

Seguimiento “*ex situ*” de la biorremediación de lodos contaminados con crudo de castilla, caso Río Torca

Yeemy Patricia Bermudez Rodriguez³
Greys Dannely Mateus Quiroga¹

Resumen

La problemática ambiental por los vertimientos de hidrocarburos y sus derivados a nivel nacional e internacional ha causado graves impactos ambientales. Para atenuar este problema, se presentan alternativas de biorremediación. Se escogieron las técnicas de atenuación natural y bioestimulación para hacer un estudio *ex situ* del comportamiento de los microorganismos, tomando una muestra de lodo del canal en el río Torca, en la Autopista Norte con calle 205, el cual se vio afectado con el vertimiento de crudo de castilla. Igualmente, se realizó una propuesta de atención de este tipo de eventos.

1 Marco teórico.

Las fuentes de vertidos de crudo y derivados, en la mayor parte de los casos, proviene de un derrame accidental producido en la superficie o directamente en el subsuelo. Los hidrocarburos y algunos de sus principales aditivos son detectables en el subsuelo en cantidades incluso de partes por billón (ppb). Dividimos los hidrocarburos en alifáticos y aromáticos. Los aromáticos son los que más problemas medioambientales causan, especialmente dos familias: PAH o HAP (hidrocarburos aromáticos policíclicos), y los BTEX (benceno, tolueno etilbenceno y xilenos) (Speight, 2001).

Frente a la recuperación del terreno una vez afectado por un vertido, las actuaciones correctoras pueden dividirse en tres alternativas principales (Boulding, 2003): eliminación de los contaminantes, aislamiento de la contaminación y traslado de la contaminación a un



vertedero. Una vez realizada una aproximación general, se puede acudir al uso de técnicas de biorremediación, teniendo como base que los hidrocarburos de mayor degradación son los alifáticos (y entre ellos los lineales), seguidos por los aromáticos y los asfáltenos.

La biorremediación se puede definir como un grupo de tratamientos contra la contaminación de un medio que aplican sistemas biológicos para catalizar la destrucción o transformación de compuestos químicos en otros menos tóxicos (González y Rojas, 2009).

Desde un punto de vista metodológico, existen tres conceptos importantes:

Atenuación natural o biorremediación intrínseca: llevada a cabo por microorganismos autóctonos, del medio afectado (Watanabe, 2001). Estos utilizan su potencial enzimático para mineralizar (biodegradar completamente hasta CO₂ los compuestos orgánicos o bien simplemente

degradarlos hasta productos intermedios, en un ambiente aerobio o anaerobio). La capacidad intrínseca de asimilación de un medio depende de las *habilidades metabólicas* de los microorganismos nativos, del tipo de contaminante y lógicamente de la geoquímica y la hidrogeología en la zona.

Bioestimulación: existe variedad de técnicas para aplicar la bioestimulación. Una primera división se puede hacer entre prácticas in situ (adición de nutrientes) y técnicas ex situ (*landfarming*, biopilas, biorreactores, etc.) (Atlas y Unterman, 1999). En muchos casos es suficiente añadir aceptores de electrones (oxígeno, nitratos, etc.), aunque en otros se podría requerir la adición de nutrientes o ajustes de pH.

Bioaumentación: es la utilización de microorganismos especializados y exógenos al medio con el fin de optimizar la remediación (Atlas y Unterman, 1999). Esta técnica puede ser apropiada para proyectos *ex situ*, especialmente en lo que se refiere a la utilización de consorcios especializados (Viñas et ál., 2002).

