

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE BIODEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO (TPH) EN SUELOS CONTAMINADOS PROCEDENTES DE PETROSANTANDER (COLOMBIA) INC.

MSc. María Kopytko, Ingeniería Ambiental UPB, Bucaramanga
Diana Marcela Ibarra Mojica, Ingeniera Sanitaria y Ambiental.
Recibido Enero 20, 2009- Aceptado Abril 16, 2009

<http://dx.doi.org/10.18566/puente.v3n1.a04>

Resumen- Se estudiaron tres suelos con eventos de contaminación con crudo, ocurridos en diferentes tiempos, en inmediaciones de Campo Payoa, el cual es administrado y explotado por Petrosantander (Colombia) Inc. Los suelos presentaron infiltración rápida y permeabilidad alta, características de suelos arenosos, sin embargo, la capacidad de retención de humedad y la porosidad de éstos, fueron afectadas por el carácter hidrófobo de los hidrocarburos. La relación carbono-nitrógeno-fósforo, la temperatura y el pH de los suelos contaminados evaluados, presentaron valores óptimos para el desarrollo de procesos de biorremediación. Los mejores resultados de eliminación de los hidrocarburos (42.6%), se obtuvieron cuando éstos se trataron por separado, mezclados con suelo limpio, sin la adición del pool microbiológico seleccionado de los tres suelos contaminados, y sin pre-tratamiento con biosurfactante, el cual estaba conformado por bacterias del género *Serratia*. Otro tratamiento desarrollado fue la mezcla de los suelos contaminados, en diferentes proporciones con o sin biosurfactante; y con o sin la adición de pool de microorganismos. En esta serie de ensayos el mejor resultado fue de un 28.6% de remoción de TPH, el cual se obtuvo para la mezcla compuesta por un 50% del suelo con evento de contaminación más antigua, 25% de suelo con tiempo de contaminación intermedia y 25 % de suelo recién contaminado. Éste proceso tuvo un pre-tratamiento con biosurfactantes durante una semana, y adición del pool microbiano, al inicio y a la mitad de un periodo de 3 semanas, durante el cual se desarrolló la biodegradación. Aunque para el diseño del tratamiento a escala piloto, se planteó la realización del proceso de remediación de suelos contaminados por separado, sin pre-tratamiento, ni la adición del pool microbiano, se tuvo en cuenta que el mejor proceso en mezcla alcanzó el 3.0% de contenido de TPH sugerido como valor máximo por la norma

Louisiana 29B. Además, este tratamiento ofrece beneficios adicionales como la eliminación de la transferencia del contaminante a suelo no afectado y que permite tratar un mayor volumen de suelos contaminados.

Palabras clave- Biorremediación, suelos, hidrocarburos totales de de petróleo (TPH).

Abstract- Three soils with different petroleum contamination ages were studied in Camp Payoa, PetroSantander (Colombia) Inc. All soils presented fast infiltration and high permeability, characteristics of sandy soils. However, the water retention capacity and the porosity were affected by the hydrophobic character of the hydrocarbons. The carbon-nitrogen-phosphorus relation, the temperature and pH in the contaminated soils evaluated presented optimum values, adequate for bioremediation processes. The best results, in terms of hydrocarbon elimination (42.6%), were obtained when the soils were treated independently, mixed with clean soil, without both the addition of the selected and enlarged mixed microbial pool, and the pre-treatment with the bio-surfactant, which was composed by bacteria of the gender *Serratia*. The soil mixture composed by 50% of the soil with the oldest contamination event, and an equal 25% proportion of both medium and shortest contamination age soils, showed the total petroleum hydrocarbons (TPH) elimination percentage (28.6%), this soil underwent a one week pre-treatment process, and a mixed microbial pool addition at the beginning and middle of a three week biodegradation treatment period. An independent remediation treatment, without addition of both pre-treatment and microbial pool was conceived for the initial treatment design. However, considering that treating the soils in a mixed way avoids the transfer of contaminants to the clean soil, and that the best treatment, with mixed soils, reached a 3,0 % content of total hydrocarbons, also recommended by the Louisiana 29B regulation. This treatment was recommended combined with the best treatment conditions obtained.

Keywords- Bioremediation, soils, total petroleum hydrocarbons (TPH).

* M Kopytko. M.Sc. Química. Ingeniera Química. Universidad Industrial de Santander. Teléfono 6796220 Ext. 478. E-mail: mkopytko@upbbga.edu.co.

† D. Ibarra Mojica. Ingeniera Sanitaria y Ambiental, Universidad Pontificia Bolivariana, 2008. Teléfono 6360174. E-mail: dibarramojica@gmail.com.

I. INTRODUCCIÓN

Investigaciones realizadas por el Instituto Americano de Petróleo (API) señalan entre las principales fuentes de contaminación en explotaciones petroleras, los lodos de perforación de tipo inversa y recortes, derrames de tuberías corroídas y tiraderos de desechos aceitosos semisólidos [1].

Algunos tratamientos físicos y químicos generados para recuperar los terrenos afectados son: la extracción con vapor, lavado, solidificación y estabilización, desorción térmica, separación electrocinética, incineración, extracción con solventes, oxido reducción y deshalogenación química. Éstas prácticas, aunque eficientes en el retiro de contaminantes de los suelos, en su mayoría son soluciones temporales o trasladan la problemática a otros medios. Actualmente, la biorremediación se perfila como el único método de recuperación de suelos que implica una real transformación de los contaminantes en sustancias inocuas para el medio ambiente, además, resulta ser muy eficiente y económica [2].

En un proceso de degradación de contaminantes con microorganismos, su actividad metabólica es manipulada para eliminar determinadas sustancias nocivas para el ambiente o convertirlas en especies químicas menos agresivas, reduciendo el riesgo ambiental y facilitando la continuidad de los procesos biodegradativos enzimáticos responsables de la acción autodepuradora del ambiente [3].

