

## CAPÍTULO 14

### Suelos contaminados con hidrocarburos: un caso de estudio

Romina Romaniuk<sup>1</sup>, Lidia Giuffré,<sup>2</sup> Alejandro Costantini<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Suelos, INTA Castelar.

<sup>2</sup>Cátedra de Edafología, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.

\*Email: romaniuk.romina@inta.gob.ar

#### Introducción

Los hidrocarburos derivados del petróleo representan una fuente importante de energía para el hombre y son, a su vez, una importante fuente contaminante del medioambiente (Verma *et al.*, 2006). A lo largo del siglo XX se ha registrado un rápido incremento en la superficie de suelos contaminados con hidrocarburos y sus derivados. La disposición final de inmensas cantidades de lodo aceitoso generadas en refinerías, así como los derrames accidentales de aceite, propone grandes desafíos para la remediación de esas superficies (Vasudevan y Rajaram, 2001).

La estructura de los hidrocarburos consta de una base de enlaces C-C y comprenden desde moléculas simples hasta aquellas de decenas o centenas de átomos de carbonos, enlazados ya sea como cadenas lineales, ramificadas o formando anillos. Un hidrocarburo que consta de una molécula compuesta de anillos de carbono se denomina hidrocarburo cíclico y aquellos que incluyen un ciclo no saturado se llaman hidrocarburos aromáticos (Dickinson, 1992). Los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA) son compuestos orgánicos complejos que contienen dos o más anillos aromáticos y son originados durante la combustión incompleta o pirólisis de materia orgánica común en diversos procesos, naturales o antropogénicos.

Los compuestos aromáticos son contaminantes ambientales comunes en sitios en los que han ocurrido derrames de petróleo. Desde el descubrimiento de su poder cancerígeno los HPA han sido estudiados con gran interés desde distintos puntos de vista. Se encuentran presentes en el aire, en el suelo y en el agua en diversas cantidades; algunos pueden ser contaminantes persistentes, particularmente en la matriz del suelo y sedimentos. Es por ello, que organismos internacionales tales como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Agencia de Protección Ambiental (EPA) han regulado el control de estas sustancias en el medioambiente (Amador Hernández *et al.*, 1999).

Los suelos contaminados contienen gran cantidad de microorganismos que pueden incluir bacterias y hongos capaces de utilizar hidrocarburos (Sutherland, 1992). Su presencia es claramente una ventaja debido a que la adición de microorganismos degradadores no autóctonos al suelo no siempre es exitosa por no estar adaptados a las condiciones físico-químicas del lugar.

La biodegradación de los hidrocarburos está asociada con el metabolismo y con el crecimiento microbiano, y por lo tanto cualquiera de los factores que afectan al crecimiento microbiano puede influenciar sobre la degradación. La tasa de degradación microbiana de hidrocarburos en suelos es afectada por varios parámetros fisicoquímicos y biológicos que incluyen: el número y tipo de microorganismos presentes, las condiciones de la actividad de degradación microbiana (presencia de nutrientes, oxígeno, pH, salinidad, temperatura), la calidad, cantidad y biodisponibilidad de los contaminantes, y características de la matriz del suelo como distribución de tamaño de partículas (Margesin y Schinner, 1997; Joseph, 1990). Existen estudios que indican la biodegradación de los hidrocarburos aromáticos y n-alcanos bajo condiciones aeróbicas (Ericsson *et al.*, 1998; Gallego *et al.*, 2001; Saliven *et al.*, 2004), mientras que otros trabajos realizados bajo condiciones anaeróbicas con cultivos de enriquecimiento y microcosmos muestran que los consorcios microbianos también pueden degradar hidrocarburos tales como tolueno (Elshahed y Langenhoff, 1997), alquil-benceno (Chen, 1997; Ball, 1996), benceno, naftaleno y fenantreno (Burland, 1999; Kazumi *et al.*, 1997; Meckenstock *et al.*, 2000; Coates *et al.*, 1996), n-alcanos mayores de C6 (So y Young, 2001), alcanos ramificados (Bregnard *et al.*, 1996), y mezclas de hidrocarburos (Grishchenkov *et al.*, 2000).

