

Evaluación de estrategias de biorremediación para el tratamiento de aguas residuales industriales contaminadas con aceites usados

Evaluation of bioremediation strategies for the treatment of industrial wastewater contaminated with waste oils

Karen Tatiana Gamba¹ y Angie Marcela Pedraza²
Asesora: Victoria Eugenia Vallejo Quintero³

Resumen

El presente estudio evaluó el efecto de estrategias (bioaumentación y bioestimulación) en la biorremediación de aguas residuales industriales contaminadas con aceites usados. El agua fue contaminada con aceite industrial usado a una concentración de 3422,4mg/L y se evaluaron 3 tratamientos. En el primero se incluían las estrategias de bioestimulación y bioaumentación (BNPK), y contaba con la adición de un inóculo de biomasa degradadora más un fertilizante inorgánico compuesto (FIC); el segundo también recurría a la bioestimulación y bioaumentación (BNPKS) con la adición de un surfactante (jabón en polvo), y el tercer tratamiento, de bioestimulación (NPKS), consistió en un FIC más surfactante. Finalmente, se evaluó un control de atenuación natural (AN). Cada uno de ellos se realizó por triplicado (=3), para un total de 12 unidades

experimentales ($n=12$). Se realizaron 2 eventos de muestreo: uno al inicio y otro al final del estudio, que duró un total de 15 días para cada experimento. Se efectuó un seguimiento de parámetros fisicoquímicos: pH, color, nutrientes ($N-NO_3^-$, $N-NO_2$ y $P-PO_4^-$), grasas y aceites; a nivel microbiológico, se hizo recuento de bacterias degradadoras de aceite en Petrifilm AC. Se

¹ Estudiante de Ingeniería Ambiental, Universidad Central. Miembro del Grupo de Investigación Agua y Desarrollo Sostenible, Laboratorio de Suelos, línea de investigación en Tecnologías Ambientales.
Correo: kgambas@ucentral.edu.co.

² Estudiante de Ingeniería Ambiental, Universidad Central. Miembro del Grupo de Investigación Agua y Desarrollo Sostenible, Laboratorio de Suelos, línea de investigación en Tecnologías Ambientales.
Correo: apedrazat@ucentral.edu.co..

³ Profesora asociada de tiempo completo del Departamento de Ingeniería Ambiental de la Universidad Central y líder del Grupo de Investigación Agua y Desarrollo Sostenible.
Correo: evallejoq@ucentral.edu.co

concluyó que, en el tratamiento BNPKS, la adición de nutrientes estimuló el crecimiento poblacional de microorganismos degradadores de aceite y la bioaumentación con microorganismos nativos aceleró la degradación alcanzando un promedio de 54,2% de remoción de contaminante.

Palabras clave: aceite industrial usado, bacterias degradadoras de aceite, bioaumentación, bioestimulación, biorremediación.

Abstract

This study evaluated the effect of bioremediation (biostimulation and bioaugmentation) strategies of industrial wastewater contaminated with waste oil. This study evaluated the effect of bioremediation (bioaumentación y bioestimulación) strategies of industrial wastewater contaminated with waste oil. The water was contaminated with industrial oil used at a concentration of 3422.4 mg / L. 3 treatments were evaluated; the first included the strategies: biostimulation and bioaugmentation (BNPK), and it had with the addition of an inoculum of biomass degrading

the oil plus and inorganic fertilizer compound (FIC), the second also biostimulation and bioaugmentation (BNPKS) with the addition of a surfactant (powder soap), and the third treatment: biostimulation (NPKS) consisted of FIC plus surfactant; finally, evaluated one natural attenuation control (NA), each was made in triplicate (n=3), for a total of 12 experimental units (n=12). Two sampling events were made: one at the beginning and at the end of the study which lasted a total of 15 days for each experiment. Track physicochemical parameters were performed: pH, color, nutrients (N-NO₃⁻, N-NO₂ y P-PO₄⁻), fats and oils and microbiological level: plate count of oil degrading bacteria in Petrifilm AC. It was concluded that in NPKS treatment the addition of nutrients stimulated population growth of oil degrading microorganisms and bioaugmentation with native microorganisms accelerated the degradation achieving an average of 54.2% removal of contaminant.

Keywords: bioaugmentation, biostimulation, bioremediation, industrial oil used, oil degrading bacteria.

1. Introducción

En el último siglo, la creciente industrialización a nivel mundial ha sido considerada como uno de los principales factores responsables del alto consumo hídrico y, con ello, de la contaminación de mares, ríos y lagos, que se han convertido en vertederos de los residuos generados por las actividades industriales (Gómez et ál., 2008a; Ministerio de Relaciones Exteriores, 2009). Procesos industriales como la producción de petróleo, su refinación, la industria petroquímica, el procesamiento

de metales, los procedimientos de lubricación y limpieza de maquinaria, entre otros, han ejercido considerables presiones sobre el medioambiente al generar grandes volúmenes de aguas residuales aceitosas (Ramírez et ál., 2007). A pesar de que estas actividades son indispensables para el desarrollo industrial y económico de un país, la limitada capacidad de biodegradación de las grasas y aceites, así como de otros tipos de compuestos orgánicos —como hidrocarburos totales de petróleo (TPH) e hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA)—, representan una grave amenaza, ya

que son altamente tóxicos e inhiben el crecimiento de plantas y animales, puesto que son, en su mayoría, mutagénicos y cancerígenos (EPA, 2005; Unesco, 2014).

