

Análisis del comportamiento microbiano en procesos de degradación de hidrocarburos en suelo

Ercoli E.⁽¹⁾
Gálvez, J.
Medaura, M.C.
Di Paola, M.,
Cantero, J.
Videla, S.
Tettamanti, G.
Vardaro, S.

RESUMEN

En este trabajo se describe el comportamiento de los microorganismos aeróbicos degradadores de hidrocarburos en procesos degradativos llevados a cabo por dos tecnologías distintas: land-farming y acumulación aireada. Se compara el comportamiento microbiano en ambos procesos para un mismo tipo de contaminante, un mismo tipo de suelo y condiciones climáticas idénticas, para observar la respuesta ante la estimulación. Se estudiaron procesos con baja y alta concentración inicial de hidrocarburo para ver eficiencia de degradación. Se demuestra cómo la actividad microbiana produce cambios en la temperatura de las pilas en acumulación aireada y cómo la humedad influye sobre la masa microbiana. Por último, se analiza el número microbiano hacia el final de los procesos degradativos.

PALABRAS CLAVE: Biorremediación. Land-farming. Acumulación aireada. Comportamiento microbiano.

SUMMARY

In this article, it is described the behavior of aerobic petroleum hydrocarbon degrader microorganisms in degradative processes performed by two different technologies: land-farming and aerated accumulation. It is compared the microbial behavior in both processes for the same kind of contaminant, same type of soil and climatic conditions to observe the response to stimulation. Processes with low and high initial concentration of petroleum hydrocarbons were studied to observe degradation efficiency. The influence of the microbial activity on the pile temperature and the influence of moisture over the microbial mass is shown. Finally, it is analyzed the microbial count at the end of the degradative processes.

KEY WORDS:

Bioremediation. Land-farming. Aerated accumulation. Microbial behavior.

1. Dr. Eduardo C. Ercoli, Director Laboratorio de Bioprocesos, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Cuyo.
e-mail: eercoli@raiz.uncu.edu.ar

INTRODUCCION

El término *biodegradación* hace referencia a la transformación de contaminantes por microorganismos vivos, cualquiera sea el medio en que se encuentren. Los microorganismos del suelo, por lo tanto, tienen un importante rol en la atenuación del impacto ambiental de esos compuestos reduciendo la concentración de los mismos. La transformación de los contaminantes químicos por los microorganismos que derive en algún beneficio nutricional, utilizando al compuesto como fuente de carbono y energía o algún otro nutriente, se denomina *metabolismo*. El metabolismo, con frecuencia resulta en mineralización completa del contaminante, en otras palabras, su conversión a dióxido de carbono, agua e iones inorgánicos. Las vías metabólicas consisten en una serie de reacciones secuenciales de transformación cuyo propósito es convertir el compuesto xenobiótico en moléculas *naturales* que pueden ser procesadas por el metabolismo central y periférico y sostener el crecimiento. Las enzimas que participan en los pasos iniciales de la transformación son inducidas por el sustrato contaminante. En contraste, la transformación del contaminante sin un beneficio nutricional aparente del microorganismo, es llamada *cometabolismo*. Las reacciones cometabólicas no sostienen el crecimiento de la biomasa degradadora pero suelen ser usadas como mecanismos de detoxificación. Las enzimas que catalizan las reacciones cometabólicas con frecuencia no son inducidas por el sustrato.

Las velocidades y vías degradativas de los contaminantes en suelos están determinadas por factores que no pueden ser reproducidos en otros sistemas diferentes del mismo como aguas, lodos o aire. Estos factores son específicos de la naturaleza del contaminante, del tipo de suelo, de los microorganismos degradadores del compuesto y de la interacción entre ellos.

