

**EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE AGENTES BIOCIDAS EN LA
ELIMINACIÓN DE MICROORGANISMOS EN UN TANQUE DE
ALMACENAMIENTO DE DIÉSEL**

MARIA ALEJANDRA CORREA ESPINOSA

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERIAS
PROGRAMA INGENIERIA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.
2018

**EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE AGENTES BIOCIDAS EN LA
ELIMINACIÓN DE MICROORGANISMOS EN UN TANQUE DE
ALMACENAMIENTO DE DIÉSEL**

MARIA ALEJANDRA CORREA ESPINOSA

Proyecto integral para optar por el título de
INGENIERO QUÍMICO

Director
Juan Pablo Mateus Sendoya
INGENIERO CIVIL.

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERIAS
PROGRAMA INGENIERIA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.
2018

Nota de aceptación:

Orientador
Ing. Oscar Libardo Lombana Charfuelan

Jurado 1
Ing. Juan Camilo Cely Garzon

Bogotá D.C. agosto de 2018.

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del claustro

Dr. JAIME POSADA DIAZ

Vicerrector de Desarrollo y Recursos Humanos

Dr. LUIS JAIME GARCIA PEÑA

Vicerrectora Académica y de Posgrados

Dra. ANA JOSEFA HERRERA VARGAS

Director Facultad de Ingenierías

Dr. JULIO CESAR FUENTES ARISMENDI

Director Programa de Ingeniería Química

Ing. LEONARDO DE JESÚS HERRERA GUTIÉRREZ

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

DEDICATORIA

A mis padres y mis hermanas, sin ustedes esto no hubiera sido posible, los quiero mucho.

AGRADECIMIENTOS

Al Ingeniero Juan Pablo Mateus Sendoya, el director del presente trabajo, por creer en mí y darme una responsabilidad tan grande.

A la empresa Mateus Sendoya Asociados LTDA, por darme todo el apoyo financiero, técnico y humano para sacar adelante éste trabajo de grado.

Al profesional Luis Orlando Delgadillo Mateus y Laboratorios SECOT S.A., por brindarme sus instalaciones y el apoyo técnico.

A Ingeniero Oscar Lombana, orientador del presente trabajo, quien dedico tiempo y esfuerzos para sacar adelante y con los mejores resultados éste trabajo.

CONTENIDO

	pág
INTRODUCCIÓN	16
OBJETIVOS	18
1. MARCO REFERENCIAL	19
1.1 COMBUSTIBLES Y BIOCOMBUSTIBLES EN COLOMBIA	19
1.2 TANQUES DE ALMACENAMIENTO DE DIÉSEL EN COLOMBIA	22
1.3 MICROORGANISMOS EN LOS COMBUSTIBLES	25
1.4 MÉTODOS PARA COMBATIR LA CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA EN COMBUSTIBLES	26
1.4.1 Métodos usados por las EDS	28
1.5 USO DE BIOCIDAS EN EL CONTROL MICROBIOLÓGICO EN COMBUSTIBLES	29
1.5.1 Factores a tener en cuenta al usar tratamientos con biocidas	31
2. DIAGNÓSTICO	33
2.1 MUESTRA TOMADA	33
2.1.1 Materiales.	33
2.1.2 Procedimiento	34
2.1.3 Ubicación geográfica de la muestra	34
2.2 ANÁLISIS REALIZADOS	35
2.2.1 Prueba de apariencia	36
2.2.2 Contenido de agua y sedimentos por centrifugación	37
2.2.3 Prueba de contaminación microbiológica	37
2.3 RESULTADOS	38
2.4 ANÁLISIS DE RESULTADOS	39
2.4.1 Relación entre problemas y pisos térmicos	42
2.4.2 Relación entre problemas microbiológicos, apariencia y agua y sedimentos	43
3. EXPERIMENTACIÓN	45
3.1 EXPERIMENTACIÓN A NIVEL LABORATORIO	45
3.1.1 Biocidas y muestras seleccionadas	45
3.1.1.1. Biocidas seleccionados	46
3.1.1.2 EDS seleccionada	47
3.1.2 Diseño de experimentos	51
3.1.2.1 Procedimientos y resultados biocida 1	53
3.1.2.2 Procedimientos y resultados biocida 2	54
3.1.2.3 Análisis de resultados	56

3.2 EXPERIMENTACIÓN EN CAMPO	58
3.2.1 Lavado del tanque	59
3.2.2 Dosificación del biocida	61
3.2.3 Efectividad del tratamiento	64
3.2.3.1 Prueba de seguimiento	66
4. ANÁLISIS FINANCIERO	67
4.1 SITUACIÓN ACTUAL	67
4.1.1 Costos actuales de la operación	67
4.1.2 Sanciones	68
4.1.3 Flujo de caja	68
4.2 SITUACIÓN PROPUESTA	69
4.2.1 Inversión	70
4.2.2 Flujo de caja	70
4.2.3 Análisis	71
5. CONCLUSIONES	74
6. RECOMENDACIONES	76
BIBLIOGRAFÍA	77
ANEXOS	81

LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Cadena de producción y distribución de combustible diésel en Colombia	20
Figura 2. Tanque de 12.000 galones de 2,44 m de diámetro nominal	23
Figura 3. Tanque de 12.000 galones de 3,05 m de diámetro nominal	23
Figura 4. Distribución de bocas en un tanque de almacenamiento de diésel	24
Figura 5. Equipos de micro filtración para las EDS	28
Figura 6. Equipo para la limpieza de tanques en EDS	29
Figura 7. Tomador de muestras Bomba Bacon	34
Figura 8. Carta de apariencia, según ASTM D4176	36
Figura 9. Prueba de apariencia en combustibles. Calificación No Pasa	36
Figura 10. Prueba de apariencia en combustibles. Calificación 3	36
Figura 11. Prueba de apariencia en combustibles. Calificación 1	36
Figura 12. Prueba contenido agua y sedimentos	37
Figura 13. Prueba microbiológica cualitativa	38
Figura 14. Muestras tomadas en la EDS 16-1-44	41
Figura 15. Problemas de apariencia, según carta de apariencia, y microbiológicos en cada uno de los pisos térmicos	42
Figura 16. Relación entre problemas y porcentaje de Agua y sedimentos	43
Figura 17. Muestras tomadas en la EDS seleccionada.	48
Figura 18. Prueba de apariencia para la EDS seleccionada.	48
Figura 19. Contenido de agua y sedimentos para la EDS seleccionada	49
Figura 20. Escala de contaminación microbiana para determinación de resultados	50
Figura 21. Procedimiento de cultivo de muestras microbiológicas.	50
Figura 22. Prueba microbiológica para la EDS seleccionada	51
Figura 23. Resultados Biocida 1	54
Figura 24. Procedimiento de preparación del tanque para lavado con entrada al espacio confinado.	59
Figura 25. Procedimiento de ingreso al tanque de almacenamiento	60
Figura 26. Tanque EDS seleccionada antes y después de ser lavado	61
Figura 27. Prueba microbiológica EDS seleccionada antes de realizar el tratamiento en campo.	62
Figura 28. Prueba de apariencia después de realizar el tratamiento	65
Figura 29. Prueba microbiológica después del tratamiento	65

LISTA DE CUADROS

pág

Cuadro 1. Número de EDS muestreadas por piso térmico, donde la temperatura reportada está referida a el piso térmico.

35

LISTA DE TABLAS

	pág
Tabla 1. Dimensiones tanques de almacenamiento	22
Tabla 2. Consecuencias del crecimiento microbiano en sistemas de combustible	26
Tabla 3. Número de EDS muestreadas por departamento.	35
Tabla 4. Resultados pruebas de apariencia diagnostico	38
Tabla 5. Resultados porcentaje de agua y sedimentos diagnostico	39
Tabla 6. Resultados contaminación microbiológica diagnostico	39
Tabla 7. Muestras con contenido mayor a 0,05% de agua y sedimentos en cada una de las bocas	40
Tabla 8. Diseño de experimentos Biocida 1: concentraciones y tiempos seleccionados	52
Tabla 9. Diseño de experimentos Biocida 2: concentraciones y tiempos seleccionados	52
Tabla 10. Resultados Biocida 1	53
Tabla 11. Resultados Biocida 2	55
Tabla 12. Producto retirado del tanque de la EDS seleccionada.	62
Tabla 13. Biocida dosificado en las canecas de combustible	63
Tabla 14. Biocida dosificado en el combustible recuperado de las borras.	63
Tabla 15. Cantidad de biocida total dosificada en el tratamiento	64
Tabla 16. Costos actuales de la EDS seleccionada	67
Tabla 17. Costos de la EDS con una sanción por mala calidad del producto	68
Tabla 18. Flujo de caja con los costos actuales	69
Tabla 19. Flujo de caja si la EDS tiene una sanción	69
Tabla 20. Inversión para la situación propuesta	70
Tabla 21. Flujo de caja para la situación propuesta.	71
Tabla 22. Utilidades de la situación propuesta	71
Tabla 23. Calculo TIR y VPN para la situación propuesta	72
Tabla 24. Comparación en pesos por galón para cada situación	72
Tabla 25. Porcentaje de mejora del costo por galón con la situación propuesta	73

GLOSARIO

BIOCIDA: sustancia capaz de eliminar o controlar la proliferación de microorganismos.

BIODIÉSEL: esteres mono alquílicos de ácidos grasos de cadena larga, resultantes de la reacción de un ácido graso vegetal o animal, con un alcohol, en presencia de un catalizador. Es usado como combustible, puede ser mezclado con el diésel fósil y en Colombia es producido a partir del aceite de palma africana.

BIO-PELÍCULA: matrices orgánicas poliméricas, formadas por colonias de bacterias, que les permiten sobrevivir en ambientes desfavorables y ser resistentes a la acción de antibióticos u otra clase de químicos, debido a que previenen la penetración completa de éstos compuestos

BOCA DE DESCARGA: boca por la cual se realiza el llenado del tanque de almacenamiento por medio de conexión con mangueras al carro tanque.

BOCA DE MEDICIÓN: boca diseñada para la medición manual del nivel y la temperatura del tanque de almacenamiento.

BORRA O SLUDGE: son lodos generados por la acumulación y sedimentación de compuestos hidrocarbonados, sólidos, sedimentos, materia orgánica y agua. Normalmente se encuentran en el fondo del tanque de almacenamiento

CULT TEST: kit microbiológico para combustible. Consta de dos tirillas, las cuales tienen el medio de cultivo necesario para el crecimiento de microorganismos específicos de combustible diésel. Estas tirillas son sumergidas en el combustible y después de una semana se hace la lectura del resultado de la prueba.

DIÉSEL O ACPM: mezcla de hidrocarburos de 10 hasta 28 átomos de carbono constituidas por fracciones provenientes de diferentes procesos de refinación del petróleo tales como destilación atmosférica y al vacío, ruptura catalítica, hidrocrackeo, etc. Que se utiliza como combustible de motores tipo diésel como los que utilizan los vehículos de trabajo terrestre. También puede ser usada en máquinas tipo diésel de trabajo medio y pesado que operan en actividades de explotación agrícola, minera, construcción de vías, unidades de generación eléctrica, entre otras.

DISTRIBUIDOR MAYORISTA: toda persona natural o jurídica que, a través de una planta abastecimiento construida con el cumplimiento de los necesarios requisitos técnicos, legales y de seguridad, almacene y distribuya, al por mayor, combustibles líquidos derivados del petróleo, con excepción del gas licuado del mismo.

DISTRIBUIDOR MINORISTA: toda persona natural o jurídica que expendan directamente al consumidor, combustibles líquidos derivados del petróleo y/o gaseosos, excepto gas licuado del mismo (G.L.P.), por intermedio de estaciones de servicio propias o arrendadas.

DRENAJE DE TANQUE: procedimiento mediante el cual se extrae agua libre y parcialmente partículas sólidas y otros contaminantes presentes en el tanque de almacenamiento.

ESTACIÓN DE SERVICIO: establecimiento dedicado al almacenamiento y distribución de combustibles en Colombia.

LAVADO DE TANQUE: procedimiento mediante el cual se remueve la totalidad de agua, sedimentos, borras, lodos y demás sólidos presentes en el tanque de almacenamiento.

MANHOLE: boca del tanque de almacenamiento diseñada para permitir el ingreso de una persona.

MEZCLA DIÉSEL – BIODIÉSEL: mezclas de combustibles para uso en motores diésel compuestas por diésel fósil (ACPM) y biodiésel, mezclados en proporciones definidas. Se identifican con la letra B (que indica biodiésel) seguida de un número entre uno (1) y cien (100) y que indica el porcentaje en volumen al cual es mezclado con el diésel.

SURTIDOR: dispositivo con registro de volumen y precio de combustible, mediante el cual se entrega el producto directamente en los tanques de combustible de los automotores.

VEEDER ROOT: sonda electrónica con la cual se mide automáticamente el nivel del tanque de almacenamiento.

RESUMEN

El combustible diésel en Colombia, ha tenido cambios en los últimos años, debido a que se busca un producto cada vez más amigable con el medio ambiente. Éstos cambios han hecho que sea más susceptible al ataque microbiológico, lo cual genera la degradación de las propiedades del combustible, además de la aparición de sólidos en suspensión, lodos y borras. Finalmente, esto se traduce en mayores costos de operación para las estaciones de servicio (EDS) por drenajes de tanque y cambios de filtros, además de estar en riesgo de afectar los motores o sistemas de inyección del cliente final y adquirir sanciones por parte de la Superintendencia de Industria y Comercio.

Al hacer un diagnóstico en 48 EDS a nivel nacional, se encontró que solamente el 33% de las muestras evaluadas tienen una buena apariencia, el 78% no aprueba el parámetro establecido de contenido de agua y sedimentos y el 90% de las EDS tienen contaminación microbiológica. Adicionalmente, se pudo evidenciar que hay una relación directa entre el contenido de agua y sedimentos de la muestra y la presencia de microorganismos. El uso de biocidas, es una alternativa económica y eficaz en la remoción de microorganismos en los tanques de almacenamiento de combustible diésel; siempre y cuando se haga un tratamiento adecuado y se mantengan actividades de control periódicas. Por esta razón, se probaron dos productos biocidas, a nivel laboratorio, en una muestra de combustible diésel de una EDS ubicada en la ciudad de Bogotá D.C., con presencia de contaminación microbiológica. Donde se encontró que el biocida 2 tenía un amplio espectro de eliminación de microorganismos, ya que removió toda la carga microbiológica en todas las concentraciones y tiempos evaluados. Posteriormente se realizó la aplicación del producto en la EDS seleccionada con una concentración de 750 ppm y con un tiempo de contacto de 8 horas, acompañado del lavado de tanque con entrada al espacio confinado, donde se encontró que todo el tratamiento fue efectivo.

Finalmente, se encontró que, en pesos por galón, se podrían mejorar los costos de mantenimiento en más de un 40%. Lo cual refleja que hay una oportunidad de mejora significativa para las EDS; sí enfrentan la contaminación microbiológica como un problema real, que hoy les afecta en gran medida sus operaciones. Cambiando los procedimientos de limpieza, mantenimiento y control de sus tanques de almacenamiento de combustible diésel.

Palabras clave: combustible, contaminación microbiológica, biocida, biodiesel, diésel, estación de servicio, tanque de almacenamiento.

INTRODUCCIÓN

Las estaciones de servicio (EDS), son las encargadas de almacenar y distribuir los combustibles al consumidor final. Actualmente, estos establecimientos presentan gran cantidad de quejas a sus distribuidores mayoristas pues el almacenamiento del combustible diésel es cada vez más difícil, ya que hay presencia de agua, lodos, sedimentos y otros compuestos en los fondos de los tanques, los cuales no les permiten ofrecer un producto de alta calidad y además les generan costos de operación más altos. En 2014, la Superintendencia de Industria y comercio, visitó 304 estaciones de servicio a nivel nacional, donde encontró que el 14% distribuían combustibles en malas condiciones de conservación¹.

El factor más preocupante de esta situación es que la mayoría de las personas que operan y administran las EDS en Colombia, no saben cuál es el motivo ni la solución para esta problemática. Sin embargo, desde hace años se han venido realizando investigaciones a nivel internacional donde se identifica que la principal causa de este tipo de problemas es la contaminación microbiológica del combustible y una de las mejores alternativas para solucionarla es la aplicación de biocidas, siempre y cuando se realicen los procedimientos adecuados y recomendados por el fabricante.

Por estas razones, la empresa MATEUS SENDOYA ASOCIADOS, realizó un muestreo en 48 estaciones de servicio a nivel nacional. Para así, realizar un diagnóstico en relación a la contaminación microbiológica en combustible diésel en Colombia y evidenciar los efectos y problemas que ha ocasionado. Durante el diagnóstico se realizaron pruebas de apariencia, contenido de agua y sedimentos y contaminación microbiológica. Se encontró que el 90% de las EDS tiene problemas de contaminación microbiológica.

Al determinar cuáles son los métodos más adecuados para eliminar los microorganismos en este tipo de sistemas, se encontró que los biocidas son una opción viable y que puede reducir costos de operación, pues actualmente las estaciones de servicio invierten grandes cantidades de dinero en sistemas de filtración y drenajes que no les ayudan a resolver el problema. Para verificar la efectividad de estos tratamientos en combustible colombiano, se evaluaron dos productos en diferentes concentraciones y tiempos de contacto. Uno de los biocidas fue efectivo en todos los ensayos realizados, por lo cual fue escogido para realizar pruebas en un tanque de almacenamiento de combustible diésel. Al hacer la dosificación del producto, adicionalmente se realizó un lavado del taque con entrada

¹ SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO. Protección del consumidor. Superintendencia impuso en 2014 sanciones por \$4.620 millones a estaciones de servicio y organismos de certificación. [En línea]. (citado el 30 de julio de 2018). Disponible en: <http://www.sic.gov.co/node/11272>

al espacio confinado, para así remover toda la carga microbiológica presente en las paredes del tanque.

Finalmente, se realizó un análisis financiero para determinar la viabilidad de los tratamientos. Donde se encontró que EDS podría mejorar sus costos de operación por lo menos un 46%, ya que las estaciones de servicio están riesgo de adquirir una sanción por parte de la superintendencia de industria y comercio o una reclamación por parte de un cliente.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el comportamiento de agentes biocidas en la inhibición y control de microorganismos en un tanque de almacenamiento de diésel.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Diagnosticar el estado actual de los tanques de almacenamiento de diésel.
- Determinar el tiempo y la dosificación de biocida adecuados, a nivel laboratorio.
- Validar las condiciones determinadas, en un tanque de almacenamiento de diésel de una EDS colombiana.
- Realizar un análisis financiero de la implementación de biocidas

1. MARCO REFERENCIAL

Con el objetivo de contextualizar al lector en la situación actual del combustible diésel en Colombia y en algunos países del mundo, además de desarrollar los términos que van a ser utilizados a lo largo del documento, en este capítulo se explica más a fondo la problemática de la contaminación microbiológica en el combustible diésel, sus consecuencias y los tratamientos que actualmente son usados, haciendo énfasis especialmente en los tratamientos con productos químicos (biocidas).

1.1 COMBUSTIBLES Y BIOCOMBUSTIBLES EN COLOMBIA

Para entender la cadena de distribución y comercialización de combustible diésel en Colombia, debe entenderse en primer lugar la diferencia entre diésel fósil y biodiésel.

Según el Decreto Único Reglamentario del Sector Administrativo de Minas y Energía, “el **ACPM o Diésel fósil** corresponde a una mezcla de hidrocarburos entre diez y veintiocho átomos de carbono, que se utiliza como combustible de motores diésel y se obtiene por destilación directa del petróleo”². Mientras que el **Biodiésel** es según la Federación Nacional de Biocombustibles (Fedebiocombustibles) “un combustible biodegradable que se puede utilizar mezclado con el diésel del petróleo o puro, resultante de la reacción de un ácido graso vegetal o animal, con un alcohol, en presencia de un catalizador”³. Por lo tanto, con las dos definiciones anteriores, se puede decir que la diferencia principal entre el diésel y el biodiésel es su fuente de obtención, ya que el diésel proviene del fraccionamiento del petróleo crudo, mientras que el biodiésel proviene de algún ácido graso vegetal o animal (ej. palma, soya, girasol). En Colombia el biodiésel es producido a partir de aceite de palma africana, y es mezclado en una proporción del 10%⁴ con diésel fósil, es decir que el cliente final recibe una mezcla de 10% biodiésel y 90% diésel fósil (B10).

²COLOMBIA. MINISTERIO DE MINAS Y ENERGIA. Decreto 1073 de 2015 (26 de mayo de 2015). Por medio del cual se expide el Decreto Único Reglamentario del Sector Administrativo de Minas y Energía. Diario Oficial. Bogotá D.C., 2015. No. 49523.

³FEDERACIÓN NACIONAL DE BIOCOMBUSTIBLES DE COLOMBIA. Preguntas más frecuentes sobre los Biocombustibles [En línea]. Consultado el 28 de noviembre de 2017. Disponible en: <http://www.fedebiocombustibles.com/nota-web-id-923.htm>.

⁴ COLOMBIA. MINISTERIO DE MINAS Y ENERGIA. Resolución 10184 de 2018 (27 de febrero de 2018). Por la cual se modifica la Resolución 182142 de 2007, en relación con el porcentaje de mezcla de biocombustible para uso en motores diésel, en Bogotá D.C., centro del país y llanos orientales. Bogotá D.C.

Figura 1. Cadena de producción y distribución de combustible diésel en Colombia



Fuente: elaboración propia

Los combustibles líquidos tienen una cadena de producción, comercialización y distribución, la cual es originada en las refinerías. Para los combustibles derivados del petróleo, existen dos refinerías, la de Barrancabermeja y la de Cartagena (Reficar); estas dos refinerías pertenecen a Ecopetrol y tienen una capacidad instalada de 415 mil barriles por día. La cantidad producida cubre la demanda de combustibles fósiles del país y los excedentes son exportados. En cuanto a los biocombustibles, existen ocho plantas productoras de etanol⁵, con una capacidad estimada de 2.1 millones de litros diarios⁶, y en total doce productores de biodiesel en seis departamentos, los cuales tienen una capacidad instalada de 869 mil toneladas por año⁷. Una vez, finaliza la refinación del crudo y la producción de biodiésel, estos dos combustibles se llevan a las plantas de abastecimiento, que son operadas por distribuidores mayoristas (Terpel, Biomax, Exxon Mobil, etc.), donde se mezclan estos dos productos. En el país existen alrededor de 50 plantas de abastecimiento operadas por 17 mayoristas. Finalmente, los combustibles se transportan por vía terrestre en carro tanques, a las estaciones de servicio (EDS) o hasta los grandes consumidores (industrias, aeropuertos, compañías de transporte,

⁵En Colombia la gasolina es mezcla con etanol en una proporción de 10% alcohol carburante y 90% gasolina motor corriente o extra fósil (E10 – EX10), como lo indica la RESOLUCIÓN 40185 DE 2017.

