

**EVALUACIÓN TEÓRICA DE LA REMOCIÓN Y TIEMPO DE ACCIÓN DE TRES
TÉCNICAS DE BIORREMEDIACIÓN, PARA EL TRATAMIENTO DE SUELOS
CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS**

LUIJESMARTH SILVIA PLATA QUINTERO

**UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA SECCIONAL BUCARAMANGA
ESCUELA DE INGENIERÍA
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
ESPECIALIZACIÓN EN PRESERVACIÓN Y CONSERVACIÓN
DE RECURSOS NATURALES
BUCARAMANGA
JUNIO DE 2012**

**EVALUACIÓN TEÓRICA DE LA REMOCIÓN Y TIEMPO DE ACCIÓN DE TRES
TÉCNICAS DE BIORREMEDIACIÓN, PARA EL TRATAMIENTO DE SUELOS
CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS**

LUIJESMARTH SILVIA PLATA QUINTERO

**Proyecto de grado como requisito para optar
al título de Especialista en Preservación y Conservación
de Recursos Naturales**

**Directora:
YOLANDA GAMARRA HERNÁNDEZ
MSc. Licenciada en Biología**

**UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA SECCIONAL BUCARAMANGA
ESCUELA DE INGENIERÍA
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
ESPECIALIZACIÓN EN PRESERVACIÓN Y CONSERVACIÓN
DE RECURSOS NATURALES
BUCARAMANGA
JUNIO DE 2012**

Nota de aceptación

Presidente del Jurado

Jurado

Jurado

Bucaramanga, Junio 12 de 2012.

Dedicado a Dios, a mis Padres y a Ed.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por brindarme la oportunidad de ser ingeniera, por darme la fortaleza y la sabiduría necesaria para alcanzar otro logro en mi vida.

A mis Padres porque gracias a ellos soy quien soy hoy.

A Bu por estar siempre ahí, en los momentos de flaqueza y en los momentos de alegría, brindándome su amor en cada palabra de aliento.

A la MSc. Yolanda Gamarra, gran amiga, por su trabajo, paciencia, conocimientos, apoyo y consejos.

Mil Gracias...

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
1. OBJETIVOS.....	11
1.1 OBJETIVO GENERAL	11
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
3. JUSTIFICACIÓN.....	14
4. IDENTIFICACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE BIORREMEDIACIÓN UTILIZADAS PARA SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS	15
4.1 Bioaumentación	16
4.2 Bioestimulación.....	17
4.2 Atenuación Natural	17
4.3 Tratamiento sobre el Terreno.....	17
4.4 Compostaje.....	18
4.5 Bioventing (bioventilación)	18
5. SELECCIÓN DE TRES TÉCNICAS DE BIORREMEDIACIÓN CON LOS MEJORES RESULTADOS EN RELACIÓN A REMOCIÓN Y TIEMPO DE ACCIÓN PARA LA REMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS.....	20
6. COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LAS TÉCNICAS SELECCIONADAS	31
7. CONCLUSIONES.....	34
8. BIBLIOGRAFÍA.....	35

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Resumen Antecedentes en Biorremediación	31
Tabla 2. Técnicas de biorremediación seleccionadas.....	33

RESUMEN GENERAL DE TRABAJO DE GRADO

TÍTULO: Evaluación teórica de la remoción y tiempo de acción de tres técnicas de biorremediación, para el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos.

AUTOR(ES): Luijesmarth Silvia Plata Quintero

FACULTAD: Facultad de Ingeniería Ambiental

DIRECTOR(A): Yolanda Gamarra Hernández

RESUMEN

El objetivo de este proyecto fué evaluar teóricamente la remoción y tiempo de acción de tres técnicas de biorremediación, para el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos. Se estableció una metodología en la cual se identificaron todas las técnicas de biorremediación implementadas actualmente. Posteriormente se revisó el estado del arte de cada una de ellas y se seleccionaron las tres técnicas que se compararon: bioventing, bioaumentación y bioestimulación, como consecuencia del análisis y discusión presentan los mejores resultados.

Se compararon los diferentes estudios realizados en las tres técnicas seleccionadas y la bioestimulación es la mejor alternativa de biorremediación, debido a sus altas eficiencias de remoción en un periodo de tiempo corto.

Los resultados obtenidos indican que la mejor opción de tratamiento es la combinación de las tres técnicas seleccionadas para lograr altas tasas de biodegradación de los hidrocarburos en menor tiempo.

PALABRAS CLAVES: Biorremediación, suelos contaminados, hidrocarburos, bioventing, bioaumentación, bioestimulación.

GENERAL SUMMARY OF WORK OF GRADE

TITLE: Theoretic evaluation of the removal and time of action of three bioremediation techniques for the treatment of soils contaminated with hydrocarbons.

AUTOR(S): Luijesmarth Silvia Plata Quintero

FACULTY: Environmental Engineering

DIRECTOR: Yolanda Gamarra Hernández

ABSTRACT

The objective of this project was to evaluate theoretically the removal and time of action of three bioremediation techniques for the treatment of soil contaminated with hydrocarbons. Established a methodology in which we identified all currently implemented bioremediation techniques. Subsequently reviewed the state of the art of each of them and selected three to be compared: bioventing, bioaugmentation and biostimulation as a result of the analysis and discussion presented the best results.

The different studies in the three selected techniques were compared and biostimulation is the best alternative for bioremediation because its high removal efficiencies in a short time.

The results obtained indicate that the best treatment option is the combination of the three selected techniques to achieve high rates of biodegradation of hydrocarbons in less time.

KEY WORDS: bioremediation, contaminated soils, hydrocarbons, bioventing bioaugmentation.

INTRODUCCIÓN

A lo largo de muchos años la explotación petrolífera ha sido una actividad económica desarrollada por el hombre y para beneficio del hombre. En la mayoría de los países contribuye al aumento de su producto interno bruto (PIB), al tiempo que facilita el desarrollo de la vida de los seres humanos, ya que el petróleo y sus derivados son utilizados como materia prima o como combustible en un gran número de bienes y servicios. Sin embargo su producción ha ocasionado múltiples impactos negativos al ambiente en especial al suelo, subsuelo y ecosistemas presentes, por lo que se hace necesario desarrollar tratamientos para la remediación del lugar afectado.

En este estudio se revisaron los antecedentes realizados por diversos autores en el tema de los tratamientos biológicos para suelos contaminado con hidrocarburos de petróleo a nivel mundial y se compararon las tres técnicas con los mejores resultados en términos de eficiencia y tiempo de acción, determinado la mejor alternativa de biorremediación.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

- Evaluar teóricamente la remoción y tiempo de acción de tres técnicas de biorremediación, para el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar las técnicas de biorremediación utilizadas para suelos contaminados con hidrocarburos.
- Seleccionar tres técnicas de biorremediación con los mejores resultados en relación a remoción y tiempo de acción para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos.
- Comparar los resultados de las técnicas seleccionadas teniendo en cuenta la eficiencia y tiempo de acción.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las actividades de explotación de yacimientos petroleros en Colombia, iniciaron en el año 1921 por parte de la empresa americana Troil Oil Company, posteriormente el Estado asumió los activos de esta compañía, dando origen a la Empresa Colombiana de Petróleos (ECOPETROL), hoy ECOPETROL S.A. desde el año 1951, la cual desde entonces controla la mayoría de las labores de exploración, extracción, refinado, transporte y producción de los derivados del petróleo en el país.

El petróleo es una mezcla heterogénea de hidrocarburos insolubles en agua, que es sometida a procesos químicos y físicos en refinerías para obtener diversos productos que sostienen la economía del país. El proceso de producción de combustibles, inicia con la exploración y explotación de los yacimientos de petróleo crudo bajo tierra en los campos petrolíferos, seguido por un proceso de separación de agua-gas-crudo, para su almacenamiento temporal en tanques de capacidad variable; de allí es posteriormente bombeado a las refinerías, donde finalmente es procesado y llevado al consumidor final.

