe, demostraron reducciones significativas en el % de aceites durante un periodo de 14 semanas (141 días); según los resultados de la investigación se puede inferir que la mayor reducción en el % de aceites se vio reflejada entre la primera y la cuarta semana (primer mes), razón por la cual se puede establecer que el tratamiento puede aplicarse en periodos más cortos de tiempo obteniendo la misma efectividad.

En las primeras 4 semanas se observaron reducciones en el % de aceites que representa la concentración de hidrocarburos en las biopilas, tiempo en el cual también se evidencia un incremento en la temperatura, debido al aumento en el proceso metabólico de los microorganismos y su actividad enzimática, llegando a beneficiar la degradación del contaminante que al mismo tiempo disminuye su viscosidad. Este hecho también se soporta desde el comportamiento de la variable de control del pH que se mantuvo entre 7.0 y 8.2 considerado como un estado neutro a ligeramente básico, rango tolerable para el crecimiento y desarrollo de los microorganismos. Así mismo, el contenido de agua en las biopilas presentó promedios entre 27,3 y 33,6%, que al ser comparados con el rango establecido en el trabajo de investigación de Dueñas, M. y Santos, L. (2006), para la biodegradación aerobia de hidrocarburos de 50 al 75% de la capacidad del campo y de 25 al 28% para la actividad microbiana, se puede determinar como una condición óptima en el proceso de biorremediación desarrollado.

En general, los resultados mostraron un porcentaje de reducción y una tasa de degradación de aceites que se mantienen en una relación lineal para todos los tratamientos aplicados en las diferentes biopilas, lo que quiere decir que se encuentran dentro rangos aproximados; esto se atribuye a que los procesos de biodegradación presentaron un comportamiento muy similar bajo las mismas condiciones ambientales. Sin embargo, de los 3 tratamientos aplicados en las biopilas, la utilización de gallinaza y triple 15 mostró

un proceso más rápido en la reducción del % de aceites en el suelo, lo cual demuestra mayor concentración de microorganismos activos para la degradación de los hidrocarburos del petróleo oxidándolos a dióxido de carbono, agua y energía (Sharabí y Bartha, 1993 citado por Núñez, D., 2012).

A partir de los resultados de la investigación, se tiene que la presencia de microorganismos nativos en los suelos del ecosistema intervenido y el manejo de algunas variables como la humedad dentro del proceso de biorremediación en las biopilas de control, tienen efectos positivos en la reducción del porcentaje de aceites. Por esta razón, no se requiere la adición de fertilizantes químicos comerciales para tratar estos suelos, aunque si es viable suministrar compuestos naturales como la boñiga y la gallinaza que proporcionan un alto contenido de macromoléculas (N, P, K) útiles en el proceso de biorremediación. Sin embargo se recomienda hacer siempre una valoración del suelo contaminado a tratar para decidir la técnica a implementar.

Para finalizar, se puede plantear que la biorremediación a través de la bioestimulación modifica el entorno de las bacterias existentes en el medio y se hace efectiva en el tratamiento de residuos con bajas concentraciones de hidrocarburos contaminantes, permitiendo controlar las variables del proceso relacionadas con los factores ambientales (temperatura, pH y humedad) del ecosistema de bosque seco Tropical, el cual brinda unas condiciones propicias para el buen desempeño de los microorganismos heterótrofos degradadores de hidrocarburos generando una capacidad de respuesta rápida a eventos de contaminación logrando la recuperación de los suelos. A esto se suma el hecho que es una tecnología que no requiere grandes montajes estructurales o mecánicos que signifiquen amenaza para el medio, por lo que es poco invasiva y de fácil aplicación.

6.1 RECOMENDACIONES Y ESTRATEGIAS DE CONSERVACIÓN

Gracias al avance tecnológico en las diferentes técnicas de biorremediación se ha logrado la recuperación de muchas áreas afectadas por contaminaciones de tipo industrial tanto en aguas como en suelos, permitiendo así que los microorganismos realicen un papel importante en el flujo de materiales y energía a través de sus capacidades metabólicas para transformar las sustancias orgánicas e inorgánicas (Atlas, R. y Bartha, R. 2002). Partiendo de esta idea se expone que la técnica de biorremediación a través de la bioestimulación en un área con características de bs-T es una buena opción para la recuperación de los suelos afectados por contaminaciones con hidrocarburos de carácter liviano dado que son suelos que requieren prácticas moderadas de fertilización.

La estructura del suelo de la zona con procesos erosivos que obedecen fundamentalmente a la acción natural (condiciones geológicas de la zona, agentes ambientales y erosión antrópica) presenta una composición de areniscas, arcillolitas y limolitas (Méndez, G., *et al.*, 2012), característica que proporciona una humedad disponible del 14 al 20%, lo cual debe ser balanceado con la adición de agua para la humectación del suelo debido a que las zonas muy secas originan una sensible disminución de actividad microbiana (Dueñas, M. y Santos, L. 2006, p. 20). Este factor es clave para el proceso, hecho que puede generar algún costo al tener que implementarse un sistema de humectación preferiblemente a partir del manejo de las aguas lluvias.