Para que los microorganismos puedan llevar a cabo su acción degradadora, se debe garantizar que algunos factores físico-químicos como la humedad, temperatura, aireación y pH, se encuentren dentro de rangos óptimos. Las necesidades de control de estas características varían en cada suelo, debido a las diferencias entre las propiedades físicas y químicas de los mismos, siendo las propiedades de mayor relevancia la textura, estructura, porosidad, permeabilidad, infiltración, densidad, humedad, pH y contenido de nutrientes[4].

El pH es considerado el parámetro químico más importante para llevar a cabo procesos de biodegradación, ya que puede intervenir en la disponibilidad de ciertos nutrientes y por tanto en el desarrollo de organismos vivos en el suelo. En general las bacterias no toleran condiciones muy ácidas por lo que el suelo debe mantener un pH entre 6 y 8[5].

Una vez el crudo llega al suelo, sus compuestos pueden ser arrastrados a aguas superficiales y subterráneas por escorrentía, adheridas a las partículas de suelo; o transportados al aire por volatilización, en el caso de los compuestos más livianos [6].

Los hidrocarburos son capaces de disolver los tejidos vegetales, ocasionando una reducción de la transpiración y aumento de la respiración, que finalmente lleva a la sofocación de la planta. Algunas especies vegetales son capaces de metabolizar y acumular hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), pero estos se transforman en compuestos aún más tóxicos, carcinógenos y mutagénicos, que fácilmente ingresan a la cadena trófica por medio de animales herbívoros. En los animales, la inhalación de los hidrocarburos más volátiles puede generar irritación de las vías respiratorias, ocasionando incluso hemorragias. La ingestión de derivados del petróleo produce en primera instancia irritación y posteriormente destrucción del los epitelios del esófago, estómago e intestinos, siendo la consecuencia mas grave la aparición de gastroenteritis hemorrágica. La impregnación total de la piel de los animales con crudo, puede generar en ellos fenómenos de alteraciones en su regulación térmica al imposibilitar el intercambio térmico corporal con el ambiente, ocasionando hipotermia, al no poder retener su calor corporal o hipertermia al no poder eliminarlo. El simple contacto con los ojos puede originar desde irritaciones y conjuntivitis, hasta úlceras corneales. En los seres humanos la inhalación o contacto directo con hidrocarburos tienen las mismas consecuencias que para los animales, además pueden presentarse alteraciones temporales o permanentes del sistema nervioso central por la exposición prolongada a compuestos volátiles [7].

Los hidrocarburos comprenden una gama de compuestos que van desde los altamente biodegradables, con estructura molecular simple como los alcanos; hasta los difícilmente biodegradables, con estructura molecular más compleja como los compuestos aromáticos. La degradación de los hidrocarburos se encuentra favorecida por gran variedad de microorganismos, los cuales producen enzimas específicas para su descomposición [8].

Uno de los procesos de biorremediación de suelos mas frecuentemente usado en la industria petrolera es el tratamiento en lechos o *Landfarming*. En éste, los suelos contaminados son dispuestos en capas no muy profundas, a la cuales se realiza riego y volteos periódicos para estimular la biodegradación. Con el fin de acelerar aun más el proceso, en ocasiones se agregan al suelo microorganismos autóctonos o alóctonos, éstos últimos se encuentran disponibles a través de productos conformados por consorcios microbiológicos específicos para la degradación de algunos compuestos, sin embargo no siempre resultan eficientes, debido a las dificultades de adaptación de los microorganismos al medio o a las interacciones negativas con los microorganismos nativos del mismo.

En la práctica frecuentemente se mezclan los suelos contaminados con suelo limpio con el fin de mejorar las condiciones fisico-químicas de los suelos afectados y disminuir la concentración del contaminante principalmente. En revisión bibliográfica no se encontraron antecedentes en el mejoramiento de condiciones físicas, químicas y microbiológicas de procesos de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos a partir de la mezcla de éstos, por lo que la presente investigación resulta de gran aporte en el mejoramiento de técnicas de biorremediación, ya que se evita la transferencia del contaminante al suelo limpio; y el aumento del volumen de suelo contaminado en tratamiento.

II. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

A. *Problemática a solucionar.* El desarrollo de la presente investigación se centra en algunas áreas contaminadas por derrames de crudo

durante explotación petrolera en Campo Payoa, ubicado en la vereda Payoa del municipio de Sabana de Torres, Santander. En la actualidad el Departamento Civil y Ambiental encargado de la Bateria Payoa trata los suelos contaminados mediante un proceso de *Landfarming*, en un sitio acondicionado e impermeabilizado para tal fin, en el que se disponen los suelos contaminados, mezclandolos con suelo limpio con el propósito de estimular la degradación natural de los hidrocarburos. Aunque este tratamiento resulta ser eficiente, implica la transferencia de contaminante a suelo no afectado; además se reduce la capacidad del sistema para albergar y tratar suelo contaminado originalmente.

B. *Alternativa propuesta en el proyecto.* Basándose en la hipótesis de que los suelos con evento de contaminación más antigua poseen gran variedad de microorganismos con un alto grado de adaptación a los hidrocarburos, se planteo la posibilidad de llevar a cabo un proceso de biodegradación de TPH mezclando los suelos con diferentes tiempos de contaminación, para estimular el proceso, sin transferir contaminantes a suelos no afectados.

Para la realización de dicho tratamiento se aislaron y bio-aumentaron cepas de hongos y bacterias autóctonas de cada suelo contaminado en estudio, las cuales se aplicaron posteriormente durante el proceso de biorremediación con el fin de estimular la degradación de los TPHs. Se consideró además la realización de un pre-tratamiento con biosurfactante con el objetivo de mejorar la disponibilidad de los hidrocarburos para su aprovechamiento por parte de los microorganismos degradadores de los mismos.

III. METODOLOGÍA

El presente estudio se desarrolló en 4 etapas principales. La figura 1 ilustra la metodología llevada a cabo durante la investigación.