La mineralización microbiana de hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA) en suelos ha mostrado una disminución en la medida que aumenta el tiempo de residencia de los HPA (Hatzinger y Alexander, 1995). Algunos compuestos pueden ser adsorbidos por arcillas, limitando así su degradación. Las interacciones entre los HPA y la materia orgánica del suelo se indican como las responsables de la disminución en la degradación a través del tiempo (Alexander, 2000; Ehlers y Luthy, 2003). En ellas participan mecanismos de partición, adsorción, absorción, difusión, disolución, y uniones covalentes, lo cual limita la cantidad de contaminante envejecido disponible para la biodegradación.

Entre los métodos disponibles para estudiar la biodegradabilidad de un compuesto es importante el estudio de la liberación de CO<sub>2</sub>. Este método se basa en el principio de que bajo condiciones aeróbicas y adición de nutrientes, los microorganismos pueden metabolizar una sustancia hidrocarbonada a dos productos finales: CO<sub>2</sub> y agua (Zhang *et al.*, 1998).

La biodegradación por poblaciones nativas de microorganismos representa uno de los principales mecanismos para eliminar el petróleo y otros hidrocarburos contaminantes del ambiente (Tempest *et al.*, 1978). La técnica de biorremediación, basada en el potencial biodegradativo natural de un suelo, es comúnmente llamada atenuación natural o biodegradación intrínseca y está propuesta como una forma costo-efectiva de remediación de bajo riesgo (Margesin y Shinner, 2001). La optimización de estos procesos tiene importancia práctica para disminuir el tiempo de remediación y economizar costos de tratamiento. A continuación se presentan resultados obtenidos por Romaniuk (2006) donde se evaluó la degradación de los hidrocarburos en suelos mediante atenuación natural, y con el agregado de un producto comercial. A los fines del ensayo se utilizó aceite de cárter como fuente de hidrocarburos. También se evaluó el impacto sobre el pH, conductividad eléctrica y carbono total del suelo.

### **Caso de estudio: remediación y atenuación natural en suelos contaminados con aceite de cárter**

El aceite de cárter está compuesto por hidrocarburos alifáticos de cadena lineal e hidrocarburos policíclicos aromáticos, los cuales se destilan del petróleo crudo, y de varios aditivos para mejorar el rendimiento del aceite en el motor. También contiene metales como aluminio, cromo, cobre, hierro, plomo, manganeso, níquel, sílice y estaño, que provienen de partes del motor que se desgastan. Además, presenta pequeñas cantidades de agua, gasolina, anticongelante y sustancias químicas generadas por la combustión de la gasolina cuando esta se enciende dentro del motor. La alta periodicidad con que el aceite usado de cárter es removido del motor de los automotores genera grandes cantidades del producto que son volcadas anualmente al medioambiente. Cuando dicho aceite entra en contacto con el suelo, algunos de los hidrocarburos que contiene se adhieren a su superficie quedando inmovilizados, mientras que otros se evaporan rápidamente. Los hidrocarburos que no se evaporan suelen permanecer en el suelo durante mucho tiempo, ya que no se disuelven en agua y generalmente no se degradan. La mayoría de los metales que se encuentran en el aceite usado de cárter permanecen en el ambiente durante mucho tiempo, y por lo tanto, pueden acumularse en plantas, animales, suelo, sedimentos y en agua de superficie que no fluye.

La información acerca de los niveles de sustancias químicas en el ambiente que provienen de liberaciones de aceite usado de cárter es escasa. Existen estudios que indican niveles elevados de varios componentes del aceite usado en el polvo, agua

superficial, agua de escorrentía y tierra a lo largo de caminos en áreas industriales, comerciales y residenciales cerca de carreteras.

