

APLICACIÓN

Técnicas de biorremediación para el saneamiento del subsuelo

En un contexto de desarrollo metropolitano, algunas industrias han quedado inmersas en un entorno urbano, debiendo plantearse su reubicación en zonas industriales. En el caso del cese de una actividad que potencialmente hubiera podido afectar a la calidad del subsuelo, existe la necesidad legal de investigar su posible afectación y, en caso necesario, tomar medidas correctoras.

Por **J. Vila, A. Urbizu, M. Grifoll** | Dpto. de Microbiología. Facultad de Biología Universidad de Barcelona
M. Bosch, J. Nilsson, S.López | Litoclean
P. Piñuela | Compañía Logística de Hidrocarburos (CLH)

En una situación análoga a la contextualizada, la Compañía Logística de Hidrocarburos (CLH) amplió su instalación de almacenamiento de hidrocarburos ubicada en las proximidades del aeropuerto de Mahón, construyendo nuevos tanques y dotándolos de las mejores medidas de seguridad y protección ambiental. La remodelada instalación entró en servicio en el año 2011 sustituyendo a la antigua instalación ubicada en Cala Figuera.

CLH procedió, entonces, al desmantelamiento de dicha instalación. Una vez realizado, CLH, en su compromiso con la sociedad y el medio ambiente, realizó una exhaustiva caracterización ambiental de los suelos y aguas subterráneas a fin de enajenar la parcela en las mejores condiciones ambientales.

Durante dicha caracterización se determinó la existencia de afectación por hidrocarburos totales del petróleo (TPH's) debido a la actividad histórica

llevada a cabo en el emplazamiento. Siguiendo con los pasos establecidos por la legislación y siempre bajo la supervisión y aprobación de la administración competente, la compañía elaboró un Proyecto de Remediación Voluntario para el saneamiento de la parcela. Para ello, se plantearon y evaluaron las distintas técnicas de remediación del subsuelo que, a priori, podrían estar en concordancia con el emplazamiento y los objetivos a alcanzar, seleccionándose como metodología a implementar o mejor técnica disponible (MTD) la biorremediación.

La parcela objeto de descontaminación ocupaba una superficie de 7.000m², 2.000 de los cuales se encontraban afectados, lo que suponía un volumen aproximado de suelos a tratar de 4.000m³.

Para el desarrollo del proyecto de descontaminación del emplazamiento fueron necesarios distintos trabajos previos de caracterización del medio, de-

LA BIORREMEDIAÇÃO ES UNA TECNOLOGÍA DE DESCONTAMINACIÓN DE SUELOS BASADA EN LA UTILIZACIÓN DE LA CAPACIDAD BIODEGRADADORA DE LOS MICROORGANISMOS PARA ELIMINAR LOS CONTAMINANTES DEL SUELO, MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN PRODUCTOS INOCUOS O SU TOTAL MINERALIZACIÓN A CO₂ Y H₂O

terminación del grado de afección y composición, así como distribución de la contaminación. Asimismo, se llevaron a cabo ensayos de biotratabilidad para evaluar la idoneidad de las metodologías de descontaminación seleccionadas.

La tecnología de la biorremediación

La biorremediación es una tecnología de descontaminación de suelos basada en la utilización de la capacidad biodegradadora de los microorganismos para eliminar los contaminantes del suelo, mediante su transformación en productos inocuos o su total mineralización a CO_2 y H_2O .

Las tecnologías existentes se agrupan en dos modalidades: la biorremediación intrínseca o bioatenuación natural y la biorremediación dirigida. La primera modalidad está basada en la capacidad de las poblaciones microbianas autóctonas para llevar a cabo, de forma natural y simultánea a otros procesos físico-químicos, como la volatilización, una eliminación de los contaminantes. La biorremediación dirigida consiste en incrementar la actividad microbiana degradadora, sea estimulando la actividad de los microorganismos autóctonos presentes en el propio emplazamiento (bioestimulación) o adicionando inóculos microbianos (bioaugmentación o biorrefuerzo).

El escenario ideal es aquel en el que las poblaciones microbianas están capacitadas para utilizar los contaminantes como sustratos de crecimiento y en que las condiciones ambientales no inhiben su desarrollo. Es decir, que la biodegradación del contaminante permite a los microorganismos obtener la energía necesaria para sus funciones vitales y, al mismo tiempo, sintetizar todos sus componentes celulares.

Pero... ¿qué se necesita para llevar a cabo este proceso de degradación metabólica? En el caso de los hidrocarburos, la biodegradación más eficiente es la ligada al metabolismo microbiano aeróbico, es decir, su oxidación mediante oxígeno molecular, que en el complejo proceso metabólico celular hará el papel de lo que denominamos "aceptor final de electrones". La aireación será, pues, la primera estrategia de estimulación que llevaremos a cabo en un proceso de biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos.