En Colombia, los más importantes descubrimientos de petróleo realizados son: los de La Cira-Infantas, en Barrancabermeja en el año 1918, Chuchupa, en La Guajira desde el año 1974 (este es un yacimiento de gas localizado costa afuera), Caño Limón, en Arauca (el cual inicia producción en el año 1986 y fue descubierto con la OXY) y Cuisiana-Cupiagua, en Casanare (descubierto en el año 1991 con la BP), que abarcan un área de 1.036.400 km², distribuidos en 18 cuencas. El transporte de hidrocarburos se realiza a través de una red de tuberías de 4.184 kilómetros de oleoductos, para transporte de petróleo y 3.952 kilómetros de poliductos para transporte de productos refinados. Las tuberías pueden ser aéreas, sobre puentes colgantes y sobre la superficie, o bajo tierra (subterráneas), cuya profundidad generalmente es de 1,20 o 2,00 metros. Las estaciones de almacenamiento y bombeo son en total 67, distribuidas en 37 para oleoductos y 30 para poliductos. [1]

Actualmente el país cuenta con dos principales refinerías, ubicadas en las ciudades de Barrancabermeja y Cartagena, con una capacidad de refinación promedio de 315 mil barriles de crudo por día, 245 y 70 mil barriles de carga por día respectivamente, con una amplia cobertura en cuanto a demanda de combustibles. En ellas se procesa el crudo, obteniendo como productos derivados

del petróleo, entre otros: gasolina motor corriente y extra, polietileno de baja densidad, gas propano o gas licuado de petróleo, Diesel o A.C.P.M., combustóleo o Fuel-Oil, bencina industrial, gasolina de avión o avigás, turbocombustible, alquitrán, asfaltos, benceno, ciclohexano (nylon), disolventes alifáticos, ortoxileno (resinas y pegantes), queroseno, betún, tolueno, xilenos mezclados (veneno), negro de humo, azufre, detergentes, parafina y lubricantes. [1]

La exploración en busca del petróleo, sus procesos de almacenamiento, transporte y refinación, han generado grandes impactos negativos en los ecosistemas, de los cuales, el suelo es uno de los más afectados y menos remediados comparado con el agua y el aire. La contaminación es ocasionada por la intrusión del crudo y sus derivados al suelo, por diferentes fuentes tales como: posibles fugas en tuberías subterráneas o aéreas, averías en los pozos de extracción, actividades terroristas, fisuras en tanques de almacenamiento o accidentes en la extracción, manejo y transporte del mismo.

Los hidrocarburos impiden el intercambio gaseoso del suelo con la atmósfera, iniciando una serie de procesos físico-químicos simultáneos, como evaporación y penetración, que dependiendo del tipo de hidrocarburo, temperatura, humedad, textura del suelo y cantidad vertida pueden ser procesos más o menos lentos, lo que ocasiona una mayor toxicidad [2]

Adicionalmente se consideran sustancias tóxicas y carcinogénicas, porque tienen la capacidad de alterar las diferentes células, tejidos u órganos de los seres vivos, y por su naturaleza hidrófoba y su impermeabilidad respecto al oxígeno, por consiguiente cuando recubren los organismos, éstos mueren por asfixia. Análogamente las áreas contaminadas del ambiente experimentan empobrecimiento en oxígeno, perturbando el ecosistema existente en el suelo y alterando sus procesos vitales. [2]

Qué técnicas de biorremediación se han evaluado, para la recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos?

3. JUSTIFICACIÓN

Todas las acciones encaminadas a mitigar los impactos ocasionados por los múltiples derrames de petróleo al entorno y en especial al suelo, son prioridades que deben ser atendidas, no solo por los causantes directos y las comunidades o personas involucradas en las áreas de influencia directas e indirectas, sino por comunidades científicas, instituciones ambientales y educativas.

Cuando un suelo es contaminado con hidrocarburos, no sólo el ecosistema del lugar es alterado, sino también, el aledaño y el de los cuerpos de agua superficiales y subterráneas, provocando graves daños en la microbiota, fauna y flora característicos de cada uno, los cuales contribuyen en los ciclos del nitrógeno, azufre, fósforo, carbono y oxígeno, vitales para la humanidad.

Teniendo en cuenta lo anterior, se resalta la importancia en profundizar los conocimientos en las técnicas de biorremediación para compilar experiencias realizadas para posteriormente contribuir a la decisión de la técnica por su conveniencia es la más adecuada para implementarla en el suelo contaminado, mitigando el impacto negativo causado al ambiente.

4. IDENTIFICACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE BIORREMEDIACIÓN UTILIZADAS PARA SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS

La biorremediación es un tratamiento en el cual se aprovecha la capacidad de los organismos vivos para degradar los compuestos químicos orgánicos en sustancias menos tóxicas. Las plantas y los microorganismos especialmente las bacterias y hongos del suelo, metabolizan los compuestos orgánicos como fuente de alimento debido a que contienen carbono, o también los co-metabolizan convirtiéndolos en otras sustancias que no necesariamente son fuente de energía, producto de su proceso bioquímico. Los microorganismos viven a determinadas condiciones de temperatura, pH, humedad, nutrientes, presencia o ausencia de oxígeno, debido a lo anterior son diversos los factores que se deben controlar para que sea exitoso el tratamiento, para lo cual se recomienda realizarlo *ex situ* en biorreactores especialmente diseñados para mantener las condiciones óptimas de crecimiento de los microorganismos. Los biorreactores son recipientes herméticos en los cuales se deposita el suelo contaminado a las condiciones determinadas para la bacteria o el consorcio microbiano. Los nutrientes pueden ser agregados, la temperatura, aireación y concentración del contaminante pueden fácilmente ser controladas hasta su finalización. [3]

La biorremediación es una alternativa muy común de remediación de sitios contaminados con hidrocarburos de petróleo y ha sido definida como un proceso controlado o espontáneo, en el cual mediante procesos biológicos, especialmente microbianos, los componentes del contaminante son catalizados. [4]

Adicionalmente, incluye un rango de técnicas y/o tecnologías de remediación del ambiente que fueron introducidas en los años 80's y 90's; desde entonces sus aplicaciones han crecido rápidamente por el mundo entero. En décadas recientes, la biorremediación se ha convertido en una de las alternativas más comunes usadas para remediar sitios contaminados con hidrocarburos de petróleo. Las tecnologías de biorremediación son atractivas porque ofrecen el potencial de ahorro de costos significativo, en comparación con las tecnologías "convencionales" de recuperación, tales como excavación y disposición en vertederos, excavación y tratamiento térmico, y bombeo y tratamiento. Los defensores de estas tecnologías han sostenido que las técnicas de remediación biológicas son más seguras y menos perjudiciales que muchas de las otras tecnologías "convencionales". [4]

Las técnicas del tratamiento objeto de estudio, aceleran la reducción o eliminación de contaminantes a través de la modificación del ambiente. Las tecnologías pasivas de biorremediación hacen uso del proceso natural de biodegradación en el suelo y agua subterránea. La biorremediación “*ex situ*” involucra excavación del suelo contaminado para tratarlo fuera del sitio, por otro lado la biorremediación “*in situ*” proporciona la remediación del suelo contaminado en el mismo lugar. [5]

Las diferentes alternativas de la biorremediación, son incorporadas también en procesos físicos y químicos junto con procesos biológicos. La bioestimulación y bioaumentación son tecnologías activas de biorremediación que pueden ser aplicadas bajo ambas condiciones, *ex situ* o *in situ*. Esto implica la adición de nutrientes esenciales para mejorar la población natural microbiana existente (bioestimulación) o la adición de un cultivo de bacterias específica para degradar hidrocarburos (bioaumentación). Adicionalmente, existen diversos factores específicos del sitio, que pueden afectar el proceso de biodegradación, tales como: presencia de la población microbiana degradadora de hidrocarburos, composición química de la fuente de carbono, viabilidad del oxígeno u otros aceptores de electrones, suministro de nutrientes, presencia de químicos tóxicos o inhibidores, y características geológicas e hidrogeológicas del suelo. [4]

4.1 Bioaumentación

Es una alternativa de biorremediación de suelos, en la cual se adiciona un consorcio de bacterias específico en número y especie, para mejorar el proceso natural de degradación del medio contaminado. Durante los últimos años, los compuestos contaminantes como insecticidas, hidrocarburos y una gran variedad de químicos orgánicos tóxicos, han sido remediados exitosamente usando la bioaumentación. [6]