A los fines de estudiar el impacto de un posible vuelco o derrame de aceite de cárter a los suelos y su degradación en el tiempo se realizó un ensayo en macetas que contenían un suelo franco arcilloso, extraído del horizonte A de un Argiudol típico de una importante región productiva de Argentina. Se probó el efecto de la contaminación con aceite de cárter y el potencial de remediación de un producto comercial de formulación reservada, y que ha sido utilizado para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos (Cuadro 1). El nivel de contaminación aplicado fue del 25 % en peso. El diseño fue completamente aleatorizado y constó de tres repeticiones para cada uno de los cuatro tratamientos: suelo testigo sin contaminante ni producto comercial (T), suelo + producto comercial (T+X), suelo + aceite de cárter (A), suelo + aceite de cárter + producto comercial (A+X).

**Cuadro 1.** Algunas propiedades físicas y químicas del producto comercial.

	Densidad aparente ( $\text{gcm}^{-3}$ )	Superficie específica ( $\text{m}^2\text{g}^{-1}$ )	Absorción (%)	pH (1:2,5)	CE ( $\text{ds m}^{-1}$ )
Producto comercial	6	10	65	7,5	2

Se tomaron muestras el tiempo 0, y a los 15, 30, 60 y 180 días de comenzado el ensayo. Para cada momento de muestreo se determinaron los HCT (hidrocarburos totales), de acuerdo con EPA 3550/418.1 y la respiración microbiana (R) (Jenkinson y Powlson, 1976) a los fines de evaluar su degradación. También se realizaron las determinaciones de carbono orgánico total (C) (Nelson y Sommers, 1982), pH actual y conductividad eléctrica (CE) del suelo.

Se realizó un análisis de varianza y Test de Tukey para comparación de medias entre tratamientos.

## Resultados y Discusión

### Hidrocarburos totales del petróleo: evaluación de su degradación

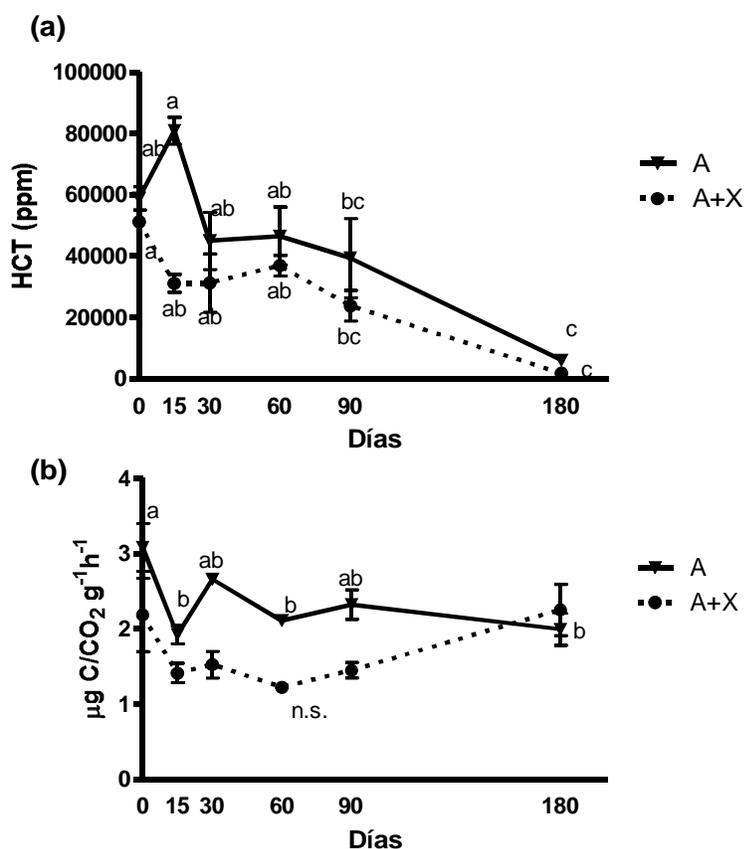
Los valores de HTP para T y T+X fueron significativamente menores que los encontrados para A y A+X en todos los tiempos de muestreo analizados (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Valores medios de hidrocarburos totales del petróleo (ppm) y diferencias encontradas entre tratamientos para los diferentes tiempos de muestreo analizados.