⁶FEDERACIÓN NACIONAL DE BIOCMBUSTIBLES DE COLOMBIA. Información estadística sector biocombustibles Alcohol carburante (Etanol). [En línea]. Consultado el 15 de julio de 2018. Disponible en: [http://www.fedebiocombustibles.com/v3/estadistica-mostrar_info-titulo-Alcohol_Carburante_\(Etanol\).htm](http://www.fedebiocombustibles.com/v3/estadistica-mostrar_info-titulo-Alcohol_Carburante_(Etanol).htm)

⁷FEDERACIÓN NACIONAL DE BIOCMBUSTIBLES DE COLOMBIA. Información estadística sector biocombustibles Biodiésel. [En línea]. Consultado el 15 de julio de 2018. Disponible en: http://www.fedebiocombustibles.com/v3/estadistica-mostrar_info-titulo-Biodiesel.htm

etc.)⁸. Para un mejor entendimiento, en la **Figura 1** se muestra gráficamente cómo funciona la cadena de producción y distribución de combustible diésel.

Se puede decir que, desde hace aproximadamente 10 años, el combustible diésel en Colombia ha tenido dos cambios importantes:

1. A raíz de la aprobación de la ley 939 del 2004 en Colombia, se reglamentó la obligatoriedad de la mezcla de diésel con biodiésel, esto debido a implementaciones similares en Estados Unidos y Europa⁹. Actualmente y según la Resolución 10184 de 2018⁴, en Colombia la mezcla permitida es B10 (10% biodiésel – 90% Diésel), es decir este es el producto que tienen disponibles las Estaciones de Servicio (EDS) para surtir los diferentes vehículos de motor Diésel.
2. Adicionalmente, en las últimas décadas se ha venido disminuyendo la cantidad de azufre presente en el diésel, esto con el objetivo de disminuir las cantidades de material articulado en el medio ambiente, como lo ha expuesto el diario Colombiano Portafolio¹⁰. Según la resolución 90963 de 2014¹¹ el máximo permitido de azufre en los combustibles diésel es 0.005% en masa (50 ppm).

Estos dos cambios hacen que el combustible diésel que se vende en Colombia sea más amigable con el medio ambiente. Sin embargo, debe tenerse consciencia de que estos cambios, a su vez, incrementan el riesgo de degradación porque su naturaleza se ha tornado más higroscópica y biodegradable (lo cual favorece el crecimiento de microorganismos), como se resalta en la *Cartilla para minoristas – Buenas prácticas de manejo para el biodiésel y las mezclas en la cadena de distribución de combustibles en Colombia*¹². Por estas razones, el combustible diésel debe ser manejado y tratado de formas diferentes, evitando que sea degradado por microorganismos durante su almacenamiento, pues esto puede traer consecuencias serias que se explicarán más adelante. Dentro de los tratamientos más efectivos, económicos y fáciles de implementar está el uso de biocidas.

⁸ GUTIÉRREZ Carlos, LONDOÑO Andrés. ¿Cuál es la importancia del sector de combustibles en Colombia? . Actualidad económica y sectorial. En: Capital inteligente [En línea]. 9 de noviembre de 2016. Consultado el 27 de mayo de 2018. Disponible en: <https://www.grupobancolombia.com/wps/portal/empresas/capital-inteligente/actualidad-economica-sectorial/cual-es-la-importancia-del-sector-combustibles-en-colombia>

⁹El biodiésel como un sustituto de los combustibles fósiles no funciona del todo. En: Dinero [En línea]. 10 de octubre de 2015. Consultado el 15 de julio de 2018. Disponible en: <https://www.dinero.com/pais/articulo/biodiesel-colombia/214602>

¹⁰Diésel en Colombia, el segundo más limpio de Suramérica. En: Portafolio [En línea]. 9 de septiembre de 2014. Consultado el 19 de diciembre de 2017. Disponible en: <http://www.portafolio.co/negocios/empresas/diesel-colombia-segundo-limpio-suramerica-59504>

¹¹COLOMBIA. MINISTERIO DE MINAS Y ENEGIA. Decreto 90963 de 2014 (11 de septiembre de 2014). Por el cual se modifica el artículo 4º de la resolución número 898 de 1995. Diario Oficial No. 49.271.

¹² MINISTERIO DE MINAS Y ENERGIA – Dirección de hidrocarburos. Cartilla minoristas. Buenas prácticas de Manejo para el Biodiésel y las mezclas en la cadena de distribución de combustibles en Colombia. Bogotá D.C. ACE – Alianza en comunicación Empresarial Ltda. (2011).

1.2 TANQUES DE ALMACENAMIENTO DE DIÉSEL EN COLOMBIA

Los establecimientos dedicados al almacenamiento y distribución de combustibles líquidos derivados del petróleo y/o gaseosos, son las estaciones de servicio (EDS), como lo define el decreto 1521 de 1998¹³. Estos establecimientos tienen tanques de almacenamiento de combustible¹⁴ subterráneos. Según la norma NFPA 30¹⁵, los tanques de almacenamiento de diésel, pueden ser fabricados en fibra de vidrio o acero, o en general de un material no combustible aprobado.

Tabla 1. Dimensiones tanques de almacenamiento¹⁶

Capacidad Nominal (L)	Capacidad Nominal (Gal)	Diámetro Nominal (m)	Largo (m)
22.770	6.011	1,83	6,30
22.770	6.011	2,44	6,26
34.155	9.017	2,44	9,61
45.540	12.023	2,44	11,29
45.540	12.023	3,05	8,99

Fuente: elaboración propia

Los tanques de almacenamiento de doble pared, son tanques que están completamente aislados del medio ambiente gracias a una pared exterior que los cubre totalmente. El espacio entre las paredes interior y exterior del tanque, se llena con una solución de salmuera coloreada, para poder detectar posibles fugas¹⁷. En Colombia, normalmente se encuentran tanques de doble pared de fibra de vidrio. Sin embargo, algunas EDS tienen tanques metálicos. Adicionalmente, estos tanques no pueden exceder los 12.000 galones de capacidad. Por información recolectada por la empresa Mateus Sendoya Asociados, las capacidades de los tanques de almacenamiento de combustible diésel que más comúnmente se encuentran en las EDS, son 5.000, 10.000 y 12.000 galones, éstos pueden tener

¹³COLOMBIA. MINISTERIO DE MINAS Y ENERGIA. Decreto 1521 de 1998 (4 de agosto). Por el cual se reglamenta el almacenamiento, transporte y distribución de combustibles líquidos derivados del petróleo, para estaciones de servicio. Bogotá D.C., Diario Oficial No. 43357.

¹⁴ Los tanques de almacenamiento de combustible, son sistemas estacionarios construidos en materiales industriales (acero, fibra de vidrio), que brindan un soporte estructural y están diseñados para contener un un volumen de combustible líquido.

¹⁵BOSTON, MASSACHUSETTS. NATIONAL FIRE PROTECTION ASSOCIATION. NFPA 30, código de líquidos inflamables y combustibles. Edición 1996.

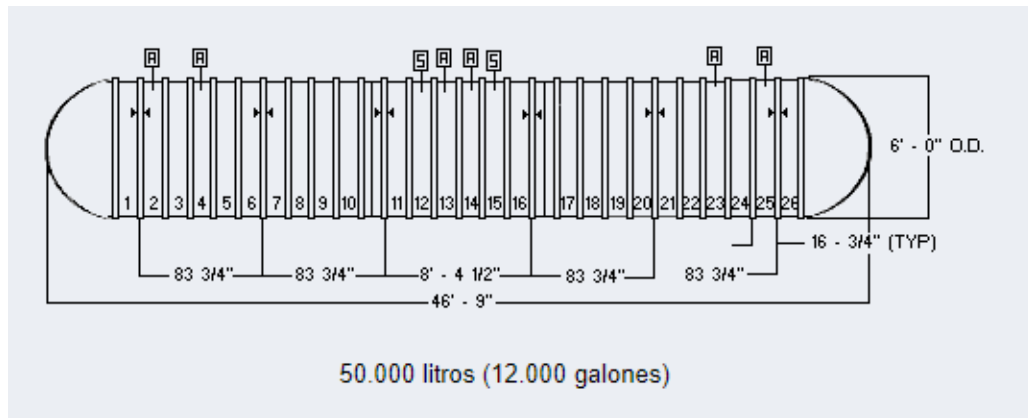
¹⁶ **Fuente:** REPSA – Reinforced Plastic S.A. Tanques para combustible. [En línea]. [Citado 22 julio, 2018]. Disponible en: www.viarural.com.ar/viarural.com.ar/insumosagropecuarios/agricolas/tanques/repsa/datos-dimensionales.htm

¹⁷ LENIS Natalia, MONTES Ana. Manual de requerimientos para la construcción de estaciones de servicio en almacenes de cadena de grandes superficies en alguno de los municipios del valle de Aburrá (Medellín, Envigado y Bello). Trabajo de grado especialista en Gerencia en Construcción. Medellín. Universidad de Medellín. 2010. 83-85,p.

uno o dos compartimientos. En la **Tabla 1**, se muestran las dimensiones de tanques de almacenamiento de combustibles que ofrece un proveedor.

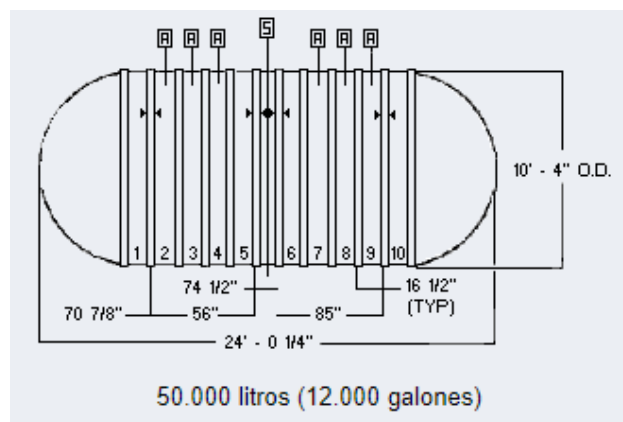
A continuación, se muestran los planos de tanques de 12.000 galones, donde se pueden observar las medidas completas.

Figura 2. Tanque de 12.000 galones de 2,44 m de diámetro nominal



Fuente: REPSA – Reinforced Plastic S.A. Tanques para combustible. [En línea]. [Citado 22 julio, 2018]. Disponible en internet: <https://www.viarural.com.ar/viarural.com.ar/insumosagropecuarios/agricolas/tanques/repsa/datos-dimensionales.htm>

Figura 3. Tanque de 12.000 galones de 3,05 m de diámetro nominal

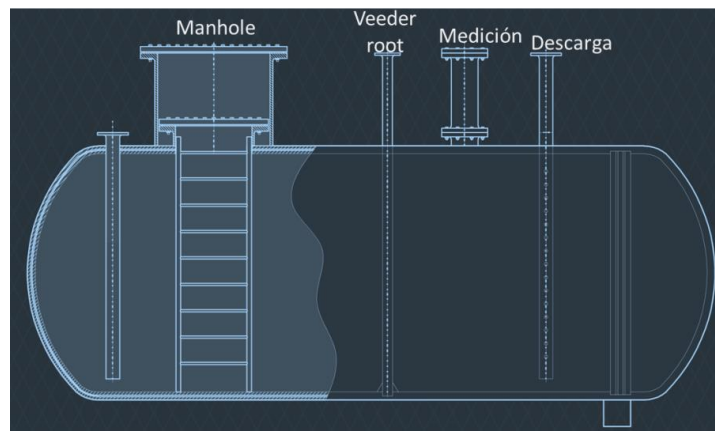


Fuente: REPSA – Reinforced Plastic S.A. Tanques para combustible. [En línea]. [Citado 22 julio, 2.018]. Disponible en internet: <https://www.viarural.com.ar/viarural.com.ar/insumosagropecuarios/agricolas/tanques/repsa/datos-dimensionales.htm>

En los tanques de almacenamiento de combustible diésel se pueden identificar 4 bocas diferentes (ver **Figura 4**):

- Boca de descarga: en esta boca se conecta por medio de una manguera el carro tanque para poder llenar el tanque de producto.
- *Manhole*: esta boca está diseñada para que una persona pueda entrar al tanque.
- Boca de medición: está diseñada para medir manualmente el nivel y la temperatura del tanque.
- Veeder Root: esta boca no la tienen todos los tanques, aquí se encuentra una sonda electrónica por medio de la cual se hace el control de inventarios.

Figura 4. Distribución de bocas en un tanque de almacenamiento de diésel



Fuente: STRAPLAS. Tanques doble pared. [En línea]. [Citado 22 julio, 2018]. Disponible en internet: <http://straplas.com.ar/straplas/tanques-doble-pared/>

Según el decreto 1521 de 1.998¹³, los tanques de almacenamiento de las EDS deben estar enterrados, cumpliendo todas las medidas de seguridad para el almacenamiento de líquidos inflamables. Solamente en casos de condiciones geológicas especiales y elevado nivel freático, comprobados con estudios de suelos y por limitaciones de fluido eléctrico, debidamente certificados por la autoridad competente, las EDS podrán instalar tanques de almacenamiento en superficie. Por estas razones, es difícil pensar en formas y disposiciones de tanques diferentes que favorezcan el drenaje de fondos. A diferencia, los distribuidores mayoristas están autorizados a tener tanques en superficie, ya sean de techo fijo o flotante¹⁸, siempre

¹⁸ COLOMBIA. MINISTERIO DE MINAS Y ENERGIA. Decreto 283 de 1990 (30 de enero). Por el cual se reglamenta el almacenamiento, manejo, transporte, distribución de combustibles líquidos derivados del petróleo y el transporte por carrotanques de petróleo crudo. Bogotá D.C. Diario oficial 39165.

y cuando sigan la norma API 650. Esto hace que se puedan encontrar formas de tanques más favorables para la remoción de fondos.

1.3 MICROORGANISMOS EN LOS COMBUSTIBLES

Desde hace años, se ha sabido que los microorganismos usan fracciones del petróleo como fuente de energía y carbono. Lo cual, incluso, ha sido aplicado para bio-remediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Sin embargo, esta degradación natural de los hidrocarburos mediada por microorganismos se ha convertido en un problema serio para la industria de los combustibles, desde que se empezó a observar crecimiento microbiano dentro de los tanques de almacenamiento¹⁹.

Los microorganismos más encontrados en combustibles son bacterias mohos y levaduras. En el **ANEXO A** Error! No se encuentra el origen de la referencia. , se muestra la identificación de microorganismos aislados de muestras de combustible diésel en tres investigaciones diferentes. Allí se puede ver que a pesar de que los estudios fueron realizados en países y muestras de combustible totalmente diferentes, hay cepas en común, lo cual puede evidenciar que este problema no es específico de un tipo de combustible diésel o una región específica.

La condición más importante para el crecimiento microbiano en combustibles, es el agua; según los autores Hill y Hill²⁰ (1993), se necesita de por lo menos un 1% (v/v) de agua en el combustible para que haya un crecimiento microbiano significativo. Sin embargo, hay otros factores que pueden favorecer dicha condición, como lo son la reducción de azufre, el contenido de oxígeno y la disponibilidad de minerales como el fósforo y el nitrógeno. Además de la presencia de biodiésel, pues tiene un carácter mucho más higroscópico que el diésel fósil.

Como menciona Yemashova²¹ (2007), los microorganismos pueden almacenarse en los contenedores de combustible por medio de diferentes vías: durante los procesos de condensación en las refinerías o transportados junto con el polvo y agua a través de los respiraderos del tanque. Una vez dentro de los tanques, algunos microorganismos se adhieren a la superficie de la pared, mientras que otros se alojan en la interface agua-combustible, generalmente presente en el fondo de los tanques, lugar con la mayor actividad microbiana y biodegradación. La presencia de microorganismos en los sistemas de almacenamiento de combustibles causa un

¹⁹BAUTISTA Luis, VARGAS Carolina, GONZÁLEZ Natalia, MOLINA María, SIMARRO Raquel, SALMERÓN Armando, MURILLO Yolanda. Assessment of biocides and ultrasound treatment to avoid bacterial growth in diesel fuel. *En: Fuel processing Technology*. Noviembre 2016. Vol 152, p. 56 – 63.

²⁰HILL, E.C. and HILL, G.C. Microbiological problems in distillate fuels. *British maritime technology*. Trans. Inst. Marine Eng. 14 de Agosto de 1993. Vol 104.

²¹YEMASHOVA Natalia, MURYGINA Valentina., ZHUKOV Dmitry, ZAKHARYANTZ Arpenik, GLADCHENKO Marina, APPANNA Vasu, KALYUZHNYI Sergey. Biodeterioration of crude oil and oil derived products: a review. *En: Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*. Octubre de 2007. Vol 6, no 4, p. 315 – 337.

incremento en el contenido de agua, debido al potencial microbiano de degradación de hidrocarburos, y su actividad metabólica lleva a la formación de peróxidos y ácidos, incrementa la viscosidad, disminuye la estabilidad térmica y volatilidad, así como incremento de sólidos suspendidos en forma de *sludge*²² y residuos de corrosión. El aceite crudo y sus subproductos contienen componentes nutritivos, por lo cual representan un ambiente favorable para el crecimiento microbiano, lo que puede causar no solo el consumo de los hidrocarburos sino un perjuicio a las propiedades fisicoquímicas y operacionales del producto, llevando a pérdidas económicas y hasta a incidentes por la saturación de filtros, tuberías y corrosión de los equipos. En la **Tabla 2**, se muestra un resumen de los problemas que pueden causar los diferentes tipos de microorganismos en los combustibles.

Tabla 2. Consecuencias del crecimiento microbiano en sistemas de combustible

Problema	Tipos Principales De Microorganismos
Bloqueo de tuberías, válvulas, filtros y lectura incorrecta de sondas.	Fungí, bacteria productora de polímero
Incremento en el contenido de agua	Todos
Formación de lodos	Todos
Producción de surfactantes, lo que causa emulsiones de agua/aceite.	Fungí y bacterias aeróbicas
Corrosión de tanques de almacenamiento y tuberías.	Fungí y bacterias aeróbicas
Producción de sólidos en suspensión en el combustible.	Todos
Descomposición de hidrocarburos	Fungí y bacterias aeróbicas
Disminución de la vida útil de los filtros	Todos
Ensuciamiento de los inyectores	Fungí y bacterias aeróbicas
Incremento del contenido de azufre en el combustible	Bacterias sulfato reductoras (SRB)

Fuente: Christine C. Gaylarde, Fatima M. Bento, Joan Kelley. *Microbial contamination of stored hydrocarbon fuels and its control. Revista de microbiología (1999). p. 3. ISSN 0001-3714.*

1.4 MÉTODOS PARA COMBATIR LA CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA EN COMBUSTIBLES

Antes de tratar un combustible, hay que determinar la presencia o no de los microorganismos, esto se puede realizar usando diferentes métodos. Por ejemplo, la filtración acompañada de una microscopia y/o un cultivo, así como los cultivos del agua drenada o directamente del combustible. Comercialmente, se encuentran kits que permiten la detección de microorganismos específicamente en el combustible. Estos métodos generalmente son cualitativos y permiten un trabajo rápido y sencillo,

²² *Sludge*, también conocido como borras, son lodos generados por la acumulación y sedimentación de compuestos hidrocarbonados, sólidos, sedimentos, materia orgánica y agua. Normalmente se encuentran en el fondo del tanque de almacenamiento.

pues no se necesita mucha preparación de la muestra. A la hora de evaluar la contaminación microbiana en un combustible, es importante evaluarla tanto en el combustible como en la fase acuosa presente en el fondo, pues es donde mayor carga microbiana se va a encontrar, como lo dicen Gaylarde, Bento y Kelley²³ (1999).

Generalmente, el mejor tratamiento para la presencia de microorganismos en los combustibles, es el control y las buenas prácticas. Manteniendo así, la limpieza dentro del tanque y haciendo drenajes periódicos del agua presente en el fondo. Sin embargo, en muchos de los casos es difícil realizar estas limpiezas periódicamente pues conllevan grandes costos y largos tiempos de ejecución. Los drenajes no garantizan la eliminación completa de los microorganismos y las bio-películas formadas por ellos mismos.

Dentro de los métodos para eliminar la contaminación microbiana en combustibles, se encuentran técnicas tanto físicas, como químicas. Dentro de los métodos físicos, se encuentran las técnicas de asentamiento, filtración y tratamientos térmicos.

Para las técnicas de asentamiento y filtración debe tenerse en cuenta el tamaño de los microorganismos a remover. Dentro de los microorganismos que se pueden encontrar en el agua los más pequeños son los virus (entre 20 y 100 nm), luego están las bacterias que son un poco más grandes (entre 0,5 y 3 μm) y finalmente los parásitos protozoos (entre 3 y 30 μm). La técnica de asentamiento, consiste en dejar decantar el agua presente en el combustible, para luego ser retirada cuidadosamente, la idea es que los microorganismos presentes se vayan en la fase acuosa, sin embargo, esta técnica no asegura la limpieza total del combustible, pues en la interface agua-combustible hay una carga microbiana alta y podrían quedarse gran parte de los microorganismos en el combustible. Sin embargo, es una técnica económica, que no necesita gran inversión tecnológica, por lo cual podría ser una técnica complementaria a otras²⁴.

La filtración es otra técnica usada desde hace muchos años para remover partículas del combustible. Si los microorganismos son lo suficientemente grandes para no poder atravesar la membrana, estos quedan retenidos y se estaría descontaminando el combustible. Esto funciona mayoritariamente para los microorganismos más grandes, pero cuando hay presencia de microorganismos muy pequeños, es difícil asegurar la descontaminación del combustible. Por esto, este método por sí solo no tiene una gran efectividad en la eliminación total de los microorganismos presentes en el combustible.

²³GAYLARDE Christine, BENTO Fatima, KELLEY Joan. Microbial contamination of stored hydrocarbon fuels and its control. En: Revista de microbiología. Febrero de 1999. Vol 30, no 1, p. 01-10. ISSN 0001-3714

²⁴PASSMAN Frederick. Microbial contamination and its control in fuels and fuel systems since 1980 e a review. En: International Biodeterioration & Biodegradation. Julio de 2013. Vol 81, p. 88 – 104.

Dentro de los métodos químicos para el control microbiológico en combustibles, está la aplicación de productos biocidas. Este podría ser el método más efectivo pues asegura la completa eliminación de microorganismos, siempre y cuando los protocolos sean los adecuados para el sistema. Este último método será explicado más a profundidad en la siguiente sección.

1.4.1 Métodos usados por las EDS. Al hacer una revisión de los diferentes proveedores que ofrecen métodos para combatir los problemas de fondo y contaminación microbiológica en las estaciones de servicio, las opciones más comúnmente encontradas son las siguientes:

- Equipos de micro filtración: son sistemas que se instalan antes del surtidor, con el fin de filtrar el combustible que sale del tanque de almacenamiento y que el consumidor recibe en su vehículo. Cuentan con filtros de entre 3 y 5 micras, lo cual asegura una amplia retención de partículas contaminantes.

Figura 5. Equipos de micro filtración para las EDS



Fuente: SERVACOM LTDA. Equipos de microfiltración. [En línea]. [Citado el 22 de julio, 2018]. Disponible en internet: <http://servacom.com.co/infoequipos.html>

Estos equipos aseguran que el combustible entregado al cliente final esté totalmente limpio. Sin embargo, no solucionan los problemas de contaminación microbiológica en el fondo del tanque, los cuales siguen avanzando con el tiempo. Podría decirse que estos sistemas son adecuados para usarse como complemento a otros tratamientos microbiológicos, y así, asegurar la entrega de un combustible de alta calidad.

