

EFFECTO DEL POTASIO EN LA BIORREMEDIACIÓN DE UN SUELO CONTAMINADO CON UN CRUDO LIVIANO

Carmen Infante^{1,2}, Carmen Ortega², Fernando Morales¹, Ursula Ehrmann¹,
Ismael Hernández-Valencia³ y Roso Pérez⁴

RESUMEN

El nitrógeno y el fósforo juegan un papel importante en la biorremediación de los suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo; sin embargo, poco se conoce sobre el efecto del potasio. En este estudio se evaluó el uso de tres relaciones carbono: potasio, con y sin adición de nitrógeno y fósforo, sobre la biorremediación de un suelo franco arenoso contaminado con un crudo mediano. Para alcanzar este objetivo se determinaron las tasas de degradación y biodegradación, expresadas como porcentaje del contenido inicial de crudo a los 0, 15, 45 y 60 días. Asimismo, se midió la producción de CO₂, y se realizaron análisis cualitativos de las fracciones de hidrocarburos remanentes mediante cromatografía de gases con detector de ionización a la llama en los tratamientos con N, P y K. La tasa de degradación (que incluye las pérdidas por procesos abióticos) y la tasa de biodegradación (que no incluye las pérdidas por procesos abióticos) resultaron mayores (72-75 % en 60 días) en los tratamientos con N (C/N: 60) y P (C/P: 800) con cualquiera de las relaciones C/K evaluadas (C/K: 200 C/K: 400, C/K: 600). Adicionalmente, se obtuvo una mayor producción de CO₂ y se registró una disminución marcada de las parafinas lineales. Estos resultados demuestran que la utilización de K, en combinación con N y P, proporciona un incremento en la tasa de biodegradación, por lo que debería usarse la relación C:K 600:1, que implica menos uso de potasio y por tanto menor costo en fertilización.

Palabras clave adicionales: Biodegradación, nitrógeno, fósforo, nutrimentos

ABSTRACT

Effects of potassium on the bioremediation of a soil contaminated with medium crude oil

Nitrogen and phosphorous play an important role in the bioremediation of soils contaminated with petroleum hydrocarbons; however, little is known about the effects of potassium. In this study we evaluated the effect of three carbon and potassium ratios, with and without the addition of nitrogen and phosphorus, on the bioremediation of a contaminated sandy loamy soil with medium crude oil. To achieve this goal, the rates of degradation and biodegradation were determined at 0, 15, 45 and 60 days and expressed as a percentage of the initial crude content. Likewise, CO₂ production was measured and qualitative analyses of the remaining crude oil fractions were performed using GC-FID, in treatments with N, P and K. The degradation rate (which includes losses by abiotic processes) and the biodegradation rates (which does not include losses by abiotic processes) were higher in those treatments with N (C/N: 60) and P (C/P: 800), and whichever of the C/K ratios assessed (C/K: 200 C/K: 400, C/K: 600). Additionally, a higher CO₂ production and a markedly paraffin reduction were obtained. These results show that the use of K combined with N and P, increases degradation rates, and a ratio C:K 600:1 is recommended because it implies less amounts of potassium and lower costs in fertilization.

Additional key words: Biodegradation, nitrogen, phosphorus, nutrients

INTRODUCCIÓN

El tratamiento adecuado de suelos contaminados por derrames de crudo se ha convertido en un importante reto, debido a la necesidad de disminuir los impactos negativos que

tienen sobre el ambiente. Una de las tecnologías más usadas para este propósito se basa en los métodos biológicos como lo es la biorremediación. Dentro de sus ventajas se destacan su compatibilidad con el ambiente y su menor costo comparado con las tecnologías

Recibido: Mayo 14, 2009

Aceptado: Marzo 29, 2010

¹ Dpto. de Procesos y Sistemas, Universidad Simón Bolívar. Apdo. 89000. Caracas. Venezuela.
e-mail: carmeninfante66@gmail.com

² Ingeniería Ambiental. Universidad Católica Andrés Bello. Apartado 20332 I. Caracas. Venezuela.