Con base en esto, se podría pensar en la gestión de recursos económicos locales y regionales a través de las empresas petroleras instaladas en la zona, para la ejecución de proyectos de investigación que permitan analizar otras técnicas de biorremediación en pro de lograr establecer un sistema completo que ayude al proceso de recuperación de los suelos contaminados como lo establece el instrumento político para el control de la contaminación de provisión directa del estado que destaca la limpieza, el manejo de residuos y desechos y el desarrollo tecnológico aplicado a nivel nacional para todas empresas (Sánchez, G. 2002), buscando con esto la conservación y el equilibrio ambiental de los ecosistemas.

El campo de la biorremediación ha estado dominado por un enfoque característico de trabajos de ingeniería donde subyace una filosofía más preocupada por cuestiones como el estudio de equilibrios de masa y ecuaciones aplicadas al funcionamiento de modelos experimentales, que por los principios ecológicos que gobiernan los procesos naturales de selección natural, idoneidad y adaptación a los nichos ecológicos, especificidad, y diversidad biológica, entre otros. Estos procesos, en último término, son los responsables de que una bacteria degrade un contaminante, ya sea para utilizarlo como sustrato de crecimiento o simplemente para transformarlo en una sustancia menos tóxica (Garbisu, C., Amézaga, I. & Alkorta, I. 2002). A partir de este contexto, es importante combinar el enfoque tradicional proveniente del campo de la ingeniería con un planteamiento más ecológico, que reconozca desde el comienzo que la naturaleza es heterogénea y que se apoye en los principios que rigen el comportamiento de poblaciones bacterianas naturales, pues de esta manera se pueden obtener resultados favorables para la recuperación de los ecosistemas contaminados.

7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acuña, A. J., Pucci, O. H. y Pucci, G. H. (2008, mayo-agosto). Caracterización de un proceso de biorremediación de hidrocarburos en deficiencia de nitrógeno en un suelo de Patagonia Argentina. *Ecosistemas: Revista científica y técnica de ecología y medio ambiente*. Argentina. Vol. 17 N° 2 pp. 85-93. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=54017212>
- Aipe Lea (2015, 27 de agosto). Aipe ya sufre las consecuencias del cambio climático mundial. Periódico virtual de opinión regional independiente. Recuperado de <http://www.aipelea.com/?p=2886>
- Alonso, R. (2012). Recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos. Proyecto final de carrera de Ingeniería Técnica Industrial, Especialidad Química Industrial. Universidad Autónoma de Barcelona y Escuela Técnica Superior de Ingeniería. Barcelona, España. 248 p.
- Alcaldía de Aipe (s.f.). Página web de la alcaldía. Recuperado de http://www.aipe-huila.gov.co/informacion_general.shtml
- Atlas, R. y Bartha, R. (2002). *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. Editorial Pearson Addison Wesley. Pearson Educación S.A. Madrid, España. ISBN 84-7829-039-7, 696 p.
- Arrieta, O., Rivera, A., Arias, L., Rojano, B. Ruíz, O. y Cardona S. (2012, mayo). Biorremediación de un suelo con Diésel mediante el uso de microorganismos autóctonos. *Revista Gestión y Ambiente*. Vol. 15 N° 1. Colombia ISSN 0124.177X pp. 27-40. Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/31610/1/30815-111582-1-PB.pdf>
- Avellaneda, A. (2008). *Petróleo e impacto ambiental en Colombia*. Recuperado el 16 de noviembre de 2015 en <http://www.bdigital.unal.edu.co/41162/1/12208-31104-1-PB.pdf> .
- Bailey, P. y Bailey, C. 1998. *Química Orgánica, Conceptos y aplicaciones*. Quinta edición. Pearson Educación S.A. México D.F. ISBN 970-17-0120-8 Capítulo 2, pp. 39-67.

- Baptiste, B., Lasso, C., Ramírez, W. *et al.* (2012, julio-diciembre). Revista Biota Colombiana. Especial Bosque Seco en Colombia. Instituto de investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Vol. 13 N° 2. Bogotá, Colombia. ISSN 0124-5376. Recuperado de [http://www.humboldt.org.co/images/Atlas%20de%20paramos/Biota13\(2\)-Bosque_Seco.pdf](http://www.humboldt.org.co/images/Atlas%20de%20paramos/Biota13(2)-Bosque_Seco.pdf)
- Benavides, J., Quintero, G., Guevara, A., Jaimes, D., Gutiérrez, S. y Miranda, J. (2006, 22 de junio). Biorremediación de Suelos Contaminados con Hidrocarburos derivados del Petróleo. NOVA publicación científica. Bogotá, Colombia. ISSN 1794-2470, Vol. 4, pp. 82-90. Recuperado de http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/ARTREVIS1_5.pdf
- Boullosa, N. (2011, 26 de abril). Biorremediación: 10 métodos de recuperación ecológica. Artículo en blog. Recuperado de <https://faircompanies.com/articles/biorremediacion-10-metodos-de-recuperacion-ecologica/>
- Calero, E. (2006). Metodología de la Investigación. Presentación Power Point. Recuperado el 16 de noviembre de 2015 en http://es.slideshare.net/apostolnegro/ejemplo-de-proyecto-de-investigacion?next_slideshow=2.
- Cannabiscafe (2008, 17 de noviembre). Melazas de caña. Página blog. Recuperado de [http://www.cannabiscafe.net/foros/showthread.php/333803-Todo-sobre-la-Melaza-o-miel-de-ca%C3%B1a-\(historia-info-composici%C3%B3n-qu%C3%ADmica-etc\).](http://www.cannabiscafe.net/foros/showthread.php/333803-Todo-sobre-la-Melaza-o-miel-de-ca%C3%B1a-(historia-info-composici%C3%B3n-qu%C3%ADmica-etc).)
- Carrillo, R. (1998). Memorias del IV congreso Interamericano sobre Medio Ambiente. Compilado EQUINOCCIO, serie SIMPOSIA. Venezuela. ISBN 980-237178-5, Vol. 1. Recuperado de <https://books.google.com.co/books>.
- Castro, K. (2014). Los 10 peores desastres ambientales del mundo. Revista Ecología y Entorno. Recuperado el 16 de noviembre de 2015 en <https://www.veoverde.com/2014/10/los-10-peores-desastres-ambientales-del-mundo/>