- Limpiezas de tanques: también llamadas diálisis, consisten en la recirculación del combustible ubicado en el fondo del tanque, usando una sonda. Esta sonda extrae el combustible del fondo, lo pasa por una serie de filtros, los cuales retienen los diferentes contaminantes. Finalmente, el combustible limpio es devuelto al tanque de almacenamiento.

Éste método no asegura la remoción de bio-películas presentes en las paredes del tanque de almacenamiento, tampoco elimina los problemas de contaminación microbiológica. Podría usarse solamente para mejorar la

aparición del combustible presente en el fondo del tanque o para eliminar posibles depósitos de agua.

Figura 6. Equipo para la limpieza de tanques en EDS



Fuente: INSEPET. Limpieza de tanques. [En línea]. [Citado el 22 de julio, 2018]. Disponible en internet: <http://insepel.com/limpieza-de-tanques/>

Al comparar los biocidas con las dos alternativas disponibles en el mercado colombiano, se puede decir que los biocidas no conllevan una inversión tan grande y solucionan el problema de raíz. Disminuyendo la pérdida de producto por degradación, siempre y cuando se hagan todos los tratamientos adecuados.

1.5 USO DE BIOCIDAS EN EL CONTROL MICROBIOLÓGICO EN COMBUSTIBLES

Como se dijo anteriormente, uno de los métodos para el tratamiento de combustibles contaminados, es la aplicación de productos biocidas, los cuales son “sustancias capaces de eliminar o controlar la proliferación de microorganismos capaces de provocar alteraciones sobre los seres humanos, animales y sobre el medio ambiente. Las distintas familias químicas de compuestos biocidas poseen perfiles de actuación variados, pero todos ellos comparten la característica de ser letales a los microorganismos bajo cierta conjunción de circunstancias que hacen de ellos el ser viables para su comercialización”²⁵.

²⁵SANCHEZ Sebastián, RODRIGUEZ Fortún, BARAHONA María. Riesgo toxicológico medioambiental de compuestos activos utilizados para la desinfección de torres de refrigeración. Editorial Complutense, 2002. Vol 14 de línea 300. P.1.

Este método permite a los combustibles tener un mayor tiempo de vida. Sin embargo, hay detalles que varían de sistema a sistema una vez se quiere implementar una estrategia antimicrobiana. Uno de los parámetros más importantes es la elección del producto antimicrobiano, ya que este debería: eliminar los microorganismos tanto en la fase acuosa como en el combustible, tener un amplio rango de actividad microbiana, mantener su efecto inhibidor en presencia de otras sustancias, no ser corrosivo para el sistema, tener bajo costo y ser seguro tanto para el uso humano como para el medio ambiente.

Los biocidas pueden clasificarse en tres grandes grupos²⁶: solubles en el combustible, solubles en agua y universalmente solubles. A continuación, se explica más a fondo cada uno de estos grupos:

- **Biocidas solubles en combustible:** son inestables o insolubles en agua, su principal ventaja es que residen en la fase combustible y pueden ser transportados a través de todo el sistema. Su principal desventaja es que son típicamente desactivados por el agua, donde los microorganismos tienden a crecer.
- **Biocidas solubles en agua:** son insolubles en el combustible, tienden a ser económicos y son los más usados en los tratamientos de choque de los fondos con presencia de agua contaminada de tanques que no son drenados normalmente. Los microorganismos encontrados en el agua del fondo pueden aumentar los procedimientos de tratamiento de aguas residuales, por lo tanto, hay un pequeño valor agregado al usar biocidas para matar los microorganismos presentes en las aguas residuales destinadas a tratamiento. Estos biocidas no se mantienen en la fase de combustible para romper las bio-películas formadas por los microorganismos, por lo cual son efectivas solo en las colonias presentes en el agua del fondo.
- **Biocidas universalmente solubles:** son estables tanto en la fase acuosa como en la fase combustible. Estos productos son primordialmente solubles en el combustible, con la suficiente solubilidad en agua para poder actuar en ambas fases. Como los biocidas solubles en combustible, pueden ser transportados a lo largo del sistema. Su solubilidad en agua los hace efectivos para atacar tanto las bio-películas como los microorganismos presentes en el agua del fondo. Su principal desventaja, es su alto costo comparado con los dos anteriores.

Aunque el uso de productos químicos en el control microbiano en combustibles es una solución efectiva, debe manejarse con sumo cuidado, pues la presencia de varios aditivos en el combustible diésel ha traído como consecuencia el aumento de los problemas microbiológicos en los tanques. Por lo cual es importante probar los diferentes productos químicos antes de usarlos, evaluando los posibles cambios en

²⁶ASTM International. Standard guide for microbial contamination in fuel and fuel systems. ASTM D6469-17 (2009). West Conshohocken, PA, 2017.

las propiedades físicas y químicas del combustible, además de evaluar su potencial de promover el crecimiento microbiano²⁷.

Es importante asegurar que el combustible diésel esté libre de microorganismos, porque puede haber una transferencia de contaminación microbiana a los tanques de almacenamiento de combustible en los vehículos, esto puede traer graves consecuencias para los automotores, ya que como lo dice Basté²⁸ “esas activas y crecientes colonias pueden dispersarse a través del sistema combustible y tapar rápidamente el filtro del combustible. La única manera de eliminar el crecimiento microbiológico una vez que se ha iniciado es limpiar y tratar el sistema con un biocida”. No solo los filtros de los automóviles pueden sufrir daños, también puede haber daño en elementos de la bomba de inyección y las camisas, esto se da principalmente por la presencia de agua y partículas además del factor temperatura.

1.5.1 Factores a tener en cuenta al usar tratamientos con biocidas. Luego de haber seleccionado el tipo de biocida que va a ser usado en la eliminación de microorganismos, deben tenerse en cuenta diversos factores que pueden afectar la efectividad del tratamiento.

Los autores Rossmore, Wireman, Rossmore y Riha²⁹, señalan que dentro de los parámetros más importantes a tener en cuenta están:

- **Selección del inóculo:** seleccionar un conjunto de microorganismos que refleje apropiadamente los encontrados en combustibles, es un parámetro que no tiene discusión, pues ha sido dicho por varios autores. Dentro de los candidatos más apropiados están cepas de bacterias, hogos y levaduras. (Ver **ANEXO A**). El consenso se ha basado en sus actividades fisiológicas (la utilización de los hidrocarburos y daños detectables provenientes del crecimiento microbiológico) y los microorganismos que han sido aislados e identificados directamente de muestras de combustibles destilados.
- **Tipo de combustible:** la cantidad y clases de microorganismos encontrados puede variar dependiendo del grado de combustible (por ejemplo, el diésel #2), o del grado del combustible (por ejemplo, combustible de aviación o combustible de calentamiento). Las mezclas de hidrocarburos de bajas volatilidades retienen mayor cantidad de agua, lo que los hace tener un mayor potencial de crecimiento microbiológico.

Adicionalmente, deben tenerse en cuenta dos aspectos de la composición del combustible, incluyendo los paquetes de aditivos: en primer lugar, si hay

²⁷GAYLARDE Christine, BENTO Fatima, KELLEY Joan. Microbial contamination of stored hydrocarbon fuels and its control. En: Revista de microbiología. Febrero de 1999. Vol 30, no 1, p. 01-10. ISSN 0001-3714

²⁸BASTÉ Jorge. Determinación del comportamiento de los componentes contaminantes en el sistema de alimentación diésel. En: Revista de ciencias técnicas agropecuarias. Octubre – Noviembre – diciembre de 2013. Vol 22, No 4, p. 65-68

²⁹ ROSSMOORE Harold, WIREMAN John, ROSSMOORE Leonard, RIHA Veronica. Factors to consider in testing biocides for distillate fuels. En: American Society for testing and Materials. 1998, p. 95-104.

diferencias cualitativas o cuantitativas en el crecimiento microbiológico entre el combustible puro y el combustible con aditivo; y en segundo lugar si el aditivo tiene un efecto biocida o no

- **Agua del fondo:** la relación entre los niveles de agua en el fondo y la actividad del biocida, no es tan simple como parece. Es necesario que el biocida sea parcialmente más soluble en agua, que en el combustible para mejorar su eficacia. Sin embargo, la hidrólisis de los biocidas por cantidades excesivas de agua en el fondo limitan la actividad.
- **Tiempo de almacenamiento:** uno de los retos más difíciles de enfrentar en el momento de realizar pruebas de laboratorio, es el entendimiento de los tiempos de almacenamiento del producto.

Además de estos factores, los autores Hill, Hill, Ling y Collins³⁰, señalan la importancia de los siguientes factores:

- Los tipos de microorganismos y su estado de actividad
- El pH del medio
- La presencia de agentes que inhiben la acción del biocida.
- La concentración del agente biocida
- La temperatura de aplicación del agente biocida.

En éste documento se resalta principalmente el efecto de la temperatura, ya que se afirma que la actividad metabólica decrece con la temperatura. Para que el biocida ejecute su potencial de muerte microbiológica, éste debe ser absorbido y metabolizado por los microorganismos. A temperaturas cercanas a los 4°C, muchos microorganismos no están activos, por lo cual pueden sobrevivir en un estado inactivo a bajas temperaturas.

³⁰ INTERNATIONAL CONFERENCE ON STABILITY, HANDLING AND USE OF LIQUID FUELS. (10, 7-11, October, 2007: Tucson, Arizona). Effect of temperature on the rate of kill of anti-microbials for aviation fuels.

2. DIAGNÓSTICO

Como primer paso del presente trabajo, se realizó un panorama general del estado actual de los fondos de los tanques de almacenamiento de combustible diésel en Colombia. Para así, determinar si la contaminación microbiológica es una realidad en nuestro país y qué tanto puede llegar a afectar a los distribuidores y consumidores de este producto. Para lograr este objetivo, la empresa Mateus Sendoya Asociados LTDA, en conjunto con ECODIESEL Colombia S.A., realizó un muestreo de 48 estaciones de servicio en diferentes zonas del territorio nacional, provenientes de diferentes banderas distribuidoras de combustible.

A continuación, se mostrará el proceso de toma de muestras, análisis y resultados obtenidos.

2.1 MUESTRA TOMADA

En total se visitaron 48 estaciones de servicio, en las cuales se tomaron muestras del fondo de 63 tanques de almacenamiento de combustible diésel a nivel nacional. A continuación, se explica de forma detallada el procedimiento de muestreo realizado en cada uno de los tanques.

2.1.1 Materiales. Para realizar las actividades de muestreo en los tanques de almacenamiento, se buscaron instrumentos adecuados y certificados para la toma de muestras de combustibles. Por lo tanto, se usó un tomador de muestras Bomba Bacon (Ver Figura 7; **Error! No se encuentra el origen de la referencia.**), este equipo asegura la toma de muestras en el fondo del tanque, por ser de acero inoxidable no es degradado por el combustible. En la parte superior del equipo, se conecta una guaya para poder llevarlo hasta el fondo del tanque. Adicionalmente, el sistema es aterrizado por medio de un polo a tierra, para evitar accidentes. Para depositar las muestras tomadas, se usaron recipientes PET de 500 ml.

Figura 7. Tomador de muestras
Bomba Bacon



Fuente: Mateus Sendoya
Asociados LTDA:

2.1.2 Procedimiento. Para comenzar el procedimiento de muestreo, primero se aseguraba el área de trabajo, poniendo conos reflectivos y cinta de peligro, esto debido a que en las EDS normalmente hay flujo constante de automotores.

Posteriormente, se identificaban las bocas por las cuales se iban a tomar las muestras (Ver sección 1.2). Normalmente se tomaban muestras por la boca de descarga, el *manhole* y la boca de medición, en algunos tanques no fue posible abrir todas las bocas. Luego se hacían las conexiones necesarias en el sistema y se tomaba la muestra, ésta era envasada en el recipiente con ayuda de un embudo. Finalmente, la muestra era rotulada y almacenada. Se hacían las respectivas desconexiones y se aseguraba que todas las bocas del tanque quedaran bien tapadas.

2.1.3 Ubicación geográfica de la muestra. Las 48 EDS muestreadas, se encuentran distribuidas en diferentes departamentos del territorio nacional, abarcando diferentes pisos térmicos y condiciones climáticas. Esto con el fin, de tener una muestra representativa a nivel nacional, y así, determinar si la contaminación microbiana en tanques de almacenamiento de combustible diésel, es un problema presente a nivel nacional. En la Tabla 3, se puede observar la cantidad de estaciones muestreadas en cada departamento.

Tabla 3. Número de EDS muestreadas por departamento.

ESTACIONES POR DEPARTAMENTO		
Cundinamarca	13	27%
Santander	5	10%
Boyacá	4	8%
Valle del cauca	7	15%
Casanare	2	4%
Meta	2	4%
Risaralda	1	2%
Atlántico	12	25%
Magdalena	1	2%
Tolima	1	2%
TOTAL	48	100%

Fuente: Elaboración propia

De los 32 departamentos que hay en Colombia, se muestrearon 10, lo cual equivale a un 31% de los departamentos. Sin embargo, en estas muestras recolectadas, se encuentran diferentes pisos térmicos, los cuales se dividieron en frío, templado y cálido. En el **Cuadro 1**, se observa el número de EDS muestreadas en cada uno de los pisos térmicos, con la respectiva altura en metros sobre el nivel del mar (MSNM) y la temperatura ambiente correspondiente en °C.

Cuadro 1. Número de EDS muestreadas por piso térmico, donde la temperatura reportada está referida a el piso térmico.

Piso Térmico	msnm	Rango De T°	N° Eds
Frio	>2.000	6 – 17°C	15
Templado	1.000 – 2.000	17 – 24°C	6
Cálido	0 – 1.000	> 24°C	27
TOTAL			48

Fuente: elaboración propia

2.2 ANÁLISIS REALIZADOS

Para determinar el estado de cada una de las muestras de fondo recolectadas, se realizaron 3 análisis de laboratorio: apariencia, porcentaje de agua y sedimentos (por centrifugación) y determinación de contaminación microbiana. A continuación, se explica más a fondo cada una de las pruebas realizadas.

2.2.1 Prueba de apariencia. Las pruebas de apariencia se hicieron según el método ASTM D4176-04³¹, el cual evalúa, por medio de inspección visual, la presencia de agua libre y material particulado en el combustible. Para realizar esta prueba, primero se depositaba la muestra en un recipiente de vidrio totalmente transparente. En un lugar bien iluminado, se hacía una inspección visual, con la cual se determinaba si la muestra presentaba sólidos en suspensión o agua libre. Posteriormente, debía usarse una carta de apariencia, según como lo describe el método. Esta carta tiene líneas de diferente grosor, las cuales permiten evidenciar que tan clara y brillante o turbia es la muestra. (Ver Figura 8)

Figura 8. Carta de apariencia, según ASTM D4176



Fuente: Mateus Sendoya Asociados LTDA.

La carta de apariencia, se ubicaba detrás de la muestra y se determinaba la calificación según la línea que se viera más claramente. Donde 1 corresponde a una muestra clara, brillante y sin sólidos en suspensión, mientras que 5 corresponde a una muestra turbia, donde solo se alcanza a ver la última raya de la carta. Cuando las muestras están tan turbias que no puede identificar ninguna de las rayas de la carta, la calificación es NO PASA. (ver **Figura 9**, **Figura 10**, **Figura 11**)

Figura 9. Prueba de apariencia en combustibles.
CALIFICACIÓN NO PASA



Figura 10. Prueba de apariencia en combustibles.
CALIFICACIÓN 3

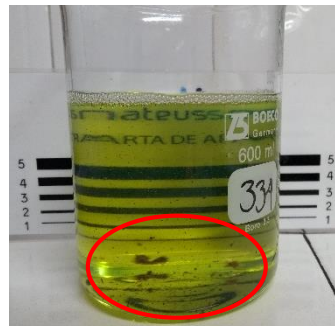


Figura 11. Prueba de apariencia en combustibles
CALIFICACIÓN 1

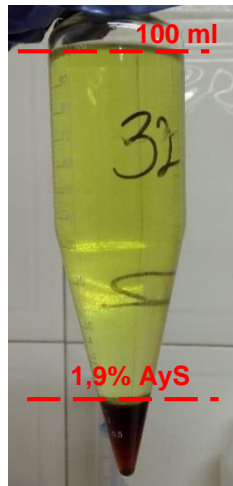


³¹ASTM International. Standard test method for free water and particulate contamination in distillate fuels (visual inspection procedures). ASTM D4176-04 (2009). West Conshohocken, PA, 2009.

2.2.2 Contenido de agua y sedimentos por centrifugación. Para determinar el contenido de agua y sedimentos en las muestras, se usó el método ASTM D1796-04³². Este método determina el porcentaje de agua y sedimentos presente en el combustible, por medio de centrifugación.

Para realizar esta prueba, primero se agitaba la muestra durante 5 minutos usando un agitador magnético, esto con el fin de asegurar que la muestra sea completamente homogénea. Posteriormente, se llenaba el tubo de la centrifuga hasta la marca de 100 ml (igual que en la **Figura 12**), asegurando que el peso de los cuatro tubos fuera el mismo. Posteriormente, se ponían los tubos en la centrifuga, se tapaba y se ajustaba a 2000 rpm durante 10 minutos. Finalmente, se determinaba el porcentaje de agua y sedimentos según las marcas de los tubos. Por ejemplo, en la **Figura 12**; **Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se puede ver una muestra con un contenido de 1,9% de agua y sedimentos.

Figura 12. Prueba contenido agua y sedimentos



Fuente: elaboración propia

2.2.3 Prueba de contaminación microbiológica. Las pruebas de contaminación microbiana, se realizaron por medio de *Cult Test*. Esta prueba consiste en determinar cualitativamente la presencia de moho, levaduras o bacterias en el combustible, por medio de tirillas donde se puede observar el crecimiento de dichos microorganismos (ver Figura 13).

³²ASTM International. Standard test method for water and sediment in fuel oils by the centrifuge method (Laboratory procedure). ASTM D1796-04. West Conshohocken, PA, 2009.

Figura 13. Prueba microbiológica cualitativa



Izquierda: resultado después de una semana. *Derecha:* primer día de la prueba.

Para realizar esta prueba, primero se agitaba la muestra hasta lograr homogeneidad en la mezcla, luego se preparaba el kit microbiológico según sus instrucciones de uso y se rotulaba con el número de la muestra correspondiente, la tirilla era sumergida en la muestra y puesta en su respectivo empaque. Finalmente, las tirillas eran puestas en el horno, a una temperatura de 28°C durante una semana, tomando registro fotográfico cada 24 horas.

2.3 RESULTADOS

Como se dijo anteriormente, a cada una de las muestras se le realizaron tres pruebas (aparición, contenido de agua y sedimentos y contaminación microbiológica), con el fin de determinar el estado de los fondos de los tanques de almacenamiento de combustible diésel. En total se realizaron 95 pruebas de aparición, 95 pruebas de contenido de agua y sedimentos y 63 pruebas microbiológicas.

En las pruebas de aparición se encontró que 33 de las muestras tienen una calificación NO PASA y ninguna de las muestras tiene calificación 1, es decir que ninguna de las muestras está en perfectas condiciones de aparición (ver **sección 2.2.1**), a continuación en la **Tabla 4** se muestran los resultados de aparición para cada calificación.

Tabla 4. Resultados pruebas de aparición diagnóstico

Calificación	N° Muestras	Porcentaje
NO PASA	33	35%
5	15	16%
4	15	16%
3	25	26%
2	7	7%
1	0	0
TOTAL	95	100%

Para la prueba de porcentaje de agua y sedimentos se decidieron hacer intervalos con el fin de agrupar los resultados y poderlos entender de una forma más sencilla. A continuación, en la **Tabla 5** se muestran la cantidad de muestras ubicadas en cada uno de los intervalos.

Tabla 5. Resultados porcentaje de agua y sedimentos diagnóstico

%AGUA Y SEDIMENTOS	N° MUESTRAS	PORCENTAJE
≤ 0,05%	23	24%
0,06 - 1%	49	52%
1 - 10%	15	16%
> 10%	8	8%
TOTAL	95	100%

Fuente: Elaboración propia

Para las pruebas de contaminación microbiológica, los resultados se ordenaron según el tipo de microorganismo encontrado en la muestra. En la **Tabla 6**, se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 6. Resultados contaminación microbiológica diagnóstico

MICROORGANISMO	N° MUESTRAS
Negativo*	11
Bacteria	0
Moho y levadura	23
Moho, levadura y bacteria	29
TOTAL	63

Fuente: Elaboración propia

*Cuando se habla de NEGATIVO, se refiere a muestras en las cuales no creció ningún tipo de microorganismo.

En el **ANEXO B**, se muestra el consolidado de muestras analizadas, especificando los números de muestra, la ciudad donde está ubicada la EDS, el clima y los resultados de los análisis.

2.4 ANÁLISIS DE RESULTADOS

La prueba de apariencia es muy importante a la hora de hablar de combustibles, pues da un primer indicio de si hay agua libre o sólidos en suspensión en la muestra, lo cual se debe evitar a toda costa, pues la presencia de cualquiera de estas dos condiciones puede traer serios daños a los vehículos³³.

³³ ACEVEDO Manuel. Influencia de los contaminantes del combustible diésel sobre la durabilidad de los elementos de precisión. En: Centro Azúcar. Junio del 2000.Vol 4,p. 83-90.

Al determinar el porcentaje de muestras que tienen una buena apariencia (calificación 1, 2 o 3), se encontró que solo 33% lo obtuvieron, y además ninguna de las muestras obtuvo 1 como calificación. En la **Tabla 4**, se pueden observar los porcentajes de muestras que están ubicados en cada una de las calificaciones. Además, se evidenció que las muestras correspondientes a la boca de descarga tienen una mejor apariencia que las muestras tomadas por otras bocas.

Según la resolución 90963 de 2014³⁴, la cantidad máxima permitida de agua y sedimentos en una muestra debe ser 0,05%. Para las muestras evaluadas solo el 24% cumplía con dicho parámetro (ver **Tabla 5**). Gracias a que en la prueba de apariencia se observó una tendencia de mejor apariencia en las bocas de la descarga, se determinó el número de muestras que no aprueba el parámetro de agua y sedimentos en cada una de las bocas (ver **Tabla 7**). Adicionalmente se determinó el número de muestras que tiene más de 1% de agua y sedimentos en cada una de las bocas.