³ Instituto de Zoología Tropical, IZT. Universidad Central de Venezuela. Apdo. 47058. Caracas. Venezuela.

⁴ Ingeniería Agronómica. Universidad Central de Venezuela. Apdo. 2105. Maracay. Venezuela.

fisicoquímicas. La biorremediación permite la conversión de los contaminantes orgánicos del petróleo en carbono microbiano, productos intermediarios, agua y CO₂, mediante la acción de los microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) presentes en el suelo y crudo (Lee y Kim, 2009).

Es conocido que en la mayoría de los suelos contaminados con petróleo se presentan limitaciones de nutrientes para que ocurra el proceso de biodegradación, debido al exceso de carbono proveniente del petróleo. El nitrógeno y el fósforo son frecuentemente identificados como los nutrientes limitantes de la biodegradación de petróleo en suelos y por ello se adicionan para hacer más eficiente este proceso (Dibble y Bartha, 1979; Oldenburg et al., 2006). Las relaciones carbono/nitrógeno (C/N) y carbono/fósforo (C/P) usadas en los procesos de biorremediación presentan una gran variación, encontrándose valores de C/N que pueden estar entre 10:1 (Mittal y Singh, 2009), 60:1 (Dibble y Bartha, 1979) y hasta 560:1 (Hoyle et al., 1995). Con la relación C/P, los valores pueden variar entre 100:1 (Mills y Frankenberger, 1994) hasta 800:1 (Dibble y Bartha, 1979).

Para el caso del potasio, Dibble y Bartha (1979) demostraron que es un macroelemento que puede tener un efecto positivo sobre la tasa de biodegradación de contaminantes del petróleo en suelos de áreas templadas; no obstante, señalan que no se ha optimizado la relación C/K. Ortega (2007) señala que, en este aspecto, son muy pocas las investigaciones realizadas.

En Venezuela la biorremediación ha sido aplicada exitosamente en el tratamiento o recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos, ripsos de perforación con base aceite y sedimentos de fondo de fosas, entre otros. A través de la bioestimulación se pueden mejorar las condiciones abióticas (humedad, aireación, adición de agentes estructurantes, adecuación del pH y de las relaciones C/N y C/P) para favorecer el desarrollo de los microorganismos autóctonos presentes el suelo/desecho, evitando así la adición de microorganismos exógenos al medio (Infante et al., 1999; Infante, 2001). No obstante, no es conocida la efectividad del potasio sobre el proceso, especialmente en suelos tropicales muy meteorizados como los que abundan en Venezuela y en donde los contenidos de potasio suelen ser muy bajos. A este respecto es importante

destacar que Venezuela tiene cuantiosas reservas de crudo en la Faja Petrolífera del Orinoco, la cual se asienta sobre suelos muy oligotróficos y en donde la baja disponibilidad de nutrientes, entre ellos el potasio, puede limitar la recuperación de los suelos contaminados con hidrocarburos.

Siendo la biorremediación una tecnología de saneamiento ambiental de alto potencial e importancia debido a la condición petrolera de Venezuela, es necesario realizar estudios que permitan determinar la efectividad del potasio en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Por ello, el objetivo principal de este trabajo consistió en evaluar el potencial efecto acelerador del potasio, con y sin adición de nitrógeno y fósforo sobre el proceso de biodegradación de un suelo contaminado con un crudo mediano.

MATERIALES Y MÉTODOS

El suelo usado en los ensayos de biorremediación corresponde a un Haplustept de la serie La Mesa, de textura franco arenoso, proveniente de una localidad de San Diego de Los Altos, estado Miranda, Venezuela, el cual ha sido empleado en otros ensayos de biodegradación, con otros tipos de crudo (León et al., 1998; Ortega, 2007). En general, los suelos se caracterizan por presentar un pH ligeramente ácido, bajos contenidos de potasio cambiabile, pero altos de calcio y magnesio cambiables, y moderados de nitrógeno total y fósforo disponible (Cuadro 1).