Además de obtener energía, los microorganismos deben ser capaces de multiplicarse, sintetizando nuevos componentes celulares a partir del metabolismo de los contaminantes. Los hidrocarburos son compuestos ricos en carbono e hidrógeno. Sin embargo, las células microbianas están constituidas por componentes como las proteínas y los ácidos

TECNOLOGÍAS DE BIORREMEDIACIÓN

La biorremediación es una tecnología de descontaminación de suelos basada en la utilización de la capacidad biodegradadora de los microorganismos para eliminar los contaminantes del suelo, mediante su transformación en productos inocuos o su total mineralización a CO_2 y H_2O .

Las tecnologías existentes se agrupan en dos modalidades:

› Biorremediación intrínseca o bioatenuación natural

Está basada en la capacidad de las poblaciones microbianas autóctonas para llevar a cabo, de forma natural y simultánea a otros procesos físico-químicos, como la volatilización, una eliminación de los contaminantes.

› Biorremediación dirigida

Consiste en incrementar la actividad microbiana degradadora, ya sea estimulando la actividad de los microorganismos autóctonos presentes en el propio emplazamiento (bioestimulación) o adicionando inóculos microbianos (bioaugmentación o biorrefuerzo).

nucleicos que, además de carbono e hidrógeno, contienen otros elementos, sobre todo nitrógeno y fósforo.

Los suelos naturales contienen nitrógeno y fósforo en formas asimilables por los microorganismos que los incorporan a su biomasa, pero en caso de contaminación las cantidades disponibles de estos elementos suelen ser insuficientes y es por ello que los mismos pueden ser limitantes en el desarrollo de la biomasa.

En realidad, un episodio de contaminación por hidrocarburos supone un desequilibrio del ecosistema, produciéndose un gran aporte de moléculas que contienen carbono e hidrógeno y que no va acompañado de un incremento de los otros elementos necesarios para la proliferación de las poblaciones microbianas presentes. Por lo tanto, se nos plantea otro tipo de bioestimulación: la adición de nutrientes, especialmente nitrógeno y fósforo, que deben aportarse en unas cantidades acordes con las proporciones medias celulares de C:N:P.

En todos estos escenarios, la bioestimulación se refiere a las poblaciones que se encuentran en el propio suelo, las denominadas poblaciones indígenas o autóctonas. Sin embargo, en algunas ocasiones estas poblaciones o no están capacitadas para metabolizar el contaminante

Excavación selectiva de suelos



EL ANÁLISIS EXHAUSTIVO DE TPH'S Y DE POBLACIONES MICROBIANAS REALIZADO EN EL ENSAYO PILOTO PERMITIÓ DEFINIR LAS CONDICIONES ÓPTIMAS DE BIORREMEDIACIÓN

o lo están en una proporción tan baja que no responden a los bioestimulantes. En estos casos, se hace necesaria la inoculación o siembra de microorganismos previamente crecidos en el laboratorio y que pueden tener distintos orígenes. Cuando se utiliza esta estrategia, se habla de bioaumentación.

Para el desarrollo del proyecto de biorremediación en el emplazamiento objeto de saneamiento, se desarrolló un proceso de biorremediación dirigida mediante biopilas dinámicas. Se entiende por biopila un cierto volumen de suelo acopiado en superficie. El proceso se basó en provocar la

bioestimulación de la actividad microbiana degradadora propia del emplazamiento, mediante la oxigenación de los suelos con un volteo intensivo de los mismos y la adición de los nutrientes necesarios para facilitar la multiplicación de los microorganismos.

Necesidad de los ensayos de biotratabilidad

Los ensayos de biotratabilidad son una serie de estudios de laboratorio que tienen como objetivo averiguar si nuestro emplazamiento reúne las condiciones necesarias para que una tecnología de biorremediación sea implementada con éxito.

Estos ensayos determinan si el suelo a tratar cuenta con niveles suficientes de poblaciones microbianas con capacidad de degradar el contaminante, identifican posibles factores limitantes de la actividad y proliferación de esas poblaciones, mientras que evalúan distintos tratamientos o enmiendas para compensar esas limitaciones. Entre estos factores limitantes se pueden encontrar la escasez de oxígeno, baja concentración de nutrientes, presencia de tóxicos y, sobre todo, baja biodisponibilidad del contaminante (enten-

diéndose como biodisponibilidad la accesibilidad del contaminante al ataque microbiano). Se trata de ensayos con microcosmos de suelo a escala de laboratorio que permiten tener resultados en unas pocas semanas.

Previamente a la implementación del proceso de biorremediación en la parcela se habían llevado a cabo ensayos de biotratabilidad que incluían la caracterización del residuo (TPHs y metales), niveles de nutrientes, recuento de microorganismos y ensayos de microcosmos de suspensiones de suelo en agua con adición de nutrientes. Los resultados de estos ensayos demostraban que el suelo presentaba las características necesarias para poder llevar a cabo su descontaminación mediante técnicas de biorremediación, observándose una reducción del 60% de los contaminantes en dos meses tras un tratamiento con aireación y fertilización con N y P.

