

**EVALUACION DE LA FITOREMEDIACION COMO ALTERNATIVA DE
TRATAMIENTO DE SEDIMENTOS CONTAMINADOS CON
HIDROCARBUROS PROCEDENTES DE LAS ESTACIONES DE SERVICIO
EN RISARALDA**

**Ingeniera Ambiental
MARIA DEL PILAR PULGARIN**

**UNIVERSIDAD TECNOLOGICA DE PEREIRA
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES
JUNIO 2012**

**EVALUACION DE LA FITOREMEDIACION COMO ALTERNATIVA DE
TRATAMIENTO DE SEDIMENTOS CONTAMINADOS CON
HIDROCARBUROS PROCEDENTES DE LAS ESTACIONES DE SERVICIO
EN RISARALDA**

**Ingeniera Ambiental
MARIA DEL PILAR PULGARIN
MAESTRÍA EN ECOTECNOLOGÍA**

Trabajo de Grado

**Director
Ing. MSc. Dr. Diego Paredes Cuervo**

**UNIVERSIDAD TECNOLOGICA DE PEREIRA
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES
PEREIRA
JUNIO 2012**

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a todas aquellas personas que de uno u otra forma hicieron posible la realización de esta investigación, en especial a la Prof. Ms. Norma Duran de la Escuela de Química, al personal del laboratorio de Procesos Biológicos y Laboratorio de Aguas, a los estudiantes de la Escuela de Tecnología Química Ferney Velasco, Claudia Marcela Uribe Hernández y Diana Milena Casallas Murcia, al Grupo de Investigación en Agua y Saneamiento y a la Escuela de Posgrados de la Facultad de Ciencias Ambientales de la Universidad Tecnológica de Pereira.

De manera especial quiero expresar mis más sinceros agradecimientos a mi Director Ing. MSc. Dr. Diego Paredes Cuervo, por su compromiso, apoyo, asistencia y orientación en las diferentes etapas de mi investigación.

Y, finalmente agradezco a las entidades que apoyaron la investigación:
COLCIENCIAS, Universidad Tecnológica de Pereira y Empresa transportadora INTEGRAL

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	10
1. INTRODUCCIÓN.....	12
2. JUSTIFICACIÓN	14
3. OBJETIVOS	15
3.1 Objetivo General	15
3.2 Objetivos Específicos	15
4. ALCANCES DE LOS OBJETIVOS Y RESULTADOS ESPERADOS ...	16
5. HIPÓTESIS	17
6. REVISION DE LITERATURA.....	18
6.1 Origen y composición del petróleo	18
6.2 La Importancia del Petróleo en la Sociedad.....	19
6.3 Impactos Ambientales de los Hidrocarburos	19
6.4 Regulación de las Estaciones de Servicio.....	20
6.5 Actividades generadas en las estaciones de servicio	21
6.6 Contaminación Generada en las Estaciones de Servicio	22
6.6.1 Emisiones Atmosféricas.....	22
6.6.2 Residuos Líquidos	23
6.6.3 Residuos Sólidos	23
6.7 Tasas de Generación de Lodos y/o Residuos en las Estaciones de Servicio.....	23
6.8 Fitorremediación de sedimentos contaminados con Hidrocarburos	25
6.9 Mecanismos de Fitorremediación de Hidrocarburos	27
6.10 Influencia de los Factores Ambientales en la Fitoremediación.....	27
6.11 Beneficios y limitaciones de la Fitorremediación	28
6.11.1 Beneficios directos.....	28
6.11.2 Beneficios indirectos.....	28
6.11.3 Limitación de la Fitorremediacion	28
6.11.4 Beneficios y limitaciones de otras alternativas	29
6.12 Experiencias de fitorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos	30
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
7.1 Factores del estudio	33
7.2 Unidades Experimentales	33
7.3 Programa de monitoreo.....	37
7.4 Análisis estadístico.....	37

7.4.1	Hipótesis estadísticas a aplicar	38
7.5	Modelo matemático aplicable	38
8.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
8.1	Evaluación de la tolerancia a los hidrocarburos de tres diferentes especies vegetativas (Phragmites, Typha latifolia y Cyperus papyrus).....	39
8.2	Determinación de los porcentajes de remoción de hidrocarburos de las especies vegetativas seleccionadas.	41
8.2.1	Caracterización Inicial del Sedimento	41
8.2.2	Comportamiento de la Temperatura en el tiempo.....	42
8.2.3	Comportamiento del pH en el tiempo.....	43
8.2.4	Comportamiento del contenido de Humedad en el tiempo	44
8.2.5	Comportamiento de los HTP en el tiempo	45
8.3	Valoración del efecto de la aplicación de nutrientes en la fitorremediación de hidrocarburos	52
9.	ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	55
10.	CONCLUSIONES.....	59
11.	RECOMENDACIONES	60
12.	BIBLIOGRAFÍA.....	61

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cantidad de lodos y arenas contaminados con hidrocarburos producidas en las estaciones de servicio de Risaralda.	24
Tabla 2. Frecuencia y método de medición de variables primera fase.....	37
Tabla 3. Frecuencia y método de medición de variables segunda fase	37
Tabla 4. Hipótesis estadísticas	38
Tabla 5. Caracterización inicial del sedimento	42
Tabla 6. % de Remoción y Tasa de degradación del HTP.....	49
Tabla 7. Valor de la constante de reacción (K).....	50
Tabla 8. Valores de nutrientes al inicio y final. Montaje 1.....	53
Tabla 9. Valores de nutrientes al inicio y final. Montaje 2.....	54
Tabla 10. Pruebas de normalidad ^b	57
Tabla 11. Estadísticos de contraste ^{a,b}	57
Tabla 12. Análisis de varianza. Variable dependiente: constante de degradación	58

INDICE DE GRAFICAS

Gráfica 1. Comportamiento del peso de las especies vegetativas	39
Gráfica 2. Comportamiento del crecimiento de las especies vegetativas	40
Gráfica 3. Concentración de HTP al final del experimento	41
Gráfica 4. Comportamiento de la temperatura en el tiempo. Montaje 1.....	43
Gráfica 5. Comportamiento de la temperatura en el tiempo. Montaje 2.....	43
Gráfica 6. Comportamiento del pH en el tiempo. Montaje 1.....	44
Gráfica 7. Comportamiento del pH en el tiempo. Montaje 2.....	44
Gráfica 8. Comportamiento del contenido de Humedad en el tiempo. Montaje 1.	45
Gráfica 9. Comportamiento del contenido de Humedad en el tiempo. Montaje 2.	45
Gráfica 10. Degradación de HTP. Phragmites. Montaje 1	46
Gráfica 11. Degradación de HTP. Typha. Montaje 1	46
Gráfica 12. Degradación de HTP. Blanco. Montaje 1	47
Gráfica 13. Degradación de HTP. Phragmites. Montaje 2.....	47
Gráfica 14. Degradación de HTP. Typha. Montaje 2.....	48
Gráfica 15. Degradación de HTP. Blanco. Montaje 2.....	48
Gráfica 16. Distribución de medias Vs tratamiento	58

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de tratamiento.....	35
Figura 2. Cinética de Reacción. Orden 1. Montaje 1	51
Figura 3. Cinética de Reacción. Orden 1. Montaje 1	52
Figura 4. Q-Q normal del pH en los diferentes reactores.	55

INDICE DE FOTOS

Foto 1. Montajes de la Primera fase. Tolerancia de las plantas a los Hidrocarburos Inicial.....	34
Foto 2. Montajes de la Primera fase. Tolerancia de las plantas a los Hidrocarburos Final	34
Foto 3. Adecuación instalaciones	35
Foto 4. Unidades Plantadas	36
Foto 5. Unidades experimentales segunda fase.	36

RESUMEN

Durante el desarrollo del proyecto “*Mejoramiento de la Gestión Ambiental de las Estaciones de Servicio de Risaralda*” elaborado a través de la alianza CARDER – UTP en el año 2009, se identificaron las actividades llevadas a cabo durante la operación de 70 estaciones de servicio en el departamento, como almacenamiento y venta de combustible y servicios complementarios (lavado, lubricación, engrase y mantenimiento sencillo de vehículos) y se diagnosticó el funcionamiento de las diferentes unidades que las componen; el 20% de las estaciones incumplen con los requerimientos técnicos para la prevención de derrames afectando de manera directa los suelos y cuerpos de agua aferentes a su ubicación; el 80% restante aunque cumple con los requerimientos técnicos para evitar derrames, realizan actividades como lavado de vehículos, cambio de aceite, mantenimiento sencillo entre otros, generando además de vertimientos, sedimentos contaminados con hidrocarburos, clasificados como residuos peligrosos - RESPEL, los cuales son dispuestos de manera no adecuada en terrenos baldíos o en cuerpos de agua, ocasionando su acumulación en el medio ambiente y afectación a la salud humana.

Los objetivos de la política nacional para el manejo de residuos peligrosos (RESPEL) están direccionados a la prevención de la generación a través de la promoción e implementación de estrategias de producción más limpia y al desarrollo por parte de los sectores productivos de acciones conducentes a la reducción de la cantidad y peligrosidad de los mismos, considerando la viabilidad técnica, económica y ambiental (MAVDT 2005). Una de estas acciones es el fortalecimiento de la investigación tendiente a disminuir los impactos generados al ambiente. En los últimos años se ha demostrado que mediante tratamientos biológicos como la Fitorremediación, se pueden remover, transformar o almacenar los hidrocarburos de petróleo presentes en el suelo, sedimentos, agua subterránea o superficial a un menor costo que los tratamientos convencionales; sin embargo los estudios realizados en suelos o sedimentos contaminados con hidrocarburos (durante fugas o derrames de oleoductos), presentan concentraciones muy bajas, comparadas a las concentraciones típicas de los sedimentos provenientes de las estaciones de servicio evaluadas en el departamento, lo que conlleva a un limitado número de especies vegetales que toleren este nivel de toxicidad; por otro lado, la Fitorremediación ha sido llevada a cabo en áreas donde ocurrieron derrames o fugas de hidrocarburo, diferente a las estaciones de servicio, donde el aporte contaminante se realiza diariamente.

Por lo anterior se evaluó la aplicabilidad de la fitoremediación como alternativa tecnológica para el tratamiento de sedimentos contaminados con hidrocarburos procedente de una de las estaciones de servicio de Risaralda diagnosticadas. El proyecto se realizó en dos (2) fases, la primera fue llevada a cabo en el laboratorio de Procesos de la Universidad Tecnológica de Pereira, mediante el establecimiento de 9 reactores (escala laboratorio) con sedimentos contaminados con hidrocarburos sembrados con tres especies vegetales (*Phragmites*, *Typha latifolia* y *Cyperus papyrus*) para identificar la más tolerante al contaminante; y en la segunda fase se adecuó, en las instalaciones de la

empresa transportadora INTEGRRA ubicada en el municipio de Dosquebradas, 6 reactores (a escala piloto): cuatro (4) fueron sembrados con las plantas seleccionadas y dos sin plantar, para realizar una comparación sobre el efecto de las plantas en la reducción del contenido de hidrocarburos totales en el sedimento; adicionalmente se evaluó el efecto de la aplicación de nutrientes en la Fitorremediación del contaminante. Después de una evaluación cercana a un año, esta investigación permite concluir que la especie vegetativa Phragmites presento la mayor tolerancia a los HTP, seguido de la Typha latifolia; y aunque en el tiempo (tres meses) la concentración de HTP disminuye considerablemente en los sedimentos provenientes de estaciones de servicio (Remoción hasta del 90%), la presencia de plantas o la adición de nutrientes no muestran una incidencia en la remoción del contaminante.

Palabras claves: Fitorremediación, Hidrocarburos totales de petróleo, Nutrientes, sedimentos contaminados, tolerancia a los Hidrocarburos.

1. INTRODUCCIÓN

La distribución y los derrames accidentales de hidrocarburos, el deterioro de las unidades y los servicios complementarios que se prestan en las estaciones de servicio, son algunas de las actividades que ocasionan el deterioro del ambiente acumulándose directa o indirectamente en suelos, agua y aire. En términos generales, se puede decir que la velocidad de acumulación es mayor a la capacidad que tiene el planeta para remover estos compuestos orgánicos xenobióticos (*Kvesitadze et al. 2001 en López S. et al, 2005*).

En Risaralda actualmente alrededor del 20% de las estaciones de servicio identificadas funcionan desde hace más de 20 años por lo que el Decreto 1521 de 1998 que las reglamenta en aspectos técnicos y ambientales no las cobijó, trayendo como consecuencia la superación de la vida útil de las unidades que las componen como tanques de almacenamiento y surtidores, la ausencia de accesorios para control de derrames como cajas contenedoras y cierres automáticos de válvulas de suministro y planes de contingencia en caso de derrames. Dentro de las actividades llevadas a cabo durante la operación de las estaciones de servicio se encuentran el almacenamiento de combustible (gasolina, ACPM, Diesel), y la posterior venta a los usuarios finales (llenado tanques de vehículos) y en algunos casos incluye servicios complementarios como lavado (carrocería, motor y chasis), lubricación y engrase y mantenimiento sencillo de vehículos (cambio de aceite y de filtros, monta llantas, etc.).

Estas actividades generan vertimientos líquidos que contienen principalmente sólidos suspendidos (barro y arena), aceites y grasas, solventes halogenados, y restos de combustibles; en el caso de contar con lavado de vehículos, contienen además desengrasantes, detergentes y ceras especiales, los cuales son conducidos a los sistemas de pre tratamiento conformados por rejillas, cámaras separadoras de grasas y desarenadores y finalmente son entregados al sistema de alcantarillado o a cuerpos de agua. Los sedimentos contaminados son llevados a lechos de secados y dispuestos como residuos peligrosos pero en algunos casos por los costos en los que se incurre, son dispuestos sin llevar un control de su destino final (*CARDER y UTP, 2007*), generando contaminación de suelos y cuerpos de agua.

La normatividad nacional mediante el Decreto 1594 de 1984 derogado por el decreto 3039 de 2010, en el artículo 35 establece la obligatoriedad por parte de los usuarios que exploren, exploten, manufacturen, refinan, transformen, procesen, transporten o almacenen hidrocarburos o sustancias nocivas para la salud y para los recursos microbiológicos, de elaborar e implementar los Planes de Contingencia los cuales tienen como objeto establecer los lineamientos para el manejo, almacenamiento y gestión integral de los residuos peligrosos, incluyendo la construcción de estructuras para el manejo y control de derrames, así como las medidas de remediación en caso de que la contingencia ocurra. Sin embargo, el 35% de las estaciones de servicio carecen de dicho plan y las estaciones que lo tienen, difícilmente lo aplican por el desconocimiento de los empleados de la existencia del mismo y de las medidas contenidas en él y en ninguno de los casos se establecen medidas de

remediación en caso de que ocurra el derrame; por otro lado en el 2005 fue aprobada por el Consejo Nacional Ambiental, la Política Ambiental para la Gestión Integral de los Residuos o Desechos Peligrosos. A su vez, entra en vigencia el Decreto 4741, “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”, el cual establece la responsabilidad de los usuarios generadores a formular e implementar los planes de gestión integral de Respel, obligación que en el caso de las pequeñas estaciones de servicio ubicadas en los municipios del departamento es de difícil cumplimiento debido a los altos costos que ello implica, ocasionando un inadecuado manejo y disposición de los sedimentos contaminados. Todo lo anterior ha generado problemas de contaminación (suelo y agua superficial y subterránea) que hasta el momento no han sido evaluados, debido a la poca investigación existente en el país respecto a los posibles tratamientos alternativos de estos sedimentos.

Por tanto, la presente investigación evaluó la Fitorremediación como una alternativa de tratamiento económico, eficiente y sencillo para tratar sedimentos contaminados con hidrocarburos generados en las estaciones de servicio, tendiente a remediar los daños causados por las existentes y a prevenirlos en las nuevas.

El trabajo se realizó en el laboratorio de Procesos de la Universidad Tecnológica de Pereira y en las instalaciones de INTEGRA, bajo el auspicio de la Facultad de Ciencias Ambientales y con el apoyo del Grupo de Investigación en Agua y Saneamiento - GIAS.

2. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad los sedimentos contaminados con hidrocarburos, producto de las actividades realizadas en las estaciones de servicio, especialmente las ubicadas en los municipios menores del departamento de Risaralda, son dispuestos de manera no controlada, en terrenos baldíos o en cuerpos de agua, generando un alto impacto en el ambiente; esta irregularidad se presenta por los altos costos que acarrearán el transporte y la disposición final como residuos peligrosos - RESPEL - , de acuerdo al Plan de Contingencia que la normativa colombiana establece para el funcionamiento de estos usuarios.

Las empresas especializadas que prestan el servicio de transporte y disposición final de los residuos peligrosos, son pocas, y deben recorrer grandes distancias para realizar la recolección, adicionalmente emplean tecnologías convencionales como los rellenos sanitarios, incrementando los costos sustancialmente para los usuarios del servicio.

Los procesos físicos y químicos más usados para el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos además de los rellenos sanitarios (almacenamiento o incineración) son el lavado del suelo, la excavación y la desorción térmica; tratamientos cortos, que transfieren el contaminante de un sitio a otro e incurrir en altos costos. Razón por la cual se hace necesaria la aplicación de tratamientos químicos, físicos y biológicos que permitan eliminar o reducir las concentraciones de hidrocarburos de manera controlada, económica y eficiente.

Actualmente en el país, el desarrollo de tecnologías alternativas biológicas para el tratamiento de sedimentos contaminados con hidrocarburos, como la fitorremediación y la biorremediación, han sido desarrolladas de manera paulatina en zonas de derrames o fugas de los oleoductos, obteniendo eficiencias significativas; sin embargo, los estudios son pocos y han sido direccionados a resolver la problemática de un solo sector.

Por tanto, se hace necesario investigar alternativas de tratamientos económicos, eficientes y sencillos como la fitorremediación para tratar sedimentos contaminados con hidrocarburos tendientes a remediar los daños causados por las estaciones de servicio existentes y a prevenirlos en las nuevas.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Evaluar la fitorremediación como una alternativa para el tratamiento de sedimentos contaminados con hidrocarburos procedentes de las estaciones de servicio en Risaralda.

3.2 Objetivos Específicos

- Evaluar la tolerancia a los hidrocarburos de tres diferentes especies vegetativas (Phragmites, Typha latifolia y Cyperus papyrus).
- Determinar los porcentajes de remoción de hidrocarburos de la especie vegetativa seleccionada.
- Valorar el efecto de la aplicación de nutrientes en la fitorremediación de sedimentos contaminados con hidrocarburos.

4. ALCANCES DE LOS OBJETIVOS Y RESULTADOS ESPERADOS

Con el desarrollo de la presente investigación se evaluó la efectividad de la fitorremediación, como una alternativa viable, para el tratamiento de sedimentos contaminados con hidrocarburos generados en las estaciones de servicio de Risaralda. Estos resultados podrán ser el punto de partida para el establecimiento de la tasa de degradación del hidrocarburo presente en los sedimentos, y determinar el tiempo límite para su estabilización, lo que permitirá considerar otras alternativas de disposición final que incurran en menores costos.