El suelo se tamizó a través de una malla de 2 mm y se mezcló con hojarasca (3 % en peso) proveniente de especies de gramíneas, fabáceas y bignoniáceas como agente estructurante y cuyo contenido nutricional se presenta en el Cuadro 2. Antes de mezclarse, la hojarasca fue molida a un tamaño aproximado de 2 a 3 mm para favorecer la homogeneidad de la mezcla, aumentar la porosidad, y mejorar la aireación y manejabilidad de la misma. A la mezcla suelo-hojarasca se le adicionó el crudo en una concentración equivalente al 6 % (en peso). Una vez homogenizado todo el material se colocó en bandejas de 40 x 25 x 15 cm, a razón de 2 kg por bandeja, denominada compostero o microcosmo.

Cuadro 1. Características físico-químicas del suelo empleado en el ensayo de biodegradación

| Parámetro | Medida |
|------------------------|------------------------------|
| Cap. interc. catiónico | 17 meq·(100·g) ⁻¹ |
| Saturación con bases | > 90 % |
| Conductiv. eléctrica | 0,813 dS·m ⁻¹ |
| pH | 6,27 |
| C orgánico | 1,6 % |
| P disponible | 21,3 ppm |
| Nitrógeno total | 0,19 % |
| Mg intercambiable | 112 mg·kg ⁻¹ |
| K intercambiable | 4 mg·kg ⁻¹ |
| Ca intercambiable | 928 mg·kg ⁻¹ |
| Textura | Franco arenoso |

Cuadro 2. Características químicas de la hojarasca utilizada como agente estructurante

| Parámetro | Medida (%) |
|-----------|------------|
| Carbono | 52,3 |
| Fósforo | 1,28 |
| Nitrógeno | 0,77 |
| Magnesio | 1,02 |
| Potasio | 1,10 |
| Calcio | 1,71 |

Los composteros fueron aireados con un rastrillo manual, dos veces por semana, con la finalidad de preservar las condiciones aeróbicas del proceso, y se mantuvieron en condiciones de laboratorio a una temperatura de 24 a 27 °C y humedad de la mezcla entre 30 y 40 % de la capacidad del suelo. Ésta se obtuvo previamente mediante la saturación de una muestra con agua y posterior percolación del exceso, según el método reseñado por Wilke (2005). Para el control de la humedad se repuso el agua evaporada pesando los composteros cada tres días. Los composteros eran cerrados en su base por lo que no hubo pérdidas por infiltración y las pérdidas por fotoxidación se consideraron mínimas ya que los mismos se mantuvieron durante todo el ensayo fuera de la incidencia directa de luz.

El crudo empleado pertenece a la serie Mesa y es producido en el oriente del país. Posee una gravedad específica de 29,4 °API, por lo cual se le clasifica como mediano y presenta 55,1 % de saturados y 15,3 % de aromáticos (Ehrmann et al., 2009).

Se evaluaron nueve tratamientos con tres réplicas cada uno para un total de 27 composteros, mediante un diseño completamente al azar. Ellos

fueron: T1: un control abiótico, en donde al suelo contaminado y sin fertilizantes se le agregó cloruro de mercurio al 2 %, como biocida, para eliminar la actividad biológica; T2: un control, que consistió en el suelo contaminado y sin fertilizantes; T3, T4 y T5: suelos contaminados y fertilizados con K en una relación C:K de 200:1, 400:1 y 600:1, respectivamente, y adición de N y P para mantener relaciones constantes C:N de 60:1 y C:P de 800:1; T6, T7 y T8: suelos contaminados y fertilizados con K con relaciones 200:1, 400:1 y 600:1, respectivamente, sin adición de N ni P; T9: suelo contaminado fertilizado con N y P en una relación C:N de 60:1 y C:P de 800:1, pero sin fertilización potásica.