- Dueñas, M. y Santos, L. (2006). Evaluación de la bioestimulación y la bioaumentación (bacterias nativas y comerciales) en la biodegradación de hidrocarburos en suelos contaminados. Tesis de pre-grado. Universidad Industrial de Santander, Facultad de Ciencias, Escuela de biología. Bucaramanga, Colombia. 153 p.
- Escobar, L., Palmett, O., Giraldo, L., Villegas, H., Valencia, J., Gómez, R., y Zuluaga, A. (2012). Flora y Paisaje. Página Blog. Recuperado de <https://floraypaisaje.wordpress.com/>
- FAO (2009). Guía para la descripción de suelos. Cuarta edición. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-a0541s.pdf>
- Fernández, L. *et al.* (2006). Manual de técnicas de suelo aplicadas a la remediación de sitios contaminados. Instituto Mexicano de Petróleo. México D.F. ISBN 968-489-039-7, 184p. Recuperado el 16 de noviembre de 2015 en <http://www.inecc.gob.mx/descargas/publicaciones/509.pdf>
- Figuerola, Y. y Galeano, G. (2007). Lista comentada de las plantas vasculares del enclave seco interandino de la Tatacoa (Huila, Colombia). Instituto de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. *Caldasia* 29(2): pp. 263-281.
- Garbisu, C., Amézaga, I. y Alkorta, I. (2002, septiembre-diciembre). Biorremediación y Ecología. *Ecosistemas: Revista científica y técnica de ecología y medio ambiente*. Vol. 6 N° 3. Recuperado de <http://www.aeet.org/ecosistemas/023/opinion1.htm>.
- Gutiérrez, N. (2009). Epistemología y diseño de Investigación UT2 de la Maestría en ecología y gestión de sistemas estratégicos. Presentación en Power Point. Neiva, Huila.
- Holdridge, L. 1982. Ecología basada en zonas de vida. Instituto Interamericano de Cooperación para la agricultura. San José, Costa Rica. ISBN 92-9039-039-5, 216 p.
- IAVH, (1998). Bosque Seco Tropical (Bs-T) en Colombia. Instituto Alexander von Humboldt. Programa de Inventario de la Biodiversidad – Grupo de Exploraciones y Monitoreo Ambiental GEMA. Colombia.
- Ibarra, D. y Redondo, J. (2011, 14 al 16 de septiembre). Modelo para biorremediación de suelos contaminados. Una aproximación con Dinámica de Sistemas. 9° Encuentro

- Colombiano de Dinámica de Sistemas. Universidad Colegio Mayor de Nuestra señora del Rosario. Bogotá D.C., Colombia. ISSN 2027-7709. Recuperado de http://www.urosario.edu.co/Administracion/documentos/9-Dinamicas/025_1701714025/
- Infante, C. (1998). Biorremediación de derrames de hidrocarburos en ambientes naturales. Artículo publicado en INTEVEP S.A. Departamento de Ecología y Ambiente. Venezuela.
- Levin, M. y Gealt, M. (1997). Biotratamiento de residuos tóxicos y peligrosos. Editorial Mc Graw Hill. Madrid, España. ISBN 84-481-1130-3.
- López, N. y Lozada, J. (2011). Uso de la biorremediación para el saneamiento de sustratos contaminados por el petróleo en el oriente de Venezuela. Revista Ecodiseño y Sostenibilidad. Venezuela, pp. 227-236. Recuperado el 28 de enero de 2016 en <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/ecodiseno/article/view/4378>
- Maroto, M. y Rogel, J. (2001). Aplicación de sistemas de Biorremediación de Suelos y Aguas contaminadas con hidrocarburos. GEOCISA. División Protección Ambiental de Suelos. España. Recuperado el 04 de enero de 2016 en http://aguas.igme.es/igme/publica/con_recu_acuiferos/028.pdf
- Martínez, A., Pérez, M., Pinto, J., Gurrola, B. y Osorio, A. (2011). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos empleando lodos residuales como fuente alterna de nutrientes. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. Universidad Nacional Autónoma de México D.F. México. ISSN 0188-4999 Vol. 27 N° 3 pp. 241-252. Recuperado el 15 de noviembre de 2015 en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37020226009>
- Méndez, G., Plazas, M., Motta, F. y Uribe, S. (2012). Estudio de Impacto Ambiental para la ampliación y operación de la planta de tratamiento de residuos aceitosos y fluidos industriales Palmarito, de la empresa ATP Ingeniería SAS. Neiva, Huila, Colombia. 240p.
- Mendoza, H. (1999). Estructura y Riqueza Florística del Bosque Seco Tropical en la región Caribe y el Valle del Río Magdalena, Colombia. Instituto Alexander von Humboldt. Caldasia Vol. 21 N° 1. Bogotá, Colombia. Recuperado el 15 de

