



**EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE UN HUMEDAL ARTIFICIAL Y UN
TRATAMIENTO BIOLÓGICO MIXTO, EMPLEANDO *Pleurotus ostreatus* Y
Trametes versicolor PARA MEJORAR LA CALIDAD DE LAS AGUAS
HIDROCARBURADAS DE LA ESTACIÓN DE SERVICIO BIOMAX COLINA
EN BOGOTÁ**

Danna Fernanda Fernández Calderón

Universidad El Bosque

Facultad de Ingeniería

Programa Ingeniería Ambiental

Bogotá, mayo de 2019

Evaluación de la eficiencia de un humedal artificial y un tratamiento biológico mixto, empleando *Pleurotus Ostreatus* y *Trametes Versicolor* para mejorar la calidad de las aguas hidrocarburadas de la estación de servicio Biomax Colina en Bogotá

Danna Fernanda Fernández Calderón

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:

Ingeniero Ambiental

Director (a):

Carel Carvajal Arias

Línea de Investigación:

Salud Ambiental e Ingeniería para la salud y desarrollo biológico

Universidad El Bosque

Facultad de Ingeniería

Programa Ingeniería Ambiental

Bogotá, Colombia

2019

Acta de sustentación



Vigilada Mineducación

SUSTENTACIÓN DE TRABAJO DE GRADO

ACTA No: 1057

El día **15 MAYO 2019**, en las instalaciones de la Universidad El Bosque, se desarrolló la sustentación del trabajo de grado titulado **EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE UN HUMEDAL ARTIFICIAL Y UN TRATAMIENTO BIOLÓGICO MIXTO, EMPLEANDO Pleurotus ostreatus Y Trametes versicolor PARA MEJORAR LA CALIDAD DE LAS AGUAS HIDROCARBURADAS DE LA ESTACIÓN DE SERVICIO BIOMAX COLINA EN BOGOTÁ**, escrito por **DANNA FERNANDA FERNANDEZ CALDERÓN**, CÉDULA **1030664714**, bajo la dirección de **CAREL ELIZABETH CARVAJAL ARIAS**, CÉDULA **1032411403**, como requisito parcial para optar por el título de Ingeniero Ambiental. El trabajo fue evaluado por los jurados **WILMAR ALIRIO BOTELLO SUAREZ CÉDULA 8.803.185** y **OSCAR EDUARDO RODRIGUEZ AGUIRRE CÉDULA 19473917**, quienes deliberaron y concluyeron que cumple con los criterios de calidad.

Por lo tanto, el trabajo es: **Aprobado**.

En constancia, se firma en Bogotá, D.C. **15 MAYO 2019**


KENNETH OCHOA VARGAS
Director
Programa de Ingeniería Ambiental


GERMÁN AGUDELO
Secretario Académico
Facultad de Ingeniería



Nota de Salvedad de Responsabilidad Institucional

La Universidad El Bosque, no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velara por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia.

(Dedicatoria)

A mis padres, por su apoyo incondicional, por enseñarme que con esfuerzo y dedicación las metas se pueden cumplir, siempre creyendo en mí.

Agradecimientos

Agradezco a la empresa Biomax S.A y GNE Soluciones S.A.S por permitirme desarrollar el proyecto con ellos, siempre buscando propuestas eficientes para contribuir a la mejora de la operación de la empresa.

A los docentes que a lo largo del camino me enseñaron los conocimientos suficientes para poderlos aplicar en el desarrollo del proyecto.

Tabla de contenido

Resumen	1
Abstract	1
Introducción	2
Planteamiento del problema	3
Hipótesis	3
Justificación	3
Objetivos	4
Objetivo General	4
Objetivos Específicos	4
Marco de referencia	5
Estado de arte	5
Humedales artificiales	5
Hongos de podredumbre blanca	6
Marco teórico-conceptual	8
Marco normativo	12
Marco geográfico	14
Marco institucional	16
Metodología	18
1.1 Enfoque	18
1.2 Alcance	18
1.3 Método	18
1.4 Técnicas e instrumentos	18
Resultados, análisis y discusión	27
Humedal artificial	27
Hongos de podredumbre blanca	29
Humedal artificial	31
Hongos de podredumbre blanca	33
Costos para humedal artificial	42
Costos hongos de podredumbre blanca	44
Conclusiones	47

Recomendaciones.....	48
Referencias Bibliográficas	49
Anexos.....	56
Glosario de términos	57

Listado de Tablas

Tabla 1. Instrumentos legales.....	12
Tabla 2. Marco institucional.....	16
Tabla 3. Variables ecológicas y económicas del proyecto.....	20
Tabla 4. Términos de las variables económicas.....	20
Tabla 5. Matriz de objetivos.....	24
Tabla 6. Estudios de eficiencia en la degradación de contaminantes empleando humedales artificiales	27
Tabla 7. Estudios de degradación de contaminantes industriales empleando <i>P. ostreatus</i> y <i>T. versicolor</i>	29
Tabla 8. Resultados obtenidos de la remoción del humedal artificial.....	31
Tabla 9. Valores obtenidos en la medición de DBO.....	33
Tabla 10. Valores obtenidos en la medición de DQO.....	34
Tabla 11. Valores obtenidos en la medición de pH.....	36
Tabla 12. Valores obtenidos en la medición de turbidez.....	37
Tabla 13. Resultados obtenidos en comparación con la Resolución 631 de 2015.....	41
Tabla 14. Costos del sistema de tratamiento (trampa de grasa).....	42
Tabla 15. Inversión inicial para la construcción del humedal artificial.....	43
Tabla 16. Costos de mantenimiento del sistema de fitorremediación.....	43
Tabla 17. Proyección de flujos de ahorros.....	44
Tabla 18. Inversión inicial para el tratamiento mixto de hongos.....	45
Tabla 19. Proyección de flujos de ahorros.....	45

Listado de Figuras

Figura 1. (A) <i>Trametes versicolor</i> (B) <i>Pleurotus ostreatus</i>	11
Figura 2. Humedal subsuperficial de flujo vertical	12
Figura 3. Localización estación de servicio Biomax Colina.....	16
Figura 4. Tratamiento sin esterilizar inicio del ensayo	22
Figura 5. Tratamiento estéril al inicio del ensayo	23
Figura 6. Humedal artificial de la EDS Biomax Colina.....	33
Figura 7. Gráfica de las concentraciones obtenidas de DBO.....	34
Figura 8. Gráfica de las concentraciones obtenidas de DQO.....	35
Figura 9. Gráfica de los resultados obtenidos de pH.....	36
Figura 10. Gráfica de los resultados obtenidos para turbidez	38
Figura 11. Tratamiento estéril al finalizar ensayo.....	39
Figura 12. Tratamiento sin esterilizar al finalizar ensayo	39
Figura 13. Hongos al finalizar ensayo (a) Tratamiento estéril (b) Tratamiento sin esterilizar	40

Resumen

En este estudio se realizó la evaluación de la eficiencia de dos tipos de tecnologías, una de ellas, un humedal artificial de flujo subsuperficial vertical instalado en la estación de servicio (EDS) Biomax Colina en Bogotá y, por otra parte, un tratamiento biológico mixto empleando *Pleurotus ostreatus* y *Trametes versicolor* para tratar el efluente de este establecimiento. Para determinar la eficiencia de estos métodos biológicos se midieron unos parámetros físicos y químicos. En cuanto al humedal, se lograron eficiencias para la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) de 99%, en la demanda química de oxígeno (DQO) 91,6%, en los sólidos suspendidos totales (SST) un 86,1% y un cambio de pH de 6,21 a 7,06, lo que demuestra, en parte, la capacidad de las plantas para disminuir las cargas orgánicas de la muestra. En el tratamiento de hongos se realizaron dos ensayos, uno estéril y otro sin esterilizar con 3 repeticiones cada uno. En este caso, sólo se obtuvo remoción de 83,33% de DBO y 6,77% de DQO para una réplica. Lo que pudo indicar que la concentración del contaminante era demasiado elevada o coexistían otros materiales tóxicos que no permitieron la degradación por parte de estos microorganismos. Por último, se compararon los datos obtenidos con la Resolución 631 de 2015 para verificar si estos sistemas pueden ser empleados como tratamiento de las aguas residuales de la EDS y poder verterlas al alcantarillado, evidenciando que el humedal artificial es el método que cumple con los límites planteados por la normatividad.

Palabras clave: Biorremediación, humedal artificial, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor*, efluente de estación de servicio

Abstract

In this study the evaluation of the efficiency of the types of technologies was carried out, one of them, an artificial wetland of vertical subsurface flow, in petrol station Biomax Colina in Bogotá and, on the other hand, a mixed biological treatment using *Pleurotus ostreatus* and *Trametes versicolor* to treat the effluent of this establishment. To determine the efficiency of these biological methods. As for the wetland, results were achieved in the biochemical oxygen demand (BOD) of 99%, in chemical oxygen demand (COD) 91.6%, in total suspended solids (TSS) by 86.1% and a pH change from 6.21 to 7.06, which demonstrates, in part, the ability of plants to lower the organic loads in the sample. In the treatment of fungi, two tests are performed; one is the same and the other without sterilization with three repetitions each. In this case, only a removal of 83.33% of BOD and 6.77% of COD was obtained for a replication. What could indicate the concentration of the pollutant was too high or other toxic materials coexisted that did not allow degradation by these microorganisms. Finally, the data is compared with resolution 631 of 2015 to verify if these systems can be used as the treatment of the waters of the EDS and to be able to discharge them to the sewage system, evidencing the wetland is the method that complies with the limits proposed by the normativity.

Keywords: Bioremediation, artificial wetland, *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor*, wastewater hydrocarbons

Introducción

El constante ingreso de sustancias químicas derivadas del petróleo al ambiente, no solo ha mejorado el nivel de vida del hombre, sino también ha generado una acumulación de estos compuestos en el agua, suelo o aire, que actualmente, se constituye en una problemática ambiental que afecta a la salud humana y al ecosistema. Los vertimientos de combustibles en las actividades de comercialización, principalmente de las estaciones de servicio (EDS) no reciben un adecuado tratamiento cuando son expuestos al suelo o al agua (con las especificaciones técnicas necesarias), por lo tanto, son dispuestos de forma no idónea. Lo anterior conduce a problemas de contaminación por escurrimiento de aguas que posteriormente, se dirigen al alcantarillado en zonas urbanas, y al suelo o quebradas en zonas rurales (Cubillos, 2011). Del mismo modo, en los casos de eventuales derrames de combustibles, generalmente estos son lavados y el agua producto de esta limpieza finalmente llega a las fuentes hídricas naturales.

La preocupación por la eliminación de estos compuestos ha llevado a la investigación de varias técnicas, entre las cuales se destaca la biorremediación que se ha establecido para el tratamiento de suelo y aguas subterráneas contaminadas con diferentes residuos industriales, resaltando la facilidad que tiene de remediar in situ como ex situ. Se ha demostrado en las diferentes experiencias que cuando se adapta correctamente a las condiciones del medio a intervenir, la biorremediación puede ofrecer disminución significativa de costes y beneficios ambientales en comparación con otras tecnologías. Sin embargo, a pesar de que la biorremediación es a menudo considerada como un método económico efectivo y eficiente para el ambiente, enfrenta un nuevo reto: convencer a las compañías y a los organismos oficiales de su alto potencial, por lo que se ha venido convirtiendo en una verdadera alternativa para sanear el ambiente de las afectaciones generadas por las actividades humanas (Garzón, Rodríguez y Hernández, 2017).

Dentro de la biorremediación, se encuentran los tratamientos biológicos como alternativa para tratar efluentes residuales de diferentes industrias mediante consorcios microbianos autóctonos. Éstos aprovechan las potencialidades metabólicas de distintos grupos de microorganismos para remover una amplia variedad de compuestos (Díaz et al, 2017). Adicionalmente, las técnicas de bioestimulación y bioaumentación contribuyen a fortalecer las capacidades de estos procesos de biodegradación. Otro método es la fitorremediación, que se caracteriza por ser una práctica de limpieza pasiva y estéticamente agradable que se puede realizar por medio de los humedales artificiales, los cuales, se benefician de la capacidad de las plantas y la energía solar para el tratamiento de una gran variedad de contaminantes del medio ambiente (Arias et al, 2010).

En base a lo anterior, la presente investigación fue desarrollada para tratar los efluentes de estación de servicio Biomax Colina, con el objetivo de evaluar la eficiencia de un humedal artificial y un tratamiento biológico mixto, empleando *Pleurotus ostreatus* y *Trametes versicolor* para mejorar la calidad de las aguas de esta EDS en Bogotá.

Planteamiento del problema

Las actividades industriales generan una contaminación a gran escala por compuestos derivados del petróleo en el medio ambiente. Lo anterior conduce a problemas por escurrimiento de aguas que se dirigen al alcantarillado en zonas urbanas, y al suelo o quebradas en zonas rurales (Coello, 2011). Del mismo modo, en los casos de eventuales derrames de combustibles, generalmente estos son lavados y el agua producto de esta limpieza, finalmente llega a las fuentes hídricas afectando los acuíferos y aguas superficiales, que comprometen seriamente la calidad y el uso de este recurso (Laverde y Salazar, 2017).

Los vertimientos de combustibles en las actividades de comercialización, principalmente de las estaciones de servicio (EDS) no reciben un adecuado tratamiento cuando son expuestos al suelo o al agua (con las especificaciones técnicas necesarias), por lo tanto, son dispuestos de forma no idónea (Cubillos, 2011). Algunos de los tratamientos utilizados para los efluentes de estación de servicio son trampas de grasa, burbujeo de aire, inyección de aire, bioventeo y métodos con carbón activado. Estos residuos industriales podrían ser tratados mediante procesos biológicos, de fácil instalación y seguimiento, pero lamentablemente hay un escaso conocimiento en el uso de estas tecnologías como alternativa de tratamiento en algunas EDS (Romero, 2013).

Por otra parte, dentro de las actividades de descargue, almacenamiento y distribución de combustibles en las estaciones de servicio BIOMAX, se generan volúmenes de gasolina provenientes de malas prácticas operacionales o derrames (Bogoya, 2018). Además de contar con un tratamiento primario (trampas de grasas), en la EDS Colina se implementó un humedal artificial como alternativa para tratar las aguas industriales, pero este no cuenta aún con una evaluación que permita determinar su nivel de eficiencia.

Hipótesis

Los tratamientos biológicos, en este caso un humedal artificial y hongos de podredumbre blanca, permitirán una degradación alta y disminución de los parámetros de DQO, DBO, turbidez y pH.

Justificación

En los últimos años se ha incrementado el interés en el uso de biotecnologías destinadas a recuperar la calidad de ambientes contaminados con petróleo o sus derivados. Por esto, se presentan como un conjunto de tecnologías con potencial para contribuir al desarrollo sostenible, en el ámbito de la solución a problemas asociados a la calidad del recurso (Petit et al. 2013). Dentro del campo de la ingeniería ambiental, se encuentra la biorremediación, entendida como la aplicación de microorganismos, hongos, plantas o enzimas derivadas de ellos para la restauración del ambiente. Además de lo anterior, es una alternativa atractiva y prometedora en comparación a las tradicionales técnicas físicas y químicas para el tratamiento de efluentes industriales (Garzón, Rodríguez y Hernández, 2017).

Desde un enfoque biopsicosocial, la biorremediación es centro del debate sobre las posibilidades que ofrece como tecnología para mejorar la condición del ambiente. Defensores de la biotecnología, argumentan que estas son más apropiadas para resolver cuestiones críticas que afectan al mundo en desarrollo, dado que prospectivamente la modernización en la aplicación de estas alternativas para el tratamiento, puede llevar consigo la corrección de las condiciones de pobreza, mejor sanidad y una mejor calidad de vida de los ciudadanos de los países en desarrollo (Garzón, Rodríguez y Hernández, 2017).

Incluso, la biorremediación se puede hacer en el lugar, lo cual permite que la actividad industrial pueda continuar mientras el proceso de remediación se está aplicando. Además, suele tener costos más bajos, provoca una menor intrusión en el sitio contaminado y, en consecuencia, un daño ecológico menos significativo en el proceso de destrucción de los productos contaminantes (Garzón, Rodríguez y Hernández, 2017).

Por las razones anteriores, esta investigación se basa en mejorar la calidad del agua que es vertida, a partir de sistemas biológicos que reducen las grasas, aceites y parámetros asociados como DBO, DQO, pH y turbidez resultantes de las actividades realizadas en las estaciones de servicio, que llegan al sistema de alcantarillado y afectan las fuentes de agua naturales, esto en pro de contribuir con la sostenibilidad de los ecosistemas y promover altos estándares de responsabilidad ambiental (Bogoya, 2018).

También se realiza con el fin de evaluar la eficiencia de dos tipos de tecnologías, una de ellas, un humedal artificial de flujo subsuperficial vertical instalado en la estación de servicio Biomax Colina en Bogotá y, por otra parte, un tratamiento biológico mixto empleando *Pleurotus ostreatus* y *Trametes versicolor*, ambos permiten la reducción de parámetros físicos y químicos presentes en el agua, mejorando la calidad del recurso y reduciendo los olores molestos a los habitantes del sector. Además, ayuda al cumplimiento de los parámetros límites establecidos en el artículo 16 de la resolución 0631 de 2015 para el vertimiento al alcantarillado. Por otra parte, la necesidad de remediar estos medios ha llevado al desarrollo de nuevas tecnologías que hacen hincapié en la desintoxicación y la disminución de compuestos contaminantes, en lugar del enfoque convencional de disposición. Lo que puede llevar a generar nuevos conocimientos e interés en la comunidad académica en investigar las alternativas biológicas para tratar los efluentes de estaciones de servicio.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar la eficiencia de un humedal artificial y un tratamiento biológico mixto, empleando *Pleurotus ostreatus* y *Trametes versicolor* para mejorar la calidad del efluente de estación de servicio Biomax Colina en Bogotá.

Objetivos Específicos

- Describir la funcionalidad y eficiencia teórica de los tratamientos bajo estudio.

- Determinar la eficiencia de los tratamientos biológicos evidenciada en los parámetros físicos y químicos en el efluente de estación de servicio.
- Analizar los parámetros evaluados al final de cada tratamiento en relación con la Resolución 0631 de 2015 para verificar cumplimiento legal.