La bioaumentación tiene ventajas sobre las otras técnicas de biorremediación como su proceso inmediato de degradación cuando se agrega la población microbiana al suelo, mientras que la bioestimulación implica retrasos en el proceso debido a la adaptación de los microorganismos a los nutrientes adicionados, la propagación de la población microbiana y también que los nutrientes no son específicos para estimular su crecimiento. Igualmente, esta alternativa actúa mejor usando microorganismos inoculados del mismo ambiente, o nativos del suelo, debido a que tienen más posibilidades de sobrevivir y de propagarse cuando son reintroducidos en el sitio. [6]

4.2 Bioestimulación

Es la introducción de nutrientes que estimulan el crecimiento de los microorganismos nativos del suelo para mejorar el proceso biológico de remediación. En la bioestimulación se modifica el ambiente de las bacterias presentes en el suelo, adicionando compuestos que otorgan energía como el fósforo, nitrógeno o carbono para estimular la producción de enzimas que remueven los contaminantes. Una ventaja de éste método sobre la bioaumentación es que la degradación es realizada por todos los microorganismos nativos del suelo que están bajo las mismas condiciones y distribuidos por toda el área afectada. Una desventaja son las características físico-químicas del suelo y las condiciones climáticas del lugar, debido a que limitan la infiltración de los nutrientes. [7]

4.3 Atenuación Natural

Es el proceso de disminuir la contaminación, implementando mecanismos naturales sin realizar ninguna intervención o modificación de las condiciones propias del suelo. La atenuación natural depende de los procesos físicos, químicos y biológicos de degradación característicos del suelo contaminado, y las propiedades del contaminante, factores que deben ser continuamente monitoreados para determinar el nivel de remediación. Es un método muy lento lo que significa una desventaja sobre la biorremediación y por tanto en la mayoría de los casos se combinan esta técnica con otra también de carácter biológico. [7]

4.4 Tratamiento sobre el Terreno

Es la aplicación del suelo contaminado sobre el terreno donde se encuentra en proporciones controladas, mezclándolos con la capa superficial del suelo y estimulando los procesos naturales físicos, químicos y biológicos existentes en el suelo para la degradación e inmovilización de los constituyentes del suelo. Para estimular el crecimiento bacteriano y la degradación de los contaminantes, se deben realizar una serie de operaciones tales como, ajuste de pH, aireación, adición de nutrientes, control de la humedad y mezcla constante del suelo. Esta técnica tiene como fundamento las prácticas agrícolas y debido a ello en ocasiones se le denomina “cultivo agrícola”, pero sin cultivar ninguna especie agrícola debido a que éstos pueden asimilar los constituyentes tóxicos. [8]

4.5 Compostaje

Es el proceso en el cual se convierten los compuestos orgánicos contaminantes en materiales húmicos bajo ambientes aerobios o anaerobios. La degradación tiene lugar a determinadas condiciones tales como: altas temperaturas, pH óptimo, consorcio de microorganismos apropiado, nutrientes y humedad necesarios. Es un tratamiento que debe realizarse *ex situ*, ya sea en hileras, pilas estáticas o reactores cerrados. [8]

- **Hileras:** En esta técnica los residuos y las sustancias orgánicas se mezclan y se apilan en largas filas, realizando un volteo periódico, una o dos veces por semana, o incluso diariamente, permitiendo la aireación de la mezcla, la liberación del exceso de calor y la liberación de los volátiles. [8]
- **Pilas estáticas:** Es similar a la técnica en hileras excepto que las pilas no se voltean. En su lugar, al construir las pilas encima de una red de tuberías perforadas, el aire es mecánicamente extraído o forzado, a través de las pilas, utilizando un sistema de aire al vacío o forzado. [8]
- **Reactor cerrado:** El proceso de compostaje se puede optimizar si se realiza un reactor cerrado, debido a que se completa sólo en tres días, comparado con los treinta días del proceso en hileras. Igualmente, facilita el control de las emisiones de los compuestos volátiles mediante sistemas de recolección del aire de la parte superior del compostaje o por un sistema de extracción. [8]

4.5 Bioventing (bioventilación)

Es una técnica de remediación de suelos aplicada *in situ* que estimula las bacterias nativas que degradan los compuestos orgánicos contaminantes debido a la inyección de aire u oxígeno a través de la zona vadosa del suelo. El sistema está compuesto por pozos de inyección y extracción de aire, y si es necesario de un sistema de inyección de nutrientes. Entre sus ventajas se destacan: cortos periodos de tiempo de tratamiento, generalmente de seis meses a dos años, bajos costos de implementación, facilidad del montaje del sistema, poca alteración del lugar de operación y además se puede realizar en áreas inaccesibles como bajo las estructuras. Entre las desventajas del bioventing están su inaplicabilidad en suelos con baja permeabilidad y altos contenidos de arcilla, también inicialmente las concentraciones de oxígeno pueden ser tóxicas para los microorganismos nativos. En general es una técnica que abarca un amplio rango de contaminantes

y que es efectiva para aquellos que se no se volatilizan fácilmente y persisten en los poros del suelo. [9]

Para realizar la inyección de aire se deben tener en cuenta los siguientes factores: permeabilidad del suelo: alta; presencia de microorganismos: >1000 UFC/g de suelo seco; pH del suelo: 6 – 8; presencia de humedad; temperatura entre 10°C y 45°C apropiada para el crecimiento microbiano; presencia de nutrientes en relación carbono, nitrógeno, fósforo de 100:10:1 a 100:1:0.5 apropiados para la actividad bacteriana. [9]

La tasa de oxigenación es un parámetro importante al momento de diseñar el sistema de bioventing debido a la biodegradación aeróbica que utiliza el oxígeno como aceptor de electrones. Para el tratamiento de hidrocarburos se recomienda suministrar entre 3.0 y 3.5 libras de oxígeno por cada libra de hidrocarburo presente en el suelo. La cantidad mínima de aire usualmente es el volumen de aire que utilizan los microorganismos nativos para mejorar el proceso de degradación aeróbica [8].

5. SELECCIÓN DE TRES TÉCNICAS DE BIORREMEDIACIÓN CON LOS MEJORES RESULTADOS EN RELACIÓN A REMOCIÓN Y TIEMPO DE ACCIÓN PARA LA REMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS

Bento F., *et al.* (2005), realizaron una investigación en la cual comparaban tres técnicas de biorremediación para un suelo contaminado con hidrocarburos: atenuación natural, bioestimulación y bioaumentación, durante 12 semanas. Las muestras de suelo se colocaron en tazas de aluminio y fueron cubiertas con papel aluminio para mantener la temperatura apropiada. Se agregaron los nutrientes y las cepas bacterianas a cada tratamiento correspondiente y el suelo esterilizado al control. La atenuación natural resultó el mejor tratamiento para el suelo de Hong – Kong, y la bioaumentación el mejor tratamiento para el suelo de California. La bioestimulación no resultó un tratamiento efectivo debido a las relaciones Carbono/Fósforo y Carbono/Nitrógeno del suelo eran más pequeñas que las requeridas por las bacterias. [10]

Ayotamuno M.J., *et al.* (2007), realizaron una investigación en la cual se remediaban lodos con hidrocarburos que contaminaban el suelo, mediante tratamiento de bioaumentación, durante seis semanas. Se identificaron, aislaron e incubaron las cepas microbianas *Bacillus* y *Pseudomonas* las cuales se adicionaron a tres reactores, uno con *Bacillus*, el otro con *Pseudomonas*, y el tercero con un cultivo mixto de ambas cepas. Un cuarto reactor correspondía a suelo esterilizado identificado como control. Los resultados fueron: mayor degradación en el reactor con cultivo mixto, alcanzando un porcentaje de remoción del contenido de hidrocarburos del 84.5%. Las *Pseudomonas* presentaron los mejores porcentajes de remoción en comparación con las *Bacillus*, lo cual indica que posiblemente sea la mejor cepa degradadora de hidrocarburos, analizadas en este estudio. [11]

