

# Efecto de los Solventes en la Biodegradación de Diesel en un Sistema de Suelo en Suspensión

Ing. Rafael Hernández Hernández\*;  
Mtra. Gabriela Zafra Jiménez\*;  
Mtra. Rosario Peralta Pérez\*;  
Mtra. Aurora Martínez Trujillo\*, y  
Mtra. Mayola García Rivero\*.



## Resumen

**E**n un microcosmo de suelo en suspensión, se estudió el efecto de solventes polares: alcohol etílico, alcohol butílico y acetona, para la biodegradación de diesel y de la fracción de compuestos aromáticos del mismo, en un suelo contaminado artificialmente. En el primer caso, un control sin solvente, la concentración inicial de hidrocarburos (44,000 mg/k) de suelo, disminuyó un 30%. Con la adición de solventes no se observó el efecto esperado. Para eliminar la fracción de compuestos alifáticos del suelo contaminado, éste se sometió a un tratamiento térmico a 90° C por 10 días. En este caso, se observó que en 30 días de cultivo la concentración de hidrocarburos (24,700 mg /kg) de suelo, disminuyó un 48% cuando se adicionó acetona, que es tres veces la biodegradación obtenida en el control sin solvente.

## Acerca de los autores...

\* Investigador de la División de Química y Bioquímica del Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec.

## Introducción

Durante la biodegradación de hidrocarburos, los componentes de una mezcla no son consumidos con la misma velocidad. En un biorreactor de suelo en suspensión, se presentan dos etapas de biodegradación: una fase inicial rápida, seguida de una de remoción lenta de los compuestos (Huesemann, 1997). La segunda etapa, es comúnmente atribuida a factores físicos, como la difusión en las partículas de suelo o una fuerte sorción en la materia orgánica. Como consecuencia, después de la fase inicial, cuando ha ocurrido una degradación apreciable, la concentración de hidrocarburos tiende a estabilizarse en un cierto valor, que se denomina *concentración residual*. Se debe considerar también que la acumulación de compuestos residuales puede atribuirse al carácter recalcitrante, es decir, la resistencia a la degradación biológica, (Gray *et al*, 2000).

En el caso del diesel, la lenta biodegradación observada es consecuencia de la sorción en la fracción mineral y en el humus del suelo (Cookson, 1995), además de la limitación en la transferencia de masa del suelo hacia la fase acuosa. Por tanto, la biodegradación puede incrementarse mediante un tratamiento químico con surfactantes o solventes, sin embargo, se ha demostrado (Yerushalmi, 2003) que la adición de ellos no incrementa la biodegradación de hidrocarburos del diesel en el suelo; de igual forma, se han encontrado resultados contradictorios y diversas dificultades en su aplicación (Liu *et al*, 1995).

La adición de solventes puede incrementar la desorción de hidrocarburos del suelo e incluso aumentar la solubilidad en la fase líquida. Por ejemplo, Jiménez y Bartha (1996) emplearon diversos solventes, tales como aceite de parafina. Villemur y col. (2000) usaron aceite de silicón para mejorar la biodegradación de HPA. En un trabajo reciente, nosotros empleamos tolueno (García *et al*, 2003) para mejorar la biodegradación de hidrocarburos intemperizados en un sistema de suelo en suspensión. Todos estos estudios demuestran la factibilidad del uso de solventes para acrecentar la biodegradación de hidrocarburos del suelo.

El objetivo del presente trabajo fue incrementar la biodegradación de hidrocarburos residuales mediante la adición de solventes que permiten reducir las limitaciones en la transferencia de masa en un sistema de suelo en suspensión. Se empleó al diesel como modelo de estudio, debido a que es una mezcla pesada con alta capacidad de sorción en el suelo y porque contiene HPA potencialmente tóxicos.