- noviembre de 2015 en <http://www.bdigital.unal.edu.co/21199/1/17503-55732-1-PB.pdf>
- Montoya, J. (2002). Efectos ambientales y socioeconómicos por el derrame de petróleo en el río Desaguadero. Fundación PIEB. La Paz, Bolivia. ISBN 99905-68-03-0. 222 p. Recuperado de <https://books.google.com.co/books>
- Morales, A. y Sarmiento, D. (2008). Árboles del Bosque Seco Tropical (Bs-T) en el área del Parque Recreativo y Zoológico Piscilago- Nilo, Cundinamarca. Universidad Autónoma de Colombia. Bogotá, Colombia. 115 p.
- Navas, D. y Rodríguez, P. (2010). Procesos para la obtención del petróleo y los impactos ambientales generados por actividades petroleras. Monografía de grado Especialización en Ingeniería Ambiental. Universidad Industrial de Santander. Escuela de Ingeniería Química. Bucaramanga, Colombia. 57p. Recuperado de <http://repositorio.uis.edu.co/jspui/bitstream/123456789/7491/2/134669.pdf>
- Nullvalue (1997, 5 de mayo). Contaminación por derrames de petróleo. Artículo del periódico el TIEMPO. Colombia. Recuperado de <http://www.eltiempo.com/archivo/documento/MAM-555907>
- Núñez, D. (2012). Biorremediación para la degradación de hidrocarburos totales presentes en los sedimentos de una estación de servicio de combustible. Tesis de grado maestría en Ecotecnología. Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Ciencias Ambientales. Pereira, Colombia. Recuperado el 20 de enero de 2014 en <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/2779/6281683N975.pdf?sequence=1>
- Olaya, A. & Sánchez, M. 2003. Ecosistemas estratégicos del Huila, significado ecológico y sociocultural. Editorial Universidad Surcolombiana, Grupo de Investigación Ecosistemas Surcolombianos. Neiva, Colombia.
- Olaya, A., Fierro, A. y Araujo, M. (2008). Nacederos, Reservorios y Bosques de Guadua: Estrategias de Hocol y finqueros para conservar recursos hídricos en el norte del Huila. Edición Universidad Surcolombiana, Hocol y Ecosurc. 246 p. Recuperado de <http://www.avesyturismo.com/flora-y-fauna-en-la-cuenca-baja-del-riobache.html>

- Otero, E., Mosquera, L., Silva, G., Guzmán, J. *et al.* (2006). Bosque Seco Tropical. Edición Banco de Occidente. Cali, Colombia. ISBN Obra Completa: 958-95504-2-8; ISBN Volumen: 958-96749-7-6. Recuperado el 12 de junio de 2014 en <http://www.imeditores.com/banocc/seco/cap6.htm>
- Pardo, J., Perdomo, M. y Benavidez, J. (2004, enero-diciembre). Efecto de la adición de fertilizantes inorgánicos compuestos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con petróleo. Artículo de publicación científica. NOVA ISSN: 1794-2370 Vol. 2 No. 2 pp. 40-49. Recuperado el 28 de enero de 2016 en http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA_8/artorig4_2.pdf
- Pizano, C. *et al.*, (2014). Bosques Secos Tropicales en Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt de Colombia. Recuperado el 28 de enero de 2016 en <http://www.humboldt.org.co/es/investigacion/proyectos/en-desarrollo/item/158-bosques-secos-tropicales-en-colombia>.
- Ramírez, A. (2005). Metodología de la Investigación Científica. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Estudios Ambientales y Rurales. Colombia. Recuperado el 16 de noviembre de 2015 en <http://www.postgradoune.edu.pe/documentos/ALBERTORAMIREZMETODOLOGIADELAINVESTIGACIONCIENTIFICA.pdf>
- Repizo, O., *et al.*, (2010). Vigías ambientales para la conservación, cuidado y recuperación de las fuentes hídricas de la zona urbana del municipio de Neiva, Quebrada el Dindal Aipe y Quebrada la Raya Palermo. Grupo de investigación de Recursos Naturales – Universidad CORHUILA. Revista Vigías Ambientales, volumen 2, pp. 9-11. Neiva, Colombia. ISSN 2145-8286
- Restrepo, J. (2005). Los sedimentos del Río Magdalena: Reflejo de la Crisis Ambiental. Fondo Editorial Universidad EAFIT. Colciencias, Colombia. Recuperado de <http://www.librosyeditores.com/tiendalemoine/ingenieria-ambiental/888-los-sedimentos-del-rio-magdalena-reflejo-de-la-crisis-ambiental-9789588173900.html>
- Rincón, M. (2004). Estudio de la biorremediación como una alternativa en la mitigación de la contaminación ambiental. Monografía Especialización en Química Ambiental.