Pérez R., *et al.* (2007), realizaron el aislamiento y selección de una cepa bacteriana degradadora de hidrocarburos a partir de suelos contaminados con petróleo en Cuba, mediante un aislamiento realizado por enriquecimiento secuencial utilizando petróleo como única fuente de carbono y energía para adaptarlas e identificar cual era la más resistente. Todas las cepas mostraron crecimiento, siendo *Pseudomonas aeruginosa* la de mayor crecimiento, capaz de utilizar una enorme variedad de compuestos orgánicos como sustratos para

crecer, capacidad que le permite colonizar nichos y ambientes inhóspitos en los que son escasos los nutrimentos que otros organismos no pueden asimilar. [12]

Arrar J., *et al.* (2007), estudiaron la biorremediación de suelos contaminados con diesel en un reactor de lecho fluidizado a presión, para la estimulación de microorganismos degradadores de petróleo. Los experimentos se llevaron a cabo usando diferentes tasas de aireación y/o flujo de aire a presión y consecuentemente se mezclaron varias tasas para investigar su influencia en los porcentajes de biodegradación y de remoción. El contenido de diesel decreció rápidamente en todos los experimentos en los primeros siete días, con diferentes porcentajes de remoción. La presencia de la presión a chorro, favoreció el intercambio de partículas, transferencia entre las diversas fases presentes, acelerando el proceso de remoción del diesel. También, la influencia de la aireación pareció insignificante comparado con la del chorro. La relación entre la remoción y la biodegradación varió del 69% al 99%, y del 54% al 84% respectivamente, durante los 15 días de tratamiento. La mejor biodegradación fue del 84% ocurrida en el caso de la expansión del lecho con una mínima fluidización, operando el chorro a una velocidad de 37 m/s y regida por una cinética de primer orden. Los flujos de aire importantes mejoraron la eficiencia de la remoción de diesel. [13]

Gogoi B.K., *et al.* (2002), realizaron estudios a escala laboratorio y campo-piloto acerca de la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo en los campos de petróleo de Borhola, Assam, (India). Los efectos de aireación, la adición de nitrógeno y fósforo, y la inoculación de un consorcio microbiano foráneo en el proceso de biorremediación fueron investigados. Los beneficios de estos parámetros en la tasa de biorremediación fueron analizados por igual a escala de laboratorio y a escala campo-piloto. Los estudios de campo revelaron que más del 75% de los hidrocarburos contaminantes fueron degradados en el plazo de un año, indicando la viabilidad del desarrollo de un protocolo de biorremediación. Un estudio complementario de simulación computarizada se llevó a cabo para mejorar la comprensión de los procesos básicos y la tasa de biorremediación. Las simulaciones indicaron que debido a las altas concentraciones iniciales de contaminante, el proceso de biorremediación fue restringido principalmente a los macroporos del sistema en el plazo de un año y no penetró lo suficiente en los agregados del suelo. [14]

Jung H., *et al.* (2005), investigaron los efectos de la oxidación química en columnas experimentales de suelo en campo, contaminado con diesel de petróleo,

evaluando la supervivencia de las bacterias nativas tales como: bacterias heterótrofas, bacterias degradadoras de fenantreno y bacterias degradadoras de alcanos. El decrecimiento rápido de los hidrocarburos totales de petróleo (TPH) y aromáticos del diesel, fue observado en los primeros 60 minutos de la inyección de ozono; después de 60 minutos, los TPH y los aromáticos decrecieron asintóticamente con la ozonización. Los tres tipos de bacterias nativas analizadas, fueron muy sensibles al ozono en la columna experimental de suelo, por lo tanto la población microbiana decreció exponencialmente con el periodo de ozonización. Los números de bacterias heterótrofas, bacterias degradadoras de alcanos y degradadoras de fenantreno fueron reducidos de 10^8 a 10^4 , de 10^7 a 10^3 , y 10^6 UFC por gramo de suelo, respectivamente, por debajo del límite de detección después de 900 minutos de ozonización. A excepción de la muestra de suelo para ozonización durante 900 minutos, la incubación de las muestras de suelo ozonizadas que no fueron limitadas por la difusión de oxígeno, mostró una mayor remoción de TPH. Las muestras de suelo que fueron ozonizadas durante 180 minutos, exhibieron la más baja concentración de TPH y la más alta tasa de recrecimiento de la población de los tres tipos de microorganismos tratados durante las 9 semanas de incubación. [15]

Mills M., *et al.* (2004), evaluaron la eficiencia de la biorremediación del suelo que se encuentra alrededor de un humedal cerca a Houston, Texas. Se implementaron tres condiciones de tratamiento correspondientes a la adición de nutrientes inorgánicos solamente, nutrientes inorgánicos combinados con un aceptor de electrones y el control o testigo. El estudio comprendió un periodo de 140 días y sus resultados demostraron estadísticamente que los dos tratamientos de bioestimulación realizaron un tratamiento con tasas de biodegradación más altas comparadas con el control. El nutriente inorgánico utilizado era un fertilizante comercial, el aceptor de electrones era nitrato de potasio y semanalmente se agregaba al suelo para mantener las cantidades establecidas y lograr la degradación del contaminante. Los mejores resultados se presentaron en el tratamiento con nutrientes inorgánicos solamente. [16]

Sarkar D., *et al.* (2004), compararon dos métodos de bioestimulación incubados en el laboratorio con la atenuación natural, monitoreando la degradación de TPH en un suelo arcilloso contaminado con diesel con bajos contenidos de carbono. Un método utilizó fertilizantes inorgánicos de rápida liberación, ricos en Nitrógeno y Fósforo, y el otro utilizó biosólidos de liberación lenta provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales en Largo, Florida, a los cuales se les adicionó carbono, nitrógeno y fosforo. Después de ocho semanas de incubación, ambos

métodos de bioestimulación degradaron aproximadamente el 96% de TPH comparados con la atenuación natural la cual degrado 93.8%. Los resultados indican que la adición de biosólidos es más efectiva que la aplicación de fertilizantes como método de bioestimulación, debido a la habilidad de los biosólidos como suplemento de carbono y también que después de una semana, la población microbiana en el suelo combinado con el fertilizante, descendió considerablemente, por una posible toxicidad que produjo acidez y exceso de amoníaco. [17]

Alisi C., *et al.* (2009), estudiaron la viabilidad de un tratamiento de bioaumentación fundamentada en la implementación de una fórmula microbiana adaptada de una cepa nativa en un suelo contaminado con metales pesados y diesel, proveniente de un área metalúrgica en Nápoles, Italia. La fórmula, denominada ENEA-LAM, combina diez cepas bacterianas seleccionadas entre la población bacteriana nativa, para la resistencia múltiple a los metales pesados. El proceso de biodegradación del diesel se realizó en unos matraces biométricos, monitoreando los parámetros tales como, composición del diesel, la tasa de evolución del dióxido de carbono, la carga microbiana y la composición de la comunidad, el perfil fisiológico y la ecotoxicidad del sistema. La adición de la fórmula microbiana produjo, en presencia de metales pesados, una degradación completa del C₁₂₋₂₀, una total eliminación del fenantreno, una reducción del 60% de isoprenoides y una reducción mayor del 75% del total de los hidrocarburos del diesel en 42 días. De igual forma, con el aumento de la actividad metabólica, el nivel de la comunidad y la carga microbiana, se observó una disminución gradual de la ecotoxicidad. Este enfoque de bioaumentación permite que la comunidad microbiana recientemente creada, establezca un equilibrio entre la cepa introducida y los microorganismos presentes de forma natural. Los resultados indican que la formula microbiana adaptada permite un rápida y eficiente biorremediación en suelos co-contaminados con hidrocarburos y metales pesados. [6]

Godoy-Faúndez A., *et al.* (2007), estudiaron la técnica de compostaje para biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos provenientes del desierto del Atacama en Chile, a los cuales se les agregó aserrín con el fin de estabilizar y absorber el contaminante. Posteriormente la legislación chilena estableció que esa mezcla se consideraba como material peligroso y por tanto debía ser almacenado. En este estudio se evaluó la factibilidad del compostaje en contenedores con aireación continua (16 L/min), a escala de laboratorio, variando la relación entre el suelo y el aserrín (1:0, 3:1, 1:1, 1:3, 0:1), manteniendo la humedad constante (50%), la temperatura entre 30 – 40°C, durante un periodo de