Tratamiento	Tiempo					
	0	15	30	60	90	180
A	58870 <b>b</b>	80892 <b>c</b>	44976 <b>b</b>	46543 <b>b</b>	39366 <b>b</b>	6076 <b>c</b>
A+X	51243 <b>b</b>	31140 <b>b</b>	31213 <b>b</b>	36839 <b>b</b>	23766 <b>ab</b>	1708 <b>b</b>
T	178 <b>a</b>	55 <b>a</b>	154 <b>a</b>	223 <b>a</b>	63 <b>a</b>	23 <b>a</b>
T+X	442 <b>a</b>	623 <b>a</b>	64 <b>a</b>	48 <b>a</b>	90 <b>a</b>	20 <b>a</b>

Letras diferentes indican diferencias significativas.  $P < 0,05$ .

Los valores de HTP fueron mayores para A que para A+X en todos los tiempos de muestreo, aunque dichas diferencias solo fueron estadísticamente significativas para los tiempos 15 y 180, con menores valores para A+X.



**Figura 1.** Evolución en (a) los valores de hidrocarburos totales del petróleo; y (b) respiración basal a lo largo del tiempo para los tratamientos A y A+X. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tiempos de muestreo para cada tratamientos.  $P < 0,05$ .

Para A, la mayor tasa de disminución de HTP se encontró entre los 15 y 30 días, lo cual coincide con el mayor aumento en la tasa de respiración encontrada para este mismo período (Figura 1). Entre el tiempo 30 y 60, los valores de HTP se mantuvieron estables. A partir de este período comenzaron a disminuir nuevamente, encontrándose disminuciones significativas entre los tiempos 60 y 180. La disminución en la tasa de degradación de hidrocarburos a partir de los 30 días puede explicarse por la transformación o incorporación de los hidrocarburos en la fase estable sólida del suelo, lo que limita su liberación hacia la fase líquida, quedando inaccesibles para los microorganismos, lo que provoca una disminución en la tasa de biodegradación (Ehlers y Luthy, 2003).

En el caso de A+X, la mayor tasa de disminución de HTP se encontró durante los primeros 15 días. Esto estaría principalmente asociado al movimiento químico de los hidrocarburos dentro de los microporos del producto, más que a su biodegradación, ya que para este mismo período se encontró una disminución en los valores de respiración.

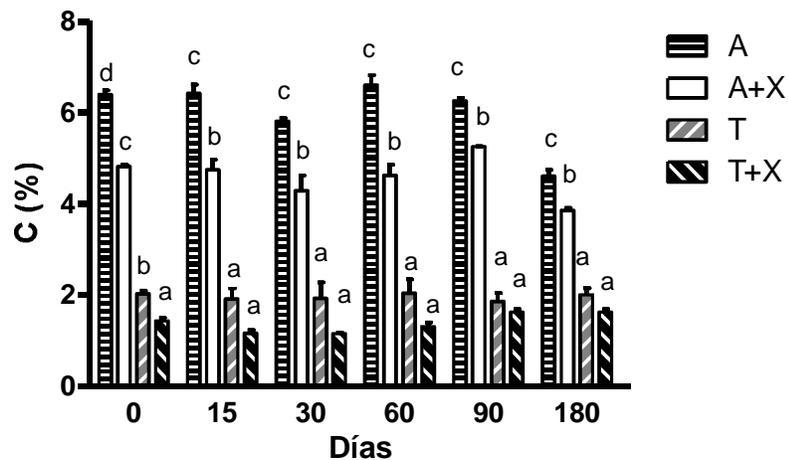
El suelo contaminado con aceite de cárter presenta los mayores valores de respiración a lo largo del ensayo. Esto se encuentra asociado a la utilización del C que forma parte de la estructura del aceite como fuente de energía por los microorganismos del suelo. A su vez, es sabido que los suelos contaminados con hidrocarburos contienen más microorganismos que los suelos no contaminados, pero su diversidad microbiana es más reducida (Messarch y Nies, 1997).