Tabla 7. Muestras con contenido mayor a 0,05% de agua y sedimentos en cada una de las bocas

Boca	N° Muestras	Muestras con agua y sedimentos > 0,05%	% Muestras sobre el total	Muestras con agua y sedimentos > 1%	% Muestras sobre el total
DESCARGA	27	16	59%	2	7%
MEDICIÓN	24	17	71%	5	21%
MANHOLE	33	29	88%	13	39%
VEEDER	11	10	91%	3	27%
TOTAL	95	72	--	23	--

Fuente: Elaboración propia

En la tabla anterior, se puede observar que en los dos casos evaluados (muestras con contenido de agua y sedimentos mayor a 0,05% y mayor a 1%), en la boca de la descarga hay menor porcentaje de muestras que no cumplen el parámetro. Lo cual comprueba que generalmente en la boca de la descarga las muestras tienen mejor apariencia y menor contenido de agua y sedimentos, en comparación a las otras bocas. En la **Figura 14** se muestra un ejemplo de esta condición, donde la muestra tomada por la boca de la descarga tiene una apariencia clara y brillante, aunque con algunos sólidos en suspensión. Mientras que las muestras tomadas por la boca de medición y el *manhole*, son totalmente turbias. Esto se puede explicar debido a que en la boca de descarga hay un tubo de alivio que llega casi hasta el fondo del tanque, por el cual pasa el producto cada vez que el tanque es llenado, esto genera un flujo turbulento en esta zona particular del tanque, haciendo que los

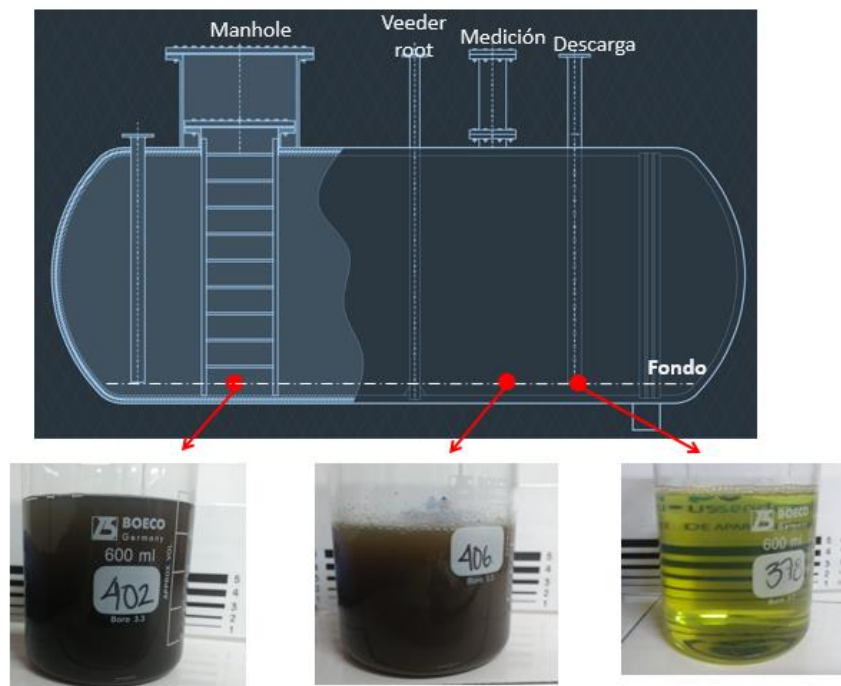
³⁴COLOMBIA. MINISTERIO DE MINAS Y ENEGIA. Decreto 90963 de 2014 (11 de septiembre de 2014). Por el cual se modifica el artículo 4° de la resolución número 898 de 1995. Diario Oficial No. 49.271.

sólidos acumulados se distribuyan en otras zonas del tanque. Por lo tanto, los fondos de las bocas diferentes a la descarga permanecen estáticos y acumulan la mayor parte de agua y sedimentos. Gracias a este fenómeno, se comprobó que para tener una muestra más certera del tanque de almacenamiento se deben tomar muestras no solo por la boca de descarga, sino por lo menos por una boca adicional

En la prueba de contaminación microbiana, se realizó una por cada tanque, generalmente en una boca diferente a la descarga. Se encontró que el 82% de los tanques (52 tanques) tienen problemas de contaminación microbiana, y que por lo tanto el 90% de las EDS evaluadas tienen problemas de contaminación microbiológica en por lo menos uno de sus tanques de almacenamiento de diésel.

Con los resultados obtenidos en los análisis realizados, se puede decir que actualmente hay un problema serio en los tanques de almacenamiento de diésel, pues los propietarios y trabajadores de las EDS no tienen un procedimiento claro para combatir esta problemática.

Figura 14. Muestras tomadas en la EDS 16-1-44

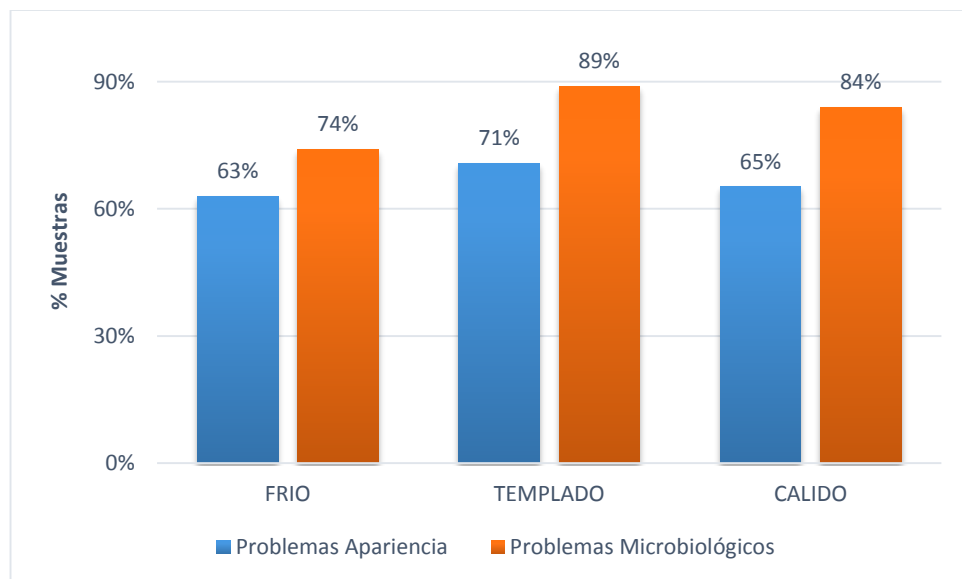


Fuente: Elaboración propia

2.4.1 Relación entre problemas y pisos térmicos. En la cadena de combustibles hay ciertos mitos acerca del manejo del combustible diésel, por ejemplo, se dice que es mucho más fácil tener un buen producto en climas cálidos, principalmente por el biodiésel, ya que el biodiésel en climas muy fríos presenta precipitación de componentes menores, sin embargo hay que tener en cuenta que solo 10% de la mezcla es biodiésel, y además que la calidad de este producto ha ido mejorando paulatinamente, pues han ido llegando nuevas y mejores tecnologías que han permitido ofrecer un producto de mejor calidad. Por esta razón se quiso analizar la relación existente entre los problemas microbianos y de apariencia frente al piso térmico en el que está ubicada la EDS.

Para determinar los problemas de apariencia, se tomó el número total de muestras en cada uno de los climas, y de estas muestras se determinó el número que tenía una calificación en la prueba de apariencia de NO PASA, 5 o 4, para así sacar el porcentaje de muestras con problemas de apariencia en cada uno de los pisos térmicos. De la misma forma se determinó la cantidad de muestras que presentan problemas microbiológicos en cada uno de los pisos térmicos. Los resultados obtenidos se muestran en la **Figura 15**.

Figura 15. Problemas de apariencia, según carta de apariencia, y microbiológicos en cada uno de los pisos térmicos



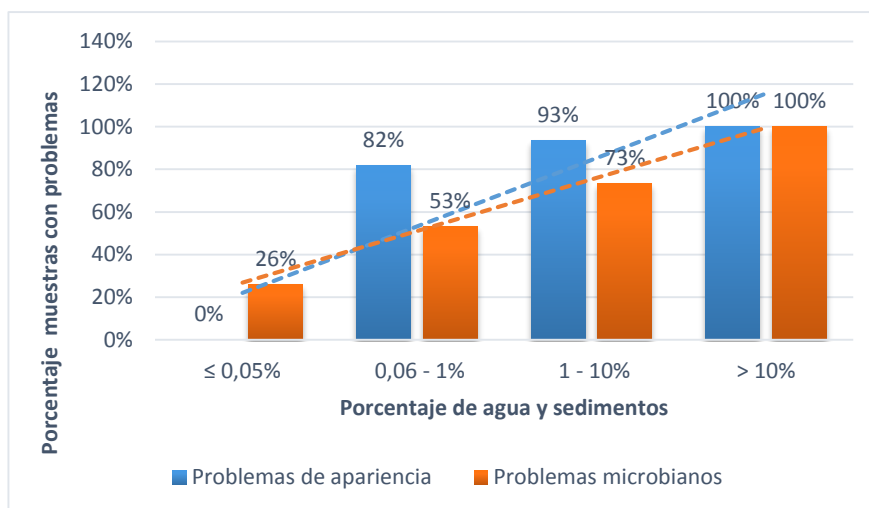
Fuente: Elaboración propia

En la **Figura 15**, se observa que hay menor cantidad de problemas en los pisos térmicos fríos. Sin embargo, no se evidencia una relación directa entre los problemas de apariencia y microbiológicos con el piso térmico, es decir a menor temperatura menores problemas o viceversa, lo cual podría demostrar que la creencia del común de las personas en la cadena no es del todo cierta. Para poder

afirmar que alguno de los pisos térmicos evaluados es el que presenta mayores o menores problemas se deberían evaluar la misma cantidad de muestras en cada uno de los grupos escogidos, para así mejorar las comparaciones.

2.4.2 Relación entre problemas microbiológicos, apariencia y agua y sedimentos. Los microorganismos al estar presentes en el combustible empiezan a metabolizar sus diferentes fuentes de energía (carbono, oxígeno, fósforo, etc.), con lo cual a su vez generan diferentes tipos de residuos (sólidos en suspensión, ácidos, etc...). Además de esto, los microorganismos buscan la forma de auto protegerse, esto por medio de bio-películas, formadas por distintos materiales³⁵. Estas condiciones llevaron a buscar si hay una relación directa entre la contaminación microbiana, la apariencia y la cantidad de agua y sedimentos presente en el combustible.

Figura 16. Relación entre problemas y porcentaje de Agua y sedimentos



Fuente: Elaboración propia

En primer lugar, para realizar el análisis se dividió el parámetro de agua y sedimentos en diferentes categorías ($\leq 0,05\%$, entre 0,06 y 1%, entre 1 y 10%, $>10\%$), para así determinar el número de muestras que tienen problemas de apariencia (NO PASA, 5 o 4) en cada una de estas categorías. Posteriormente se hizo el mismo tratamiento, pero determinando el número de muestras que presentaban contaminación microbiana positiva en cada una de las categorías de agua y sedimentos. En la **Figura 16**, se muestra el resumen de estos resultados obtenidos.

³⁵YEMASHOVA Natalia, MURYGINA Valentina., ZHUKOV Dmitry, ZAKHARYANTZ Arpenik, GLADCHENKO Marina, APPANNA Vasu, KALYUZHNYI Sergey. Biodeterioration of crude oil and oil derived products: a review. En: Reviews in Environmental Science and Bio/Technology. Octubre de 2007. Vol 6, no 4, p. 315 – 337.

En la **Figura 16**, se observa como a medida que aumenta la cantidad de agua y sedimentos en las muestras aumenta el porcentaje de muestras que tienen una peor apariencia, es decir que hay una relación directa entre la cantidad de agua y sedimentos y la apariencia de la muestra. Esto es totalmente claro, pues a medida que hay mayor cantidad de agua y sedimentos en el combustible, este se va a tonar más turbio, es decir su apariencia empeora.

Además de esto, también se encontró que hay una relación directa entre la cantidad de agua y sedimentos y la contaminación microbiológica, pues a medida que hay mayor cantidad de agua y sedimentos hay mayor porcentaje de muestras con contaminación microbiana, llegando a que todas las muestras que presentan más del 10% de agua y sedimentos presentan contaminación microbiológica. Con esta relación se confirma lo dicho anteriormente, pues la presencia de agua aumenta las probabilidades del desarrollo microbiano en el tanque, y a medida que hay mayor cantidad de microorganismos, hay mayor producción de sedimentos y otros residuos por parte de estos organismos, esto gracias a que sus procesos metabólicos generan compuestos ajenos al combustible.

Después de analizar toda la información recolectada y evaluada a lo largo de este capítulo, se puede evidenciar que, en la mayor parte de Colombia, hay un problema generalizado por el estado de los tanques de almacenamiento de combustible diésel, pues sin importar el clima o la región se encontraron problemas de apariencia y contaminación microbiana. Lo más grave es que la mayoría de los propietarios de las EDS no sabían la gravedad de esta problemática y además no se tiene un procedimiento claro para intervenir los tanques de almacenamiento cuando hay contaminación microbiana en los mismos, ni cómo evitar que dicho problema vuelva a surgir con el paso del tiempo.

3. EXPERIMENTACIÓN

Una de las técnicas más eficaces para la eliminación de contaminación microbiana en tanques de almacenamiento de combustible diésel es la aplicación de biocidas, sin embargo, hay que tener una serie de precauciones a la hora de usar estos productos, pues de esto dependerá su acción.

En el presente estudio, se seleccionaron dos productos biocidas diferentes para ser evaluados. El principal objetivo de realizar esta investigación es la validación de las recomendaciones suministradas en las fichas técnicas de los productos seleccionados, pues hasta el momento no han sido probados en combustible 100% colombiano. Hay que tener en cuenta que el combustible diésel en Colombia presenta características diferentes al de otros países, como lo es el contenido de biodiésel de palma³⁶. Además de esto, se quiere llegar a encontrar una dosificación y tiempo de residencia mínimos, para que estos productos sean efectivos y su uso no genere sobrecostos en la operación de mantenimiento de los tanques para las EDS.

Por estas razones en este capítulo se quiso evaluar la acción de dos biocidas, en una muestra de un tanque de almacenamiento de diésel contaminado microbiológicamente. A continuación, se muestran cada uno de los pasos llevados a cabo para realizar la experimentación con biocidas a nivel laboratorio.

3.1 EXPERIMENTACIÓN A NIVEL LABORATORIO

3.1.1 Biocidas y muestras seleccionadas. Antes de realizar la experimentación a nivel laboratorio, debían tenerse en cuenta diferentes aspectos, como lo son los biocidas que iban a ser usados en la experimentación y la EDS en la cual se iba a realizar todo el tratamiento. A continuación, se muestra las decisiones tomadas en cada uno de estos aspectos y las razones que las sustentan.

³⁶ MOREIRA Eleonice. Principales características de las materias primas utilizadas en la producción de biodiésel: la influencia del contenido y la concentración de los ácidos grasos. En: Ingenium revista de la facultad de ingeniería. Abril de 2012. Año 13, N°25.

3.1.1.1 Biocidas seleccionados. Uno de los parámetros más importantes a la hora de realizar control microbiológico en tanques de almacenamiento con productos químicos, es la selección del producto biocida. Pues dependiendo de sus características va a ser su comportamiento y rendimiento. En este caso se eligieron dos productos diferentes suministrados por la misma compañía. Ésta compañía es especialista en fabricar productos para el control microbiano en diferentes campos de la industria. Por motivos de confidencialidad, no se va a dar el nombre de la empresa ni de los productos usados.

La principal característica evaluada a la hora de escoger los dos productos fue su capacidad de solubilizarse tanto en la fase acuosa como en el combustible, pues esta característica permite eliminar los microorganismos presentes en el combustible y a la vez atacar las bio-películas formadas por ellos. A continuación, se describe más a profundidad cada uno de los productos usados:

- **Biocida 1:** este producto contiene una mezcla de 5-cloro-2-metil-3(2H)-isotiazolona y 2-metil-3(2H)-isotiazolona. Es efectivo en bajas concentraciones, atacando especies microbianas comúnmente encontradas en sistemas de combustible, como lo son bacterias, mohos y levaduras. Está diseñado para inhibir el crecimiento microbiano al contacto, y tener un efecto rápido en la muerte de microorganismos. Gracias a su solubilidad tanto en agua como en combustible. es efectivo en sistemas que contengan las dos fases, a diferencia de otros biocidas los ingredientes activos de este producto no se inactivan con la presencia de agua.
Este biocida, es típicamente dosificado en concentraciones de 200 a 300 ppm, para un tratamiento curativo con un tiempo de residencia mínimo de 12 horas, sin embargo, es recomendado dejarlo durante 24 horas. La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US EPA), permite su uso hasta en 400 ppm en combustibles altamente contaminados, en este caso se recomienda un tiempo de residencia de 24 horas.
- **Biocida 2:** es un efectivo agente antimicrobiano para conservación de los combustibles. Está registrado por la US EPA para uso como biocida y como un aditivo para diésel, aceite combustible o combustible de queroseno. Contiene dos ingredientes activos 4-(2-nitrobutil)-morfolina y 4,4'-(2-etil-2-nitrotrimetileno)-dimorfolina, los cuales son únicos en su ancho espectro de actividad antimicrobiana y compatibilidad. Este biocida es parcialmente soluble en agua, pero es totalmente soluble en solventes orgánicos incluyendo hidrocarburos alifáticos. Dentro de sus principales beneficios están su efectividad tanto en agua como en combustible, no deja depósitos corrosivos, reduce los costos de mantenimiento del motor y ayuda a prevenir fallas en el sistema de combustible.

Este biocida debe ser usado a los niveles recomendados. Entre 135 y 250 ppm, trabaja como preservativo. Dosificaciones entre 500 y 1000 ppm deben ser usadas en tratamientos de choque en sistemas latamente contaminados.

Estos productos no están disponibles en el mercado colombiano, deben ser importados de Estados Unidos. Por información recolectada por Empresa Mateus Sendoya Asociados, se determinó que el precio de venta de estos aditivos en el país sería de alrededor de \$120.000 pesos por kilogramo de biocida, teniendo en cuenta costos de transporte, impuestos y de más gastos que pueden ser generados en la importación del producto.

3.1.1.2 EDS seleccionada. Para poder realizar esta elección primero debían tenerse en cuenta varios aspectos:

1. La EDS seleccionada debía tener la autorización de su propietario para hacer tanto la experimentación a nivel laboratorio como el posterior tratamiento en campo.
2. La EDS seleccionada debía estar ubicada en la ciudad de Bogotá D.C., para disminuir los tiempos de transporte y los costos.
3. Al realizar la prueba microbiológica, esta debía dar positiva tanto para bacterias como para moho y levadura, con una carga microbiana significativa.

Debido a que ninguna de las EDS ya analizadas en el diagnóstico dio los permisos necesarios, se contactó otra EDS la cual no estuvo incluida en la etapa de diagnóstico, por lo tanto, a esta EDS se le realizaron los mismos análisis realizados a cada una de las muestras evaluadas en el diagnóstico (aparición, porcentaje de agua y sedimentos y contaminación microbiológica). A continuación, se muestran los resultados de cada una de las pruebas.

La EDS seleccionada se encuentra ubicada en la ciudad de Bogotá D.C., por motivos de seguridad y de acuerdos comerciales, no se va a revelar su ubicación exacta ni la marca a la cual pertenece. La EDS seleccionada tiene un solo tanque de almacenamiento de diésel, este fue muestreado en el fondo, se tomaron 3 litros de muestra (ver **Figura 17**).

Figura 17. Muestras tomadas en la EDS seleccionada.



Fuente: Elaboración propia

A simple vista, la muestra tomada parecía tener una apariencia clara y brillante, sin embargo, al realizar la prueba de apariencia e inspeccionar cuidadosamente la muestra se evidenciaba gran cantidad de sólidos en suspensión, además de sólidos grandes y cafés (Ver **Figura 18**). En la etapa de diagnóstico, se evidenció que este tipo de sólidos eran característicos de contaminación microbiana, sin embargo, solamente con la prueba de apariencia esto no podía ser afirmado. Para esta prueba, la muestra obtuvo una calificación de 3.

Figura 18. Prueba de apariencia para la EDS seleccionada.

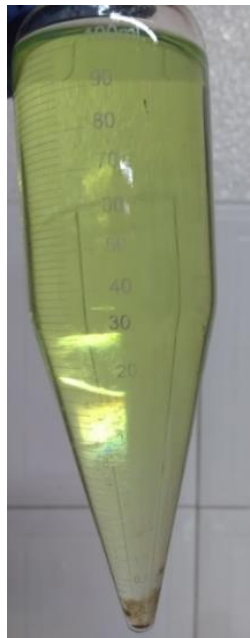


Fuente: Elaboración propia

Luego de realizar la prueba de apariencia, se determinó la cantidad de agua y sedimentos por centrifugación. Se evidenció que la muestra presentaba 0.15% de agua y sedimentos (Ver **Figura 19**), es decir que la muestra no cumple con el parámetro establecido por la norma, pues debería ser menor o igual a 0.05%, adicionalmente se podría decir que la muestra es propensa a tener contaminación microbiana, pues en la etapa de diagnóstico se pudo determinar que a mayor cantidad de agua y sedimentos presente en la muestra, hay mayores probabilidades de tener algún tipo de contaminación microbiana.

Para realizar la prueba de contaminación microbiológica, se usaron otro tipo de kits, ya que se quería obtener un resultado más cuantitativo, pues las pruebas realizadas en el diagnóstico daban un resultado totalmente cualitativo. Estos kits son suministrados por la empresa KMT Keysotone Materials Testing, Inc., y al igual que los usados en el diagnóstico identifican la presencia de moho, levaduras o bacterias en el combustible, con la ventaja de dar una escala cualitativa del grado de contaminación de combustible, como se observa en la **Figura 20**. Para las pruebas que se realizan en capítulos posteriores incluyendo el diseño de experimentos y el tratamiento en campo, se van a usar la misma clase de kits microbiológicos, para que no haya una alteración en los resultados.

Figura 19. Contenido de agua y sedimentos para la EDS seleccionada

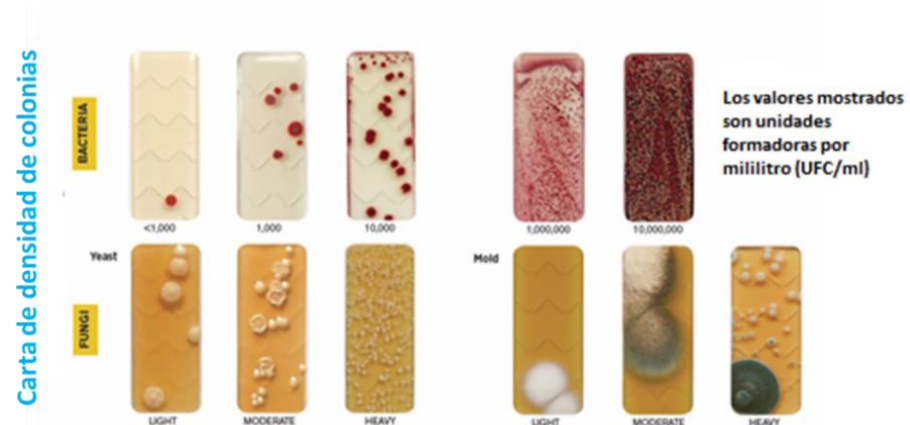


Fuente: Elaboración propia

El procedimiento para realizar estas pruebas microbiológicas es sencillo y muy parecido al de las pruebas usadas en el diagnóstico. El medio de cultivo venía en una laminilla, la cual por un lado permite el crecimiento de bacterias y por el otro el crecimiento de moho y levaduras, además de esto el kit trae un recipiente para la recolección de la muestra (Ver **Figura 21**). En primer lugar, la muestra era dispuesta en el recipiente que trae el kit para poder sumergir la laminilla durante mínimo 15 segundos. La laminilla debía dejarse escurrir para que no quedara exceso de combustible, finalmente el recipiente era sellado para evitar la entrada de cualquier

conteniente externo. El kit debía dejarse en lugar oscuro durante 1 semana para obtener el resultado final.