Inicialmente se realizó muestreo de los suelos objeto de estudio. Durante éste se efectuaron algunas pruebas de campo y la recolección de muestras para análisis fisico-químico y microbiológico. Los suelos sometidos a

investigación fueron denominados como: suelo uno (S1), con evento de contaminación más antiguo, suelo dos (S2), con evento de contaminación intermedio y suelo tres (S3), con el evento de contaminación más reciente.

Con el fin de establecer las condiciones iniciales de cada suelo y su capacidad para el proceso de biodegradación, se determinaron algunas propiedades físico-químicas como: infiltración, permeabilidad, temperatura, estructura, textura, porosidad, humedad, capacidad de campo, pH y relación carbono-nitrógeno-fósforo (C:N:P).

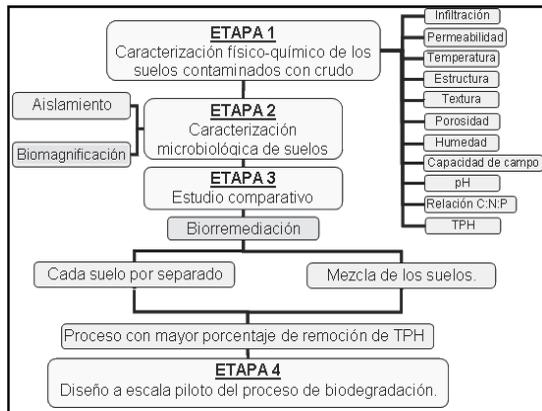
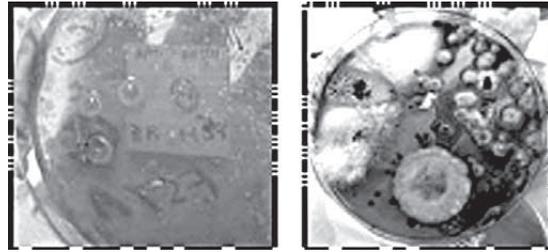


Figura 1. Metodología Aplicada en el Proyecto.

Posteriormente se aislaron microorganismos autóctonos de cada suelo, capaces de degradar hidrocarburos, para lo cual se prepararon y sembraron medios de cultivo modificados con soluciones agua-suelo de cada muestra, usando como base agar nutritivo y agar cabeza-corazón, para bacterias; y agar rosa de bengala y extracto de levadura, para hongos. La inoculación se realizó posteriormente con solución agua-suelo incubada durante 24 horas a 37° C. En total se prepararon e inocularon 96 cajas de cultivo para hongos y bacterias de los tres suelos.

Luego de un periodo de crecimiento de 4 días para las bacterias y cerca de dos semanas para los hongos, los microorganismos que se desarrollaron en cada caja de cultivo fueron clasificados de acuerdo a sus características morfológicas mediante observados macroscópica y microscópica (ver figuras 2 y 3).



Fotos 1 y 2. Aislamiento de Hongos y Bacterias

Con base a las observaciones realizadas se seleccionaron algunas cepas de hongos y bacterias de las que se tenía referencia en la literatura, para la utilización en procesos de biodegradación de hidrocarburos. Los grupos de hongos y bacterias seleccionados fueron aumentados en medios de cultivo líquidos para posteriormente ser usados en un estudio comparativo de biodegradación de TPH en mezcla de los suelos contaminados entre sí, y en mezcla de cada uno de los suelos afectados con suelo limpio. En ambos casos se contempló la adición o ausencia del pool microbiológico aislado de cada uno de los suelos; y la realización o no, de un pre-tratamiento con biosurfactante, conformado por bacterias del género *Serratia* (ver figura 2).

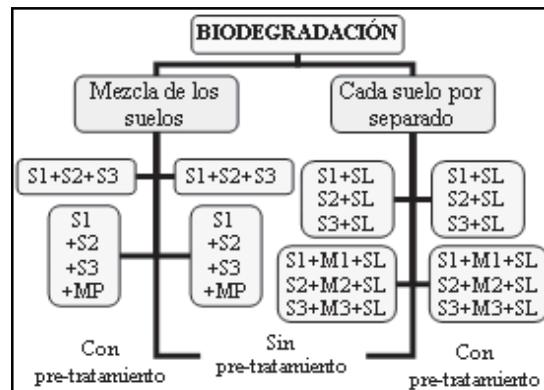


Figura 2. Estudio Comparativo de Biodegradación.

Donde: S1, S2, S3, suelos con eventos de contaminación en diferentes tiempos; SL, suelo limpio; M1, M2, M3, microorganismos correspondientes a respectivos suelos; MP, pool microbiológico de los tres suelos.

Posteriormente, se caracterizó cada una de las mezclas de los suelos iniciando por la capacidad de campo, para lo cual se llevaron a inundación y a las 24 horas se estableció la humedad

gravimétrica. Adicionalmente, durante una semana se determinó la humedad gravimétrica diaria en cada sistema para establecer la curva de pérdida de humedad y una curva de contenido de agua (mililitros de agua por kilogramo de suelo seco), versus humedad gravimétrica. Con base a estas curvas se establecieron los volúmenes de riego necesarios para mantener la humedad de los ensayos entre el 50 y 80% de la capacidad de campo de cada uno, el cual es el rango recomendado por la literatura.

Con el fin de establecer la mezcla de los suelos más favorable para el desarrollo del proceso de biorremediación, se realizaron pre-ensayos, usando diferentes proporciones de los tres suelos, como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Proporciones Mezclas de Suelos Contaminados

Ensayo	Proporción de suelo (%)		
	Suelo 1	Suelo 2	Suelo 3
1	50	25	25
2	25	50	25
3	25	25	50
4	33.3	33.3	33.3

Para reforzar el proceso, simultáneamente se adicionó a las mezclas de suelo el pool microbiano aislado y bio-aumentado anteriormente. La incorporación del caldo microbiano al proceso se realizó al inicio y en la mitad de un periodo de 3 semanas, durante las cuales se realizaron los pre-ensayos de biodegradación. Para evaluar la eficiencia del proceso se realizó análisis de TPH iniciales (tiempo 0) y finales (a las 3 semanas).