Universidad Industrial de Santander, Facultad de Ciencias Básicas – Escuela de Química. Bucaramanga, Colombia.

- Rodríguez, G. (2016). Ecosistemas secos en Colombia, poco conocidos y cuidados. Revista Cienciágora. Colombia. Recuperado el 24 de marzo de 2016 en http://cienciagora.com.co/novedades_de_ciencia_y_tecnologia/ecosistemas-secos-en-colombia-poco-conocidos-y-cuidados/421.html
- Ruiz, J. y Fandiño, M. (2009). Estado del Bosque Seco Tropical e importancia relativa de su flora leñosa, Islas de la Vieja Providencia y Santa Catalina, Colombia, Caribe Suroccidental. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Física y Naturales. ISSN 0370-3908, Vol. 33 N° 126 pp. 5-15. Recuperado de http://www.accefyn.org.co/revista/Vol_33/126/5-16.pdf
- Sánchez, G. (2002). Desarrollo y Medio Ambiente: una mirada a Colombia. Artículo revista Economía y Desarrollo. Vol. 1 N° 1. Colombia. Recuperado el 28 de enero de 2016 en http://www.accefyn.org.co/revista/Vol_33/126/5-16.pdf
- Solanas, A. (2009, noviembre). La biodegradación de hidrocarburos y su aplicación en la biorremediación de suelos. Estudios en la zona no saturada del suelo, Vol. 9. Barcelona, España. Recuperado de <http://congress.cimne.com/zns09/admin/files/filepaper/p422.pdf>
- Sosa, O. (2005, agosto). Los estiércoles y su uso como enmiendas orgánicas. Revista Agromensajes de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario. Edición 16. Argentina. Recuperado el 16 de noviembre de 2015 en <http://www.fcagr.unr.edu.ar/Extension/Agromensajes/16/7AM16.htm>.
- Torres, K. y Zuluaga, T. (2009). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Tesis de pre-grado en Ingeniería Química. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Minas, Ingeniería Química. Medellín, Colombia.
- Trujillo, M. y Ramírez, J. (2012). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos en Colombia. Revista de Investigación Agraria y Ambiental. Vol. 3 N° 2. ISSN 2145-6097. Recuperado el 16 de noviembre de 2015 en www.bdigital.unal.edu.co/815/1/32242005_2009

- UNAD (s.f.). Módulo de Microbiología ambiental. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Colombia. Recuperado el 28 de enero de 2016 en <http://datateca.unad.edu.co/contenidos/358010/exe/index.html>
- UNIMEDIOS (2012, 14 de agosto). Bacterias degradadoras de hidrocarburos, aliadas claves. Artículo publicado en la agencia de noticias de la Universidad Nacional de Colombia. Ciencias & Tecnología. Colombia. Recuperado en <http://agenciadenoticias.unal.edu.co/detalle/article/bacterias-degradadoras-de-hidrocarburos-aliadas-clave.html>
- Vallejo, V., Salgado, L. y Roldán, F. (2005). Evaluación de la bioestimulación en la degradación de TPHs en suelo contaminados con petróleo. Revista Colombiana de Biotecnología. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C. ISSN 1909-8758. Recuperado el 30 de abril de 2014 en <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/501>
- Vallejo, V., Sandoval, J., Garagoa, S. y Bastos, J. (2015, 8 de agosto). Evaluación del efecto de la Bioestimulación sobre la biorremediación de hidrocarburos en suelos contaminados con alquitrán en Soacha, Cundinamarca (Colombia). Revista Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos. Bogotá D.C., Colombia. ISSN 2323-0118, pp 354-361. Recuperado de www.revistas.unal.edu.co
- Vásquez, M., Guerrero, J. y Quintero, A., (2010). Biorremediación de lodos contaminados con aceites lubricantes usados. Artículo de la revista colombiana de biotecnología Vol. 6 N° 1 pp. 141-157. Colombia. Recuperado de <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/15579>
- Viñas, M. (2005). Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos: caracterización microbiológica, química y ecotoxicológica. Tesis Doctoral en Biología. Universidad de Barcelona, Programa de Microbiología Ambiental y Biotecnología. Barcelona, España. Recuperado de http://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/42392/1/TESIS_MVINAS_CANALS.pdf

8 APÉNDICE

Apéndice A. Tablas

Tabla 10. Resultados del seguimiento de la biopila 1

Biopila # 1 (G1): Suelo + Urea + DAP + Nitrato de Potasio				
SEMANA	% ACEITES	% HUMEDAD	pH	TEMPERATURA
1	20,0	50,0	7,00	32
2	8,0	14,0	6,00	31
3	8,0	10,0	6,34	32,8
4	6,0	8,0	6,00	32,3
5	6,0	28,0	8,20	32
6	6,0	30,0	8,15	31,2
7	6,0	30,0	8,20	30,6
8	5,0	28,0	8,00	30
9	5,0	28,0	8,00	31
10	5,0	32,0	7,00	30
11	4,0	31,0	7,58	28,4
12	4,0	29,0	7,49	28
13	4,0	32,0	7,12	28,5
14	4,0	32,0	7,00	32