Saneamiento

Una vez comprobada, a nivel de laboratorio, la viabilidad de un tratamiento de biorremediación para la descontaminación del subsuelo del emplazamiento



Acopio de suelos en biopilas.

de Mahón se procedió a la implementación del proyecto a escala real. Para ello fueron necesarias labores de excavación, selección y segregación de suelos, homogenización, tratamiento mediante fertilización en biopilas dinámicas y, finalmente, reposición de los suelos tratados en la propia parcela. Previamente a la excavación de los suelos, se acondicionaron las distintas áreas de acopio de

ROSS®
Sistemas de tubería modular



www.rostubos.com

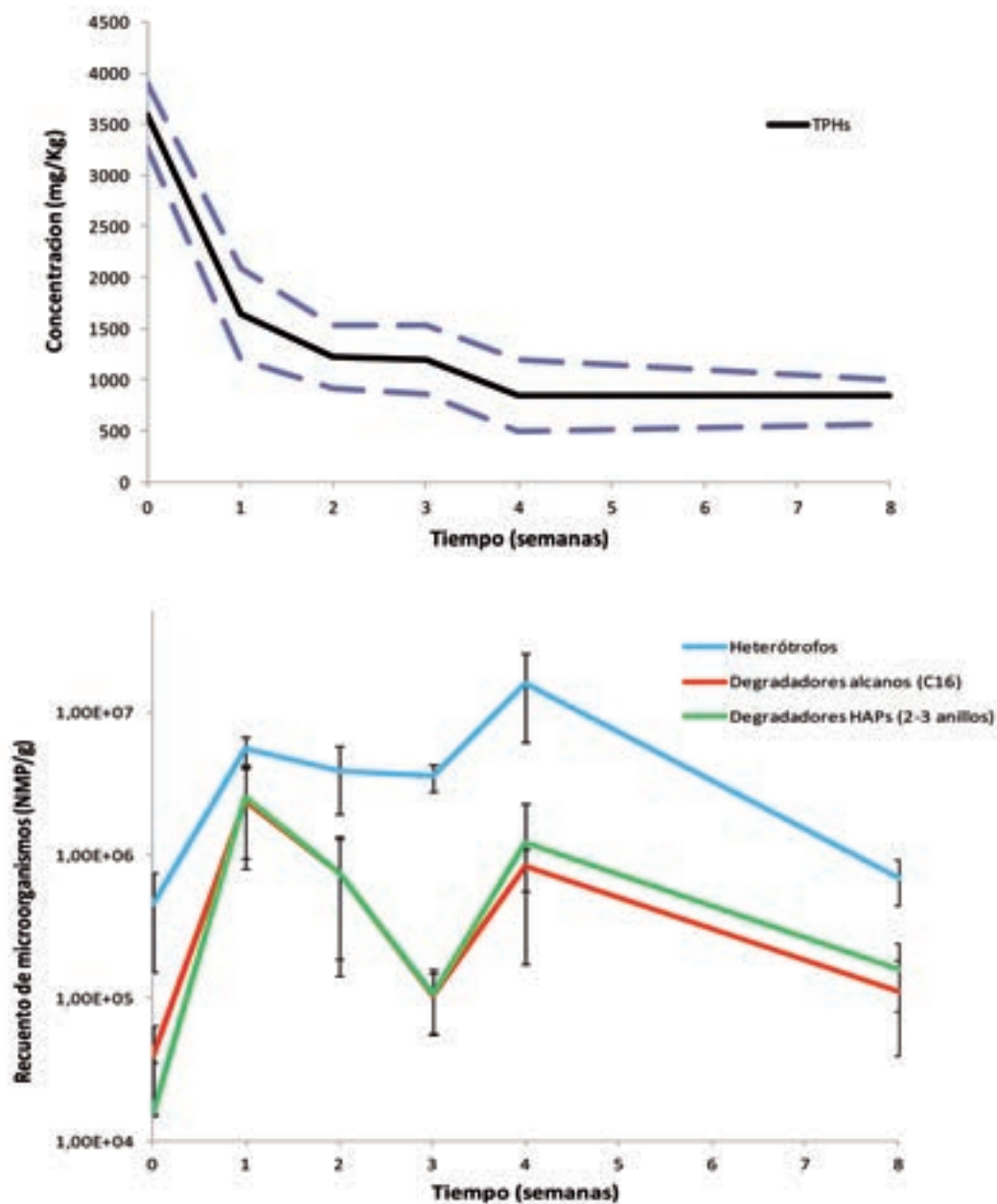


Figura 1. Evolución de la concentración de TPH's y de las poblaciones microbianas en el ensayo piloto previo. En la gráfica de TPH's se representa la media de las tres muestras para cada uno de los tiempos (negro), los márgenes de desviación estándar (azul) y el objetivo de descontaminación (rojo). En la gráfica de poblaciones se representa la media para cada punto y la desviación estándar en forma de barras. Los análisis corresponden a los tiempos de tratamiento y muestreo.

