

**Ensayo de Biorremediación Asistida de Suelos Contaminados con Hidrocarburos de Petróleo
en la Patagonia Sur de la Argentina.**

Ing. Carlos Moreno Andrade – Ing. Livio Daniel Gismondi

Petrobras Energia S.A.

Carlos.moreno@petrobras.com
Livio.gismondi@petrobras.com

Sinopsis:

Variadas son las experiencias realizadas, utilizando bacterias para la degradación de hidrocarburos de petróleo en suelos. La biorremediación es una herramienta efectiva para mejorar la degradación de contaminantes en suelo (Lucas y col. 2008)

Ensayos como los realizados en la Antártica, utilizando bacterias psicrófilas (Lucas y col. 2008) demostraron una importante eliminación abiótica de los contaminantes que osciló entre el 40 % y el 60% de las cargas iniciales, los resultados que obtuvieron fueron favorables también para suelos con contaminación aguda y sistemática.

Teniendo como base esta información, se realizó en el Yacimiento Campo Boleadoras, en la provincia de Santa Cruz, operado por Petrobras Energía S.A., un ensayo de biorremediación, utilizando 1000 m³ de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo, con la finalidad de revalidar la eficiencia de la técnica de tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburo por biorremediación asistida en zonas de bajas temperaturas. La prueba se realizó utilizando microorganismos aeróbicos, predominando bacterias del género *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Arrobacter*, *Bacillus*; protozoos y hongos del género *Aspergillus* y *Oidium*.

El ensayo se inició a finales del verano para evaluar la respuesta del tratamiento en la condición más adversa climática que se presenta en el área de estudio. Entre los meses de abril y agosto, con temperaturas promedio de 3.4 °C se alcanzó una disminución de la concentración de contaminantes aproximada del 62,77%, corroborando de esta forma los resultados obtenidos a bajas temperaturas en la región antártica.

Introducción

En el año 1922, se da inicio a la actividad de explotación de hidrocarburos en el sur de la provincia de Santa Cruz, 71 años transcurrieron desde el inicio de la actividad petrolera en la provincia para la entrada en vigencia de la primera norma de regulación ambiental, siendo esta una condición particular que permitió la acumulación de suelos contaminados con hidrocarburo en el transcurso del tiempo.

En virtud de esta problemática, se iniciaron tareas de investigación para aplicar técnicas de remediación que permitan revertir la problemática actual, teniendo como premisa la aplicación de métodos sustentables desde el punto de vista técnico y económico, dado a que la ubicación de los yacimientos en la zona sur de la provincia se caracterizan por la dispersión geográfica, el clima y la heterogeneidad de los suelos.

El objetivo del presente trabajo fue analizar la eficiencia del método de biorremediación asistida utilizando microorganismos aeróbicos priorizando la realización in situ de los mismos.

Desarrollo

Metodología / Etapas del tratamiento

El ensayo se inició en el mes de febrero de 2009 con un volumen de suelo aproximado de 1000 m³ proveniente de distintos yacimientos de la operación de Petrobras Energía S.A., con el fin de evaluar el comportamiento de la biorremediación en la condición climática más adversa de la zona (entre los meses de abril y agosto, con temperaturas promedio de 3.4 °C).

Para la realización del tratamiento se utilizó un predio adecuado bajo las exigencias del Decreto Reglamentario 712, Anexo X de la Ley Provincial 2567 Residuos Peligrosos.

El suelo contaminado se distribuyó en un espesor de aproximadamente 30 a 40 cm, utilizando maquinaria agrícola (tractor con implementos: arado y pala niveladora) permitiendo el secado del suelo por exposición de su superficie al aire y al sol con el fin de obtener una homogenización de los suelos.



Una vez que el suelo fue mezclado y homogeneizado, con un valor óptimo de humedad, se procedió a la trituración del mismo para lograr el tamaño de partícula adecuado para el armado de las biopilas, las cuales fueron armadas en capas sucesivas de 20 a 30 cm de espesor de suelo contaminado, aplicando nutrientes (fósforo y potasio) en forma de fertilizante y una inoculación con biopreparados mediante riego, hasta lograr la altura y geometría definitiva de la biopila.