En Colombia, la contaminación hídrica por hidrocarburos y derivados del petróleo es debida principalmente a los residuos generados durante los procesos de extracción, almacenamiento, transporte y refinamiento del crudo, así como por errores humanos, fallas de equipos y derrames intencionales ocasionados por grupos al margen de la ley. Así, se considera que el petróleo derramado en todo el país es once veces más del que se derramó en 1989 en la tragedia del buque petrolero Exxon Valdez (Alaska), uno de los mayores incidentes de contaminación por petróleo en el mundo y cuyo impacto ambiental aún no ha sido superado (*El Tiempo*, 1997; Bermúdez y Corredor, 2006; Fingas, 2011).

Recientemente, se han desarrollado, implementado y evaluado diferentes tratamientos para la descontaminación de las aguas residuales. Los contaminantes presentes en el agua son removidos por métodos físicos como las trampas de grasa, la evaporación, la separación con membrana por ultrafiltración y la ósmosis inversa (Meabe y Sempere, 2013), y por métodos químicos como la coagulación y floculación. Estos sistemas requieren una alta inversión para su puesta en marcha y/o operación, lo que dificulta la remoción de contaminantes orgánicos según la normatividad y transfiere la contaminación a otros lugares (Ramos et ál., 2005).

Por lo anterior, se han propuesto e implementado tratamientos biológicos como la biorremediación, que utiliza microorganismos para transformar un contaminante en compuestos menos tóxicos o inocuos (Vallejo, Yanine y Roldán, 2010). Estudios previos han demostrado que la naturaleza mitiga los daños ambientales producidos por

el contaminante a través de diferentes procesos de atenuación natural, siempre y cuando las condiciones ambientales sean favorables (Camp y Heath-Camp, 2015). Por este motivo, se han promovido y utilizado estrategias o tecnologías para acelerar el proceso, tales como la bioestimulación y la bioaumentación. En la bioestimulación, a través de la aplicación de nutrientes se estimula la densidad y actividad de los microorganismos nativos, incrementando así la biodegradación de contaminantes orgánicos (Volke y Velasco, 2002). Por otra parte, en la bioaumentación se aplican directamente los consorcios microbiológicos, bien sean nativos y/o modificados genéticamente, para la degradación de los contaminantes.

En condiciones naturales, los microorganismos presentan carencias de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K), razón por la cual se requiere del aumento de estos para lograr una degradación relativamente rápida y completa de los residuos contaminantes. Es posible la aceleración de este proceso a través de la adición de urea, fosfatos o fertilizantes del tipo triple quince: NPK (Vallejo, Yanine, y Roldán, 2010). Se ha destacado el uso de microorganismos para ayudar a la descontaminación y recuperación de ambientes naturales y para el tratamiento de efluentes industriales o municipales (Barrios, 2011).

Por ejemplo, Capelli, Busalmen y Sánchez (2001) realizaron una investigación enfocada en la biorremediación de HC mediante las técnicas de bioaumentación y bioestimulación en un biorreactor por lote a escala de laboratorio, inoculando con un consorcio microbiano nativo y usando un tratamiento de sales minerales. Como resultado de esto, la concentración de TPH se redujo en un 70% respecto a su valor inicial en un término de 45 días. En otro trabajo, Vásquez, Guerrero, y Quintero

(2010) realizaron ensayos de bioaumentación en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) de Río Frío (Girón, Santander, Colombia), donde adicionaron consorcios microbianos nativos a biorreactores con lodos provenientes de lavaderos de carros y lodos de alcantarillado. Obtuvieron porcentajes de remoción hasta de 94% de TPH en 120 días. Por otra parte, García (2012), en estudios de biorremediación, obtuvo remociones de 78% y 72% en la demanda química de oxígeno soluble (DQOS) y el carbono orgánico disuelto (COD) en un agua superficial contaminada en un terreno de rehabilitación (anteriormente refinería), mediante la bioaumentación con un consorcio especializado en la degradación de contaminantes orgánicos recalcitrantes en una concentración de biomasa de 350 mg/L.

Por tanto, la continua investigación en este campo ha permitido demostrar que la biorremediación es uno de los métodos más efectivos y con menores impactos negativos sobre el ambiente, lo que la convierte en una opción viable para la remoción de distintos tipos de contaminantes orgánicos (Barrios, 2011). En algunas empresas, como en Escobar & Martínez S.A., se presentan casos en los que la trampa de grasa —método físico utilizado para la separación del aceite lubricante que

cae de las máquinas que emplean en el proceso productivo— no cumple con el porcentaje de remoción ni los valores límites permisibles establecidos en la norma, de forma que causa un impacto negativo (Ramos et ál., 2005; González, 2012).