Marco de referencia

Estado de arte

A lo largo de los años, se han planteado alternativas biológicas para el uso y degradación de diferentes tipos de residuos industriales, entre ellas, la fitorremediación y los hongos de podredumbre blanca. Los Humedales artificiales, se han utilizado para tratar derivados del petróleo y desde hace poco tiempo ha llamado la atención para el manejo de efluentes de estaciones de servicio. En cuanto a los hongos, los antecedentes en esta matriz han sido poco investigados, aunque se resalta su aplicabilidad en suelos contaminados con hidrocarburos.

Humedales artificiales

En Ecuador, Borz et al. (2018) diseñaron un prototipo de humedal artificial para evaluar la eficiencia de las gramíneas en la remoción de las cargas contaminantes orgánica e inorgánica presentes en el río Ramiyacu, a través de procesos físicos y químicos primarios, como la sedimentación, degradación microbiana, absorción y volatilización. Se sembraron los pastos *Echinochloa Polystachya* (pasto alemán), *Pennisetum Purpureum* (pasto elefante) y *Panicum Máximum* (pasto chileno). Para la evaluación, se usó el análisis estadístico de varianzas (ANOVA), obteniendo los siguientes resultados; el pasto con mayor remoción en la DQO fue el pasto alemán con 70,04%, mientras que el pasto elefante degradó un 98,77% la DBO. En cambio, el níquel no fue removido por ninguna gramínea, pero el hierro total fue removido por el pasto chileno en un 90,95%. La remoción de los hidrocarburos totales de petróleo (HTP) objeto de este estudio lo hizo con mayor eficacia el pasto alemán con un 50%. Por otra parte, el pasto elefante removió el 68,89% de la turbidez del agua. Finalmente, se concluyó que el tratamiento del agua del río Ramiyacu por medio de un humedal artificial disminuye su carga contaminante en un 44,53% aproximadamente.

En este caso, Laverde y Salazar (2017) evaluaron la eficiencia de un sistema de humedales artificiales de flujo subsuperficial para la remoción de HTP presentes en las aguas borras generadas en las estaciones de servicio, también se determinó las concentraciones de Temperatura ($^{\circ}\text{C}$), pH, $[\text{NO}_3^-]$ ppm, $[\text{NH}_3^+]$ ppm, $[\text{HTP}]$ ppm, $[\text{PO}_4^-]$ ppm y la tasa relativa de crecimiento (TRC) de la planta durante las fases de muestreo. El sistema estuvo compuesto de cuatro humedales artificiales, dos sembrados con *Typha latifolia* y dos con adición de nutrientes de Nitrógeno, Fósforo y Potasio (NPK). Al comienzo se realizó un proceso de adaptación de la especie vegetal durante un periodo de dos semanas y posteriormente se llevó a cabo tres muestreos en cada unidad experimental. En los resultados se evidenció que el sistema de humedales artificiales fue eficiente en la remoción de HTP; el humedal con mayor eficiencia fue aquel

con planta y con nutriente (CPCN) con un 94,9 %, en segundo lugar, el humedal sin planta y con nutriente (SPCN) con un 94,1%, en tercer lugar, el humedal sin planta y sin nutriente (SPSN) con un valor de 91,9% y, en cuarto lugar, el humedal con planta y sin nutriente (CPSN) con un 83,7%.

Por otra parte, Reyes (2016) formuló una propuesta de un sistema de fitorremediación para el tratamiento del efluente residual proveniente de las actividades de la estación de servicio Vía al Llano de BIOMAX S.A, como complemento del sistema de tratamiento que la estación posee, teniendo como objeto de diseño un sistema de filtros alternativos que permitan aumentar la eficiencia en la remoción de los contaminantes, acompañados de la especie vegetal *Phragmites Australis*.

En esta investigación se evaluó por parte de Paz et al. (2012) la eficiencia de humedales de flujo superficial libre (HFSL) a escala piloto en el tratamiento de agua de producción de petróleo (APP), para la remoción de sulfuros y fenoles. El diseño experimental consistió de dos humedales de tipo superficial libre (HFSL I y HFSL II), los cuales constaron de soporte (grava y suelo) y plantas acuáticas emergentes (*Cyperus luzulae* y *Cyperus ligulari* en el HFSL I y *Cyperus feraz*, *Paspalum sp.* y *Typha dominguensis* en el HFSL II) y de un control (C) sin plantas. Los humedales se alimentaron con APP desde un tanque a flujo continuo, el tiempo de retención fue de 7 días y las muestras del efluente fueron recolectadas semanalmente durante 80 días. Se encontraron remociones de 69% de sulfuro y 71% de fenol en control, 62% de sulfuro y 64% de fenol para el HFSL II y 66% de sulfuro y 61% de fenol para el HFSL I.

Siguiendo con la aplicabilidad de la fitorremediación como alternativa tecnológica, Cubillos (2011) construyó en las instalaciones de la Universidad Tecnológica de Pereira, tres humedales pilotos sembrados con *Phragmites sp* para el tratamiento de efluentes generados en las estaciones de servicio en el departamento de Risaralda. Se comparó la reducción de hidrocarburos totales de petróleo (HTP), DBO₅ y Nitrógeno total, bajo diferentes condiciones operativas, usando dos humedales de flujo subsuperficial plantado y sin plantar y un humedal flotante (floating wetlands). Los humedales lograron eficiencias del 50% en aguas contaminadas con altas concentraciones de HTP, asociándolo a la volatilización de los compuestos, la absorción, la retención en el medio filtrante y los procesos microbiológicos llevados a cabo dentro de los humedales. El sistema sin matriz de suelo y plantas sembradas, no mostró tolerancia a los hidrocarburos. En cambio, en términos de la DBO₅, el humedal con matriz de suelo y plantas (HSSP) removió el 92% de los hidrocarburos presentes.

Hongos de podredumbre blanca

Los hongos de podredumbre blanca han sido de gran interés para tratar residuos industriales, por esto, Rojas y Hormaza (2016) evaluaron la biodegradación del colorante textil azul brillante AB, sobre residuos de flores, empleando tres cepas fúngicas: *Pleurotus ostreatus* (Po), *Pleurotus pulmonarius* (Pp) y *Trametes versicolor* (Tv). Las mejores condiciones, se determinaron mediante fermentación en estado sólido, con las especies fúngicas individuales y con dos de sus consorcios fúngicos: C1: Po-Tv y C2: Po-Pp, a través de un diseño factorial. Se alcanzó un porcentaje de biodegradación del 99,14% con Pp, como cepa individual, bajo una relación de carbono: nitrógeno (C: N) de 20:1, con cuatro discos de biomasa y del 99,19%, para el C2, bajo una relación de C: N de 40:1, con cuatro discos de biomasa, en relación 1:1

de cada hongo seleccionado. En cuanto a la cinética, se encontró que el C2 requirió 10 días para alcanzar una degradación del 92% del AB; este mismo porcentaje fue obtenido con Pp a los 12 días. Con respecto a las enzimas involucradas, se encontró que la mayor actividad fue registrada para la lacasa, tanto en cepas individuales como en los consorcios fúngicos, con valores de 6,98 ULac/gss y 17,83 ULac/gss, respectivamente.

En el ámbito de los derivados del petróleo, Nápoles, Rodríguez, Santiago y Ábalos (2015) realizaron ensayos de tratabilidad a nivel de laboratorio, utilizando lodos de digestión anaerobia y pleurotina (residual de la fermentación sólida para la obtención de setas comestibles de *Pleurotus ostreatus*) para estimular y bioaumentar la población microbiana de un suelo contaminado con hidrocarburos. Los ensayos evidenciaron que la materia orgánica, determinada como hidrocarburos, posee un valor de 107,5 g/kg de suelo, la actividad respirométrica es mayor cuando se añade pleurotina que en presencia de lodos de digestión. En los ensayos en microcosmos con pleurotina se alcanzaron menores valores de materia orgánica estabilizándose el sistema a partir de la décima semana de tratamiento, pudiendo ser un indicador de remoción del contaminante.

Por otra parte, Sifuentes (2014) buscó medir el crecimiento de *Pleurotus ostreatus* en medio sólido para producción de inóculo fúngico en granos de trigo y cebada, para posteriormente, emplearlo en suelos contaminados con crudo de petróleo. Se logró una colonización total de dichos sustratos en cuatro semanas de cultivo. En la producción de inóculo se alcanzó un crecimiento de 106000 cm/g y 105360 cm/g en trigo y cebada respectivamente, sin encontrarse diferencias significativas entre ambos granos. Adicionalmente, se midió la velocidad de colonización de los inóculos producidos en suelo contaminado con crudo de petróleo a una concentración de 10000 ppm. Se evidenció que los tratamientos con cebada alcanzaron mayores niveles de colonización en suelo, sin observarse incrementos significativos en el crecimiento del micelio al adicionarle suplementos de torta de soya y aserrín.

Sumado a lo anterior, Petit et al. (2013) evaluaron la capacidad de cepas fúngicas aisladas de ambientes contaminados con petróleo, para crecer y degradar antraceno, fluoranteno y pireno. Se identificaron hongos pertenecientes a los géneros *Acremonium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Penicillium* y *Trichoderma* por su habilidad para crecer en placas con Czapek complementadas con diesel como única fuente de carbono y energía. A partir de este ensayo se seleccionaron tres cepas, todas del género *Aspergillus*, con las cuales se determinó la degradación de hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA) en cultivos líquidos en 20 días de incubación. La cuantificación de los HPA se realizó por cromatografía de gases. La cepa *Aspergillus versicolor* mostró la mayor tasa de biotransformación de los HPA, entre 15 y 20%, por lo que se seleccionó para ensayos de biorremediación en un suelo contaminado con hidrocarburos. Las tasas de degradación en 60 días de incubación resultaron 23,6% pireno, 10,6% fluoranteno y 5,0% antraceno. Estos resultados sitúan a *Aspergillus versicolor* como un hongo con potencial para biorremediar suelos contaminados con HPA.

Déley (2010) utilizó también cepas de *P. ostreatus* para tratamiento ex situ y en laboratorio de suelos contaminado de zonas de derrame. Para estos ensayos, se utilizaron muestras esterilizadas y no esterilizadas y se determinó la concentración de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) mediante técnicas cromatográficas, antes y después del tratamiento con el hongo. Se observó que, al trabajar con

suelos esterilizados, por sí sólo es capaz de degradar los hidrocarburos hasta en un 97%, y en interacción con la flora bacteriana autóctona presente en bajas cantidades, se logró reducir los HTP en un porcentaje similar en tiempos menores, demostrando así su potencial como biodegradador de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo.

Marco teórico-conceptual

Luego de realizar una revisión bibliográfica respecto a los tratamientos biológicos se plantearon tres teorías que apoyan el fundamento de esta investigación. Partiendo de lo general, **la biorremediación**, es considerada una tecnología con el potencial de llegar a la meta de la sostenibilidad. A su vez, es entendida como la aplicación de microorganismos, hongos, plantas o las enzimas derivadas de ellos para la restauración del ambiente, llegando a ocupar un lugar importante. Este método actúa a través de las intervenciones de la diversidad biológica para los propósitos de mitigación (y siempre que sea posible, la eliminación) de los efectos nocivos causados por los contaminantes ambientales en un sitio dado (Garzón, Rodríguez y Hernández, 2017).

La biorremediación permite entonces reducir o remover los residuos potencialmente peligrosos presentes en el ambiente y, por lo tanto, limpiar terrenos o aguas contaminadas, dado que su ámbito de aplicabilidad es muy amplio. Puede remediarse suelos, aguas superficiales, subterráneas y residuales y gases derivados de las emisiones de las industriales (Garzón, Rodríguez y Hernández, 2017).

De hecho, Martínez et al. (2011) mencionan que se pueden emplear organismos autóctonos del sitio contaminado o de otros sitios (exógenos), realizarse in situ o ex situ, en condiciones aerobias o anaerobias. Aunque no todos los compuestos orgánicos son susceptibles a la biodegradación, los procesos de biorremediación se han usado con éxito para tratar suelos, lodos y sedimentos derivados del petróleo, solventes, explosivos, clorofenoles, pesticidas, conservadores de madera e hidrocarburos aromáticos policíclicos. Ya que los microorganismos son los agentes primarios de la degradación de contaminantes orgánicos, una premisa es que, al incrementar la densidad microbiana por ejemplo en suelos deteriorados, se puede también acelerar la degradación de estos compuestos orgánicos.

De acuerdo a lo anterior, la variable más importante a controlar es la bioestimulación de los microorganismos en agua y suelo a través de la adición de nutrientes (fuente alterna). Tal afirmación está basada en el hecho de que la entrada de grandes cantidades de carbono (hidrocarburos) perturba el balance natural de nutrientes en el sistema ocasionando una rápida disminución de otros, como el nitrógeno y el fósforo, y con ello se reduce o detiene la tasa de crecimiento bacteriano (Martínez et al, 2011).

Continuando con la siguiente teoría, como alternativa para recuperar zonas contaminadas con hidrocarburos, la biorremediación permite mejorar **la calidad del agua** mediante procesos naturales que reduzcan las concentraciones de los contaminantes a lo largo del tiempo, a través de un monitoreo y supervisión continua de parámetros físicos, químicos y biológicos. Por una parte, los microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) utilizan su potencial enzimático para biodegradar los contaminantes

completamente hasta CO₂, ya sea en un ambiente aerobio o anaerobio. Al realizar una adición de éstos, es posible potenciar y optimizar la remediación (Muñiz, 2015).

Estos sistemas de descontaminación se basan en la digestión de las sustancias orgánicas por parte de los microorganismos, de la cual obtienen la fuente de energía para llevar a cabo todas las funciones metabólicas que necesitan sus células para su crecimiento. Para que estos procesos metabólicos ocurran y puedan ser utilizados como una técnica remediativa, es indispensable que existan en el medio unas condiciones físicas y químicas óptimas. En general, se necesita de determinadas poblaciones de microbios capaces de utilizar los hidrocarburos como fuente nutricional y de energía. A su vez, un número específico de aceptores de electrones que enzimáticamente oxiden los carbonos procedentes de los hidrocarburos, así como unas condiciones adecuadas de pH, nutrientes, temperatura, humedad, textura y estructura del suelo, y concentración de los contaminantes (Maroto y Rogel, 2009).

En cuanto a la fitorremediación, permite llevar a cabo la depuración de aguas residuales, debido a la capacidad restauradora de algunas plantas. Dicha técnica, engloba un conjunto de métodos encargados de asimilar, metabolizar o detoxificar contaminantes; mediante tratamientos in situ. De igual forma, se basa en los procesos que ocurren naturalmente por los cuales las especies vegetales y los microorganismos rizosféricos retienen contaminantes orgánicos e inorgánicos. Las plantas también ayudan a impedir que el viento, la lluvia y las aguas subterráneas extiendan la polución a otras zonas. Varios autores reportan la capacidad de las microalgas para biotransformar y biodegradar los hidrocarburos y plaguicidas; las microalgas y cianobacterias proveen carbono reducido y nitrógeno a la microbiota presente en los ecosistemas acuáticos, lo que incrementa el potencial de degradación de contaminantes (Velásquez, 2017).

Desglosando la última teoría, **el tratamiento biológico** de aguas contaminadas mediante consorcios microbianos autóctonos, aprovecha las potencialidades metabólicas de distintos grupos de microorganismos para remover una amplia variedad de compuestos. Adicionalmente, las técnicas de bioestimulación y bioaumentación contribuyen a fortalecer las capacidades de estos procesos de biodegradación. Para esto, la construcción de combinaciones microbianas resulta como una alternativa innovadora para la eliminación de sustancias complejas y mezclas de contaminantes (Díaz et al, 2017).

Según Martínez et al. (2011) las tecnologías de remediación biológicas, mediante las actividades metabólicas de ciertos organismos permiten la transformación y remoción de los contaminantes a productos metabólicos inocuos. Dentro de esta rama, cabe resaltar la degradación microbiana, la cual funciona implantando microorganismos en el lugar afectado para descomponer sustancias tóxicas a través del uso de micelios fúngicos que producen enzimas capaces de degradar los componentes contaminantes. Y la fitorremediación, que por medio de los sistemas radiculares de las plantas y los árboles son capaces de extraer metales pesados y otros contaminantes de suelo y agua (Fabelo, 2017).

Para complementar las teorías planteadas anteriormente, se describen unos conceptos relacionados con la temática. Para empezar, **las borras** son residuos que se forman después de largos periodos de tiempo, por sedimentación y aglomeración de compuestos con hidrocarburos, especialmente de cadenas más largas, presentes en el crudo. Están integradas en general por hidrocarburos parafínicos, asfaltenos,

compuestos de azufre, óxidos metálicos, gases disueltos, sedimentos (rocas, arena, lodos de perforación, entre otros), materia orgánica y agua. Así mismo, se generan en los tanques y tuberías de la industria del petróleo (Laverde y Salazar, 2017).

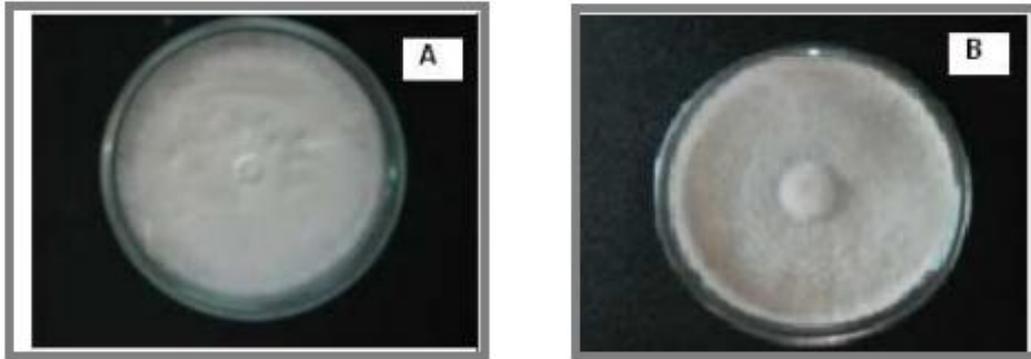
La lignina es un polímero natural, de estructura compleja y variable, que forma parte de la pared celular de las plantas superiores. Esta cualidad, así como su naturaleza fenólica, la hacen resistente al ataque de los microorganismos. A partir de esto, la denominación de **hongo de podredumbre blanca** se debe a que, al degradar la lignina de las plantas, provocan la formación de un residuo de color blanco por la acumulación de celulosa y hemicelulosa. Por otra parte, sus características son capaces en determinadas condiciones de mineralizar la lignina (González et al., 2006).