## Materiales y métodos

**Suelo contaminado.** El suelo que se utilizó fue contaminado con diesel fresco para tener una concentración de 40,000 mg/kg SS (suelo base seca). Se mantuvo a temperatura ambiente durante seis meses y se conservó en refrigeración. Para simular el consumo de compuestos rápidamente asimilables, el suelo se mantuvo a 90° C durante 10 días.

**Microorganismos.** Se empleó un consorcio microbiano, que fue aislado de la rizosfera de una planta nativa (*Cyperus Laxus Lam*), la cual crecía en un sitio próximo a una refinería del estado de Veracruz. Se le tuvo en un medio líquido, en cultivo batch, con medio mineral usando diesel como única fuente de carbono.

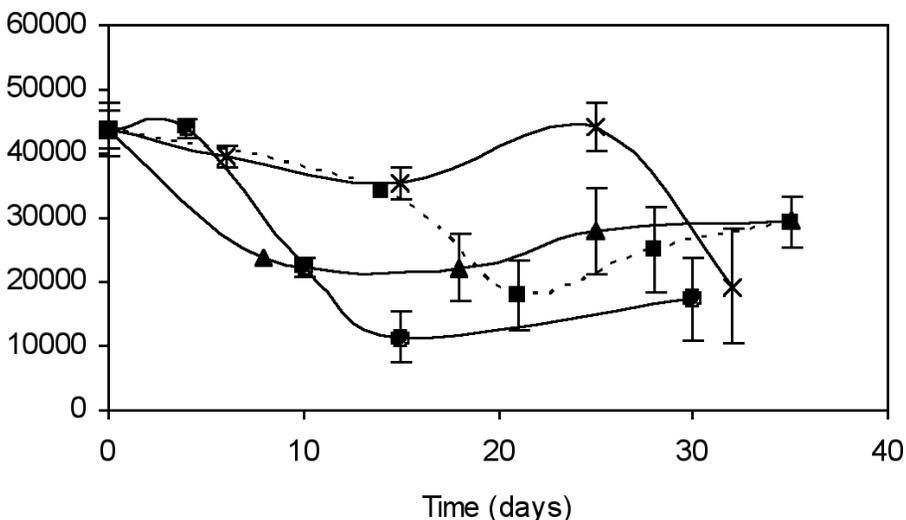
**Experimentos de biodegradación.** Los ensayos de biodegradación se realizaron por duplicado en frascos serológicos de 120 ml, cerrados herméticamente con septos de teflón. Los frascos contenían 30 ml de medio mineral, 9 g de suelo contaminado seco y el solvente indicado. Los solventes utilizados (grado reactivo) fueron: acetona, etanol y butanol; se adicionaron en una concentración de 8,780 mg de solvente /kg SS. Los frascos fueron incubados a 135 rpm y 30° C durante 30 días. Periódicamente se reemplazó la fase gaseosa de los frascos, para evitar la acumulación de CO<sub>2</sub>.

**Procedimiento de extracción.** La fase líquida de las muestras fue eliminada por filtración y el suelo se dejó secar a temperatura ambiente. Los hidrocarburos residuales fueron extraídos del suelo por reflujo, con cloruro de metileno, durante ocho horas.

**Métodos analíticos.** Los hidrocarburos fueron determinados por Cromatografía de gases mediante un Cromatógrafo Varian 3800, equipado con una columna capilar AT-5 y un Detector de Ionización de Flama. La concentración del contaminante fue cuantificada usando diesel mexicano como estándar.

## Resultados y discusión

**Hidrocarburos residuales.** La concentración de los hidrocarburos residuales durante el tratamiento, se muestra en la Figura 1. Para el control sin solvente, el diesel fue rápidamente consumido al inicio del ensayo, alcanzando una concentración de 17,000 mg/kg de suelo en los 30 días de cultivo. Se sabe que la fracción más ligera del diesel, que corresponde a casi el 50% de los compuestos, es rápidamente consumida, por lo que se puede suponer que los compuestos residuales son alcanos ramificados y HPA (Nocentini *et al*, 2000).