El objetivo general de esta investigación es evaluar y analizar a escala de laboratorio el efecto de la biorremediación a través de dos estrategias: bioestimulación y bioaumentación, con el fin de acelerar y mejorar las tasas de degradación de aceite lubricante de las aguas residuales industriales provenientes de dicha empresa.

2. Materiales y métodos

Se realizó un muestreo puntual en una de las trampas de grasa de la empresa Escobar & Martínez S.A., ubicada en el barrio Montevideo de la localidad de Fontibón, en Bogotá, según el instructivo para la toma de muestras de aguas residuales del Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (Ideam) (2002; 2007). Las muestras fueron caracterizadas en el Laboratorio de Aguas y Suelos de la Universidad Central, según los parámetros de la tabla 1.

Tabla 1. Caracterización fisicoquímica inicial del agua residual proveniente de la empresa Escobar & Martínez S.A.

| Parámetro | Unidad | Valor | Parámetro | Unidad | Valor |
|------------------|----------------------|-------|---------------------|----------------------------------------|--------|
| pH | | 6,50 | DQO | mg O ₂ /L | 92 |
| Temperatura | °C | 33,7 | Sólidos totales | mg/L | 130 |
| Turbiedad | UNT | 14,07 | Nitritos | mg N - NO ₂ /L | 0,18 |
| Conductividad | mS/cm | 0,06 | Nitratos | mg N - NO ₃ /L | 42,0 |
| Color aparente | UPC | 122 | Nitrógeno amoniacal | mg N - NH ₄ ⁺ /L | 5,1 |
| Color real | UPC | 110 | Fosfatos | mg PO ₄ ³⁻ /L | 39 |
| DBO ₅ | mg O ₂ /L | 6,93 | Grasas y aceites | mg/L | 3422,4 |

Fuente: elaboración propia.

3. Descripción del experimento y su montaje

El montaje y operación de los reactores se realizó bajo condiciones controladas y estériles en el laboratorio. Se evaluaron 3 tratamientos y 1 control de atenuación natural, cada uno con capacidad de 500 mL, como se describe a continuación (tabla 2). Estos tratamientos se hicieron por triplicado ($n=3$), para un total de 12 unidades experimentales ($n=12$) con las mismas condiciones de operación (agitación de 100 rpm, temperatura de incubación 25 °C). Para el seguimiento de los parámetros fisicoquímicos del agua de los reactores, se hicieron dos mediciones para cada tratamiento (inicio-final), teniendo en cuenta que cada experimento tenía una duración de 15 días (día 0 y día 15).

La adición del fertilizante NPK (Nitrofosfato: 15% de nitrógeno total y 15% de fósforo total) se calculó y ajustó a partir de las concentraciones de N y P presentes en el agua residual. La relación C:N:P que se utilizó fue la de

100:10:1, teniendo en cuenta que mantiene el equilibrio de nutrientes durante el metabolismo de las bacterias y, adicionalmente, ha sido reportada como la más eficiente en estudios de biorremediación de hidrocarburos (Pardo, Perdomo y Benavides, 2004; Ahumada y Gómez, 2009). Para el reactor 2 y 3, se utilizó un surfactante con el fin de reducir la tensión superficial del aceite e incrementar la solubilidad de los hidrocarburos, de modo que el aceite pudiera estar disponible para las bacterias (Corponor, 2013; Regla et ál., 2014; García y Aguirre, 2014).

La cuantificación del contaminante estuvo dada por la concentración de grasas y aceites obtenida en la caracterización inicial (tabla 1), por medio del método de extracción Soxhlet, temperatura 70 a 90 °C más Rotoevaporador Yamato (RE801), operado a una presión de 464 hPa, 52 rpm y 60 °C, para extraer el aceite mediante evaporación de hexano y un medio filtrante (tierra de diatomeas), siguiendo el procedimiento del método 3540C de la EPA (EPA, 1996; Canosa, 2009).

Tabla 2. Descripción de cada tratamiento experimental

| Und | Tratamiento | Contaminante | Nutriente | Surfactante | Inóculo microbiológico |
|-----|----------------------------------------------|-------------------------|---------------|----------------------|------------------------------|
| 1 | Bioaumentación más NPK (BNPK) | 1711 mg de aceite usado | 0,29 g de NPK | No aplica | 1,9 x 10 ⁷ UFC/mL |
| 2 | Bioaumentación más NPK y surfactante (BNPKS) | 1711 mg de aceite usado | 0,29 g de NPK | 1,0 g de surfactante | 1,9 x 10 ⁷ UFC/mL |
| 3 | NPK más surfactante (NPKS) | 1711 mg de aceite usado | 0,29 g de NPK | 1,0 g de surfactante | No aplica |
| 4 | Control (AN) | 1711 mg de aceite usado | No aplica | No aplica | No aplica |

Fuente: elaboración propia.

4. Preparación de inóculo microbiológico

Se utilizó caldo nutritivo como medio líquido de cultivo, modificado con la composición descrita en la tabla 3, cuya única fuente de carbono era el aceite usado proveniente de la trampa de grasas sobre la que se iba a trabajar. Con esto se garantizó que fueran bacterias capaces de degradar el aceite mineral (González, 2012).