La mezcla de suelos contaminados que mejores resultados arrojó durante los pre-ensayos se aplicó posteriormente durante el estudio comparativo de biodegradación. En ésta etapa se comparó el proceso en mezcla de los suelos contaminados entre si, con un proceso en el que cada suelo era mezclado con suelo limpio. En ambos casos se introdujeron variables como la realización u omisión de un pre-tratamiento con biosurfactante, conformado por bacterias del género *Serratia*; y la adición o no de un pool microbiano conformado por bacterias y hongos aislados de los tres suelos.

Teniendo en cuenta que el pre-tratamiento requería de una semana, estos ensayos tuvieron una duración de 3 semanas, en los casos que no se realizó pre-tratamiento; y 4 semanas, cuando se adicionó biosurfactante.

Con el fin de verificar el comportamiento del proceso de biodegradación de hidrocarburos haciendo mezcla de los suelos contaminados, en un mayor tiempo de aplicación, finalmente, se llevaron a cabo ensayos durante 6 semanas utilizando las proporciones de mezcla de los suelos contaminados que mejores remociones de TPH reportó y bajo las condiciones establecidas den los ensayos anteriores como las más favorables para la degradación de los hidrocarburos.

IV. RESULTADOS

Las muestras de los suelos objeto de estudio se extrajeron de una zona con las siguientes características: altura entre los 100 y 300 m.s.n.m.; precipitación media anual de 3089.2 mm/año con temporadas de lluvia y sequía marcadas; y temperatura máxima promedio de 27.8° C en el año, la cual resulta favorable para llevar a cabo procesos de biorremediación. La tabla 2 muestra los lugares de procedencia de las muestras de suelos y la fecha de ocurrencia de la contaminación de estos.

Tabla 2. Procedencia Suelos Estudiados y Fecha de Contaminación

SUELO	PROCEDENCIA	FECHA DERRAME
S1	Locación La Salina B17	Junio 30 de 2006
S2	Locación Payoa 10	Abril 3 de 2007.
S3	Locación Salinas 48	Manadero*

*Afloramiento natural de crudo.

1. Caracterización físico-química.

Permeabilidad e infiltración. Los resultados obtenidos de permeabilidad e infiltración de los suelos objeto de estudio se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Permeabilidad e Infiltraciones de los Suelos Contaminados

Suelo	Velocidad de Infiltración (cm/hr)	Clase de infiltración	Permeabilidad
S1	29 (muy rápida)	FA, A	Alta o muy alta
S2	33.44 (muy rápida)	FA, A	Alta o muy alta
S3	7.98 (moderadamente rápida)	FA	Alta

Donde: FA, suelo franco arenoso; A, suelo arenoso.

La velocidad de infiltración rápida y la permeabilidad alta en los tres suelos analizados sugiere una retención de agua baja o muy baja, por lo que se ve la necesidad de hacerles un riego frecuente durante el proceso de biodegradación de hidrocarburos para mantener condiciones de humedad óptimas.

Temperatura. La temperatura al interior de los tres suelos fue similar, de 24° C. Este valor se encuentra dentro del rango referenciado por la literatura para el buen desarrollo de microorganismos (20-35° C).

Estructura. En la figura 3 se aprecia la estructura en bloques del suelo 1, a la que se atribuyen velocidades de infiltración relativamente altas y baja retención de humedad.

Los suelos 2 y 3 no presentaron estructura definida. El suelo 2 evidenció una composición en granos sueltos, que presupone retención de agua moderada (ver figura 4), mientras que el suelo 3 presentó una conformación en masa cohesiva, debido principalmente a la presencia de hidrocarburos, los cuales alteran sus condiciones naturales de retención de agua y permeabilidad (ver figura 5).

Textura. La textura de cada uno de los suelos estudiados se estableció por el método del hidrómetro y posteriormente por granulometría. La tabla 4 muestra los resultados obtenidos durante la prueba de textura con el hidrómetro.

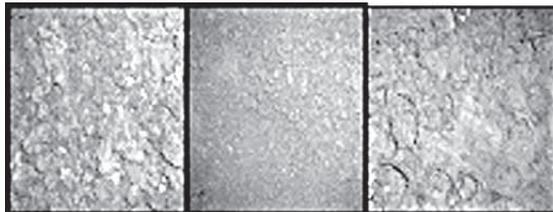


Figura 3.
Estructura S1

Figura 4.
Estructura S2.

Figura 5.
Estructura S3

Tabla 4. Textura de los Suelos Contaminados por el Método del Hidrómetro.

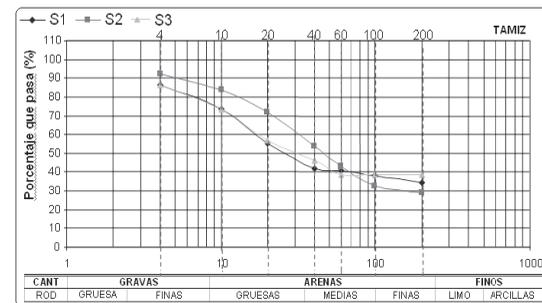
SUELO	ARENA (%)	ARCILLA (%)	LIMO (%)
S1	96.2	2.9	0.9
S2	97.5	1.7	0.8
S3	95.3	3.6	1.1

Al comparar los resultados en el triángulo de texturas, los resultados revelaron una textura arenosa para los tres suelos.

Los resultados de la granulometría de los suelos contaminados se muestran en la tabla 5 y se ilustran en la figura 6, mediante las curvas de textura.