Se construyeron 4 biopilas totalizando un volumen aproximado – de acuerdo al esponjamiento inicial – de 1100 m^3 . A los efectos de mantener la oxigenación y los valores de humedad óptimos para el proceso y el desarrollo de los microorganismos activos, se procedió al riego con inóculo bacteriano de las biopilas con frecuencia semanal.

Con la premisa de no incorporar especies foráneas, se realizó la determinación cuantitativa de microflora autóctona. La población promedio de los microorganismo se encontró entre $2,5 - 5,5 \times 10^5$ y $1,3 - 3,4 \times 10^4$ ejemplares.

Debido a la compactación paulatina originada en las operaciones de riego, se realizaron 3 aperturas y volteo previo al periodo invernal, devolviendo a la masa de suelo el esponjamiento y la capacidad de oxigenación de la biomasa.



Muestreo:

Se realizaron 6 (seis) muestreos con una frecuencia mensual, extrayendo 44 (cuarenta y cuatro) muestras en cada uno para determinación de los siguientes parámetros:

- Hidrocarburos totales de petróleo mediante técnica EPA 418.1 (a todas las muestras).
- Todos los analitos de la Tabla 9 del Anexo II del Decreto 831/93 Reglamentario de la Ley N° 24051 de Residuos Peligrosos que indica los Niveles Guía de Calidad de Suelos para diferentes usos (en el muestreo inicial a un pool conformado por cada biopila, luego un pool conformado por todas las muestras y solamente aquellos analitos que hayan dado en el muestreo inicial valores por encima del límite para uso agrícola).

Las concentraciones iniciales de hidrocarburos en suelos rondaron un promedio del 7,2%, 7,9%, 6,0% y 4,7% para las biopilas 1, 2, 3 y 4 respectivamente.



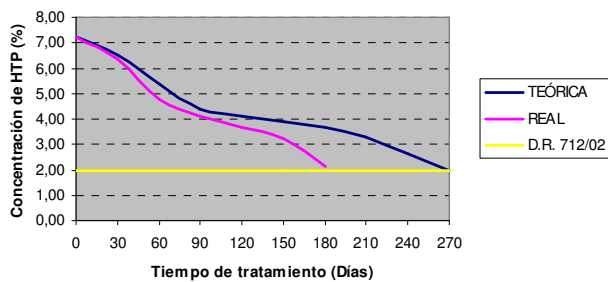
Se observó el desarrollo de colonias de hongos autóctonos en 2 de las 4 biopilas, distribuidas en toda la masa de suelo. Estos hongos requieren para su desarrollo de condiciones mucho más rigurosas que los microorganismos que conforman el inóculo, por lo que se presume que el desarrollo bacteriano es óptimo, presunción que espera confirmarse mediante el análisis microbiológico del suelo.



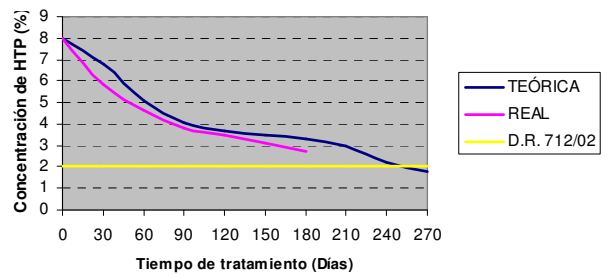
Evolución de la degradación:

En los siguientes gráficos se puede apreciar el avance de la biorremediación durante 180 días de tratamiento, observando en el intervalo de 90 a 180 días la degradación de hidrocarburo que corresponde al periodo invernal del año 2009, donde la temperatura promedio fue de 3,4 °C.