Ejemplos de microorganismos degradadores de hidrocarburos pueden encontrarse a lo largo del extenso mundo microbiano. Todos los tipos fisiológicos están representados en la microflora degradadora de hidrocarburos: aeróbicos, aneróbicos (fermentativos, metanogénicos y sulfatorreductores), quimiolitotróficos y fotosintéticos. Los contaminantes hidrocarbonados pueden ser mineralizados por un solo tipo de microorganismos o consorcios de ellos. La degradación completa de un compuesto puede requerir una comunidad de microorganismos que secuencialmente intercambian y luego excretan metabolitos a medida que la molécula es gradualmente desintegrada.

En este trabajo se describe el comportamiento de los microorganismos aeróbicos degradadores de hidrocarburos en procesos degradativos llevados a cabo por tecnologías distintas: land-farming y acumulación aireada.

La técnica de *landfarming* se basa en oxigenación del suelo por la remoción mecánica de capas de reducido espesor por medio de herramientas de labranza. Las condiciones del suelo son controladas para optimizar la degradación de los contaminantes. Estas condiciones normalmente incluyen contenido de humedad, aireación, pH e incorporación de nutrientes. La frecuencia de remoción es ajustada para cada situación particular de modo de obtener una adecuada aireación del terreno. Por tratarse de capas de escaso espesor, el suelo bajo tratamiento es afectado fuertemente por las condiciones ambientales externas, es decir vientos, lluvias, cambios térmicos, irradiación, etc.

La técnica de *acumulación aireada* consiste en tratar suelo excavado en pilas de altura variable, oxigenadas mecánicamente. Al igual que en las anteriores, es necesario controlar humedad, nutrientes, oxígeno y pH. También es posible controlar temperatura, lo cual aumenta fuertemente su potencialidad como tecnología. El efecto de la remoción mecánica en profundidad incrementa drásticamente los fenómenos de transferencia de materia, que en biodegradación de hidrocarburos en suelo suelen ser los principales limitantes de la cinética global del proceso.

METODOS ANALITICOS

Recuento de microorganismos aerobios degradadores de hidrocarburos: Methods of Soil Analysis part 2 - Chemical and Microbiological Properties. 2º Edition. American Society of Agronomy, INC

1982. Modificado*

Hidrocarburos: TPH, Norma EPA 418.1

Nitrógeno Kjeldahl: Normalized Methods for the analysis of drink and residual waters 4500 NORGB, Method Macro Kjeldahl. Modificado*.

Fósforo Asimilable: Normalized Method for the analysis of drink and residual waters. Ascorbic acid Method. Modificado*

Humedad de Suelo: Soil Moisture (%): ASTM 2216-71. Modificado*

*Las modificaciones fueron hechas de acuerdo a la naturaleza de la muestra.

RESULTADOS

Evolución de microorganismos en Land farming y Acumulación aireada.

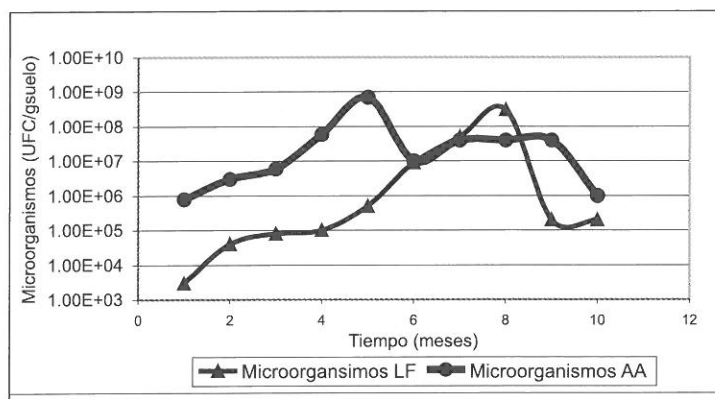


Fig.1. Evolución de microorganismos en Landfarming y Acumulación aireada (caso 1).