Tabla 5. Granulometría de los Suelos Contaminados

Tamiz N°	% DE SUELO QUE PASA POR EL TAMIZ		
	S1	S2	S3
4	86,41	92,08	86,4
10	73,37	83,48	73,41
20	55,05	71,88	56,85
40	42,11	53,76	45,88
60	40,97	43,18	38,8
100	38,21	32,96	38,65
200	34,35	28,99	38,49

**Figura 6. Curvas de Textura de los Suelos Contaminados**

En ninguno de los suelos el material fino superó el 50%, lo que lo clasifica como suelo arenoso.

El suelo 3 presentó una mayor proporción de materiales finos (tamiz 200 en adelante) que el suelo 1 y el suelo 2, por lo que se esperaría una mayor capacidad de retención de agua. Por otra parte, el suelo 1 reportó menor cantidad de gravas finas (tamiz 4 a 10), arenas gruesas (tamiz 10 a 40) y medias (tamiz 40 a 100) que el suelo 2, por lo que su capacidad de campo debería ser media en

comparación con los suelos 1 y 2. El suelo 2, presentó el más alto porcentaje de contenido de gravas finas, arenas gruesas y medias, lo que sugeriría que éste tendría la menor retención de agua de los tres suelos.

La textura arenosa de los tres suelos contaminados puede contribuir en el proceso de biorremediación, ya que facilita el acceso de los microorganismos a los hidrocarburos, al disminuir la cohesión del material y proporcionar además una mejor aireación al interior del suelo, a través de poros de gran tamaño y hendiduras.

Porosidad. En la tabla 6 se encuentran relacionados los datos obtenidos para densidad real y aparente, empleados para la determinación de la porosidad total de cada suelo contaminado.

Tabla 6. Densidad Aparente, Densidad Real y Porosidad de los Suelos Contaminados.

SUELO	DENSIDAD APARENTE	DENSIDAD REAL	POROSIDAD
S1	1,65	2,38	30,67
S2	1,85	2,128	13,06
S3	1,96	2,22	11,71

Los resultados obtenidos tanto de densidad aparente como de porosidad, clasifican a los tres suelos como suelos compactos, con bajo contenido de materia orgánica. Aunque en ellos se encontró una textura arenosa, característica de un suelo disgregable, se debe tener en cuenta que el carácter hidrófobo de los hidrocarburos presentes en los suelos analizados puede conferirle al suelo mayor impermeabilidad y dificultar el drenaje del agua a través de sus poros, generando encharcamientos que le proporcionan al suelo una aparente mayor retención de agua.

Humedad. El contenido de humedad se ve reflejada en la humedad gravimétrica (HG) y la humedad volumétrica (HV). Los resultados obtenidos para estos parámetros se encuentran resumidos en la tabla 7.

Tabla 7. Contenido de Humedad de los Suelos Contaminados y Tipo de Suelos Característico.

SUELO	HG (%)	HV (%)	TIPO DE SUELO
S1	11,4	18,8	Ar, ArA, Ar-L
S2	7,2	13,4	F, FL,L
S3	9,1	17,8	FAr, FArL, FArA

Donde: A, suelo arenoso; Ar, suelo arcilloso; F, suelo franco; FL, suelo franco-limoso; L, suelo limoso.

La clasificación dada a estos suelos según su contenido de humedad, refleja las alteraciones que implica en este medio la presencia de hidrocarburos, ya que tienden a conformar estructuras cohesivas en las que difícilmente se drena el agua una vez ésta alcanza el interior de la matriz de suelo, generalmente a través de hendiduras y no necesariamente cavidades porosas.

Capacidad de campo. En la tabla 8 se compilan los resultados obtenidos de humedad gravimétrica a capacidad de campo en los tres suelos evaluados.

Tabla 8. Humedad Gravimétrica a Capacidad de Campo de los Suelos Contaminados

SUELO	S1	S2	S3
% HG	5,86	2,59	8,34

El suelo 3 presenta un porcentaje de humedad a capacidad de campo superior al suelo 1 y aún mayor con respecto al suelo 2. Dichas diferencias sugieren que la mezcla de los tres suelos podría mejorar las condiciones físicas para el desarrollo de un proceso de biorremediación.

pH. El pH se determinó mediante el método de dilución 1:1 de suelo-agua (peso - volumen). En la tabla 9 se encuentran consignados los valores de pH encontrados en los suelos estudiados.

Tabla 9. pH en Suelos Contaminados Analizados.

Suelo	S1	S2	S3
pH	6.8	7.3	7.1

Los tres suelos registraron valores de pH cercanos a neutralidad entre 6.5 y 7.5, característico de suelos de praderas sub-húmedas y semi-áridas. Esta condición de pH favorece el desarrollo de microorganismos y la solubilidad de nutrientes como fósforo, mientras que minimiza el transporte de metales pesados al interior del suelo.

Relación C/N/P. La tabla 10 resume los porcentajes de C, N y P encontrados en los tres suelos y la relación entre sí.

Tabla 10. Relación C/N/P en los Tres Suelos Contaminados

Suelo	Carbono (%)	Nitrógeno (%)	Fósforo (%)	Relación C/N/P
S1	0.58	0.07	0.058	1/0.1/0.1
S2	0.32	0.04	0.037	1/0.1/0.1
S3	0.37	0.035	0.012	1/0.1/0.03

Los tres suelos evaluados presentaron una buena relación C/N/P, semejante a la recomendada por la literatura para llevar a cabo procesos de biorremediación (1/0.1/0.01). Vale la pena recalcar que el rango de pH presente en éstos suelos, facilita la disponibilidad de fósforo en el medio, por lo que es más fácilmente detectable y por tanto puede reflejarse como muy abundante.

TPH. El contenido inicial de TPH en los suelos contaminados se resume en la tabla 11.

Tabla 11. Contenido Inicial de TPH en Suelos Contaminados

SUELO	TPH (%)
S1	6.3
S2	7.8
S3	9.4

El suelo 3 con evento de contaminación más reciente, presentó el contenido inicial de TPH más alto, seguido en orden descendente por los suelos 2 y 1 respectivamente.