EL TRATAMIENTO MEDIANTE BIORREMEDIACIÓN APLICANDO LA TÉCNICA DE BIOPILAS AERÓBICAS HA PERMITIDO LA DESCONTAMINACIÓN DEL EMPLAZAMIENTO EN UN TIEMPO MENOR AL ESPERADO

los suelos afectados, mediante la instalación de diversas capas de materiales impermeables aislantes que permitieran la construcción de las biopilas dinámicas garantizando la calidad del suelo ocupado. Dado que la contaminación estaba distribuida de forma heterogénea, se llevó a cabo una excavación selectiva de los suelos, discriminando mediante determinaciones analíticas de TPH's "in situ" y en laboratorio los suelos a tratar.

Todo el proceso de excavación selectiva, acopio de suelos, tratamiento y relleno de la excavación se realizó en dos etapas respondiendo a las limitaciones de disponibilidad de espacio existentes.

Proceso de biorremediación. Ensayo piloto

Los análisis cromatográficos (GC-FID) de los extractos orgánicos del suelo mostraron afección por un destilado medio del crudo de petróleo, con una distribución modal entre los alcanos C9-C25 y un máximo entre C12 y C15. Es interesante destacar que el producto recuperado presentaba, ya al iniciarse el tratamiento, un cierto grado de envejecimiento, como lo demuestra la baja proporción de picos resueltos en relación a la matriz no resuelta del cromatograma (UCM). Estos resultados sugerían la existencia de fenómenos de atenuación natural en el emplazamiento, que respaldarían la viabilidad de la biorremediación mediante estimulación de la actividad intrínseca de los microorganismos propios del suelo.

Para realizar un seguimiento exhaustivo del tratamiento que permitiera una evaluación y, en su caso

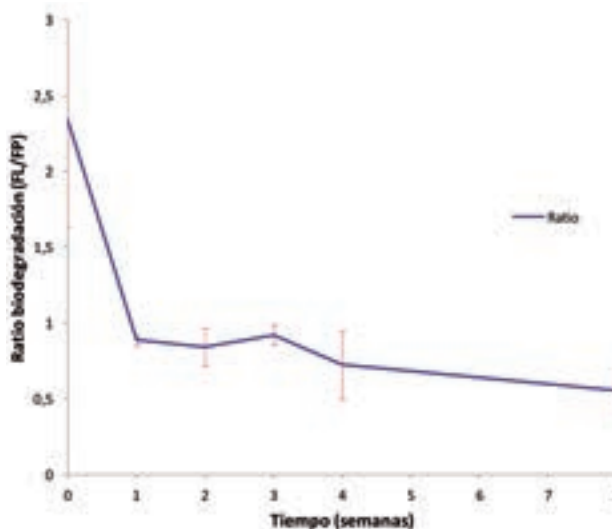


Figura 2. Evolución del índice de degradación obtenido como el cociente de la concentración de la fracción ligera y de la fracción más pesada del residuo de hidrocarburos.

la corrección, de las condiciones de tratamiento elegidas (tipo y concentración de los fertilizantes y contenido en agua) a escala real del total de los sue-



Estamos para contestar.
 Para resolver.
 Para rellenar casillas en blanco.
 Estamos para conectar puntos.
 Para lo que viene detrás del signo igual.
 Somos químicos.
 Somos científicos.
 Somos pensadores.
 Somos el elemento humano.
 Soñadores.
 Creadores.
 Somos las soluciones.
 Creemos que juntos, ciencia y humanidad
 pueden resolver cualquier cosa.
 Sí, cualquier cosa.