La capacidad de los hongos de degradar la lignina, posibilita la aplicación de estos microorganismos, o de sus enzimas oxidativas, en procesos industriales como el biopulpeo y el bioblanqueo para la producción de pulpa y papel. Además, se ha demostrado su capacidad para mineralizar un amplio espectro de xenobióticos estructuralmente diversos y contaminantes persistentes en el medio ambiente como compuestos tóxicos de naturaleza fenólica y bajo peso molecular, clorofenoles, bifenilos policlorados (PCBs), nitrotoluenos, colorantes industriales, antraceno, fenantreno, hidrocarburos policíclicos aromáticos, entre otros (González et al., 2006).

Pleurotus ostreatus es un hongo de podredumbre blanca perteneciente a los basidiomicetos, poseen altos niveles de oxidasas, un alto valor nutricional, propiedades terapéuticas y variadas aplicaciones biotecnológicas, como también la capacidad de degradar grandes polímeros como lo son la lignina y celulosa que constituyen el sustrato vegetal, así como contaminantes ambientales mediante la secreción de un complejo enzimático. Este microorganismo, tiene la facilidad de crecer en entornos con residuos agroindustriales, gracias a sus oxidorreductasas y metabolitos secundarios de bajo peso molecular son capaces de degradar compuestos xenobióticos ya que su sistema enzimático posee un amplio espectro de sustratos sobre los cuales actúan (Pezzella et al, 2013; Manjarrés, Castro y Rodríguez, 2010; Rodríguez et al, 2006).

Trametes versicolor es un hongo perteneciente al filo Basidiomycota y a la familia Coriolaceae, se caracteriza por poseer un basidiocarpo en el que se encuentra un pileo delgado con zonas multicolores, con líneas concéntricas, blancas, amarillas, de color crema, ocre, gris, café en varios tonos, azul a casi negro. Este carpóforo es anual sétil no estipitado o pseudoestipitado, pero por lo general saliente, no resupinado, con un tamaño que puede llegar a los 10 cm de ancho, con un radio de unos 5 cm aproximadamente, y cuyo grosor es apenas de unos milímetros. Su superficie es vellosa en los especímenes jóvenes, quedando glabra posteriormente, y el borde se presenta ondulado de manera irregular. El himenio está formado por poros de pequeño tamaño, hasta 5 por mm, generalmente redondeados, a veces un poco angulosos, de color blanco y se pueden tornar de color crema con el tiempo. El pie es muy corto y enterrado en el sustrato o inexistente, su carne es muy dura de color blanco, coriácea y fibrosa. En la zona de unión con el sustrato puede llegar a alcanzar un grosor de unos 5 mm, pero en el borde apenas alcanza los 2 mm. Sin olor o sabor peculiares. Microscópicamente se observan esporas sólidas, en algunas especies hinchándose en KOH; las hifas se caracterizan por sus uniones tortuosas, elipsoides a alantoides, hialinas y de pared delgada (Ko y Jung, 1999).

Figura 1. (A) *Trametes versicolor* (B) *Pleurotus ostreatus*

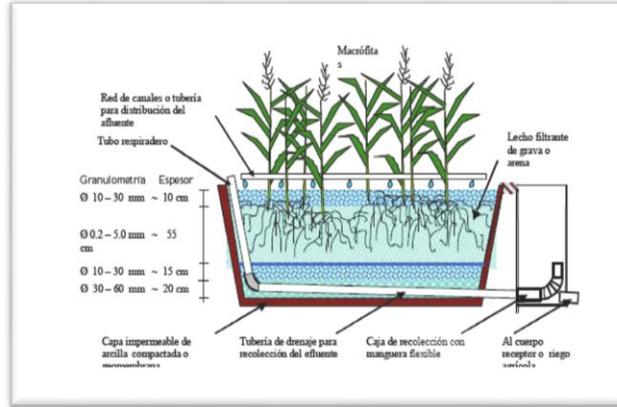


Fuente: Sandoval y Ospina, 2008

Las técnicas de **fitorremediación** se caracterizan por ser una práctica de limpieza pasiva y estéticamente agradable que aprovechan la capacidad de las plantas y la energía solar para el tratamiento de una gran variedad de contaminantes del medio ambiente. Las especies vegetales, actúan como trampas o filtros biológicos que descomponen los contaminantes y estabilizan las sustancias metálicas presentes en el suelo y agua al fijarlos en sus raíces y tallos, o metabolizándolos tal como lo hacen los microorganismos para finalmente convertirlos en compuestos menos peligrosos y más estables, como dióxido de carbono, agua y sales minerales (Arias et al, 2010).

Para realizar la técnica anteriormente mencionada, se emplean **los humedales** que son áreas que se caracterizan por tener un suelo saturado de agua y una comunidad viviente (plantas y animales) adaptados a la vida acuática o a un suelo saturado. Para el tratamiento de aguas residuales, existen los humedales de **flujo Subsuperficial**; este tipo de sistemas con macrófitas emergentes consiste en un filtro biológico relleno de un medio poroso (piedra volcánica o grava), en el cual las especies vegetales se siembran en la superficie del lecho filtrante y las aguas pretratadas atraviesan de forma horizontal o vertical el lecho, aquí el nivel del agua se mantiene por debajo de la superficie del medio granular. Como se mencionada anteriormente y se observa en la figura 2, en el **flujo vertical** las aguas pretratadas se distribuyen de manera uniforme e intermitente sobre la superficie del lecho filtrante y luego percolan hacia la zona de recolección (Arias et al, 2010).

Figura 2. Humedal subsuperficial de flujo vertical



Fuente: Arias et al., 2010

Marco normativo

En este apartado, se presenta en la tabla 1 la normatividad aplicable para el desarrollo del proyecto.

Tabla 1. Instrumentos legales

Instrumento legal	Descripción
Decreto ley 2811 de 1974	Artículo 2. Lograr la preservación y restauración del ambiente y la conservación, mejoramiento y utilización racional de los recursos naturales renovables, según criterios de equidad que aseguren el desarrollo armónico del hombre y de dichos recursos, la disponibilidad permanente de estos y la máxima participación social, para beneficio de la salud y el bienestar de los presentes y futuros habitantes del territorio nacional (Presidente de la República, 1974).
Constitución Política de 1991	Artículo 332: El Estado es propietario del subsuelo y de los recursos naturales no renovables, sin perjuicio de los derechos adquiridos y perfeccionados con arreglo a las leyes preexistentes (Consejo Superior de la Judicatura, 2016).
Ley 99 de 1993	Artículo 42: Tasas Retributivas y Compensatorias. La utilización directa o indirecta de la atmósfera, del agua y del suelo, para introducir o arrojar desechos o

desperdicios agrícolas, mineros o industriales, aguas negras o servidas de cualquier origen, humos, vapores y sustancias nocivas que sean resultado de actividades antrópicas o propiciadas por el hombre, o actividades económicas o de servicio, sean o no lucrativas, se sujetará al pago de tasas retributivas por las consecuencias nocivas de las actividades expresadas (Congreso de Colombia, 1993).
Artículo 43: Reglamentado por el Decreto Nacional 155 de 2004. Tasas por Utilización de Aguas. La utilización de aguas por personas naturales o jurídicas, públicas o privadas, dará lugar al cobro de tasas fijadas por el Gobierno Nacional que se destinarán al pago de los gastos de protección y renovación de los recursos hídricos, para los fines establecidos por el artículo 159 del Código Nacional de Recursos Naturales Renovables y de Protección al Medio Ambiente, Decreto 2811 de 1974 (Congreso de Colombia, 1993).
Artículo 66: las autoridades municipales, distritales o metropolitanas tendrán la responsabilidad de efectuar el control de vertimientos y emisiones contaminantes, disposición de desechos sólidos y de residuos tóxicos y peligrosos, dictar las medidas de corrección o mitigación de daños ambientales y adelantar proyectos de saneamiento y descontaminación (Congreso de Colombia, 1993).

Política Nacional para la Gestión Integral del Recurso Hídrico

Establece los objetivos, estrategias, metas, indicadores y líneas de acción estratégica para el manejo del recurso hídrico en el país (Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, 2010).

Decreto 3930 de 2010

Artículo 34. Establece el Protocolo para el Monitoreo de los Vertimientos en Aguas Superficiales, Subterráneas. En éste, se tiene en cuenta aspectos como: el punto de control, la infraestructura técnica mínima requerida, la metodología para la toma de muestras y los métodos de análisis para los parámetros a determinar en vertimientos y en los cuerpos de agua o sistemas receptores.

Artículo 41. Toda persona natural o jurídica cuya actividad o servicio genere vertimientos a las aguas superficiales, marinas, o al suelo, deberá solicitar y tramitar ante la autoridad ambiental competente, el respectivo permiso de vertimientos.

(Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2010).

Resolución 1207 de 2014

Artículo 11. monitoreo y seguimiento al usuario receptor para presentar su aprobación ante la Autoridad Ambiental Competente y de forma simultánea la solicitud para la obtención o modificación de la Concesión de Aguas para el uso de aguas residuales tratadas, la Licencia Ambiental o el Plan de Manejo Ambiental a

ser desarrollado durante la vigencia de la autorización ambiental (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2014).

Resolución 0631 de 2015 Artículo 16. Los parámetros fisicoquímicos y sus valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales de Aguas Residuales no Domésticas (ARnD) al alcantarillado público de las actividades asociadas con hidrocarburos (petróleo crudo, gas natural y derivados) (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2015).

NTC-ISO 5667-10 Define los detalles sobre muestreo de aguas residuales domésticas e industriales; es decir, el diseño de programas y técnicas de muestreo para la recolección de muestras, para posteriormente determinar la concentración de contaminantes en una corriente de aguas residuales (ICONTEC, 2010).

Fuente: Autor en base a lineamientos legales, 2019

Marco geográfico

Situada en el sector norte de Bogotá, la localidad de Suba limita al norte con el municipio de Chía, al oriente con la localidad de Usaquén, al sur con las localidades de Engativá y Barrios Unidos; y al occidente con el municipio de Cota. La topografía de la zona combina una parte plana a ligeramente ondulada ubicada al occidente de la localidad y otra parte inclinada a muy inclinada en los Cerros de Suba. Por otra parte, según los datos registrados por la Red de Monitoreo de Calidad del Aire de Bogotá, en la Estación Guaymaral durante los años 2008 a 2010, la temperatura promedio fue de 14,37 °C. Además, cuenta con algunos de los ecosistemas más importantes de la ciudad, como son los humedales de La Conejera, Juan Amarillo, Córdoba y Guaymaral. Éstos, son sistemas caracterizados por porciones húmedas, semi-húmedas y secas, de gran importancia para las especies vegetales y por ser el albergue transitorio de las aves que recorren países y continentes (Alcaldía local de Suba, 2016).

Sumado a lo anterior, la UPZ Niza se localiza al sur de la localidad de Suba, es un sector cualificado con uso residencial predominante, de estratos 3, 4, 5 y 6. Tiene una extensión de 756,6 Ha y se caracteriza por numerosos desarrollos urbanísticos de vivienda, los cuales se complementan y apoyan en las grandes superficies comerciales del sector y una amplia red de movilidad y transporte. Además, contiene un sector de interés cultural que se encuentra en el área de influencia de tres centralidades que sirven de soporte para las actividades de la UPZ: la Centralidad Toberín, de integración regional la cual se articula con esta UPZ por la Avenida Boyacá; la Centralidad de Suba, de integración urbana con uso institucional acoplada

por la Carrera 60; y la Centralidad Prado Veraniego, de integración urbana de uso comercial vinculada por medio de la calle 129. La UPZ está conformada por 26 sectores normativos, de los cuales se han identificado 11 residenciales, 9 dotacionales, tres 3 de comercio y servicios, y 3 de área urbana integral (Cámara de Comercio, 2007).

Dentro del sector de comercio y servicios, se encuentra la estación de servicio (EDS) Biomax Colina, ubicada en el barrio Colina Campestre, el cual limita al occidente con el barrio Gratamira, al norte con Mazuren, al oriente con Spring y al sur con Ciudad Jardín Norte y Las Villas. Sus principales vías de acceso son la Avenida Boyacá, Avenida Suba, las Calles 134, 138 y la Avenida Las Villas. La EDS vende aproximadamente 1.474.185 galones de gasolina corriente al año, y se destaca por la responsabilidad ambiental puesto que cuenta con un sistema de captación de aguas lluvias, un biopunto para la recolección de diferentes residuos como bombillas, papel, cartón, plástico, aceite usado, pilas y baterías, paneles solares y métodos de limpieza que incluyen una trampa de grasa y un humedal artificial.

Figura 3. Localización estación de servicio Biomax Colina



Fuente: Área de proyectos Biomax S.A, 2019

Marco institucional

Para el marco institucional se tuvo en cuenta la información de los diferentes actores (tabla 2) base para revisar las principales funciones y relaciones con el proyecto a desarrollar.

Tabla 2. Marco institucional

<i>Instituciones</i>	<i>Descripción</i>
----------------------	--------------------

Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible y Se encarga de orientar y regular el ordenamiento ambiental del territorio y de definir las políticas y regulaciones a las que se sujetarán la recuperación, conservación, protección, ordenamiento, manejo, uso y aprovechamiento sostenible de los recursos naturales renovables (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2018).

Secretaría Distrital de Ambiente (SDA) de Realizar el control de vertimientos y emisiones contaminantes, disposición de desechos sólidos y desechos o residuos peligrosos y de residuos tóxicos, dictar las medidas de corrección o mitigación de daños ambientales y complementar la acción de la Empresa de Acueducto y Alcantarillado de Bogotá - EAAB- para desarrollar proyectos de saneamiento y descontaminación, en coordinación con la Unidad Administrativa Especial de Servicios Públicos (Secretaría Distrital de Ambiente, 2019).

Universidad El Bosque Lugar donde se van a llevar a cabo las pruebas de laboratorio para tratar los efluentes de estación de servicio. Además, la universidad incentiva la investigación en la que se desarrollan proyectos de ingeniería, algunos de manera transversal, y en la que se encuentran equipos de medición, simulación y de redes (Universidad El Bosque, 2018).

Biomax S.A Empresa de comercialización de combustibles donde va dirigido el proyecto y suministra la muestra de agua residual. Es una compañía que tiene la motivación de orientar sus procesos a la prevención, control y mitigación de los impactos ambientales identificados en la operación a través del programa Ecoresponsable (Biomax, 2018).

El programa Ecoresponsable busca optimizar el uso de recursos energéticos y naturales en las Estaciones de Servicio (EDS) Biomax, siendo un ejemplo en la incorporación de prácticas en el ahorro de energía, la reutilización de recursos naturales y mitigar impactos ambientales generados en las EDS (Biomax, 2018).

Fuente: Autor en base a lineamientos de cada organización

Metodología

1.1 Enfoque

El enfoque del proyecto fue cuantitativo, puesto que se basó en la recolección de datos, donde se midieron unas variables físicas y químicas en los dos tratamientos por medio de una muestra de efluentes de estación de servicio, planteando la siguiente hipótesis; los tratamientos biológicos, en este caso un humedal artificial y hongos de podredumbre blanca, permitieron una degradación alta y disminución de los parámetros de DQO, DBO, turbidez y pH. Esta recopilación, se llevó a cabo utilizando procedimientos estandarizados y aceptados (Sampieri, Fernández y Baptista, 2014). Los parámetros como hidrocarburos totales de petróleo (HTP), grasas y aceites no fueron medidos debido a que no se contaba con los recursos económicos y tampoco con el tiempo para la evaluación de la degradación de los HTP presentes en la muestra de agua.

Además, debido a que los datos son producto de mediciones, se representaron mediante datos numéricos, tablas y gráficos en base a las predicciones iniciales, estudios previos y réplicas de las muestras, para llegar a conclusiones confiables en cuanto a la evaluación de la eficiencia de estas dos tecnologías (Sampieri, Fernández y Baptista, 2014).

1.2 Alcance

El alcance principal de esta investigación fue descriptivo, se recogió información de manera conjunta sobre los conceptos y las variables de los métodos de tratamiento, los cuales fueron el humedal artificial y hongos mixtos de podredumbre blanca. Estas dos tecnologías buscan mejorar la calidad del recurso hídrico asociado a un residuo industrial, permitiendo acelerar y mejorar las variables físicas y químicas, tales como DBO, DQO, pH y turbidez (Sampieri, Fernández y Baptista, 2014).

1.3 Método

El método hipotético-deductivo es el más apto para desarrollar la investigación, en la primera parte se planteó la hipótesis en base a la revisión bibliográfica. Posteriormente, se realizaron deducciones que se sometieron a verificación empírica, por medio de la experimentación en el laboratorio para comprobar la veracidad o no de la hipótesis de partida. Para finalmente, expresar las conclusiones de la eficiencia de remoción de las dos tecnologías. Así mismo, como se evaluaron tratamientos con microorganismos vivos que son dinámicos en su funcionamiento, este método posibilita la reestructuración constante del sistema teórico, conceptual o metodológico de la investigación y, por tanto, aportar a la construcción de conocimientos (Rodríguez y Pérez, 2017).

1.4 Técnicas e instrumentos

En cuanto a las técnicas e instrumentos a utilizar, se tuvieron en cuenta los revisados por Hernández (2013) para la recolección de los datos necesarios durante la investigación. Según el autor, el instrumento de medición se diseña según el objeto de estudio, es por esto que se incluyó la observación y pruebas en el laboratorio para la fase experimental de los tratamientos biológicos.

Técnica documental: se realizó una revisión bibliográfica en fuentes primarias y secundarias como bases científicas, artículos, trabajos de grado, revistas, entre otras, enfocadas en recopilar la información suficiente en el funcionamiento de los tratamientos y medición de parámetros físicos y químicos.

- *Fichas bibliográficas, informes técnicos, citas y notas:* estos instrumentos se emplearon para la recolección de los datos, además facilitaron la extracción de forma textual de la información pertinente a la investigación.

Observación en campo: Se realizaron visitas a la estación de servicio Biomax Colina, que permitieron la observación directa con el objeto de estudio, en este caso el humedal artificial y para la recolección de la muestra de agua.

- *Mapa:* Se utilizó para conocer la ubicación y distribución de la estación de servicio Biomax Colina, así como los barrios y vías de la zona. Fue proporcionado por el área de proyectos de la compañía (ver figura 3).
- *Cámara:* Este instrumento se empleó para el registro fotográfico de los ensayos de degradación de los hongos de podredumbre blanca.