Figura 20. Escala de contaminación microbiana para determinación de resultados



Fuente: KMT Keysotone Materials Testing, Inc

Al realizar la prueba de contaminación microbiológica, se evidenció que la muestra tiene presencia de bacterias, moho y levadura (Ver **Figura 22**). Al comparar los resultados con la escala de contaminación de los kits (Ver **Figura 20**), se determinó que tiene una carga de bacterias aproximadamente de 1.000 UFC/ml y un nivel alto de contaminación para moho y levaduras.

Figura 21. Procedimiento de cultivo de muestras microbiológicas.

a. Materiales suministrados por el kit. **b.** Inoculación de la muestra. **c.** Muestra ya inoculada



Fuente: Elaboración propia

Figura 22 Prueba microbiológica para la EDS seleccionada
Izquierda: prueba para moho y levadura. Derecha: prueba para bacterias.



Fuente: Elaboración propia

3.1.2 Diseño de experimentos. El objetivo de experimentación era determinar el tiempo mínimo de contacto y la concentración mínima de biocida que debía ser dosificado para que haya una completa eliminación de los microorganismos en la muestra evaluada. Para lograr este objetivo, se realizaron dos diseños de experimentos por separado, uno para cada biocida, sin embargo, en los dos se evaluaron las mismas variables:

- Concentración de biocida (ppm), esta variable debía ser evaluada pues hacer una dosificación más alta de la adecuada podría generar altos costos para las estaciones de servicio. En los dos diseños de experimentos se evaluaron tres niveles, para el biocida 1 se evaluaron las concentraciones de 200, 300 y 400 ppm, mientras que para el biocida 2 se evaluaron concentraciones de 500, 750 y 1000 ppm. Estos valores fueron escogidos a partir de las fichas técnicas de los productos³⁷.
- Tiempo de contacto (horas), para que el biocida tenga una acción efectiva debe tener un tiempo de contacto mínimo con el producto, sin embargo, esto también puede generar pérdidas para la estación de servicio, pues significa tener el tanque fuera de servicio durante este tiempo. Para los dos biocidas se evaluaron tiempos de 6 y 12 horas, pues en la ficha técnica se especifica que el producto es totalmente efectivo a las 24 horas, pero se debe tener en cuenta que para las estaciones que tienen solamente un tanque de almacenamiento de diésel esto significa durante un día completo no vender diésel, este es el caso de la EDS sometida a experimentación.

La variable respuesta escogida fue la presencia o no de microorganismos, independientemente de que clase de microorganismo sea (bacteria, moho o

³⁷ Por motivos de acuerdos de confidencialidad con la empresa que suministra éstos productos, las fichas técnicas no pueden ser publicadas en el presente documento

levadura), esto se representara por medio de uno (1) cuando hay presencia o cero (0) cuando no hay presencia. Cada uno de los tratamientos realizados va a tener una réplica. Por lo cual, se realizaron 12 ensayos en cada diseño de experimentos para un total de 24 ensayos. Cada ensayo se refiere a una prueba microbiológica (Ver **Figura 22**). A continuación, en la **Tabla 8** y en la **Tabla 9** se muestran las tablas donde se puede ver más claramente cada uno de los diseños de experimentos a realizar.

Tabla 8. Diseño de experimentos Biocida 1: concentraciones y tiempos seleccionados

Ensayo	Réplica	Tiempo de contacto (Horas)	Concentración Biocida 1 (ppm)
1	1	6	200
	2	6	200
2	1	6	300
	2	6	300
3	1	6	400
	2	6	400
4	1	12	200
	2	12	200
5	1	12	300
	2	12	300
6	1	12	400
	2	12	400

Fuente: elaboración propia

Tabla 9. Diseño de experimentos Biocida 2: concentraciones y tiempos seleccionados

Ensayo	Réplica	Tiempo de contacto (Horas)	Concentración Biocida 2 (ppm)
7	1	6	500
	2	6	500
8	1	6	750
	2	6	750
9	1	6	1000
	2	6	1000
10	1	12	500
	2	12	500
11	1	12	750
	2	12	750
12	1	12	1000
	2	12	1000

3.1.2.1 Procedimiento y resultados, biocida 1. Como se dijo anteriormente, para este diseño de experimentos se realizaron 6 ensayos cada uno con una réplica, para un total de 12 tratamientos por biocida.

Para realizar cada uno de estos ensayos, se dispusieron 200 ml de combustible de la EDS seleccionada en 6 recipientes de vidrio. En dos de estos recipientes se dosificaron 200 ppm de biocida 1, en los otros dos 300 ppm y en los dos restantes 400 ppm. En el momento de realizar la dosificación del biocida, se tuvo en cuenta la hora exacta, para así poder llevar a cabo el tratamiento durante las horas determinadas.

Las muestras correspondientes a este diseño de experimentos se dosificaron en promedio a las 10 am, las muestras se dejaron cerradas herméticamente durante 6 horas a temperatura ambiente (20°C). Luego de transcurridas 6 horas (aproximadamente a las 4 pm), se realizaron análisis microbiológicos a cada una de las muestras. Posteriormente, se dejaron otra vez las muestras cerradas herméticamente y a temperatura ambiente durante otras 6 horas, para así completar 12 horas desde la dosificación del producto biocida 1, en promedio a las 10 pm se realizaron otra vez las pruebas microbiológicas a cada una de las muestras nuevamente.

A continuación, en la **Tabla 10** se muestran los resultados obtenidos, donde se observa el tipo de microorganismos encontrados y entre paréntesis la calificación obtenida (calificación 1 o calificación 0). Los resultados de los ensayos 2 y 5, fueron removidos porque los resultados generaban ruido, y no eran congruentes con los resultados de los demás ensayos.

Tabla 10. Resultados Biocida 1

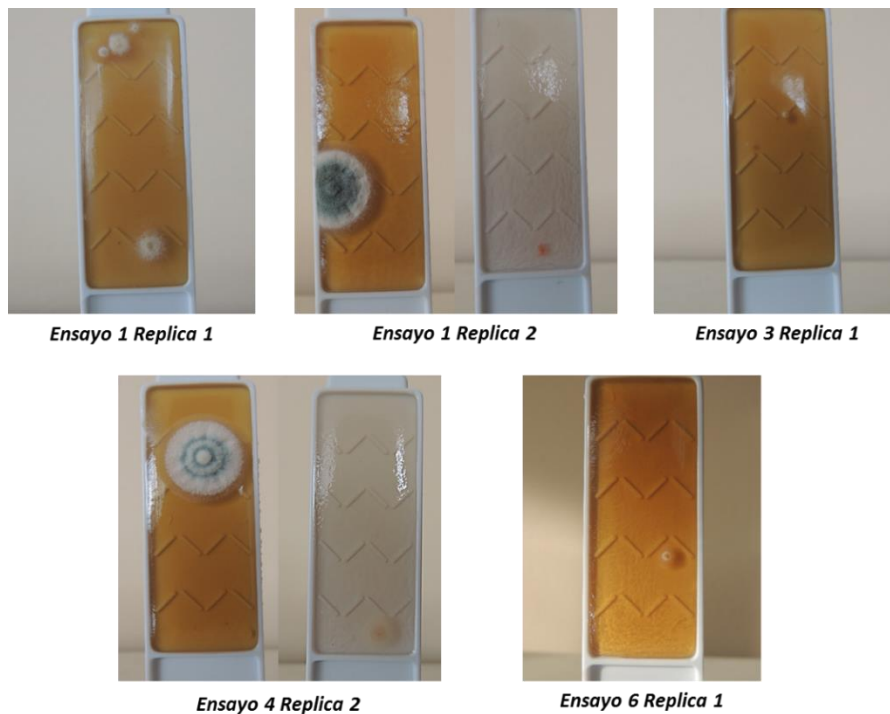
Ensayo	Réplica	Tiempo de contacto Biocida 1 (Horas)	Concentración (ppm)	Resultado	Calificación*
1	1	6	200	Positivo moho	1
	2	6	200	Positivo moho y bacteria	1
3	1	6	400	Positivo moho	1
	2	6	400	Negativo	0
4	1	12	200	Negativo	0
	2	12	200	Positivo moho y bacteria	1
6	1	12	400	Positivo moho	1
	2	12	400	Negativo	0

Fuente: elaboración propia

*Donde la calificación 1 es presencia de algún tipo de microorganismo y calificación 0 no hay presencia de ninguna clase de microorganismo

A pesar de que el tratamiento no fue efectivo en todos los casos evaluados, se puede evidenciar una reducción significativa en la carga microbiológica (teniendo en cuenta que las pruebas son cualitativas), pues en ninguna de las muestras evaluadas se evidenció la misma carga microbiológica detectada inicialmente en la EDS seleccionada (ver **Figura 22**). A continuación en la **Figura 23**, se muestran las fotografías de las muestras que aun después de realizar el tratamiento con el biocida 1 tienen presencia de microorganismos.

Figura 23. Resultados Biocida 1



Fuente: elaboración propia

En la sección 3.1.2.3 se discuten más a fondo los resultados obtenidos, de acuerdo a investigaciones realizadas con los mismos productos.

3.1.2.2 Procedimiento y resultados, Biocida 2. Al igual que en el diseño de experimentos anterior, se realizaron 6 ensayos cada uno con 1 réplica, para un total de 12 tratamientos.

Para realizar cada uno de estos ensayos, se dispusieron 200 ml de combustible de la EDS seleccionada en 6 recipientes de vidrio. En dos de estos recipientes se dosificaron 500 ppm de biocida 2, en otros dos 750 ppm y a los dos restantes 1000

ppm. En el momento de realizar la dosificación del biocida, se tuvo en cuenta la hora exacta, para así poder llevar a cabo el tratamiento durante las horas determinadas. Las muestras correspondientes a este diseño de experimentos se dosificaron en promedio a las 10:30 am, las muestras se dejaron cerradas herméticamente durante 6 horas a temperatura ambiente (20°C). Luego de transcurrir 6 horas (aproximadamente a las 4:30 pm), se realizaron análisis microbiológicos a cada una de las muestras. Nuevamente, se dejaron las muestras cerradas herméticamente y a temperatura ambiente durante otras 6 horas, para así completar 12 horas desde la dosificación del producto biocida 2, en promedio a las 10:30 pm se realizaron otra vez pruebas microbiológicas a cada una de las muestras nuevamente.

A continuación en la **Tabla 11** se muestran los resultados obtenidos, especificando el tipo de microorganismos encontrados y entre paréntesis la calificación obtenida (calificación 1 o calificación 0).

Tabla 11. Resultados Biocida 2

Ensayo	Réplica	Tiempo de contacto (Horas)	Concentración Biocida 2 (ppm)	Resultado	Calificación*
7	1	6	500	Negativo	0
	2	6	500	Negativo	0
8	1	6	750	Negativo	0
	2	6	750	Negativo	0
9	1	6	1000	Negativo	0
	2	6	1000	Negativo	0
10	1	12	500	Negativo	0
	2	12	500	Negativo	0
11	1	12	750	Negativo	0
	2	12	750	Negativo	0
12	1	12	1000	Negativo	0
	2	12	1000	Negativo	0

Fuente: elaboración propia

*Donde la calificación 1 es presencia de algún tipo de microorganismo y calificación 0 no hay presencia de ninguna clase de microorganismo

A diferencia del diseño de experimentos anterior, en este no se evidenció presencia o crecimiento de microorganismos en ninguno de los tratamientos realizados. A continuación, se realizará el correspondiente análisis de resultados para cada uno de los diseños de experimentos, y así poder concluir que pudo ocurrir en cada uno de ellos.

3.1.2.3 Análisis de resultados. Para analizar los resultados obtenidos en los dos diseños de experimentos, primero se van a analizar los resultados obtenidos al tratar la muestra de la EDS seleccionada con el biocida 1. En la **Tabla 10** y en la Figura 23, se puede observar que el biocida 1 no fue totalmente efectivo en todos los tratamientos realizados, a pesar de que si se redujo significativamente la carga microbiana, evidenciada en la muestra inicial (ver Figura 22). En los tratamientos realizados a 200 ppm hay crecimiento tanto de bacterias como de moho, mientras que en los tratamientos realizados a 400 ppm hay crecimiento solo de moho, esto podría evidenciar que 200 ppm no es una dosificación suficiente para el tratamiento de esta carga microbiana, pues hay crecimiento de diferentes clases de microorganismos y debe tenerse en cuenta que uno de los criterios de escogencia de un biocida es la eliminación de diferentes clases de microorganismos, como lo mencionan Bento, Gaylarde y Kelley (1999)³⁸.

La presencia de moho aun a 400 ppm podría evidenciar que los hongos y levaduras son mucho más difíciles de eliminar que las bacterias, y este biocida en especial no es lo suficientemente eficaz en la eliminación de este tipo de microorganismos. Bento y Gaylarde (2001)³⁹ realizaron una investigación con el mismo biocida usado en esta experimentación y encontraron que los hongos y levaduras volvieron a crecer después de la dosificación del producto y sugieren el uso de un biocida especializado en la eliminación de mohos y levaduras.

Luego de analizar el efecto de la concentración en la eliminación de microorganismos, se debe analizar el efecto del tiempo para el biocida 1. Se puede observar que a 200 ppm en uno de los ensayos se obtiene un resultado mejor cuando hay un tiempo de contacto de 12 horas, sin embargo, en el otro ensayo (repetición) se obtiene el mismo resultado tanto a 6 horas como a 12. Finalmente, a 400 ppm se observan los mismos resultados tanto a 6 como a 12 horas.

Con estos resultados se podría decir que el efecto del tiempo de contacto con el producto contaminado no es tan significativo como el de la concentración. Sin embargo, en el estudio realizado por Bento y Gaylarde (2001)³⁹, se evidencia que a medida que hay mayor tiempo de contacto hay una mayor eliminación de microorganismos, donde a 24 horas hay una remoción significativa de la carga microbiana, entre 24 y 49 horas hay un periodo relativamente estable y en tiempos mayores a 49 horas hay una disminución mayor de la carga microbiana. Por lo tanto, se podrían haber visto mejores resultados si se hubieran evaluado tiempos mayores. Debe tenerse en cuenta que estos resultados los obtuvieron con una

³⁸GAYLARDE Christine, BENTO Fatima, KELLEY Joan. Microbial contamination of stored hydrocarbon fuels and its control. En: Revista de microbiología. Febrero de 1999. Vol 30, no 1, p. 01-10. ISSN 0001-3714

³⁹BENTO Fatima, GAYLARDE Christine. Biodeterioration of stored diesel oil: studies in Brazil. En: International Biodeterioration & Biodegradation. Marzo de 2001. Vol 47, no 2, p.107-112.

concentración de 10 ppm de una mezcla de los compuestos activos del mismo producto que está siendo evaluado, es decir que el producto estaba más concentrado, y los resultados fueron monitoreados hasta 120 horas después de la dosificación del producto biocida, durante este procedimiento las muestras fueron dejadas a temperatura ambiente (16 - 32 °C) igual que en la presente investigación.

Debe aclararse que para el presente estudio no era factible evaluar tiempos mayores a 12 horas, pues es difícil para una EDS retener por más de este tiempo su producto sin venderlo, esto principalmente en las EDS que cuentan con un solo tanque de almacenamiento de diésel.

Los resultados obtenidos al tratar la muestra de combustible de la EDS seleccionada con el biocida 2 se pueden observar en la **Tabla 11**, donde se evidencia que este producto fue totalmente efectivo en los tiempos y concentraciones evaluadas, lo cual da un indicio inicial de que este sería el biocida más apropiado para realizar las pruebas en campo, además de poderse dosificar con la menor concentración y con el menor tiempo evaluados, lo cual podría generar grandes ahorros para las EDS.

Eachus y Passman (2005)⁴⁰ encontraron que al dosificar 125 ppm de este biocida a la fase acuosa de un combustible contaminado, en menos de una hora se redujo aproximadamente el 80% de la carga microbiana presente, después de 24 horas toda la carga microbiana había sido removida. Así mismo, encontraron que al dosificar 250 ppm del biocida la carga se redujo a menos de 1 UFC/ml en aproximadamente 8 horas. En las fases de combustible se dosificaron 125 ppm, evidenciando que en 4 horas la carga microbiana se redujo a niveles muy bajos de contaminación (aproximadamente 1 UFC/ml), adicionalmente se habla de la no afectación del combustible al dosificar este producto biocida. Esta investigación corrobora y reafirma los resultados obtenidos, dando certeza que este producto tiene un amplio espectro de eliminación de microorganismos y además es efectivo tanto en la fase acuosa como en la fase de combustible, sin embargo, con los resultados obtenidos y con lo encontrado en la literatura no se puede definir cuál de las dos variables evaluadas (concentración y tiempo de contacto) tiene mayor efecto en la eliminación de microorganismos.

Al comparar el análisis de resultados realizado para los dos biocidas, se podría decir que el biocida 2 presenta un mayor espectro de eliminación de microorganismos en las concentraciones evaluadas y además puede ser usado tanto a la mínima concentración como en el mínimo tiempo evaluado, lo cual ayudaría a mejorar los costos de operación para las EDS. Esto no quiere decir que el biocida 1 no sea

⁴⁰Eachus A.C, Passman F.J. Applications of a morpholine-derivative product in fuel preservation. En: fifth International Colloquium on Fuels. (12 – 13 enero, 2005). Ostfildern. Technische Akademie Esslingen (TAE).2005. p. 477-481

efectivo ni cumpla con su objetivo de eliminar microorganismos en combustible diésel. Para corroborar estos resultados podrían realizarse futuras experimentaciones haciendo análisis cuantitativos de carga microbiana para cada uno de los ensayos realizados, adicionalmente debe tenerse en cuenta que el manejo de organismos vivos muchas veces puede verse afectado por otro tipo de variables, como se expone en la sección 1.5.1

Por estas razones, se determinó que el producto más adecuado para continuar con la experimentación en campo es el biocida 2. Este producto podría eliminar un amplio espectro de microorganismos en este sistema específico, además de poderse dosificar en la mínima dosis evaluada y en el menor tiempo de contacto evaluado.

3.2 EXPERIMENTACIÓN EN CAMPO

Con el objetivo de evaluar si los resultados obtenidos en las pruebas a nivel laboratorio son viables tanto técnica como económicamente, se decidió realizar una dosificación de biocida en el tanque de la EDS seleccionada, con el tiempo de residencia y la dosificación determinados, tomando muestras antes y después de realizar el tratamiento, adicionalmente se tomó una muestra después de 7 días de haber realizado el tratamiento y así determinar si seguía siendo efectivo.

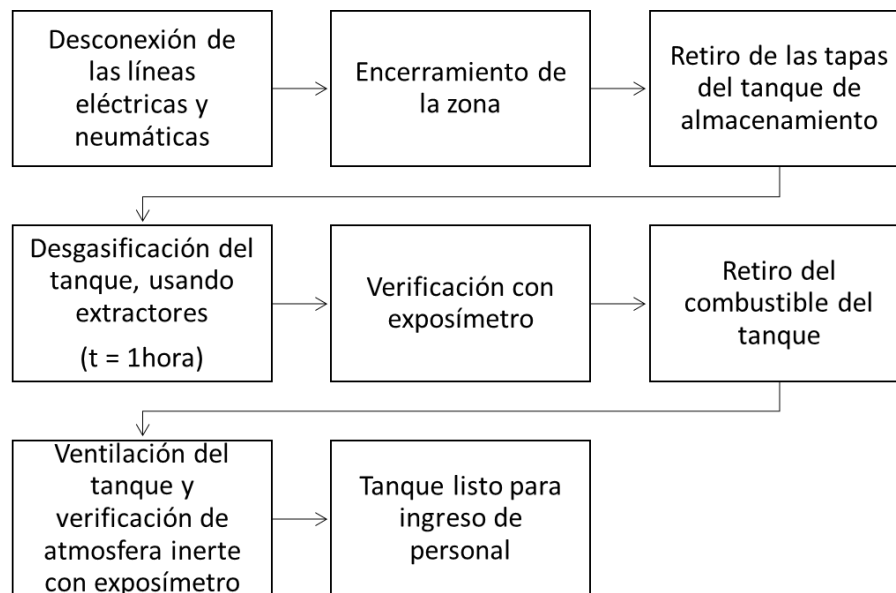
El método ASTM D6469⁴¹ habla sobre todos los procedimientos que se deberían seguir cuando hay presencia de contaminación microbiológica en un sistema de almacenamiento de combustible diésel, por lo tanto para la experimentación en campo en la EDS seleccionada se tuvieron en cuenta dichos procedimientos, los cuales incluyen:

1. El combustible primero debe tratarse con una dosis de choque de biocida, para que las bio-películas se desprendan de las paredes del sistema y se acumulen en el fondo del tanque.
2. Luego el sistema debe ser limpiado, en este caso se realizó un lavado de tanque con entrada al espacio confinado para asegurar la completa remoción de todos los contaminantes presentes. En el método se especifica que el drenaje de tanques nunca es 100% efectivo, pues no se asegura la completa remoción de agua y sedimentos presentes en el tanque.
3. Después de la limpieza, el sistema de combustible recién cargado debe ser re-tratado con una segunda dosis de biocida. Este tratamiento asegura la descontaminación de las superficies que no pueden haber sido alcanzadas por la dosis inicial (debe tenerse en cuenta que biocida se va consumiendo a medida que va matando los microorganismos).

⁴¹ ASTM International. Standard guide for microbial contamination in fuel and fuel systems. ASTM D6469-17 (2009). West Conshohocken, PA, 2017.

3.2.1 Lavado del tanque. El lavado de tanque se realizó usando un procedimiento de entrada al espacio confinado, para así asegurar la completa remoción de contaminantes adheridos tanto al fondo como a las paredes del tanque. Durante este procedimiento se usaron como guías la norma API standard 2015⁴² y la resolución N°063/11/OS⁴³. Debido a que ésta es una tarea de alto riesgo, en el ANEXO C, se presenta la matriz de análisis de riesgos. A continuación, se explica detalladamente el procedimiento llevado a cabo:

Figura 24. Procedimiento de preparación del tanque para lavado con entrada al espacio confinado.



Fuente: elaboración propia

Debe tenerse en cuenta que, hasta este punto del procedimiento, ningún dispositivo electrónico puede ser usado cerca del área de trabajo, ya que se podrían generar accidentes por la estática producida.

La persona escogida y entrenada para ingresar al tanque, debe tener todos los elementos de protección personal requeridos (traje especial, botas de seguridad, guantes, etc.), posteriormente se dispuso un trípode, en la boca del *manhole*, al cual la persona va conectada por medio de un arnés (ver **Figura 25**), esto con el fin de

⁴² AMERICAN PETROLEUM INSTITUTE. Requirements for Safe Entry and Cleaning of Petroleum Storage Tanks. API standard 2015. 7 ed. 2014. 60 p.