2. Caracterización microbiológica.

Suelo 1. Los tipos de bacterias encontradas en el suelo 1 se especifican en la figura 7, en la que se representa la frecuencia de observación de algunas bacterias, clasificadas de acuerdo a su morfología.

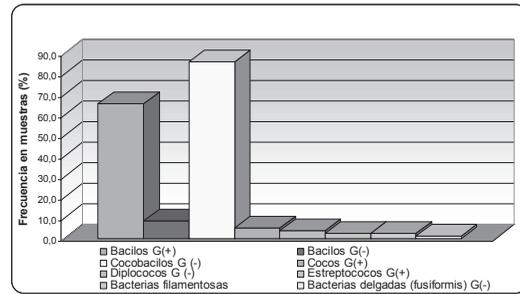


Figura 7. Bacterias Aisladas del Suelo 1.

Las bacterias más frecuentemente observadas al microscopio en este suelo, fueron los Cocobacilos Gram negativos, seguidos de los Bacilos Gram positivos y Gram negativos respectivamente. En cerca del 90% de las muestras de Bacilos observadas éstos presentaban endosporas, las cuales les confieren una mayor resistencia ante eventos de desecación, radiación solar intensa y la presencia de contaminantes.

En cuanto a los hongos, se encontraron especies como *aspergillus spp.*, *fusarium spp.*, *penicillium spp.*, *stenphylium spp.*, *cladosporium spp.*, *helmitosporium spp.*, *hormodemdrum spp.*, sin embargo solo algunas cepas de *aspergillus spp* y *cladosporium sp.*, fueron consideradas de interés para el proceso de biodegradación de hidrocarburos.

Suelo2. Dentro de la caracterización microbiológica realizada al suelo dos se observaron frecuentemente Cocobacilos Gram negativos, seguido por los Bacilos Gram positivos y en menor proporción y orden descendente Bacilos Gram negativos, Cocos Gram positivos y Diplococos Gram positivos (ver Figura 8). Aunque en menor proporción que en el suelo 1, en más del 70% de las muestras de Bacilos observadas éstos presentaron endosporas.

Las especies de hongos registradas fueron: *aspergillus spp.*, *nigrospora spp.*, *pestalotia spp.*, *penicillium spp.*, *diplosporium spp.*, *cladosporium spp.*, *cephalosporium spp.*, *hormodemdrum spp.*, *clamidsporium spp.* y levaduras. Solo cepas de las especies *aspergillus spp.*, *cladosporium spp.* y las levaduras fueron consideradas de interés para el proceso de biodegradación de los hidrocarburos.

Suelo 3. Como se muestra en la Figura 9, las bacterias más frecuentemente registradas en éste suelo fueron Cocobacilos Gram negativos, seguido por los Bacilos Gram positivos y en menor cantidad y orden descendente Bacilos Gram negativos, Cocos Gram positivos y Bacterias filamentosas.

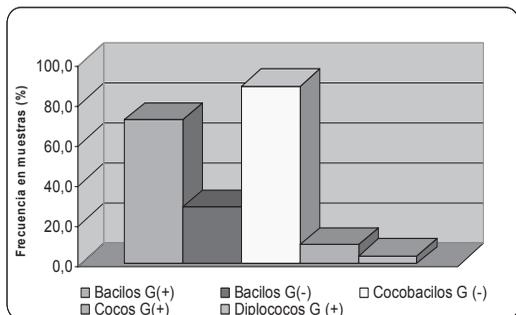


Figura 8. Bacterias Aisladas del Suelo 2.

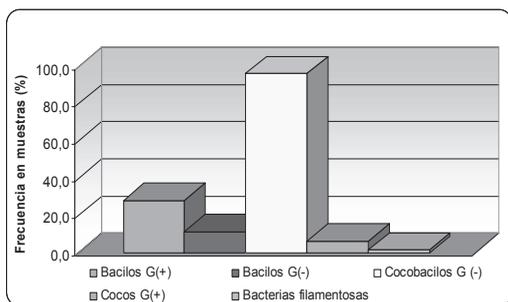


Figura 9. Bacterias Aisladas del Suelo 3.

En menos del 35% de las muestras de Bacilos aislados del suelo 3, éstos presentaron endosporas. Esta diferencia con respecto a los microorganismos encontrados en los otros dos suelos contaminados, sugiere una menor adaptación de las bacterias presentes en éste suelo, a los hidrocarburos y una menor resistencia de las mismas a condiciones ambientales adversas.

Aunque se encontró una considerable variedad de hongos en el suelo 3, solo se consideraron de interés para la degradación de hidrocarburos algunas cepas de la especie *cladosporium spp.*

3. Estudio comparativo de biodegradación de TPH.

Volúmenes de riego para las mezclas de suelos. Al mezclar los suelos contaminados entre si o con suelo limpio, se evidenciaron cambios en la capacidad de campo de los mismos (ver tabla 12).

La Figura 10 muestra las curvas de pérdida de humedad diaria, elaboradas para cada una de las mezclas de suelos.

Tabla 12. %Hg a Capacidad de Campo de las Mezclas de los Suelos.

Suelos por separado			
S1	S2	S3	SL
5.86	2.59	8.34	10.8
Mezcla suelos contaminados			
S1 50%, S2 25%, S3 25%	S2 50%, S1 25%, S3 25%	S3 50%, S1 25%, S2 25%	S1=S2=S3
9.82	7.61	11.50	11.97
Mezcla suelos contaminados con suelo limpio			
S1+SL	S2+SL	S3+SL	
13.16	12.18	14.06	

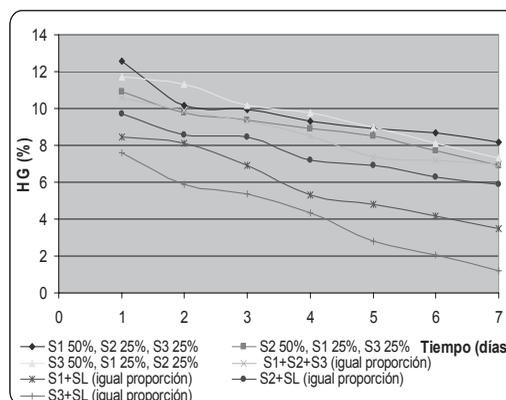


Figura 10. Curvas Pérdida de Humedad en las Mezclas de Suelos

De acuerdo a las curvas anteriores, que revelan las necesidades de riego de los suelos periódicamente, se estableció una frecuencia de riego de 2 veces por semana. Los volúmenes de agua para riego calculados para cada mezcla de suelo, se resumen en la tabla 13.