Tabla 3. Composición del medio de cultivo de bacterias degradadoras de aceite

| Compuesto | Cantidad | Compuesto | Cantidad |
|----------------------|----------|---------------------------------|----------|
| Peptona | 10,0 g | Cloruro férrico | 0,20 g |
| Cloruro de sodio | 5,0 g | Agua desionizada | 1,0 L |
| Cloruro de calcio | 0,10 g | Aceite usado | |
| Extracto de levadura | 3,0 g | (tomado de la trampa de grasas) | 3,0 g |

Fuente: elaboración propia.

Se hicieron diluciones hasta 10^{-5} en solución salina al 1%, y el conteo se realizó bajo la técnica con cámara de Neubaer, con lo cual se obtuvo un recuento total de $1,9 \times 10^7$ UFC/mL, que se inocularon durante los tres experimentos a los dos primeros reactores (bioaumentación + bioestimulación) (Bastidas, 2010).

5. Métodos físicoquímicos y microbiológicos para el análisis de agua

Para la determinación del pH se empleó el método 9045D; el color se midió mediante la técnica espectrofotométrica SM2120C. Se empleó un espectrofotómetro de HACH

(DR 2700) para medición de nitritos bajo el método HACH8507 para un rango de 0,002-0,3 mg/L NO_2^- -N, con la adición del reactivo Nitri Ver 3 para cada tubo Hach. Para nitratos se empleó el método de reducción de cadmio HACH8039 (para un rango de 0,3-30,0 mg/L NO_3^- -N) con la adición de Nitra Ver 5 como reactivo. Por último, para la determinación de los fosfatos, se empleó el método HACH8114 (para un rango entre 0,0-100,0 mg PO_4^{3-} /L) con la adición de PhosVer 6 para cada tubo (Hach, 2000,2009).

Para el conteo de bacterias que crecieron y degradaron el aceite en cada uno de los reactores al final de cada experimento, se empleó la técnica de conteo en Petrifilm para bacterias aerobias bajo el método validado Afnor, durante 72 horas, a 30 °C. (3M Microbiology Products, 2004).

6. Análisis estadístico

Mediante la prueba de Shapiro-Wilk, se determinó si los datos obtenidos seguían una distribución normal. Se realizó un análisis de varianza (Anova) para comparar las medias de cada una de las variables analizadas e identificar diferencias significativas entre los tratamientos evaluados y el control ($p < 0,05$). Posteriormente, se realizó un test de comparaciones múltiples (test de Tukey) entre las variables, para determinar y verificar qué grupo de tratamientos presentaron las diferencias; adicionalmente, se realizó un análisis de correlación entre las variables medidas, las cuales fueron determinadas por medio de correlaciones de Pearson para aquellos datos que siguieron una distribución normal. Los análisis estadísticos anteriores se realizaron empleando el programa estadístico SPSS (versión 17.0 Inc., Chicago, IL).

7. Resultados y discusión

La mayoría de los análisis físicoquímicos realizados en la fase preliminar del estudio (tabla 1) presentaron valores que estaban por debajo de los límites permisibles establecidos para los vertimientos a los sistemas de alcantarillado en la Resolución 0631 del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible (MADS, 2015). Sin embargo, los sólidos totales, las grasas y aceites superan los límites permisibles en dicha resolución. Con relación a la temperatura registrada para la muestra de agua, el valor de 33,7 °C se asocia con los altos requerimientos de temperaturas exigidos en algunas de las operaciones llevadas a cabo en la empresa. Para un tratamiento de biorremediación *in situ*, este valor podría favorecer la actividad y densidad microbianas, si se tiene en cuenta que las bacterias tienen un crecimiento óptimo en un rango de temperaturas entre 25 y 35 °C (Ñustez, 2012).

Los resultados obtenidos pueden haberse visto afectados por la representatividad de la muestra, dado que solo se llevó a cabo un muestreo puntual y además la limpieza de la trampa de grasas se realizó una semana atrás del muestreo. Estos factores pudieron haber afectado la concentración de aceite en el momento de la toma de muestra, lo que podría conllevar que no poseyera las características esenciales para que pudiera ser reproducible (Gómez, 2000).

8. Evaluación y seguimiento de parámetros físicoquímicos

Al inicio del estudio, el pH del agua de cada uno de los tratamientos presentó un valor de ~6,7, considerado neutro; sin embargo,

después de la adición del fertilizante (NPK) triple quince, el tratamiento de BNPK presentó una reducción significativa de dicha variable. Esto ha sido evidenciado por otros autores como García (1997), quien explica que este fenómeno podría derivarse de la nitrificación del N de los fertilizantes nitrogenados que contienen amonio (NH_4^+). Por otro lado, los tratamientos de BNPKS y NPKS, presentaron un aumento significativo del pH luego de la adición del surfactante, lo que pudo deberse a la aceptación de protones (H^+) por las bases fuertes (Na_2CO_3) contenidas en los detergentes en polvo (Procter y Gamble, 2015). Por ello, fue necesario agregar hidróxido de sodio (NaOH) para alcanzar un pH neutro (6,5-8,0), debido a que estos valores han sido expuesto por varios autores como el rango óptimo para el crecimiento microbiano en estudios de biorremediación (Mataroto, M. y Rogel, J., 2000; Gómez et ál., 2008a; Gómez, Gutiérrez et ál., 2008).