Adicionalmente se identificó entre tres especies vegetativas, la más tolerante a la toxicidad del hidrocarburo presente en el sedimento.

5. HIPÓTESIS

- La especie vegetativa Phragmites es más tolerante a los hidrocarburos totales de petróleo presentes en sedimentos que las especies Typha latifolia y Cyperus papyrus.
- La especie vegetativa Phragmites empleada en la fitorremediación de los hidrocarburos totales de petróleo presentes en los sedimentos puede lograr eficiencias de reducción superiores al 70%.
- La aplicación de nutrientes estimula el crecimiento de la vegetación favoreciendo la fitorremediación de los hidrocarburos totales de petróleo.

6. REVISION DE LITERATURA

6.1 Origen y composición del petróleo

El petróleo es un recurso natural no renovable, es el resultado de la degradación anaeróbica de materia orgánica, durante largos períodos de tiempo y bajo condiciones de alta temperatura y presión, que la convierte en gas natural, crudo y derivados del petróleo. El petróleo es una mezcla extremadamente compleja y variable de compuestos orgánicos, donde la mayoría de los ellos son 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 (Vargas, et al., 2004).

Los Hidrocarburos Totales de Petróleo (HTP) son llamados de esta forma por estar compuestos de moléculas que contienen básicamente carbono e hidrogeno, las cuales pueden organizarse en un número infinito de estructuras constituyendo cada una de ellas un único compuesto orgánico (*Braibant C. 2004*). Aunque cada compuesto posee características químicas únicas, se clasifican en grupos teniendo en cuenta el número de carbonos del compuesto o la reactividad química del mismo. Por lo anterior los hidrocarburos derivados del petróleo son clasificados en tres grandes grupos: alcanos, alquenos y aromáticos (*Kostecki et al., 2005*).

Los alcanos o hidrocarburos saturados son los mayores constituyentes de los productos derivados del petróleo (*Kostecki et al., 2005*). Son moléculas químicamente muy estables en las que el esqueleto carbonado se encuentra saturado de hidrógeno. Presentan estructuras lineales, ramificadas o cíclicas. Los ramificados conforman la mayor parte del petróleo (*Braibant C. 2004*) y en caso de una contaminación, son degradados más lentamente y después de haberse degradado los lineales (*Rittman, 1994*). Los de cadena corta son más tóxicos que los de cadena larga, siendo estos últimos más hidrofóbicos (*Balba et al., 1998*). En este grupo se encuentran el hexano, el octano, el decano, el hexadecano, los isoalcanos y los cicloalcanos como el ciclohexano (*Kostecki et al., 2005*).

El segundo grupo de los hidrocarburos de petróleo está constituido por los alquenos, compuestos inertes (*Prince et al., 1999*) y por lo tanto más resistentes a la biodegradación (*Balba et al., 1998*). Estos compuestos son producto del proceso de refinación del petróleo; en este grupo se encuentran el etileno y el isobutileno los cuales son usados en la manufactura de químicos (*Kostecki et al., 2005*).

Los aromáticos, los cuales se caracterizan por ser medianamente degradables, muy contaminantes y cancerígenos, son más solubles que otros hidrocarburos y contaminan en general las aguas subterráneas (*Burland y Edwards, 1998*). Por esta razón, la USEPA los ha clasificado como contaminantes a tratar con prioridad. Están conformados por tres o más núcleos bencénicos,

eventualmente asociados con cadenas carbonadas lineales. Se acumulan en el ambiente debido a su estabilidad química, su baja solubilidad en el agua y su fuerte adsorción a las partículas del suelo (*Pothuluri y Cerniglia, 1998*). El diesel y los otros combustibles son mezclas de hidrocarburos saturados, aromáticos (33% m/m), poliaromáticos (8 % p/p) y azufre (400 ppm) (*Olson et al., 1999*). Según las particularidades de cada composición, la gasolina es menos biodegradable que el diesel o el queroseno; estos últimos contienen una mayoría de hidrocarburos de cadena larga mientras que la primera contiene en general hidrocarburos de cadena corta (*Braibant C. 2004*). Sin embargo, las nuevas gasolinas producidas mediante tecnologías modernas son más biodegradables que el diesel y las investigaciones se enfocan en reducir la cantidad de compuestos tóxicos contenidos en la gasolina (*Speidel et al., 2000*).

En general, los hidrocarburos de petróleo son compuestos intermedios entre altamente biodegradables y difícilmente biodegradables (*Pardo et al., 2004*); entre un 70 a un 97% de los HTP son degradables (la fracción de hidrocarburos saturados y aromáticos) y el resto representa los asfaltenos y las resinas esencialmente inertes (*Prince et al., 1999*).

6.2 La Importancia del Petróleo en la Sociedad

El petróleo es un recurso natural no renovable que aporta el mayor porcentaje del total de la energía que se consume en el mundo. La importancia del petróleo no ha dejado de crecer desde sus primeras aplicaciones industriales a mediados del siglo XIX, y ha sido el responsable de conflictos bélicos en algunas partes del mundo (Oriente Medio). La alta dependencia que el mundo tiene del petróleo, la inestabilidad que caracteriza al mercado internacional y las fluctuaciones de los precios de este producto, han llevado a que se investiguen energías alternativas, aunque hasta ahora no se ha logrado una opción que realmente lo sustituya.

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 (*Rodrigo et al., 2001*).

6.3 Impactos Ambientales de los Hidrocarburos

La contaminación de suelo y agua con hidrocarburos es un problema que se ha extendido como resultado de derrames de contenedores, rupturas de tuberías subterráneas y varios procesos industriales (*Leahy et al., 1990 y O'Rourke et al., 2003*). Los líquidos migran hacia el suelo y subsuelo (zona vadosa), hacia el agua subterránea (zona saturada – acuífero) o superficialmente hacia un bajo topográfico o curso de agua, y sus componentes volátiles a la atmósfera.

El efecto negativo de los hidrocarburos, se produce: en la vegetación de manera directa ocasionando la muerte y de manera indirecta afectando las condiciones físicas del suelo alterando su fertilidad (*Sangabriel W., et al., 2006*); en el agua algunos hidrocarburos flotan formando una película superficial, otros (los más pesados) sedimentan y se acumulan en el fondo limitando la disponibilidad de alimento para los peces y maco y mico invertebrados existentes; y en el suelo, algunos compuestos se volatilizan, otros migran al subsuelo contaminando el agua subterránea y otros permanecen adheridos a las partículas por largos periodos de tiempo (*U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. 1999*).

La contaminación de suelos y cuerpos de agua, por hidrocarburos también generan impacto sobre la salud humana por sus características corrosivas, explosivas, inflamables y toxicas, lo que llevo a la Agencia de Protección Ambiental (USEPA) de EEUU clasificarlos por como contaminantes primarios, y por Colombia a través del Convenio de Basilea aprobado por la Ley 253 de 1996 (*Ministerio de Medio Ambiente y Desarrollo Territorial*) como residuos peligrosos.

Adicionalmente, la industria petrolera ha generado otro impacto negativo en materia ambiental, debido a la amplia gama de productos derivados del petróleo que manejan, a la no evaluación cuantitativa de la contaminación involucrada desde la fase de explotación hasta la obtención de los petroquímicos básicos, ni del seguimiento a la infraestructura petrolera la cual está integrada por: pozos de explotación; baterías de separación; complejos procesadores de gas; centrales de almacenamiento y bombeo; redes de ductos y piletas para el confinamiento de desechos sólidos y líquidos procedentes de la perforación y mantenimiento de los pozos; transporte y distribución en general y estaciones de servicio de combustible.

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

6.4 Regulación de las Estaciones de Servicio

El Decreto 1521 de 1998 expedido por el Gobierno Nacional, define Estación de Servicio: como “Establecimiento destinado al almacenamiento y distribución de combustibles líquidos derivados del petróleo y/o gaseosos, excepto gas licuado del petróleo (GLP), para vehículos automotores, a través de equipos fijos (surtidores) que llena directamente los tanques de combustible. Además, puede incluir facilidades para prestar uno o varios de los siguientes servicios: lubricación, lavado general y/o de motor, cambio y reparación de llantas, alineación y balanceo, servicio de diagnóstico, trabajos menores de mantenimiento automotor, venta de llantas, neumáticos, lubricantes, baterías y accesorios y demás servicios afines”, adicionalmente establece que en ella podrán realizarse diversas actividades como minimercados, tiendas de comidas

rápidas, cajeros automáticos, tiendas de videos y otros servicios afines a estos, siempre y cuando se obtengan de las autoridades competentes las autorizaciones correspondientes y se cumplan todas las normas de seguridad para cada uno de los servicios ofrecidos y no interfirieran con el objeto principal para el cual se autorizó la operación de la estación de servicio (*Ministerio de Minas y energía 1998*).

Por otro lado la normatividad nacional mediante el Decreto 1594 de 1984 derogado por el decreto 3930 de 2010, en el artículo 35 establece la obligatoriedad por parte de los usuarios que exploren, exploten, manufacturen, refinan, transformen, procesen, transporten o almacenen hidrocarburos o sustancias nocivas para la salud y para los recursos microbiológicos, de elaborar e implementar los Planes de Contingencia los cuales tienen como objeto establecer los lineamientos para el manejo, almacenamiento y gestión integral de los residuos peligrosos, incluyendo la construcción de estructuras para el manejo y control de derrames, así como las medidas de remediación en caso de que la contingencia ocurra.

En el año 2005 fue aprobada por el Consejo Nacional Ambiental, la Política Ambiental para la Gestión Integral de los Residuos o Desechos Peligrosos, y se definen como “todo residuo que por su naturaleza, cantidad generada, condiciones de entorno y/u otras, presente un potencial riesgo a la salud humana y/o a la preservación del medio ambiente; a la vez, entra en vigencia el Decreto 4741, “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”, el cual establece la responsabilidad de los usuarios generadores a formular e implementar los planes de gestión integral de Respel,

La existencia de la política que regula las estaciones de servicio, no implican su reglamentación, por lo tanto el Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, elaboro las Guías Ambientales para todos los sectores incluidos Hidrocarburos, y a través de la Resolución 1023 del 28 de julio de 2005, resuelve adoptarlas como instrumento de autogestión y autorregulación del sector y como consulta y referencia de carácter conceptual y metodológico tanto para los usuarios como para las Autoridades Ambientales (MAVDT 2005).

La guía de Manejo ambiental para las estaciones de servicio, busca unificar criterios y definir los parámetros de manejo ambiental que puedan agilizar el cumplimiento de los requerimientos ambientales (Plan de Contingencia) y la implementación de mejores prácticas ambientales; y está orientada a las etapas de Planeación, Construcción, Operación y Mantenimiento del proyecto.

6.5 Actividades generadas en las estaciones de servicio

Venta de combustible: La operación principal de la estación de servicio comienza con el llenado de los estanques subterráneos de almacenamiento de combustible; y la posterior venta de estos combustibles a los usuarios finales, mediante el llenado de los estanques de los automóviles o vehículos mayores.

Lavado de Automóviles: En las estaciones de servicio que se lavan automóviles, se utilizan dos tipos de sistemas: el manual y el automático. El lavado manual incluye generalmente lavado de carrocería, chasis y motores, y el lavado se realiza a mano o con sistemas a presión. Dentro del lavado automático existen: el lavado a vapor, y el lavado con cepillos cilíndricos; este último es el más común. El lavado automático consiste básicamente en un pre-lavado con detergente y desengrasante; un lavado principal con detergente y escobilla; y el enjuague final. Las aguas de lavado son evacuadas a los sistemas públicos de alcantarillado; en algunos casos previo tratamiento de ellas.

Mantenimiento y Reparación de Automóviles: **Son** las operaciones más comunes realizadas en las estaciones de servicio, se refiere a cambios de lubricantes y líquidos de frenos; mantenimiento de radiador y frenos, cambio de baterías; y eventualmente reparaciones mecánicas, en las cuales se utiliza solventes.

6.6 Contaminación Generada en las Estaciones de Servicio

De acuerdo a la Guía para el control y la prevención de la contaminación industrial (Comisión Nacional del medio Ambiente – Región Metropolitana. 1999) el expendio de combustibles líquidos genera emisiones evaporativas (compuestos orgánicos volátiles - COV), residuos líquidos, residuos sólidos, olores, y ruidos, como se describen a continuación:

6.6.1 Emisiones Atmosféricas

Las emisiones atmosféricas por la evaporación de hidrocarburos, principalmente compuestos orgánicos volátiles (COV), se producen durante:

- a. El llenado y respiración de los estanques subterráneos de almacenamiento de combustible. Las emisiones se generan cuando los vapores de gasolina en el estanque son desplazados a la atmósfera por la gasolina que está siendo descargada. La cantidad de emisiones depende de varios factores: el método y tasa de llenado, la configuración del tanque y la temperatura, presión de vapor y composición de la gasolina. Otra fuente de emisión es la respiración de estanques subterráneos. Estas ocurren diariamente y son atribuibles a cambios en la presión barométrica.
- b. Los tanques de los automóviles por pérdidas durante el llenado. Las emisiones se producen por dos procesos: desplazamiento de vapores desde el tanque del automóvil por la gasolina cargada; y por derrames. La cantidad de vapores desplazados depende de la temperatura de la gasolina y la presión de vapor Reid¹, la temperatura del tanque del automóvil, y la tasa de llenado. Las pérdidas por derrame dependen de

¹ Presión de vapor Reid: presión absoluta a 37.8 °C en kilopascales. Difiere de la presión de vapor verdadera de la muestra, debido a pequeñas evaporaciones de la muestra y a la presencia de vapor de agua y aire en los espacios confinados. Se determina con el Método ASTM D323-94.

varios factores incluyendo el tipo de estación de servicio, la configuración del tanque del vehículo y la técnica del operador.

6.6.2 Residuos Líquidos

Los residuos líquidos en las estaciones de servicio, se generan en las siguientes operaciones:

Actividades de la Estación de Servicio

- Lavado de pisos
- Derrames y pérdidas de gasolina, solventes, aceites y grasas
- Mantenimiento de vehículos
- Aguas lluvia.

Servicio de Lavado de Automóviles

- Lavado automático de automóviles, y lavado manual de carrocería, chasis y motores.

Los residuos contienen principalmente sólidos suspendidos (barro), aceites y grasas, solventes halogenados, restos de combustibles, desengrasantes, detergentes y ceras especiales.

Los otros residuos líquidos que se generan en las estaciones de servicio, son las aguas domésticas provenientes de los baños, duchas y centros de expendio de alimentos

6.6.3 Residuos Sólidos

Los residuos sólidos generados son:

- Aceites y lodos provenientes de la limpieza de los tanques de almacenamiento, de los equipos de transporte.
- Aceite usado proveniente de la mantención de motores y filtros.
- Lodos provenientes de sistemas de tratamiento, por ejemplo cámaras separadoras de aceites y grasas; o simples decantadores.
- Emulsiones de aceite como consecuencia de la limpieza de pisos, etc.
- Solventes usados.
- Textiles contaminados: materiales de absorción (para derrames) y paños de limpieza.
- Envases, plásticos y metálicos, contaminados con aceites, solventes, grasas, etc.
- Baterías agotadas.
- Neumáticos usados.
- Repuestos de vehículos.
- Misceláneos (eventualmente cambios esporádicos de radiadores, refrigerantes, etc.).

Otros residuos sólidos que se generan, son los residuos domiciliarios, provenientes de los minimercados y centros de expendio de alimentos.

6.7 Tasas de Generación de Lodos y/o Residuos en las Estaciones de Servicio

Durante el desarrollo del proyecto “Mejoramiento de la Gestión Ambiental de las Estaciones de Servicio de Risaralda” (Corporación Autónoma Regional de Risaralda y Universidad Tecnológica de Pereira. 2009), se diagnosticó el

funcionamiento de las diferentes unidades que componen 44 estaciones de servicio (63%) de las 70 identificadas en el departamento; este diagnóstico permitió clasificar la cantidad de residuos generados, en función del tamaño y los servicios prestados. Las estaciones de servicio donde se realiza lavado y lubricación y cuentan con sistema de tratamiento o trampa de grasas, generan una cantidad mayor de lodos y arenas contaminadas que las estaciones que sólo prestan el servicio de distribución de combustible, y las estaciones de mayor tamaño, prestan mayor número de servicios.

A continuación se muestra las cantidades de lodos y arenas producidos en las estaciones de servicio de Risaralda que fueron analizadas.

Tabla 1. Cantidad de lodos y arenas contaminados con hidrocarburos producidas en las estaciones de servicio de Risaralda.

Municipio	EDS	Lodos (Kg/mes)	Arenas (Kg/mes)
Apia	El Crucero	42.3	8
Guática	Guática	N.G	8
Marsella	Marsella	317	18
Pueblo Rico	La Esperanza	N.G	8
	Panamericana	N.G	8
Belén de Umbría	Cootransbel	365	16
	El Carmen	N.G	12
	El Recreo	N.G	8
La Celia	El jardín	N.G	8
Mistrató	Mistrató	96	8
Santuario	Tatamá	43.6	8
Dosquebradas	Card Ltda	385	20
	La tractomula	386.4	16
	Risaralda/La carlota	453	20
	Viaducto	380	8
	Metropolitana	235	25
	Otún	247	20
La Virginia	Codi	360	8
	La Virginia	43.6	8
	JRC	551	18
	La Antioqueña	330	16
Santa Rosa	Araucarias	240	8
	Modelo	95	8
	San Eugenio	41	8
Pereira	Campestre La Manuela	288	10
	Coochoferes Av del Rio	188	20
	Coochoferes La 28	98	4
	De Pereira	138	20
	Aeropuerto	1152	16
	La Pista	164	8
	San Fernando	2800	8
	Terminal	592	20
	Ciudad Victoria	237	16
	Corales	200	25
	Don Ernesto	130	10

Municipio	EDS	Lodos (Kg/mes)	Arenas (Kg/mes)
	Matecaña	300	15
	Los Pizamos	216	15
	Santa Elena	386.4	8
	Urbanos Pereira	N.G	10
	Cuba	N.G	10
	El Camionero y su automóvil	404	16
	Fonda Central	294	10
	Parque Olaya	236	20
	Servimotor	168	15
TOTAL		12602.3	569

Fuente: Corporación Autónoma Regional de Risaralda y Universidad Tecnológica de Pereira. 2009.

En la anterior tabla se puede observar que el 63% de las estaciones de servicio en Risaralda, generan 12.602 Kg/mes de lodos y 569 Kg/mes de arenas, las cuales tienen un inadecuado manejo y disposición final (terrenos baldíos y cuerpos de agua), incumpliendo la normativa ambiental vigente que exige sean dispuestos de manera apropiada teniendo en cuenta su naturaleza como residuos peligrosos y su entrega a un movilizador debidamente registrado ante la autoridad ambiental. (Corporación Autónoma Regional de Risaralda y Universidad Tecnológica de Pereira. 2007).

Sin embargo, en el departamento no existen empresas gestoras de residuos peligrosos con licencia ambiental otorgada por CARDER, razón por la cual el servicio debe ser prestado por gestores externos de recolección, transporte y disposición final de residuos peligrosos con licencia ambiental otorgada por otras corporaciones autónomas a nivel nacional; del listado oficial de gestores externos autorizados, cuatro (4) se ubican en el departamento del Valle del Cauca y uno (1) en el Huila; departamentos cercanos a Risaralda, no obstante las distancias son importantes, lo que incurre en altos costos (transporte) para los generadores (CARDER. 2011).