Observación en laboratorio: Se realizaron todas las pruebas y registros pertinentes para llevar a cabo la fase experimental del tratamiento mixto con hongos de podredumbre blanca, así como la medición y monitoreo de la muestra del efluente de estación de servicio para ambas tecnologías.

- *Equipos y materiales de laboratorio:* Se emplearon en la medición de los parámetros físicos y químicos. Estos equipos son multiparámetro, turbidímetro, kit Merck Spectroquantum y método respirométrico por Oxitop.
- *Bitácora:* Se reportaron con detalle las observaciones, datos, materiales, procedimiento, avances y resultados preliminares de la fase experimental en el laboratorio.
- *Tablas y gráficos de Excel:* Se usaron para registrar y mostrar los resultados obtenidos de la evaluación de los tratamientos biológicos, y del análisis de las dimensiones ecológica y económica.

Por otra parte, siguiendo las dimensiones ecológica y económica, se plantearon unas variables para medir la viabilidad del proyecto (Tabla 3). Por una parte, se tienen la DBO, DQO, turbidez y pH, las cuales fueron indicadores para monitorear la calidad del agua después de pasar por los tratamientos biológicos. En cuanto a las económicas, consistió en determinar la relación entre los costos y las ganancias al realizar el proyecto.

En la dimensión económica, el análisis de los precios consistió en determinar la relación entre los costos de los tratamientos biológicos y el porcentaje de ganancia que se pretende obtener. La importancia de este cálculo radica en que los resultados fueron la base para la determinación del nivel de ingresos del proyecto. Al mismo tiempo, cuantificar el monto de las inversiones permite establecer los recursos

necesarios para la puesta en marcha y posterior funcionamiento de los métodos de biorremediación. La inversión inicial comprende la adquisición de todos los activos fijos e intangibles necesarios para iniciar las operaciones (Reyes, 2000).

Tabla 3. Variables ecológicas y económicas del proyecto

<i>Dimensión</i>	<i>Variable</i>	<i>Aspecto de la variable</i>	<i>Indicador</i>	<i>Técnica</i>	<i>Instrumento</i>
Ecológica	Agua	Calidad	DBO (mg/L)	Pruebas de laboratorio	Método respirométrico por Oxitop Equipo Spectroquant Turbidímetro Multiparámetro
			DQO (mg/L)		
			Turbidez (NTU) pH		
Económica	Inversión	Financiero	$I = m^2 \times k$ Ecuación 1	Excel	Tablas
	Rentabilidad		Ahorro = $\text{Var}[k_{(n-1)} - k_n]$ Ecuación 2		
	Ahorros		$\text{VPN} = \frac{\sum \text{flujos futuros}}{\text{inversión}}$ Ecuación 3		

Fuente: Autor, 2019

Tabla 4. Términos de las variables económicas

Términos	
K	Costos
$k_{((n-1))}$	Costos sin proyecto

k_n	Costos con proyecto
-----	------------------------

Fuente: Autor, 2019

1. *Describir la funcionalidad y eficiencia teórica de los tratamientos bajo estudio.*

Para el primer objetivo, se describió la funcionalidad y eficiencia teórica de los tratamientos bajo estudio por medio de la recolección de información en bases científicas, artículos y trabajos de grado referentes a las características de degradación de estas tecnologías y su aplicación en efluentes de estaciones de servicio. Se tuvo en cuenta como guía de búsqueda los microorganismos y especies vegetales en cada método. Para el tratamiento mixto, los hongos de podredumbre blanca *Pleurotus ostreatus* y *Trametes versicolor*, y para el humedal, las plantas *Phragmites australis*, *Juncus* y *Zantedeschia aethiopica*.

2. *Determinar la eficiencia de los tratamientos biológicos evidenciada en los parámetros físicos y químicos en el efluente de estación de servicio.*

Para el desarrollo del ensayo de degradación con los hongos, se tuvo en cuenta las metodologías empleadas por Domínguez et al. (2010) y Petit et al. (2013). Para este caso, los microorganismos que se utilizaron corresponden a *Pleurotus ostreatus* y *Trametes versicolor*. Estas cepas se mantuvieron en agar salvado de trigo, debido a que este favorece la inducción de enzimas ligninolíticas desde la conservación y reactivación, a una temperatura de 4°C. Posteriormente, se extrajeron viales para cultivarlos en agar extracto de Malta por 7 días a 30 °C en la incubadora.

En cuanto al medio de cultivo, estuvo constituido por efluente de estación de servicio sin diluir, suministrada por la EDS Biomax Colina, la cual fue almacenada en contenedores plásticos y conservada a 4 °C. El experimento se realizó con muestra esterilizada y no esterilizada por triplicado cada una. Para el procedimiento de la solución estéril se empleó la autoclave durante 2 horas a 121 °C y 15 libras/pulgada de presión, y se determinó: DQO (mg/L por espectrofotometría), turbidez (en N.T.U, por turbidímetro), pH (en unidades de pH, por medición potenciométrica) y DBO (mg/L por método respirométrico por Oxitop).

En el estudio se realizó un tratamiento mixto utilizando *T. versicolor* + *P. ostreatus*. Estos fueron aplicados a la muestra de efluente de estación de servicio esterilizada y no esterilizada. Para cada ensayo se emplearon erlenmeyers de 250 mL agregando en cada uno 100 mL de la matriz a analizar. Después, fueron inoculadas con 3 discos de cada una de las cepas y se incubaron a 29 °C por 15 días, en agitador rotatorio a 130 rpm, sin luz. Para las variables físicas y químicas planteadas, se tomó una medición inicial y otra al final del experimento para realizar el correspondiente análisis de la eficiencia de degradación.

Al finalizar la etapa de experimentación en el laboratorio, los datos obtenidos de cada muestreo en los tratamientos establecidos con el consorcio fúngico, se tabularon en un formato de tabla Excel, para su posterior análisis e interpretación estadística.

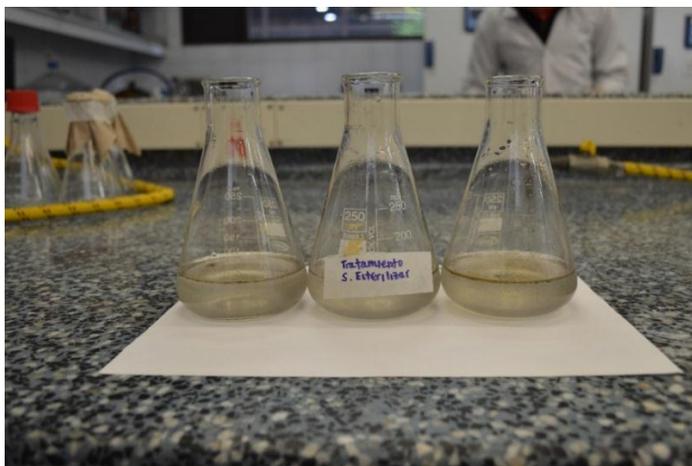
Por otra parte, en el humedal artificial se evaluaron los parámetros DQO, DBO, pH, SST de la caracterización realizada por ANALQUIM LTDA en los puntos de entrada y salida del sistema en diciembre de 2018. El laboratorio utilizó técnicas de análisis como la incubación por 5 días y electrodo de membrana para la DBO, reflujo abierto y titulación para la DQO, método gravimétrico para SST y el pH fue tomado in situ por electrometría. Además, se tuvo en cuenta el informe entregado por el laboratorio con el fin de comprobar la eficiencia de las especies vegetales para disminuir los componentes del efluente de estación de servicio.

3. Analizar los parámetros evaluados al final de cada tratamiento en relación con la Resolución 0631 de 2015 para verificar cumplimiento legal.

En cuanto al tercer objetivo, se compararon los resultados obtenidos de las variables mencionadas anteriormente en los dos tratamientos biológicos con los valores máximos permisibles de la resolución 0631 de 2015 expedida por el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, para verificar el cumplimiento de la normatividad para el vertimiento de estas aguas al alcantarillado.

En esta parte, se encuentran la muestra del efluente de estación de servicio, la cual fue agitada manualmente y distribuida en partes iguales para cada uno de los ensayos. En la figura 4 se observa la muestra sin esterilizar, con una coloración grisácea y una capa delgada oscura de algunos residuos de lodos.

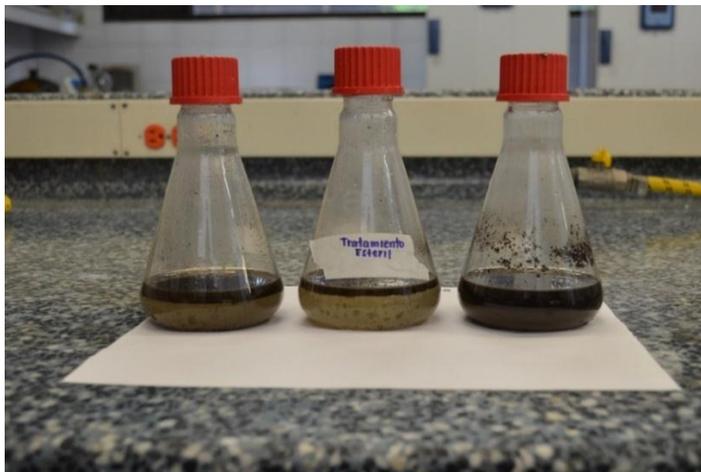
Figura 4. Tratamiento sin esterilizar inicio del ensayo



Fuente: Autor, 2019

En la figura 5 se observa la muestra estéril, con una apariencia más turbia debido a que la mayor cantidad de lodos provenientes de la muestra de agua quedaron en las réplicas de este ensayo.

Figura 5. Tratamiento estéril al inicio del ensayo



Fuente: Autor, 2019

A continuación en la tabla 5, se desglosa de forma detallada los pasos necesarios para el desarrollo de los objetivos planteados en el proyecto.

Tabla 5. Matriz de objetivos

<i>Objetivo general</i>	<i>Objetivos específicos</i>	<i>Fase</i>	<i>Actividad</i>	<i>Técnica</i>	<i>Instrumento</i>	<i>Resultado esperado</i>
Evaluar la eficiencia de remoción de un humedal artificial y un tratamiento mixto de hongos para mejorar la calidad del efluente de estación de servicio Biomax Colina en Bogotá.	Describir la funcionalidad y eficiencia teórica de los tratamientos bajo estudio.	Recolección de información	Revisión de la bibliografía de las características de los humedales artificiales y hongos de podredumbre blanca.	Técnica documental.	Bases científicas, artículos y trabajos de grado.	Caracterización de los tratamientos biológicos y sus aplicaciones en aguas residuales con hidrocarburos.
			Revisión del estado actual del humedal artificial ubicado en la estación de servicio Colina.	Observación en campo.	-Cámara.	Identificación del estado actual de la infraestructura, vegetación, grava y funcionamiento del humedal.
		Recolección de la muestra	Identificación del punto de muestreo.	Observación en campo.	-Mapa de la EDS Colina. -Cámara.	Recolección de 3 L de muestra en garrafa plástica para su posterior análisis.
			Recolección de la muestra de agua de la primera caja de la trampa de grasas en la estación de servicio Colina.	Recolección de la muestra de agua. (Muestreo).	-Recipiente plástico. -Plano trampa de grasas. -Elementos de protección personal.	
			Preparación agar extracto de malta.	Observación en laboratorio.	-Reactivos (extracto de malta,	Obtención de microorganismos para el

Determinar la eficiencia de los tratamientos biológicos evidenciada en los parámetros físicos y químicos en el efluente de estación de servicio.	Tratamiento mixto con hongos de podredumbre blanca	Siembra de las cepas <i>Pleurotus ostreatus</i> y <i>Trametes versicolor</i> en agar. Inoculación de muestras (3 estériles y 3 sin esterilizar) por 15 días.	Observación en laboratorio.	en	peptona y agar-agar). -Balanza, espátula y Erlenmeyer. Bitácora. -Caja de Petri. -Incubadora. -Cepas de los hongos. -Cámara.	tratamiento mixto con hongos de podredumbre blanca.
			Observación en laboratorio.	en	-Erlenmeyers. -Autoclave y agitador. -Discos de hongos. -Cámara.	Correcto funcionamiento del proceso y degradación del efluente de estación de servicio.
	Revisión del informe de caracterización de parámetros físicos y químicos.	Revisión del informe de las variables de DBO, DQO, pH y turbidez del humedal artificial.	-Técnica documental.		-Informe de caracterización del laboratorio ANALQUIM LTDA.	Recopilación de datos de la medición de las variables del humedal artificial.
	Medición de DBO, DQO, pH y turbidez al inicio y final del tratamiento mixto de hongos.		Observación en laboratorio.	en	-Equipos de laboratorio (multiparámetro, turbidímetro, kit Merck Spectroquantum y método respirométrico por Oxitop).	Recopilación de datos de la medición de las variables al inicio y final del tratamiento.

<p>Analizar los parámetros evaluados al final de cada tratamiento en relación con la Resolución 0631 de 2015 para verificar cumplimiento legal.</p>	<p>Revisión de normatividad</p>	<p>la</p>	<p>Comparar datos obtenidos en los dos tratamientos con la normatividad.</p>	<p>Técnica documental</p>	<p>-Formato de tabla de Excel. -Resolución 0631 de 2015.</p>	<p>Cumplimiento de las variables analizadas en relación a la normatividad consultada.</p>
---	---------------------------------	-----------	--	---------------------------	--	---

Fuente: Autor, 2019

Resultados, análisis y discusión

Para la presentación de los resultados se optó por exponer los datos conseguidos mediante tablas y gráficos como se describió en la metodología. Además, se realizó una revisión bibliográfica relacionada con la temática para dar soporte a los valores obtenidos en la evaluación de los tratamientos biológicos.

1. Describir la funcionalidad y eficiencia teórica de los tratamientos bajo estudio.

Humedal artificial

En este apartado, se muestran los hallazgos investigados mediante una revisión bibliográfica de la eficiencia de los humedales artificiales para degradar contaminantes principalmente derivados del petróleo. La tabla 6, se divide por el tipo de contaminante, las plantas usadas, el tipo de humedal construido en el ensayo y la referencia de donde proviene cada estudio.

Tabla 6. Estudios de eficiencia en la degradación de contaminantes empleando humedales artificiales

<i>Humedal artificial</i>				
<i>Tipo de contaminante</i>	<i>Plantas usadas</i>	<i>Tipo de humedal artificial</i>	<i>Hallazgos</i>	<i>Autor</i>
Efluentes BTEX provenientes de procesos refinera	de <i>Salix</i> , <i>Phragmites</i> , de <i>Schoenoplectus</i> , de <i>Juncus</i> y <i>Cornus</i> .	HFSS aireado y no aireado	Investigación realizada a escalas piloto y real; la mayor eficiencia se obtuvo en los humedales aireados; La eliminación de los BTEX alcanzada fue de 94%.	Wallace y Kadlec (2005)
Aguas residuales contaminados con benceno	<i>Phragmites australis</i>	HFV	La eliminación del benceno fue de 85% en humedales con Biomasa y la remoción tomó la mitad del tiempo a la de humedales sin biomasa; el mecanismo de remoción predominante fue fitovolatilización.	Eke & Scholz (2008)
Efluente AR de un tratamiento primario con HPA y etilbenceno.	<i>Phragmites Australis</i> y <i>Arudo donax</i>	HFS, HFSS y filtro de grava	El HFSS presentó mayor eficiencia en comparación a los otros sistemas evaluados; El método de	Fountoulakis et al. (2009)

			fitorremediación predominante.	fue	
Agua de escorrentía con hidrocarburos del tubo de escape de vehículos y metales pesados	<i>Phragmites australis</i>	HFV	Obtuvo eficiencias de eliminación del 90-95%. Cumplió los estándares holandeses, europeos y estadounidenses para aguas superficiales y aguas subterráneas poco profundas.		Tromp et al. (2012)
Agua subsuperficial contaminada con benceno y MTBE	<i>Phragmites australis</i>	HF, HFSS (plantas y sin plantas)	El HF conjuntamente con el HFSS con plantas presentó eficiencias de eliminación similares.		Chen et al. (2012)
Aguas residuales generadas en una zona rural	<i>Zantedeschia aethiopica</i> , <i>Canna spp.</i> e <i>Iris spp</i>	HFSS	Se obtuvo eficiencia de eliminación de DBO ₅ entre 70 y 93%, mientras que, en la remoción de Nitrógeno Total (NT) varía entre 45 y 73% y de Fósforo Total (PT) entre 40 y 80%.		Morales, López, Vera y Vidal (2013)

Nota: HFSS: Humedal de flujo subsuperficial; HFV: Humedal de flujo vertical; HFS: Humedal de flujo superficial; HF: Humedal flotante.

Fuente: Autor, 2019

Para el primer objetivo, se tuvieron en cuenta criterios de inclusión y exclusión donde se destacan revistas indexadas, artículos y publicaciones académicas. La búsqueda se basó en las especies vegetales *Phragmites australis*, *Juncus* y *Zantedeschia aethiopica*, puesto que son las plantas sembradas en el sistema de fitorremediación de la EDS Biomax Colina, demostrando la eficiencia de éstas para tratar contaminantes industriales. En la tabla 6 se presentan los estudios sobresalientes en la degradación de compuestos derivados del petróleo, teniendo en cuenta el tipo de humedal artificial construido para el desarrollo de la investigación.

El tipo de humedal instalado en la estación de servicio es de flujo subsuperficial, como se observa en la tabla 6, los estudios que escogieron este tipo de flujo tuvieron eficiencias mayores al 70%. Según Fernández (2005) utilizan una capa de suelo o grava como sustrato para el crecimiento de las plantas, permitiendo que los líquidos lleguen por gravedad hasta las raíces de las plantas. Durante el paso del agua residual a través del sistema radicular, los sólidos son filtrados, la materia orgánica se descompone biológicamente, el nitrógeno puede ser desnitrificado y el fósforo y los metales pesados son fijados en el suelo. Las especies vegetales tienen importantes funciones en este proceso: suministrar oxígeno a los

microorganismos en la rizosfera, estabilizar la conductividad hidráulica del suelo y eliminar los contaminantes absorbiéndolos directamente en sus tejidos.