El agregado del producto al suelo contaminado y al testigo trajo aparejada disminuciones en los valores de respiración. Las diferencias encontradas entre tratamientos fueron mayores entre A y A+X, con diferencias significativas para los tiempos 60 y 90. Para T y T+X esta disminución no resultó significativa. Este hecho estaría poniendo en evidencia la existencia de un proceso de oclusión física de HTP por parte del producto, y no de degradación por parte de los microorganismos del suelo.

Durante los primeros 15 días se produjo una disminución en la tasa de respiración de los tratamientos A y A+X, probablemente asociado a la presencia de altos niveles de metales pesados que pueden inhibir el crecimiento microbiano. Pasado este período se produjo un notable incremento en la tasa de respiración para A, no sucedió lo mismo en A+X. El aumento de la respiración en A podría responder a la adaptación a las nuevas condiciones de contaminación y posterior crecimiento de la flora microbiana del suelo. A partir de los 30 días, la tasa se mantiene relativamente constante hasta los 180 días para ambos tratamientos.

En la Argentina no se ha establecido, hasta el momento, un valor límite a partir del cual un suelo se considere remediado. Es por esta falta de normativa que generalmente se utiliza como guía el valor establecido por la legislación Holandesa, la cual estipula un valor límite de HTP de 5000 ppm. En la Tabla 2 puede observarse que el tratamiento A+X presenta valores por debajo del límite establecido por la legislación holandesa, mientras que A está por encima de estos valores, sin haberse logrado en este caso la remediación del suelo contaminado en el tiempo considerado para el ensayo. Es decir, que el agregado del producto al suelo contaminado con aceite de carácter fue exitoso en su remediación luego de 180 días de comenzado el ensayo.

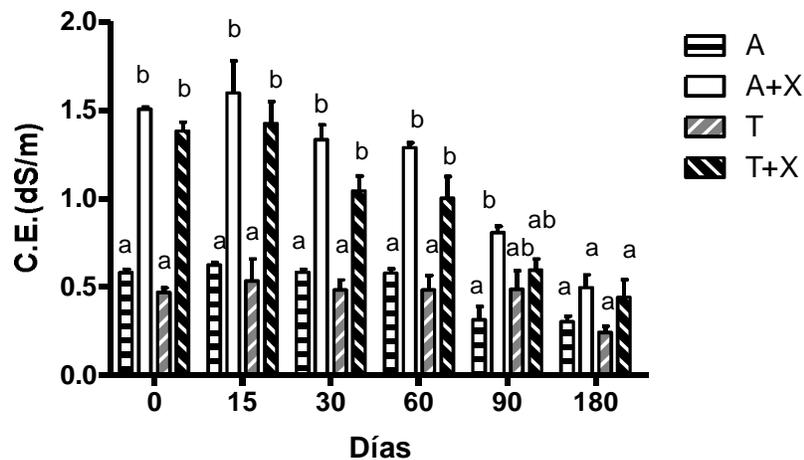
### Efecto del agregado de hidrocarburos sobre diferentes propiedades del suelo



**Figura 2.** Carbono orgánico total (%) del suelo para los tratamientos y tiempos de muestreo analizados. Letras diferentes indican diferencias significativas.  $P < 0,05$ .

Para el tiempo 0 el suelo contaminado con aceite de carácter presentó valores significativamente mayores de C que el suelo testigo (Figura 2). La adición del producto al suelo contaminado provocó una disminución significativa en los valores de carbono. En los demás momentos de muestreo (30, 60, 90 y 180) se mantuvo la misma tendencia. A los 180 días el valor de C en el suelo con agregado de hidrocarburos fue casi el triple al valor del suelo testigo, y más del doble cuando se adicionó el producto comercial, lo que podría estar asociado a que los HTP en estos tratamientos, aún no han alcanzado a degradarse en su totalidad (Tabla 2), fueron mayores a los del suelo testigo.