6.8 Fitorremediación de sedimentos contaminados con Hidrocarburos

Las propiedades físicas del suelo se ven muy afectadas por la contaminación con hidrocarburos; la aglutinación de partículas del suelo genera estructuras más gruesas que cubren la superficie de las partículas y el espacio poroso afectando su aireación, adicionalmente la película que cubre las partículas es hidrófoba y disminuye la retención de agua. Por otro lado el contenido de materia orgánica del suelo se incrementa notablemente, así como la acidificación y la saturación de bases y la capacidad de intercambio catiónico. Todos estos factores acarrearán una disminución de la fertilidad del suelo (Pérez et al., 2002).

En la actualidad existen técnicas ex situ e in situ para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos pero presentan altos costos (Sangabriel et al., 2006). Para la remoción o degradación de los derivados del petróleo se han usado varios tipos de tecnologías entre las que se encuentran las físicas, químicas y fisicoquímicas. Los tratamientos físicos recurren a técnicas de separación física como la extracción por vapor que utiliza la diferencia de

presiones, la extracción de solventes a través de la diferencia de solubilidad y la termo desorción que usa la temperatura; los tratamientos químicos emplean técnicas de reacciones bioquímicas y los tratamientos fisicoquímicos emplean procesos de reacción fisicoquímicos como la solidificación, incorporación al asfalto e incineración (*Kostecki et al., 2005*).

Para contrarrestar los altos costos que conllevan las tecnologías de remediación convencionales se ha promovido el desarrollo de tecnologías biológicas de tratamiento las cuales se basan en la capacidad que tienen los propios microorganismos del suelo y los microorganismos asociados a algunos tipos de plantas, para transformar o degradar compuestos orgánicos en compuestos químicos más sencillos, logrando incluso una degradación completa hasta bióxido de carbono y agua (*Deyta y Saval, 1998*). La interacción raíz - microorganismos contribuye significativamente a la remoción, degradación o estabilización del contaminante, convirtiendo la fitoremediación y la biorremediación en estrategias menos costosas y ambientalmente amigables para sanear suelos contaminados con hidrocarburos (*Cunningham, et al., 1996*).

La Fitoremediación es un término general para las diversas maneras en que las plantas se usan para remediar in situ los suelos, lodos, sedimentos, y agua contaminados. Las plantas pueden degradar contaminantes orgánicos o contener y estabilizar metales pesados, además pueden ser usadas para remover pesticidas, solventes, explosivos, lixiviados de rellenos sanitarios e hidrocarburos aromáticos mediante procesos como: fitoextracción, rizofiltración, fitoestabilización, fitodegradación, rizodegradación y fitovolatilización (EPA 1999). Sin embargo, debe considerarse que la fitoremediación requiere más esfuerzo que la simple plantación de la vegetación, debe contar con un mantenimiento mínimo que garantice el crecimiento normal de la planta, al igual que una comprensión de los procesos que ocurren en ellas (*Pivetz, 2001*).

Para el caso de los hidrocarburos la fitoremediación se refiere al uso de las plantas con capacidad para remover los contaminantes y con resistencia para crecer en suelos contaminados con HPT. La presencia de vegetación afecta las propiedades físicas del suelo, incluyendo la estructura, porosidad, conductividad y tasas de infiltración. Estas plantas son capaces de fitodegradar y estimular a poblaciones de microorganismos en los sistemas rizosféricos. Se ha demostrado que las plantas pueden metabolizar o inmovilizar hidrocarburos del petróleo por medio de numerosos procesos como la oxidación metabólica o la co-oxidación dependiendo de los niveles de concentración de los hidrocarburos. En condiciones de concentraciones bajas de toxicidad el sistema rizosférico proporciona condiciones nutricionales y de aeración favorables para el aumento de las poblaciones y la diversidad de la flora; en el caso de altas concentraciones de hidrocarburos se pueden afectar la exudación de la raíz de azúcares, los factores de crecimiento y los ácidos orgánicos con el consiguiente rompimiento del equilibrio rizosférico, la disminución de microorganismos totales (hongos y bacterias), así como bacterias asimiladoras de nitrógeno y fijadores de nitrógeno atmosférico (*Pérez et al., 2002*).

6.9 Mecanismos de Fitorremediación de Hidrocarburos

Son muchos los mecanismos a través de los cuales las plantas pueden remediar los sitios contaminados: fitoextracción / fitoacumulación, Fitodegradación / fitotransformación, fitoestabilización, fitoestimulación, fitovolatilización y rizodegradación; las transformaciones de los contaminantes en las plantas pueden ser in situ, in vitro o in vivo. Igualmente existen factores que afectan la captura y distribución en las plantas: las propiedades físicas y químicas del compuesto contaminante, las características del medio y las características de la planta (*Susarla et al., 2002*).

Sin embargo, existen tres mecanismos primarios a través de los cuales las plantas y los microorganismos remedian el suelo y las aguas subterráneas contaminadas con petróleo. Estos mecanismos son:

Rizodegradación: es el principal mecanismo de degradación petroquímica en fitorremediación, se presenta por la interacción plantas y microorganismos los cuales degradan los hidrocarburos y el petróleo en productos que generalmente son menos tóxicos y menos persistentes en el medio ambiente como alcoholes, ácidos, dióxido de carbono y agua (*Eweis et al., 1998*). La presencia de raíces estimula el crecimiento y la variedad de microorganismos en la zona, quienes toman los compuestos orgánicos para su nutrición y energía, los microorganismos a su vez estimulan el crecimiento de la rizósfera generando mas exudados compuestos de azúcares, aminoácidos, y ácidos orgánicos acelerando el metabolismo de los contaminantes en la rizósfera (*Pivetz, 2001*).

Fitodegradación: implica el uso de plantas para reducir o eliminar la biodisponibilidad de contaminantes a otros componentes de la biota. Las plantas adsorben los hidrocarburos a través de la superficie de la raíz y los acumulan dentro de ellas (*Frick, et al., 1999*). La fitodegradación no depende de la asociación de los microorganismos con la rizósfera y puede ser empleada también para degradar solventes, herbicidas, insecticidas y nutrientes inorgánicos (*Pivetz, 2001*).

Fitovolatilización: es la transferencia de hidrocarburos volátiles del suelo o el agua a la atmosfera realizada por las plantas (*Frick et al., 1999*) a través de la transpiración en concentraciones bajas.

6.10 Influencia de los Factores Ambientales en la Fitoremediación

Según *Frick et al., (1999)* una gran variedad de factores ambientales afectan los mecanismos de fitorremediación. El tipo de suelo y el contenido de materia orgánica pueden limitar la biodisponibilidad de los contaminantes de petróleo. El contenido de agua en el suelo y humedales afecta el crecimiento microbiano y de la planta disminuyendo la disponibilidad de oxígeno necesario para la respiración aeróbica. La temperatura afecta las tasas a las que diversos procesos tienen lugar. La disponibilidad de nutrientes puede influir en la velocidad y grado de degradación en suelo contaminado con petróleo. La luz

del sol puede transformar los compuestos, disminuyendo la biodisponibilidad y pueden presentar diferentes efectos tóxicos peores que el compuesto inicial. Estos factores ambientales causan cambios en los contaminantes originales obteniendo como resultado final, que sólo los compuestos más resistentes permanezcan en el suelo.

6.11 Beneficios y limitaciones de la Fitorremediación

6.11.1 Beneficios directos

La fitorremediación in situ es una técnica impulsada por energía solar, lo que limita las perturbaciones del medio ambiente y reduce los costos (*Shimp et al., 1993*). Esta técnica permite el tratamiento de grandes zonas contaminadas, cuando otras técnicas pueden no ser rentables (*Schnoor, 1999*). Es una alternativa bastante amigable con el ambiente; las plantas pueden ser empleadas como indicadores de contaminación o de la magnitud de la rehabilitación (*Shimp et al., 1993*). Adicionalmente el potencial crecimiento de varias especies en el mismo sitio, permite remediar al mismo tiempo, diferentes contaminantes. Finalmente las plantas ayudan a la confinación del contaminante y permiten el ingreso de oxígeno a la rizósfera para el desarrollo microbiano.

6.11.2 Beneficios indirectos

La fitorremediación contribuye al mejoramiento de la calidad del suelo mediante el cambio de la estructura, el aumento de la porosidad y por ende la infiltración del agua permitiendo el ingreso de nutrientes y acelerando su ciclo, y aumentando el carbono orgánico del suelo (*Schnoor et al., 1995; Cunningham et al., 1996*), el efecto se ve reflejado en la estabilización del suelo y disminución de la erosión. Por otro lado al no requerir instrumentos mecánicos, la fitorremediación contribuye en la disminución de gases efecto invernadero y las plantas pueden actuar como sumidero de los mismos (*Tsao, 1999 tomado de Frick et al., 1999*); y en el caso del empleo de árboles estos ayudan en la disminución del ruido.

6.11.3 Limitación de la Fitorremediación

La fitorremediación de hidrocarburos de petróleo debe llevarse a cabo en bajas profundidades, a más de dos metros, donde la densidad de las raíces disminuyen, los contaminantes relativamente inmóviles no pueden migrar a las raíces imposibilitando la remediación del compuesto. Sin embargo, cuando se emplean árboles para la fitorremediación se pueden lograr profundidades hasta de 60m. (*Cunningham et al., 1996*).

Esta técnica de remediación es más lenta que los métodos ex situ, generalmente se requiere de varias temporadas (cosecha) para lograr la remoción total del contaminante (*McIntyre y Lewis, 1997*). Es precisamente por esto que si el sitio a remediar presenta un peligro para la salud o el medio ambiente, esta tecnología no es aplicable (*McIntyre y Lewis, 1997*).

De igual manera las condiciones ambientales, tales como la textura del suelo, el pH, la salinidad, la disponibilidad de oxígeno, la temperatura y el nivel de hidrocarburos no contaminantes deben estar dentro de los límites tolerados por las plantas (McIntyre y Lewis, 1997; Cunningham et al., 1996; Hrudey y Pollard, 1993). Además, las plantas no crecerán si las concentraciones del contaminante son demasiado altas.

Otra desventaja que se presenta es el ingreso del contaminante en la cadena trófica, al alimentarse algunos animales de las plantas existentes. Además, biodegradación de los contaminantes objetivo puede conducir a la formación de tóxicos intermedios, tales como los creados durante el período inicial de biotransformación de los hidrocarburos de petróleo por los hongos (Sutherland, 1992).

Del mismo modo, la evaporación de los hidrocarburos de petróleo través de la planta, es simplemente una transferencia de los contaminantes de un medio ambiental a otro. Como resultado, puede haber problemas de calidad del aire resultante de esta transferencia.

6.11.4 Beneficios y limitaciones de otras alternativas

6.11.4.1 Atenuación natural

La atenuación natural es una técnica de biorremediación in situ de bajo costo, su característica principal es la utilización de los procesos fisicoquímicos de interacción contaminante suelo y los procesos de biodegradación tienen lugar de forma natural, estos procesos reducen la concentración del contaminante (Lee et al., 2001). Los principales beneficios de la atenuación natural son: un mínimo de perturbación del sitio, y costos de funcionamiento bajos o inexistentes. La principal limitación es que requiere de más tiempo que otra alternativa método (Frick et al., 1999).

6.11.4.2 Alternativas Ingenieriles

Dentro de estas alternativas ingenieriles se encuentran la solidificación, la incorporación al asfalto, la incineración, vitrificación (Kostecki et al., 2005), las cuales pueden ser aplicadas de manera ex situ e in situ. Las principales ventajas de la aplicación ex situ son: demostrar el funcionamiento de nuevas tecnologías para la remoción de compuestos de hidrocarburos y altas eficiencias en corto tiempo. Las principales limitaciones son: perturbaciones del sitio por excavaciones, transferencia de los contaminantes al sitio de disposición del material excavado (Malot, 1989; Cunningham y Berti, 1995) y las cenizas producto de la incineración las cuales deben ser manejadas como residuo peligroso; estas actividades generan altos costos de operación y mantenimiento. Para el caso de la aplicación de métodos ingenieriles in situ, la perturbación del sitio por excavación no existe reduciendo el potencial de la exposición humana al contaminante (Pierzynski et al., 1994); los resultados son rápidos y de bajo costo (Malot, 1989). Entre las limitantes se encuentran: la transformación de compuestos los cuales pueden ser mas tóxicos que el

compuesto inicial (Boevé, 1989); y su eficiencia depende de la solubilidad del contaminante en el agua.

6.11.4.3 Biorremediación

Las prácticas de biorremediación consisten en el uso de microorganismos para neutralizar sustancias tóxicas, convirtiéndolas en inocuas para el medio ambiente o la salud humana (Benavides et al., 2006).

Durante años se han implementado técnicas de biorremediación para suelos contaminados con gasolina, los cuales han sido muy eficientes; compuestos como el benceno, tolueno, etil benceno y n-alcanos son realmente biodegradables. Esta tecnología puede ser aplicada in situ, donde no se requiere excavación del suelo contaminado y ex situ, donde el suelo excavado es tratado con algún tipo de biorreactor. La biorremediación in situ es la más aplicada, presenta menores costos, menor generación de residuos, emplea microorganismos autóctonos los cuales se ven afectados si las concentraciones del contaminante a tratar son muy altas (Benavides et al., 2006).

6.12 Experiencias de fitorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos

Existen diversas experiencias acerca de la efectividad de la fitorremediación de sitios contaminados con derivados del petróleo. Günter et al. (1996) demostraron en suelos plantados con Ryegrass (*Lolium multiflorum*) remociones superiores al 97% en su contenido de hidrocarburos totales (concentración inicial de 4330 mg TPH/kg suelo). Los autores atribuyeron este resultado al mayor número de microorganismos activos presentes en los suelos plantados en comparación con suelos no plantados. De otra parte Reilley et al. (1996) concluyen que la presencia de pastos y leguminosas mejoran la remoción de PAHs con un 30-40% más de degradación en comparación con suelos no plantados. Pradhan et al. (1998) identificaron que suelos sembrados con alfalfa y otras especies de pastos reducen la concentración de PAHs en más de un 50% en un periodo de seis meses; el mejoramiento de la degradación biológica en la rizosfera, lixiviación, absorción por plantas, degradación abiótica, mineralización, volatilización e irreversible adsorción han sido señalados como los mecanismos de remoción de estos contaminantes. Weatherly et al. (2005) evaluaron la capacidad de la especie *Spartina alterniflora* (espartina marítima) de capturar PAHs presentes en sedimentos y encontraron que la mayor concentración del contaminante se hallaba en las raíces y el tallo en dos y tres órdenes de magnitud respectivamente por debajo de la concentración del suelo. Los HTP detectados en las raíces están principalmente presentes en el suelo adherido a la superficie de la raíz, en lugar de transferirse al tejido de la misma.

Un gran número de artículos hablan de el rol de las plantas en la remediación de suelos y aguas contaminadas y describen como las plantas a través de varios procesos disminuyen el grado de toxicidad, estos procesos incluyen: las

modificaciones físicas y químicas de las propiedades del suelo contaminado; la relación de exudados – raíces para aumentar el carbón orgánico y aireación de la zona radicales (*Susarla et al., 2002*). De otra parte *Sangabriel et al.(2006)* evaluaron la tolerancia y capacidad de fitorremediación de combustóleo en el suelo por gramíneas y leguminosas y concluyeron que las primeras fueron más tolerantes al combustóleo siendo la especie *Bracharia brizantha* (Brizhanta o Mrandú) la de mayor capacidad de degradación en la rizósfera; y entre las leguminosas la única especie en tolerar y crecer en el suelo contaminado además de estimular la población microbiana en la rizósfera fue la *Phaseolus coccineus* (frijol), ambas especies pueden ser empleadas en la fitoremediación de suelos contaminados con hidrocarburos; *Phillips et al., (2006)*; quisieron evaluar la fitorremediación de hidrocarburos con 6 especies diferentes de gramíneas (mixtas e individuales) y el efecto del tipo de tratamiento (mixto o individual) en la estimulación del crecimiento de la comunidad microbiana degradadora de HC; después de 4,5 meses encontraron que las mayores remociones del HC (50%) se dieron en los tratamientos individuales (fetusca roja), y que la alfalfa tiene un efecto dominante en las comunidades de microorganismos de la rizosfera, estimulando un relativo crecimiento de las mismas (tratamientos mixtos e individuales).

Sang-Hwan et al., (2007), midieron la capacidad de degradación de hidrocarburos y de disipación de fenantreno y pireno de 4 especies de plantas nativas de Corea comparando un sistema plantado y otro sin plantar. Los resultados muestran que las leguminosas (*Echinogalus* y *Astragalus membranaceus*) son candidatos adecuados para la fitorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos recalcitrantes porque son capaces de crecer en el medio contaminado y poseen una eficiente producción de enzimas extracelulares que facilitan la actividad microbiana.

Peng S., et al., (2009), midieron la capacidad de la especie ornamental *Mirabilis jalapa* L. (Dondiego de noche, Donpedros, Periquitos) para fitorremediar suelos contaminados con hidrocarburos procedente de un yacimiento petrolero ubicado en Dongying en condiciones de invernadero, después de 127 días obtuvieron remociones entre el 40 y 60%, resultados muy altos al compararse con los obtenidos por atenuación natural que estuvo entre 19 y 37%. Adicionalmente realizaron un análisis cualitativo y cuantitativo de la planta (peso, longitud de la raíz, síntomas de estrés), y concluyeron que la jalapa presenta una peculiar tolerancia a la contaminación con hidrocarburos y que efectivamente pueden removerlos si las concentraciones son iguales o inferiores a 10.000 mg/Kg, al igual que la adaptación de los microorganismos.

Finalmente, en el año 2011, *Moreira et al.*, usaron la *Rizophora mangle* L. para la fitorremediación de los sedimentos de manglares contaminados por la persistencia de hidrocarburos totales de petróleo y después de 90 días, observaron remociones del 87%, y que estas eficiencias se presentaron a medida que la población de microorganismos presentes en la rizosfera, también aumentaba, permitiendo concluir que la fitorremediación es una buena alternativa para la degradación de hidrocarburos en las zonas de manglares.

Considerando lo anterior, es necesario desarrollar procesos investigativos en la región, que permitan conocer el efecto de algunas plantas en la degradación de HTP presentes en sedimentos.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación fue realizada mediante dos fases, la primera fase se llevó a cabo en el laboratorio de Procesos de la Universidad Tecnológica de Pereira - UTP, Pereira, Colombia, y la segunda fase se realizó en las instalaciones de la empresa de transportes INTEGRAL ubicada en el municipio de Dosquebradas, Colombia; como parte de un proyecto de investigación que evalúa alternativas biológicas para la remoción de Hidrocarburos en aguas y suelos.

7.1 Factores del estudio

En la presente investigación se tienen dos factores: Plantas (con plantas y sin plantas) y nutrientes (con nutrientes y sin nutrientes) para un total de cuatro (4) tratamientos.