Sumado a lo anterior, la transferencia de oxígeno hacia la zona radicular por parte de estas plantas es un requisito imprescindible para que la eliminación microbiana de algunos contaminantes se realice con eficacia, estimulando además la degradación de materia orgánica y el crecimiento de bacterias nitrificantes. Los mecanismos que tienen lugar para la depuración de contaminantes constituyen una gran variedad de procesos físicos, químicos y biológicos (Fernández, 2005).

Para resaltar la funcionalidad de este método biológico, Cubillos, Pulgarín, Gutiérrez y Paredes (2014) confirman las ventajas de utilizar humedales artificiales para el tratamiento de compuestos derivados del petróleo, puesto que presentan eficiencias de 67% a 90%. Dentro de la fitorremediación, hay que tener en cuenta factores como el coeficiente de reparto del hidrocarburo, la volatilidad, el régimen de flujo y el tipo de plantas a sembrar en el humedal. Los estudios evidencian, que *Phragmites australis* ha sido la especie vegetal más utilizada en la depuración de aguas residuales, demostrado que la DQO, los nutrientes (disueltos y en partículas) y algunos metales pesados se reducen cuando interactúan con el sistema radicular de esta especie, además, la conductividad hidráulica se mejora en los lechos de los humedales para asegurar el flujo subsuperficial de las aguas. Agregando a lo anterior, *P. australis* secreta sustancias por las raíces que estimulan la degradación de los hidrocarburos y su interacción con microorganismos propios del suelo acelera la remoción de los contaminantes, incrementando así sus posibilidades de uso en el tratamiento de compuestos con alto peso molecular.

Hongos de podredumbre blanca

Para este caso, se muestran los hallazgos investigados mediante una revisión bibliográfica de la eficiencia de los hongos de podredumbre blanca para degradar residuos industriales. La tabla 7, se divide por el tipo de contaminante, hongos utilizados en el ensayo y la referencia de donde proviene cada estudio.

Tabla 7. Estudios de degradación de contaminantes industriales empleando *P. ostreatus* y *T. versicolor*

<i>Hongos de podredumbre blanca</i>			
<i>Tipo de contaminante</i>	<i>Hongos usados</i>	<i>Hallazgos</i>	<i>Autor</i>
Suelos contaminados con HPA en medio líquido.	<i>Trametes versicolor</i>	Se logró una biodegradación del 75% del antraceno después de 12 días de cultivo. Además, el hongo degradó 82% el pireno al final del experimento.	Borràs (2010)
Aguas residuales	<i>Pleurotus ostreatus</i>	y Los resultados de degradación fueron 93,19%, para <i>T. versicolor</i> y, de 63,15%, para <i>P. ostreatus</i> , los cuales,	Jaramillo, Jiménez,

contaminadas con colorantes tipo azo	<i>Trametes versicolor</i>	se alcanzaron con el inóculo fúngico obtenido del medio salvado de trigo y suplementado con extracto de malta.	Merino y Hormaza (2014)
Residuos de flores contaminados con colorante azul brillante AB	<i>Pleurotus ostreatus</i> , <i>Pleurotus pulmonarius</i> y <i>Trametes versicolor</i>	Se alcanzó un porcentaje de biodegradación del 99,14% con Pp, como cepa individual. El consorcio de Po y Pp requirió 10 días para obtener 92% de eficiencia del AB.	Rojas y Hormaza (2016)
Suelos contaminados con metales pesados	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Se empleó Inóculos de <i>Pleurotus ostreatus</i> , por un tiempo de seis meses. Disminuyó 65.7 % el contenido de metales pesados (Plomo) en el suelo.	Jiménez (2017)
Suelos contaminados con hidrocarburos totales del petróleo (HTP) e hidrocarburos policíclicos aromáticos (HAP)	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Pleurotus ostreatus</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Se evaluó la capacidad de los hongos para remover estos contaminantes. Se obtuvieron porcentajes de biodegradación que oscilaron entre 44 % y 10 %, debido al complejo enzimático presente en los microorganismos.	Ceballos y García (2018)

Fuente: Autor, 2019

Al igual que en el tratamiento biológico mencionado anteriormente, se tuvieron en cuenta criterios de inclusión y exclusión donde se destacan revistas indexadas, artículos y publicaciones académicas. En este caso, se tuvo como eje principal de la búsqueda los hongos *Pleurotus ostreatus* y *Trametes versicolor*. En la tabla 7 se presentan los hallazgos sobresalientes en la degradación de residuos industriales empleando estos microorganismos, resaltando que, en la matriz de aguas contaminadas con hidrocarburos la investigación ha sido escasa, sin embargo, los autores han profundizado en suelos.

Los hongos de podredumbre blanca (HPB) son organismos eficientes en la degradación de la lignina, un polímero estructural de las plantas leñosas. Según Jaramillo, Jiménez, Merino y Hormaza (2014) este proceso está asociado con la producción de enzimas peroxidasas y fenoloxidasas, como lignina peroxidasa (LiP), manganeso peroxidasa (MnP) y lacasa, las cuales, son sintetizadas extracelularmente y poseen la capacidad de desintegrar una gran variedad de enlaces moleculares heterogéneos. Con base en lo anterior, varios autores han planteado que, si dichos organismos pueden degradar sustancias de estructura compleja, también pueden ejercer acción hidrolítica sobre compuestos xenobióticos y recalcitrantes de estructura más simple.

En cuanto a la funcionalidad, Martín, González y Blanco (2004) señalan que los hongos tienen la habilidad para transformar una gran variedad de compuestos orgánicos y llevarlos hasta CO₂ y H₂O, porque ofrecen un potencial indiscutible para su utilización en procesos de biorremediación. Esa

capacidad radica fundamentalmente en las características de su sistema enzimático y en su vigoroso crecimiento que les permite, a través del desarrollo de su micelio, colonizar diferentes tipos de sustratos y acceder a los compuestos contaminantes más frecuentes presentes en agua y suelos.

Más exactamente, las especies fúngicas *T. versicolor* y *P. ostreatus*, han reportado porcentajes de degradación del 87% (Jaramillo, Jiménez, Merino y Hormaza, 2014). Por una parte, Déley (2010) utilizó cepas de *P. ostreatus* para suelo contaminado de zonas de derrame. Se alcanzó una eficiencia de hasta 97%, y en interacción con la flora bacteriana autóctona presente en bajas cantidades, se logró reducir los HTP en un porcentaje similar en tiempo menores, demostrando así su potencial como biodegradador de suelos afectados con hidrocarburos. Y como se evidencia en la tabla 7, Borràs (2010), empleó *Trametes versicolor* para tratar HPA, obteniendo así una eficiencia del 82% en pireno al final de los ensayos.

2. *Determinar la eficiencia de los tratamientos biológicos evidenciada en los parámetros físicos y químicos en el agua hidrocarburada.*

Humedal artificial

En la siguiente tabla, se evidencian los resultados obtenidos de la caracterización realizada por ANALQUIM LTDA del sistema de fitorremediación instalado en la EDS Colina. Como se observa, se redujeron considerablemente todos los parámetros analizados, resaltando la remoción de la DQO en un 91,6% y de la DBO con una eficiencia de 99%.

Tabla 8. Resultados obtenidos de la remoción del humedal artificial

<i>Porcentajes de remoción del humedal artificial</i>				
<i>Parámetro</i>	<i>Unidades</i>	<i>Valor entrada</i>	<i>Valor salida</i>	<i>Remoción (%)</i>
pH	Unidades de pH	6,21	7,06	N.A.
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	mg/L O ₂	298	25	91,6
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)	mg/L O ₂	209	2	99,0
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	mg/L	36	<5	86,1
Sólidos Sedimentables	mL/L	0,2	<0,1	N.A.

Fuente: ANALQUIM LTDA, 2018

Para la Estación de Servicio de Colina se demuestra la eficiencia y el correcto funcionamiento de los humedales de flujo vertical (figura 6), pues según Jácome (2014) este tipo de sistemas logran ser una solución óptima para la depuración de aguas residuales al tener flujos discontinuos o intermitentes y en esta EDS el proceso de retención del agua permanece una semana en el sistema de fitorremediación, haciendo recirculación día de por medio con el fin de darle oxigenación a las aguas vertidas.

Teniendo en cuenta a Cubillos (2011) en el cual se referencian dos estudios, el primero acerca de doce humedales de flujo vertical sembrados con *Phragmites australis* donde trataron agua residual contaminada con benceno y alcanzaron remociones entre 97% y 100%, y el segundo, en el cual se evaluaron dos humedales construidos de flujo subsuperficial que trataron aguas contaminadas con hidrocarburos, alcanzando eficiencias del 90% demostrando alta eficiencia para depurar este tipo de residuos industriales.

Como se muestra en la tabla 8 hubo una remoción de DQO de 91,6% y de DBO del 99%, indicando un correcto funcionamiento y eficiencia del sistema. Según Reyes (2016) *Phragmites Australis* representa una ventaja significativa de adaptación al ambiente y resistencia a los hidrocarburos, igualmente su condición operativa en cuanto a remoción de contaminantes de características orgánicas como la DBO₅ y DQO. Así mismo, Castañeda y Flores (2013) en su estudio relacionado con el tratamiento de aguas residuales domésticas en el cual se usó *Phragmites australis*, se pudo observar que hubo una remoción en más del 86% en cuanto a la concentración de la demanda bioquímica de oxígeno. Estos resultados indican que esta especie principalmente, es de gran utilidad no solo para tratar ARD sino en este caso aguas provenientes de estaciones de servicio y disminuir las concentraciones de materia orgánica.

También se muestra en la tabla 8 que hubo una remoción de los Sólidos Suspendidos Totales (SST) del 86,1% siendo un tratamiento óptimo. Según Cubillos (2011) el flujo de oxígeno hacia las raíces de las *Phragmites* puede llegar a ser hasta de 4.3 g/m², facilitando el proceso de filtración a medida que las raíces abren paso al flujo del agua, reteniendo los sólidos lo que hace que este parámetro disminuya considerablemente.

Cubillos (2011) describe un estudio en el cual se evaluaron dos humedales construidos de flujo superficial y flujo subsuperficial horizontal sembrados con *Phragmites australis* y *Canna indica*, para el tratamiento de agua residual doméstica con el fin de comparar cuál de los dos tipos de flujo funcionaba mejor y encontraron que el humedal de flujo subsuperficial tiene mayor potencial para la remoción de materia orgánica y sólidos suspendidos totales que el humedal de flujo superficial. Así mismo, en humedales de flujo subsuperficial la eficiencia de remoción de sólidos suspendidos totales es entre el 88% y el 90%, siendo bastante alta en sistemas sembrados pues las macrófitas que los componen crean condiciones adecuadas para la sedimentación de los sólidos suspendidos (SS) y al mismo tiempo, son las responsables de transportar aproximadamente el 90% del oxígeno disponible en la rizósfera estimulando la descomposición aeróbica de la materia orgánica (Lee & Scholz, 2006).

Figura 6. Humedal artificial de la EDS Biomax Colina



Fuente: Autor, 2019

Hongos de podredumbre blanca

En la tabla 9 se muestran los resultados obtenidos en la fase experimental de la DBO mediante el método respirométrico por Oxitop. La única remoción que se logró fue con el tratamiento sin esterilizar en el primer día, con un porcentaje de 83,33. Al pasar los días, en el ensayo estéril los valores aumentaron considerablemente con respecto a la muestra inicial.

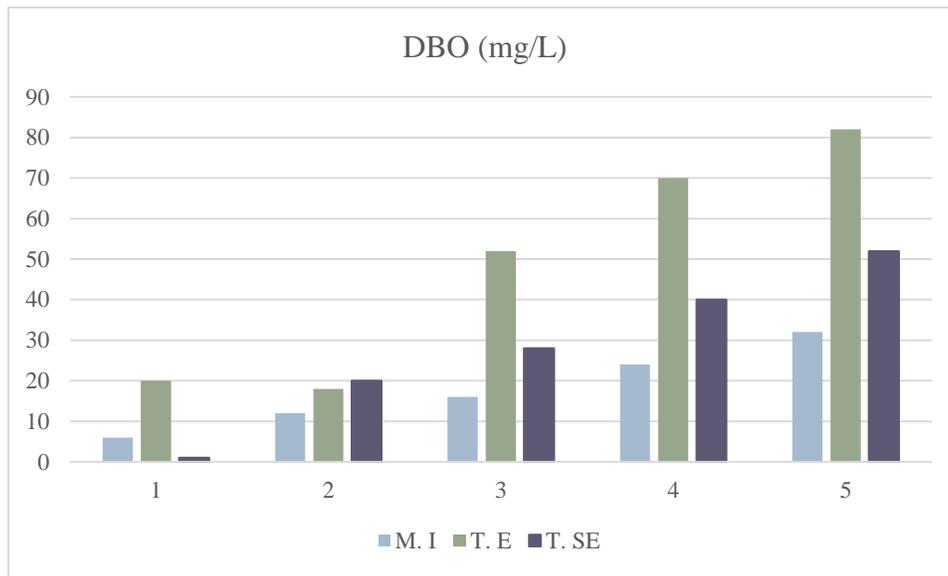
Tabla 9. Valores obtenidos en la medición de DBO

<i>Día</i>	<i>DBO (mg/L)</i>				
	<i>M. I</i>	<i>T. E</i>	<i>T. SE</i>	<i>RTE (%)</i>	<i>RTSE (%)</i>
1	6	20	1	N.A	83,33
2	12	18	20	N.A	N.A
3	16	52	28	N.A	N.A
4	24	70	40	N.A	N.A
5	32	82	52	N.A	N.A

Nota: M.I: Muestra inicial; T.E: Tratamiento estéril; T. SE: Tratamiento sin esterilizar; RTE: Remoción tratamiento estéril; RTSE: Remoción tratamiento sin esterilizar; N.A: No aplica

Fuente: Autor, 2019

Figura 7. Gráfica de las concentraciones obtenidas de DBO



Fuente: Autor, 2019

En cuanto a la DQO, se consiguió una remoción de 6,77% en el tratamiento estéril por medio del método de espectrofotometría como se observa en la tabla 10, para las demás réplicas los valores aumentaron en comparación a la muestra inicial, obteniendo datos entre 3100 y 4700 mg/L, por lo cual no se pudo conseguir una eficiencia para la mayoría de las repeticiones.

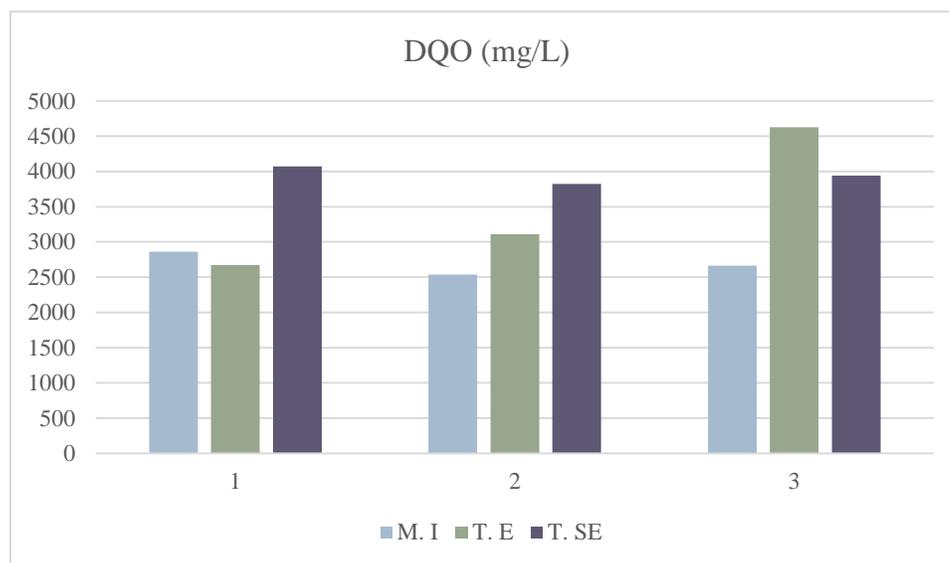
Tabla 10. Valores obtenidos en la medición de DQO

<i>Réplica</i>	<i>DQO (mg/L)</i>			<i>RTE (%)</i>	<i>RTSE (%)</i>
	<i>M. I</i>	<i>T. E</i>	<i>T. SE</i>		
1	2864	2670	4071	6,77	N.A
2	2536	3110	3825	N.A	N.A
3	2662	4629	3942	N.A	N.A

Nota: M.I: Muestra inicial; T.E: Tratamiento estéril; T. SE: Tratamiento sin esterilizar; RTE: Remoción tratamiento estéril; RTSE: Remoción tratamiento sin esterilizar; N.A: No aplica

Fuente: Autor, 2019

Figura 8. Gráfica de las concentraciones obtenidas de DQO



Fuente: Autor, 2019

En cuanto a los resultados obtenidos, solamente hubo remoción de 83,33% para el día 1 de la DBO y de 6,77% para la DQO de la réplica 1 del tratamiento estéril como se observa en las tablas 9 y 10, respectivamente. Para las demás réplicas, se observa un aumento de las concentraciones de estos parámetros para ambos tratamientos en comparación con la muestra inicial (figura 7 y 8). Según Rodríguez et al. (2008) señalan que los compuestos de alto peso molecular no se degradan fácilmente por los microorganismos y, por lo tanto, los derivados del petróleo pasan a través de sistemas de tratamiento biológico en gran parte sin degradar. Además, los fenoles presentes en las aguas residuales tienen efectos antimicóticos, lo que limita el tratamiento convencional mediante procesos aeróbicos-anaeróbicos. Estudios mencionados por estos autores, informaron que *Pleurotus ostreatus* es capaz de degradar las aguas residuales con alto contenido de polifenoles. Sin embargo, las capacidades de disminución de los hongos de la pudrición blanca variaron con las condiciones de cultivo. Con relación a esto último, al parecer la muestra del efluente de estación de servicio está limitada en nutrientes tales como carbono, nitrógeno y fósforo, que pueden funcionar como fuente de energía.

Además de lo anterior, Grisales, Ortega y Rodríguez (2012) indican que al obtener aumentos de DBO durante el ensayo la materia orgánica no fue mineralizada, sólo fue transformada a un estado menos biodegradable, es decir que hubo al parecer una oxidación parcial de este parámetro. Además de esto, Escudero, Daza, Gil y Mora (2013) señalan que puede ser debido a un posible efecto de represión enzimática asociado al exceso de sustrato utilizado como medio de cultivo, puesto que las altas concentraciones de los compuestos xenobióticos del efluente inhiben la actividad enzimática de los hongos.