Solutions for Smart Cities

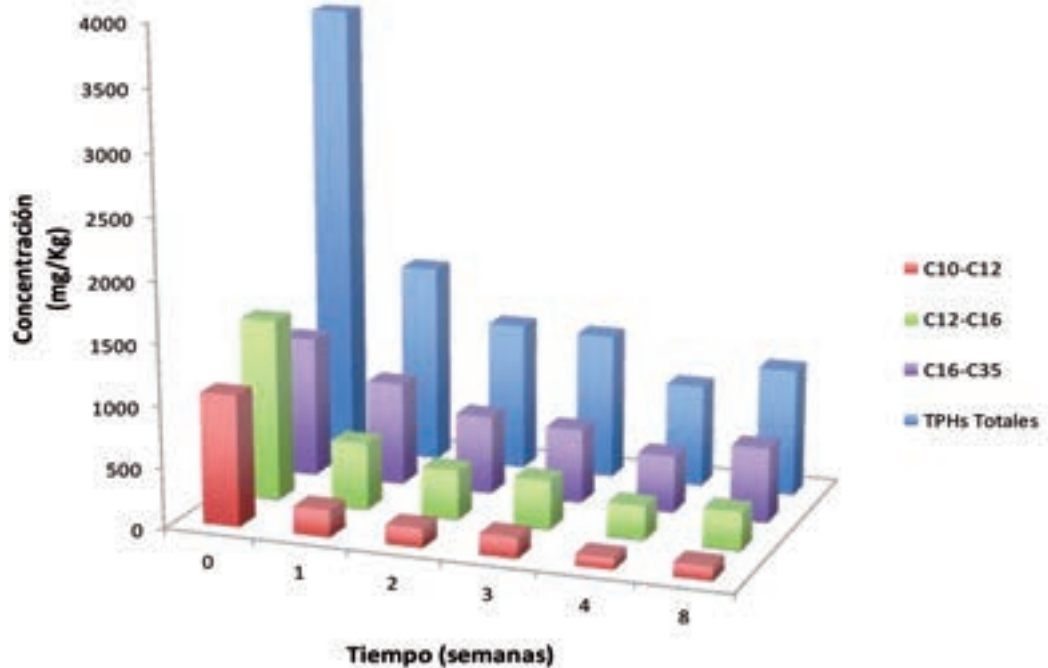


Figura 3. Degradación de las distintas fracciones de alcanos ordenadas por su peso molecular. El grupo C35-C40 no se representa por presentar concentraciones muy bajas.

los acopiados en las biopilas de la primera etapa, se separó un 10% del volumen para el desarrollo de un ensayo piloto previo al tratamiento completo.

Los suelos correspondientes al ensayo se sometieron a un muestreo sistemático exhaustivo, determinando los parámetros de control necesarios para el desarrollo de la biorremediación: la concentración de hidrocarburos (TPH's), las poblaciones de microorganismos heterótrofos y degradadores de hidrocarburos (poliaromáticos o HAP's, y alcanos), nutrientes (nitrato y fosfato), humedad relativa a la capacidad de campo, así como el pH y la conductividad.

La zona correspondiente al ensayo piloto se dividió en tres subzonas (A, B y C) que, antes del inicio del tratamiento, fueron caracterizadas mediante

el análisis químico y microbiológico de cuatro muestras de suelo compuestas. Tras la aplicación de los fertilizantes y durante el primer mes de tratamiento se realizó un monitoreo del proceso mediante la toma de tres muestras compuestas semanales, una para cada una de las subzonas. Finalmente, se volvieron a tomar y analizar tres muestras compuestas de las subzonas a las ocho semanas de tratamiento.

La concentración media de TPH's en la zona piloto al inicio del tratamiento se encontraba alrededor de las 3.500 ppms. Los resultados del recuento de las poblaciones microbianas indicaron una concentración de microorganismos totales heterótrofos próxima a 10^6 NMP/g, valores típicos para un suelo de estas características. En cambio, los microorganismos degradadores de alcanos y de HAPs (hidrocarburos aromáticos policíclicos) se encontraban alrededor de 10^4 , concentración relativamente baja para un emplazamiento contaminado, pero suficiente para una bioestimulación. De hecho, estas poblaciones mostraron una buena respuesta al tratamiento con aireación, humedad y nutrientes (ver figura 1), habiéndose multiplicando sus concentraciones por 100 una semana después del inicio del tratamiento (ver más adelante).

La evolución en la concentración de TPH's muestra una típica gráfica en "palo de hockey" con cierta inflexión a las tres semanas. Las tasas máximas de degradación se producen durante la primera semana, produciendo una reducción del 60% de los

PARÁMETROS DE CONTROL NECESARIOS PARA LA BIORREMEDIACIÓN

Los suelos correspondientes al ensayo se sometieron a un muestreo sistemático exhaustivo, determinando los parámetros de control necesarios para el desarrollo de la biorremediación:

- Concentración de hidrocarburos (TPH's)
- Poblaciones de microorganismos heterótrofos y degradadores de hidrocarburos (poliaromáticos o HAP's y alcanos)
- Nutrientes (nitrato y fosfato)
- Humedad relativa a la capacidad de campo
- pH
- Conductividad

TPH's y, posteriormente, se atenúan para presentar una evolución asintótica a partir de las cuatro semanas. A las cuatro semanas se alcanza el objetivo de remediación.

Inicialmente se planteó la posibilidad de que la inflexión en la semana tres, que indicaba un paro transitorio de la biodegradación de TPH's entre las dos y las tres semanas, pudiera deberse a una situación de estrés del sistema (ej. estrés hídrico). Sin embargo, los resultados analíticos no confirmaron esta hipótesis. También podría deberse a la heterogeneidad de las zonas en que se habían tomado las muestras. Para descartar esta posibilidad, en la figura 2 se representa la extensión de la degradación en cada punto como "índice de degradación", obtenido por el cociente entre la concentración de la fracción más ligera de los TPH's (C10-C16) (más biodegradable) y la fracción más pesada (C16-C40) (más resistente a la degradación) para cada punto. Este índice es independiente de las concentraciones absolutas en TPH's de las distintas muestras y nos permite observar el progreso de la actividad degradadora (ver figura 2).