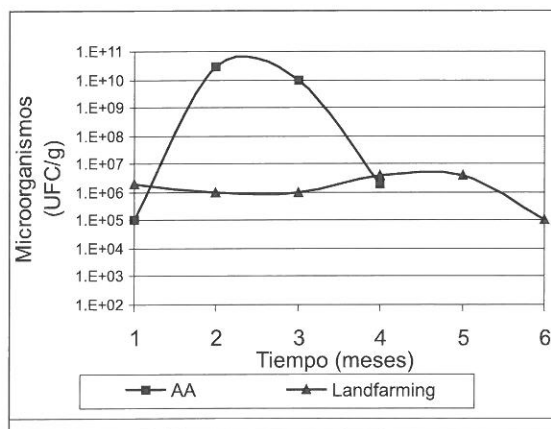


Fig.2. Evolución de microorganismos en Landfarming y Acumulación aireada (caso 2).

En la figura 1 se comparan procesos de biodegradación de hidrocarburos usando las técnicas de Landfarming y Acumulación aireada para un mismo tipo de suelo, de contaminante y condiciones climáticas. Partiendo de concentraciones iniciales de hidrocarburos similares, la población microbiana en Acumulación aireada aumenta a 10^9 hacia el cuarto mes de tratamiento, se mantiene en 10^7 y

desciende a 10^6 cuando la degradación alcanza el 63% al décimo mes de tratamiento. Con Landfarming, la evolución es más suave, la población microbiana alcanza el orden de 10^7 hacia el séptimo mes para mantenerse y descender hacia el décimo mes al orden de 10^5 cuando la degradación alcanza el 44%. Comparando ambas curvas puede observarse un desplazamiento temporal de una respecto de la otra, una evolución similar y máximos similares, diferenciándose en la variación en número de microorganismos a lo largo del proceso y una eficacia en el proceso degradativo diferentes, siendo mayor en Acumulación aireada.

En la figura 2 se representa en forma comparativa el uso de ambas técnicas aplicadas a otro tipo de suelo, con condiciones climáticas y tipo de contaminante diferentes del anterior. Se refleja similar comportamiento microbiano en el tiempo para ambas técnicas y se puede apreciar claramente que el incremento de la masa microbiana es más rápido y mayor en Acumulación aireada que en Landfarming. En este caso, la degradación fue del 74 % en Acumulación aireada mientras que en Landfarming fue del 25 %.

Evolución de los microorganismos según la concentración inicial de hidrocarburos totales.

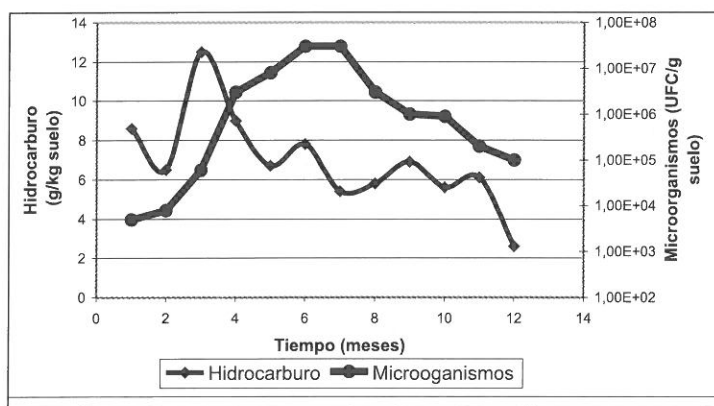


Fig.3. Evolución microbiana en Landfarming con baja concentración inicial de hidrocarburos.