56 días. La remoción más alta obtenida fue de 59% en el reactor que contenía solamente aserrín y la más baja de 35% en el reactor que contenía únicamente suelo, indicando la importancia de encontrar la relación suelo/aserrín más apropiada, el tiempo de tratamiento e interacción de los dos componentes de la mezcla y el balance adecuado de nutrientes. [18]

Xu Y., *et al.* (2010), compararon la bioestimulación con fertilizantes inorgánicos y la bioaumentación utilizando bacterias nativas para la remediación de un suelo contaminado con crudo de petróleo, durante 12 semanas. Para lograr la remoción del hidrocarburo se implementó cáscara de maní en polvo como material de soporte de las bacterias nativas degradadoras de petróleo. El montaje experimental consistía en el tratamiento A (suelo), tratamiento B (suelo y una solución de bacterias), tratamiento C (suelo y cáscara de maní en polvo pero sin inmovilización de las células bacterianas) y tratamiento D (suelo y cáscara de maní en polvo con inmovilización de células bacterianas), todos los tratamientos contenían fertilizante inorgánico. Los mejores resultados se obtuvieron en el tratamiento D, con eficiencias de remoción del 61%, seguido del tratamiento C con remociones del 38%, demostrando que la adición de la cáscara de maní en polvo mejora la biodegradación de los hidrocarburos de petróleo. Sin embargo se establece que la bioaumentación con bacterias nativas inmovilizadas en un medio de soporte como la cáscara de maní en polvo es la mejor opción de tratamiento, ya que el uso de un medio poroso facilita la difusión del oxígeno, garantiza la presencia de nutrientes, mejora la tasa de transferencia de masa de agua, oxígeno, nutrientes, hidrocarburos y los microorganismos. [19]

Magalhaes S., *et al.* (2009), analizaron la técnica de biorremediación denominada bioventing, la transformaron en la técnica de extracción por vapor, mediante la inyección de un caudal grande de aire que estimuló la volatilización de los gases contaminantes los cuales fueron extraídos y tratados en un biofiltro percolador cuyo material de soporte era grava, reduciendo el tiempo de tratamiento de la técnica bioventing. El montaje experimental estaba comprendido por el biorreactor 1 correspondiente al control sin adición de aire, el biorreactor 2 correspondiente a la inyección de aire sin posterior tratamiento, y el biorreactor 3 correspondiente a la paso de aire por el medio poroso con tratamiento de la salida de gases en el biofiltro percolador, el cual contiene en su material de soporte un inoculo de bacterias degradadoras de tolueno y un circulación continua de medio mineral. Con una humedad del 10% del peso del suelo, presencia de tolueno a dos diferentes concentraciones y 14 mg de suelo, se obtuvieron resultados exitosos de remoción del 99% después de un periodo de 5 días de tratamiento. [20]

Chang W., *et al.* (2010), investigaron la técnica de tratamiento sobre el terreno o “*landfarming*” en regiones sub-árticas. La temperatura atmosférica cambia durante el verano lo que ocasiona fluctuaciones en la temperatura de la superficie del suelo y subsuelo. El objetivo principal de este estudio fue la comparación de la tasa de biodegradación de hidrocarburos de petróleo en sitios con temperaturas variables entre 1 y 10 °C. La biodegradación fue determinada en experimentos de *landfarming* a escala piloto, bajo las diferentes variaciones de temperatura del lugar y durante 60 días. La reducción de los hidrocarburos totales de petróleo (TPH) a diferentes temperaturas, fue del 55% comparado con el 19% a temperatura constante. La biodegradación se vio favorecida por la aceleración no lineal de la actividad microbiana entre 4.7 y 10°C y el rápido crecimiento de las poblaciones microbianas nativas degradadoras de petróleo. [21]

Wang X., *et al.* (2012), evaluaron la bioestimulación de los microorganismos nativos de un suelo contaminado con lodos antiguos de petróleo. Se construyeron cuatro biopilas para determinar la biodegradación de los hidrocarburos totales de petróleo (TPHs) mediante la adición de un agente *bulking* que cumple con la función de mejorar la estructura porosa de los lodos de petróleo a la vez que le proporciona alimento a los microorganismos presentes en el suelo; En este estudio se implementó el tallo del algodón, residuo abundante en la región de China y la adición de nutrientes (nitrógeno, urea y dihidrógeno fosfato de potasio). Tres diferentes tratamientos de bioestimulación fueron implementados en tres de las cuatro biopilas, los cuales fueron: el tratamiento BN correspondiente a la adición del agente *bulking* y los nutrientes, el tratamiento B correspondiente a la adición del agente *bulking* solamente y el tratamiento N correspondiente a la adición de los nutrientes solamente. La cuarta biopila correspondió al control o testigo sin tratamiento alguno. La actividad metabólica microbiana y la diversidad y el número de dos especies de bacteria mejoraron significativamente por la adición del agente *bulking*, y por el contrario la adición de una gran cantidad de nutrientes inhibe el efecto en los microorganismos, después de 220 días se presentaron porcentajes de remoción de TPH del 49.62% proporcionando resultados para futuras investigaciones de remediación de suelos. [22]

Gong X. (2012), estudió la bioestimulación de los microorganismos nativos de un suelo erosionado y contaminado con crudo de petróleo, mediante la adición de cascara de maní como agente *bulking*, a escala de laboratorio. También se le aplicó una modificación de la oxidación del Fenton, usando Fe(III) quelado con ácido nitriloacético como catalizador. El montaje experimental consistía en el tratamiento A correspondiente al control, el tratamiento B correspondiente al

tratamiento con nutrientes solamente y el tratamiento C correspondiente al tratamiento con nutrientes y el fenton modificado. Los resultados mostraron después de 20 semanas de tratamiento, una reducción de los hidrocarburos totales de petróleo (TPH) del 88.9% comparado con el 55.1% observado en el tratamiento biológico. [23]

Li X., *et al.* (2012), evaluaron la bioestimulación de un suelo contaminado con hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH), adicionando un sustrato de cultivo de hongos (MCS). Después de 60 días de incubación, el 32.9% de los PAHs fue removido en el suelo enmendado con el MCS. Se observó un incremento significativo en la abundancia de la composición de las comunidades de hongos y de bacterias degradadoras de hidrocarburos aromáticos. Dos especies procedentes de los Sordariomycetes de los Ascomycota fueron enriquecidas por sustrato para el cultivo de hongos agregado a todos los tratamientos del suelo. Adicionalmente, se adicionó alfalfa y la especie de hongo *Pleurotus ostreatus* para observar el comportamiento en las diferentes condiciones experimentales analizadas. El tratamiento CK, correspondía al control; el tratamiento S, correspondía a la adición del sustrato de hongos; el tratamiento SP, correspondía a la adición del sustrato de hongos y el hongo de la especie *Pleurotus ostreatus*; el tratamiento SPA, correspondía a la adición del sustrato de hongos, el hongo *Pleurotus ostreatus* y alfalfa; y el tratamiento A, correspondía a la adición de alfalfa únicamente. La remoción de los PAHs resultó inhibida por la alfalfa en ambos tratamientos. Este estudio sugiere que el sustrato de hongos puede ser una alternativa verde de biorremediación de suelos contaminados con PAH. [24]

Teng Y., *et al.* (2009), estudiaron en un microcosmos el potencial de biorremediación de una cepa de *Paracoccus sp.* HPD – 2 en un suelo contaminado con PAH. La bioaumentación demostró una reducción del 23.2% de la concentración de PAH total en el suelo después de 28 días de tratamiento. Fueron monitoreados el crecimiento de las bacterias degradadoras de PAH, la biomasa microbiana y la actividad enzimática, en tres diferentes tratamientos los cuales eran: microcosmos con bioaumentación, correspondiente a la adición de la cepa *Paracoccus sp.* HPD – 2, el microcosmos con bioestimulación, correspondiente a la adición de una cepa inoculada esterilizada y el microcosmos control, con suelo esterilizado. El microcosmos bioaumentado presentó una restauración del funcionamiento microbiológico del suelo contaminado. Los resultados obtenidos sugieren que la bioaumentación de la cepa *Paracoccus sp.*

HPD – 2, puede ser una estrategia prometedora en la biorremediación de suelos contaminados con PAH. [25]