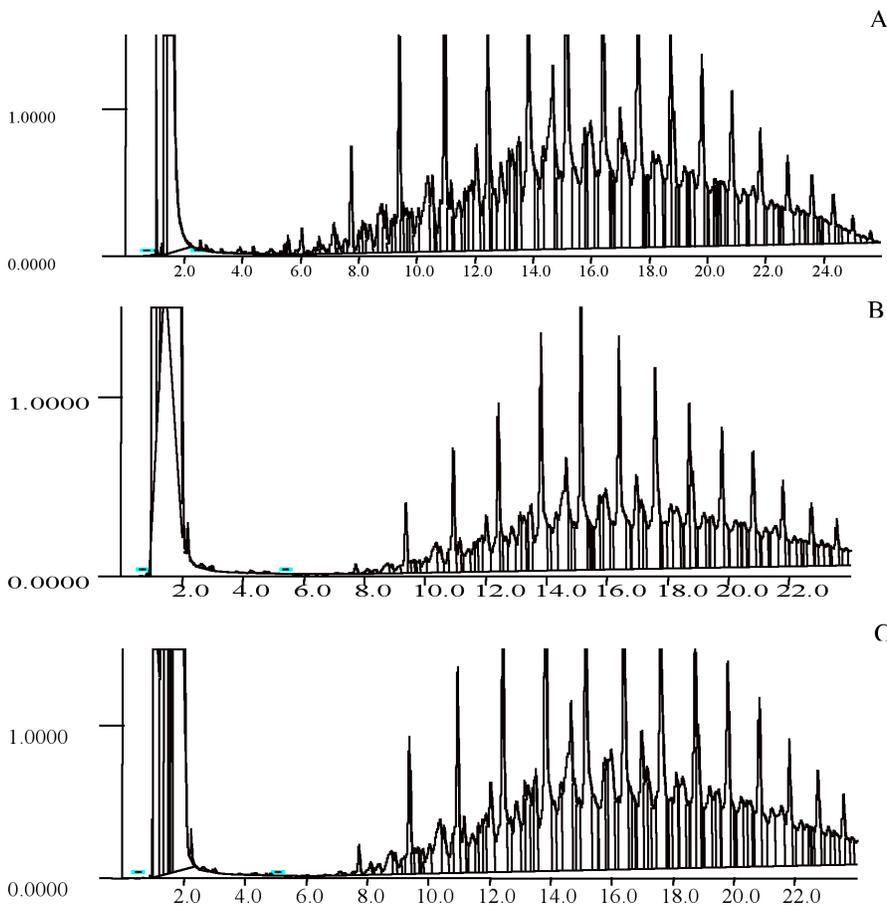


**Figura 1.** Efecto de los diferentes solventes en la biodegradación de hidrocarburos en un sistema de suelo en suspensión: (●) control sin solvente, (<) acetona, (5) etanol y (r) butanol, se adicionaron a una concentración de 8,780 mg/kg de suelo.

Con la adición de solventes, no se consiguió el efecto esperado, pues al agregar etanol o acetona la degradación de hidrocarburos fue menor a la obtenida en el control sin solvente, 33% en ambos casos. Aunque se presentó el mismo perfil de biodegradación: un consumo rápido en los 15 días iniciales, seguido de un decremento de la velocidad de consumo (Huesmann, 1997).

Probablemente por tratarse de solventes más polares que los hidrocarburos, no promovieron la transferencia de masa del suelo hacia la fase líquida. Incluso dichos solventes podrían haber favorecido la sorción de los compuestos en el suelo. Otro aspecto que debe considerarse, es que el diesel se integra en un 70% de compuestos alifáticos; en un trabajo previo, se demostró (García, 2003) que algunos solventes no favorecen el consumo de compuestos alifáticos de un suelo intemperizado altamente contaminado. Lo cual justificaría los resultados obtenidos.