Tabla 13. Volúmenes de Agua para Riego de las Mezclas de Suelos.

Volumen agua para riego mezclas de suelos contaminados			
S1 50%+S2 25%+S3 25%	S2 50%,S1 25%+S3 25%	S3 50%+S1 25%+S2 25%	S1=S2=S3
220 ml	235 ml	265 ml	225 ml
Volumen agua para riego mezclas de suelos contaminados con suelo limpio			
S1+SL	S2+SL	S3+SL	
310 ml	230 ml	265 ml	

Pre-ensayos. Los resultados de degradación de TPH obtenidos durante los pre-ensayos con mezclas en diferentes proporciones de suelos contaminados se resumen en la tabla 14.

La mayor remoción de TPH se logró en la mezcla de suelos contaminados con mayor proporción de S1, debido posiblemente, a una mayor adaptación de los microorganismos presentes en este suelo para degradar los hidrocarburos.

Tabla 14. Degradación de TPH en Pre-Ensayos.

MEZCLA	TPH inicial (%)	TPH final (%)	Degradación de TPH (%)
S1 50%, S2 25%, S3 25%	11.7	8.2	29,9
S2 50%,S1 25%,S3 25%	8.7	10.8	19,4
S3 50%,S1 25%,S2 25%	9.0	7.9	12,2
S1+S2+S3*	8.3	7.1	14,5

* Mezcla en iguales proporciones.

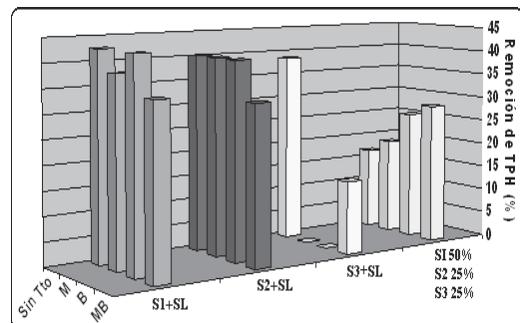
Ensayos comparativos de biodegradación de TPHs. Para estos ensayos se utilizaron mezclas de cada uno de los suelos contaminados con suelo limpio y la mezcla de suelos contaminados que arrojó mejores resultados en cuanto a la remoción de TPH, en los pre-ensayos. Los resultados obtenidos se registran en la tabla 15 y se esquematizan en la Figura 11.

Tabla 15. Degradación de TPHs en Ensayos Comparativos.

MEZCLA	TPH inicial (%)	TPH final (%)	Remoción TPHs (%)
S1 50%, S2 25%, S3 25%	4.2	3.5	16.7
S1 50%, S2 25%, S3 25% (M)	4.2	3.4	19.5
S1 50% S2 25%, S3 25% (B)	4,2	3,1	26,19
S1 50%,S2 25%,S3 25%(MB)	4.2	3	28.6
S1+SL*	6,8	≤1	42.645
S1+SL (M)	6,8	1,6	38.24
S1+SL (B)	6,8	≤1	42.65
S1+SL (MB)	6,8	2,1	34.56
S2+SL	5,1	≤1	40.195
S2+SL (M)	5,1	≤1	40.195
S2+SL (B)	5,1	≤1	40.195
S2+SL (MB)	5,1	1,8	32.355
S3+SL	4,4	≤1	38.635
S3+SL (M)	4,4	6,8**	-27.2
S3+SL (B)	4,4	6,9**	-28.4
S3+SL (MB)	4,4	3,1	14.8

Donde: (M), adición de pool microbioano; (B), con pre-tratamiento con biosurfactante; (MB), adición de microorganismos y pre-tratamiento con biosurfactante.

* Mezcla en iguales proporciones, ** Posibles alteraciones en las muestras por aglutinaciones de suelo-crudo.



Donde: Sin Tto = sin tratamiento (Control).

Figura 11. Degradación de TPHs en Ensayos Comparativos.

En las pruebas realizadas mezclando cada suelo contaminado con suelo limpio, los mejores resultados en cuanto a degradación de TPHs se obtuvieron cuando no fue adicionado al tratamiento los microorganismos aislados de cada suelo, ni se realizó pretratamiento. Esta situación podría reflejar una interacción negativa (de competencia) entre los microorganismos presentes en el suelo limpio y los que conforman el pool microbiano aislado y bioaumentado en laboratorio y las bacterias del género *Serratia* que conforman el biosurfactante aplicado en el pretratamiento.

Por otra parte, los resultados obtenidos en los ensayos de biodegradación de TPH mezclando los suelos contaminados entre sí, demuestran que la realización de un pre-tratamiento con biosurfactante y la adición de un pool microbiano aislado de los tres suelos aumentan la degradación de los hidrocarburos a corto plazo, llegando a obtener incluso un contenido final de TPH del 3%, el cual es el máximo nivel admitido de estos contaminantes en el suelo por la norma Louisiana 29B (USA).

Finalmente, los ensayos de biorremediación con mezcla de suelos, llevados a cabo durante un mayor tiempo (6 semanas) demostraron la gran eficiencia del proceso, al obtener una remoción del 65.77 % de TPH, alcanzando nuevamente el 3% de contenido de hidrocarburos al finalizar el tratamiento en el que se aplicó biosurfactante y se incorporó el pool microbiano aislado de los tres suelos (tabla 16).