En la tabla 2 se presentan los factores de estudio, los niveles y el número de tratamientos propuestos

Tabla 2. Factores, Niveles y Tratamientos

Factor	Niveles	Nº Niveles	Nº tratamientos
Plantas	Con plantas	2	4
	Sin plantas		
Nutrientes	Con Nutrientes	2	
	Sin Nutrientes		

Fuente: elaboración propia

El trabajo experimental fue replicado una (1) vez. El desplazamiento hasta el municipio de Dosquebradas todos los días a la misma hora para realizar el riego de las UE, el tiempo que toma extraer los HTP mediante el método Gravimétrico (Soxhlet) y la logística (materiales y equipos) para su implementación, fueron los criterios considerados para establecer solo una réplica del experimento.

7.2 Unidades Experimentales

Fase 1. Análisis de tolerancia de las plantas al HTC.

Teniendo en cuenta que para los procesos metabólicos de las raíces y su respectivo crecimiento y el desarrollo de la actividad microbiana asociada, se requiere de oxígeno y nutrientes (*Hutchinson S., et al., 2003* y *Sridhar S., et al., 2002*), que las helofitas según *Wießner, A., et al., (2002)*, tienen la capacidad de liberar oxígeno en la zona radicular incluso en condiciones de saturación y que *Frick et al., (1999)*, las clasifica como especies que toleran los Hidrocarburos; se eligieron tres especies de helofitas: *Phragmites*, *Typha latifolia* y *Cyperus papyrus*, para evaluar su tolerancia al hidrocarburo.

Para ello se usaron nueve (9) reactores a escala laboratorio, con capacidad de 5 Kg de sedimento (fotos 1 y 2). Cada una de las especies fue sembrada en tres reactores, dos de ellos con sedimento contaminado con hidrocarburo 10.000 mg/Kg y un reactor sin contaminar como control. El sedimento fue una mezcla de arena gruesa con aceite de motor. Los reactores fueron irrigados con 30 ml de agua por 100 gr de arena seca dos veces en la semana; también se realizó una adición nutrientes al inicio del experimento, 1g de triple 15 diluido en agua, por 1 Kg de arena seca. La actividad tuvo una duración de dos meses.

Para determinar la especie más tolerante a los HTP se realizó un seguimiento al crecimiento de las plantas (mediciones semanales) y el peso (inicial y final), y se acompañó de un registro fotográfico.



Foto 1. Montajes de la Primera fase. Tolerancia de las plantas a los Hidrocarburos Inicial



Foto 2. Montajes de la Primera fase. Tolerancia de las plantas a los Hidrocarburos Final

Fase 2. Degradación de HTP

Para determinar los porcentajes de remoción de hidrocarburos de la especie vegetativa seleccionada, se usaron reactores a una escala mayor, con sedimento contaminado proveniente de la estación de servicio de INTEGRA, plantados con dos de las especies seleccionadas, con dos controles sin plantar; bajo condiciones de invernadero.

Se construyeron seis (6) unidades experimentales (0.80 m de ancho x 1.0 m de largo y 0.50 m de profundidad) mediante el acondicionamiento de uno de los lechos de secado de sedimentos extraídos del sistema de tratamiento de la estación de servicio de la empresa de transporte INTEGRA. Cuatro de las unidades fueron plantadas con dos especies seleccionadas de la primera fase, 9 plantas/m² (Frick *et al.*, 1999), las otras dos (sin plantar) fueron los controles. Las unidades fueron irrigadas diariamente con el propósito de conservar la humedad entre el 20 y el 25% de acuerdo a la capacidad de campo de almacenamiento calculada. La determinación del porcentaje de remoción se hizo mediante mediciones quincenales de HTP en cada una de las unidades, durante tres (3) meses, en dos momentos diferentes.

Para valorar el efecto de la aplicación de nutrientes en la fitoremediación de hidrocarburos, se adiciono triple 15 a tres de las unidades, dos plantadas (con diferente especie) y una sin plantar como control. La adición del nutriente dependió de los resultados de la caracterización inicial del sedimento donde se midió la concentración de Carbono, Nitrógeno y Fosforo para conservar una relación del nutriente 100:10:1.

La valoración del efecto de los nutrientes en la fitorremediación se realizó mediante el análisis de las eficiencias de reducción del contenido de HCT en el tiempo, según la información obtenida en el monitoreo de las unidades con y sin adición de nutrientes.

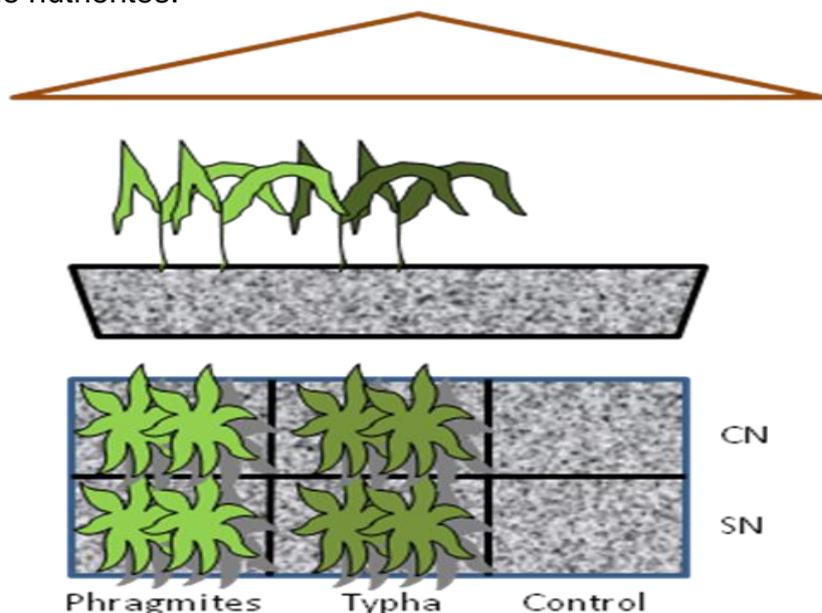


Figura 1. Esquema de tratamiento

Fuente: Elaboración propia

CN: con nutrientes, SN: sin nutrientes

En las fotos 3 y 4, se puede observar el montaje en INTEGRA.

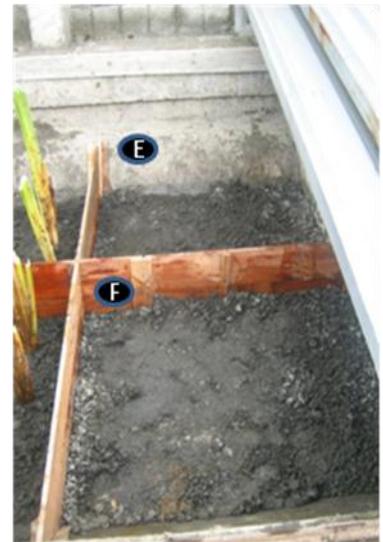
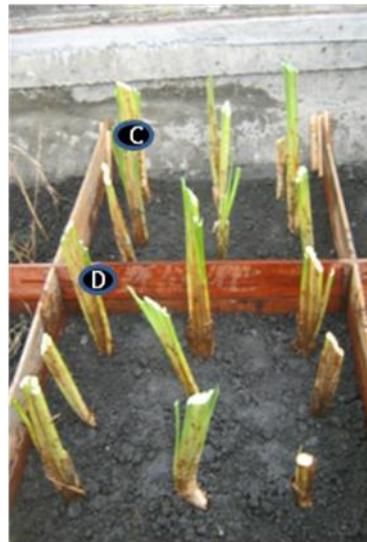


Foto 3. Adecuación instalaciones



Foto 4. Unidades Plantadas

La determinación de porcentajes de remoción se realizó mediante el monitoreo de los sistemas respecto al contenido de HCT en el tiempo.



A. Phragmites con nutrientes (PCN)
B. Phragmites sin nutrientes (PSN)

C. Typha con nutrientes (TCN)
D. Typha sin nutrientes (TSN)

E. Blanco con nutrientes (BCN)
F. Blanco sin nutrientes (BSN)

Foto 5. Unidades experimentales segunda fase.

7.3 Programa de monitoreo

El monitoreo de las unidades de fitorremediación se realizó durante tres (3) meses, tomando una muestra integrada de cada unidad y con una frecuencia quincenal. Las muestras fueron analizadas en el laboratorio de procesos biológicos de la Facultad de Ciencias Ambientales de la Universidad Tecnológica de Pereira teniendo en cuenta los procedimientos del Standard Methods (APHA, 2000). La determinación de concentración de HTP se llevó a cabo teniendo en cuenta el método Gravimétrico (Soxleth).

En las tablas 2 y 3, se especifica la frecuencia y el método de medición de las diferentes variables a tener en cuenta:

Tabla 2. Frecuencia y método de medición de variables primera fase

Parámetro	Método	Frecuencia
Nº de plantas	Conteo	Semanalmente
Crecimiento de la planta	Medición	
Peso de la Planta	Medición	Al inicio y final del experimento

Fuente: elaboración propia

Tabla 3. Frecuencia y método de medición de variables segunda fase

Parámetro	Método	Frecuencia
pH	Potenciómetro	Dos veces en el mes
Temperatura	Termómetro de mercurio	
Hidrocarburos totales	Gravimétrico	
% de humedad	Gravimétrico	
Nitrógeno total	Semimicro -Kjeldhal	Al inicio y final del experimento

Fuente: elaboración propia

7.4 Análisis estadístico

El experimento se desarrollo mediante muestreos de las unidades experimentales (UN). Los resultados obtenidos en la primera fase fueron analizados de manera cualitativa; los resultados de la segunda fase fueron sometidos a una prueba de normalidad y posteriormente a una prueba de homogeneidad de varianza, aunque estas pruebas dieron como resultado que los datos son no paramétricos, se realizó el análisis de varianza ANOVA. El software estadístico a utilizar SPSS (Statistical Package for Social Science versión 16.0). Adicionalmente mediante estadística descriptiva se analizaron las demás variables (ph, temperatura).

7.4.1 Hipótesis estadísticas a aplicar

La siguiente tabla muestra las hipótesis estadísticas planteadas para la presente investigación:

Tabla 4. Hipótesis estadísticas

Factor	Ho	Ha
Plantas	No existe diferencia significativa en la reducción de HTP con o sin presencia de plantas Ho = CP = SP = CSP	Existe diferencia significativa en la reducción de HTP con o sin presencia de plantas Ha = CP ≠ SP ≠ CSP
Nutrientes	No existe diferencia significativa en la reducción de HTP con o sin adición de nutrientes Ho = CN = SN = CSP	Existe diferencia significativa en la reducción de HTP con o sin adición de nutrientes Ha = CN ≠ SN ≠ CSN

Fuente: Elaboración propia

7.5 Modelo matemático aplicable

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \lambda_j + (T\lambda)_{ij} + \epsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable respuesta observada en el tratamiento ij (% reducción HTP)

μ = Promedio general de la variable de respuesta

T_i = Efecto del i-esimo tratamiento (factor Plantas), en el nivel i

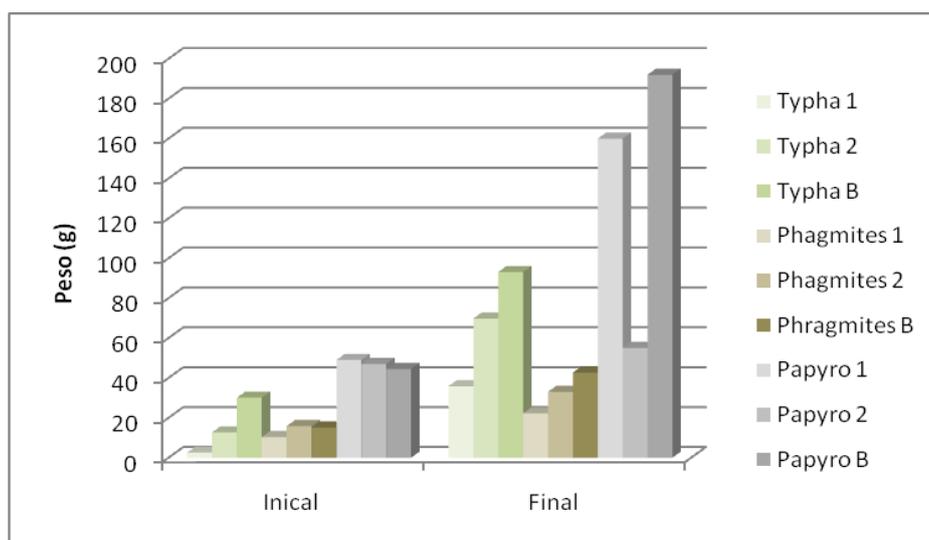
λ_j = Efecto del j-esimo tratamiento (factor Nutrientes), en el nivel j

ε_{ij} = error experimental

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Evaluación de la tolerancia a los hidrocarburos de tres diferentes especies vegetativas (Phragmites, Typha latifolia y Cyperus papyrus).

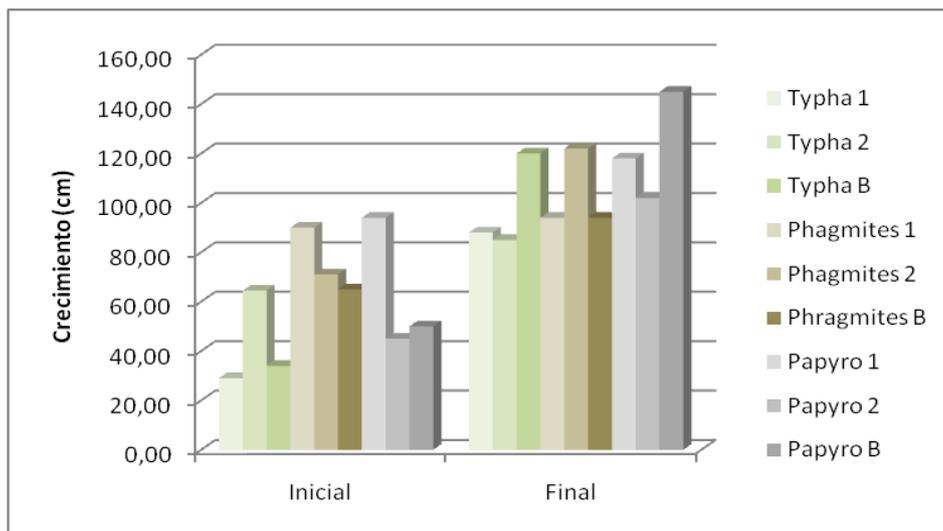
Las gráficas 1 y 2 muestran la diferencia de pesos y tamaños de las tres especies vegetativas obtenidos entre el inicio y el final del experimento. Según estos resultados la especie *Cyperus papyrus* adquirió el mayor peso, incluso con un valor cercano al del control, lo que se debió a la presencia de varios rizomas de mayor tamaño.



Gráfica 1. Comportamiento del peso de las especies vegetativas

Fuente: elaboración propia

Con relación al crecimiento de las plantas (Figura 3), no se encontró diferencia significativa entre ellas, sin embargo es claro que las plantas sembradas al inicio del experimento con menor longitud, tuvieron un mayor crecimiento, lo que pudo darse según *Wießner, A., et al., (2002)* por que las helófitas mas jóvenes tienen mayor capacidad de liberar oxígeno en la rizosfera alcanzando tasas hasta de 1,41 mg/K*planta, característica indispensable en la fitorremediación, para los procesos metabólicos de las raíces y su respectivo crecimiento (*Hutchinson S., et al., 2003*).



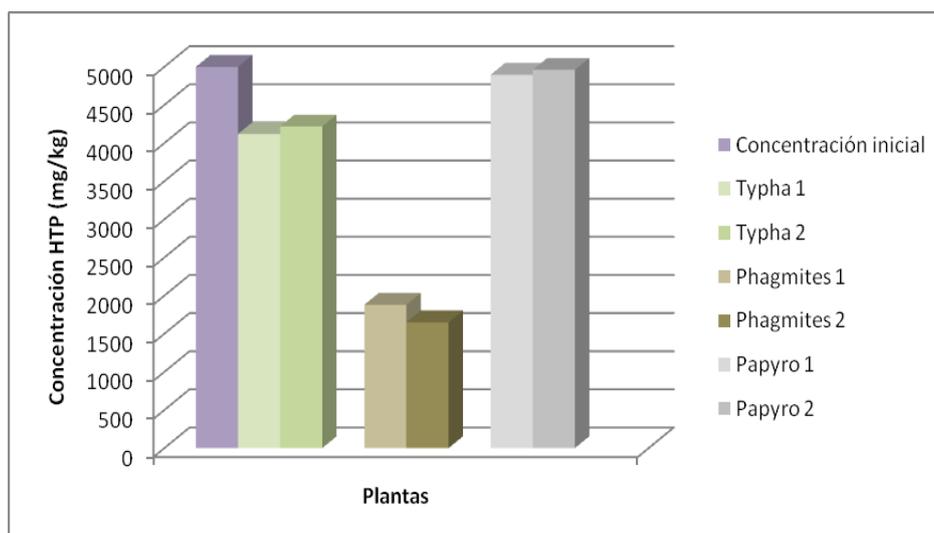
Gráfica 2. Comportamiento del crecimiento de las especies vegetativas

Fuente: elaboración propia

Todas las especies plantadas presentaron un crecimiento similar al del control, esta condición puede deberse a la capacidad que tienen las helofitas de liberar oxígeno en la zona radicular incluso en condiciones de saturación (Wießner, A., et al., 2002), característica necesaria para el crecimiento de la planta y la actividad microbiana (Sridhar S., et al., 2002); sin embargo la Typha obtuvo un mayor tamaño y una mejor apariencia del tallo y las hojas durante su crecimiento. Frick et al., (1999), corrobora estos resultados al clasificar las especies Typha latifolia, Phragmites australis y Cyperaceas, como plantas que toleran los Hidrocarburos en llanuras boreales de la ecozona; otras especies han sido investigadas en diferentes concentraciones de hidrocarburos, por ejemplo Peng S., et al., (2011) encontraron que la Mirabilis jalapa L. puede ser usada en la fitoremediación de suelos contaminados con hidrocarburos con concentraciones ≤ 10.000 mg/kg; Euliss K., et al., (2008), hallaron que las especies Salix exigua, Populus spp., Tripsacum dactyloides, Sagitaria latifolia, Panicum virgatum y Carex stricta presentan un gran crecimiento radicular que favorece las condiciones de crecimiento de la planta y la degradación del hidrocarburo en concentraciones entre 30 y 80 mg/kg. Wiltse et al. (1998) encontraron que el rendimiento global agronómico de la alfalfa se redujo en suelo contaminado con petróleo crudo 20.000 mg por kg de suelo. Radwan et al. (1995) informó de que algunas plantas en Kuwait (Senecio glaucus) crecen bien en zonas consideradas de débil a moderadamente contaminadas (es decir, $<10\%$ en peso de los sedimentos de petróleo). Lee S., et al., (2007), evaluó la fitoremediación de fenantreno y pireno con cuatro especies nativas Koreanas (Panicum bisulcatum, Echinogalus crus-galli, Astragalus membranaceus, and Aeschynomene indica) y encontró que a pesar de reducirse la biomasa de algunas de las especies, las plantas no mostraron signos de estrés o toxicidad. Sangabriel W., et al., (2006) evaluó la tolerancia de tres especies leguminosas (Clotoria ternates, Phaseolus coccineus, Cicer arietinum) y tres gramíneas (Bacharia hibrido, Bacharia brizantha, Bacharia maximun) en suelos contaminados con hidrocarburos con concentraciones de 50.000 mg/Kg encontrando que la Phaseolus coccineus fue la única leguminosa tolerante, y la gramíneas Bacharia brizantha la especie con mayor capacidad de degradación

.Al no contar con diferencias significativas entre el crecimiento de la planta y en su apariencia, se realizó una comparación entre las concentraciones de HTP obtenidas al final del experimento.