Tabla 11. Resultados de descripción estadística biopila 1

	% ACEITES	% HUMEDAD	pH	TEMPERATURA
Media	6,5	27,28571429	7,291428571	30,7
Error típico	1,098200326	2,835079648	0,210180083	0,411910585
Mediana	5,5	29,5	7,305	31
Moda	6	28	7	32
Desviación estándar	4,109089362	10,60789671	0,786421859	1,541228281
Varianza de la muestra	16,88461538	112,5274725	0,618459341	2,375384615
Curtosis	10,49500856	1,24999068	-1,017722276	-0,811366485
Coefficiente de asimetría	3,096640753	-0,191880566	-0,437652703	-0,565228645
Rango	16	42	2,2	4,8
Mínimo	4	8	6	28
Máximo	20	50	8,2	32,8
Suma	91	382	102,08	429,8
Cuenta	14	14	14	14
Nivel de confianza (95,0%)	2,372517563	6,12481721	0,454066463	0,889878716

Tabla 12. Resultados del seguimiento de la biopila 5

Biopila # 5 (G2): Suelo + Urea + DAP + Nitrato de Potasio				
SEMANA	% ACEITES	% HUMEDAD	pH	TEMPERATURA
1	24,0	50,0	7,00	30,9
2	20,0	14,0	7,00	31
3	16,0	10,0	7,40	32,1
4	14,0	8,0	7,95	32,4
5	10,0	28,0	8,89	31
6	9,0	30,0	8,68	31,1
7	9,0	30,0	8,70	31,6
8	9,0	28,0	8,00	30
9	9,0	28,0	8,00	30,8
10	9,0	32,0	7,00	31
11	9,0	31,0	8,11	28,5
12	9,0	29,0	8,13	28,3
13	8,0	32,0	8,01	28,6
14	8,0	32,0	7,00	28,9

Tabla 13. Resultados de descripción estadística biopila 5

	<i>% ACEITES</i>	<i>% HUMEDAD</i>	<i>pH</i>	<i>TEMPERATURA</i>
Media	11,64285714	27,28571429	7,847857143	30,51428571
Error típico	1,336746677	2,835079648	0,178701601	0,377943705
Mediana	9	29,5	8	30,95
Moda	9	28	7	31
Desviación estándar	5,00164808	10,60789671	0,668640165	1,414135856
Varianza de la muestra	25,01648352	112,5274725	0,44707967	1,99978022
Curtosis	1,886081869	1,24999068	-1,204213296	-1,200697541
Coeficiente de asimetría	1,675529423	-0,191880566	-0,044464728	-0,464090068
Rango	16	42	1,89	4,1
Mínimo	8	8	7	28,3
Máximo	24	50	8,89	32,4
Suma	163	382	109,87	427,2
Cuenta	14	14	14	14
Nivel de confianza (95,0%)	2,887865624	6,12481721	0,386061337	0,816497735

Tabla 14. Resultados del seguimiento de la biopila 2

Biopila # 2 (G1): Suelo + Boñiga + Melaza				
SEMANA	% ACEITES	% HUMEDAD	pH	TEMPERATURA
1	20,0	30,0	7,00	31,5
2	8,0	22,0	6,00	31
3	8,0	20,0	6,00	32,5
4	4,0	18,0	6,00	32,4
5	4,0	28,0	7,95	32
6	4,0	30,0	8,01	31,5
7	4,0	35,0	8,26	30,1
8	4,0	35,0	8,00	31
9	4,0	31,0	8,00	31,1
10	4,0	35,0	8,00	30
11	4,0	34,0	8,19	28,6
12	4,0	34,0	7,61	28
13	4,0	35,0	7,62	29,3
14	4,0	35,0	7,00	30,2

Tabla 15. Resultados de descripción estadística biopila 2

	<i>% ACEITES</i>	<i>% HUMEDAD</i>	<i>pH</i>	<i>TEMPERATURA</i>
Media	5,714285714	30,14285714	7,402857143	30,65714286
Error típico	1,164627807	1,606501704	0,227391874	0,364452666
Mediana	4	32,5	7,785	31
Moda	4	35	6	31,5
Desviación estándar	4,357638235	6,010978966	0,850822485	1,36365701
Varianza de la muestra	18,98901099	36,13186813	0,723898901	1,85956044
Curtosis	10,34516461	-0,094277899	-0,756762813	-0,423492998
Coefficiente de asimetría	3,127756113	-1,113736588	-0,910725835	-0,537186052
Rango	16	17	2,26	4,5
Mínimo	4	18	6	28
Máximo	20	35	8,26	32,5
Suma	80	422	103,64	429,2
Cuenta	14	14	14	14
Nivel de confianza (95,0%)	2,51602541	3,470635927	0,491250277	0,787352116

Tabla 16. Resultados del seguimiento de la biopila 6

Biopila # 6 (G2): Suelo + Boñiga + Melaza				
SEMANA	% ACEITES	% HUMEDAD	pH	TEMPERATURA
1	24,0	50,0	7,00	31
2	14,0	10,0	7,00	31
3	14,0	8,0	7,60	32
4	12,0	8,0	7,91	32,1
5	10,0	32,0	8,55	32
6	9,0	31,0	8,11	31,8
7	9,0	30,0	8,15	31,6
8	9,0	29,0	8,00	32
9	9,0	30,0	7,00	31,2
10	9,0	31,0	8,00	31
11	9,0	30,0	8,14	28,4
12	8,0	30,0	8,47	28,4
13	8,0	32,0	7,05	28,4
14	8,0	34,0	7,00	31,1