En cuanto al pH, se midió por medio del pHmetro obteniendo valores entre 4,5 y 6. Como se observa en la tabla 11, los valores en el tratamiento estéril disminuyeron en promedio una unidad y los del ensayo sin esterilizar fueron similares a la muestra inicial. Sin embargo, el pH se mantuvo ácido durante todo el procedimiento.

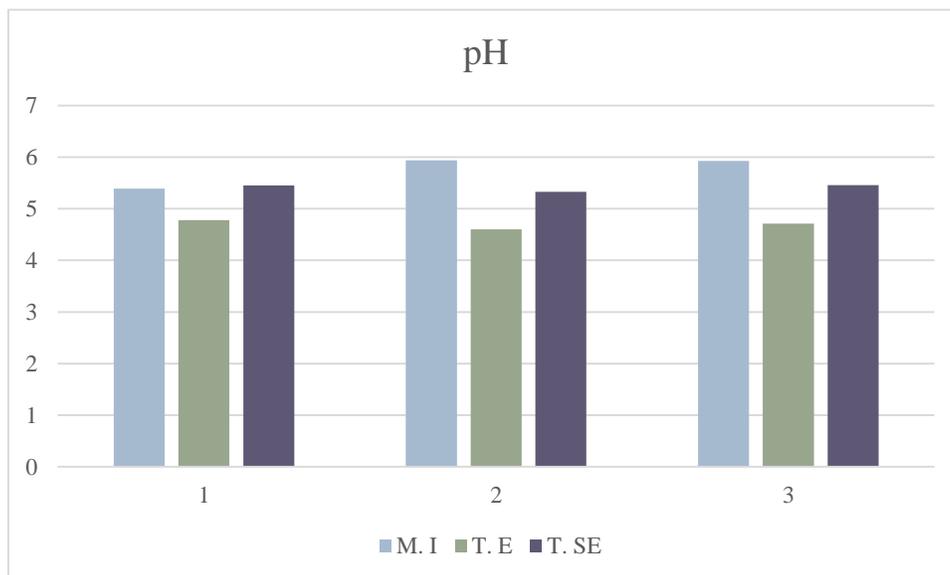
Tabla 11. Valores obtenidos en la medición de pH

<i>Réplica</i>	<i>pH</i>		
	<i>M. I</i>	<i>T. E</i>	<i>T. SE</i>
1	5,39	4,78	5,45
2	5,94	4,6	5,33
3	5,93	4,71	5,46

Nota: M.I: Muestra inicial; T.E: Tratamiento estéril; T. SE: Tratamiento sin esterilizar; RTE: Remoción tratamiento estéril; RTSE: Remoción tratamiento sin esterilizar; N.A: No aplica

Fuente: Autor, 2019

Figura 9. Gráfica de los resultados obtenidos de pH



Fuente: Autor, 2019

Para este parámetro, se observó un comportamiento similar con valores bajos durante todo el procedimiento, alcanzando niveles de pH de 4,6 a 5,5 como se muestra en la figura 9 entre los dos tratamientos al finalizar los 15 días. Según Díaz (2009) la actividad enzimática de estos hongos favorece un pH ácido, lo cual sugiere que el medio de cultivo fue capaz de mantener constante este parámetro durante toda la fermentación. Además, otro estudio referenciado por este autor, indicó que el pH del

medio de cultivo y la velocidad de agitación son determinantes en la producción de las enzimas. En un ensayo de producción de xilanasas por *Aspergillus oryzae*, se observó que a pH de 7,5 la velocidad de crecimiento y producción de xilanasas es mayor con respecto a lo que se evidenció a un pH de 4.0.

Agregando a lo anterior, Madzak et al. (2006) indican que el estado de protonación de los derivados xenobióticos como los hidrocarburos y pesticidas permanecen sin cambios en este rango de pH, puesto que, la interacción entre el medio de cultivo y las enzimas de estos hongos podría ser una consecuencia de la desprotonación de una de las cadenas laterales de aminoácidos que interactúan con el efluente de estación de servicio, sugiriendo niveles constantes de pH más ácido debido a una desprotonación favorecida por el sustrato reductor.

El último parámetro medido fue la turbidez, como se observa en la tabla 12 no se obtuvieron eficiencias en ninguna de las repeticiones de los tratamientos evaluados. Incluso, para las réplicas 1 y 3 del ensayo sin esterilizar el turbidímetro no arrojó un valor exacto, mostrando datos fuera de rango (FR). Para las demás réplicas, la turbidez aumentó en comparación con la muestra inicial, hasta 2259 en una de las muestras del tratamiento sin esterilizar.

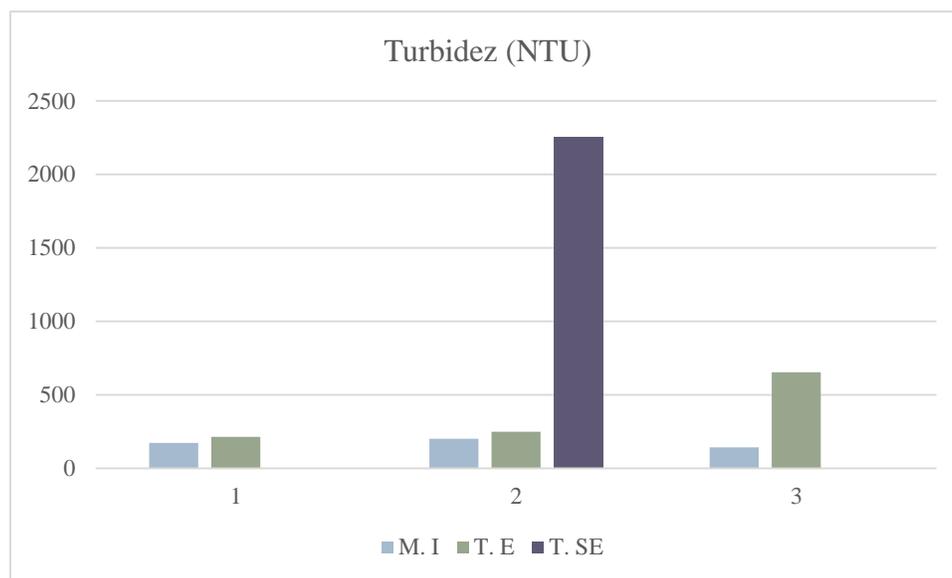
Tabla 12. Valores obtenidos en la medición de turbidez

<i>Réplica</i>	<i>Turbidez (NTU)</i>				
	<i>M. I</i>	<i>T. E</i>	<i>T. SE</i>	<i>RTE (%)</i>	<i>RTSE (%)</i>
1	173	213	FR	N.A	N.A
2	200	248	2259	N.A	N.A
3	142	653	FR	N.A	N.A

M.I: Muestra inicial; T.E: Tratamiento estéril; T. SE: Tratamiento sin esterilizar; RTE: Remoción tratamiento estéril; RTSE: Remoción tratamiento sin esterilizar; FR: Fuera de rango; N.A: No aplica

Fuente: Autor, 2019

Figura 10. Gráfica de los resultados obtenidos para turbidez



Fuente: Autor, 2019

Como se muestra en la tabla 12 es importante mencionar que no se presentaron diferencias significativas para las condiciones experimentales estudiadas con *P. ostreatus* y *T. versicolor*, puesto que los valores aumentaron en comparación con la muestra inicial. Además, observando la figura 11 y 12 la coloración oscura debido a los sólidos suspendidos de la muestra de agua se mantuvo hasta el final del procedimiento. Referente a la turbidez no se evidencian estudios relacionados con la degradación de hongos en efluentes con trazas de hidrocarburos. Sin embargo, Tapie, Prato y Sánchez (2016) destacan que la reducción de sólidos es de gran importancia ya que son responsables del aumento de la turbidez en las aguas. Una turbiedad elevada reduce la actividad fotosintética y podría generar depósitos sobre el fondo de los cauces favoreciendo la aparición de condiciones anaerobias.

Aunque en la fase experimental de laboratorio no se midieron grasas y aceites, cabe la posibilidad que hayan afectado la turbidez de la muestra porque según Londoño, Giraldo y Gutiérrez (2010) estos residuos incluyen sustancias de carbono de cadena larga, principalmente ácidos grasos, grasas, ceras y aceites cuya concentración en el agua produce manchas aceitosas sobre la superficie del agua y acumulaciones de grasa sobre las paredes lo que pudo interferir en la lectura del turbidímetro.

Por otra parte, Gómez et al. (2005) señalaron las diferencias en la decoloración entre dos efluentes de la industria papelera, uno estéril y otro no estéril. Verificaron que la cantidad de sólidos suspendidos del agua residual al ser esterilizada, cambia la conformación de éstos, generando un aumento relativo en las unidades de color y también por la cantidad de microorganismos nativos del agua residual que pueden generar una acumulación de metabolitos en el efluente disminuyendo así el porcentaje de decoloración por parte de *Trametes versicolor*.

Figura 11. Tratamiento estéril al finalizar ensayo



Fuente: Autor, 2019

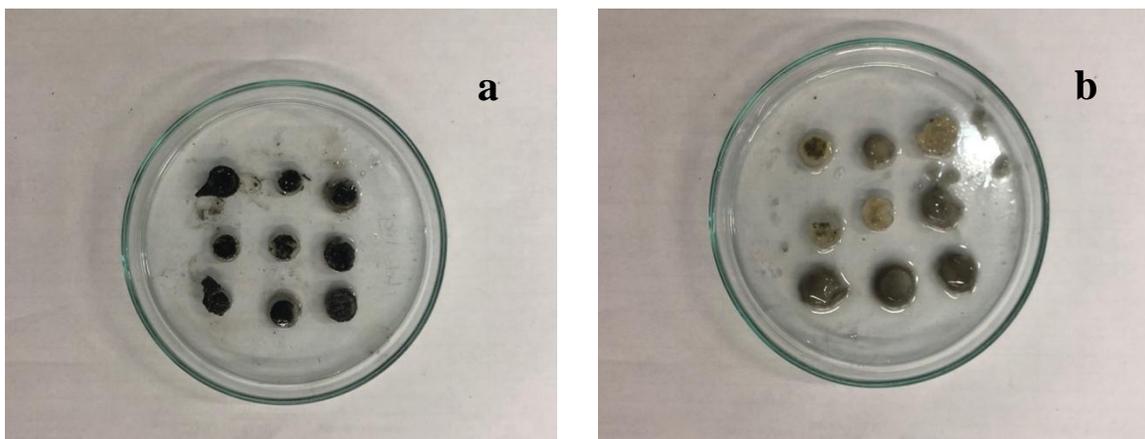
Figura 12. Tratamiento sin esterilizar al finalizar ensayo



Fuente: Autor, 2019

En la figura 13, se muestran los discos de los hongos de *Pleurotus ostreatus* y *Trametes versicolor* pasados los 15 días del ensayo de degradación. En la figura (a), se observan los discos un poco más negros debido a que las réplicas del tratamiento estéril estaban más cargadas de lodos. En cambio en el ensayo sin esterilizar (figura (b)), después de absorbido el hidrocarburo, los discos tomaron una apariencia más ancha y una textura algodonosa de color grisáceo.

Figura 13. Hongos al finalizar ensayo (a) Tratamiento estéril (b) Tratamiento sin esterilizar



Fuente: Autor, 2019

Muchos de los contaminantes más persistentes en el ambiente como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) son resistentes al tratamiento microbiológico, según Martín, González y Blanco (2004) puede deberse a las siguientes causas: toxicidad de los compuestos para los microorganismos e incapacidad genética de los microorganismos para usar el contaminante como fuente de carbono y energía. Además, la alteración de las condiciones ambientales influye en el desarrollo adecuado de las poblaciones microbianas para degradar los contaminantes orgánicos que se trate. Estos cambios pueden incluir: ajuste de la concentración del compuesto, pH, concentración de oxígeno o temperatura, adición de nutrientes o microorganismos aclimatados al uso del contaminante en cuestión.

Martín, González y Blanco (2004) también señalan que los PAH pueden ser metabolizados o transformados parcialmente como segundo sustrato, más específicamente, ser degradados por un proceso de co-metabolismo. Esto facilita que los microbios crezcan sobre un compuesto produciendo al mismo tiempo enzimas que transformen otras moléculas, que, sin embargo, no podrían utilizar directamente para crecer. Además, una gran variedad de reacciones enzimáticas tales como oxidaciones, hidrólisis, deshalogenaciones reductoras, entre otras, catalizan los procesos co-metabólicos. Aunque el tratamiento biológico no puede degradar contaminantes inorgánicos (metales y radionúclidos), puede ser usado para cambiar la Valencia de los mismos y causar adsorción, incorporación, acumulación y concentración de dichos compuestos, tanto en microorganismos como en organismos superiores.

Sumado a lo anterior, Rojas y Hormaza (2016) señalan que los hongos que realizan la descomposición aeróbica de un sustrato requieren de una cantidad más grande de carbono que de nitrógeno para generar un ambiente óptimo de desarrollo, indicando que el porcentaje de carbono total influye en la corrida del micelio debido que a mayor cantidad de carbono el hongo se adapta con mayor facilidad para la degradación del sustrato y lo usa para su crecimiento y formación de biomasa.

A pesar de los resultados obtenidos en este estudio, hay que aclarar que la degradación por hongos de podredumbre blanca se produce en dos pasos según Petit et al. (2013) los sistemas hidrolítico y oxidativo intervienen en la degradación de varios contaminantes. Por un lado, el hidrolítico produce hidrolasas encargadas de la transformación de macromoléculas, y el oxidativo actúa mediante enzimas lignolíticas,

responsables de la reducción de los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA). La ventaja de este mecanismo radica en la estructura irregular de la molécula de lignina, que hace que los hongos adaptados a su asimilación produzcan enzimas con muy baja especificidad de sustrato que los hace adecuados para la degradación de diferentes compuestos. Explicado lo anterior, estos autores utilizaron como única fuente de carbono diesel para degradar algunos compuestos como antraceno, fluoranteno y pireno, por medio de *Aspergillus versicolor*. Así, demostraron la capacidad de esta cepa fúngica para degradar compuestos derivados del petróleo, puesto que evidenciaron la biotransformación de los HPA entre 15% y 20% utilizando la cromatografía de gases.

Cabe aclarar que, al momento de comparar los estudios teóricos sobre la funcionalidad de los tratamientos biológicos con la fase experimental a niveles de eficiencia, en la mayoría de los estudios los parámetros escogidos de DBO, DQO, SST y pH fueron los mismos que los autores consultados. Sin embargo, hubiera sido propicio evaluar los hidrocarburos totales de petróleo (HTP), grasas y aceites, pero por cuestiones de tiempo y recursos económicos no se pudieron incluir dentro del proyecto.

3. Analizar los parámetros evaluados al final de cada tratamiento en relación con la Resolución 0631 de 2015 para verificar cumplimiento legal.

En la tabla 13, se muestran los resultados obtenidos en los tratamientos biológicos evaluados y los valores máximos permisibles para cada parámetro de interés según la Resolución 631 de 2015.

Tabla 13. Resultados obtenidos en comparación con la Resolución 631 de 2015

<i>Parámetro</i>	<i>Unidades</i>	<i>Valores obtenido en humedal artificial</i>	<i>Valor obtenido por hongos</i>		<i>Valor máximo permisible (Artículo 16)</i>
			<i>T.E</i>	<i>T.SE</i>	
pH	Unidades de pH	7,06	4,70	5,41	5,00 a 9,00
DQO	mg/L O ₂	25	3470	3946	270,00
DBO	mg/L O ₂	2	48,4	28,2	90,00
SST	mg/L	<0,5	371	753	75,00

Fuente: Autor, 2019

Para el último objetivo, se tuvo en cuenta la Resolución 631 de 2015, específicamente el artículo 16 por lo que la EDS Colina vierte sus efluentes al alcantarillado público. Según el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible (2015) los parámetros físicos y químicos y sus valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales de Aguas Residuales no Domésticas (ARnD) de las actividades asociadas con hidrocarburos (petróleo crudo, gas natural y derivados) se debe cumplir con los valores establecidos plasmados en la tabla 13.

Al comparar los tratamientos biológicos con la resolución nombrada anteriormente, se evidencia que los parámetros obtenidos con el humedal artificial cumplen con los valores permisibles, logrando 7,06

de pH, 25 mg/L de DQO, 2 mg/L de DBO y <0,5 mg/L de SST. Esto demuestra que el sistema de fitorremediación implementando en la EDS es eficiente y puede verter las aguas residuales tratadas al alcantarillado público bajo el cumplimiento legal.

En cuanto al tratamiento de los hongos de pudrición blanca, los valores obtenidos en las 3 réplicas de los 2 ensayos fueron promediado para conseguir un valor más exacto y poder compararlo con la normatividad. Como se observa en la tabla 13, los parámetros que cumplen son el pH en el tratamiento sin esterilizar con un valor de 5,41 y la DBO para el tratamiento estéril y sin esterilizar logrando resultados de 48,4 y 28,2 mg/L respectivamente. Las variables restantes, exceden el valor máximo permisible por la Resolución 631 de 2015, por lo cual, no se podría verter al alcantarillado empleando este método biológico.

Análisis variables económicas

Se realizó un análisis de las variables económicas planteadas en la metodología, teniendo en cuenta la inversión necesaria para cada tratamiento biológico, el costo de mantenimiento y de los equipos según fuera el caso, para determinar la rentabilidad y los ahorros mediante los flujos futuros en un periodo de tiempo traídos al valor presente.

Costos para humedal artificial

En las estaciones de servicio, se tiene como sistema de tratamiento trampas de grasa para la depuración de los hidrocarburos presentes en las aguas residuales, que posteriormente son vertidas al alcantarillado. Como se muestra en la tabla 14, se tuvo en cuenta el valor de la construcción de la trampa de grasa, la contratación de Vactor que se realiza por medio de un tercero y consiste en la recolección de los lodos generados durante la operación y el mantenimiento de dicho método, que incluye reparación de fisuras, cambios de la estructura, tuberías, entre otras.