En la gráfica 3 se observa que las menores concentraciones de HTP se encontraron en los reactores plantados con phragmites. Por lo anterior, esta especie vegetativa fue seleccionada como la más tolerante al HTP; sin embargo la typha presentó una buena adaptabilidad al HTP al igual que una remoción importante del contaminante, razón por la cual también fue seleccionada para ser usada en la segunda fase del experimento y evaluar su efecto en la remoción del HTP con respecto a la phragmites.



Gráfica 3. Concentración de HTP al final del experimento

Fuente: elaboración propia

8.2 Determinación de los porcentajes de remoción de hidrocarburos de las especies vegetativas seleccionadas.

8.2.1 Caracterización Inicial del Sedimento

La tabla 5 presenta las características físicas, químicas y biológicas iniciales del sedimento. La diferencia entre los valores de HTP, humedad, Nitrógeno, Materia Orgánica, Fosforo y Potasio, en los dos montajes, se debe a que el sedimento empleado fue el generado por la estación de servicio INTEGRAL la cual varía constantemente dependiendo de las actividades realizadas durante el día.

Tabla 5. Caracterización inicial del sedimento

Parámetros	Montaje 1	Montaje 2
Temperatura (°C)	20	21
pH (unidades)	7,4	7,2
% Humedad	24	28,6
HTP (mg/Kg)	21523	7095
% Nitrógeno	0.9	0,04
% Materia Orgánica	14,4	4,9
Fósforo (p.p.m)	2	14
Potasio (meq/100g Suelo)	0,37	0,22

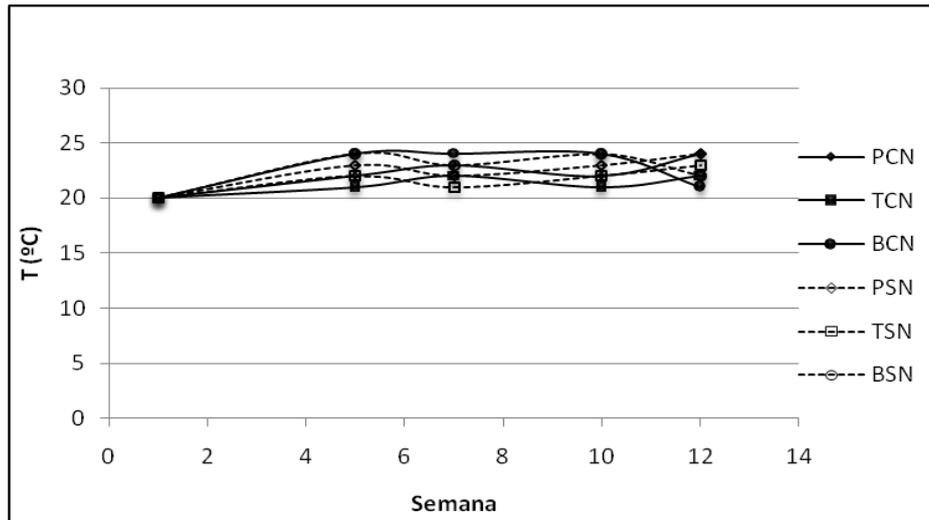
Fuente: elaboración propia

El sedimento tiene un alto contenido de arenas, lo que permite una mayor mineralización del HTP (*Carmichael and Pfaender. 1997*); sin embargo el alto contenido de materia orgánica en el montaje 1, según Otten *et al.*, (1997), conduce a una fuerte adsorción y por lo tanto a una baja disponibilidad de HTP; la humedad se encuentra entre el orden del 20 - 75 % de la capacidad de campo, permitiendo el transporte de nutrientes y oxígeno a las raíces y a los microorganismos aerobios dominantes (*Gómez, S., et al., 2008* y *Frick et al., 1999*); la Temperatura se encuentra dentro del rango óptimo 18 y 30°C, que permite la actividad enzimática y intercambio celular (*Gómez, S., et al. 2008*); y el pH entre 7,15 y 7,8, intervalo adecuado para el crecimiento de las plantas y de la bacterias heterótrofas (*Pardo J. et, al., 2005*). La presencia de Nitrógeno, Fosforo y Potasio en el sedimento se debe a la mezcla de lodos producto del lavado de los vehículos de transporte público.

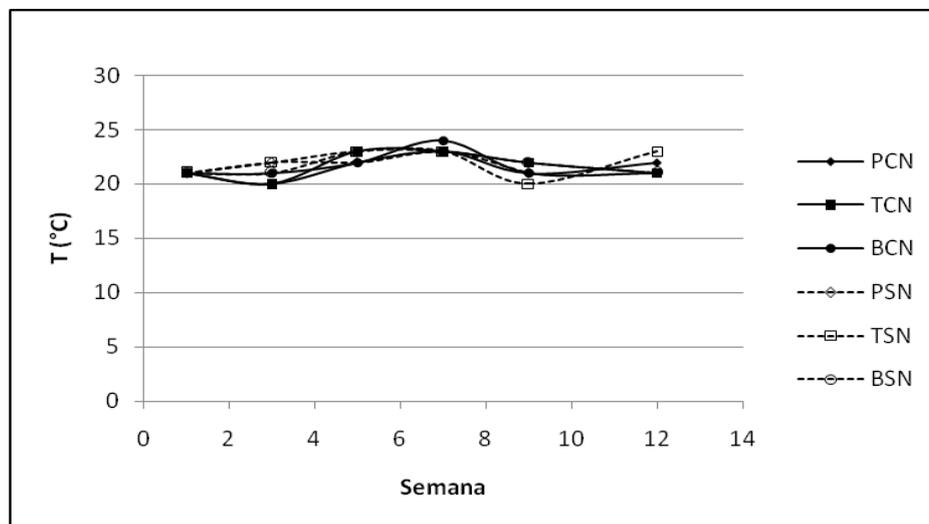
8.2.2 Comportamiento de la Temperatura en el tiempo

La temperatura afecta a las tasas a las que los diversos mecanismos de fitorremediación tienen lugar (*Frick et al., 1999*), El metabolismo de los microorganismos, la actividad enzimática y celular dependen de la temperatura, así mismo esta influye en los cambios estructurales y químicos del petróleo. (*Gómez, S., et al. 2008*; *Atlas, R. 1996.* y *Levin, M.*); Por lo anterior y teniendo en cuenta que la investigación fue in situ razón, se trato de conservar la temperatura promedio del sedimento en condiciones normales.

En los gráficos 4 y 5 se observa que la temperatura del sedimento osciló entre 20 y 25 °C a lo largo del tiempo, esto es causado por las condiciones climáticas del sitio del experimento (promedio de temperatura 22 °C, sin influencias de estaciones). Aunque la temperatura ambiental podría variar entre 18 y 30 °C dentro la jornada, no se detectaron efectos significativos en las unidades experimentales. Es de esperar entonces que este factor no tenga efecto significativo en los resultados obtenidos.



Gráfica 4. Comportamiento de la temperatura en el tiempo. Montaje 1².
Fuente: elaboración propia



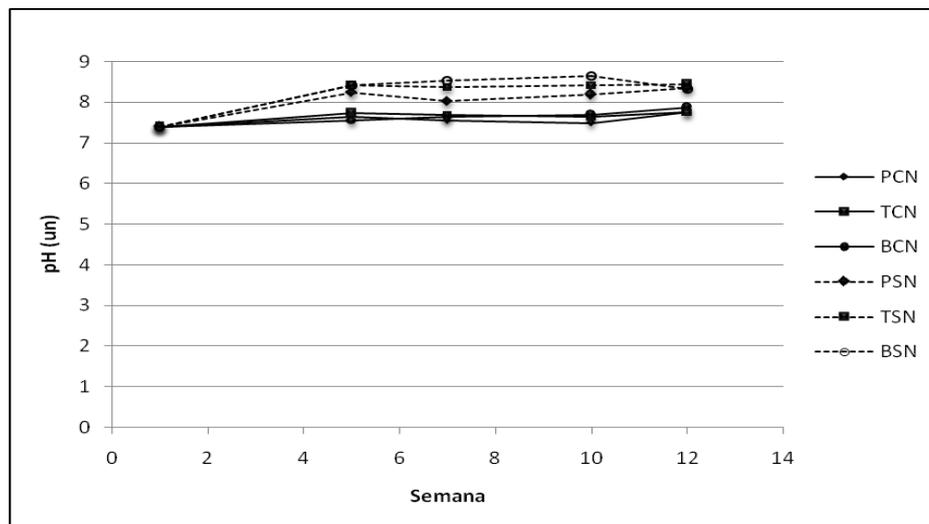
Gráfica 5. Comportamiento de la temperatura en el tiempo. Montaje 2.
Fuente: elaboración propia

8.2.3 Comportamiento del pH en el tiempo

Dependiendo del contenido de nutrientes en el suelo, el pH puede aumentar o disminuir (Hutchinson S., et al., 2003), por ejemplo en presencia de nutrientes el pH disminuye (Marn S., y Khodijah T. 2004), ya que bajo condiciones aerobias el nitrógeno amoniacal se oxida (nitrificación) con un efecto en la reducción del pH, lo que puede afectar e inhibir el crecimiento de la gran mayoría de los grupos microbianos asociados a la rizosfera, (Ritter, W., y Scarborough, 1995., Mehrasbi, M., y Haghghi, B. 2003., Vallejo, V., et al. 2005). El rango óptimo de pH para la degradación del hidrocarburo por parte de la microflora está entre 7 y 8 (Ouyang W., et al., 2005).

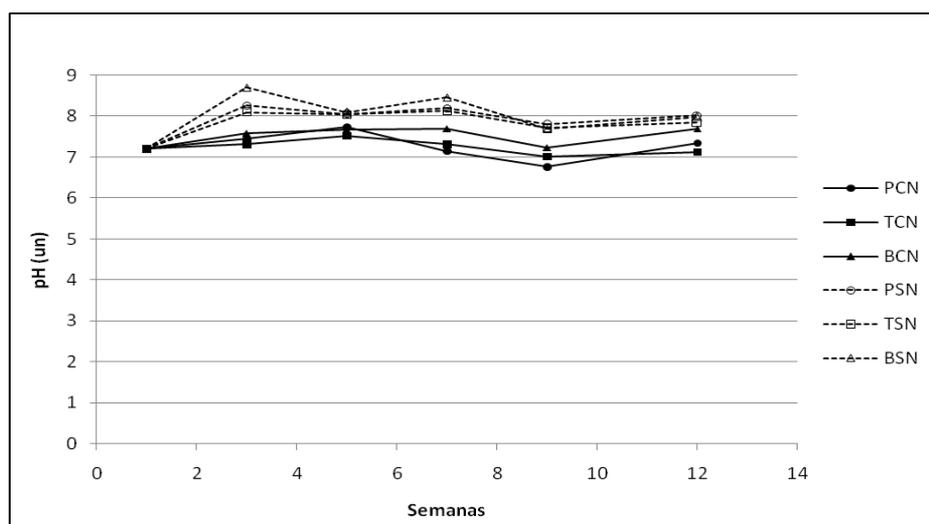
² PCN: Phragmites con nutrientes; TCN: Typhas con nutrientes; BCN: Blanco con nutrientes; PSN: Phragmites sin nutrientes; TSN: Typha sin nutrientes; BSN: Blanco sin nutrientes.

En los reactores en donde se realizó adición de Triple 15, el pH tuvo comportamiento neutro con rangos entre 6.8 y 7.6 mientras que en los demás reactores (sin adición de nutrientes) el pH aumento (Gráficas 6 y 7).



Gráfica 6. Comportamiento del pH en el tiempo. Montaje 1.

Fuente: elaboración propia



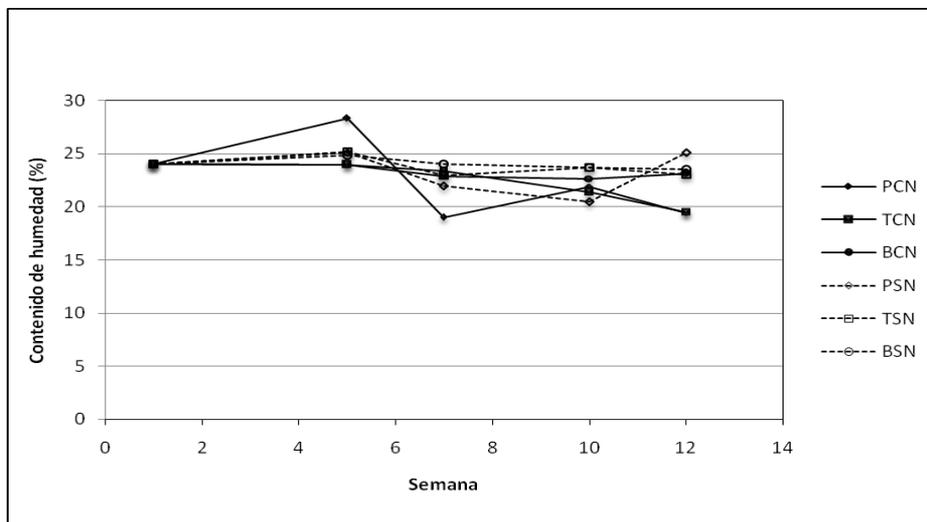
Gráfica 7. Comportamiento del pH en el tiempo. Montaje 2.

Fuente: elaboración propia

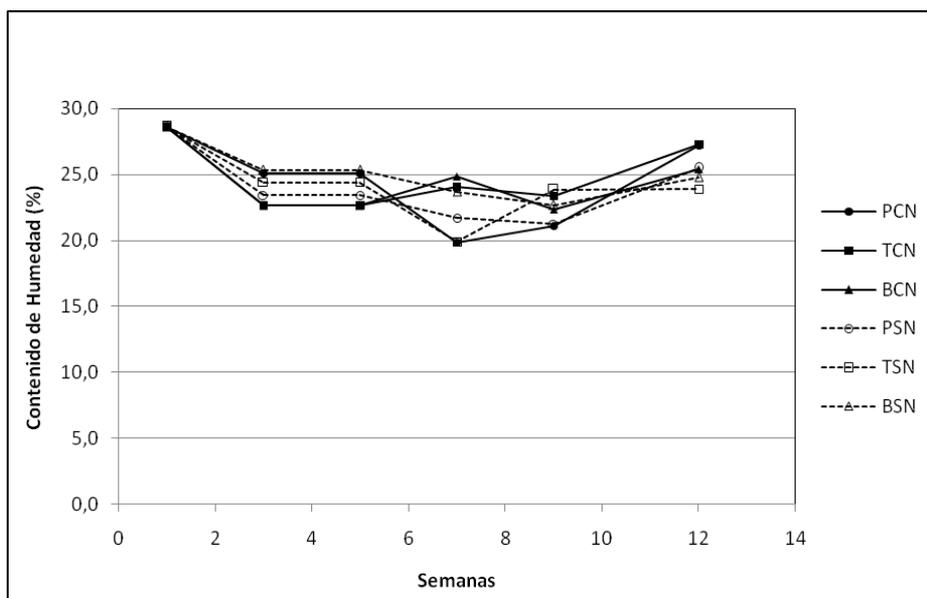
8.2.4 Comportamiento del contenido de Humedad en el tiempo

Cuando el sedimento es saturado con agua, el oxígeno se agota por que se limita su difusión y sin concentraciones adecuadas de oxígeno, los procesos metabólicos de las raíces y su crecimiento cesan ((Hutchinson S., et, al., 2003). Shengwei P. et, al., (2009). conservó la humedad del suelo en un 60% y sugiere que esta condición puede promover la degradación, mientras que Lee S., et, al., (2007), conservo el 70% de la capacidad de retención del agua, y Sangabriel W., et, al., (2006). el 63/71%, obteniendo altas eficiencias en la remoción del hidrocarburo; sin embargo Gómez, S., et al. (2008), establece la conveniencia de mantener una humedad del orden del 20 - 75 % de la

capacidad de campo³: Por tanto, se calculo el contenido de humedad del sedimento de acuerdo a la capacidad de campo del mismo (23 y 25% para los montajes 1 y 2 respectivamente) y como se encontró en el rango sugerido (20 y 75%), se procuro por mantener estas condiciones durante todo el experimento como se muestra en las graficas 8 y 9.