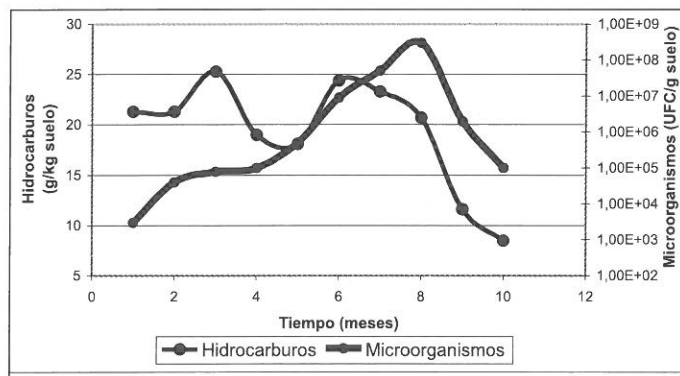


Fig.4. Evolución microbiana en Landfarming con alta concentración inicial de hidrocarburos.

En un tratamiento por Landfarming, se compararon dos parcelas con el mismo tipo de suelo, condiciones climáticas y tipo de contaminante aunque a distintas concentraciones iniciales de hidrocarburos para analizar la evolución de los microorganismos. A bajas concentraciones iniciales de hidrocarburos (8.6 g/kg de suelo), la población microbiana comienza a incrementarse suavemente desde 10^3 hasta 10^7 en el séptimo mes para luego descender hacia el décimo mes, cuando la concentración de hidrocarburo cae a 2.6 g/kg de suelo. A alta concentración inicial de hidrocarburos (21.3 g/kg de suelo), el número de microorganismos asciende más marcadamente desde 10^3 a 10^8 hacia el séptimo mes de tratamiento y comienza a descender hasta 10^5 cuando la concentración de

hidrocarburos cae a 8.5 g/kg a los diez meses de tratamiento.

Evolución de los microorganismos con la Temperatura.

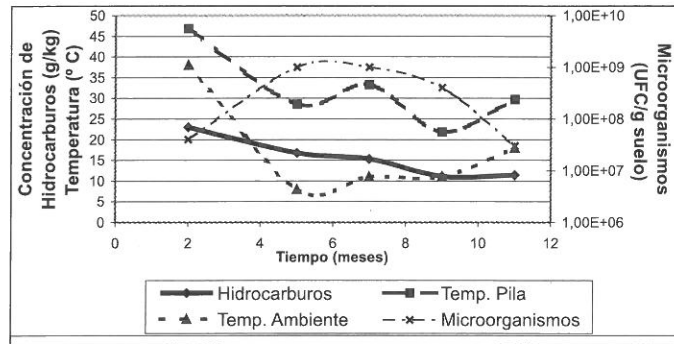


Fig.5. Efecto de la actividad microbiana sobre la temperatura de la pila en Acumulación aireada.

En Acumulación aireada se obtuvieron resultados que demuestran que al aumentar la población microbiana en el proceso degradativo, aumenta la temperatura de la pila por encima de la temperatura ambiente, como consecuencia de su actividad. Al comienzo del proceso, donde la masa microbiana se encuentra en el orden de 10^7 , la temperatura de la pila es semejante a la ambiente, ambas elevadas por corresponder a valores medios de verano. La mayor diferencia entre los valores de temperatura ambiente y la de la pila se registra en los meses de invierno, a la mitad del proceso y coincidente con el período de mayor actividad degradativa, máximos valores de masa microbiana y marcado descenso de la concentración de hidrocarburos. Hacia el final del proceso, cuando los valores de microorganismos descienden, también lo hace la diferencia de temperatura. Podemos concluir que las variaciones de temperatura en los procesos de Acumulación aireada se ven fuertemente afectadas por la actividad microbiana en el proceso degradativo en forma directamente proporcional, aún a baja temperatura ambiente.

Efecto de la humedad sobre la concentración de microorganismos en suelo.