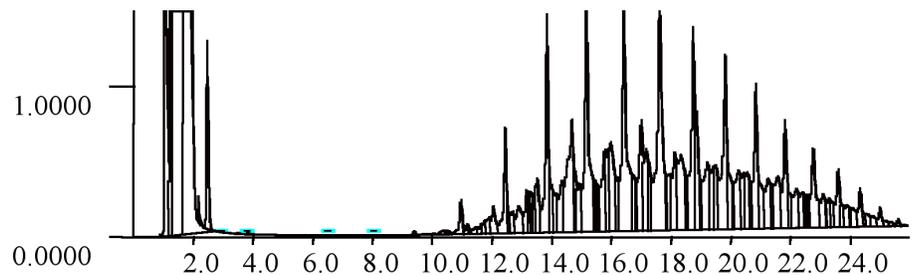
Cuando se añadió butanol, el perfil de hidrocarburos residuales fue diferente, en los 10 días iniciales se presentó un mínimo consumo, para alcanzar una degradación del 55% en los 30 días de cultivo. Alexander y Alexander (2002) sugirieron que el butanol extrae los HPA disponibles de un suelo intemperizado. En este caso, no se observó el efecto positivo, ya que la concentración residual corresponde a la de los compuestos HPA, como se mencionó anteriormente y los cromatogramas obtenidos, véase Figura 2, indican que dichos compuestos están presentes en los hidrocarburos residuales.



**Figura 2.** Perfil de la cromatografía de gases de los extractos de biodegradación de un suelo contaminado con diesel. (A) concentración original y al final de la prueba, cuando se adicionó (B) butanol y (C) control sin solvente.

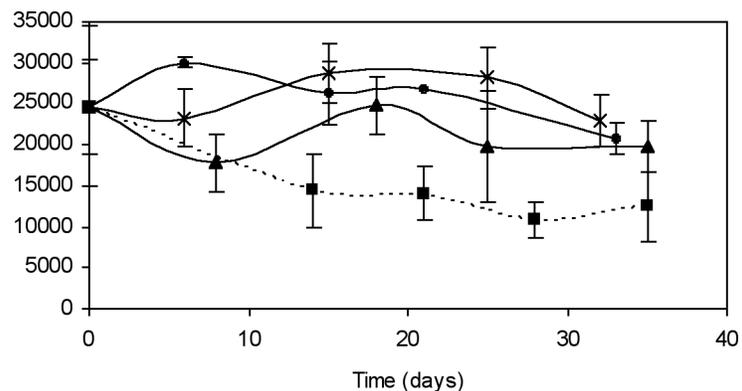
Los resultados sugieren que la adición inicial de solventes no tiene efecto sobre el consumo de los compuestos poliaromáticos y alifáticos de elevado peso molecular. Sin embargo, es probable que los solventes sí tengan un efecto positivo si se adicionan cuando se alcanza la concentración residual.

Con el fin de simular el consumo de la fracción fácilmente asimilable, el suelo contaminado se sometió a un tratamiento térmico, manteniéndolo a 90° C durante 10 días; el cromatógrama del extracto obtenido (Figura 3), demuestra que efectivamente se removieron los poliaromáticos y alifáticos de bajo peso molecular. Como concentración inicial se determinó 24,700 mg/kg SS.



**Figura 3.** Perfil de la cromatografía de gases de un extracto de hidrocarburos del suelo sometido a tratamiento térmico.

Los resultados de la biodegradación de hidrocarburos del suelo sometido a tratamiento térmico se muestran en la Figura 4. Se observa que en el control sin solvente hubo un mínimo consumo de hidrocarburos, 16% en 30 días de tratamiento.



**Figura 4.** Biodegradación de diesel, del suelo sometido a tratamiento térmico, en sistema de suelo en suspensión cuando se adicionó (<) acetona, (5) etanol, (r) butanol y control sin solvente (\*).