Gráfica 8. Comportamiento del contenido de Humedad en el tiempo. Montaje 1.
Fuente: elaboración propia



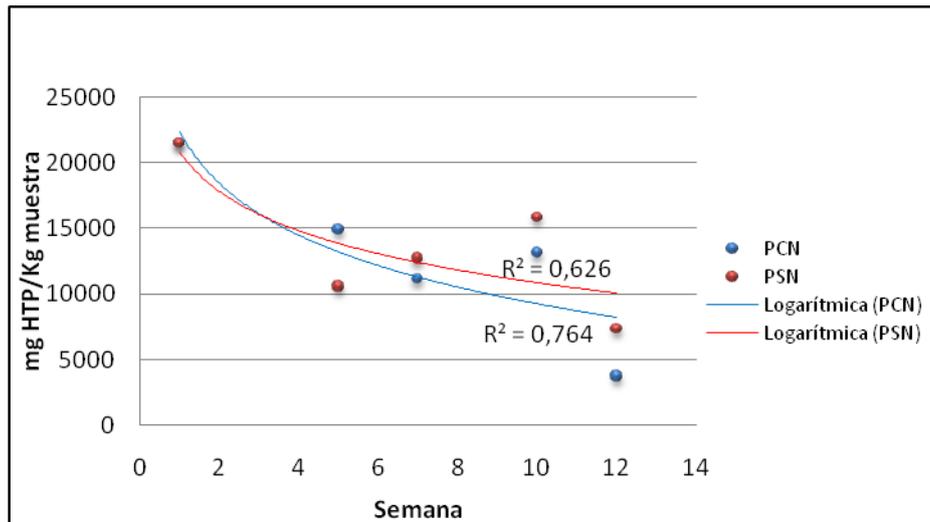
Gráfica 9. Comportamiento del contenido de Humedad en el tiempo. Montaje 2.
Fuente: elaboración propia

8.2.5 Comportamiento de los HTP en el tiempo

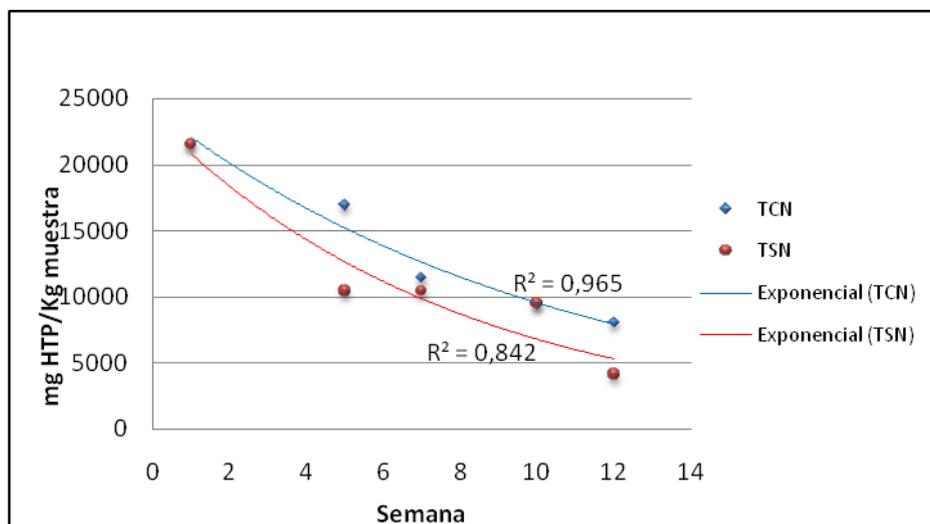
Durante el montaje 1 (gráficas 10, 11 y 12), donde la concentración inicial de hidrocarburos fue mayor, se puede apreciar que la curva se torna asintótica a partir de la quinta semana, tiempo durante el cual se obtuvieron las mayores remociones, sin embargo, los reactores plantados y sin nutrientes y los

³ Masa de agua que admite el suelo hasta la saturación

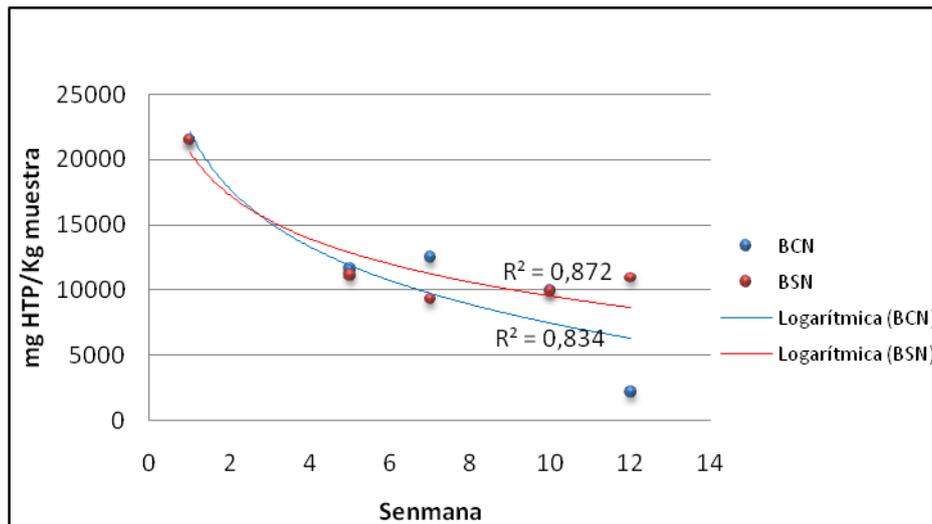
reactores no plantados (con y sin nutrientes), presentaron un comportamiento similar en las remociones alcanzadas en ese periodo de tiempo, mientras que los reactores plantados y con nutrientes tuvieron la menor remoción. Por otro lado, los reactores plantados con phragmites (gráfica 10) y los reactores no plantados (gráfica 12), tienen un comportamiento similar, una vez la curva se torna asintótica, presentando mayores remociones los reactores con adición de nutrientes, mientras que los reactores plantados con typhas (gráfica 11) presentan una mayor remoción en el reactor sin adición de nutrientes; no obstante la línea de tendencia con mayor correlación lineal ($R^2 = 0,965$) pertenece al reactor sembrado con typha y con adición de nutrientes.



Gráfica 10. Degradación de HTP. Phragmites. Montaje 1
Fuente: elaboración propia

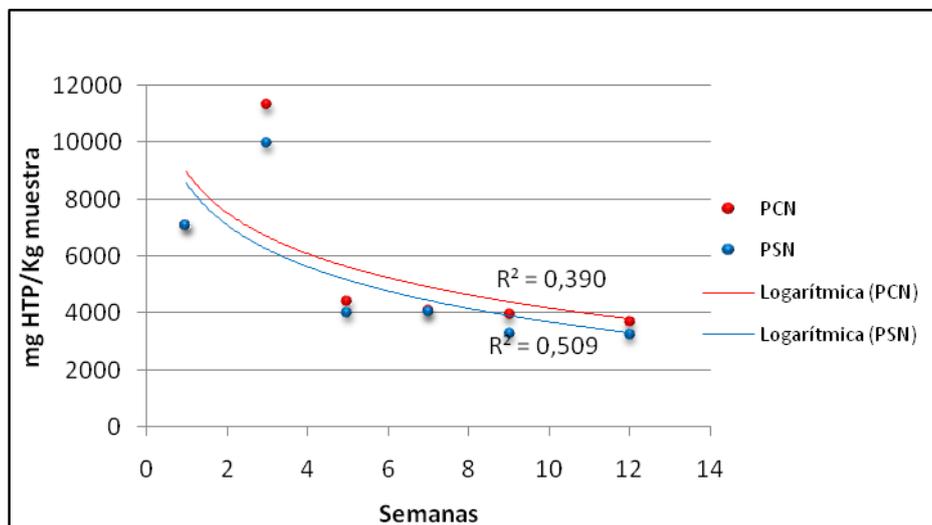


Gráfica 11. Degradación de HTP. Typha. Montaje 1
Fuente: elaboración propia

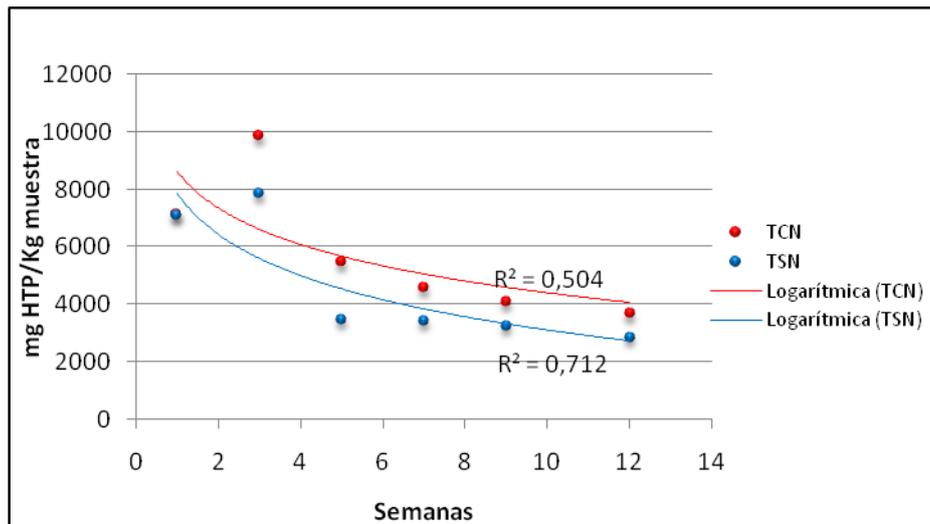


Gráfica 12. Degradación de HTP. Blanco. Montaje 1
Fuente: elaboración propia

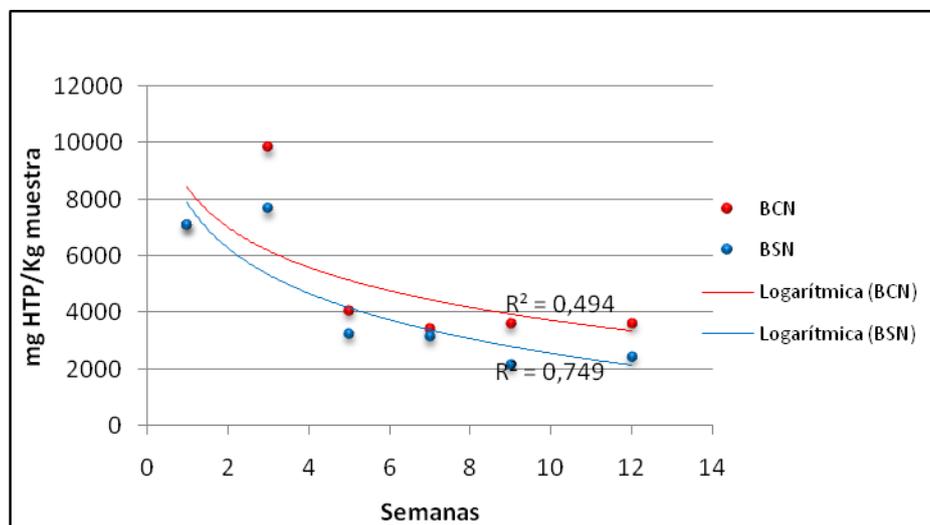
En los gráficos 13, 14 y 15, se observa el comportamiento del HTP en el tiempo del segundo montaje. La concentración inicial fue inferior a la del primer montaje; la mayor degradación se da en la semana 5, momento en el cual la curva se torna asintótica. Aunque este comportamiento es muy similar al del primer montaje, las remociones de HTP obtenidas, son muy inferiores. Los reactores plantados y no plantados, presentan un comportamiento similar mostrando una mayor tendencia a la degradación del HTP, los reactores donde no hay adición de nutrientes, sin embargo la línea de tendencia con mayor correlación lineal ($R^2 = 0,749$) la muestra el reactor no plantado sin adición de nutrientes.



Gráfica 13. Degradación de HTP. Phragmites. Montaje 2
Fuente: elaboración propia



Gráfica 14. Degradación de HTP. Typha. Montaje 2
Fuente: elaboración propia



Gráfica 15. Degradación de HTP. Blanco. Montaje 2
Fuente: elaboración propia

En todas las unidades experimentales se dio una tendencia decreciente del HTP en el tiempo; la mayor degradación se dio en la semana 5 durante el funcionamiento de los dos montajes, tiempo en que las curvas se tornan asintóticas, sin embargo existen diferencias apreciables entre las concentraciones de HTP removidas, lo que se debe a la cinética de primer orden donde la tasa de degradación está en función de la concentración inicial tiempo; a mayor concentración, mayor tasa de degradación. En la tabla 6 se presentan las remociones obtenidas durante las primeras cinco semanas, y los reactores plantados donde no se realizó la adición de nutrientes y los reactores no plantados, muestran las mayores eficiencias con remociones del HTP entre el 42 y 54%, mientras que los reactores plantados y con adición de nutrientes lograron eficiencias entre el 21 y 37%, adicionalmente, el montaje 1 presentó las mayores tasas de degradación de ese periodo de tiempo

Tabla 6. % de Remoción y Tasa de degradación del HTP.

Tratamiento	Remoción HTP (%) Montaje 1	Tasa Degradación Montaje 1 (mg/kgs*d)	Remoción HTP (%) Montaje 2	Tasa Degradación Montaje 2 (mg/kgs*d)
PCN	30,62	164,78	37,96	117,10
TCN	21,30	114,61	23,12	71,32
BCN	46,02	247,61	42,67	131,63
PSN	50,96	274,21	43,44	134,01
TSN	51,58	277,55	51,16	157,82
BSN	48,30	259,90	54,33	167,60

Fuente: Elaboración propia

Estos resultados difieren de las múltiples investigaciones realizadas por otros autores, donde comparan el efecto de las plantas en la fitorremediación hidrocarburos obteniendo mayores eficiencias en los sistemas plantados ya que sus raíces airean el suelo y estimulan la actividad microbiana mediante la generación de exudados (*Susarla S., et al., 2002*); por ejemplo, *Sangabriel et al.(2006)* concluyeron que la presencia de plantas en el suelo contaminado estimulo la proliferación de microorganismos que también fueron estimulados por la presencia del contaminante; *Phillips et al., (2006)*; sugieren que las plantas tienen un alto impacto en la degradación del HTP mediante el incremento de la población microbiana. Peng S., et al., (2009). obtuvieron una eficiencia media de la fitoremedicacion del hidrocarburo del 41.61-63.20% comparado con la atenuación natural del 19,75-37,92% en 127 días, situación que se atribuye a la metabolización de los hidrocarburos saturados por la acción conjunta de la rizosfera y los microorganismos asociados; Yu. X., et al., (2011) sugieren que la secreción de las enzimas oxidativas que producen las raíces, pueden ser el mecanismos de degradación de hidrocarburos; *Pradhan et al. (1998)* identificaron que suelos sembrados con diferentes herbaceas reducen la concentración de PAHs en más de un 50% en un periodo de seis meses; el mejoramiento de la degradación biológica en la rizosfera, lixiviación, absorción por plantas, degradación abiótica, mineralización, volatilización e irreversible adsorción han sido señalados como los mecanismos de remoción de estos contaminantes. Sin embargo Gerhardt K., et al., (2009), plantean que la fitorremediación en muchas ocasiones no es satisfactoria, primero porque las condiciones del laboratorio de los invernaderos en donde se realizan comúnmente las investigaciones, presentan características muy diferentes a las encontradas en los lugares que requieren la aplicación y lo segundo se refiere a las concentraciones del contaminante no adecuadas para las plantas.

Estos resultados también se han obtenido mediante el uso de diferentes especies vegetativas, por ejemplo: *Moreira I., et al., (2011)*, comparan la eficiencia de la fitorremediación, con la biodegradación intrínseca, después de 90 días encuentran mayor eficiencia en la fitorremediación (87%) debido a que los mecanismos de degradación de la *Rizophora mangle* son la fitovolatilización y la fitoestimulación de micrororganismos presentes en la rizosfera, estimulando la rizodegradación. *Euliss K. et al., (2008)*, evaluaron sobre el suelo (zona riparia) la fitorremediación del hidrocarburo encontrando menores

concentraciones residuales en los reactores plantados (reducciones del 70%) en comparación a los no plantados (reducción del 20%), los resultados muestran que no existe diferencia significativa entre los microorganismos degradadores de hidrocarburos en los reactores plantados y sin plantar, sin embargo las mayores poblaciones se encontraron en la rizosfera y el área circundante; *Günter et al. (1996)* atribuyeron las remociones de HTP del 97%, al mayor número de microorganismos activos presentes en los suelos plantados en comparación con suelos no plantados. De otra parte *Reilley et al. (1996)* concluyen que la presencia de pastos y leguminosas mejoran la remoción de PAHs con un 30-40% más degradación en comparación con suelos no plantados; incluso *Hutchinson S., et al., (2003)*, obtuvieron diferencias significativas en la remoción de hidrocarburos de las unidades plantadas en periodos de tiempo mayores (24 meses).

Debido a que no se pudieron obtener concentraciones iguales al inicio de los dos montajes, se hizo necesario calcular la constante de degradación (K) para determinar el orden de la misma y con base es este resultado evaluar, estadísticamente las eficiencias obtenidas con cada tratamiento. Todos los reactores mostraron un orden de reacción 1 (Figura 2 y 3) con poca diferencia entre cada tratamiento, como se muestra en la tabla 7, no obstante la mayor correlación lineal en el montaje 1 lo obtuvo el tratamiento TCN ($R^2 = 0,934$), y en el montaje 2 el tratamiento BSN ($R^2 = 0,791$).

Tabla 7. Valor de la constante de reacción (K)

TRATAMIENTOS	Montaje 1	Montaje 2
	K	K
PCN	-0,014	-0,013
TCN	-0,010	-0,013
BCN	-0,019	-0,013
PSN	-0,007	-0,015
TSN	-0,014	-0,014
BSN	-0,007	-0,019

Fuente: elaboración propia

PCN: phragmites con nutrientes, TCN: typha con nutrientes, BCN: blanco con nutrientes, PSN: phragmites sin nutrientes, TSn: typha sin nutrientes, BSN: blanco sin nutrientes