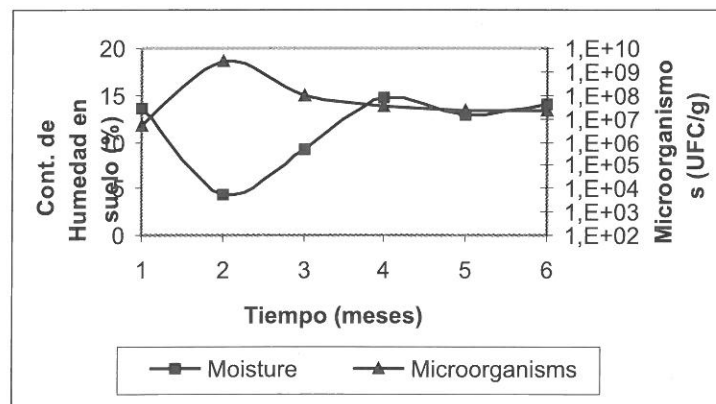


Fig.6. Efecto de la humedad sobre la concentración de microorganismos en suelo.

El contenido de humedad del suelo es otro factor importante que afecta la actividad microbiana del suelo en tratamiento. Puede observarse que a baja concentración de humedad (10%), la concentración de microorganismos alcanza el valor más alto ($1E+09$), mientras que cuando el

contenido de humedad aumenta hasta un 15%, la concentración de microorganismos cae a $1E+07$.

Análisis comparativo de la concentración final de microorganismos hacia la finalización del proceso de biodegradación.

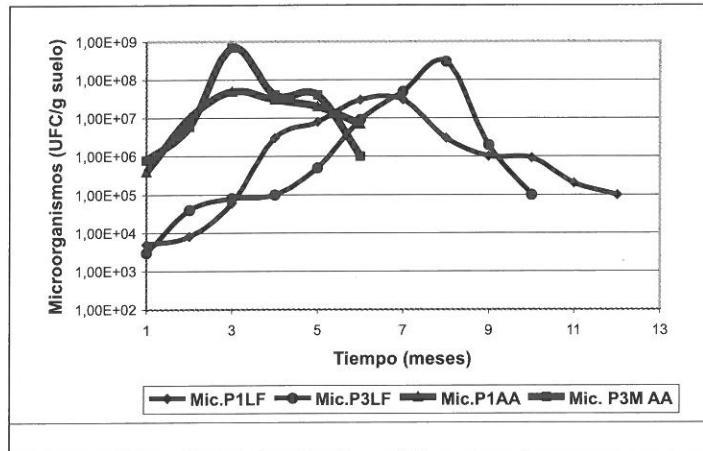


Fig.7. Análisis de la concentración de microorganismos hacia la finalización del proceso de biodegradación.

Analizando la figura 6, donde se grafica el comportamiento microbiano de distintos tratamientos hasta la liberación de esos suelos, puede observarse que la concentración final de microorganismos desciende a 10^6 - 10^5 hacia el final del proceso en forma coincidente para los casos analizados. El valor alcanzado en concentración microbiana se considera normal para un suelo remediado.

CONCLUSIONES

Al comparar el comportamiento microbiano en ambos procesos para un mismo tipo de contaminante, un mismo tipo de suelo y condiciones climáticas idénticas, puede observarse una respuesta mayor en número, más rápida y con mayor eficiencia degradativa en Acumulación aireada. Cuando se comparan procesos con baja y alta concentración inicial de hidrocarburo, se observa que el comportamiento microbiano es similar en ambos casos aunque más reactivo y eficiente en cuanto a degradación en el tratamiento con mayor concentración inicial de hidrocarburo.

Las variaciones de temperatura en los procesos de Acumulación aireada se ven fuertemente afectadas por la actividad microbiana en el proceso degradativo en forma directamente proporcional, aún a baja temperatura ambiente.

Con baja humedad (10 %), se observan los máximos niveles de microorganismos en el suelo en tratamiento y éstos descienden cuando la humedad se incrementa (15%). Por último, se observa un descenso en el número microbiano hacia el final de los procesos degradativos, coincidente con la caída en la concentración de hidrocarburo.