Efectivamente, al realizar esta normalización se aprecia cómo, tras una primera semana con una tasa de degradación máxima, la biodegradación se detiene durante las dos semanas siguientes. Durante la cuarta semana se produce un nuevo episodio de degradación significativa, aunque a tasas más moderadas y, a partir de la quinta, se llega a una fase muy lenta, prácticamente asintótica.

Efectos de la degradación

Estos efectos de degradación se confirman al analizar la evolución de las poblaciones. Durante la primera semana se produce una gran respuesta a la estimulación: las poblaciones presentes estaban adaptadas pero sujetas a limitaciones de oxigenación y nutrientes. Las tasas máximas de degradación observadas durante esta semana se relacionan con un incremento en las poblaciones degradadoras de más de dos órdenes de magnitud (en el caso de degradadores de alcanos).

Este incremento está asociado inequívocamente a la degradación, ya que las poblaciones degradadoras que representaban inicialmente un 1% (en el caso de degradadores de alcanos) o un 10% (en el caso de degradadores de HAP's) del total de heterótrofos, pasan a ser prácticamente el 50% a los siete días. En las dos semanas siguientes, en que se detiene la degradación de TPH's, la población total de heterótrofos se mantiene aproximadamente constante, pero las poblaciones degradadoras descienden considerablemente. Este fenómeno

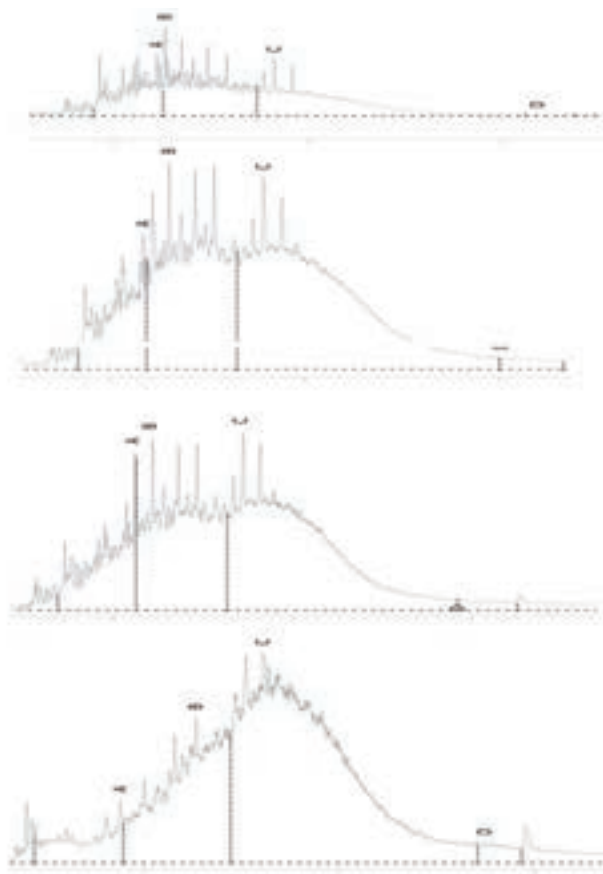


Figura 4. Perfiles cromatográficos (GC-FID) de los TPH presentes en las muestras de tiempo 0, 1, 3 y 4 semanas (de arriba abajo). Los cromatogramas se encuentran a distintas escalas y sólo se pretende mostrar el cambio en el perfil cromatográfico. Se aprecia cómo la fracción más volátil se degrada acusadamente. A, B, C y D corresponden a los tramos de las cadenas hidrocarburadas con diferente número de átomos de carbono: A=C10-C12, B=C12-C16, C=C16-C35, D=C35-C40, según perfil cromatográfico.

ha sido observado anteriormente en estudios similares, mientras que se puede atribuir al hecho de que, tras un primer ataque a los HCs de menor peso molecular, se ponen a disposición de poblaciones presentes no degradadoras una elevada concentración de productos de oxidación parcial. Ello provoca la rápida proliferación de estas poblaciones heterótrofas, que desplazan a las degradadoras, que disminuyen.

En la semana quinta, sin embargo, una vez degradados los presuntos productos de oxidación parcial se produce la proliferación de las poblaciones degradadoras de hidrocarburos con mayor peso molecular, hasta que la reducida biodisponibilidad del residuo hace que se detenga la actividad.