Se pudo observar que hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) en el pH entre los tratamientos evaluados con relación al control. Al final del estudio, los valores de pH de todos los tratamientos se mantuvieron dentro de un rango entre 7,7-10,5. Lo anterior podría ser debido a la producción de bicarbonato, gracias a la oxidación de los nutrientes aportados al inicio de cada experimento en el caso de los tratamientos bioestimulados (Tejedor, 2011).

En el color hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos evaluados con relación al control de atenuación natural (AN), siendo mayor en los tratamientos de BNPKS y NPKS. Esto podría deberse a que el surfactante (jabón en polvo), por su presentación en gránulos finos de difícil disolución y de coloración azul, aporta turbiedad al agua (Hernández, 2012). Por otra parte, esta variable presentó una correlación positiva ($p < 0,05$)

con la densidad de bacterias degradadoras de aceite, lo cual pudo deberse al aumento del material suspendido aportado por la biomasa presente en las unidades experimentales. Esto coincide con lo reportado por García y Aguirre (2014), quienes determinaron que la presencia de bacterias degradadoras de aceite y la formación de biosurfactantes aportan turbiedad en el agua.

El contenido de nitratos y nitritos fue significativamente mayor en los tratamientos de BNPK, BNPKS y NPKS con relación al control de AN ($7,0 \pm 0,83 \text{ mgN-NO}_3^-/\text{L}$ y $0,06 \pm 0,03 \text{ mgN-NO}_2^-$, respectivamente). Esto podría deberse a que el FIC, por su presentación en gránulos secos, libera lenta y gradualmente los nutrientes al medio en la implementación de estrategias de bioestimulación (Vallejo, Salgado y Roldán, 2005). Adicionalmente, los valores de nitritos fueron, en general, menores que los de nitratos. Esto sucede porque el nitrito no permanece estable y, por lo tanto, no persiste por periodos prolongados en el agua, ya que las bacterias nitrificantes lo convierten rápidamente en nitratos (García, 1997).

Para el día 15, se pudo observar que no hubo diferencias significativas ($p \geq 0,05$) en la concentración de nitratos entre los tratamientos evaluados con relación al control de AN. Sin embargo, se pudo evidenciar que la concentración de nitratos fue siempre mayor en los tratamientos fertilizados, lo cual podría asociarse con la actividad de microorganismos relacionados con el ciclo del nitrógeno presentes en el inóculo (Acurio y Arciniegas, 2015).

Teniendo en cuenta que los tratamientos de BNPKS y NPKS poseían dos fuentes de fósforo (FIC y surfactante), el incremento de la concentración de fosfatos en los tratamientos de bioaumentación y bioestimulación pudo deberse principalmente a la mineralización

del fósforo orgánico contenido en el agente fertilizante y en el surfactante, cuyo proceso probablemente se llevó a cabo por algunas de las comunidades de quimioautótrofos presentes en el medio acuoso (Lezama, Paniagua y Zamora, 2010).

9. Análisis del contaminante (aceite usado)

Se pudo observar que hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) en la concentración del contaminante evaluado al inicio y final del estudio (figura 1), y se presentaron mayores porcentajes de remoción en los tratamientos BNPK, BNPKS y NPKS en comparación con el control (AN) (tabla 4). Esto evidencia que la adición de nutrientes en la relación seleccionada estimuló y aportó gradual y progresivamente a los microorganismos degradadores de aceites. Adicionalmente, factores como la agitación y la incubación permitieron mantener condiciones de homogenización y de temperatura óptimas para el desarrollo microbiano (Vallejo, Yanine y Roldán, 2010; García, 2012). Estos valores son similares a los reportados en varios casos exitosos de biorremediación: Bartha y Atlas (1973) lograron una remoción del 70% de TPH en 18 días utilizando como nutrientes una úrea con parafina de liberación lenta de fertilizantes de jardín (*octylphosphate*), y Plohl, Leskovšek y Bricelj (2002) logró, durante un periodo de 50 días, remover el 70% de n-alcenos utilizando como bioestimulación un medio mineral compuesto de NH_4NO_3 , Na_2SO_4 , K_2HPO_4 y MgSO_4 .

Las condiciones que pudieron haber favorecido la degradación del contaminante en el control (AN) fueron la agitación y la incubación, teniendo en cuenta que en los procesos

de AN se puede reducir la masa del contaminante por medio de otros procesos diferentes a la biodegradación, tales como transformaciones físicas (advección, dispersión, dilución,

difusión, volatilización, sorción/desorción) y reacciones químicas (intercambio iónico, complejación, transformación abiótica) (Corona e Iturbe, 2005).