BIBLIOGRAFIA

Balba M.T., Al-Daher R. and Al-Awadhi N. *Bioremediation of Oil- Contaminated desert Soil: the Kuwaiti Experience.* Environment International, Vol. 24, N° 1/2, pp. 163-173. 1997.
 Breidenbach C. and Müller R. *Which Parameters Influence the Degradative Abilities of Added Microorganisms in soil? Contaminated Soil'95,* 1163-1164.1995.

- Chaineau, C.H. , J.L. Morel, J. Oudot, *Microbial Degradation in Soil Microcosms of Fuel Oil Hydrocarbons from Drilling Cuttings*. Environmental Science & Technology : 29 (6), 1615-1621. 1995.
- Deviny, J.S.; and Chang, S-H. Bioaugmentation for Soil Biorremediation. In Wise, D.L.; Trantolo, D.J.; Cichon, E.J.; Inyang, H.I.; Stottmeister, U. *Bioremediation of Contaminated Soils*. Marcel Dekker, Inc. New York, (2000). Pages 465-485.
- Ercoli, E., y otros, *Tratamiento Biológico de Lodos de Refinería*. 2º Simposio de Producción de Hidrocarburos. IAPG. 497-506. 1995.
- Ercoli E., y otros, *Total petroleum hydrocarbon monitoring in biodegradation of weathered crude oily residues*. The fourteenth International Conference on Solid Waste technology and Management, Philadelphia, P.A. U.S.A. 1998. ✓
- Ercoli, E y otros. *Evaluación de dos años de experiencias de campo en biorremediación de suelos*. 3^{ras} Jornadas de Preservación de Agua, Aire y Suelo en la Industria del Petróleo y del Gas, IAPG: Tomo 1, 47-60. 1998.
- Ercoli, E.; et al. *Biorremediación de suelos por técnica de acumulación aireada*. IV Jornadas de Preservación de Agua, Aire y Suelo en la Industria del Petróleo y del Gas IAPG. Salta Argentina (Oct, 2000).
- Ercoli* E.; et al. Extensive Evaluation of Aerated Accumulation Technique for Soil Treatment. LACPEC 2001. Paper SPE 69445. SPE Latin American and Caribbean Petroleum Engineering Conference held in Buenos Aires, Argentina, 25-28 March 2001.
- Gen-Hsung Lin, Nancy E. Sauer and Teresa J. Cutright. Environmental Regulations: *A Brief Overview of their Applications to Bioremediation*. International Biodeterioration and Biodegradation 1-8. 1996.
- Hart,S., *In Situ Bioremediation: Defining the Limits*. Environmental Science & Technology: 30 (9), 398-401. 1996.
- Hueseman, M. Guidelines for Land-Treating Petroleum Hydrocarbon- Contaminated Soils. Journal of Soil Contamination. 3 (3). 1994.
- Itävaara, M.; Piskonen, R. And Rytkönen, J. *Biodegradation of Crude Oil in Cold Climatic Conditions*. In Wise, D.L.; Trantolo, D.J.; Cichon, E.J.; Inyang, H.I.; Stottmeister, U. *Bioremediation of Contaminated Soils*. Marcel Dekker, Inc. New York, (2000). Pages 327-337.
- Salanitro J.P., Dorn P.B., Huesemann H., Moore K.O., Rhodes Y., Rice Jackson L.M., Vipond T.E. Western M.M. and Wisniewski H.L. *Crude Oil Hydrocarbon Bioremediation and Soil ecotoxicity Assesment*. Env. Sci.and Technol.31, 1769-1776. 1997.
- Venkateswaran, K. and Harayama, S., *Biodegradation potentials of Oil - Degrading Microorganisms*. Geotechnical Applications. Chapter 9, p. 309 – 334.

*Para obtener toda la información actualizada
sobre las actividades académicas, de
investigación y servicios que desarrolla la
Facultad de Ingeniería de la Universidad
Nacional de Cuyo, visite el sitio Web:*

<http://fing.uncu.edu.ar>