La adición de acetona sí promovió el consumo de los hidrocarburos residuales al tratamiento térmico. Al igual que en las gráficas descritas anteriormente, no se observa fase estacionaria y ocurrió un consumo continuo de hidrocarburos, aunque la tendencia parece indicar que alcanzó una concentración residual de aproximadamente 10,000 mg/kg SS. Los resultados se explican debido a que la acetona tiene una menor polaridad y podría ser más similar a la polaridad de la mezcla de hidrocarburos, es decir, facilita la extracción de los compuestos y su disolución en la fase líquida.

Cuando se añadió etanol o butanol no se incrementó significativamente el consumo de hidrocarburos con respecto al control sin solvente, en promedio la degradación fue de 13.5% en 30 días de cultivo, siguiendo el perfil descrito con anterioridad. Estos resultados también pueden explicarse basándose en la polaridad de los solventes y la polaridad de la mezcla de hidrocarburos.

## Conclusiones

Los resultados obtenidos indican que la disponibilidad de los hidrocarburos residuales puede mejorarse mediante la adición de solventes, una vez que se ha alcanzado la concentración residual en un sistema de suelo en suspensión. Estos resultados sugieren también, que es posible implementar un tratamiento térmico seguido de una degradación biológica, lo que permitiría acortar los tiempos de tratamiento.

## Referencias...

- Alexander, R. y Alexander, M. (2000). "Bioavailability of genotoxic compounds in soil". *Environ. Sci. Technol.*, 34:1859-1593.
- Cookson, J.T. Jr. 1995. *Bioremediation Engineering: Design and Application*. Mc-Graw Hill, Inc. New York, 524 pp.
- García-Rivero, M. (2003). Transferencia de masa y biodegradación de hidrocarburos de un suelo intemperizado en un cultivo de suelo en suspensión. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapala, México D.F.
- Gray, M., Banerjee, D., Dudas M. and Pickard M. (2000). "Protocols to enhance biodegradation of hydrocarbon contaminants in soil". *Biorem. J.*, 4:249-257.
- Hamed T.A., Bayraktar, E., Mehmetoğlu, U. and Mehmetoğlu, T. (2004). "The biodegradation of benzene, toluene and phenol in a two phase system". *Biochem. Engin. J.* 19:137-146.
- Huesmann, M.H. (1997). "Incomplete hydrocarbon biodegradation in contaminated soils: limitation in bioavailability or inherent recalcitrance?". *Biorem. J.*, 1:27-39.
- Jiménez, I. and Bartha, R. (1996). "Solvent-augmented mineralization of pyrene by a *Mycobacterium* sp". *Appl. Environ. Microbiol.* 31:2311-2316.
- Liste, H. and Alexander, M. B. (2002). "Butanol extraction to predict bioavailability of PAHs in soil". *Chemosph.* 46:1011-1017.
- Liu, Z., Jacobson, A. and Luthy, R. (1995). "Biodegradation of naphthalene in aqueous nonionic surfactant system". *Appl. Environ. Microbiol.* 61:145-151.
- Nocentini, M.; Pinelli, D. y Fava, F. (2000). "Bioremediation of a soil contaminated by hydrocarbon mixtures: the residual concentration problem". *Chemosph.* 41:1115-1123.
- Villemur, R., Déziel, E., Benachenhou, A., Marcoux, J., Gauthier, E., Lépine, F., Beaudet, R. and Comeau, Y. (2000). "Two liquid-phase slurry bioreactors to enhance the degradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons in soil". *Biotechnol. Prog.* 16:966-972.
- Yerushalmi, L., Rocheleau, S., Cimpoaia, R. Sarrazin, M., Sunahara, G., Peisajovich, A. Leclair, G., and Guiot, S. (2003). "Enhanced biodegradation of petroleum hydrocarbons in contaminated soil". *Biorem. J.* 7:37-51.