Colombo M., *et al.* (2010), verificaron la efectividad de la cepa *Sphingobium chlorophenolicum* CR3 en la degradación de fenantreno en suelo de uso agrícola contaminado con metales e hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs). La presencia de los PAHs produce interacciones que pueden incrementar o disminuir la tasa de utilización del fenantreno por la cepa CR3 y por la flora microbiana nativa. La biodegradación del cadmio, arsénico y los PAHs, mejoro con la bioaumentación. La cepa CR3 persistió en el microcosmos inoculado dejando fuera de competencia a las cepas nativas del suelo. Los resultados indican la aplicabilidad de la cepa *Sphingobium chlorophenolicum* CR3 en la biorremediación de suelos contaminados con fenantreno únicamente o con PAHs, cadmio y arsénico. [26]

Liu C., *et al.* (2010), estudiaron en un biorreactor con aireación y ajustes de pH, la degradación del diesel y el petróleo crudo con la cepa *Rhodococcus erythropolis* NTU-1 que degrada un rango de C10 – C32 en los *n*-alcanos de estos dos compuestos. En cultivos tipo *batch* o discontinuos, con 10000 ppmv de diesel o crudo, fue removido aproximadamente el 90% del petróleo en un periodo de 4 días (30% de biodegradación y 60% de biosorción). En los biorreactores con aireación y ajuste de pH, con un suministro intermitente de 42000 ppmv de *n*-hexadecano, se removió aproximadamente el 87% en un periodo de 4 semanas (24% de biodegradación y 63% de biosorción), y con un suministro intermitente de 35000 ppmv de diesel o crudo resultó una remoción de más del 90% en un periodo de 2 semanas (20% de biodegradación y 74% de biosorción). Los resultados demostraron la factibilidad de la cepa *Rhodococcus erythropolis* NTU-1 para la biorremediación de sitios contaminados con derrames de petróleo. [27]

Beskoski V., *et al.* (2011), realizaron la biorremediación de un suelo contaminado con *mazut* (residuos pesados de petróleo), *ex – situ* y a escala de campo, implementando la técnica de bioestimulación, combinada con bioaumentación. Se dispusieron de biopilas de 0.4 m de profundidad, a las cuales se adicionaron el inoculo de bacterias aisladas del mismo suelo y los nutrientes (N, P y K), mezclando mecánicamente el suelo con madera blanda, aserrín y arena de río. La aireación fue mejorada con una mezcla sistemática y las biopilas fueron cubiertas con polietileno para protegerlas de agentes externos; adicionalmente, se realizó una biopila de control con material sin inocular y sin nutrientes. La bioestimulación y la re-inoculación con microorganismos zimógenos, incrementaron el número de

hidrocarburos degradados después de 50 días de tratamiento. Transcurridos 5 meses, el contenido de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) se redujo al 6% del valor inicial, de 5.2 a 0.3 g/kg de peso seco, comparado con el control del 90% del valor inicial. Después de 150 días se presentaron reducciones del 96%, 97% y 83% de alifáticos, aromáticos y las fracciones de nitrógeno-azufre-oxígeno y asfaltenos, respectivamente. Los resultados demostraron la viabilidad del primer estudio a escala de campo, de biorremediación de suelos contaminados con *mazut*. [28]

García J., *et al.* (2010), observaron que en los procesos de biorremediación pueden ocurrir cambios en la biodisponibilidad y en el metabolismo, surgiendo la necesidad de evaluar la ecotoxicidad de los contaminantes del suelo para estimar el riesgo de los receptores ecológicos. En este estudio se evaluó la ecotoxicidad de un suelo contaminado artificialmente con fenantreno (1000 mg/kg de suelo) mediante la técnica bioventing. Se realizó el montaje experimental en columnas de vidrio con 5.5 kg de suelo contaminado y sin contaminar (control), durante un periodo de 7 meses. Las condiciones óptimas de mineralización determinadas previamente fueron: humedad del 60% y relación C/N/P = 100:20:1. La evolución del oxígeno consumido, producción de dióxido de carbono, concentración de fenantreno y toxicidad del suelo fueron estudiados en las columnas por un periodo de 0, 3 y 7 meses. En el tratamiento óptimo de bioventing, se presentó una reducción de la tasa de fenantreno mayor al 93% después de 7 meses de tratamiento. La toxicidad residual al final del tratamiento no se le atribuyó a las concentraciones bajas de fenantreno pero si al amonio utilizado para restaurar el ratio óptimo C/N. [29]

Mao J., *et al.* (2012), realizaron la biorremediación de un suelo contaminado con PAH mediante un consorcio de bacterias enriquecido del mismo suelo. Transcurridos 56 días del tiempo experimental, el 20.2% y el 35.8% del total de los PAHs fue removido del suelo con la adición del 10% y el 20% del consorcio bacteriano en suspensión. La población microbiana del suelo incremento al comienzo del proceso pero decreció al final del experimento. Las bacterias dominantes encontradas correspondían a los grupos Sphingobacteria y Proteobacteria. Los resultados demostraron que la incubación con un consorcio bacteriano es un método eficiente para la remediación de suelos contaminados con PAH. [30]

Liu P., *et al.* (2011), investigaron la biodegradación de los hidrocarburos de petróleo (14000 mg/Kg) en seis biopilas tipo *batch* con tres diferentes estrategias

de remediación: bioaumentación (adición de un consorcio microbiano seleccionado y residuos de cocina), bioestimulación (adición de un biosurfactante raminolípido y nutrientes en altos y bajos niveles) y bioaumentación mas bioestimulación (adición del biosurfactante y el consorcio bacteriano). Las eficiencias de degradación más altas se presentaron en la biopila con residuos de cocina y bajo contenido de nutrientes (>80%), en un periodo de 140 días. Los análisis demostraron que la bioaumentación es una de las técnicas más efectivas de biorremediación para compuestos aromáticos. [31]

Hong S., *et al.* (2011), desarrollaron un modelo numérico en dos dimensiones para simular el flujo, transporte y biodegradación del tolueno durante el tratamiento de la zona no saturada de un suelo contaminado mediante la técnica de bioventing. La simulación para un pozo del sistema de bioventing, se utilizó para ilustrar el efecto de la tasa de inyección de aire en la eficiencia de remediación, creando una presión positiva en la zona vadosa. Los resultados presentaron que la tasa de inyección de aire es el primer factor que influye sobre la dispersión, redistribución y pérdida de la superficie del contaminante. Las tasas de inyección fueron para el experimento 1 de 81.504 m³/d y para el experimento 2 de 407.52 m³/d, y el total de tolueno removido fue de 169.14 Kg y 170.59 Kg y las remociones fueron de 84.75% y 80.41%, respectivamente, en un periodo de tiempo de 200 días. Este estudio demostró la minimización de costos y la optimización de la demanda de oxígeno con la inyección de aire en la zona no saturada de suelos contaminados con tolueno. [32]

Tahhan R., *et al.* (2011), investigaron el efecto de una inoculación sucesiva con bacterias degradadoras de hidrocarburos en la dinámica de la degradación de los hidrocarburos de petróleo. Fueron aislados del suelo y del lodo contaminado dos consorcios de bacterias compuestos de degradadoras de alcanos y de hidrocarburos aromáticos policíclicos. El inoculo microbiano fue agregado a un microcosmos incubado, en una dosis al inicio del proceso, o en dos dosis al comienzo y en el día 62 del periodo de incubación, que duró 198 días. La mineralización del carbono fue evaluado por pruebas respirométricas y el contenido de hidrocarburos totales de petróleo gravimétricamente por medio de extracción del suelo. La dosis del consorcio bacteriano incrementó en más del 30% la remoción de los TPH del suelo. [33]