Tabla 16. Degradación de TPHs en Ensayos a 6 Semanas.

MEZCLA	TPH inicial (%)	TPH final (%)	Remoción TPHs (%)
S1 50%, S2 25%, S3 25%	8.94	5.93	33.67
S1 50%, S2 25%, S3 25%(MB)	8.94	3.06	65.77

IV. CONCLUSIONES

Los suelos contaminados objeto de estudio, provenientes de Campo Payoa, administrado y operado Petrosantander (Colombia) Inc., presentan infiltración rápida y permeabilidad alta, características de su textura arenosa, sin embargo, la capacidad de retención de humedad y la porosidad de éstos fueron afectadas por la presencia de los hidrocarburos y su carácter hidrófobo.

La relación C:N:P, la temperatura y el pH de los suelos contaminados evaluados, se encuentran dentro de los rangos referenciados en la literatura, para el óptimo desarrollo de procesos de biorremediación, por lo que no resulta necesaria la aplicación de enmiendas a los suelos para el desarrollo de ésta técnica.

Los mejores resultados de eliminación de TPH en los suelos objeto de estudio, se obtienen cuando estos se tratan por separado, mezclados con suelo limpio, sin la adición del pool microbiológico y sin pre-tratamiento.

En los tratamientos en mezcla de suelos contaminados, la mezcla compuesta por un 50% del suelo con evento de contaminación más antigua, 25% de suelo con tiempo de contaminación intermedia y 25 % de suelo recientemente contaminado, presentó la mayor remoción de TPH, con un valor máximo de 28,6% de eliminación de los mismos, en un proceso con pre-tratamiento y tratamiento con el pool microbiano.

Considerando que el proceso de biodegradación de TPH realizado a la mezcla de suelos contaminados, con pre-tratamiento y adición del pool microbiano aislado de los tres suelos se alcanzó a corto plazo (4 semanas) el máximo contenido de hidrocarburos sugerido por la norma Louisiana 29B (3%), se concluye que esta técnica resulta ser una buena alternativa para llevar a cabo procesos de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, minimizando la transferencia contaminantes a suelo no afectado y aumentando el volumen real de suelo contaminado tratado.

AGRADECIMIENTOS

A la Dirección de Investigaciones de la Universidad Pontificia Bolivariana por su apoyo en desarrollo del proyecto (Código 040-0507-2400)

A PetroSantander (Colombia) Inc., por su colaboración técnica y científica; y el respaldo financiero.

A la Dra. Graciela Chalela y su equipo de trabajo del Centro de Investigación en Biotecnología, Biotécnica y Ambiente, por su valiosa asesoría en microbiología para el desarrollo del proyecto.

Al personal docente, administrativo y operativo de la Universidad Pontificia Bolivariana que de una u otra forma se involucró en el desarrollo del proyecto.

BIOGRAFÍA

María Kopytko, nacida en Cracovia, MSc., Ingeniera Química, Universidad Industrial de Santander. Profesor Titular de tiempo completo en la Universidad Pontificia Bolivariana. Interés en investigación en Biotecnología, aguas residuales, residuos sólidos.



Diana Marcela Ibarra Mojica, nacida en Soatá (Boyacá), Ingeniera Sanitaria y Ambiental, Universidad Pontificia Bolivariana. Interés en investigación en Biotecnología aplicada en la Ingeniería Ambiental.



REFERENCIAS

[1] LOPEZ DE MESA, Joaquín, QUINTERO, Gladis, GUEVARA VIZCAINO, Andrea Liliana, JAIMES CACERES, Diana Carolina, GUTIERREZ RIAÑO, Sandra Milena, MIRANDA GARCIA, Johanna. Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. Enero-Junio de 2006. Disponible en Internet: http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/ART_REVIS1_5.pdf

[2] HERNANDEZ, Diana, PLAZA, Cesar, POLO, Alfredo. Consideraciones generales sobre la contaminación y restauración de suelos. Residuos, 2003 N° 67.

[3] MANACORDA, Ana María, CUADROS, Daniela. Técnicas de remediación biológica. Disponible en Internet: http://essa.uncoma.edu.ar/academica/materias/microbiologia/tecnicas_de_remediacion_biologicas.pdf

[4] BARQUIN, ML., PUCCI OH., PUCCI GN. Biodegradación de hidrocarburos en tres suelos patagónicos por microorganismos esporulados. Centro de estudios e investigaciones en microbiología aplicada-CEIMA. Facultad de ciencias naturales. Universidad nacional de la patagonia San Juan Bosco. Argentina. Disponible en Internet: <http://biblioteca.iapg.org.ar/iapg/ArchivosAdjuntos/JornadasPreservacionVI/008.pdf>

[5] HARRISON, Roy M. El Medio Ambiente: introducción a la química medioambiental y a la contaminación. Zaragoza, España. Editorial ACRIBIA S.A. 2003. p 214.

[6] LAGREGA, Michael D., BUCKINGHAM, Phillip L., EVANS, Heffrey C. Gestión de residuos tóxicos: tratamiento, eliminación y recuperación de suelos. Madrid, McGraw-Hill, 1996, p. 197.

[7] PELLINI, Leandro. Biorremediación estimulada por efluentes cloacales tratados de suelos contaminados con hidrocarburos. Escuela superior de Salud y Ambiente, Universidad Nacional de Comahue, 2006. Disponible en Internet: <http://www.tesis.bioetica.org/lp.htm>

[8] EWEIS, Juana B., ERGAS, Sarina J., CHANG, Daniel P. Y. y SCHROEDER, Edward D. Principios de Biorrecuperación: Tratamientos para la descontaminación y regeneración de suelos y aguas subterráneas mediante procesos biológicos y físico-químicos. España: Editorial McGraw Hill/Interamericana de España S. A. U., 1999. p. 133.