No se encontraron diferencias significativas en los valores de pH entre tratamientos para los tiempos de muestreo analizados, ni entre tiempos de muestreo para los diferentes tratamientos. Sin embargo el agregado del producto a los tratamientos trajo aparejado un aumento significativo en los valores de C.E (Figura 3), debido a sus mayores valores de CE respecto de los suelos.



**Figura 3.** Valores de conductividad eléctrica en el suelo para los tratamientos y tiempos de muestreo analizados. Letras diferentes indican diferencias significativas.  $P < 0,05$ .

Para los tiempos 0, 15, 30 y 60, los valores de conductividad eléctrica para los tratamientos con agregado de producto (A+X y T+X) fueron significativamente mayores que los respectivos tratamientos sin agregado de producto (A y T). Los suelos contaminados con aceite de cárter presentaron mayores valores que los suelos testigo, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Para el tiempo 180 no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos.

Para A+X y T+X puede observarse que los valores de CE fueron disminuyendo progresivamente a través del tiempo, alcanzando para el final del ensayo valores cercanos a los de los tratamientos sin agregado de producto, lo cual podría deberse a la disgregación del producto o a la solubilización y lavado de este como consecuencia de las precipitaciones.

## Conclusiones

La degradación del aceite de cárter por atenuación natural fue más lenta y menos efectiva comparada con aquella obtenida al agregar el producto comercial, lográndose de esta manera valores finales de HCT más bajos y cercanos a los del suelo testigo para el período considerado para este ensayo.

El uso del producto comercial trajo aparejado aumentos estadísticamente significativos en los valores de conductividad eléctrica en todos los tratamientos, pero que no resultaron perjudiciales, ya que no afectan al normal funcionamiento del sistema edáfico.

## Bibliografía

- ALEXANDER, M. 2000. Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants, *Environ. Sci. Technol.* 34, 4259–4265.
- AMADOR HERNANDEZ, J.; LOPEZ MARTINEZ, L.; LOPEZ DE ALBA, P.L.; CALDERA, A.; ESTELA, J.M.; CERDA, V. 1999. Determinación simultánea de seis hidrocarburos policíclicos aromáticos en medio micelar por regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS-1) utilizando espectros de fluorescencia de ángulo variable lineal. *Bol. Soc. Chil. Quím.*, vol.44, n.º 3, pp. 299-313.
- BALL, H.A.; JOHNSON, H.A.; REINHARD, M.; SPORMANN, A.M. 1996. Initial reactions in anaerobic ethylbenzene oxidation by a denitrifying bacterium, strain EB1. *J. Bacteriol.* 178: 5755-5761.
- BREGNARD, T.P.A.; HÖHENER, P.; HÄNER, A.; ZEYER, J. 1996. Degradation of weathered diesel fuel by microorganisms from a contaminated aquifer in aerobic and anaerobic microcosms. *Environ. Toxicol. Chem.* 15: 299-307.
- BURLAND, S.; EDWARDS, E. 1999. Anaerobic benzene biodegradation linked to nitrate reduction. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 529-533.
- CHEN, C.I.; TAYLOR, R.T. 1997. Thermophilic biodegradation of BTEX by two consortia of anaerobic bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 48: 121-128.
- COATES, J.D.; ANDERSON, R.T.; LOVELY, D.R. 1996. Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons under sulfate-reducing conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 1099-1101.
- DICKINSON, T. 1992. *Enfoque Ecológico*, pp. 113-118.
- EHLERS, L.J.; LUTHY, R.G. 2003. Contaminant bioavailability in soil and sediment: improving risk assessment and remediation rests on better understanding bioavailability. *Environ. Sci. Technol.* 37: 295A-302A.
- ELSHAHED, M.S.; MCINERNEY, M.J. 2001. Is interspecies hydrogen transfer needed for toluene degradation under sulfate-reducing conditions? *FEMS. Microbiol. Ecol.* 35: 163-169.

ERICKSON, M.; SWARTLING, A.; DALHAMMAR, G. 1998. Biological degradation of diesel fuel in water and soil monitored with solid-phase micro-extraction and GC-MS. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 50: 129-134.