Tabla 17. Resultados de descripción estadística biopila 6

	<i>% ACEITES</i>	<i>% HUMEDAD</i>	<i>pH</i>	<i>TEMPERATURA</i>
Media	10,85714286	27,5	7,712857143	30,85714286
Error típico	1,147654765	3,062983534	0,157135864	0,372504781
Mediana	9	30	7,955	31,15
Moda	9	30	7	31
Desviación estándar	4,294130929	11,46063497	0,587948566	1,393785264
Varianza de la muestra	18,43956044	131,3461538	0,345683516	1,942637363
Curtosis	7,06667742	0,715492892	-1,633246833	-0,015283034
Coeficiente de asimetría	2,521527949	-0,488271414	-0,195097536	-1,219594559
Rango	16	42	1,55	3,7
Mínimo	8	8	7	28,4
Máximo	24	50	8,55	32,1
Suma	152	385	107,98	432
Cuenta	14	14	14	14
Nivel de confianza (95,0%)	2,479357383	6,617173623	0,339471395	0,804747653

Tabla 18. Resultados del seguimiento de la biopila 3

Biopila # 3 (G1): Suelo + Gallinaza + Triple 15				
SEMANA	% ACEITES	% HUMEDAD	pH	TEMPERATURA
1	20,0	30,0	7,00	32
2	8,0	16,0	7,00	31
3	6,0	14,0	7,12	33,4
4	4,0	10,0	7,00	32,5
5	4,0	26,0	7,75	32
6	4,0	34,0	7,50	30,8
7	4,0	32,0	8,00	30,7
8	4,0	30,0	8,00	31
9	4,0	32,0	7,00	31
10	4,0	36,0	7,00	30
11	4,0	34,0	7,72	27,9
12	4,0	32,0	7,44	28,2
13	4,0	32,0	7,47	29,6
14	4,0	30,0	7,00	29,5

Tabla 19. Resultados de descripción estadística biopila 3

	<i>% ACEITES</i>	<i>% HUMEDAD</i>	<i>pH</i>	<i>TEMPERATURA</i>
Media	5,571428571	27,71428571	7,357142857	30,68571429
Error típico	1,151751107	2,197472503	0,104147131	0,415477634
Mediana	4	31	7,28	30,9
Moda	4	32	7	31
Desviación estándar	4,309458037	8,222189222	0,38968288	1,554574957
Varianza de la muestra	18,57142857	67,6043956	0,151852747	2,416703297
Curtosis	11,5734183	0,495487067	-1,271554255	-0,2139778
Coefficiente de asimetría	3,336544434	-1,345592861	0,542957582	-0,230310374
Rango	16	26	1	5,5
Mínimo	4	10	7	27,9
Máximo	20	36	8	33,4
Suma	78	388	103	429,6
Cuenta	14	14	14	14
Nivel de confianza (95,0%)	2,488206991	4,747350718	0,224996197	0,897584857

Tabla 20. Resultados del seguimiento de la biopila 7

Biopila # 7 (G2): Suelo + Gallinaza + Triple 15				
SEMANA	% ACEITES	% HUMEDAD	pH	TEMPERATURA
1	24,0	50,0	7,00	31,5
2	20,0	18,0	7,00	31
3	18,0	14,0	7,60	32,1
4	16,0	12,0	8,24	32,3
5	10,0	28,0	8,10	32
6	8,0	32,0	8,10	31,5
7	8,0	26,0	8,96	31,2
8	6,0	32,0	9,00	31
9	6,0	31,0	8,00	31,3
10	6,0	32,0	8,00	30
11	6,0	35,0	7,91	28,8
12	5,0	31,0	7,67	28,6
13	5,0	35,0	7,30	28,6
14	5,0	32,0	7,00	30,6

Tabla 21. Resultados de descripción estadística biopila 7

	<i>% ACEITES</i>	<i>% HUMEDAD</i>	<i>pH</i>	<i>TEMPERATURA</i>
Media	10,21428571	29,14285714	7,848571429	30,75
Error típico	1,726263103	2,569596417	0,172969721	0,34109552
Mediana	7	31,5	7,955	31,1
Moda	6	32	7	31,5
Desviación estándar	6,459085092	9,614549414	0,647193434	1,276262572
Varianza de la muestra	41,71978022	92,43956044	0,418859341	1,628846154
Curtosis	-0,071586345	1,119288547	-0,376215062	-0,620467518
Coeficiente de asimetría	1,157699071	-0,034842779	0,324160017	-0,796359353
Rango	19	38	2	3,7
Mínimo	5	12	7	28,6
Máximo	24	50	9	32,3
Suma	143	408	109,88	430,5
Cuenta	14	14	14	14
Nivel de confianza (95,0%)	3,729364701	5,551275559	0,373678363	0,736892071