⁴³ PERÚ. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, FAOLEX. Resolución N° 063/11/OS. (29 de marzo de 2011). Procedimientos para la inspección, mantenimiento y limpieza de tanques de combustibles líquidos, biocombustibles y otros productos derivados de hidrocarburos. El peruano, 6 de abril de 2011.

evitar accidentes en el espacio confinado. Una vez la persona entró al tanque, se realizó la desconexión y retiro de la bomba, por medio de la cual el combustible es llevado del tanque de almacenamiento a los surtidores. Antes de empezar a realizar el procedimiento de lavado debe revisarse la integridad de las paredes del tanque, es decir que no presente fugas, deflexiones o filtraciones de salmuera. Posteriormente con ayuda de la manguera que se retiró el combustible, se empezó a llevar agua con jabón al tanque, la persona que entró al espacio confinado limpió las paredes del tanque con ayuda de un cepillo, esto con el fin de asegurar la completa remoción de bio-películas y contaminantes adheridos a las paredes del tanque, es importante aclarar que este procedimiento de limpieza se realizó con trabajo totalmente manual, pues es peligroso ingresar dispositivos eléctricos como, por ejemplo, hidro lavadoras. Finalmente, el tanque se secó con estopa y trapero, asegurando que no quede ningún remanente de agua y jabón, los cuales podrían afectar la integridad del combustible. Terminado este procedimiento, se realizó la reconexión de las líneas tanto eléctricas como neumáticas y se procedió a llenar el tanque con el combustible ya recuperado y desinfectado.

Figura 25. Procedimiento de ingreso al tanque de almacenamiento



Fuente: elaboración propia

El tiempo dedicado a todo el procedimiento fueron 12 horas, durante este lapso la EDS tuvo su tanque fuera de servicio. Deben tenerse en cuenta las pérdidas de ventas que tuvo el establecimiento durante el procedimiento para hacer un correcto análisis financiero.

Al realizar el lavado del tanque, no se evidenció ningún daño en las paredes del mismo, sin embargo, se evidenció un contenido significativo de borras y lodos en el fondo, esto como se explicó en capítulos anteriores es una consecuencia directa de la contaminación microbiológica presente, luego de realizar el lavado de tanque, este quedó completamente limpio y libre de contaminantes (ver **Figura 26**). Esta imagen podría evidenciar la importancia de los procedimientos de limpieza de

tanque en la prevención y control de problemas microbiológicos en los tanques de almacenamiento de combustible

Figura 26. Tanque EDS seleccionada antes y después de ser lavado
Izquierda: tanque sin lavar. Derecha: tanque lavado

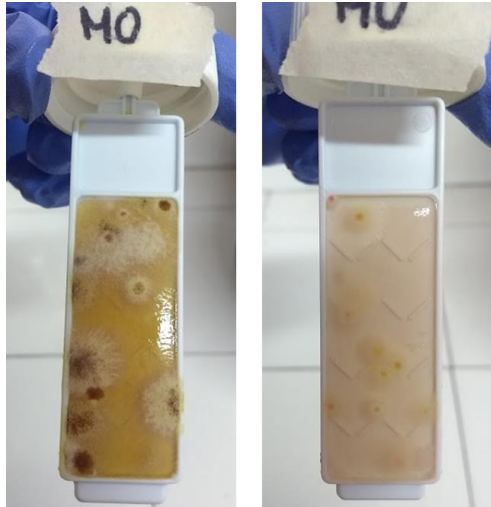


Fuente: elaboración propia

3.2.2 Dosificación del biocida. Como se determinó en la sección 3.1.2.3, el biocida seleccionado para realizar este procedimiento es el biocida 2, por su capacidad de eliminar los microorganismos presentes en la muestra tanto en los tiempos como en las concentraciones evaluadas, sin evidenciar crecimiento en ninguna de las muestras.

Antes de realizar la dosificación del producto biocida, se tomó una muestra del fondo del tanque de combustible, para determinar si la contaminación microbiológica continuaba presente en el tanque y si el nivel era el mismo determinado para la experimentación a nivel laboratorio. En el momento de tomar esta muestra el propietario de la EDS aseguró haber realizado un drenaje de tanque la semana anterior. El resultado obtenido al hacer el análisis microbiológico (ver **Figura 27**) muestra que seguía habiendo presencia de moho, levadura y bacterias, con un nivel moderado para levaduras, alto en moho y aproximadamente 1.000 UFC/ml de bacterias, es decir que el tanque seguía teniendo un nivel de contaminación microbiológica muy parecido al evaluado en las pruebas a nivel laboratorio (ver sección 3.1.1.2).

Figura 27. Prueba microbiológica EDS seleccionada antes de realizar el tratamiento en campo. Izquierda: mohos y levaduras. Derecha: Bacterias



Fuente: elaboración propia

Debe tenerse en cuenta que los resultados de las pruebas microbiológicas se obtuvieron una semana después de haber realizado el tratamiento en campo, sin embargo, durante el tratamiento en campo se asumió que se iban a obtener resultados como estos.

En el momento de realizar el procedimiento de lavado de tanque, la sonda de medición indicaba que en este había **247,5 galones (936,8 L)** de combustible diésel almacenados, este es un nivel bajo, pues es aproximadamente el 2% del volumen total del tanque, esto fue lo que se le recomendó al propietario de la EDS para no tener que dosificar biocida en grandes cantidades de combustible y poder así, reducir los costos del tratamiento. Sin embargo, al momento de sacar el combustible del tanque, queda un remanente en el fondo de este (ver **Figura 26**), por lo tanto, al disponerlo en canecas de 55 galones se distribuyó de la siguiente forma:

Tabla 12. Producto retirado del tanque de la EDS seleccionada.

Producto	Canecas	Galones
Combustible	2,5	137,5
Borras	1,1	60,5
Total	3,6	198,0

Fuente: elaboración propia

Para realizar la dosificación del biocida, debía tenerse en cuenta que el combustible y las borras se comportan de forma diferente, pues en las borras hay producto que puede recuperarse por medio de decantación. Por lo tanto, a las canecas que contenían combustible se les adicionó el producto biocida, agitándolo con ayuda de una varilla metálica, la cual previamente fue limpiada y secada. Este combustible tuvo en total 8 horas de contacto con el producto biocida, en ese momento el combustible fue devuelto al tanque. A continuación, en la **Tabla 13** se muestra la cantidad de biocida dosificado a cada una de las canecas que contenían solamente combustible:

Tabla 13. Biocida dosificado en las canecas de combustible

Biocida para combustible			
Canecas	Galones (ml)	Biocida (ppm)	Biocida (ml)
1	55 (208.197,5)	603	116
1	55 (208.197,5)	597	115
0,5	27,5 (104.098,8)	603	58
TOTAL			289

Fuente: elaboración propia

Cuando el producto fue devuelto al tanque de almacenamiento, se le agregó una segunda dosis de biocida, para así seguir el protocolo sugerido en la norma ASTM D6469. Esta dosis fue de 200 ppm, lo cual equivalió a 96,2 ml de producto biocida.

El producto con borras se dejó decantar durante 24 horas, para separar el combustible de los productos de desecho. Al separar el producto, se obtuvo aproximadamente el 70% de combustible, es decir, un poco menos de 1 caneca de combustible, a la cual se le adicionó el producto biocida, agitándolo y dejándolo en contacto por 7 horas, para después devolverlo al tanque de almacenamiento, es decir que este producto se devolvió al tanque un día después de haber hecho el lavado del mismo. A continuación en la **Tabla 14**, se muestra la cantidad de combustible recuperado de las borras y la cantidad de biocida dosificado:

Tabla 14. Biocida dosificado en el combustible recuperado de las borras.

Biocida para combustible recuperado de borras				
Borras (Canecas)	Combustible recuperado (Canecas)	Combustible recuperado (Gal)	Biocida (ppm)	Biocida (ml)
1,1	0,8	42,4	607	90

Fuente: elaboración propia

En total se realizaron 3 dosificaciones de biocida: una dosificación de choque para el combustible que salió del tanque sin necesidad de ser decantado, la segunda dosificación fue de mantenimiento, para el combustible devuelto al tanque, con el fin de desinfectar las zonas del tanque que no fueron alcanzadas por la dosis inicial, la tercera dosis fue la dosificada al producto recuperado de las borras.

Tabla 15. Cantidad de biocida total dosificada en el tratamiento

1. Dosis de choque			
Canecas	Galones	Biocida (ppm)	Biocida (ml)
1	55	603	116
1	55	597	115
0,5	27,5	603	58
2. Dosis de mantenimiento			
2,5	137,5	202	97
3. Dosis para combustible recuperado de borras			
0,8	42,4	607	90
TOTAL			
3,3	179,9	756	476

Fuente: elaboración propia

En la **Tabla 15**, se muestra la cantidad de biocida dosificado en cada uno de los pasos del tratamiento. Se puede observar, que en total la dosificación fue de 756 ppm de biocida.

Si se tiene en cuenta que para 247,5 galones de combustible (mostrados por la sonda de medición del tanque), se usaron solamente 476 ml de biocida, lo que equivale al 0,05% del nivel del tanque, el tratamiento con biocidas no necesita una excesiva aplicación de aditivos, siempre y cuando se realicen previamente los protocolos de limpieza adecuados, debe tenerse en cuenta que solamente dosificar el biocida, sin haber limpiado el tanque de almacenamiento, no asegura la completa eliminación de microorganismos.

3.2.3 Efectividad del tratamiento. Luego de haber realizado todo el tratamiento de lavado, dosificación de biocida y llenado del tanque de almacenamiento, se tomó una muestra de combustible del fondo, por la misma boca donde se muestreó inicialmente, para así determinar si el tratamiento fue efectivo y si los niveles de contaminación microbiológica habían disminuido hasta ser eliminados.

Al tomar la muestra se observó una apariencia clara y brillante, lo cual es difícil de encontrar en muestras de fondo, como se evidenció en el Capítulo 1.5. En la **Figura 28** se observa la apariencia clara y brillante de la muestra, donde no hay presencia de sólidos en suspensión, agua, ni ningún otro tipo de contaminante ajeno al combustible.

Figura 28. Prueba de apariencia después de realizar el tratamiento



Fuente: elaboración propia

Al realizar la prueba de contaminación microbiológica, no se evidencio crecimiento de ningún tipo de microorganismo, como lo muestra la **Figura 29**. Lo cual, empieza a dar un indicio de la efectividad del tratamiento.

Figura 29. Prueba microbiológica después del tratamiento



Fuente: elaboración propia

Debe tenerse en cuenta, que este tratamiento fue efectivo no solo por el producto químico dosificado, sino también por el conjunto de actividades realizadas para completar el tratamiento, como lo son el lavado de tanque, la decantación de las borras y la adición del biocida al producto recuperado de las borras, además de la limpieza de todos los elementos que tuvieron contacto con el combustible (tomador de muestra, canecas, agitador, etc.), disminuyendo así, el riesgo de devolver algún nivel de carga microbiológica al tanque, o de generar contaminación cruzada por alguno de los implementos usados a lo largo del tratamiento.

3.2.3.1 Prueba de seguimiento. Para determinar si la efectividad del tratamiento con biocidas perdura en el tiempo, se decidió realizar un muestreo en la EDS seleccionada, una semana después de haber realizado la dosificación y lavado del tanque. Durante ésta semana la EDS muestreo diariamente el fondo del tanque de almacenamiento para verificar que no hubiera presencia de agua en el mismo, ya que como se mencionó en capítulos anteriores, la causa más frecuente de contaminación microbiológica en combustible diésel, es la presencia de agua.

Al tomar la muestra de fondo, se pudo observar que era clara y brillante, sin presencia de sólidos en suspensión o agua. Al verificar los resultados obtenidos en la prueba de contaminación microbiológica, no se observó crecimiento de ninguna clase de microorganismo, lo cual comprueba que el tratamiento fue efectivo por lo menos durante una semana.

Debe tenerse en cuenta que una semana, no es una muestra representativa para determinar por cuanto tiempo podría ser efectivo el tratamiento con biocidas, teniendo en cuenta que en las EDS el combustible diésel rota frecuentemente y cada vez que se descarga un nuevo producto, hay riesgo de transferir algún tipo de carga microbiológica. Sin embargo, los proveedores del producto recomiendan aplicar una dosis preventiva de 135 ppm cada tres meses, para evitar el crecimiento indiscriminado de poblaciones de microorganismos y volver a tener los mismos problemas iniciales, los cuales como ya se ha mencionado anteriormente degradan el producto y generan costos operacionales mayores para las EDS.

Adicionalmente, debe aclararse que el éxito y la perdurabilidad de los tratamientos productos biocidas está en las buenas prácticas que tenga la EDS, pues si no se trabaja con un esquema preventivo de control de agua y seguimiento del producto, es difícil mantener en el tiempo estos resultados.

4. ANÁLISIS FINANCIERO

La aplicación de productos biocidas en los tanques de almacenamiento de las EDS, puede hacer pensar a los propietarios que va a ser un gasto adicional y que van a seguir sacrificando parte de su margen de venta en tratamientos adicionales en el combustible. A continuación, se va a realizar un análisis de los costos que tiene actualmente la EDS seleccionada y como podrían cambiar al controlar la contaminación microbiológica en su tanque de almacenamiento de combustible diésel, para así determinar si es una opción viable desde el punto de vista financiero.

4.1 SITUACIÓN ACTUAL

Para realizar el análisis de esta situación, el administrador de la EDS seleccionada suministró toda la información necesaria, sin embargo, se analizaron otros posibles escenarios a los que la EDS puede verse enfrentada.

4.1.1 Costos actuales de la operación. Al hacer la recolección de esta información, se tuvieron en cuenta actividades que se realizan anualmente de mantenimiento correctivo como lo son drenaje de tanques y cambio de filtros, además de la pérdida y disposición de producto que se genera como consecuencia de estas actividades.

Tabla 16. Costos actuales de la EDS seleccionada

Descripción	Costo Anual (Cop)
Actividades de mantenimiento correctivo	\$ 3'670.600
Drenajes de tanques	\$ 2'800.000
Cambios de filtros	\$ 600.000
Pérdida de producto en cambio de filtros	\$ 270.600
Producto y disposición	\$ 2'174.309
Pérdida de Producto por drenajes y mantenimiento filtros	\$ 1'582.600
Disposición de residuos	\$ 591.709
Costos actuales de la Operación	\$ 5'844.909

Fuente: elaboración propia

En la **Tabla 16**, se muestran los costos anuales de la EDS seleccionada, principalmente en actividades de manteniendo correctivo del producto. Dentro de estos ítems no se tuvieron en cuenta costos de mantenimiento de la integridad del tanque (deflexiones, fugas, filtraciones, etc.), debido a que el presente trabajo se enfoca únicamente en la calidad del combustible. En este caso la EDS realiza drenaje de fondos cada 3 meses, además de cambiar en promedio 2,5 filtros mensualmente y pierde aproximadamente 48 galones de combustible cada 3 meses, a consecuencia de estas actividades.

4.1.2 Sanciones. En el 2017 la Superintendencia de Industria y Comercio (SIC) interpuso aproximadamente 134 multas a EDS por mala calidad de su producto⁴⁴. Lo cual afirma, que las EDS están en riesgo de ser sancionadas si se les encuentra un producto en malas condiciones. Estas multas según el artículo 25 de la Ley 1753 de 2015⁴⁵, pueden ser desde 10 SMLV, además de la suspensión del servicio desde diez (10) días hábiles.

A continuación, en la **Tabla 17** se muestran los costos adicionales que debería asumir la EDS en caso de que se le interpone una sanción de 10 SMLV por el mal estado del producto almacenado, además de esto se le suspende el servicio por 10 días hábiles, lo que equivale a 15 días calendario, teniendo en cuenta los días que puede gastar en los tramites que conlleva dicha sanción.

Tabla 17. Costos de la EDS con una sanción por mala calidad del producto

Descripción	Costo Anual (Cop)
Sanciones	\$ 30'762.420
Multa (10 SMLV)	\$ 7'812.420
Perdida de venta (10 días hábiles)	\$22'950.00
Costos de la operación con Sanción	\$ 36'607.329

Fuente: elaboración propia

4.1.3 Flujo de caja. Para realizar los flujos de caja en cada una de las situaciones propuestas, se tomaron como constantes los ingresos de la EDS y los demás costos que pueda tener (personal, impuestos, compra de producto, etc.), es decir que solamente se tuvieron en cuenta los costos relacionados a la calidad del producto. Basado en esta esta explicación, se realizaron dos flujos de caja, uno sin que la EDS tenga una sanción (Tabla 18) y otro, en caso de que la EDS tenga una sanción por la mala calidad de su producto (Tabla 19), estos análisis se realizaron con una proyección a 3 años, ya que se pretende que la EDS requiera un nuevo lavado de tanque en el año 3, por razones de limpieza del tanque y del producto.

⁴⁴ BOHÓRQUEZ, Kevin Steven. Mala calidad del combustible, principal multa a gasolineras. En: Asuntos legales [En línea]. 1 de febrero de 2017. (Consultado el 23 de mayo de 2018). Disponible en: <https://www.asuntoslegales.com.co/actualidad/mala-calidad-del-combustible-principal-multa-a-gasolineras-2466731>

⁴⁵ COLOMBIA. CONGRESO DE LA REPÚBLICA. Ley 1753 (09, junio, 2015). Por la cual se expide el Plan Nacional de Desarrollo 2014 – 2018 “Todos por un nuevo país”. Diario oficial. Bogotá D.C., 2015. No 49358.

Tabla 18. Flujo de caja con los costos actuales

DESCRIPCIÓN	Actual		
	Año 1	Año 2	Año 3
Volumen de venta (gal/año)	720.000	720.000	720.000
INVERSIÓN	\$ 0	\$ 0	\$ 0
INGRESOS	\$ 0	\$ 0	\$ 0
COSTOS			
Actividades de mantenimiento correctivo	-\$ 3.670.600	-\$ 3.770.130	-\$ 3.872.957
Producto y disposición	-\$ 2.568.782	-\$ 2.697.221	-\$ 2.832.082
Sanciones	\$ 0		\$ 0
Actividades de Prevención y Control Microbiológico	\$ 0		\$ 0
FLUJO DE CAJA	-\$ 6.239.382	-\$ 6.467.351	-\$ 6.705.038

Fuente: elaboración propia

Tabla 19. Flujo de caja si la EDS tiene una sanción

DESCRIPCIÓN	Sanción		
	Año 1	Año 2	Año 3
Volumen de venta (gal/año)	720.000	720.000	720.000
INVERSIÓN	\$ 0	\$ 0	\$ 0
INGRESOS	\$ 0	\$ 0	\$ 0
COSTOS			
Actividades de mantenimiento correctivo	-\$ 3.670.600	-\$ 3.770.130	-\$ 3.872.957
Producto y disposición	-\$ 2.568.782	-\$ 2.697.221	-\$ 2.832.082
Sanciones	\$ 0	-\$ 30.762.420	\$ 0
Actividades de Prevención y Control Microbiológico	\$ 0	\$ 0	\$ 0
FLUJO DE CAJA	-\$ 6.467.351	-\$ 37.229.771	-\$ 6.705.038

Fuente: elaboración propia

En los dos casos los flujos de caja son negativos, pues no se están teniendo en cuenta los ingresos globales de la EDS.

4.2 SITUACIÓN PROPUESTA

En la situación propuesta, se van a evaluar los beneficios que puede obtener la EDS si empieza a tener mayor cuidado con los problemas microbiológicos en su tanque, por medio de un lavado completo, aplicación de biocidas y adoptando unas medidas de seguimiento de su producto, que le eviten volver a la situación inicial.

4.2.1 Inversión. Para mejorar la situación actual de la EDS seleccionada, debe realizarse una inversión, la cual incluye los procedimientos de lavado y dosificación de biocidas (Sección 3.2), pero adicionalmente se deben adquirir una serie de elementos que permitan a la EDS tener control diario de su producto para así determinar en qué momento hay una alteración e intervenirlo inmediatamente, con actividades menos complejas que las iniciales.

Tabla 20. Inversión para la situación propuesta

Inversión	Costo (Cop)
Lavado de tanques con ingreso	\$ 1.837.601
Recuperación de Producto (Dosis de aditivos)	\$ 66.500
Compra de equipos de control	\$ 1.850.000
Modificaciones el tanque	\$ 850.000
Día de parada de la EDS	\$ 1.224.000
TOTAL	\$ 5.828.101

Fuente: elaboración propia

4.2.2 Flujo de caja. Para realizar el flujo de caja de la situación propuesta se tuvieron en cuenta las condiciones que pueden cambiar en la EDS, si se implementan tratamientos con productos biocidas:

- En primer lugar, la frecuencia de los drenajes debería disminuir, pues al eliminar la carga microbiológica los problemas de borras y lodos en fondo van a ser mucho menores, en este caso se supuso que la EDS realizara 2 drenajes al año, en caso de que entre agua al tanque o se detecte alguna situación fuera de lo normal.
- Si los drenajes de tanque disminuyen, por lo tanto, la pérdida de producto en disposición también se verá disminuida.
- Si se controla la carga microbiológica en el tanque, los sólidos suspendidos en el producto van a disminuir significativamente, lo que hace que la frecuencia de filtros a su vez disminuya. En éste caso, se supuso que la reducción de cambio de filtros fue de un 50%
- Dentro de los procedimientos de seguimiento de producto, se tuvo en cuenta las dosis de biocida de mantenimiento (200 ppm cada 3 meses) y análisis microbiológicos 2 veces al año, en caso de que la EDS tenga una situación anormal en el fondo de su tanque.
- No sería coherente suponer que la EDS no va a volver a lavar su tanque de almacenamiento, por lo tanto, se determinó un intervalo de dos años para el lavado del tanque nuevamente.
- Finalmente, si la EDS aseguran un producto de excelente calidad, el cual no presente un riesgo de contaminación microbiológica, va a ser nula la probabilidad de que tenga una sanción por mala calidad en su producto.

A continuación en la **Tabla 21**, se muestra el flujo de caja para la situación propuesta, con todas las condiciones explicadas.

A pesar de que los flujos de caja siguen siendo negativos, son menores a los de las otras dos situaciones, lo cual muestra que la EDS va a tener un ahorro con la situación propuesta. Para poder realizar el análisis financiero se calcularon las utilidades que va a tener la EDS, teniendo en cuenta que la disminución en los costos va a ser la utilidad de la estación. A continuación, en la **Tabla 22**, se muestran las utilidades respecto a la situación actual y respecto a la situación en la que la EDS es sancionada

Tabla 21. Flujo de caja para la situación propuesta.

Descripción	Propuesta		
	Año 1	Año 2	Año 3
Volumen de venta (gal/año)	720.000	720.000	720.000
INVERSIÓN	-\$ 5.828.101	\$ 0	\$ 0
INGRESOS	\$ 0	\$ 0	\$ 0
COSTOS			
Actividades de mantenimiento correctivo	-\$ 1.835.300	-\$ 1.885.065	-\$ 3.936.478
Producto y disposición	-\$ 1.018.196	-\$ 789.601	-\$ 1.122.561
Sanciones	\$ 0	\$ 0	\$ 0
Actividades de Prevención y Control Microbiológico	\$ 60.150	\$ 40.534	\$ 40.766
FLUJO DE CAJA	-\$ 8.621.446	-\$ 2.634.132	-\$ 5.018.273

Fuente: elaboración propia

Tabla 22. Utilidades de la situación propuesta

	Año 1	Año 2	Año 3
Utilidad respecto situación actual	-\$ 2.382.065	\$ 3.833.219	\$ 1.686.765
Utilidad respecto sanción	-\$ 2.382.065	\$ 34.595.639	\$ 1.686.765

Fuente: elaboración propia

4.2.3 Análisis. Para realizar el análisis financiero se calculó el valor presente neto (VPN) y la tasa interna de retorno (TIR). En la

4.2.4

4.2.5 *Tabla 23*, se muestran los resultados obtenidos al calcular estas variables con respecto a las dos situaciones analizadas (situación actual y situación con sanción).