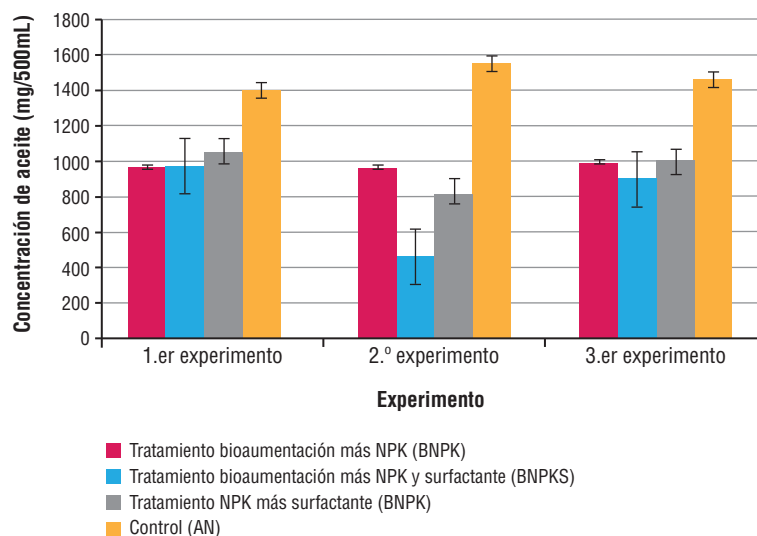


Figura 1. Concentración de aceite (mg/L) al final del estudio por número de experimento y tratamiento.

Fuente: elaboración propia mediante el programa estadístico SPSS (versión 17.0 Inc., Chicago, IL).

El proceso de saponificación podría no estar implicado en la biorremediación de este contaminante, dado que los aceites minerales no son saponificables porque no cuentan con enlaces de ésteres. Esto los convierte en un compuesto de difícil reacción. De ahí que

la adición del surfactante en los tratamientos permitió únicamente que el aceite mineral estuviera disponible para la asimilación y desarrollo de la actividad microbiana (Rojas, Torres, Moncada, Balderas y Górtares, 2010).

Tabla 4. Porcentajes promedio de remoción de aceite en los tratamientos evaluados

| Parámetro | Concentración inicial (mg/500 mL) | Concentración final (mg/500 mL) | % de degradación |
|--------------------------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|------------------|
| Tratamiento bioaumentación + NPK (BNPK) | 1711,2 | 992,2 | 42,0% |
| Tratamiento bioaumentación + NPK y surfactante (BNPKS) | 1711,2 | 783,6 | 54,2% |
| Tratamiento NPK + surfactante (NPKS) | 1711,2 | 975,3 | 43,0% |
| Control (AN) | 1711,2 | 1489,7 | 12,9% |

Fuente: elaboración propia.

10. Análisis microbiológico

Para todos los tratamientos, el comportamiento de la población bacteriana degradadora mostró un crecimiento constante en los 15 días de estudio. Entre los tratamientos BNPK y BNPKS no se presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$); por el contrario, mostraron comportamientos muy similares en cuanto al desarrollo de las poblaciones bacterianas.

Como se observó en la tabla 4, el tratamiento NPKS obtuvo una degradación promedio del 43% y un mayor recuento de microorganismos degradadores de aceite en el día 15 respecto al control (AN). Esto puede llevar a deducir que, sin la técnica de bioaugmentación, la adición de fertilizante y surfactante contribuyó al crecimiento y sostenimiento de la población bacteriana degradadora en las condiciones de aireación y agitación del medio, lo que benefició la biodegradación del contaminante (Viñas et ál., 2002). Tal como lo explican Rojas et ál. (2010), la aplicación del surfactante pudo haber contribuido en la disponibilidad del contaminante y favorecer la transferencia de la masa y su biodegradación.

Los tratamientos de bioaugmentación y bioestimulación (BNPK Y BNPKS) presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) con relación al tratamiento con solo bioestimulación (NPKS), además de mayores recuentos de microorganismos degradadores de aceite. Con un recuento promedio de $2,61 \times 10^8$ UFC/mL y un promedio de degradación de contaminante de 54,2% según la tabla 4, el tratamiento BNPKS demuestra que la combinación de las técnicas de bioestimulación y bioaugmentación proporcionan las condiciones óptimas para el desarrollo de la población microbiana que beneficia la biorremediación. Estos valores son similares a los reportados en varios casos exitosos de biorremediación, donde la

adición del fertilizante de varios tipos aportaba la cantidad de nutrientes necesarios para la biodegradación de más de un 50% del aceite en todos los casos y con un crecimiento de microorganismos de más de 1×10^8 UFC/mL, en tratamientos de duración mayor a 15 días (González, 2012; Capelli, Busalmen y Sánchez, 2001; Ñustez, 2012).

11. Conclusiones

Los recuentos de microorganismos degradadores de aceite evidencian la importancia que tienen la densidad microbiana y los factores controlados de agitación e incubación; se comprobó experimentalmente que, a pesar de que no se inocularon bacterias ni se aplicó fertilizante en el control de AN, este presentó una reducción del 13% del contaminante. Se observó que la adición de nutrientes como FIC (NPK) más surfactante favoreció la biorremediación, puesto que los tratamientos de BNPKS presentaron un porcentaje de degradación promedio de 54,2%, mientras que los tratamientos de BNPK y NPKS presentaron un porcentaje de degradación promedio del 42 y 43%, respectivamente.