Si analizamos la desaparición de hidrocarburos por fracciones de menor a mayor peso molecular (ver figura 3), las gráficas que se obtienen son consistentes con la explicación dada. Durante la primera semana desaparecen los compuestos más ligeros, que se mantienen sin grandes variaciones hasta la semana quinta, en que se retoma su degradación y,

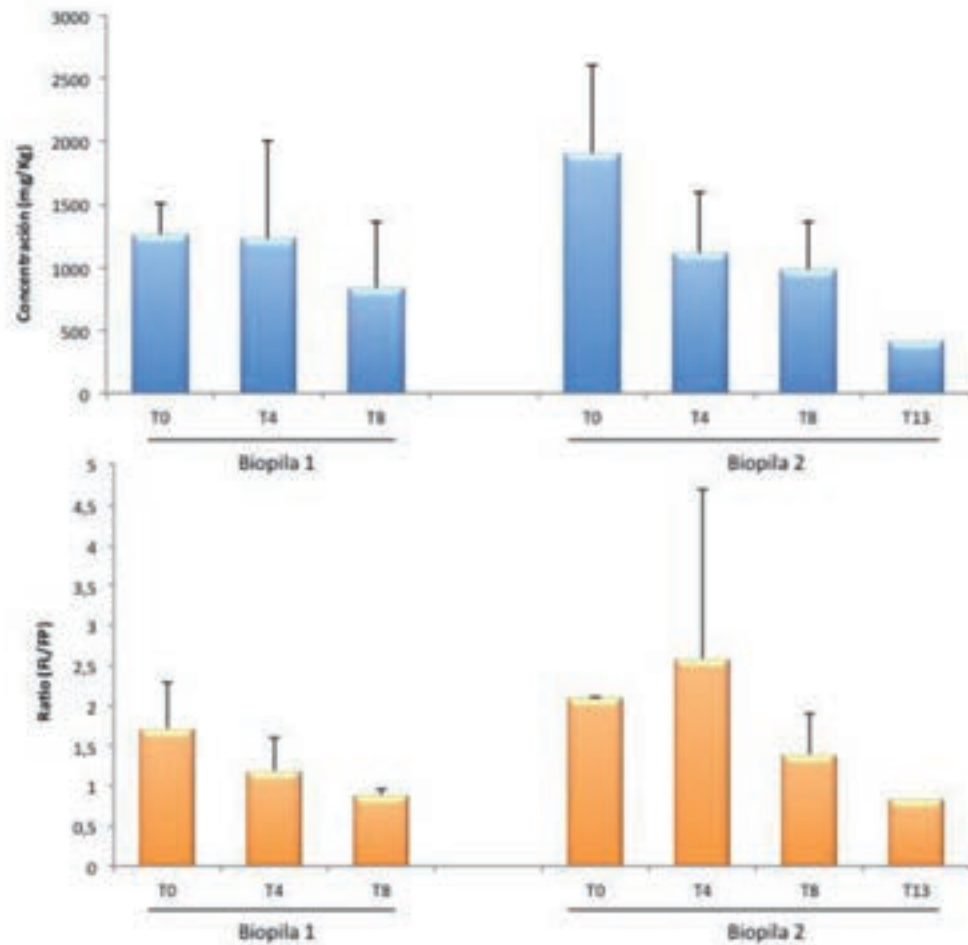


Figura 5. Evolución de las concentraciones de TPHs (parte superior) y del índice de degradación determinado como ratio de concentración entre la fracción ligera y pesada (parte inferior), en las biopilas 1 y 2, correspondientes a las dos fases de tratamiento.

simultáneamente, se degradan significativamente los de mayor peso molecular.

Lo mismo puede observarse analizando los perfiles cromatográficos de la figura 4. Aunque los análisis corresponden a distintas concentraciones y escalas distintas, se ve claramente una elevada degradación durante la primera semana, en que la proporción de los picos resueltos disminuye considerable-

mente. No hay cambios significativos en el periodo siguiente, mientras que el cromatograma obtenido al final del tratamiento corresponde a un residuo muy degradado, caracterizado por una importante reducción de la fracción ligera y una predominancia de UCM sobre los picos resueltos de la fracción más pesada.

En resumen, los resultados obtenidos indicaban que el tratamiento de volteo y adición de fertilizantes aplicados en la zona piloto resultaba efectivo para la estimulación de la microbiota autóctona degradadora de hidrocarburos. Esta estimulación provocó la proliferación de las poblaciones a costa de la degradación de los hidrocarburos presentes, que eran utilizados como fuente de carbono. Como resultado, el nivel de TPH se redujo hasta niveles inferiores al objetivo de descontaminación en un periodo de 30 días.

Por todo ello se concluyó que el tratamiento podía extenderse sin modificación al resto de los terrenos a descontaminar.