Tabla 22. Resultados del seguimiento de la biopila 4

Biopila # 4 Control (G1): Suelo				
SEMANA	% ACEITES	% HUMEDAD	pH	TEMPERATURA
1	20,0	30,0	7,00	31
2	20,0	52,0	7,00	31
3	14,0	28,0	7,00	35,3
4	12,0	24,0	7,50	34,5
5	10,0	30,0	8,17	32
6	8,0	31,0	8,08	31,5
7	8,0	30,0	8,08	30,7
8	8,0	36,0	7,00	31
9	6,0	34,0	8,00	30,2
10	6,0	34,0	7,00	29
11	5,0	36,0	8,26	27,8
12	4,0	34,0	7,89	28,9
13	4,0	37,0	8,03	28,9
14	4,0	34,0	8,00	29,2

Tabla 23. Resultados de descripción estadística biopila 4

	<i>% ACEITES</i>	<i>% HUMEDAD</i>	<i>pH</i>	<i>TEMPERATURA</i>
Media	9,214285714	33,57142857	7,643571429	30,78571429
Error típico	1,460763655	1,708782375	0,140519472	0,566351068
Mediana	8	34	7,945	30,85
Moda	8	34	7	31
Desviación estándar	5,465677119	6,393678196	0,525775722	2,119091657
Varianza de la muestra	29,87362637	40,87912088	0,27644011	4,490549451
Curtosis	0,328381245	5,344721999	-1,902929952	0,585849075
Coeficiente de asimetría	1,137299495	1,759508508	-0,386610068	0,900765576
Rango	16	28	1,26	7,5
Mínimo	4	24	7	27,8
Máximo	20	52	8,26	35,3
Suma	129	470	107,01	431
Cuenta	14	14	14	14
Nivel de confianza (95,0%)	3,155788014	3,691599884	0,303573864	1,223527096

Tabla 24. Resultados del seguimiento de la biopila 8

Biopila # 8 Control (G2): Suelo				
SEMANA	% ACEITES	% HUMEDAD	pH	TEMPERATURA
1	24,0	50,0	7,00	31
2	24,0	36,0	6,00	31
3	18,0	30,0	5,96	31,8
4	16,0	28,0	6,00	31,6
5	10,0	32,0	8,63	32
6	9,0	32,0	8,35	32
7	9,0	32,0	8,39	30,6
8	9,0	30,0	8,00	31
9	9,0	31,0	7,00	30,9
10	9,0	30,0	8,00	28,7
11	9,0	32,0	7,56	28,7
12	8,0	34,0	8,31	30
13	8,0	34,0	8,11	32,8
14	8,0	30,0	7,00	33,1

Tabla 25. Resultados de descripción estadística biopila 8

	<i>% ACEITES</i>	<i>% HUMEDAD</i>	<i>pH</i>	<i>TEMPERATURA</i>
Media	12,14285714	32,92857143	7,450714286	31,08571429
Error típico	1,564921593	1,423755619	0,255821161	0,35001682
Mediana	9	32	7,78	31
Moda	9	30	7	31
Desviación estándar	5,855400438	5,327205729	0,957195136	1,309643018
Varianza de la muestra	34,28571429	28,37912088	0,916222527	1,715164835
Curtosis	0,575327797	9,215694559	-1,187209885	0,030448473
Coeficiente de asimetría	1,422859178	2,835142654	-0,536601784	-0,532182811
Rango	16	22	2,67	4,4
Mínimo	8	28	5,96	28,7
Máximo	24	50	8,63	33,1
Suma	170	461	104,31	435,2
Cuenta	14	14	14	14
Nivel de confianza (95,0%)	3,380807559	3,075837014	0,552668017	0,756165366

Apéndice B. Fotografías del área de investigación y su ecosistema



Fotografía 11. Quebrada el Dindal, Vda. El Dindal
Fuente: Natalia Rodríguez Angulo



Fotografía 12. Vegetación del ecosistema del área de estudio
Fuente: Natalia Rodríguez Angulo



Fotografía 13. Vegetación en la planta Palmarito
Fuente: Natalia Rodríguez Angulo



Fotografía 14. Fauna de la zona

Fuente: Ingeniero Álvaro Francisco Cabrera Narváez



Fotografía 15. Biopilas con tratamiento

Fuente: Ingeniero Álvaro Francisco Cabrera Narváez



Fotografía 16. Tratamientos aplicados a escala real

Fuente: Ingeniero Álvaro Francisco Cabrera Narváez

Apéndice C

Tabla 26. Cronograma de actividades del proyecto de investigación

ACTIVIDAD	SEGUNDO SEMESTRE DEL 2016																							
	1				2				3				4				5				6			
Documentación, consulta y verificación de referentes bibliográficos (*)																								
Reconocimiento del área de estudio (*)																								
Presentación de Anteproyecto																								
Trabajo de campo y muestreos (*)																								
Interpretación de datos y análisis de resultados																								
Preparación del documento final (tesis de grado)																								
Sustentación de Tesis de grado (**)																								
Divulgación y publicaciones (**)																								

(*) Estas actividades se llevaron a cabo entre los meses de septiembre de 2013 y abril de 2014, por lo cual no se relacionan en el cronograma actual. Solamente la primera actividad se retoma durante el proceso de actualización del documento.

(**) Fechas por definir sujetas al desarrollo del trabajo de revisión y al cronograma que la Universidad Surcolombiana tenga establecido.