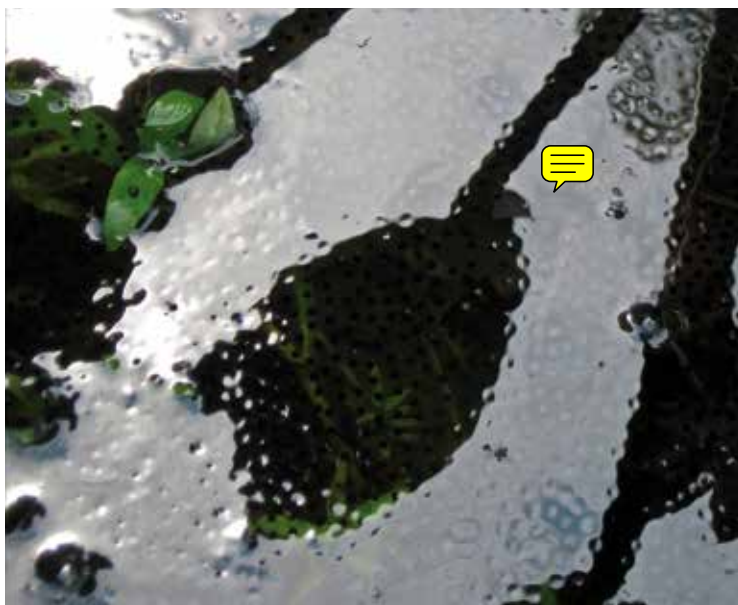
2 Metodología

El pasado 23 de Febrero de 2012, en la ciudad de Bogotá, se generó un derrame de crudo de castilla en la calle 170 con carrera 12, proveniente de un tanque de una cantera abandonada con nombre Calicanto⁴. El crudo se filtró al sistema de aguas lluvias y luego llegó al humedal Torca. Para evitar que este siguiese contaminando el humedal, se construyó un tambre y una barricada sobre el ancho del canal. El protocolo que se puso en marcha para manejar materiales peligrosos, en este caso, el crudo de castilla, fue:

la contención, la extracción del residuo, la recuperación del medio y la disposición final del combustible, considerado contaminante y peligroso. El primer trabajo que adelantó el grupo de materiales peligrosos fue revisar que no estuvieran concentrados vapores en el sistema de alcantarillado, y como resultado no se marcó ningún tipo de riesgo.

Para la toma de muestras, inicialmente se realizó una inspección visual (fotografías, verificación del vertido), seguida de la toma de una muestra (2,5 kg) de lodos, agua y petróleo que se sometió a una caracterización química y microbiológica. Esta fue trasladada hasta el laboratorio de la Facultad de Ingeniería Ambiental de la Universidad Antonio Nariño, ubicada en la sede sur y preservada en refrigeración (4°C).

Para la parte microbiológica, se utilizaron medios de cultivo como: TSA, agar-agar, potato dextrose agar, y sustancias químicas como: nitrato de amonio, pirofosfato y potasio de hidrógeno.



4 Fuente: RCN Radio, Radio Santafé, El tiempo, CM&



Los tratamientos implementados fueron atenuación natural (adición de 100 ml de agua destilada) y bioestimulación (adición de 100 ml de agua destilada, nitrato de amonio al 0,3%, potasio de hidrogeno (K_2HPO_4) al 0,5%, y dihidrogenofostato de potasio (KH_2PO_4) al 0,07%). El proceso de adición de aguas y nutrientes se realiza cada siete días, durante dos meses. Para la preparación de los medios de cultivo se siguieron los siguientes pasos: peso del medio cultivo y mezcla con aguas estériles, esterilización (temperatura $121^\circ C$, a una atmósfera de presión y 20 minutos de duración).

Para las diluciones, tomamos un tubo estéril con 10 ml de pirofosfato estéril, le agregamos 1 gr de lodo contaminado (tubo muestra) y sometemos al vortex por cinco minutos a 5000 rpm. Este procedimiento se realiza en dos tubos de toma de muestra; cada uno se marca con bioestimulación y el otro con atenuación natural. Preparamos 20 tubos Eppendort en una gradilla, los marcamos con bioestimulación (10) y con atenuación natural (10). En el tubo 0 se agrega

1000 μl del tubo muestra marcado con bioestimulación y en los otros nueve tubos se ponen 900 μl de agua destilada estéril. En este proceso se utiliza la micropipeta (100-1000 microlitros, lo que garantiza la medida en microlitros) y se usan las puntas azules. Dilución 1: en este procedimiento utilizamos las micropipetas para este volumen (10-200 microlitros); de la muestra B0 tomamos con la puntas amarillas 100 μl y se agregan a la muestra 1; de la muestra 1 se sacan 100 μl y se agregan a la muestra 2, realizando este mismo procedimiento para todas las demás diluciones. Las puntas utilizadas se cambian en cada paso para evitar la contaminación. En la cabina de flujo laminar se alistan las cajas de Petri estériles en fila, se toma el TSA estéril y se vierten 20 ml aproximadamente en cada una de las cajas. Se toma el potato y el medio sintético y se realiza exactamente el procedimiento del proceso anterior. Para la siembra se toma de cada uno de los medios de cultivo. Las placas se dividen en dos partes iguales, para poder realizar la siembra de cada una de las diluciones, la atenuación natural y la bioestimulación (10 placas para cada uno).