**ESTOS PROCESOS
ABREN NUEVAS VÍAS A
LA DESCONTAMINACIÓN
DE SUELOS, YA QUE LA
METODOLOGÍA APLICADA
ES MÁS SOSTENIBLE QUE
OTROS MÉTODOS DE
REMEDIACIÓN**

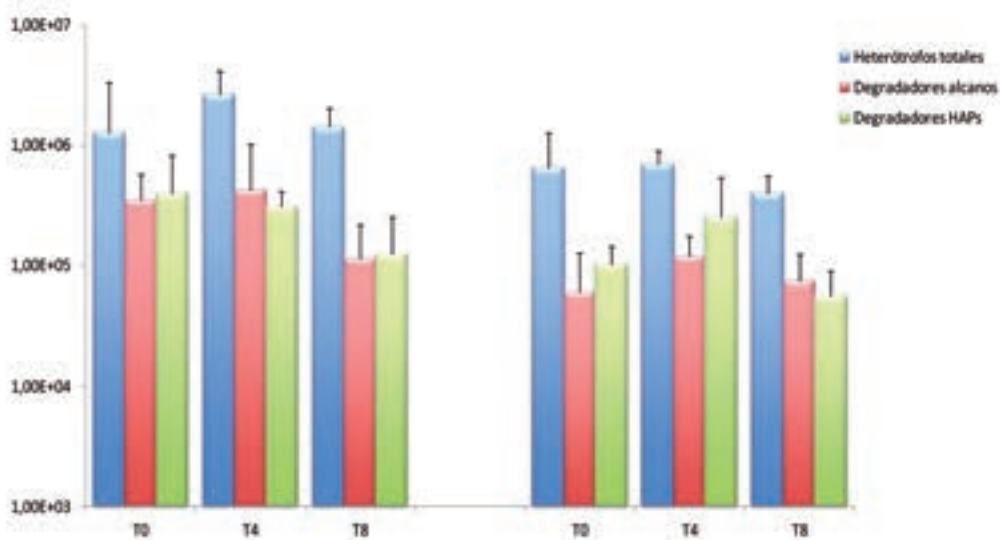


Figura 6. Evolución de las poblaciones heterótrofas totales y degradadoras de alcanos y HAPs en las biopilas 1 y 2, correspondientes a las dos fases de tratamiento.

Desarrollo de las biopilas

Con las conclusiones del ensayo piloto realizado, se inició el tratamiento mediante biorremediación del resto de los suelos afectados, que fueron distribuidos en dos biopilas para cada una de las fases de excavación: biopila 1 (bancales 1, 2, 3 y 4) y biopila 2 (bancales 5 y 6). Se analizaron muestras compuestas duplicadas a tiempo 0; sin embargo, es importante señalar que en el momento de empezar el tratamiento había transcurrido un mes desde la homogeneización y la construcción de las biopilas, ya que se construyeron a continuación de la de la zona piloto. Después de la fertilización e inicio del tratamiento se realizaron muestreos con frecuencia mensual, variando el número de réplicas y de muestras en función del desarrollo de los distintos bancales y de las biopilas.

Al inicio del tratamiento se había producido ya una degradación importante de los TPH, debido a la aireación y esponjamiento del suelo durante la construcción de la biopila, presentándose valores medios alrededor de 1.200 y 2.000 ppms para cada biopila. Recordemos que en la zona piloto tras el tratamiento llega a valores similares o inferiores en una semana.

A partir de ese momento continúa la disminución de los TPH's a lo largo del tiempo, tanto para la biopila 1 como para la biopila 2, hasta alcanzar valores claramente por debajo del objetivo de descontaminación (ver figura 5). Al analizar el índice de degradación se confirma que esta reducción puede atribuirse a procesos de biodegradación. En cuanto a los recuentos de poblaciones microbianas, las muestras a tiempo 0 y tiempo 4 presentan valores

de degradadores de 10^5 y 10^6 consistentes con los observados en el ensayo piloto (ver figura 6), e indicativos del elevado desarrollo de estas comunidades en el suelo consecuencia de la utilización de los hidrocarburos presentes.

Conclusiones

El tratamiento mediante biorremediación aplicando la técnica de biopilas aeróbicas ha permitido la descontaminación del emplazamiento en un tiempo menor al inicialmente esperado. El análisis exhaustivo de TPH's y de poblaciones microbianas realizado en el ensayo piloto permitió confirmar los ensayos de tratabilidad realizados previamente, definiendo las condiciones óptimas de biorremediación. Asimismo, permitió prever el éxito de la estrategia de remediación y el tiempo aproximado necesario para alcanzar los objetivos de descontaminación.

Todo el proceso de remediación consistente en la excavación selectiva de suelos, etapas previas, ensayo piloto y biorremediación, así como la restitución de la parcela a su estado original con los suelos completamente saneados, ha confirmado el éxito de la metodología seleccionada y aplicada.

Estos procesos abren nuevas vías a la descontaminación de suelos, ya que la metodología aplicada es más sostenible que otros métodos de remediación, puesto que se minimiza el consumo energético, las emisiones atmosféricas y la gestión de residuos.

Teniendo en cuenta la sostenibilidad, el proyecto desarrollado podría enmarcarse como Green Remediation Project, ya que el impacto generado al medio ambiente ha sido mínimo en tanto que el beneficio neto ambiental obtenido ha sido óptimo. ●