La remoción de más del 50% de grasas y aceites durante los 15 días de estudio en los tratamientos de BNPKS demuestra que la bioaugmentación con microorganismos nativos, la adición de nutrientes inorgánicos a la concentración seleccionada (C:N:P 100:10:1), el uso de surfactante y condiciones óptimas (pH, temperatura, agitación, aireación) resultan adecuados para estimular la densidad de microorganismos y llevar a cabo exitosamente los procesos de biorremediación.

En este sentido, los resultados obtenidos en esta investigación evidencian que el empleo de surfactantes es efectivo en la

degradación del aceite, ya que contribuyen a la biodisponibilidad de los TPH para los microorganismos. Sin embargo, este compuesto puede afectar otras variables físicoquímicas (por ejemplo, color, concentración de fosfatos y pH) cuyo incremento excedería los límites permisibles establecidos en la resolución de vertimientos de agua residual no doméstica en Colombia.

Agradecimientos

Agradecemos a la Facultad de Ingeniería de la Universidad Central por la financiación de esta investigación. A todas aquellas personas que nos brindaron su apoyo en el desarrollo de la investigación. A nuestra directora de tesis, la profesora Victoria E. Vallejo, por su paciencia y sus invaluable sugerencias, contribuciones y correcciones en las diferentes etapas de la investigación, y al profesor Ricardo Amaya, por su orientación. Por último, agradecemos a nuestras familias el apoyo incondicional durante toda la carrera profesional.

Referencias

- 3M Microbiology Products (2008). 3M Petrifilm Plates & Plate Reader. Consultado en <https://bit.ly/2MN9eQv>.
- Acurio, S. y Arciniegas, K. (2015). Evaluación de la remoción de nitritos y nitratos en muestras de agua del río San Pedro, cantón Rumiñahui, por microalgas clorofitas (tesis de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador. Consultado en <https://bit.ly/2vGA6Hq>.
- Ahumada, M. y Gómez, R. (2009). Evaluación y selección de bacterias degradadoras de fenol por respirometría (tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- Barrios, Y. (2011). Biorremediación: una herramienta para el saneamiento de ecosistemas marinos contaminados con petróleo. *Bioteología Aplicada*, 28 (2), 2.
- Bartha, R. y Atlas, R. (1973). *Biodegradation of oil on water surfaces*. Patente US3959127A. Estados Unidos. Consultado en <https://www.google.com/patents/US3959127>.
- Bastidas, O. (2010). Conteo celular con hematocitómetro (nota técnica). Celeromics. Consultado en <https://bit.ly/2AGzxDo>.
- Bermúdez, S. y Corredor, P. (2006). Formulación del plan de contingencia por derrame de hidrocarburos en Tumaco-Nariño (tesis de pregrado). Universidad de la Salle, Bogotá, Colombia.
- Camp, W. G. y Heath-Camp, B. (2015). *Managing our natural resources* (6th ed.). Stanford: Cengage Learning.
- Canosa, M. (2009). *Desarrollo de metodología analítica para la determinación de Triclosan y Parabenos*. Santiago de Compostela: Universidad de Santiago de Compostela.
- Capelli, S. M., Busalmen, P. J. y Sánchez, R. S. (2001). Hydrocarbon bioremediation of a mineral-base contaminated waste from crude oil extraction by indigenous bacteria. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 47, 233-238.
- Corona, L. e Iturbe, R. (2005). Atenuación natural en suelos contaminados con hidrocarburos. *Investigación y Tecnología*, 6 (2), 119-126. Consultado en <https://bit.ly/2LTqxjg>.
- Corponor (2013, 18 de septiembre). Hoja de seguridad. Detergente en polvo. Consultado en <https://bit.ly/2Idxmpt>.
- El Tiempo*. (1997, 5 de mayo). Contaminación por derrames de petróleo. *El Tiempo*, 2-3.