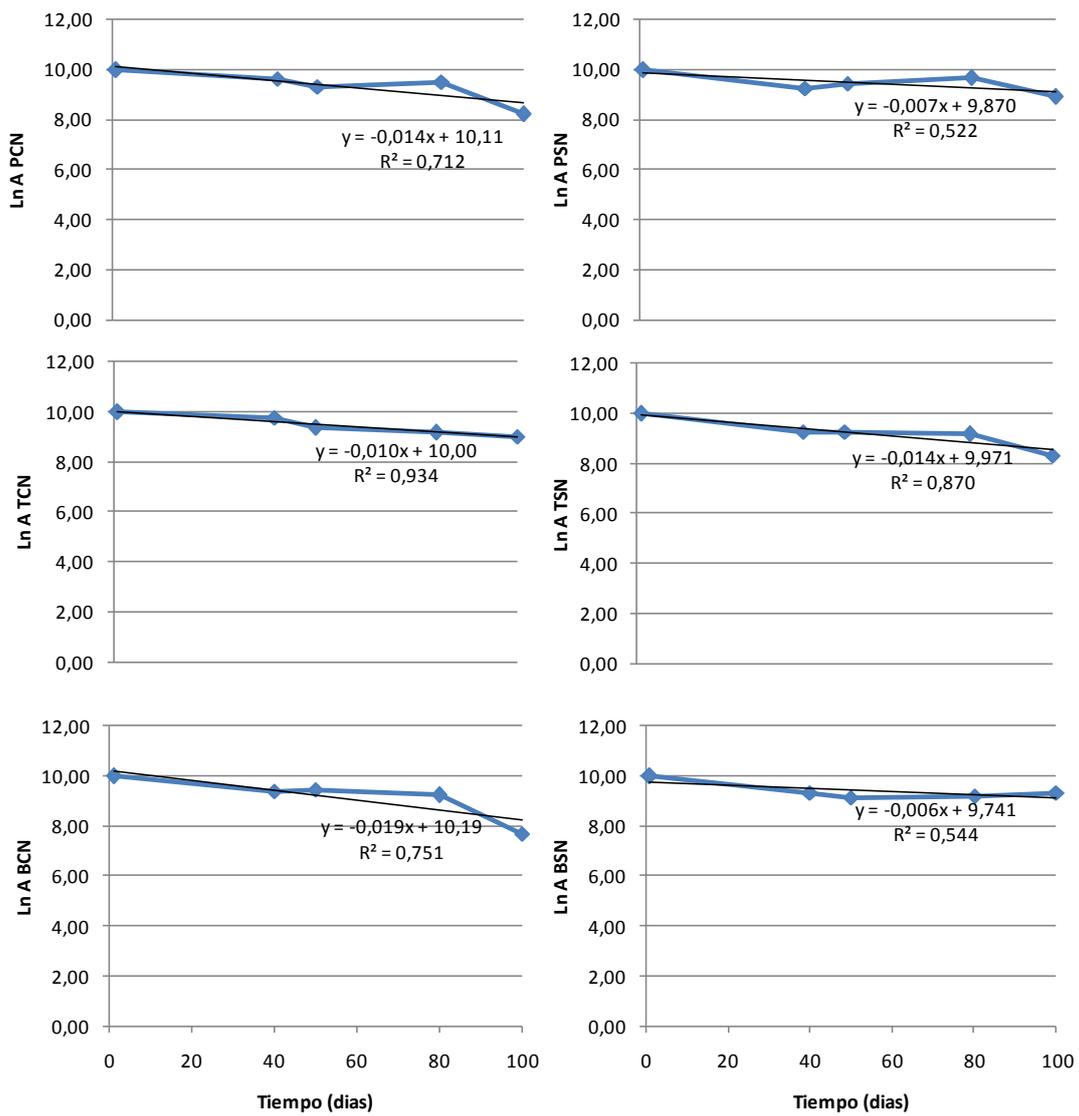


Figura 2. Cinética de Reacción. Orden 1. Montaje 1
 Fuente. Elaboración propia

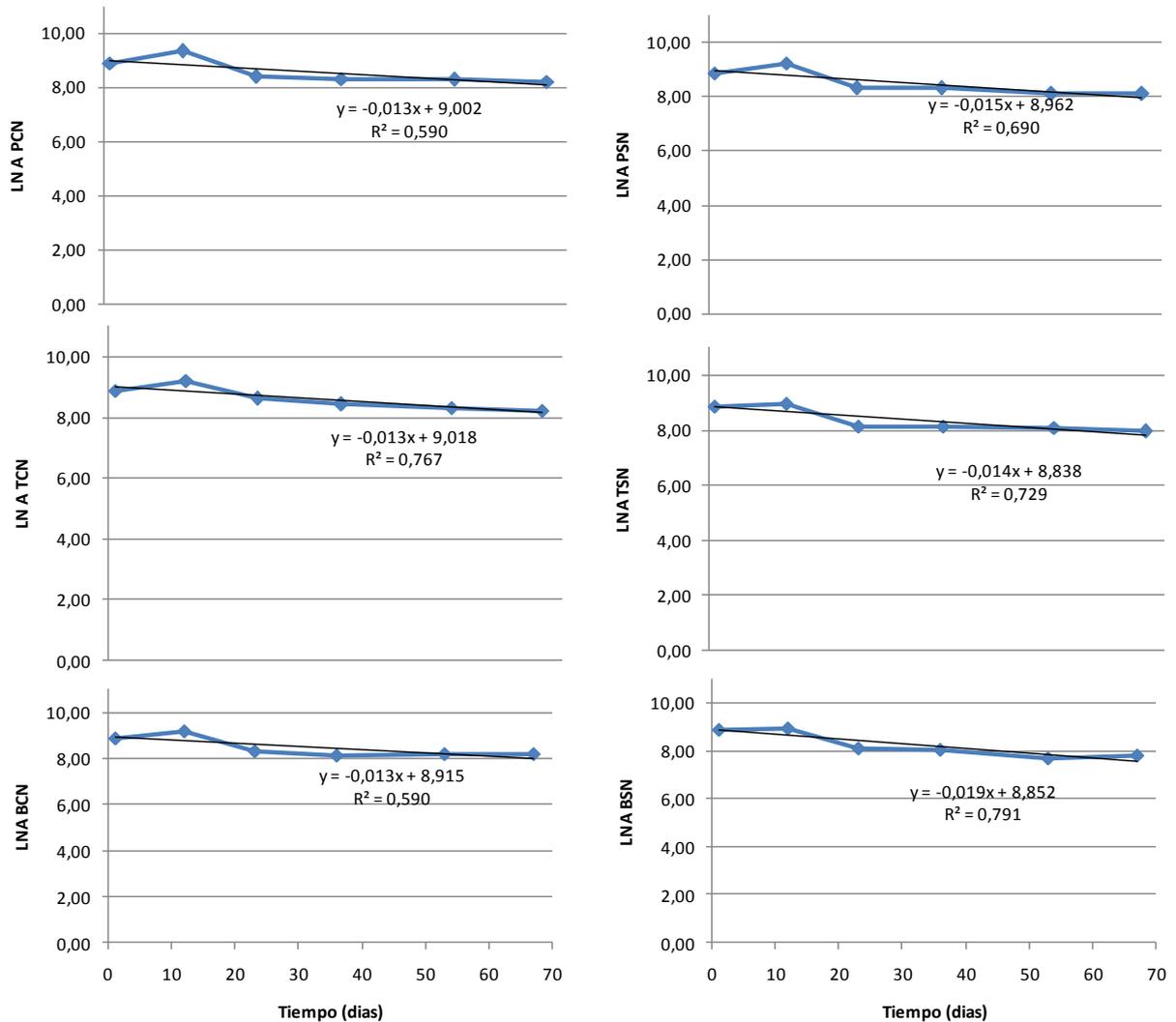


Figura 3. Cinética de Reacción. Orden 1. Montaje 1
Fuente. Elaboración propia

8.3 Valoración del efecto de la aplicación de nutrientes en la fitorremediación de hidrocarburos

La adición de hidrocarburos al suelo aumenta la cantidad de carbono disponible en el medio para la actividad metabólica de los microorganismos, quienes agotan o limitan la disponibilidad del Nitrógeno y el Fósforo creando deficiencias de nutrientes en el suelo contaminado (Frick, et al., 1999), si esto ocurre en lugares donde la concentración de nutrientes inorgánicos como N y P es baja, produce una relaciones C/N y C/P muy altas lo cual es desfavorable para el crecimiento microbiano (Castro J., et al., 2002).

La adición de nutrientes en las UE de T15 ocasiona un incremento en la cantidad de microorganismos heterótrofos, lo que esto demuestra que la abundancia de fuentes de carbono presentes en el sustrato al contaminar el suelo con hidrocarburo, puede intensificar la actividad microbiana, pero las

bajas concentraciones de nutrientes retrasan los procesos de biodegradación de dichos contaminantes.

En la tabla 8 se muestran las características iniciales del sedimento, las características de los reactores a los cuales se adiciono triple 15 manteniendo una relación 100:10:1 (*Hutchinson S., et al., 2003*) y las condiciones finales de todos los reactores. El alto contenido de materia orgánica en la fase inicial, se debe a la presencia de HTP en el sedimento; el fertilizante empleado (triple 15) se realizo un aporte al sedimento de Nitrógeno, Fosforo y Potasio, lo que puede ser observado en los resultados obtenidos en la semana 2, donde los valores son mayores a los iniciales, sin embargo el contenido de Nitrógeno es bajo lo que pudo presentarse por un proceso de denitrificación. Por otro lado, la disminución de la materia orgánica en el tiempo evidencia el proceso de rizodegradación (*Eweis et al., 1998*); y el incremento del fosforo puede ser efecto de los procesos de mineralización microbiana, liberando un exceso de nutrientes en forma orgánica (*Castro J., et al., 2002*)

Tabla 8. Valores de nutrientes al inicio y final. Montaje 1.

PARÁMETRO	Condiciones iniciales	PCN	TCN	BCN	PCN	TCN	BCN	PSN	TSN	BSN
		Semana 2			Semana 12					
% Nitrógeno	0,9	0,09	0,13	0,07	0.30	0.26	0.08	0.20	0.13	0.13
% Materia Orgánica	14,4	6,5	11,4	6,5	9.2	3.6	2.4	6.6	4.3	3.3
Fosforo (p.p.m)	2	10	86	15	2	10	12	21	11	3
Potasio (meq/100g suelo)	0,37	1,61	2,71	2,06	0.82	0.99	0.39	0.43	0.28	0.40

Fuente: Laboratorio de análisis de suelo, Universidad Tecnológica de Pereira.

En la tabla 9, se muestran las características del sedimento del segundo montaje, el contenido de materia orgánica inicial es inferior que el primer montaje, lo que obedece a una menor concentración de HTP, sin embargo estos valores aumentan con el tiempo lo que puede estar incidiendo en la remoción del HTP ya que un alto contenido de carbón orgánico (>5%) puede afectar la biodisponibilidad del contaminante (*Otten et al., 1997 y Hutchinson, et al., 2003*), lo que también se ve reflejado en el remanente de Nitrógeno; por otro lado, el Fosforo se redujo significativamente, lo que pudo ocurrir por la absorción de las plantas para su crecimiento o por lixiviación.

Tabla 9. Valores de nutrientes al inicio y final. Montaje 2.

PARÁMETRO	Condiciones iniciales	PCN	TCN	BCN	PCN	TCN	BCN	PSN	TSN	BSN
		Semana 2			Semana 12					
% Nitrógeno	0.04	0,13	0,18	0,24	0,32	0,33	0,28	0,53	0,23	0,24
% Materia Orgánica	4.9	7,9	7,8	5,6	11,62	12,59	11,81	11,37	8,35	9,07
Fosforo (p.p.m)	14	25	32	24	0,38	0,37	0,23	0,28	0,18	0,25
Potasio (meq/100g suelo)	0.22	0,26	0,27	0,27	2,06	2,52	1,76	1,68	1,64	1,75

Fuente: Laboratorio de análisis de suelo, Universidad Tecnológica de Pereira.

9. ANALISIS ESTADISTICOS

Los datos de temperatura y pH fueron sometidos a un análisis descriptivo (anexo 1) y a una prueba de normalidad. Estos dos parámetros presentan una distribución normal (figuras 4 y 5) ya que los datos observados se sitúan sobre la recta esperada bajo el supuesto de normalidad, adicionalmente presentan diferencias significativas estadísticamente, en cada uno de los reactores, durante los dos montajes (tabla 10).

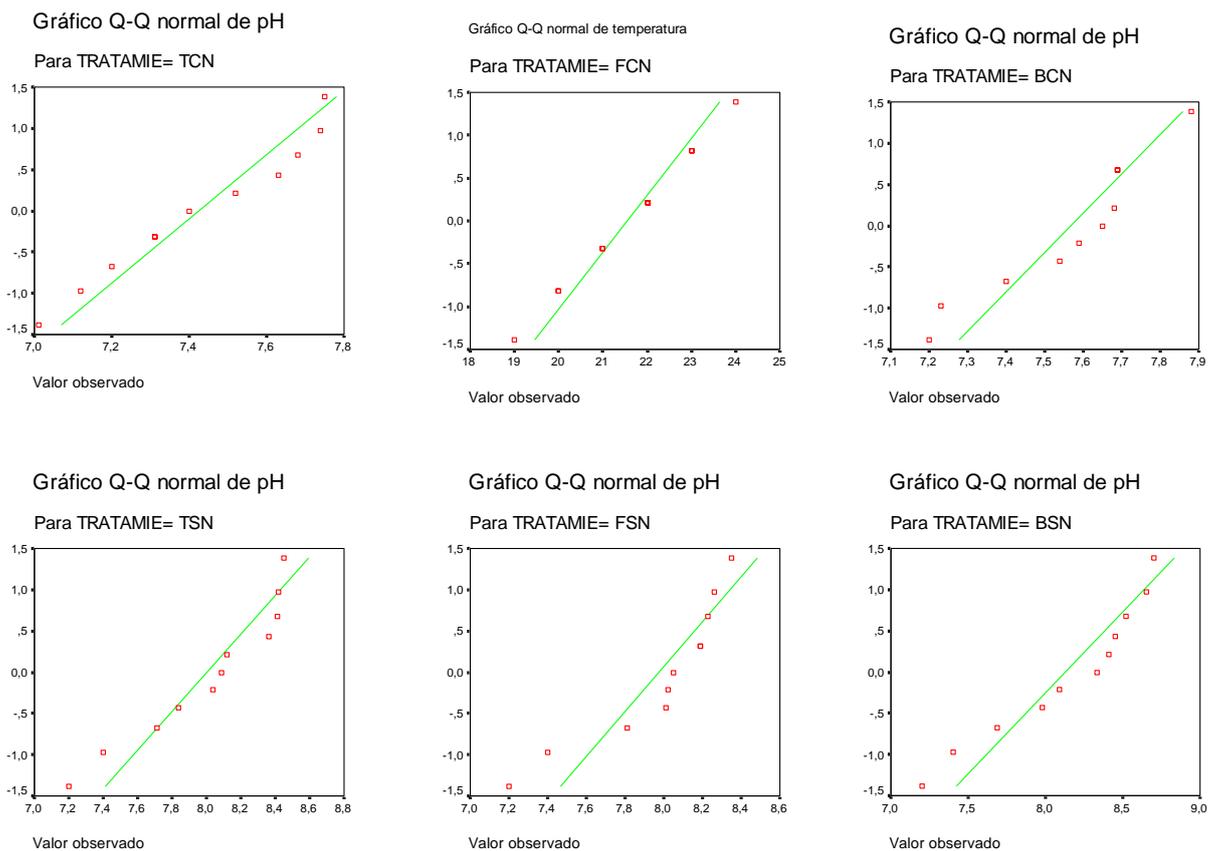


Figura 4. Q-Q normal del pH en los diferentes reactores.

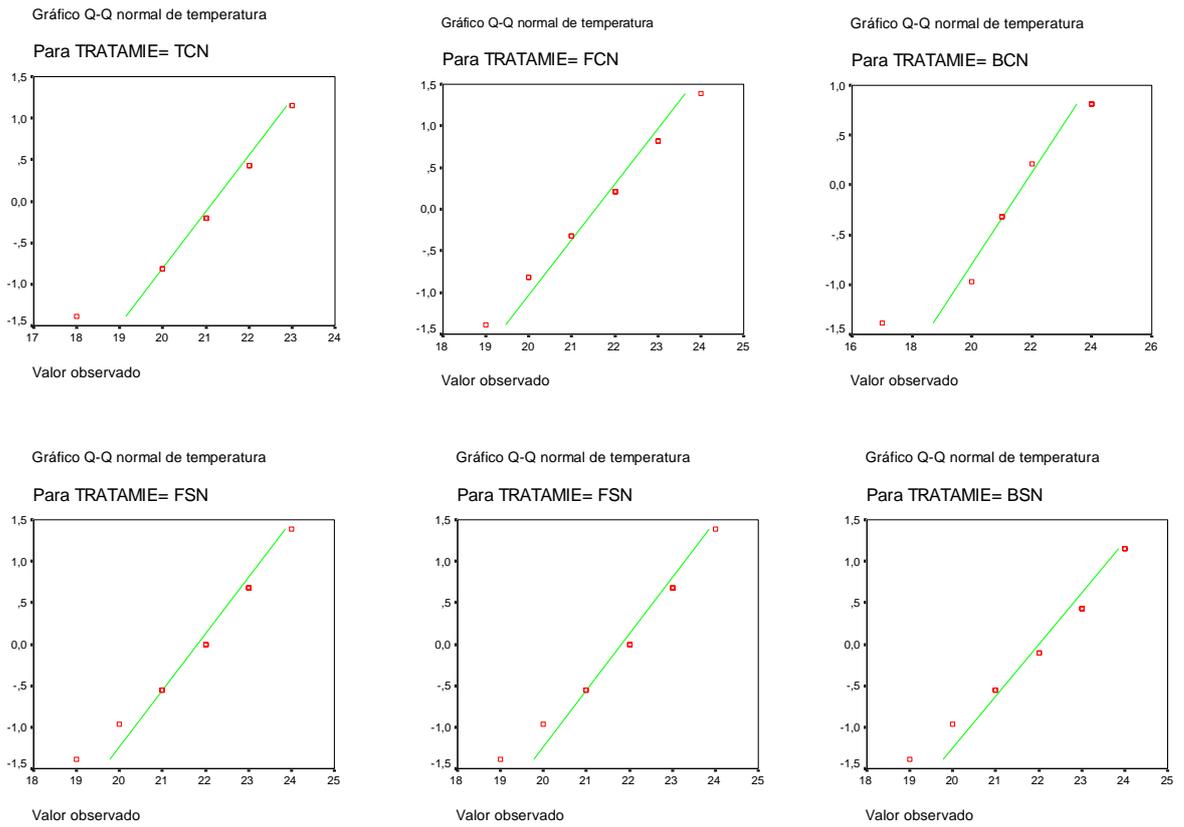


Figura 5. Q-Q normal de la temperatura en los diferentes reactores.

Los datos de la constante de degradación según Shapiro-Willk (pruebas de normalidad con tamaños inferiores a 50 muestras) no tienen una distribución normal (Tabla 10),

Tabla 10. Pruebas de normalidad^b

TRATAMIE		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Constante degradación	PCN	,353	11	,000	,649	11	,000
	TCN	,353	11	,000	,649	11	,000
	BCN	,353	11	,000	,649	11	,000
	PSN	,353	11	,000	,649	11	,000
	BSN	,353	11	,000	,649	11	,000
pH	PCN	,141	11	,200*	,932	11	,436
	TCN	,151	11	,200*	,938	11	,492
	BCN	,199	11	,200*	,892	11	,145
	PSN	,267	11	,028	,837	11	,029
	TSN	,170	11	,200*	,900	11	,185
	BSN	,199	11	,200*	,908	11	,231
Temperatura	PCN	,164	11	,200*	,966	11	,844
	TCN	,178	11	,200*	,919	11	,312
	BCN	,213	11	,173	,856	11	,052
	PSN	,186	11	,200*	,950	11	,641
	TSN	,200	11	,200*	,909	11	,237
	BSN	,187	11	,200*	,937	11	,480

*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de la significación de Lilliefors.

b. Constante de degradación es una constante cuando TRATAMIE = TSN y se ha desestimado

Al no contar con una distribución normal de los datos de la constante de degradación, se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, la cual permitió verificar la homogeneidad de varianza.

Según el contraste de Levene (tabla 11), en el cual se plantea que la H_0 de la varianza es igual para la Constante K en todos los tratamientos donde $\alpha < 0,05$, se acepta la H_0 de medianas y se establece que no existe homogeneidad de varianza ya que los resultados obtenidos muestran para un nivel de confianza del 95% una significancia $\alpha = 0,062$. En pocas palabras, no existe diferencia significativa estadísticamente entre los tratamientos evaluados.

Tabla 11. Estadísticos de contraste^{a,b}

	Constante degradación
Chi-cuadrado	10,500
gl	5
Sig. asintót	,062

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación TRATAMIE

Por lo tanto, al no existir normalidad ni homogeneidad de varianza en los datos de la constante de degradación (k), no puede realizarse el análisis de varianza (ANOVA), ya que son requisitos para su aplicación.

Sin embargo como la ruta para encontrar la prueba de Kruska-Wallis es la misma de la ANOVA, se presentan los resultados obtenidos en la tabla 12. Según la ANOVA si existen diferencias significativas estadísticamente entre los tratamientos, lo que contradice el anterior análisis, realizado a partir de los métodos de análisis para pruebas no paramétricas.