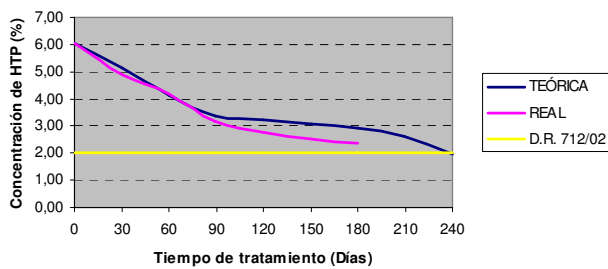
CURVA DE DEGRADACIÓN TEÓRICA - BIOPILA Nº 1
COMPARATIVA CON EVOLUCIÓN REAL



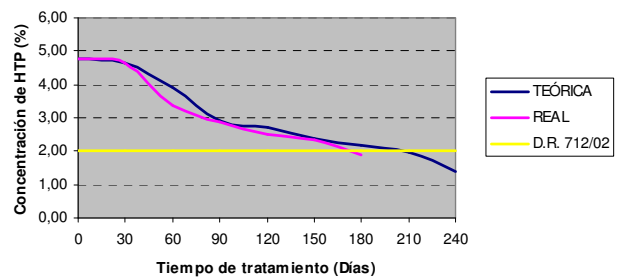
CURVA DE DEGRADACIÓN TEÓRICA - BIOPILA Nº 2
COMPARATIVA CON EVOLUCIÓN REAL



CURVA DE DEGRADACIÓN TEÓRICA - BIOPILA Nº 3
COMPARATIVA CON EVOLUCIÓN REAL



CURVA DE DEGRADACIÓN TEÓRICA - BIOPILA Nº 4
COMPARATIVA CON EVOLUCIÓN REAL



Validación de la información:

Dada la cantidad de muestras realizadas durante los primeros 150 días de tratamiento, se procedió a realizar un análisis para establecer si la media aritmética de concentraciones de cada biopila era una variable representativa del estado real de la misma, y cuál era el grado de certidumbre acerca del avance de la degradación en función de los resultados obtenidos.

Para ello se realizó un procedimiento de análisis de varianza – ANOVA – que utiliza una sola variable numérica medida en los elementos de la muestra para probar la denominada Hipótesis Nula de Igualdad de Medias Poblaciones. Para nuestro caso, esta variable es la concentración de hidrocarburos totales de petróleo.

La hipótesis nula que se prueba en el ANOVA es que las poblaciones que se estudian tienen el mismo valor de la media (μ) para la variable dependiente. La hipótesis nula (H_0) en ANOVA es:

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 \dots = \mu_n$$

En la prueba ANOVA, se reúne evidencia muestral de cada población bajo estudio y se usan estos datos para calcular un factor estadístico muestral, F . Después se lo compara con un factor estadístico muestral crítico, F_C . Si $F > F_C$, se contradice la hipótesis nula y se rechaza; de lo contrario se acepta.

En el caso bajo estudio, las representaciones materiales de los términos estadísticos mencionados son las siguientes:

- **Variable numérica medida:** concentración de hidrocarburos totales de petróleo en el suelo bajo tratamiento.
- **Muestra:** la totalidad de los resultados analíticos de las muestras de suelo.
- **Población de datos:** Los resultados analíticos de las muestras de suelo obtenidos en cada muestreo mensual.
- **Media poblacional:** promedio de concentraciones de HTP de cada biopila determinado en función de los muestreos mensuales.

En términos reales, el análisis de ANOVA permitió establecer que los promedios de concentración mensuales de cada biopila son un parámetro acertado para calcular avance en el proceso, con un error del 0,01%.

Se presentan a continuación, a modo de ejemplo, los resultados obtenidos para la Biopila N° 1, que son similares a los obtenidos para las demás biopilas.

La hipótesis nula en este caso es que los promedios de concentración son suficientemente diferentes al inicio del tratamiento respecto a los resultados obtenidos a los días de tratamiento considerados en cada caso, como para considerar válido el avance desde el punto de vista estrictamente estadístico.

Primer caso de estudio: Avance inicial del proceso

Se consideraron los resultados obtenidos en el muestreo correspondiente a los primeros 30 días de tratamiento respecto a los resultados iniciales.

Los resultados obtenidos son:

Análisis de varianza - Biopila 1 - Avance de proceso a los 30 días de tratamiento						
RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Concentración inicial HTP	12	86,918	7,243166667	3,196065788		
Concentración HTP a 30 días	12	76,362	6,3635	4,383054636		
ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	4,642880667	1	4,642880667	1,225176645	0,280303592	14,38025502
Dentro de grupos	83,37032467	22	3,789560212			
Total	88,01320533	23				

El valor de F resultó menor que el valor crítico para F , por lo tanto la hipótesis se descartó y el avance del proceso debió ser reconsiderado.

El proceso en este período no ha sido del todo efectivo. Esta es una cuestión lógica y puede ocurrir debido a que el inóculo de bacterias atravesó durante este período una fase estacionaria de adaptación (lag phase), en la cual se están sintetizando las nuevas enzimas y rutas metabólicas para poder biodegradar los hidrocarburos.