Tabla 14. Costos del sistema de tratamiento (trampa de grasa)

<i>Costo Ambiente (Sin fitorremediación)</i>	<i>Costo Anual</i>
Construcción trampa de grasa	\$ 6.000.000
Contratación de Vactor	\$ 3.000.000
Mantenimiento trampa de grasa	\$ 500.000
Total	\$ 9.500.000

Fuente: Área ambiental, 2019

Para el humedal artificial se tuvo en cuenta las inversiones necesarias para realizar el proyecto. En la tabla 15 se desglosan los materiales y recursos necesarios para llevar a cabo la construcción del sistema de fitorremediación, los cuales, fueron proporcionados por el área ambiental de la compañía.

Tabla 15. Inversión inicial para la construcción del humedal artificial

Ítem	Costo
Componente hidráulico y eléctrico del sistema	\$ 1.880.200
Estética de la estructura (Pintura)	\$ 287.980
Instalación de especies vegetales	\$ 666.400
Sistema de bomba eléctrica	\$ 254.900
Fertilizante IRRICOL	\$ 24.000
Pruebas físicas y químicas	\$ 1.200.000
Recipiente en fibra de vidrio	\$ 3.951.157
Honorarios	\$ 1.600.000
Total	\$ 9.864.637

Fuente: Área ambiental, 2019

En la tabla 16, se mencionan los recursos necesarios para el mantenimiento del humedal artificial después de su instalación, teniendo en cuenta el remplazo de las especies vegetales que se deterioren, la aplicación del fertilizante y reparaciones a la estructura por fisuras, desgaste de pintura o daño en las tuberías.

Tabla 16. Costos de mantenimiento del sistema de fitorremediación

Costos de mantenimiento fitorremediación	Costo Anual
Instalación de especies vegetales	\$ 666.400
Fertilizante IRRICOL	\$ 24.000
Mantenimiento estructura	\$ 250.000
Total	\$ 940.400

Fuente: Área ambiental, 2019

Los costos mencionados anteriormente fueron la base para el cálculo de los flujos futuros de ahorros, como se muestra en la tabla 17, se proyectó para 5 años teniendo en cuenta un aumento del Índice de Precios al Consumidor (IPC) del 3%. Así mismo, dentro de los ahorros se planteó los ingresos del sistema de tratamiento actual en la EDS, puesto que, con la implementación del humedal artificial ya no habría la necesidad de construir la trampa de grasa, y con la diferencia de estos costos se obtuvo la utilidad del proyecto en desarrollo.

Tabla 17. Proyección de flujos de ahorros

<i>Concepto</i>	<i>Año 1</i>	<i>Año 2</i>	<i>Año 3</i>	<i>Año 4</i>	<i>Año 5</i>
IPC Py	3,20%	3,00%	3,00%	3,00%	3,00%
Ingresos (Ahorros)					
Construcción trampa de grasa	\$ 6.000.000	\$ -	\$ -	\$ -	\$ -
Contratación de Vactor	\$ 3.000.000	\$ 3.090.000	\$ 3.182.700	\$ 3.278.181	\$ 3.376.526
Mantenimiento trampa de grasa	\$ 500.000	\$ 515.000	\$ 530.450	\$ 546.364	\$ 562.754
Total Ahorros	\$ 9.500.000	\$ 3.605.000	\$ 3.713.150	\$ 3.824.545	\$ 3.939.281
Costo mantenimiento					
Instalación de especies vegetales	\$ 666.400	\$ 686.392	\$ 706.984	\$ 728.193	\$ 750.039
Fertilizante IRRICOL	\$ 24.000	\$ 24.720	\$ 25.462	\$ 26.225	\$ 27.012
Mantenimiento estructura	\$ 250.000	\$ 257.500	\$ 265.225	\$ 273.182	\$ 281.377
Costo Mantenimiento	\$ 940.400	\$ 968.612	\$ 997.670	\$ 1.027.600	\$ 1.058.428
Utilidad proyecto	\$ 8.559.600	\$ 2.636.388	\$ 2.715.480	\$ 2.796.944	\$ 2.880.852

Fuente: Autor, 2019

En los valores presentados en la tabla 17, se observa que en el primer año el ahorro es de \$9.500.000, debido a los costos necesarios para la construcción de la trampa de grasa, para los siguientes años disminuye a un valor promedio de \$3.770.494, porque se contemplan los ahorros solamente del Vactor y arreglos del sistema. En cuanto al mantenimiento del humedal son costos fijos que se mantienen para su correcto funcionamiento, teniendo en cuenta el incremento del IPC por año. Por otra parte, al restar los costos de mantenimiento a los ahorros plantados, se calcula una utilidad promedio de \$2.757.416 para los últimos cuatro años.

Costos hongos de podredumbre blanca

Para el tratamiento mixto con hongos de podredumbre blanca se realizó el mismo procedimiento para calcular las variables económicas planteadas en la tabla 3. En este apartado, se observan los materiales y equipos necesarios para realizar el ensayo de degradación, se calculó por medio del costo anual del equipo por las horas que se utilizó cada uno en el laboratorio, para así sacar el costo total real de la prueba.

Tabla 18. Inversión inicial para el tratamiento mixto de hongos

<i>Ítem</i>	<i>Costos</i>	<i>Vida Útil</i>	<i>Costo Anual</i>	<i>\$COP/h</i>
Autoclave	4.000.000	15	266.667	62
Cabina de flujo laminar	1.000.000	5	200.000	116
Turbidímetro	2.226.000	10	222.600	103
Incubadora	1.200.000	8	150.000	69
pHmetro	500.000	4	125.000	58
Balanza analítica	3.000.000	6	500.000	116
Agitador orbital	2.000.000	6	333.333	13.889
Espectrofotómetro	2.330.218	8	291.277	135
Método respirométrico por Oxitop	850.000	8	106.250	1.476
Agar extracto de malta				57.938
Cepas de microorganismos				500.000
Vidriería	550.000	10	55.000	2.292
Total	17.656.218	80	2.250.127	576.253

Fuente: Autor, 2019

Los costos mencionados anteriormente fueron la base para el cálculo de los flujos futuros de ahorros, como se muestra en la tabla 19, se proyectó para 5 años teniendo en cuenta un aumento del Índice de Precios al Consumidor (IPC) del 3%. Así mismo, dentro de los ahorros se planteó los ingresos del sistema de tratamiento actual en la EDS, puesto que, con el tratamiento mixto de hongos de podredumbre blanca ya no habría la necesidad de construir la trampa de grasa, y con la diferencia de estos costos se obtuvo la utilidad del proyecto en desarrollo.

Tabla 19. Proyección de flujos de ahorros

<i>Concepto</i>	<i>Año 1</i>	<i>Año 2</i>	<i>Año 3</i>	<i>Año 4</i>	<i>Año 5</i>
IPC Py	3,20%	3,00%	3,00%	3,00%	3,00%
Ingresos (Ahorros)					
Construcción trampa de grasa	\$ 6.000.000	\$ -	\$ -	\$ -	\$ -
Contratación de Vactor	\$ 3.000.000	\$ 3.090.000	\$ 3.182.700	\$ 3.278.181	\$ 3.376.526

Mantenimiento trampa de grasa	\$ 500.000	\$ 515.000	\$ 530.450	\$ 546.364	\$ 562.754
Total Ahorros	\$ 9.500.000	\$ 3.605.000	\$ 3.713.150	\$ 3.824.545	\$ 3.939.281

Costo mantenimiento

N° Tratamientos					
Demás Costos	\$ 1.830.064	\$ 1.884.966	\$ 1.941.515	\$ 1.999.761	\$ 2.059.754
Cepas Microorganismos	\$ 500.000	\$ 515.000	\$ 530.450	\$ 546.364	\$ 562.754
Costo mantenimiento	\$ 2.330.064	\$ 2.399.966	\$ 2.471.965	\$ 2.546.124	\$ 2.622.508
Utilidad proyecto	\$ 7.169.936	\$ 1.205.034	\$ 1.241.185	\$ 1.278.420	\$ 1.316.773

Fuente: Autor, 2019

Para la proyección de flujos de ahorros del tratamiento mixto con hongos (tabla 19), se tuvo en cuenta como ahorros (al igual que en el humedal artificial) los gastos incurridos en la trampa de grasa, para el primer año un ahorro de \$9.500.000, y para los siguientes periodos un valor promedio de \$3.770.494, porque se contemplan los gastos solamente del Vactor y arreglos del sistema. El mantenimiento incluye las cepas de los microorganismos y demás costos, que hacen alusión a los equipos y materiales de la tabla 18, los cuales son costos fijos para realizar el ensayo de degradación, planteando al mismo tiempo un número de 24 tratamientos al año como referencia para realizar en la EDS. Por otra parte, al restar los costos de mantenimiento a los ahorros plantados, se calcula una utilidad promedio de \$1.260.353 para los últimos cuatro años.

Con los costos obtenidos para cada método, se calculó las variables económicas planteadas en la tabla 3. Por un lado, el VPN (ecuación 2 de la tabla 3) para el humedal artificial arrojó que se está obteniendo una ganancia de 1,59 y para los hongos 20,27 por cada peso que se invierte, teniendo en cuenta los flujos futuros para cada tratamiento traídos a valor presente (Valencia, 2011). Así mismo, Duarte, Jiménez y Ruíz (2007) mencionan que la rentabilidad de un proyecto en un periodo de tiempo debe calcularse teniendo en cuenta la inversión propuesta; basándose en esto, se obtuvo una rentabilidad del 39% para el sistema de fitorremediación y una tasa de retorno de 1352% para los hongos de podredumbre blanca, esto debido a que no se necesita destinar recursos económicos a una estructura física, sólo se invierte en las cepas de los microorganismos. Y finalmente, aplicando la ecuación 3 de la tabla 3, se demostraron ahorros de \$19.589.264 para el humedal y de \$12.211.347 para los hongos.

Como se pudo evidenciar en los resultados obtenidos, sólo el humedal fue eficiente para tratar los efluentes de estación de servicio. Aunque no se lograron datos de degradación de los parámetros con el tratamiento mixto de hongos, se incluyó el análisis y flujos de ahorros para esta tecnología con el fin de conocer el costo de inversión para posibles ensayos futuros y los beneficios económicos que traería. Como lo indican Garzón, Rodríguez y Hernández (2017) la biorremediación es a menudo considerada como un tratamiento económico y efectivo para el ambiente porque incurre en pocos materiales para la depuración de los contaminantes y se puede realizar *in situ*.

Conclusiones

En la determinación de la eficiencia mediante la revisión documental, se confirma el potencial del humedal como sistema en la remoción de efluentes de estación de servicio. Esta alternativa de tratamiento se convierte en una solución prometedora para reducir los efectos causados por la contaminación a través de estos compuestos con la clara ventaja de la aplicación en forma *ex situ* o *in situ*. Además, es importante conocer las características fisiológicas y morfológicas de las plantas que se utilizarán para reducir estos efluentes residuales, esto conducirá al empleo de macrófitas con una respuesta positiva hacia la tolerancia de los compuestos y así, comprender los procesos involucrados de remoción e interacción entre especie vegetal, suelo y microorganismos que permiten transformar o reducir la concentración de los hidrocarburos.

En lo referente a la revisión de la literatura de la utilización de las capacidades degradadoras de los hongos de podredumbre blanca, se evidenció que se han empleado en diferentes residuos industriales como colorantes de la industria textil, vinazas, pesticidas, entre otras. En los derivados del petróleo la investigación se ha enfocado en la depuración de este contaminante en los suelos, siendo escasos los estudios en el tratamiento de aguas residuales hidrocarburadas. En general, es importante comprender las características fisiológicas y bioquímicas de los consorcios microbianos involucrados, junto con el conocimiento de la naturaleza del emplazamiento y la elección de un protocolo adecuado, puesto que son requisitos esenciales para lograr el objetivo de dichos tratamientos.

La fitorremediación y específicamente los humedales artificiales demuestran su eficiencia en la disminución de parámetros que intervienen en la calidad del efluente de estación de servicio, situación que favorece el empleo de estos sistemas, por las ventajas económicas, ecológicas y funcionales que poseen. Específicamente en el humedal de flujo vertical (HFV), se presentaron resultados prometedores para el tratamiento de estas aguas residuales como se observó en los datos conseguidos en la caracterización. Por lo tanto, es pertinente realizar más investigaciones para el empleo de este tipo de sistemas en las EDS, ya que podrían ser utilizados para tratar los efluentes con un valor adicional, como la no existencia de problemas de colmatación y menores costos de instalación debidos a la ausencia del medio filtrante.

En el ensayo experimental con los hongos de podredumbre blanca, es importante realizar un estudio de viabilidad que permita prever la eficiencia de este tratamiento biológico y decidir finalmente sobre la conveniencia de ponerlo en marcha. Aunque la biorremediación es en principio una técnica prometedora, deben conocerse sus limitaciones y los criterios para el uso adecuado de dicho proceso. Entre las limitaciones, se encuentra el grado final de descontaminación alcanzable, el tiempo requerido para alcanzarlo, la posibilidad de que se generen productos intermedios tóxicos y la presencia o ausencia de sustancias inhibidoras.

En términos de remoción de materia orgánica, medida como DQO y DBO₅, el humedal artificial sugirió ser el más efectivo, ya que en su etapa de funcionamiento logró eficiencias de remoción superiores al 90% para ambos parámetros, puesto que este sistema fue operado para el tratamiento de efluentes de estación de servicio sin pretratamiento previo. Al comparar estos resultados con la normatividad vigente; este método puede brindar efluentes con altas remociones que ayudarían a lograr el cumplimiento normativo en términos de materia orgánica.

En la metodología para el humedal artificial que se basó en la evaluación del sistema teniendo en cuenta las plantas sembradas, éste mostró tolerancia a los efluentes de estación de servicio debido a las condiciones de saturación del agua residual que permitió el adecuado desarrollo de las macrófitas y así mismo, la asimilación de otros compuestos. En cuanto a los pasos seguidos para el ensayo con los hongos, se realizó de acuerdo a los autores consultados, obteniendo resultados para corregir y observar detenidamente para futuros experimentos de degradación. Por esta razón se cumple una parte de la hipótesis de la investigación, donde se plateaba una mayor remoción de los efluentes de la estación de servicio para ambos tratamientos biológicos, logrando evidencias efectivas solamente para el humedal artificial.

Recomendaciones

Para remover los efluentes de estaciones de servicio de gasolina, se sugiere el uso de humedales artificiales como sistema de tratamiento, donde las aguas residuales sean vertidas para disminuir la carga contaminante y los compuestos tóxicos sean absorbidos por las macrófitas utilizadas. Dependiendo de la operación de cada estación y los efluentes generados, se podría considerar la trampa de grasa como sistema de tratamiento previo. Además, la inversión del humedal y costos de mantenimiento son bajos, lo que dejaría una rentabilidad considerable a la empresa.

También se recomienda tener presente la actividad microbiana que tiene lugar en el interior de los humedales a través de pruebas bioquímicas y moleculares que permitan la identificación de los microorganismos asociados al proceso de disminución de los efluentes. El campo microbiológico representa gran importancia en los procesos que ocurren en los sistemas naturales, y dada la variedad de compuestos orgánicos que componen los hidrocarburos totales de petróleo y su complejidad, es necesario explorar la relación de sinergismo entre planta y microorganismo para degradar estas sustancias. La idea con esto es tener un conocimiento mayor de la cantidad y diversidad de especies que se deben emplear en los humedales y así poder asociar e interpretar su comportamiento.

En cuanto a los hongos, con esta investigación se abre la puerta para realizar más estudios en la degradación de los efluentes de estación de servicio por medio de hongos de podredumbre blanca. Según los resultados obtenidos, al parecer la reducción de la actividad enzimática para el tiempo final de fermentación podría atribuirse a la acumulación de subproductos que la inhiben, producidos durante el metabolismo del hongo, por lo que se sugiere tener en cuenta que las cepas de los microorganismos sean recientes para que la producción de las enzimas de estos hongos sea más eficiente.

También se recomienda realizar una caracterización previa de los compuestos presentes en este tipo de residuo industrial para proponer las condiciones adecuadas para el desarrollo y crecimiento de estos hongos, diluir la muestra puesto que las altas concentraciones los hongos no alcanzan a degradar la muestra del efluente, revisar la velocidad de agitación y la temperatura, así como aumentar la cantidad de discos de cada uno de los microorganismos.