3 Resultados

El análisis químico del crudo de castilla fue realizado en los laboratorios del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional (IBUN), en dos periodos, en el inicio del experimento y al final, para poder observar los cambios en la degradación del hidrocarburo. Para el tratamiento de bioestimulación, se observa cómo los vértices de los hidrocarburos que están en la muestra inicial (cromatograma superior) son altos, en tanto en el cro-

matograma inferior se puede observar que la mayoría de estos picos han desaparecido o decrecido. Ello se atribuye al efecto degradador de los microorganismos presentes en el tratamiento. Esta degradación ocurre principalmente en los hidrocarburos más solubles (alcanos y cicloalcanos).

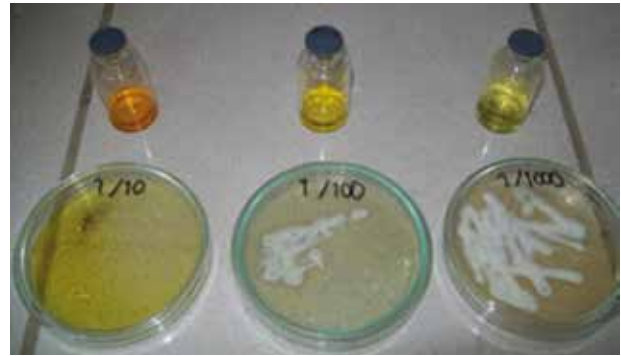
Para el caso de atenuación natural tenemos dos cromatogramas que corresponden igualmente a los dos periodos de análisis del crudo, sin embargo, en este caso podemos observar cómo los picos son iguales, lo cual se atribuye a que el proceso de atenuación requiere de un mayor tiempo para lograr la degradación de los hidrocarburos y a que las condiciones climáticas que favorecen un mayor índice de gradación son las de calor excesivo.

Para el caso de crecimiento microbiano, se observa en la gráfica un mejor comportamiento en el tratamiento de bioestimulación desde la semana 1 hasta la semana 6 (de 43 UFC se pasó a 90×10^6 UFC), en tanto que para el tratamiento de atenuación natural se mantuvo constante (20×10^6 UFC) a través del tiempo.

4 Protocolos

El protocolo propuesto en esta investigación está orientado hacia la evaluación de riesgos ambientales ocasionados por vertimientos en ríos urbanos, ya que es la técnica que proporciona las herramientas para identificar y calificar los problemas ambientales, además de ser la base metodológica que fundamenta las estrategias de reducción de riesgos para la salud pública.

El personal encargado de atender este tipo de eventos ambientales debe tener los conocimientos básicos en temas como: vías y tiempo de exposición a los tóxicos, proceso fisiológico de los tóxicos en el organismo



(metabolismo), efectos de los tóxicos en el organismo y tratamientos primarios en caso de intoxicación.

Igualmente se debe determinar, en primera instancia, el riesgo para la salud humana y posteriormente para el ecosistema. Si los riesgos existentes se caracterizan como no tolerables, entonces se debe intervenir el sitio para reducir o eliminar los niveles tóxicos, mediante la implementación de un proceso de restauración, remediación o corrección ambiental.

El análisis de los riesgos ambientales se realiza para proteger la salud humana y la biota de los peligros que puedan ocasionar la exposición a sustancias peligrosas presentes en el medio ambiente. Este análisis es una técnica multidisciplinaria que incluye ciencias como la toxicología, la epidemiología, la ingeniería, la psicología, la higiene industrial, la seguridad ocupacional e industrial, la evaluación del impacto ambiental, entre otras.

Este análisis conlleva el desarrollo de metodologías técnicas, dentro de las cuales podemos sugerir:

- *Identificación del riesgo:* se trata de establecer si existe peligro para la salud humana o para el ecosistema y, de existir, dimensionar su alcance toxicológico.