Karamalidis A.K., *et al.* (2011), evaluaron la biorremediación de un suelo contaminado con petróleo a escala de laboratorio, utilizando tres alternativas de tratamiento, la primera comprende bioestimulación de los microorganismos

nativos, la segunda corresponde a la combinación de la bioestimulación de los microorganismos nativos y la bioaumentación por medio de un inoculo con tres células libres degradadoras de petróleo de la cepa *Pseudomonas aeruginosa*, y la tercera fue una variación de la segunda, en el cual el inoculo contenía las células bacterianas de la cepa *Pseudomonas aeruginosa*, encapsuladas en almidón y alginato de sodio. Se investigó la contaminación original en el suelo (3.5% peso seco) y también diluido con suelo limpio natural en una relación 1:1, suministrando suficiente humedad, nutrientes y aireación por medio de agitación mecánica. Los resultados obtenidos de remoción de *n*- alcanos en el suelo original contaminado fue del 94% después de 191 días de tratamiento, y del 79% del total de compuestos aromáticos policíclicos. Para el suelo diluido la biodegradación alcanzada fue del 89% de los *n*- alcanos y del 79% del total de compuestos aromáticos policíclicos. El estudio demostró que la bioaumentación con células libres o encapsuladas de la cepa *Pseudomonas aeruginosa* en suelo diluido o no, no presento un efecto significativo en la biodegradación del contaminante. [34]

Taccari M., *et al.* (2011), investigaron la biorremediación de un suelo contaminado con diesel, mediante biorreactores a escala laboratorio, con diferentes condiciones de tratamiento, agregando individualmente o en conjunto un consorcio microbiano, compostaje maduro y un biosurfactante (cyclodextrin), durante un periodo de 120 días. Los resultados presentaron que la adición de compostaje mas el consorcio microbiano produjo un incremento progresivo en bacterias aerobias heterótrofas cultivables, presuntamente *Pseudomonas*. Al inicio del proceso la diversidad de especies bacterianas incrementó, igual el contenido de biomasa. La densidad y actividad de la microflora bacteriana se comportaron de manera similar en los microcosmos con o sin el biosurfactante, pero se observó una reducción de los hidrocarburos totales de petróleo (TPH) en el microcosmos que contenía el biosurfactante. La combinación del compostaje maduro y el consorcio microbiano resultó una técnica exitosa para mejorar la remoción de TPH, alcanzando porcentajes del 96% en el final del proceso de biorremediación. [35]

6. COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LAS TÉCNICAS SELECCIONADAS

Según los antecedentes de la biorremediación de suelos, compilados en la Tabla 1, las tres técnicas seleccionadas son: bioventing, bioestimulación y bioaumentación.

Tabla 1. Resumen Antecedentes en Biorremediación

Autor	Año	Técnica Utilizada	% de Remoción	Tiempo de Acción
Bento F.	2005	Atenuación natural, bioestimulación y bioaumentación	Bioaumentación (72 – 75%)	2 meses y 12 días
Ayotamuno M.J.	2007	Bioaumentación	84.5%	1 mes y 6 días
Arrar J.	2007	Bioventing	69 – 99%	½ mes
Gogoi B.K.	2002	Combinación de bioventing, bioestimulación y bioaumentación	> 75%	12 meses
Jung H.	2005	Bioventing con ozono	50%	2 meses
Mills M.	2004	Bioestimulación	95%	4 meses y 18 días
Sarkar D.	2004	Bioestimulación y atenuación natural	Bioestimulación 96%	1 mes y 18 días
Alisi C.	2009	Bioaumentación	> 75%	1 mes y 6 días
Godoy-Faúndez A.	2007	Combinación de compostaje y bioventing	59%	2 meses
Xu Y.	2010	Combinación y comparación de bioestimulación y bioaumentación	Combinación de las técnicas 61%	2 meses y 12 días
Magalhaes S.	2009	Bioventing	99%	5 días
Chang W.	2010	“Landfarming”	55%	2 meses
Wang X.	2012	Bioestimulación	49.62%	7 meses y 9 días

Continuación Tabla 1. Resumen Antecedentes en Biorremediación

Gong X.	2012	Bioestimulación	88.9%	4 meses
Li X.	2012	Bioestimulación	32.9%	2 meses
Teng Y.	2009	Bioaumentación	23.2%	28 días
Liu C	2010	Combinación de bioaumentación y bioventing	87%	1 mes
Beskoski V.	2011	Combinación de bioestimulación y bioaumentación	94%	5 meses
García J.	2010	Bioventing	> 93%	7 meses
Mao J.	2012	Bioaumentación	35%	2 meses
Liu P.	2011	Comparación y combinación de bioestimulación y bioaumentación	> 80%	4 meses y 18 días
Hong S.	2011	Bioventing	84.75%	6 meses y 18 días
Tahhan R.	2011	Bioaumentación	> 30%	6 meses y 18 días
Karamalidis A.K.	2011	Combinación de bioestimulación y bioaumentación	79%	6 meses y 9 días
Taccari M.	2011	Combinación de bioestimulación y bioaumentación	96%	4 meses

Fuente: La Autora

El bioventing ha surgido como una de las técnicas de biorremediación *in situ* más efectiva en términos de costo/beneficio, sin embargo una de las mayores desventajas que presenta, son los largos tiempos que requiere para realizar un eficiente tratamiento de los contaminantes en el suelo. Para su aplicación se deben tener en cuenta parámetros tales como las tasas de aireación y el radio de influencia. Según Sui Hong *et. al*, (2011) a menores tasas de aireación en la zona vadosa del suelo, se obtienen mejores remociones de biodegradación, las cuales se pueden optimizar determinando la demanda de oxígeno y minimizando los costos de operación.

La bioestimulación es una técnica de biorremediación de suelos ampliamente utilizada por sus bajos costos de tratamiento y sus cortos periodos de tratamiento. Su fundamento consiste en la estimulación de la actividad microbiana nativa del

suelo, mediante la adición de nutrientes o de un agente *bulking* (de carga) al suelo, permitiendo la degradación del contaminante. (Agnieszka Mroziak *et. al*, 2009)

La bioaumentación es la adición de un consorcio microbiano específico para degradar hidrocarburos o también aislados del mismo suelo contaminado. En muchas ocasiones los microorganismos nativos del suelo son afectados por la toxicidad de las altas concentraciones del contaminante, lo que hace necesario introducir una cepa foránea o nativa pero en mayores cantidades a las existentes. (Yaohui Xu *et. al*, 2010).

A continuación se presenta la Tabla 2 con los resultados obtenidos del análisis de las tres técnicas seleccionadas en relación a tiempo y remoción.

Tabla 2. Técnicas de biorremediación seleccionadas.

	Bioventing	Bioaumentación	Bioestimulación
Tiempo de Acción	6 – 12 meses	2 – 8 meses	1 – 8 meses
% de Remoción	75 – 99%	35 – 90%	33 – 96%

Fuente: La Autora

Comparando los diferentes estudios realizados en las tres técnicas seleccionadas, la bioestimulación es la mejor alternativa de tratamiento debido a que presenta las eficiencias de remoción más altas en un periodo de tiempo menor que las otras dos técnicas. Posiblemente se debe a que los nutrientes aportados son utilizados por todos los microorganismos nativos presentes en el suelo, que se han adaptado a la presencia de los hidrocarburos y no por unos pocos, limitando la biodegradación del contaminante.

Adicionalmente, se destaca la importancia de la combinación entre los tratamientos analizados, basados en los antecedentes realizados, con el fin de obtener mejores resultados de remoción en un menor tiempo, debido a que se atienden todas las necesidades del suelo impactado, con la bioestimulación se garantizan los nutrientes que serán utilizados tanto por los microorganismos nativos como por los adicionados, mediante la bioaumentación y con la aireación, se provee de oxígeno toda la matriz edáfica estimulando su crecimiento rápido.

7. CONCLUSIONES

- Se identificaron las diferentes técnicas de biorremediación implementadas en suelos contaminados con hidrocarburos, excluyendo la fitorremediación debido a que es considerada por algunos autores (Mirsal I., Boulding J., Pierzynski G.) como una técnica de remediación de suelos independiente.
- Las tres técnicas seleccionadas de biorremediación fueron bioventing, bioaumentación y bioestimulación, en relación a remoción y tiempo de acción para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos, que como consecuencia del análisis y discusión presentan los mejores resultados.
- Se compararon los diferentes estudios realizados en las tres técnicas seleccionadas y la bioestimulación es la mejor alternativa de biorremediación, debido a sus altas eficiencias de remoción en un periodo de tiempo corto.
- De los resultados obtenidos se concluye que la mejor opción de tratamiento es la combinación de las tres técnicas seleccionadas para lograr altas tasas de biodegradación de los hidrocarburos en menor tiempo, debido a los antecedentes analizados.

8. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Historia del Petróleo en Colombia, Ecopetrol – El Petróleo y su Mundo disponible en línea en: <http://portal.ecopetrol.com.co/especiales/elpetroleoysumundo/petroleoencolombia2.htm>
- [2] LOPEZ DE MESA, Joaquín, *et al.* “Biorremediación de Suelos Contaminados con Hidrocarburos Derivados del Petróleo”. Nova Publicación Científica Vol.4. No. 5 (2006): 82 – 90.
- [3] PIERZYNSKI, Gary M., *et al.* Soils and Environmental Quality Third Edition. Boca Ratón: Taylor & Francis, 2005.
- [4] VAN STEMPTVOORT, Dale., *et al.* “Potential for Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons in Groundwater under Cold Climate Conditions: A Review”. Cold Regions Science and Technology 53 (2008): 16 – 41.
- [5] RISER-ROBERT, Eve. Remediation of Petroleum Contaminated Soils: Biological, Physical and Chemical Processes. Boca Ratón: Lewis Publishers, 1998.
- [6] ALISI, Chiara., *et al.* “Bioremediation of Diesel Oil in a co- contaminated Soil by Bioaugmentation with a Microbial Formula Tailored with Native Strains selected for Heavy Metals Resistance”. Science of Total Environment No. 407 (2009): 3024 – 3032.
- [7] KOUZUMA A & WATANABE K. 6.04 Molecular Approaches for the Analysis of Natural Attenuation and Bioremediation. En: MOO-YOUNG, Murray. *et al.* Comprehensive Biotechnology Second Edition. Elsevier Science; 2011. 25 – 26.
- [8] LAGREGA, Michael D. Hazardous Waste Management Second Edition. Long Grove: WAVELAND PRESS, Inc., 2001.
- [9] ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY OF THE UNITED STATES OF AMERICA. Capítulo III Bioventing, 1994.

- [10] BENTO, Fátima. *et al.* “Comparative Bioremediation of Soils Contaminated with Diesel Oil by Natural Attenuation, Biostimulation and Bioaugmentation”. Bioresource Technology 96 (2005): 1049 – 1055.
- [11] AYOTAMUNO, M.J. *et al.* “Bio-remediation of a sludge containing hydrocarbons”. Applied Energy No. 84 (2007): 936 – 943.
- [12] PÉREZ, Rosa. *et al.* “Aislamiento y Selección de Una Cepa Bacteriana Degradadora de Hidrocarburos a partir de Suelos Contaminados con Petróleo”. CENIC Ciencias Biológicas Vol. 39 No. 1 (2008): 44 – 51.
- [13] ARRAR, Jazia. *et al.* “Treatment of Diesel Fuel Contaminated Soil in Jet-Fluidized Bed”. Biochemical Engineering Journal No. 37 (2007): 131 – 138.
- [14] GOGOI, B.K. *et al.* “A Case Study of Bioremediation of Petroleum-Hydrocarbon Contaminated Soil at a Crude Oil Spill Site”. Advances in Environmental Research No. 7 (2003): 767 – 782.
- [15] JUNG, Haeryong *et al.* “Effects of in-situ Ozonation on Indigenous Microorganisms in Diesel Contaminated Soil: Survival and Regrowth”. Chemosphere No. 61 (2005): 923 – 932.
- [16] MILLS, Marc *et al.* “Evaluation of Bioremediation Strategies of a controlled oil release in a Wetland”. Marine Pollution Bulletin 49 (2004): 425 – 435.
- [17] SARKAR, Dibyendu *et al.* “Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: Comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation”. Environmental Pollution No. 136 (2005): 187 – 195.
- [18] GODOY-FAÚNDEZ, Alex *et al.* “Bioremediation of contaminated mixture of desert mining and sawdust with fuel oil by aerated in-vessel composting in the Atacama Region (Chile)”. Journal of Hazardous Material No. 151 (2008): 649 – 657.
- [19] XU, Yaohui *et al.* “Bioremediation of crude oil-contaminated soil: Comparison of different biostimulation and bioaugmentation treatments”. Journal of Hazardous Material No. 183 (2010): 395 – 401.

- [20] MAGALHAES, S.M.C. *et al.* "Investigations into the application of a combination of bioventing and biotrickling filter technologies for soil decontamination processes – A transition regime between bioventing and soil vapour extraction". Journal of Hazardous Material No. 170 (2009): 771 – 715.
- [21] CHANG, Wonjae *et al.* "Comparison of the effects of variable site temperatures and constant incubation temperatures on the biodegradation of petroleum hydrocarbons in pilot-scale experiments with field-aged contaminates soils from a cols regions site. Chemosphere No. 82 (2011): 872 – 878.
- [22] WANG, Xiang *et al.* "Effect of biostimulation on community level physiological profiles of microorganism in field-scale biopiles composed of aged oil sludge". Bioresource Technology No. 111 (2012): 308 – 315.
- [23] GONG, Xiao-Bao. "Remediation of weathered petroleum oil-contaminated soil using a combination of biostimulation and modified Fenton oxidation". International biodeterioration & Biodegradation No. 70 (2012): 89 – 95.
- [24] LI, Xuanzhen *et al.* "Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil microcosms amended with mushroom cultivation substrate". Soil Biology & Biochemistry No. 47 (2012) 191 – 197.
- [25] TENG, Ying *et al.* "Effect of bioaugmentation by *Paracoccus* sp. strain HPD – 2 on the soil microbial community and removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from an aged contaminated soil". Bioresource Technology No. 101 (2010): 3437 – 3443.
- [26] COLOMBO, Milena *et al.* "bioremediation of polyaromatic hydrocarbon contaminated soils by native microflora and bioaugmentation with *Sphingobium chlorophenolicum* strain CR3: A feasibility study in solid- and slurry-phase microcosms". International Biodeterioration & Biodegradation No. 65 (2011): 191 – 197.
- [27] LIU, Chih-Wen *et al.* "*Rhodococcus erythropolis* strain NTU-1 efficiently degrades and traps diesel and crude oil in batch and fed-batch bioreactors". Process Biochemistry No. 46 (2011): 202 – 209.

- [28] BESKOSKY, Vladimir P. *et al.* “*Ex situ* bioremediation of a soil contaminated by mazut (heavy residual fuel oil) – A field experiment”. Chemosphere No. 83 (2011): 34 – 40.
- [29] GARCÍA FRUTOS, Javier., *et al.* “Bioventing remediation and ecotoxicity evaluation of phenanthrene-contaminated soil”. Journal of Hazardous Materials No. 183 (2010): 806 – 813.
- [30] MAO, Jian., *et al.* “Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soil by a bacterial consortium and associated microbial community changes”. International Biodeterioration & Biodegradation No. 70 (2012): 141 – 147.
- [31] LIU, Pao-Wem Grace., *et al.* “Bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil: Effects of strategies and microbial community shift”. International Biodeterioration & Biodegradation No. 65 (2011): 1119 – 1127.
- [32] SUI, Hong., “Modeling for volatilization and bioremediation of toluene-contaminated soil by bioventing”. Chinese Journal of Chemical Engineering No. 19(2) (2011): 340 – 348.
- [33] TAHHAN, Ragheb., *et al.* “Enhancing the biodegradation of total petroleum hydrocarbons in oily sludge by a modified bioaugmentation strategy”. International Biodeterioration & Biodegradation No. 65 (2011): 130 – 134.
- [34] KARAMALIDIS, A.K., *et al.* “Laboratory scale bioremediation of petroleum-contaminated soil by indigenous microorganism and added *Pseudomonas aeruginosa* strain Spet”. Bioresource Technology No. 101 (2010): 6545 – 6552.
- [35] TACCARI, Manuela., *et al.* “Effects of biostimulation and bioaugmentation on diesel removal and bacterial community”. International Biodeterioration & Biodegradation No. 66 (2012): 39 – 46.
- [36] INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS. Normas Colobianas para la presentación de tesis, trabajos de grado y otros trabajos de investigación. Sexta actualización. Bogotá: ICONTEC, 2008. NTC 1486.