- EPA (2005). *Fines oil producer \$40,000 for oil spill and water violations*. Environmental Protection Agency. Consultado en <https://bit.ly/2Mbg9Qc>.
- EPA. (1996, diciembre). *Method 3540C. Soxhlet extraction*. Consultado en <https://bit.ly/2MxbYIZ>.
- Fingas, M. (2011). *Oil spill Science and Technology*. Kidlington: Oxford.
- García, E. (2012). Tratamiento por bioaumentación de un agua contaminada con hidrocarburos colectada en un terreno en rehabilitación (tesis de maestría). Universidad Nacional Autónoma de México, México D. F.
- García, F. (1997). El ciclo del nitrógeno en ecosistemas agrícolas. Balcarce. Consultado en <https://bit.ly/2MFB0P9>.
- García, U. y Aguirre, L. Biodegradación de petróleo por bacterias: algunos casos de estudio en el golfo de México. México. Consultado en <https://bit.ly/2MrW8ZI>.
- Gómez, A. et ál. (2008, abril). Surfactantes biológicos en la biorremediación de aguas contaminadas con crudo liviano. *Interciencia*, 33 (4). Consultado en <https://bit.ly/2LVPSs9>.
- Gómez, S., Gutiérrez, D., Hernández, A., Hernández, C., Losada, M., Mantilla, P. (2008). Factores bióticos y abióticos que condicionan la biorremediación por *Pseudomonas* en suelos contaminados por hidrocarburos. *Nova*, 6 (9), 76-84. Consultado en <https://bit.ly/2ObxQKl>.
- Gómez, T. (2000). Toma y tratamiento de muestras. Universidad Politécnica de Cartagena, España. Consultado en <https://bit.ly/2MeRn1j>.
- González, D. (2012). Biodegradación de residuo graso industrial empleando bacterias endógenas. *RevLatinoamBiotecnolAmbAlgal*, 3 (2), 105-118.
- Hach (2000). *Manual de análisis de agua*. Loveland, CO: Hach Company. Consultado en <https://bit.ly/2P2a3mh>.
- Hach (2009, enero). Help Guide. Alemania. Consultado en <https://bit.ly/2MvxDuL>.
- Hernández, W. (2012). Efecto de la variación de la concentración del surfactante triton X-100 en la remediación de una muestra de suelo contaminada con hidrocarburos a escala de laboratorio, utilizando la técnica de remediación de lavado de suelo (tesis de pregrado). Universidad Pontificia Bolivariana, Bucaramanga.
- Ideam. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales. (2002). *Guía para el monitoreo de vertimientos, aguas superficiales y subterráneas*. Bogotá: autor.
- Ideam. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales. (2007). *Instructivo para la toma de muestras de aguas residuales*. Bogotá: autor.
- Lezama, C., Paniagua, J. y Zamora, J. (2010). Bioremediation of effluents using microbial mats in a recirculating system. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 38 (1), 129-142. Consultado en <https://bit.ly/2Mq15hM>.
- MADS. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible (2015). Resolución 0631 del 2015. Por la cual se establecen los parámetros y los valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de agua superficiales y a los sistemas de alcantarillado público y se dictan otras disposiciones. Bogotá, Colombia. Consultado en <https://bit.ly/2zagoIX>.
- Meabe, E. y Sempere, A. (2013, noviembre). Filtración cerámica para el tratamiento y reutilización de aguas aceitosas de origen industrial. *TecnoAqua*, 2-7.

- Ministerio de Relaciones Exteriores (2009, 26 de enero). *Estatuto de la agencia internacional de energías renovables*. Colombia.
- Ñustez, D. (2012). Biorremediación para la biodegradación de hidrocarburos totales presentes en los sedimentos de una estación de servicio de combustible (tesis de maestría). Pereira, Colombia.
- Pardo, J., Perdomo, M. y Benavides, J. (2004). Efecto de la adición de fertilizantes inorgánicos compuestos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con petróleo. *NOVA*, 2 (2), 40-49.
- Plohl, K., Leskovšek, H. y Bricelj, M. (2002). Biological degradation of motor oil in water. *Acta Chimica Slovenica*, 49 (2), 279-289.
- Procter y Gamble (2015). Ariel detergente en polvo. Fichas de datos de seguridad. Consultado en <https://bit.ly/2BFNq55>.
- Ramírez, J., Maldonado, F., Pérez, M.A., Moreno, C., Costa, C. y Madeira, L. (2007). Azo-dye Orange II degradation by heterogeneous Fenton-like reaction using carbon-Fe catalysts. *Applied Catalysis B: Environmental*, 75, 312-323.
- Ramos, C., Pellón, A., Villafranca, D., Espinosa, M., Escobedo, R., y Álvarez, Y. (2005). *Tecnología de tratamiento a las aguas residuales de un laboratorio farmacéutico de producción de semisólidos*. Cubanacán: Minbas.
- Regla, I. et ál. (2014). La química del jabón y algunas aplicaciones. *Revista Digital Universitaria*, 15 (5). Consultado en <https://bit.ly/1P69Xpz>.
- Rojas, H., Torres, G., Moncada, I., Balderas, J., Górtares, P. (2010). Efectos de los surfactantes en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. *Revista Química Viva*, 9 (3).
- Tejedor, M. (2011). *Biorremediación*. Madrid: Universidad de Alcalá.
- Unesco (2014). *Programa Mundial de Evaluación de los Recursos Hídricos (WWAP)*. Consultado en <http://www.unesco.org/>.
- Vallejo, V., Salgado, L. y Roldán, F. (2005). Evaluación de la bioestimulación en la biodegradación de TPHs en suelos contaminados con petróleo. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 7 (2), 67-78.
- Vallejo, V., Yanine, H. y Roldán, F. (2010). Aplicación de sales de tetrazolio de nueva generación (xtt) para la estimación de la densidad de microorganismos degradadores de hidrocarburos empleando la técnica del número más probable. *Acta Biológica Colombiana*, 15 (3), 75-90.
- Vásquez, J., Guerrero, T. y Quintero, A. (2010). Biorremediación de lodos contaminados con aceites lubricantes usados. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 12 (1).
- Viñas, M., Grifoll, J., Sabate, A. y Solanas, M. (2002). Biodegradation of a crude oil by three microbial consortia of different origins and metabolic capabilities. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 28 (5), 252-260.
- Volke, T. y Velasco, J. A. (2002). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados*. México D. F.: Instituto Nacional de Ecología.