Tabla 23. Calculo TIR y VPN para la situación propuesta

Respecto situación actual	
TIR	97%
VPN (15%)	\$ 1.936.179
Respecto situación con sanción	
TIR	1357%
VPN (15%)	\$ 25.196.988

Fuente: elaboración propia

Al ver los resultados tanto del VPN como de la TIR, se puede decir que:

- Teniendo en cuenta que la tasa de interés escogida (15%) para el cálculo del VPN, es relativamente alta, comparada al rendimiento que puede dar un producto financiero hoy en Colombia y que este indicador nos habla acerca de lo que se va a producir por encima de lo invertido. Se puede decir que la inversión es viable, en los dos escenarios, pues el valor obtenido es positivo.
- Para el caso de la TIR, en los dos casos esta variable da un valor positivo y además es superior a la tasa con la cual se calculó el VPN, por lo cual la situación es propuesta en ambos casos y claramente lo sería aún más para el caso de que la EDS tuviera una sanción.

A continuación, en la **Tabla 24** se muestran los costos por galón para cada uno de los años analizados y en las tres situaciones propuestas.

Tabla 24. Comparación en pesos por galón para cada situación

Costo Por Galón (Cop)	Año 1	Año 2	Año 3
Situación actual	-\$ 8,67	-\$ 8,98	-\$ 9,31
Con sanción	-\$ 51,39	-\$ 8,98	-\$ 9,31
Situación propuesta	-\$ 3,88	-\$ 3,66	-\$ 6,97

Fuente: elaboración propia

En la **Tabla 24**, se evidencia que hay una diferencia significativa en el costo por galón cuando la EDS implementa el control microbiológico de su taque. A continuación en la **Tabla 25**, se calculó el costo promedio por galón en cada uno de los escenarios, adicionalmente se calculó el porcentaje de mejora de la situación actual y de la situación con sanción, respecto a la situación propuesta.

Tabla 25. Porcentaje de mejora del costo por galón con la situación propuesta

Costo Por Galón (Cop)	Promedio	% De Mejora
Situación actual	-\$ 8,99	46%
Con sanción	-\$ 23,23	79%
Situación propuesta	-\$ 4,84	--

Fuente: elaboración propia

Se puede observar que el porcentaje de mejora respecto a la situación actual, es de más del 40%, lo cual ayudaría a las EDS y en este caso específico a la EDS seleccionada a mejorar sus costos de operación significativamente. Si se tiene en cuenta que las EDS que no controlan la calidad de su producto, están en riesgo de tener una sanción, el beneficio de controlar la contaminación microbiológica es mucho más grande y significativo.

5. CONCLUSIONES

- En el diagnóstico, se encontró que el 67% de los tanques evaluados tienen problemas de apariencia (calificación *No pasa*, 4 ó 5) en los fondos y que el 90% de las EDS tienen problemas de contaminación microbiológica. Adicionalmente, se pudo encontrar que hay una relación directa entre el contenido de agua y sedimentos de la muestra con la contaminación microbiológica. Estos resultados hablan de que en Colombia hay un problema en el combustible diésel, y actualmente la mayoría de las EDS no tienen un plan de acción concreto para combatir esta problemática.
- El uso de biocidas para el control microbiológico en combustibles, es el método más adecuado principalmente en las EDS. Debido a que con una correcta aplicación de estos productos, la carga microbiológica puede ser eliminada en poco tiempo. Los sistemas de filtración y drenajes que se ofrecen hoy en la cadena, no son suficientes para combatir ésta problemática, ya que generan sobre costos a la operación de las EDS y no solucionan el problema de raíz. Estos métodos pueden ser usados como complementos a las operaciones, pero no como métodos de control microbiológico.
- Al realizar los análisis a nivel laboratorio con los productos biocidas, en la muestra de la EDS seleccionada, se encontró que para el biocida 1 hubo una disminución en las cargas microbiológicas de la muestra (debe tenerse en cuenta que los análisis microbiológicos fueron cualitativos y no se puede dar un porcentaje exacto de disminución de carga microbiológica) pero no fue totalmente efectivo. En contraste, el biocida 2 fue efectivo en todas las concentraciones y tiempos evaluados, por lo tanto, se evidencia que hay una mejor acción por parte de este producto y que es el más indicado para realizar las pruebas en campo.
- Al evaluar el biocida 2 en campo, se encontró que fue totalmente efectivo en el tratamiento realizado. Sin embargo, debe tenerse en cuenta, que la efectividad del tratamiento, también se debe a los procedimientos adicionales realizados (lavado de tanque y tratamiento de borras). Por lo cual se puede decir, que el éxito de un tratamiento de combustible con productos biocidas, no está solo en la escogencia del producto, sino también, en las medidas de limpieza del tanque que lo complementen.
- Al hacer el análisis de las variables financieras (VPN y TIR), se puede evidenciar que la inversión que la EDS realice en el tratamiento es viable, más aún cuando se tiene en cuenta que las EDS están en riesgo de adquirir una sanción por parte

de la Superintendencia de Industria y Comercio. Esto se ratifica al evidenciar que si se aplica el modelo propuesto hay una mejora del 16%, en el costo por galón respecto a la situación actual y una mejora del 68% respecto al caso en el que la EDS tenga una sanción.

6. RECOMENDACIONES

- A pesar de encontrar que no hay una relación directa entre los problemas tanto microbiológicos como de apariencia, con el piso térmico en el que se encuentra la EDS, había una mayor tendencia de problemáticas encontradas en los pisos térmicos templados. Para poder hacer esta afirmación se recomendaría hacer un análisis comparando el mismo número de muestras en cada uno de los pisos térmicos evaluados.
- Al realizar la evaluación de los productos biocidas en diferentes concentraciones y tiempos, se recomienda evaluar la carga microbiológica antes y después de los tratamientos en cada ensayo, con estrategias cuantitativas (conteo directo por microscopio, microscopía electrónica de barrido, tinciones, etc.) para así poder determinar puntualmente el porcentaje de eliminación de microorganismos de estos productos.
- Para realizar las pruebas de efectividad de los productos biocidas en campo, se recomienda hacer pruebas de seguimiento por lo menos durante un mes después de haber realizado la intervención del tanque, con el fin de determinar la evolución del sistema en un tiempo significativo y teniendo en cuenta la rotación del producto.
- Tener en cuenta en próximas investigaciones, la influencia de la temperatura y el pH en la inactivación de los microorganismos y la no metabolización de los productos biocidas.
- En próximas investigaciones, evaluar el biocida 1 en tiempos de contacto mayores a 12 horas, para así determinar si en estas condiciones si se logra la completa remoción de la carga microbiológica del combustible.

BIBLIOGRAFÍA

ACEVEDO Manuel. Influencia de los contaminantes del combustible diésel sobre la durabilidad de los elementos de precisión. En: Centro Azúcar. Junio del 2000. Vol 4, p. 83-90.

ASTM International. Standard guide for microbial contamination in fuel and fuel systems. ASTM D 6469-17 (2009). West Conshohocken, PA, 2017

_____. Standard test method for free water and particulate contamination in distillate fuels (visual inspection procedures). ASTM D4176-04 (2009). West Conshohocken, PA, 2009.

_____. Standard test method for water and sediment in fuel oils by the centrifuge method (Laboratory procedure). ASTM D1796-04. West Conshohocken, PA, 2009.

BASTÉ Jorge. Determinación del comportamiento de los componentes contaminantes en el sistema de alimentación diésel. En: Revista de ciencias técnicas agropecuarias. Octubre – Noviembre – Diciembre de 2013. Vol 22, No 4, p. 65-68

BAUTISTA Luis, VARGAS Carolina, GONZÁLEZ Natalia, MOLINA María, SIMARRO Raquel, SALMERÓN Armando, MURILLO Yolanda. Assessment of biocides and ultrasound treatment to avoid bacterial growth in diesel fuel. En: Fuel processing Technology. Noviembre 2016. Vol 152, p. 56 – 63.

BENTO Fatima, GAYLARDE Christine. Biodeterioration of stored diesel oil: studies in Brazil. En: International Biodeterioration & Biodegradation. Marzo de 2001. Vol 47, no 2, p.107–112.

BOHÓRQUEZ, Kevin Steven. Mala calidad del combustible, principal multa a gasolineras. En: Asuntos legales [En línea]. 1 de febrero de 2017. Consultado el 23 de mayo de 2018. Disponible en: <https://www.asuntoslegales.com.co/actualidad/mala-calidad-del-combustible-principal-multa-a-gasolineras-2466731>

BOSTON, MASSACHUSETTS. NATIONAL FIRE PROTECTION ASSOCIATION. NFPA 30, código de líquidos inflamables y combustibles. Edición 1996.

COLOMBIA. CONGRESO DE LA REPÚBLICA. Ley 1753 (09, junio, 2015). Por la cual se expide el Plan Nacional de Desarrollo 2014 – 2018 “Todos por un nuevo país”. Diario oficial. Bogotá D.C., 2015. No 49358

COLOMBIA. MINISTERIO DE MINAS Y ENERGÍA. Decreto 90963 de 2014 (11 de septiembre de 2014). Por el cual se modifica el artículo 4° de la resolución número 898 de 1995. Diario Oficial No. 49.271.

_____. Decreto 1073 de 2015 (26 de mayo de 2015). Por medio del cual se expide el Decreto Único Reglamentario del Sector Administrativo de Minas y Energía. Diario Oficial. Bogotá D.C., 2015. No. 49523.

_____. Decreto 1521 de 1998 (4 de agosto). Por el cual se reglamenta el almacenamiento, transporte y distribución de combustibles líquidos derivados del petróleo, para estaciones de servicio. Bogotá D.C., Diario Oficial No. 43357.

_____. Resolución 10184 de 2018 (27 de febrero de 2018). Por la cual se modifica la Resolución 182142 de 2007, en relación con el porcentaje de mezcla de biocombustible para uso en motores diésel, en Bogotá D.C., centro del país y llanos orientales. Bogotá D.C.

_____. Resolución 40185 de 2018. (27 de febrero). Por la cual se establece el porcentaje de mezcla de alcohol carburante en la gasolina motor corriente y extra a nivel nacional. Bogotá D.C.

Diésel en Colombia, el segundo más limpio de Suramérica. En: Portafolio [En línea]. 9 de septiembre de 2014. Consultado el 19 de diciembre de 2017. Disponible en: <http://www.portafolio.co/negocios/empresas/diesel-colombia-segundo-limpio-suramerica-59504>

Eachus A.C, Passman F.J. Applications of a morpholine-derivative product in fuel preservation. En: fifth International Colloquium on Fuels. (12 – 13 enero, 2005). Ostfildern. Technische Akademie Esslingen (TAE).2005.p. 477-481

El biodiésel como un sustituto de los combustibles fósiles no funciona del todo. En: Dinero [En línea]. 10 de octubre de 2015. Consultado el 15 de julio de 2018. Disponible en: <https://www.dinero.com/pais/articulo/biodiesel-colombia/214602>

FEDERACIÓN NACIONAL DE BIOCOMBUSTIBLES DE COLOMBIA. Información estadística sector biocombustibles Biodiésel. [En línea]. Consultado el 15 de julio de 2018. Disponible en: http://www.fedebiocombustibles.com/v3/estadistica-mostrar_info-titulo-Biodiesel.htm

_____. Información estadística sector biocombustibles Alcohol Carburante (Etanol). [En línea]. Consultado el 15 de julio de 2018. Disponible en: [http://www.fedebiocombustibles.com/v3/estadistica-mostrar_info-titulo-Alcohol-Carburante-\(Etanol\).htm](http://www.fedebiocombustibles.com/v3/estadistica-mostrar_info-titulo-Alcohol-Carburante-(Etanol).htm)

_____. Preguntas más frecuentes sobre los Biocombustibles [En línea]. Consultado el 28 de noviembre de 2017. Disponible en: <http://www.fedebiocombustibles.com/nota-web-id-923.htm>

GAYLARDE Christine, BENTO Fatima, KELLEY Joan. Microbial contamination of stored hydrocarbon fuels and its control. En: Revista de microbiología. Febrero de 1999. Vol 30, no 1, p. 01-10. ISSN 0001-3714

GUTIÉRREZ Carlos, LONDOÑO Andrés. ¿Cuál es la importancia del sector de combustibles en Colombia? . Actualidad económica y sectorial. En: Capital inteligente [En línea]. 9 de noviembre de 2016. Consultado el 27 de mayo de 2018. Disponible en: <https://www.grupobancolombia.com/wps/portal/empresas/capital-inteligente/actualidad-economica-sectorial/cual-es-la-importancia-del-sector-combustibles-en-colombia>

HILL, E.C. and HILL, G.C. Microbiological problems in distillate fuels. British maritime technology. Trans. Inst. Marine Eng. 14 de Agosto de 1993. Vol 104.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TECNICAS Y CERTIFICACIÓN. Documentación. Presentación de tesis, trabajos de grado y otros trabajos de investigación. NTC 1486. Sexta actualización, 1 ed. Bogotá: ICONTEC, 2008. 33p.

_____. Referencias bibliográficas, contenido, forma y estructura. NTC 5613. Primera edición. Bogotá: El instituto, 2008. 38 p.

_____. Referencias documentales para fuentes de información electrónicas. NTC 4490. Primera edición. Bogotá: El instituto, 2008. 23p.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON STABILITY, HANDLING AND USE OF LIQUID FUELS. (10, 7-11, October, 2007: Tucson, Arizona). Effect of temperature on the rate of kill of anti-microbials for aviation fuels

LENIS Natalia, MONTES Ana. Manual de requerimientos para la construcción de estaciones de servicio en almacenes de cadena de grandes superficies en alguno de los municipios del valle de Aburrá (Medellín, Envigado y Bello). Trabajo de grado especialista en Gerencia en Construcción. Medellín. Universidad de Medellín. 2010. 83-85,p.

MOREIRA Eleonice. Principales características de las materias primas utilizadas en la producción de biodiésel: la influencia del contenido y la concentración de los ácidos grasos. En: Ingenium revista de la facultad de ingeniería. Abril de 2012. Año 13, N°25.

PASSMAN Frederick. Microbial contamination and its control in fuels and fuel systems since 1980 e a review. En: International Biodeterioration & Biodegradation. Julio de 2013. Vol 81, p. 88 – 104.

PERÚ. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, FAOLEX. Resolución N° 063/11/OS. (29 de marzo de 2011). Procedimientos para la inspección, mantenimiento y limpieza de tanques de combustibles líquidos, biocombustibles y otros productos derivados de hidrocarburos. El peruano, 6 de abril de 2011.

RODRIGUEZ Carlos, RODRIGUEZ Evelyn, BLANCO Rigoberto. Bacterial contamination of automotive fuels in a tropical region: the case of Costa Rica. En: Revista de biología tropical. Septiembre 2009. Vol 57. No 3

ROSSMOORE Harold, WIREMAN John, ROSSMOORE Leonard, RIHA Veronica. Factors to consider in testing biocides for distillate fuels. En: American Society for testing and Materials. 1998, p. 95-104.

SANCHEZ Pedro, GORBUSHINA Anna, TOEPEL Jörg. Quantification of microbial load in diesel storage tanks using culture and qPCR-based approaches. En: international Biodeterioration and biodegradation. Enero de 2018. Vol 126, p. 216-223

SANCHEZ Sebastián, RODRIGUEZ Fortún, BARAHONA María. Riesgo toxicológico medioambiental de compuestos activos utilizados para la desinfección de torres de refrigeración. Editorial Complutense, 2002. Vol 14 de línea 300. P.1.

YEMASHOVA Natalia, MURYGINA Valentina., ZHUKOV Dmitry, ZAKHARYANTZ Arpenik, GLADCHENKO Marina, APPANNA Vasu, KALYUZHNYI Sergey. Biodeterioration of crude oil and oil derived products: a review. En: Reviews in Environmental Science and Bio/Technology. Octubre de 2007. Vol 6, no 4, p. 315 – 337.

ANEXOS

ANEXO A RESULTADOS DEL DIAGNÓSTICO

EDS	CIUDAD	DEPARTAMENTO	CLIMA	Nº TANQUE	BOCA	APARIENCIA	MICROBIOÓGICO		% AGUA Y SED
							BACTERIA	MOHO Y LEV	
1-1-1	BOGOTÁ	CUNDINAMARCA	FRIO	1	MANHOLE	3	NEGATIVO	POSITIVO	0,01%
					DESCARGA	3	--	--	0,01%
			FRIO	2	MANHOLE	3	NEGATIVO	NEGATIVO	0,01%
					DESCARGA	3	--	--	0,01%
1-1-2	BOGOTÁ	CUNDINAMARCA	FRIO	1	MANHOLE	NO PASA	NEGATIVO	NEGATIVO	3,00%
					DESCARGA	4	--	--	0,30%
2-1-3	BOGOTÁ	CUNDINAMARCA	FRIO	1	VEEDER	5	NEGATIVO	POSITIVO	0,35%
			FRIO	4	VEEDER	4	NEGATIVO	NEGATIVO	0,10%
2-1-4	BOGOTÁ	CUNDINAMARCA	FRIO	1	VEEDER	5	NEGATIVO	POSITIVO	1,90%
3-1-5	COGUA	CUNDINAMARCA	FRIO	1	DESCARGA	3	--	--	0,05%
					MEDICIÓN	3	NEGATIVO	POSITIVO	0,05%
			FRIO	2	DESCARGA	4	--	--	0,06%
					MEDICIÓN	2	NEGATIVO	NEGATIVO	0,05%
3-1-6	COGUA	CUNDINAMARCA	FRIO	1	DESCARGA	3	--	--	0,05%
					MEDICIÓN	3	POSITIVO	POSITIVO	0,05%
4-1-7	TOCANCIPÁ	CUNDINAMARCA	FRIO	1	MEDICIÓN	NO PASA	POSITIVO	POSITIVO	0,60%
			FRIO	2	DESCARGA	5	--	--	0,50%
					MEDICIÓN	NO PASA	NEGATIVO	POSITIVO	12,10%
4-1-8	CAJICÁ	CUNDINAMARCA	FRIO	1	VEEDER	3	--	--	0,05%
					DESCARGA	3	--	--	0,05%
					MANHOLE	NO PASA	POSITIVO	POSITIVO	20%
4-1-9	CHÍA	CUNDINAMARCA	FRIO	4	DESCARGA	5	--	--	0,08%
			FRIO	2	VEEDER	5	NEGATIVO	NEGATIVO	0,10%
					VEEDER	NO PASA	POSITIVO	POSITIVO	0,90%
5-1-11	VENTAQUEMADA	META	FRIO	1	DESCARGA	4	--	--	0,15%
					VEEDER	NO PASA	POSITIVO	POSITIVO	6,50%
5-1-12	BARBOSA	SANTANDER	TEMPLADO	1	MEDICIÓN	NO PASA	--	--	0,40%
					MANHOLE	NO PASA	POSITIVO	POSITIVO	52%
5-2-13	PUERTO COLOMBIA	ATLÁNTICO	CALIDO	1	DESCARGA	NO PASA	POSITIVO	POSITIVO	24%
6-1-14	DUITAMA	BOYACÁ	FRIO	2	MEDICIÓN	NO PASA	POSITIVO	POSITIVO	0,25%
			FRIO	3	MEDICIÓN	4	NEGATIVO	POSITIVO	0,20%
			FRIO	4	MEDICIÓN	NO PASA	NEGATIVO	POSITIVO	16%
6-1-15	DUITAMA	BOYACÁ	FRIO	1	MEDICIÓN	3	NEGATIVO	NEGATIVO	0,01%
6-1-16	DUITAMA	BOYACÁ	FRIO	1	MEDICIÓN	4	--	--	0,25%
					MANHOLE	5	POSITIVO	POSITIVO	0,40%
7-1-17	YOPAL	CASANARE	CALIDO	2	MEDICIÓN	2	--	--	0,05%

EDS	CIUDAD	DEPARTAMENTO	CILMA	Nº TANQUE	BOCA	APARIENCIA	MICROBIOÓGICO		% AGUA Y SED
							BACTERIA	MOHO Y LEV	
					MANHOLE	NO PASA	POSITIVO	POSITIVO	1,10%
7-1-18	TAURAMENA	CASANARE	CALIDO	3	MEDICIÓN	5	--	--	0,15%
					MANHOLE	4	NEGATIVO	NEGATIVO	0,10%
					MEDICIÓN	5	POSITIVO	POSITIVO	2%
8-1-19	PUERTO LOPEZ	META	CALIDO	1	MEDICIÓN	3	NEGATIVO	POSITIVO	0,05%
					CALIDO	2	MANHOLE	4	NEGATIVO
8-1-20	VILLAVICENCIO	META	CALIDO	1	MEDICIÓN	NO PASA	--	--	3,50%
					MANHOLE	NO PASA	NEGATIVO	NEGATIVO	9%
9-2-21	B/QUILLA	ATLÁNTICO	CALIDO	3	MANHOLE	5	POSITIVO	POSITIVO	0,35%
9-2-22	B/QUILLA	ATLÁNTICO	CALIDO	1	MANHOLE	NO PASA	POSITIVO	POSITIVO	0,45%
9-2-23	B/QUILLA	ATLÁNTICO	CALIDO	1	MANHOLE	5	NEGATIVO	POSITIVO	0,25%
9-2-24	B/QUILLA	ATLÁNTICO	CALIDO	1	MANHOLE	NO PASA	POSITIVO	POSITIVO	9%
9-2-25	B/QUILLA	ATLÁNTICO	CALIDO	1	MANHOLE	4	NEGATIVO	POSITIVO	0,50%
10-2-26	B/QUILLA	ATLÁNTICO	CALIDO	1	VEEDER	4	POSITIVO	POSITIVO	0,35%
10-2-27	B/QUILLA	ATLÁNTICO	CALIDO	1	MANHOLE	NO PASA	POSITIVO	POSITIVO	100%
10-2-28	B/QUILLA	ATLÁNTICO	CALIDO	1	MEDICIÓN	5	NEGATIVO	POSITIVO	0,10%
10-1-29	B/QUILLA	ATLÁNTICO	CALIDO	1	DESCARGA	NO PASA	POSITIVO	POSITIVO	10%
11-3-30	B/QUILLA	ATLÁNTICO	CALIDO	1	DESCARGA	2	--	--	0,10%
					MEDICIÓN	2	NEGATIVO	POSITIVO	0,05%
11-4-31	SOLEDAD	ATLÁNTICO	CALIDO	1	DESCARGA	3	POSITIVO	POSITIVO	0,25%
					CALIDO	2	DESCARGA	4	NEGATIVO
11-1-32	SANTA MARTA	MAGDALENA	CALIDO	1	MANHOLE	3	NEGATIVO	POSITIVO	0,25%
					DESCARGA	3	--	--	0,30%
12-1-33	SIBATÉ	CUNDINAMARCA	FRIO	1	MANHOLE	NO PASA	POSITIVO	POSITIVO	100%
					FRIO	2	MANHOLE	NO PASA	NEGATIVO
12-1-34	NILO	CUNDINAMARCA	CALIDO	1	DESCARGA	4	--	--	0,15%
					MANHOLE	5	POSITIVO	POSITIVO	0,30%
12-1-35	NILO	CUNDINAMARCA	CALIDO	1	VEEDER	NO PASA	POSITIVO	POSITIVO	4%
12-1-36	ALVARADO	TOLIMA	CALIDO	2	DESCARGA	4	--	--	0,10%
					MEDICIÓN	3	NEGATIVO	NEGATIVO	0,05%
					CALIDO	1	DESCARGA	3	--
13-1-37	PEREIRA	RISARALDA	TEMPLADO	2	MEDICIÓN	3	NEGATIVO	POSITIVO	0,10%
					DESCARGA	3	--	--	0,10%
					VEEDER	5	POSITIVO	POSITIVO	0,15%
14-1-38	CERRITO	VALLE DEL CAUCA	CALIDO	1	DESCARGA	2	--	--	0,05%
					MANHOLE	NO PASA	NEGATIVO	NEGATIVO	0,50%
15-2-39	FLORIDA	VALLE DEL CAUCA	CALIDO	1	MANHOLE	NO PASA	NEGATIVO	POSITIVO	1%
15-1-40	PALMIRA	VALLE DEL CAUCA	CALIDO	1	DESCARGA	2	--	--	0,05%
					MANHOLE	3	NEGATIVO	POSITIVO	0,05%