Referencias Bibliográficas

- Alcaldía Local de Suba. (2016). Plan Ambiental de Suba periodo 2017-2020. Oficina de gestión ambiental. Bogotá D.C, Colombia.
- ANALQUIM LTDA. (2018). Informe de monitoreo e interpretación de resultados del agua residual de la estación de servicio Biomax Colina.
- Arias, S., Betancur, F., Gómez, G., Salazar, J., & Hernández, M. (2010). Fitorremediación con humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales porcinas. *Informador Técnico (Colombia)*, 74, 12-22.
- Biomax. (2018). Sistema de Gestión Integral (SGI). Recuperado el 31 de marzo de 2019, de <https://www.biomax.co/wp-content/uploads/2018/05/Politica%20Integral%20Pagina%20Web.pdf>
- Bogoya, Y. (2018). Implementación de un humedal artificial para mejorar la eficiencia de degradación de las grasas provenientes del tratamiento primario de la estación de servicio “Rocamar”. Universidad Manuela Beltrán. Bogotá, Colombia.
- Borràs, E. (2010). Evaluation of *Trametes versicolor* ability to bioremediate Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (HAPs) in different matrices. (Trabajo de doctorado). Universitat Autònoma de Barcelona. Bellaterra, España.
- Borz, A., Troya, M., Villalta, S., Medina, C., Guerrero, G., Yaulema, F., & Gavilanes, A. (2018). Diseño y construcción de un prototipo de humedales artificiales para el tratamiento de aguas contaminadas con hidrocarburos del río Ramiyacu, provincia de Orellana, parroquia Taracoa. II Congreso Internacional de Ciencias Ambientales, 1-8.
- Cámara de Comercio. (2007). Perfil económico y empresarial de la localidad de Suba. Obtenido de: file:///C:/Users/tfern/Downloads/6231_perfil_economico_suba.pdf
- Carranza, X. (2017). La bioprospección de microorganismos en Colombia como uso sostenible de la sostenibilidad (Trabajo de especialización). Universidad Militar.
- Castañeda, A. & Flores, H. (2013). Tratamiento de aguas residuales domésticas mediante planta macrófitas típicas en Los Altos de Jalisco, México. *Revista de Tecnología y Sociedad*.
- Ceballos, T. & García J. (2018). Evaluación de la biodegradación de suelos contaminados con hidrocarburos utilizando *Aspergillus niger*, *Pleurotus ostreatus* y *Pseudomonas aeruginosa*. (Trabajo de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana. Quito, Ecuador.
- Chen, Z., Kuschik, P., Reiche, N., Borsdorf, H., Kästner, M. & Köser, H. (2012) Comparative evaluation of pilot scale horizontal subsurfaceflow constructed wetlands and plant root mats for treating

- groundwater contaminated with benzene and MTBE. *Journal of hazardous materials*, 209, 510-515.
- Coello, J. (2011). Aplicación del hongo *Pleurotus Ostreatus* como alternativa para la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados. *Escuela Superior Politécnica del Litoral*.
- Consejo Superior de la Judicatura. (2016). *Constitución Política de 1991*.
- Congreso de Colombia. (1993). Ley 99 de 1993. *Diario Oficial* 41146 de diciembre 22 de 1993.
- Cubillos, J. (2011). Evaluación de la fitorremediación como alterativa de tratamiento de aguas contaminadas con hidrocarburos. *Universidad Tecnológica de Pereira*.
- Cubillo, J., Pulgarín, P., Gutiérrez, J. & Paredes, D. (2014). Phytoremediation of Water and Soils Contaminated by Petroleum Hydrocarbons. *Ingeniería y Competitividad*, 16(1), 131-146.
- Déley, A. (2010). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo del campamento Sacha 161 utilizando el hongo *P. ostreatus*. *Escuela Superior Politécnica de Chimborazo*. Riobamba, Ecuador.
- Díaz, R. (2009). Efecto del pH inicial de desarrollo de *Pleurotus ostreatus* en fermentación sumergida sobre su actividad de lacasas. (Tesis de Maestría). *Instituto Politécnico Nacional*. Tlaxcala, México.
- Díaz, L., Marín, J., Alburque, D., Carrasquero, S., & Morales, E. (2017). Consorcio microbiano autóctono para el tratamiento de aguas contaminadas con gasoil del puerto de Isla de Toas (Venezuela). *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*, 28(2), 5-28.
- Domínguez, O., Ramos, M., Manzano, A., Sánchez, M., Sánchez, A., Torres, G., Arguelles, J., Romeu, A., Palacios, J., Dierksmeier, G., & Guerra, G. (2010). Biodegradación de DDT por dos cepas nativas de hongos de la podredumbre blanca. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 41, 1-12.
- Duarte, T., Jiménez, R. & Ruíz, M. (2007). Análisis económico de proyectos de inversión. *Scientia et Technica*, 35, 333-338.
- Eke, P. & Scholz, M. (2008) Benzene removal with vertical-flow constructed treatment wetlands. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 83 (1), 55-63.
- Escudero, J., Daza, Z., Gil, N. & Mora, O. (2013). Evaluación de las enzimas celulolíticas producidas por hongos nativos mediante fermentación en estado sólido (SSF) utilizando residuos de cosecha de caña de azúcar. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 15(1), 18-117.
- Fabelo, J. (2017). Propuesta de metodología para la recuperación de suelos contaminados. *Centro Azúcar*, 44(1), 53-60.

- Fernández, J. (2005). Humedales artificiales para depuración. Manual de fitodepuración. Filtros de macrófitas en flotación (pp. 79-89). Madrid, España: EDITA.
- Fountoulakis, M., Terzakis, S., Kalogerakis, N. & Manios, T. (2009) Removal polycyclic aromatic hydrocarbons and linear alkylbenzene sulfonates from domestic wastewater in pilot constructed wetlands and gravel filter. *Ecological engineering*, 35 (12), 1702-1709.
- Franco, L. (2007). ENZIMAS: QUÉ SON Y PARA QUE SIRVEN. Valencia: Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.
- Garzón, J., Rodríguez, J. & Hernández, C. (2017). Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. *Universidad y Salud*, 19(2), 309-318.
- Gómez, C., Martínez, M., Nieto, D., Pedrosa, A., Rodríguez, R., & Rosas, J. (2005). Estudio del efecto de dos inductores y un protector enzimático sobre la actividad de las enzimas Mn-Peroxidasa y Lacasa producidas por *Trametes versicolor* y su efecto en la decoloración de efluentes de la industria papelera. *Universitas Scientiarum*, 10(2), 37-45.
- González, T., Yagüe, S., Terrón, M., Carbajo, J., Arana, A., Téllez, A., & González, A. (2006). Enzimas fúngicas: ¿una alternativa para la decoloración de los efluentes de destilería? *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, XL (1), 3-12
- Grisales, D., Ortega, J. & Rodríguez, Tatiana. (2012). Remoción de la materia orgánica y toxicidad en aguas residuales hospitalarias aplicando ozono. *DYNA*, 79(173), 109-115.
- Hernández, A. (2013). La recolección y análisis de los datos cuantitativos. Universidad Yacambú. Barquisimeto, Venezuela.
- Hernández, A. (2003). Microbiología Industrial. San José: EUNED.
- ICONTEC. (2010). NTC-ISO 5667-10
- Jácome, A. (2014). Experiencias con humedales de flujo subsuperficial en el saneamiento rural de Galicia. Congreso Nacional del Medio Ambiente -CONAMA 2014-.
- Jaramillo, A., Jiménez, S., Merino, A. & Hormaza, A. (2014). Obtención de un inóculo fúngico para la degradación de un colorante azo por fermentación en estado sólido. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 17(2), 577-585.
- Jiménez, M. (2017). Biorremediación con inóculos de *Pleurotus ostreatus* para recuperar suelos contaminados con metales pesados en La Florida Cajamarca, 2016. (Trabajo de pregrado). Universidad César Vallejo. Chiclayo, Perú.
- Ko, K., & Jung, H. (1999). Molecular phylogeny of *Trametes* and related genera. *Antonie van Leeuwenhoek*, 75(3), 191-199.

- Laverde, J. & Salazar, Y. (2017). Utilización de humedales artificiales para el tratamiento de aguas borras generadas en estaciones de servicio en el departamento de Córdoba. Universidad de Córdoba
- Lee, B. & Scholz, M. (2006). What is the role of *Phragmites australis* in experimental constructed wetland filters treating urban runoff? *Ecological Engineering* 29(1), 87-95.
- Londoño, A., Giraldo, G. & Gutiérrez, A. (2010). Métodos analíticos para la evaluación de la calidad de fisicoquímica del agua. Manizales, Colombia: Blanecolor.
- Madzak, C., Mimmi, M., Caminade, E., Brault, A., Baumberger, S., Briozzo, P., Mougín, C. & Jolival. C. (2006). Shifting the optimal pH of activity for a laccase from the fungus *Trametes versicolor* by structure-based mutagenesis. *Protein Engineering, Design & Selection*, 19(2), 77–84.
- Manjarrés, K., Castro, A., & Rodríguez, E. (2010). Producción de lacasa utilizando *Pleurotus ostreatus* sobre cáscaras de plátano y bagazo de caña. *Revista Lasallista de Investigación*, 7(2), 9-15.
- Maroto, E. & Rogel, J. (2009). Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos, GEOCISA.DIV, Protección Ambiental de Suelos, pp. 297- 305.
- Martín, C., González, A. & Blanco, M. (2004). Tratamientos biológicos de suelos contaminados: contaminación por hidrocarburos. Aplicación de hongos en tratamientos de biorrecuperación. *Revista Iberoamericana Micología*, 21, 103-120.
- Martínez, A., Pérez, M., Pinto, J., Gurrola, B., & Osorio, A. (2011). Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos empleando lodos residuales como fuente alterna de nutrientes. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 27(3), 241-252.
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. (2010). Decreto 3930 de 2010. Diario Oficial 47873 de octubre 25 de 2010.
- Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. (2010). Política Nacional para la Gestión Integral del Recurso Hídrico.
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. (2014). Resolución 1207 de 2014. Diario Oficial No. 49242 de 13 de agosto de 2014.
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. (2015). Resolución 0631 de 2015. Diario oficial 49486 de 18 de abril de 2015.
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. (2018). Funciones y objetivos del Ministerio. Recuperado el 31 de marzo de 2019, de <http://www.minambiente.gov.co/index.php/ministerio/objetivos-y-funciones>
- Minitab. (2016). Réplicas y repeticiones en experimentos diseñados. Recuperado el 14 de noviembre de 2018, de <http://support.minitab.com/es-mx/minitab/17/topic-library/modeling-statistics/doe/basics/replicates-and-repeats-in-designed-experiments/>

- Morales, G., López, D., Vera, I., & Vidal, G. (2013). Humedales construidos con plantas ornamentales para el tratamiento de materia orgánica y nutrientes contenidos en aguas servidas. *Theoria*, 22 (1), 33-46.
- Muñiz, A. (2015). Remediación de aguas contaminadas con hidrocarburos clorados (TCE) mediante bioaumentación y nanopartículas de hierro cero valente. (Trabajo de Maestría). Universidad de Oviedo. Oviedo, España.
- Nápoles, J., Rodríguez, S., Santiago, L., & Ábalos, A. (2015). Disminución del extracto orgánico total en suelos contaminados con hidrocarburos. *Tecnología Química*, 35(3), 322-333.
- Paz, N., Blanco, E., Gutiérrez, E., Núñez, M., & Caldera, Y. (2012). Uso de humedales construidos de tipo superficial a escala piloto para la remoción de sulfuros y fenoles de agua de producción de petróleo. *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia*, 35(1), 071-079.
- Petit, K., Colina, J., Yegres, F., Moran, H., & Richard-Yegres, N. (2013). Biodegradación de hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA) por hongos aislados de aguas contaminadas con petróleo, podredumbre blanca, y acíbar de Aloe vera. *Química Viva*, 12 (3), 288-304.
- Petrucci, H. (2009). *Química General*. Pearson. Monterrey.
- Pezzella, C., Lettera, V., Piscitelli, A., Giardina, P., & Sannia, G. (2013). Transcriptional analysis of *Pleurotus Ostreatus* laccase genes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(2), 705-17.
- Plascencia, D. (2009). Desarrollo de un inóculo con diferentes sustratos mediante fermentación sólida sumergida. Chiguagua: Universidad Autónoma de Chiguagua.
- Presidente de la República. (1974). Decreto 2811 de 1974. *Diario Oficial No. 34243 de 18 de diciembre de 1974*.
- Pulgar, M. (2012). *Glosario de Términos para la formulación de Proyectos Ambientales*. Lima: Ministerio de Ambiente Perú
- Raimbault, M. (2009). General and microbiological aspects of solid-state fermentation. Obtenido de *Process Biochemistry*: www.ejb.org
- Reyes, A. (2000). Estudio de factibilidad de mercado, técnica y económico-financiera para la instalación de una planta de arenera en el municipio Caucagua, distrito Acevedo, estado Miranda para el segundo semestre del año 2000. (Tesis de pregrado). Universidad Metropolitana, Caracas, Venezuela.
- Reyes, J. (2016). Formulación y diseño de un sistema de fitorremediación para tratamientos de aguas hidrocarbурadas en estaciones de servicio Biomax. (Tesis de pregrado). Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia.

- Rodríguez, A., & Pérez, A. (2017). Métodos científicos de indagación y de construcción del conocimiento. *Revista Escuela de Administración de Negocios*, (82), 1-26.
- Rodríguez, S., Bermúdez, R., Serrat, M., & Kourouma, A. (2006). Selección de cepas de *Pleurotus Ostreatus* para la decoloración de efluentes industriales. *Revista Mexicana de Micología*, (23).
- Rodríguez, S., García, N., Bermúdez, R., Fernández, M. & Augur, C. (2008). Decolourisation of mushroom farm wastewater by *Pleurotus ostreatus*. *Biodegradation*, 19(4), 519-526.
- Rojas, J., & Hormaza, A. (2016). Evaluación de la biodegradación del colorante azul brillante utilizando hongos de la podredumbre blanca y sus consorcios. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 19(1), 179-187.
- Romero, R. (2013). Remoción de hidrocarburos en aguas residuales mediante humedales construidos de flujo subsuperficial plantados con *Canna sp* y *Juncus effusus*. (Trabajo de Maestría). Universidad de Los Andes, Bogotá D.C, Colombia.
- Sampieri, R., Fernández, C., & Baptista, M. (2014). Metodología de la investigación. McGraw-Hill. México DF.
- Sandoval, N. & Ospina, X. (2008). Evaluación inductores metálicos y co-sustratos para la remoción de negro reactivo 5 empleando *Pleurotus ostreatus*. (Trabajo de pregrado). Universidad Javeriana, Bogotá D.D, Colombia.
- Secretaría Distrital de Ambiente. (2019). Principales funciones de la Secretaría Distrital de Ambiente. Recuperado el 31 de marzo de 2019, de <http://ambientebogota.gov.co/de/funciones>
- Sifuentes, E. (2014). Producción de inóculo de *Pleurotus Ostreatus* para uso en biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.
- Stamets, P. (1983). *The mushroom cultivator: A practical guide to growing mushrooms at home*. Washington: AGARIKON PRESS.
- Tapie, W., Prato, D. & Sánchez, H. (2016). Biodegradación de vinazas de caña de azúcar mediante el hongo de pudrición blanca *Pleurotus ostreatus* en un reactor de lecho empacado. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 19, 145-150.
- Tromp, K., Lima, A., Barendregt, A. & Verhoeven, J. (2012) Retention of heavy metals and poly-aromatic hydrocarbons from road water in a constructed wetland and the effect of deicing. *Journal of hazardous materials*, 203, 290- 298.
- Universidad El Bosque. (2018). Acerca de la facultad de ingeniería. Recuperado el 31 de marzo de 2019, de <http://www.uelbosque.edu.co/ingenieria/acerca-de>

- Valencia, W. (2011). Indicador de Rentabilidad de Proyectos: el Valor Actual Neto (VAN) o el Valor Económico Agregado (EVA). *Industrial Data*, 14 (1), 15-18.
- Velásquez, J. (2017). Contaminación de suelos y aguas por hidrocarburos en Colombia. Análisis de la fitorremediación como estrategia biotecnológica de recuperación. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 8(1), 151 - 167.
- Velásquez, M., Lombana, N. (2009). Cellulose production by *Glucanoacetobacter* sp. GM5 in a static semi-continuous fermentation process using vinasse as culture media. *Water Science & Technology*, 68.
- Wallace, S. & Kadlec, R. (2005) BTEX degradation in a cold-climate wetland system. *Water Science and Technology*, 51(9), 165-172.
- Zúñiga, V., & Gandini, M. (2013). Caracterización ambiental de los residuos de caña de azúcar resultantes de la producción de etanol. *DYNA*, 177(80), 124-131.

Glosario de términos

Biotecnología: Es toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos (Carranza, 2017).

Biodegradación: Es un tipo de degradación que resulta de los procesos de digestión, asimilación y metabolización de un compuesto orgánico o inorgánico, llevado a cabo por elementos vivos (Raimbault, 2009).

Demanda Biológica de Oxígeno (DBO): Medida de oxígeno que usan los organismos presentes en el agua para descomponer la materia orgánica presente en ésta. (Velásquez y Lombana, 2009).

Degradación: Transformación catalizada de un compuesto a formas más simples (González, Peña y Rodríguez, 1997).

Demanda Química de Oxígeno (DQO): Determina la cantidad de oxígeno requerido para oxidar la materia orgánica en una muestra de agua residual. Se determina mediante la oxidación por reflujo en solución ácida (H_2SO_4) con un exceso de $K_2Cr_2O_7$ en presencia $AgSO_4$ y de $HgSO_4$ adicionado para remover la interferencia de los cloruros, posteriormente el remanente de $K_2Cr_2O_7$ sin reducir se titula con sulfato ferroso de amonio, donde se usa como indicador el complejo ferroso de O-fenantrolina (ferroina) (Velásquez y Lombana, 2009).

Enzima: Proteína que cataliza las reacciones bioquímicas del metabolismo (Franco, 2007).

Fermentación: En bioprocesos se considera un proceso que implica el uso de microorganismos los cuales llevan a cabo transformaciones de una materia prima (sustrato) mediante la síntesis e intervención enzimática (Plascencia, 2009).

Hongo: Organismos eucariotas, heterótrofos, unicelulares o pluricelulares que poseen pared celular quitinosa su reproducción puede ser tanto asexual como sexual, su papel principal dentro de las interacciones ecológicas tiene como fin la descomposición de materia orgánica. Se pueden clasificar como: levaduras, setas o mohos (Stamets, 1983).

Inóculo: Concentración conocida de propágulos microbianos, trasferidos a un medio de cultivo o ser vivo por diferentes métodos (Raimbault, 2009).

Medio de cultivo: Compuestos orgánicos que participan en las reacciones químicas que tienen lugar a nivel celular. El conjunto de estas reacciones bioquímicas, junto a los procesos físico-químicos intracelulares, constituye el metabolismo celular el cual incluye la degradación de moléculas para la obtención de energía (catabolismo) y la síntesis de moléculas necesarias para el crecimiento y reproducción (anabolismo) (Hernández, 2003).

Parámetro: Valor numérico, dato fijo que se considera en el estudio o análisis de una cuestión o proceso (Pulgar, 2012).

Pellet: Biomasa comprimida con alta presencia de humedad en su interior, se presenta comúnmente de forma circular o cilíndrica con diámetros variables dependiendo de la agitación (Stamets, 1983).

pH: Variable que indica la acidez de una disolución expresada en función de la concentración en iones hidrogeno (H⁺) libres en ella. Su valor está comprendido entre 0 y 14; si el valor del pH es superior a siete se considera un medio básico, mientras que si su valor es inferior a 7 el medio es ácido; el valor que indica neutralidad es 7 (Petrucci, 2009).

Propagación: Método mediante por el cual distribuye el microorganismo de tal forma que se pueda asegurar su reproducción, crecimiento y desarrollo (Zúñiga y Gandini, 2013).

Réplica: Consisten en múltiples corridas experimentales llevadas a cabo al mismo tiempo (es decir que se cuenta con más de un montaje experimental) con los mismos factores de configuración establecidos para cada una de las réplicas, lo que les permite estar sujetas a fuentes de variabilidad de forma independiente (Minitab, 2016).

Turbidez: La turbidez es la reducción de la transparencia de un líquido medida por sólidos o partículas en suspensión, cuantos más sólidos en suspensión presenta la sustancia, mayor es su turbidez y así mismo se verá afectado su color a más oscuro, se considera como una medida o indicador confiable para hacer referencia a la calidad del agua (Gómez et al., 2005).