- *Estimación de la exposición:* estudiar el grado de contacto que pueda llegar a tener el tóxico con los humanos y con la biota.
- *Descripción de la ruta de exposición:* se debe estudiar la fuente, la posibilidad de transformarse físicamente (volatilización, precipitación, entre otras), distribución, transferencias a otros medios (agua, suelo, subsuelo) y exposiciones futuras.

De acuerdo a la información recolectada, se debe empezar por desarrollar una metodología de trabajo que conlleve a la aplicación de técnicas de limpieza, para lo cual se debe tener en cuenta:

- Caracterización del sitio.
- Aspectos legales y normativos.
- Disponibilidad de tecnologías adecuadas para tratar el problema.

De esta manera, el proceso de limpiar el sitio afectado por el vertimiento debe estar justificado y diseñado. Así, se tendrá una visión global del proyecto, el cual consta de:

- Una estimación preliminar de la complejidad del proyecto.
- Modelo conceptual, en donde se considere la fuente de contaminación, rutas de exposición y receptores potenciales.
- Identificación de información:
 - Información necesaria.
 - Forma de recolectar esta información.
- Actividades: modelaje sitio específicas.
 - Identificación fisiográfica del sitio y de las poblaciones humanas y bióticas relacionadas con él.
 - Análisis técnica del tipo de remediación a implementar.
- Estudios de viabilidad técnica y económica.
- Definición de las metas iniciales de restauración.
- Aspectos legales.

- Aceptación por las autoridades locales.
- Aceptación por la comunidad.

En el caso de vertidos en ríos urbanos, se recomienda establecer métodos de contingencia, para eliminar de manera manual la mayor cantidad de contaminante posible, el cual debe ser dispuesto en bolsas rojas como residuo peligroso y como tal debe ser tratado.

Igualmente, se debe determinar qué tecnología de limpieza se debe utilizar en el sitio de acuerdo a sus características, no solo topográficas, sino arqueológicas y urbanas. Normalmente se recomienda la implementación de tecnologías recientes, lo cual tiene el propósito de trabajar en la eliminación de riegos para la salud y en la conservación de la calidad del medio ambiente.

Las tecnologías de restauración se clasifican en dos grandes grupos:

- *Técnicas tradicionales:* inmovilización por vitrificación y cementación en instalaciones de confinamiento e incineración de medios contaminados en hornos de cremación de residuos tóxicos.
- *Técnicas innovadoras:*
 - Métodos biológicos: biorrestauración (*in situ* de acuíferos subterráneos, *ex situ* de agua subterránea, *ex situ* de suelo, fitorrestauración, fitoextracción, rizofiltración, fitodegradación, fitovolatilización), biorremediación (atenuación natural, bioestimulación, bioaumentación).
 - Métodos químicos: deshalogenación, polietilenglicol-potasa, deshalogenación catalítica.
 - Muros de tratamiento: barreras de precipitación, barreras de porción.
 - Extracción: enjuague del suelo *in situ*, lavado del suelo, extracción con disolventes.



- Técnicas de control: barreras impermeables, paredes con tortas filtrantes, paredes de mortero o metálicas.

5 Bibliografía

Atlas, R. M. y Unterman, R. (1999). "Bioremediation", en: A. L. Demain y J. E. Davies (eds.), *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2nd ed., Washington D.C.: ASM Press, pp. 666-681.

Boulding, R. (2003). *Practical Handbook of Soil, Vadose Zone and Ground-Water Contamination: Assessment, Prevention and Remediation*. 2nd ed., CRC Press.

González-Rojas (2009). *Técnicas de biorremediación en litorales afectados por el vertido de Fuel pesado del prestige*, Universidad de Oviedo, tesis doctoral.

Speight, J. G. (2001). *Handbook of Petroleum Analysis*. New York: John Wiley and Sons Inc.

Viñas, M. et ál. (2002). "Biodegradation of a crude oil by three microbial consortia of different origins and metabolic capabilities", en: *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 28, pp. 252-260.

Watanabe, K. (2001). "Microorganisms relevant to bioremediation", en: *Current Opinion in Biotechnology*, 12, pp. 237-241.