Segundo caso de estudio: Avance del proceso a los 60 días

Se consideraron los resultados obtenidos en el muestreo correspondiente a los primeros 60 días de tratamiento respecto a los resultados iniciales.

Los resultados obtenidos son:

Análisis de varianza - Biopila 1 - Avance de proceso a los 60 días de tratamiento						
RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Concentración inicial HTP	12	86,918	7,243166667	3,196065788		
Concentración HTP a 30 días	12	76,362	6,3635	4,383054636		
Concentración HTP a 60 días	12	56,9035	4,741958333	1,716288748		
ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	38,63701579	2	19,3185079	6,234854498	0,005047358	5,451754985
Dentro de grupos	102,2495009	33	3,098469724			
Total	140,8865167	35				

El valor de F resultó mayor que el valor crítico para F , por lo tanto la hipótesis se comprobó y el avance del proceso se consideró válido.

La biodegradación de los hidrocarburos comenzó a generar una disminución en la concentración de los mismos. A diferencia del período anterior considerado, se puede aseverar con un 99,99% de certeza que el avance fue del 34,53 %. Esto es esperable, ya que se superó el lag phase y los microorganismos se encuentran mejor adaptados a este tipo de suelos, y que las nuevas enzimas y rutas metabólicas empiezan a ser utilizadas por las diferentes especies incorporadas a través el inóculo bacterianas.

Tercer caso de estudio: Avance del proceso a los 150 días

Se consideraron los resultados obtenidos en el muestreo correspondiente a los primeros 150 días de tratamiento respecto a los resultados iniciales.

Los resultados obtenidos son:

Análisis de varianza - Biopila 1 - Avance de proceso a los 150 días de tratamiento						
RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Concentración inicial HTP	12	86,918	7,243166667	3,196065788		
Concentración HTP a 30 días	12	76,362	6,3635	4,383054636		
Concentración HTP a 60 días	12	56,9035	4,741958333	1,716288748		
Concentración HTP a 90 días	12	49,43	4,119166667	1,302135606		
Concentración HTP a 120 días	12	44,34	3,695	0,852281818		
Concentración HTP a 150 días	12	38,945	3,245416667	0,541018265		
ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F

Entre grupos	149,479199	5	29,8958398	14,9593328	8,4032E-10	4,69233427
Dentro de grupos	131,8992935	66	1,998474144			
Total	281,3784925	71				

El valor de F resultó mayor que el valor crítico para F , por lo tanto la hipótesis se comprobó y el avance del proceso se consideró válido.

En forma análoga al caso anterior, se puede establecer con un 99,99% de certeza que el avance del proceso es del 55,19% de degradación.

Si se observan los valores de F y F_C , se observa que la diferencia es mucho mayor que el caso anterior. Esto implica una mayor certeza y un proceso más acentuado de degradación.

Conclusiones

- Se alcanzó una disminución de la concentración de contaminantes aproximada del 62,77%, corroborando de esta forma los resultados obtenidos a bajas temperaturas en la región antártica (Lucas y col.2008)
- En función de los resultados alcanzados en el ensayo realizado, se demuestra la eficiencia de la técnica de biorremediación asistida en la zona sur de la provincia de Santa Cruz, Argentina.

Referencias

Desler S.A., Agosto de 2008, Propuesta Técnica Tratamiento de Suelos

Desler S.A., Abril de 2009, Informe de Avance

Desler S.A., Mayo de 2009, Informe de Avance.

Desler S.A., Junio de 2009, Informe de Avance

Desler S.A., Julio de 2009, Informe de Avance

Desler S.A., Agosto-Septiembre de 2009, Informe de Avance

Desler S.A., Octubre de 2009, Informe de Avance

Desler S.A., Noviembre de 2009, Informe de Avance

Lucas y Col, 2008, Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos utilizando bacterias antárticas sicrotolerantes.

Reconocimientos

Los autores de este trabajo quieren agradecer especialmente a:

Ing. Darío Edgardo Dube – Petrobras Energía S.A.

Ing. Carlos Dingevan – Desler S.A.

Agr. Mario Abel Díaz – Secretaría de Medio Ambiente de la provincia de Santa Cruz.

Ing. Alejandra Wladimirsky – Secretaría de Medio Ambiente de la provincia de Santa Cruz.