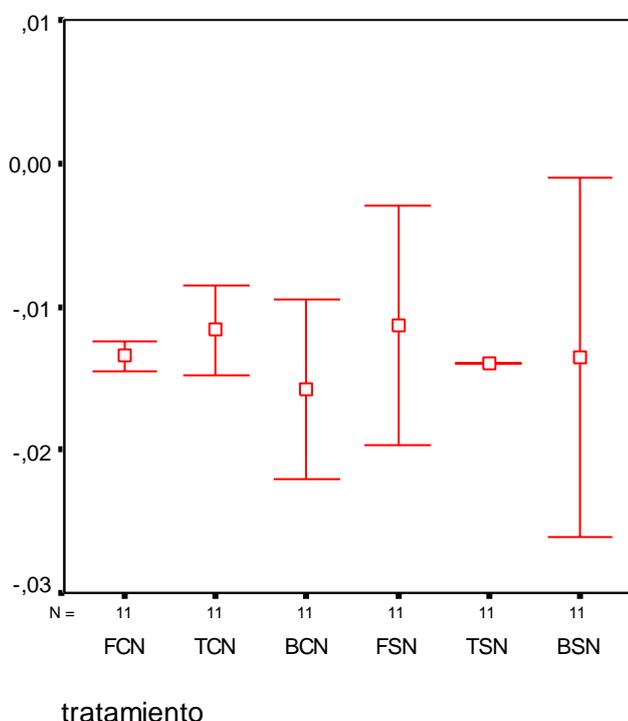
Tabla 12. Análisis de varianza. Variable dependiente: constante de degradación

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación	Eta al cuadrado parcial
Modelo corregido	,000 ^a	5	2,86E-05	2,474	,042	,171
Intercept	,012	1	,012	1009,356	,000	,944
TRATAMIE	,000	5	2,86E-05	2,474	,042	,171
Error	,001	60	1,16E-05			
Total	,012	66				
Total corregida	,001	65				

a. $R^2 = ,171$ (R^2 corregida = ,102)

La prueba de el post hoc de Scheffé indican que no existen diferencias significativas entre los tratamientos lo que corrobora la H_0 de varianzas, no existe diferencias significativas estadísticamente entre los tratamientos empleados para la remoción de HTP.

La gráfica 17 de medias de los tratamientos representa la poca variación de los datos, es decir ratifica la H_0 , no existen diferencias significativas estadísticamente entre los tratamientos



Gráfica 16. Distribución de medias Vs tratamiento

10. CONCLUSIONES

La especie vegetativa *Pragmites* presenta mayor tolerancia a los HTP presentes en sedimentos provenientes de estaciones de servicio.

Al contrastar las eficiencias obtenidas en los blancos (42 y 46%) y los reactores plantados (43 y 52%), se puede concluir que la presencia de plantas no incide de manera significativa en la remoción de HTP.

La mayor degradación del HTP presente en los sedimentos de la estación de servicio INTEGRRA se da en la quinta semana con tasas de degradación entre 71 y 277 mg/kg*día alcanzando eficiencias hasta del 50%.

La tasa de degradación de los HTP está en función de la concentración inicial del contaminante.

La densidad de plantas utilizada pudo incidir en la baja degradación del HTP.

No existen diferencias significativas estadísticamente entre el uso de plantas y la aplicación de nutrientes en la fitorremediación de sedimentos provenientes de estaciones de servicio contaminados con HTP.

11. RECOMENDACIONES

Es necesario realizar un número mayor pruebas a esta escala (la del estudio), que permita establecer rangos con los que se puedan definir tasas de remoción del HT, ya que las condiciones iniciales del sedimento siempre van a variar.

Para conocer al detalle el proceso de la rizodegradación, es necesario acompañar los estudios de degradación de HTP con análisis de suelo (nutrientes) y microbiológicos que ayudará establecer la tasa de degradación.

Se deben establecer rangos de densidad de plantas por unidad de área, teniendo en cuenta las características específicas del sedimento.

En ausencia de criterios normativos (concentración de HTP) para la disposición de sedimentos, se recomienda realizar estudios de toxicidad (sedimentos estabilizados) y de acuerdo a los resultados, proponer ante el MADS, una disposición final diferente a las del RESPEL.

Aunque en el presente estudio no se encontraron diferencias significativas estadísticamente entre los tratamientos planteados, el uso de plantas genera un impacto positivo en el paisaje de las estaciones de servicio, sin embargo es necesario contar con estructuras de drenaje, recolección y recirculación producto del lavado del sedimento durante los periodos de lluvia.

Al sector de las estaciones de servicio, se les recomienda disponer de los sedimentos en lechos de secado y asegurar su permanencia por un periodo de tiempo de 5 semanas, en las cuales se da la mayor reducción del HTP, previa a la disposición final como RESPEL, lo que se podrá ver reflejado en el costo de la disposición final, al hacer entrega de un sedimento con menor capacidad toxica.

12. BIBLIOGRAFÍA

Al-Mutairi N.; Bufarsan A. and Al-Rukaibi F. (2008). Ecorisk evaluation and treatability potential of soils contaminated with petroleum hydrocarbon-based fuels. ELSEVIER. Civil Engineering Department, Kuwait University.

Atlas, R. 1996. Bioestimulación para la biorrecuperación microbiana. En: Biotratamiento de residuos tóxicos y peligrosos. España, Mc Graw Hill. Pp 15 – 21.

A. Wießner, P. Kusch, M. Kästner, and U. Stottmeister. (2002). Abilities of Helophyte Species to Release Oxygen into Rhizospheres with Varying Redox Conditions in Laboratory-Scale Hydroponic Systems. International Journal of Phytoremediation: Vol. 4, No. 1, pp. 1–15.

Balba A.; Awadhi A.; Daher A. (1998). Bioremediation of oil-contaminated soil: microbiological methods for feasibility assessment and field evaluation. Journal of Microbiological Methods. 32:155-164.

Benavides J.; Quintero G.; Guevara A.; Jaimes D.; Gutiérrez S. y García J. (2006). Bioremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. NOVA - PUBLICACIÓN CIENTÍFICA ISSN: 1794-2470 VOL.4 No. 5.

Boeve L. (1989). Removing petroleum products from soils with ozone, ultraviolet, ultrasonics, and ultrapure water. Chapter 23. Petroleum Contaminated Soils. E. J. Calabrese and P. T. Kosteki. Lewis Publishers: Chelsea. Vol. 2. 279-282.

Braibant C. (2004). Estudio del potencial de degradación de los hidrocarburos por *Acinetobacter* sp. y *Pseudomonas putida* para su aplicación en la biorremediación de suelos contaminados. Escuela de Biología del Instituto Tecnológico de Costa Rica. Ingeniería en Biotecnología. Informe práctica de especialidad.

Burland S.; Edwards E. (1998). Anaerobic benzene biodegradation linked to nitrate reduction. Applied and Environmental Microbiology. Estados Unidos. 65(2):592-533.

Carmichael, L. M. and Pfaender, F. K. (1997). Polynuclear aromatic hydrocarbon metabolism in soils: relationship to soil characteristics and preexposure. Environmental Toxicology and Chemistry. 16 (4): 666-675.

Castro J., Perdomo M., Benavides J. (2004). Efecto de la adición de fertilizantes inorgánicos compuestos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con petróleo. NOVA - PUBLICACIÓN CIENTÍFICA ISSN:1794-2370 VOL.2 No. 2 ENERO- DICIEMBRE DE 2004:1-108

Comisión Nacional del Medio Ambiente – Region Metropolitana. (1999). Guía para la prevención y control de la contaminación industrial. Santiago de Chile.

Corporación Autónoma Regional de Risaralda (2005). Por la cual se adopta el protocolo para la construcción de pozos de monitoreo de actividades potencialmente peligrosas. Resolución No. 377: 2.

Corporación Autónoma Regional de Risaralda y Universidad Tecnológica de Pereira (2007). Mejoramiento de la gestión ambiental de las Estaciones de Servicio de Risaralda. Pereira: 20.07.

Cunningham S.; Anderson T.; Schwab A.; and Hsu F. (1996). Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Advances in Agronomy*. 56: 55-114.

Cunningham S.; Berti W.; and Huang J. (1995). Phytoremediation of contaminated soils. *TIBTECH*. 13: 393-397.

Deyta A. and Saval S. (1998). Biodegradación de hidrocarburos monoaromáticos volátiles (BTX) a nivel microcosmos en suelos contaminados con gasolina. *Memorias del XXVI Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental*. Lima, Perú: 9.

Eweis J.; Ergas S.; Chang D.; and Schroeder E. (1998). *Bioremediation Principles*. McGraw-Hill, Book Company Europe.

Euliss k., Ho C., Schwab A., Rock S., Banks B. (2007). Greenhouse and field assessment of phytoremediation for petroleum contaminants in a riparian zone. *ELSEVIER. Bioresource Technology* 99 (2008) 1961-1971.

Frick C.; Farrell R.; and Germida J. (1999) *Assessment of Phytoremediation as an In-Situ Technique for Cleaning Oil-Contaminated Sites Prepared*. By: Department of Soil Science University of Saskatchewan Saskatoon, SK Canada S7N 5A8.

Gómez, S., Gutiérrez, D., Hernández, A., Hernández, C., Losada, M., y Mantilla, P. (2008). Factores Bióticos y Abióticos que Condicionan la Biorremediación por *Pseudomonas* en Suelos Contaminados por Hidrocarburos. *Bacteriología y Laboratorio Clínico de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca*. Bogota. Colombia.

Günter T.; Dornberger V.; and Fritsche W. (1996). Effects of ryegrass on biodegradation of hydrocarbons in soil. *Chemosphere*. Vol. 33: 203-215.

Hutchinson, S. L., Schwad, A. P., and Banks, M. K. (3003). Biodegradation of petroleum hydrocarbons in the rhizosphere. *Phytoremediation: Transformation and control of contaminant*, Edited by Steven C. McCutcheon and Jerald L. Schnoor. ISBN 0-471-39435-1 (cloth). Copyright ©2003 John Wiley & Sons, Inc.

Kvesitadze G., Gordeziani M., Khatisashvili G. Sadunishvili y Ramsden J. (2001). Some aspects of the enzymatic basic of phytoremediation. *J. Biol. Phys. Chem.* 1, 49-57.

Kostecki P.; Morrison R.; Dragun J. (2004). *HYDROCARBONS*. *Encyclopedia of Soils in the Environment*. Elsevier. 217-226.

Leahy J G y Colwell R R (1990). Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiol. Rev* 54, 305-315.

Lee H.; Lee J.; Cheon J.; Lee K. (2001). Attenuation of Petroleum Hydrocarbons in Smear Zones: A Case Study. *Journal of Environmental Engineering*. 2001;127(7): 639-647.

Levin, M. y Gealt, M. 1997. *Biotratamiento de residuos tóxicos y peligrosos*. Tercera Edición. Editorial Mc Graw Hill. Madrid. España. Pp 643 – 651

Malot J. (1989). Cleanup of a gasoline contaminated site using vacuum extraction technology. Chapter 24. *Petroleum Contaminated Soils*. E. J. Calabrese and P. T. Kostecki. Lewis Publishers: Chelsea. Vol.2. 283-301.

MAVDT (1996). Ley 253. Por el cual se clasifican los residuos componentes de los hidrocarburos como Residuos Peligrosos.

MAVDT (1998). Decreto 1521. Por el cual se reglamentan en aspectos técnicos y ambientales las estaciones de servicio del país.

MAVDT (2005). Decreto 4741 por el cual se establece la elaboración e implementación de los planes de Contingencia para los generadores de residuos peligrosos.

MAVDT (2005). Política Ambiental para la Gestión Integral de los Residuos o Desechos Peligrosos. Dirección de Desarrollo Sostenible: 122.

MAVDT., (1974). Decreto 1594. Por el cual se reglamenta parcialmente el Título I de la Ley 9 de 1979, así como el Capítulo II del Título VI -Parte III- Libro II y el Título III de la Parte III -Libro I- del Decreto - Ley 2811 de 1974 en cuanto a usos del agua y residuos líquidos

MAVDT., (2010). Decreto 3930. Por el cual se reglamenta parcialmente el Título I de la Ley 9ª de 1979, así como el Capítulo II del Título VI -Parte III- Libro II del Decreto-ley 2811 de 1974 en cuanto a usos del agua y residuos líquidos y se dictan otras disposiciones.

MAVDT., (2005). Guia de Manejo Ambiental para estaciones de Servicio.

MAVDT., (2005). Resolución 1023. Por la cual se adopta la Guía Ambientales como instrumento de autogestión y autorregulación.

Ministerio de Minas y energía. (1998). Decreto 1521. por el cual se reglamenta el almacenamiento, manejo, transporte y distribución de combustibles líquidos derivados del petróleo, para estaciones de servicio.

Marn S, Khodijah T. Bioremediation of coastal areas 5 years after the Nakhodika oil spill in the Sea of Japan; isolation and characterization of hydrocarbon-degrading bacteria. *Environ Int* 2004;7:911-22.

Mehrasbi, M., y Haghghi, B. 2003. "Biodegradation of Petroleum Hydrocarbons in Soil." *Iranian Journal of Public Health* Vol. 32: 28-32

McIntyre T.; and Lewis G. (1997). The advancement of phytoremediation as an innovative environmental technology for stabilization, remediation, or restoration of contaminated sites in Canada: a discussion paper. *Journal of Soil Contamination*. 6 (3): 227-241.

M.J. Ayotamuno a, R.N. Okparanma a, E.K. Nweneke a, S.O.T. Ogaji b,* , S.D. Probert. Bio-remediation of a sludge containing hydrocarbons. see front matter _ 2007 Elsevier Ltd. All rights reserved. doi:10.1016/j.apenergy.2007.02.007

Moreira I., Oliveira O., Triguís J., Dos Santos A., Queiroz A., Martins C., Silva C., Jesus R., (2011). Phytoremediation using *Rizophora mangle* L. in mangrove sediments contaminated by persistent total petroleum hydrocarbons (TPH's). *ELSEVIER. Microchemical Journal* 99 (2011) 376–382.

Olson J.; Mills G.; Herbert B.; Morris P. (1999). Biodegradation rates of separated diesel components. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18(11):2448-2453.

Otten, A., Alphenaar, A., Pijls, C., Spuij, F. and de Wit, H. (1997). In Situ Soil Remediation. Kluwer Academic Publishers: Boston

Ouyang W, Liu H, Murygina V, Yu Y, Ziu Z, Kalyguzhnyi. Comparison of bio-augmentation and composting of oily-sludge: a field-scale study in China. J Process Biochem 2005;40:3761-8.

Pardo, J., Perdomo M., y Benavides J. (2004). Efecto de la adición de fertilizantes inorgánicos compuestos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con petróleo. NOVA - Publicación Científica ISSN:1794-2370 Vol.2 No. 2 enero-diciembre de 2004:1-108

Pérez J., García G.: y Esparza F. (2002). Papel ecológico de la flora rizosférica en fitorremediación. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav. Avance y Perspectiva vol. 21: 279-300.

Phillips L.; Greerb C.; Germida G. (2006). Culture-based and culture-independent assessment of the impact of mixed and single plant treatments on rhizosphere microbial communities in hydrocarbon contaminated flare-pit soil. Soil Biology & Biochemistry 38 (2006) 2823–2833.

Pierzynski G.; Sims J.; and Vance G. (1994). Soils and Environmental Quality. 2 ed. Lewis Publishers. Florida, Estados Unidos. 377 p.

Pivetz B. (2001). Phytoremediation of Contaminated Soil and Ground Water at Hazardous Waste Sites. Groundwater issue. EPA/540/S-01/500.

Pothulurl J.; Cerniglia C. (1998). Current aspects on polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation processes. En Bioremediation: Principles and Practice. Volumen I: Fundamentals and Applications. Editado por Sikdar, S. e Irvine, R.. Technomic Publication. Pennsylvania, Estados Unidos. p. 461-520.

Pradhan P., Conrad J.; Paterek J.; and Sriastava V. (1998). Potential of phytoremediation for treatment of PAHs in soils at MGP sites. Journal of Soil Contamination. 7 (4): 467-480.

Prince R.; VARadaraj R.; Fiocco R.; Lessard R. (1999). Bioremediation as an oil spill response tool. Environmental Technology. 20:891-896.

Radwan, S., Sorkhoh, N. and El-Nemr, I. 1995. Oil biodegradation around roots. Nature. 376: 302.

Reilley K.; Banks M.; and Schwab A. (1996). "Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere." Journal of Environmental Quality Vol. 25(2): 212-219.

Rittman B. (1994). In situ bioremediation. 2 ed. Noyes Publication. New Jersey, Estados Unidos. 255 p.

Ritter, W., y Scarborough, 1995. A review of bioremediation of contaminated soil and groundwater. Journal Environmental Science Health. 30(2):333-347

- Sangabriel W.; Ferrera R.; Trejos A.; Mensoza M.; Cruz J.; Alarcón A. (2006). Tolerancia y capacidad de fitorremediación de combustóleo en el suelo por seis especies vegetales. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. Universidad Nacional Autónoma de México. 22 (2): 63-73.
- Sang-Hwan L.; Won-Seok L.; Chang-Ho L.; and Jeong-Gyu K. (2008). Degradation of phenanthrene and pyrene in rhizosphere of grasses and legumes. *Journal of Hazardous Materials* 153 (2008) 892 -898.
- Peng S, Zhou Q., Cai Z., Zhang Z. (2009). Phytoremediation of petroleum contaminated soils by *Mirabilis Jalapa* L. in a greenhouse plot experiment. *ELSEVIER. Journal hazardous material*. 168 (2009) 1490–1496.
- Schnoor J.; Licht L.; McCutcheon, S.; Wolfe N.; and Carreira L. (1995). Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. *Environmental Science and Technology*. 29 (7): 318-323.
- Speidel H.; Lightner R.; Ahmed I. (2000). Biodegradability of new engineered fuels compared to conventional petroleum fuels and alternative fuels in current use. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2000 Spring; 84-86:879-97.
- Susarla S.; Medina V.; and McCutcheon S. (2002). Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination. *Ecological Engineering* 18 (2002) 647 – 658.
- Sutherland J. (1992). Detoxification of polycyclic aromatic hydrocarbons by fungi. *Journal of Industrial Microbiology*. 9: 53-62.
- Suescún R., Montenegro S., y Pardo R. (2001). *Petróleo, Vulnerabilidad de la Economía Colombiana y Políticas de Estabilización*. Universidad de Los Andes.
- U.S. Environmental Protection Agency. (1999). *Bioremediation Resource Guide*. EPA 542-B-99-003.
- United States Department of Health and Human Services (1999). *Toxicological Profile for Total Petroleum Hydrocarbons (TPH)*. Division of Toxicology, Agency for Toxic Substances and Disease Registry: 9-38.
- United States Environmental Protection Agency (2001). *A Citizen's Guide to Phytoremediation*. Washington, DC: 56.
- U.S. Department of Health and Human Services. (1999). *Toxicological Profile for Total Petroleum Hydrocarbons*. Public Health Service. Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- Wiltse, C. C., Rooney, W. L., Chen, Z., Schwab, A. P. and Banks, M. K. 1998. Greenhouse evaluation of agronomic and crude oil-phytoremediation potential among alfalfa genotypes. *Journal of Environmental Quality*. 27: 169-173.
- Vallejo, V., Salgado, L., y Roldán, F. 2005. Evaluación de la Bioestimulación en la Biodegradación de TPHs en Suelos Contaminados con Petróleo. *Rev. Col. Biotec.*, 2 (2): 67-78.

Vasallo, J., y Herrera, D. 2002. Seminario de hidrocarburos. Escuela Superior de Salud y Ambiente. Universidad Nacional del Comahue. Neuquén. Argentina.

Karen E. Gerhardt, Xiao-Dong Huang, Bernard R. Glick, Bruce M. Greenberg (2009) Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: Potential and challenges. ELSEVIER. Plant Science 176 (2009) 20-30.