EDS	CIUDAD	DEPARTAMENTO	CLIMA	Nº TANQUE	BOCA	APARIENCIA	MICROBIOÓGICO		% AGUA Y SED
							BACTERIA	MOHO Y LEV	
15-1-41	YUMBO	VALLE DEL CAUCA	CALIDO	1	MANHOLE	NO PASA	POSITIVO	POSITIVO	0,70%
15-2-42	YUMBO	VALLE DEL CAUCA	CALIDO	1	MANHOLE	NO PASA	POSITIVO	POSITIVO	5,00%
16-2-43	CALIMA	VALLE DEL CAUCA	CALIDO	1	DESCARGA	2	NEGATIVO	NEGATIVO	0,05%
16-1-44	ZARZAL	VALLE DEL CAUCA	CALIDO	1	DESCARGA	3	--	--	0,05%
					MANHOLE	NO PASA	POSITIVO	POSITIVO	1,50%
					MEDICIÓN	NO PASA	--	--	6%
20-1-50	B/MANGA	SANTANDER	TEMPLADO	1	VEEDER	5	NEGATIVO	NEGATIVO	0,30%
18-4-45	BOGOTÁ	CUNDINAMARCA	FRIO	1	MANHOLE	NO PASA	POSITIVO	POSITIVO	3%
21-3-48	GIRÓN	SANTANDER	TEMPLADO	3	MANHOLE	NO PASA	NEGATIVO	POSITIVO	0,70%
					MEDICIÓN	4	--	--	0,20%
			TEMPLADO	4	MANHOLE	NO PASA	POSITIVO	POSITIVO	0,40%
					MEDICIÓN	5	--	--	0,20%
			TEMPLADO	5	MANHOLE	NO PASA	--	--	1%
					MEDICIÓN	NO PASA	POSITIVO	POSITIVO	0,30%
22-3-49	LA FORTUNA	SANTANDER	TEMPLADO	3	DESCARGA	3	--	--	0,01%
					MANHOLE	3	NEGATIVO	POSITIVO	0,05%
			TEMPLADO	4	DESCARGA	3	--	--	0,10%
					MANHOLE	NO PASA	NEGATIVO	POSITIVO	4,50%
22-3-50	PUERTO PARRA	SANTANDER	TEMPLADO	1	DESCARGA	3	--	--	0,20%
					MANHOLE	4	POSITIVO	POSITIVO	0,15%
TOTAL EDS ANALIZADAS				48					
TOTAL TANQUES ANALIZADOS				63					

ANEXO B

IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS EN COMBUSTIBLE DIÉSEL

En la investigación realizada por Rodríguez, Rodríguez y Blanco, se identificaron las siguientes cepas de bacterias Gram positivas:

Bacterial strain	Total of strains (%) n=149	Isolation frequency (%) n=96	Bacterial strain	Total of strains (%) n=149	Isolation frequency (%) n=96
<i>Actinomyces hordeovulneris</i>	1 (0.7)	1.0	<i>K. varians</i>	9 (6.0)	9.4
<i>Arthrobacter cumminsi</i>	2 (1.3)	2.1	<i>Kurthia gibsonii</i>	1 (0.7)	1.0
<i>Bacillus</i> sp. ^a	10 (6.7)	9.4	<i>Kytococcus sedentarius</i>	1 (0.7)	1.0
<i>B. cereus/thuringiensis</i> ^b	4 (2.7)	4.2	<i>Microbacterium maritypicum</i>	1 (0.7)	1.0
<i>B. fastidiosus</i>	2 (1.3)	2.1	<i>M. saperdae</i>	1 (0.7)	1.0
<i>B. laevolacticus</i>	2 (1.3)	2.1	<i>Micrococcus</i> sp. ^a	25 (16.7)	20.8
<i>B. megaterium</i>	4 (2.7)	4.2	<i>Micrococcus lylae</i>	1 (0.7)	1.0
<i>B. mycoides</i>	2 (1.3)	2.1	<i>Paenibacillus macerans</i>	1 (0.7)	1.0
<i>B. pumilus</i>	3 (2.0)	3.1	<i>Rhodococcus</i> sp. ^a	3 (2.0)	3.1
<i>B. racemilacticus</i>	1 (0.7)	1.0	<i>R. equi</i>	1 (0.7)	1.0
<i>Brevibacterium mcbrellneri</i>	1 (0.7)	1.0	<i>R. fasciens</i>	2 (1.3)	2.1
<i>Brochothrix campestris</i>	1 (0.7)	1.0	<i>Staphylococcus</i> sp. ^a	4 (2.7)	4.2
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	1 (0.7)	1.0	<i>S. arlettae</i>	1 (0.7)	1.0
<i>Cellulomonas gelida</i>	1 (0.7)	1.0	<i>S. aureus</i>	1 (0.7)	1.0
<i>Clavibacter michiganensis</i> ss <i>insidiosus</i>	1 (0.7)	1.0	<i>S. capitis</i>	2 (1.3)	2.1
<i>Corynebacterium</i> sp. ^a	1 (0.7)	1.0	<i>S. cohnii</i>	5 (3.3)	4.2
<i>C. glutamicum</i>	2 (1.3)	1.0	<i>S. epidermidis</i>	5 (3.3)	4.2
<i>C. nitrophilus</i>	3 (2.0)	3.1	<i>S. haemolyticus</i>	6 (4.0)	5.2
<i>Deinococcus radiodurans</i>	1 (0.7)	1.0	<i>S. hominis</i>	2 (1.3)	2.1
<i>Dermacoccus nishinomiyaensis</i>	1 (0.7)	1.0	<i>S. lugdunensis</i>	2 (1.3)	2.1
<i>Globicatella sanguinis</i>	1 (0.7)	1.0	<i>S. sciuri</i>	2 (1.3)	2.1
<i>Kocuria kristinae</i>	1 (0.7)	1.0	<i>S. warneri</i>	2 (1.3)	2.1
<i>K. rosea</i>	1 (0.7)	1.0	<i>Streptococcus intestinalis</i>	1 (0.7)	1.0
			<i>Tsakamurella inchonensis</i>	4 (2.7)	4.2

^a Taxonomy until species level was not possible with the identification methodology employed in this study.

^b Differentiation between the two species was not possible with the identification methodology employed in this study.

Fuente: RODRIGUEZ Carlos, RODRIGUEZ Evelyn, BLANCO Rigoberto. Bacterial contamination of automotive fuels in a tropical region: the case of Costa Rica. En: Revista de biología tropical. Septiembre 2009. Vol 57. No 3.

En la investigación realizada por Sanchez, Gorbushina y Toepel, se aislaron las siguientes cepas de bacterias y hongos:

Bacteria isolated from contaminated diesel samples.

Strains	Accession no.	Molecular identification ^a	Similarity (%)
Sample A			
A1 (abundant colonies)	LN995803	<i>Bacillus cereus</i> *, <i>B. thuringiensis</i> , <i>B. toyonensis</i> , <i>B. anthracis</i> **	99.9
A2 (abundant colonies)	LN995804	<i>Lactobacillus pentosus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. paraplantarum</i>	100
A5	LN995805	<i>Lactobacillus paracasei</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. zeae</i>	99.9
Sample B			
B1 and B2 (abundant colonies)	LN995806	<i>Citrobacter farmeri</i> *, <i>C. amalonaticus</i> *	99
B6	LN995807	<i>Pseudocheilatozococcus lubricantis</i>	99.9
Sample C			
C1 and C2 (abundant colonies)	LN995808	<i>Bacillus cereus</i> *, <i>B. thuringiensis</i> , <i>B. toyonensis</i> , <i>B. anthracis</i> **	99.9
C3, C6 ^b and C16.1 ^c (abundant colonies)	LN995809	<i>Burkholderia vietnamiensis</i> *	99.6
C4	LN995810	<i>Bacillus safensis</i> , <i>B. pumilus</i>	100
C5	LN995811	<i>Lysinibacillus xylanilyticus</i>	100
C8 ^d	LN995812	<i>Paludibacterium yongneupense</i>	96.9
C9 ^d	LN995813	<i>Diaphorobacter polyhydroxybutyrativorans</i>	97.1
C10	LN995814	<i>Xanthobacter agilis</i>	99.3
C13.1 ^c	LN995815	<i>Cupriavidus basilensis</i>	99
C16.2 ^c	LN995816	<i>Achromobacter spanius</i>	100
Sample D			
D1 (abundant colonies)	LN995817	<i>Citrobacter farmeri</i> *, <i>C. amalonaticus</i> *	99
D2 (abundant colonies)	LN995818	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> *, <i>S. pavanii</i>	99
D5 ^c	LN995819	<i>Raoultella planticola</i>	100
D6 ^d	LN995820	<i>Cellulomonas marina</i>	95.9
Sample E			
E5, E2-5 and E2-6 (abundant colonies)	LN995821	<i>Acetobacter peroxydans</i>	99
Sample F			
F1 (abundant colonies)	LN995822	<i>Enterococcus malodoratus</i>	99.8
F4	LN995823	<i>Dermaococcus nishinomiyaensis</i>	99.7
F5	LN995824	<i>Lactobacillus paracasei</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. zeae</i>	99.9

* This species belongs to the risk group 2 according to TRBA 466.

** This species belongs to the risk group 3 according to TRBA 466.

^a Identification based on comparison of their rDNA 16S sequences with GenBank by BLAST algorithm from EzTaxon. The closest relative type strains are detailed.

^b Strain resistant to chloramphenicol isolated from the fungal medium MEAC.

^c Strain isolated from minimum culture medium with diesel (BHAD).

^d Possible novel species according to the low similarity ($\leq 97.1\%$).

Fungi isolated from contaminated diesel samples.

Strains	Accession no.	Molecular identification ^a	Similarity (%)
Sample A			
A3, A6 ^b and A8 ^b (abundant colonies)	LN995825	*Trichocomaceae species (<i>Paecilomyces variotii</i> , <i>Talaromyces</i> spp., <i>Penicillium</i> spp., <i>Geosmithia</i> spp., <i>Aspergillus</i> spp.)	99
Sample B			
B3 (abundant colonies)	LN995826	*Trichocomaceae species (<i>Paecilomyces variotii</i> , <i>Talaromyces</i> spp., <i>Penicillium</i> spp., <i>Geosmithia</i> spp., <i>Aspergillus</i> spp.)	99
Sample C			
C11, C14 ^b	LN995827	*Ophiostomataceae species (<i>Ophiostoma piliferum</i> , <i>O. penicillatum</i> , <i>Sporothrix schenckii</i>)	99
C15	LN995828	*Trichocomaceae species (<i>Paecilomyces variotii</i> , <i>Talaromyces</i> spp., <i>Penicillium</i> spp., <i>Geosmithia</i> spp., <i>Aspergillus</i> spp.)	99
Sample D			
D3 and D4 ^c (abundant colonies)	LN995829	Dipodascaceae species (<i>Dipodascus australiensis</i> , <i>Galactomyces candidus</i>)	100
Sample E			
E1, E2, ^b E2-3 and E2-4 (abundant colonies)	LN995830	<i>Pseudallescheria boydii</i> - <i>Scedosporium apiospermum</i> **	100
Sample F			
F2, F3, ^c F6 ^b and F8 ^b (abundant colonies)	LN995831	Dipodascaceae species (<i>Dipodascus australiensis</i> , <i>Galactomyces candidus</i>)	100

** This species belongs to the risk group 2 according to TRBA 460.

^a Identification based on comparison of their ribosomal sequences, ITS regions or 18S rRNA gene when the ITS primers did not work (*), with GenBank by BLAST algorithm from NCBI. The closest relative species are detailed.

^b Strain isolated from minimum culture medium with diesel (BHAD).

^c Strain resistant to cycloheximide isolated from the bacterial medium TSAcy.

Fuente: SANCHEZ Pedro, GORBUSHINA Anna, TOEPEL Jörg. Quantification of microbial load in diesel storage tanks using culture and qPCR-based approaches. En: international Biodeterioration and biodegradation. Enero de 2018. Vol 126, p. 216-223.

En la investigación realizada por Gaylarde, Bento y Kelley⁴⁶, se muestran los siguientes microorganismos aislados de diferentes muestras de combustible:

Bacteria		
<i>Acinetobacter</i> *	<i>Brevibacterium ammoniagenes</i>	<i>Pasteurella</i> sp.
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Clostridium sporogenes</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.*
<i>Acinetobacter cerificans</i>	<i>Corynebacterium</i> sp.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *
<i>Actinomycetes</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Aerobacter aerogenes</i>	<i>Enterobacter glomerans</i>	<i>Pseudomonas maliphora</i>
<i>Alcaligenes</i> *	<i>Flavobacterium arborescens</i>	<i>Pseudomonas oleovorans</i> *
<i>Bacillus</i> sp. *	<i>Flavobacterium diffusum</i>	<i>Pseudomonas putida</i> *
<i>Bacillus acidocaldarius</i>	<i>Micrococcus</i> sp.	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Bacillus megatherium</i>	<i>Moraxella</i> sp.	<i>Serratia odorifera</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Ochrobactrium anthropii</i>	SRB*
Yeasts		
<i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>Candida guilliermondii</i> *	<i>Candida zeylanoides</i>
<i>Candida</i> sp. *	<i>Candida lipolytica</i> *	<i>Hansenula mrakii</i>
<i>Candida famata</i> *	<i>Candida rugosa</i>	<i>Rhodotorula</i> sp. *
<i>Candida fluviatilis</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Saccharomyces</i> sp.
Filamentous fungi		
<i>Acremonium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp. *	<i>Penicillium hirsutum</i>
<i>Acremonium strictum</i> *	<i>Fusarium acuminatum</i>	<i>Penicillium minioluteum</i>
<i>Alternaria</i> sp.	<i>Fusarium moniliforme</i> *	<i>Penicillium notatum</i> #
<i>Alternaria alternata</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> *	<i>Penicillium spinulosum</i>
<i>Aspergillus</i> sp. *	<i>Fusarium sambucinum</i>	<i>Penicillium thomii</i>
<i>Aspergillus clavatus</i>	<i>Geomyces cretaceus</i>	<i>Penicillium waksmanii</i>
<i>Aspergillus fischeri</i>	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Pestalotiopsis aquatica</i>
<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Gliomastix</i> sp.	<i>Phialophora</i> sp.
<i>Aspergillus fumigatus</i> *	<i>Helminthosporium</i> sp.	<i>Phialophora richardsiae</i>
<i>Aspergillus niger</i> *	<i>Hormoconis resiniae</i> *	<i>Phoma</i> sp.
<i>Aspergillus nidulans</i>	<i>Humicola grisea</i>	<i>Phomopsis</i> sp.
<i>Aspergillus ochraceus</i>	<i>Mucor</i> sp.	<i>Pseudallescheria boydii</i>
<i>Aspergillus paradoxus</i>	<i>Paecilomyces</i> sp.	<i>Rhinocladiella</i> sp. *
<i>Aspergillus sejunctus</i> #	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	<i>Rhizopus oryzae</i>
<i>Aspergillus sydowi</i>	<i>Paecilomyces variotii</i> *	<i>Sordaria fimicola</i>
<i>Aspergillus versicolor</i>	<i>Paecilomyces virvus</i>	<i>Stemphylium botryosum</i>
<i>Aspergillus tamaritii</i>	<i>Penicillium</i> sp. *	<i>Thielavia</i> sp.
<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Penicillium brevicompactum</i>	<i>Trichoderma</i> sp.
<i>Cephalosporium</i> sp.	<i>Penicillium canescens</i>	<i>Trichoderma harzianum</i>
<i>Chaetomium dolichotrichum</i>	<i>Penicillium citrinum</i>	<i>Trichoderma koningii</i>
<i>Chaetomium globosum</i>	<i>Penicillium corylophilum</i> *	<i>Trichoderma viride</i> *
<i>Cladosporium</i> sp.	<i>Penicillium cyclopium</i> *#	<i>Trichosporon</i> sp. *
<i>Cladosporium cladosporoides</i> *	<i>Penicillium digitatum</i>	<i>Trichothecium roseum</i>
<i>Cladosporium herbarum</i>	<i>Penicillium echinulatum</i>	<i>Tritirachium oryzae</i>
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	<i>Penicillium expansum</i>	<i>Ulocladium</i> sp.
<i>Curvularia lunatus</i>	<i>Penicillium frequentans</i> #	<i>Ulocladium atrum</i>
<i>Drechslera cynodontis</i>	<i>Penicillium funiculosum</i>	<i>Ulocladium chartarum</i>
<i>Epicoccium purpurascens</i>	<i>Penicillium glabrum</i> #	

* organisms with reported ability to grow in fuel

Synonyms:-

Aspergillus sejunctus = *A. rubrobrunneus*, *Penicillium frequentans* = *P. glabrum*, *P. cyclopium* = *P. aurantiogriseum*, *P. notatum* = *P. chrysogenum*

Sources: 1, 2, 5; 7, 11, 13, 15, 16, 19, 21, 23, 24, 30, 33, 35, 37, 40, 41, 43, 44, 49, 50, 52, 53, 54, and IMI Genetic Resource Collection Records.

Fuente: GAYLARDE Christine, BENTO Fatima, KELLEY Joan. Microbial contamination of stored hydrocarbon fuels and its control. En: Revista de microbiología. Febrero de 1999. Vol 30, no 1, p. 01-10. ISSN 0001-3714

ANEXO C

MATRIZ DE ANALISIS DE RIESGOS PARA LAVADO DE TANQUES CON INGRESO AL ESPACIO CONFINADO

N°	Tarea	Riesgos	Controles	Responsable	Consecuencia	Frecuencia	Nivel de Riesgo
1	Encerramiento y señalización de la zona	Caidas, tropezones	Revisar la zona, retirar elementos que puedan causar accidentes, usar epp	Personal EDS, Personal Mateus Sendoya, personal encargado del lavado de tanques	1	3	3
		Atropellamiento	Verificar que no hayan vehículos transitando en el lugar, usar materiales reflectivos		3	3	9
2	Desconexión de los sistemas eléctricos y neumáticos	Electrocutarse	Usar epp, asegurar que los equipos estén apagados	Personal encargado del lavado de tanques	3	2	6
		Machucón	Usar epp, revisar procedimientos antes de realizar la tarea		1	3	3
		Caidas, tropezones	Revisar la zona, retirar elementos que puedan causar accidentes, usar epp		1	3	3
3	Apertura y retiro de las tapas del tanque	Machucón	Usar epp, revisar procedimientos antes de realizar la tarea	Personal EDS, Personal Mateus Sendoya, personal encargado del lavado de tanques	1	3	3
		Caída al tanque	Usar arnés y eslingas		3	2	6
		Químico	Usar epp, leer las fichas de seguridad de los combustibles previamente		1	3	3
4	Desgasificación del tanque	Explosión	No usar equipos electrónicos cerca al sitio, usar epp	Personal encargado del lavado de tanques	5	2	10
		Químico	Usar epp, leer las fichas de seguridad de los combustibles previamente		2	3	6
		Caída al tanque	Usar arnés y eslingas		3	2	6
5	Bombeo y succión del combustible almacenado	Explosión	No usar equipos electrónicos cerca al sitio, usar epp	Personal encargado del lavado de tanques	5	2	10
		Químico	Usar epp, leer las fichas de seguridad de los combustibles previamente, evitar derrames		2	3	6
6	verificación de gases inflamables con explosímetro	Explosión	No usar equipos electrónicos cerca al sitio, usar epp	Personal encargado del lavado de tanques	5	2	10
		Caída al tanque	Usar arnés y eslingas		3	2	6
7	Hacer el ingreso al tanque	Caída al tanque	Usar trípode, arnés y epp	Personal encargado del	3	2	6

N°	Tarea	Riesgos	Controles	Responsable	Consecuencia	Frecuencia	Nivel de Riesgo
				lavado de tanques			
8	Lavado de las paredes del tanque	Químico	Usar epp, leer las fichas de seguridad de los productos usados previamente	Personal encargado del lavado de tanques	2	3	6
		Caídas, tropezones	Revisar la zona, retirar elementos que puedan causar accidentes, usar epp		1	3	3
		Biológico	Usar epp, disponer adecuadamente los residuos		3	3	9
9	Secado del tanque	Químico	Usar epp, leer las fichas de seguridad de los productos usados previamente	Personal encargado del lavado de tanques	2	3	6
		Caídas, tropezones	Revisar la zona, retirar elementos que puedan causar accidentes, usar epp		1	3	3
2	Conexión de los sistemas eléctricos y neumáticos	Electrocutarse	Usar epp, asegurar que los equipos estén apagados	Personal encargado del lavado de tanques	3	2	6
		Machucón	Usar epp, revisar procedimientos antes de realizar la tarea		1	3	3
		Caídas, tropezones	Revisar la zona, retirar elementos que puedan causar accidentes, usar epp		1	3	3
10	Llenado del tanque	Químico	Usar epp, leer las fichas de seguridad de los productos usados previamente	Personal encargado del lavado de tanques	2	3	6
		Caídas, tropezones	Revisar la zona, retirar elementos que puedan causar accidentes, usar epp		1	3	6
		Explosión	No usar equipos electrónicos cerca al sitio, usar epp		5	2	3
11	Cierre de y ajuste las tapas del tanque	Machucón	Usar epp, revisar procedimientos antes de realizar la tarea	Personal EDS, Personal Mateus Sendoya, personal encargado del lavado de tanques	1	3	3
		Caída al tanque	Usar arnés y eslingas		3	2	6
		Químico	Usar epp, leer las fichas de seguridad de los combustibles previamente		1	3	3