GALLEGO, L.R.; LAREDO, J.; LLAMAS, J.F.; VÁZQUEZ, F.; SÁNCHEZ, J. 2002. Bioremediation of diesel - contaminated soils: Evaluation of potential in situ techniques by study of bacterial degradation. *Biodegradation.* 12: 325 - 335.

GRISHCHENKOV, V.G.; TOWNSEND, R.T.; McDONALD, T.J.; AUTENRIETH, R.L.; BONNER, J.S.; YBORONIN, A.M. 2000. Degradation of petroleum hydrocarbons by facultative anaerobic bacteria under aerobic and anaerobic conditions. *Process. Biochem.* 35: 889-896.

HATZINGER, P.B.; ALEXANDER, M. 1995. Effect of aging on chemicals in soil on their biodegradability and extractability, *Environ. Sci. Technol.* 29: 537-545.

JENKINSON, D.S.; POWLSON, D.S. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. *Soil Biol. Biochem.*, 8: 209-213.

LEAHY, J.G.; COLWELL, R.R. 1990. Microbial Degradation of hydrocarbon in the environment. *Environ. Microbiol. Rev.* Sept: 305-315.

KAZUMI, J.; CALDWELL, M.E.; SUFLIT, J.M.; LOVELY D.R.; YOUNG, L.Y. 1997. Anaerobic degradation of benzene in diverse anoxic environments. *Environ. Sci. Technol.* 31: 813-818.

Margesin, R.; Shinner, F. 1997. Efficiency of indigenous and inoculated cold-adapted soil microorganisms for biodegradation of diesel oil in alpine soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 2660-2664.

Margesin, R.; Shinner, F. 2001. Bioremediation (natural attenuation and biostimulation) of diesel-oil-contaminated soil in an alpine glacier skiing area. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 3127-3133.

Meckenstock, R.U.; Annweiler, E.; Michaelis, W.; Richnow, H.H.; Schink, B. 2000. Anaerobic naphthalene degradation by a sulfate-reducing enrichment culture. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 2743-2747.

Messarch, M.B.; Nies, L. 1997. Modification of heterotrophic plate counts for assessing the bioremediation potential of petroleum-contaminated soils. *Environ. Technol.*, 18, 639-646.

Nelson, D.W.; Sommers, L.E. 1982. Total carbon, organic carbon and organic matter. Page A L (Ed). *Methods of soil analysis. Part 2.* American Society of Agronomy, USA, Agronomy 9, pp. 539-579.

Romaniuk, R. 2006. *Remediación y atenuación natural en suelos contaminados con aceite de carter.* Trabajo final para optar por el título de Especialista en gestión Ambiental en sistemas agroalimentarios. EPG-FAUBA.

Salimen, J.M.; Tuomi, P.M.; Suortti, A.M.; Jørgensen, K.S. 2004. Potential for aerobic and anaerobic biodegradation of petroleum hydrocarbons in boreal subsurface. *Biodegradation* 15: 29-39.

So, C.M.; Young, L.Y. 2001. Anaerobic biodegradation of alkanes by enriched consortia under four different reducing conditions. *Environ. Toxicol. Chem.* 20: 473-478.

- Sutherland, J.B. 1992. Detoxification of polycyclic aromatic hydrocarbons by fungi. *J. IndMicrobiol.* 9: 53-62.
- Tempest, D.W. 1978. The biochemical significance of microbial growth yields: assessment. *Trends. Biochem. Sci.* 3: 180-184.
- Vasudevan, N.; Rajaram, P. 2001. Bioremediation of oil sludge-contaminated soil. *Environment International.* 26: 409–411.
- Verma, S.; Bhargava, R.; Pruthi, V. 2006. Oily sludge degradation by bacteria from Ankleshwar, India. *International Biodeterioration & Biodegradation.* 57, 207–213.
- Zhang, X.; Peterson, C.; Rece, D.; Haws, R.; Moller, G. 1998. Biodegradability of biodiesel in the aquatic environment. *Trans. ASAE.* 41: 1423-1430.