Se empleó urea, fosfato diamónico y cloruro de potasio como fuentes de nitrógeno, fósforo y potasio. Como el contenido de carbono orgánico, tanto del suelo, como de la hojarasca son bajos en comparación con el aporte del carbono procedente del crudo, esta contribución no se tomó en cuenta en la determinación de las relaciones C:N, C:P y C:K. Igualmente con los contenidos de N, P y K, tanto en el suelo como en la hojarasca, los cuales fueron muy bajos en comparación con los requerimientos de fertilizantes para satisfacer dichas relaciones. Con el crudo, aún cuando estos nutrimentos no fueron analizados, es conocido que la contribución es igualmente muy baja (Gibson, 1984).

El ensayo tuvo una duración de 60 días con muestreos desde el inicio y cada 15 días para evaluar la tasa de biodegradación. En cada muestreo se extrajo una alícuota de suelo de cada bandeja para determinar el contenido de crudo o de orgánicos extraíbles con hexano, mediante la técnica de extracción Soxhlet, según el método EPA 3540 (USEPA, 1986). Se usó hexano y no otro solvente como el diclorometano, por ser menos dañino para el ambiente. El hexano de los extractos se evaporó y por diferencia gravimétrica se determinó el contenido de extraíbles o crudo presentes en la muestra. La recuperación de crudo con el hexano fue aproximadamente de 67 %. El restante 33 % se perdió por volatilización de los componentes más livianos o no se extrajo de la matriz del suelo debido probablemente a interacciones de los componentes de mayor polaridad con la misma. El contenido de extraíbles o de crudo de las muestras fue corregido por el contenido de humedad.

El porcentaje de degradación se expresó como el cambio en el contenido de crudo o de orgánicos extraíbles respecto al contenido inicial, mientras que el porcentaje de biodegradación correspondió al porcentaje de degradación menos las pérdidas abióticas, las cuales fueron estimadas en el tratamiento T1. Para estos cálculos se usó el contenido de crudo u orgánicos extraíbles con hexano, y no el valor de 6 % (en peso) calculado, para la preparación del suelo contaminado. Adicionalmente y a manera complementaria se realizaron análisis cromatográficos cualitativos para determinar la distribución de hidrocarburos en las fracciones extraídas del crudo presentes en el suelo. Dado el elevado costo que representaron estos análisis, los mismos sólo se realizaron a los tratamientos T3, T4 y T5, que fueron los que resultaron con mayor tasa de biodegradación, así como a una muestra del crudo Mesa original. Las corridas cromatográficas de los extractos del crudo obtenidos luego de la limpieza se realizaron según el procedimiento establecido en el Método EPA 8015 (USEPA, 1996a), que se basa en la cromatografía de gases con detección de ionización a la llama. Previo a la inyección de los extractos, éstos se sometieron a un tratamiento limpieza de acuerdo con el Método EPA 3630c (USEPA, 1996b). Se utilizó un cromatógrafo HP5890 provisto de un inyector capilar, un detector de ionización a la llama y una columna capilar de 0,32 mm con una película de 0,25 µm de 5 % fenimetilsilicona, como fase estacionaria.

Como una medida de la mineralización del hidrocarburo se realizó el seguimiento de la producción de CO₂ mediante la técnica estática.

En este procedimiento se empleó una solución de concentración conocida de KOH, la cual absorbió el CO₂ liberado del suelo hacia un contenedor cerrado, y posteriormente se tituló con HCl para la determinación de la evolución del CO₂ por diferencia de concentración de OH⁻ (Singh et al., 2005). Las determinaciones se realizaron semanalmente durante los 60 días de duración del experimento.

Los tratamientos fueron comparados a través de un análisis de varianza y prueba de medias según Tukey utilizando el paquete estadístico Statistix 8.0. A los datos previamente se les comprobó los supuestos del análisis de varianza

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tasa de degradación y biodegradación del crudo

Las pérdidas por procesos abióticos (T1) alcanzaron 21 % a los 60 días (Cuadro 3), y se debieron probablemente tanto a la volatilización durante los períodos iniciales, como a una mayor interacción crudo-suelo que reduciría la eficiencia de la extracción durante los períodos finales (Ortega, 2007). En este tratamiento las transformaciones biológicas debieron ser reducidas por la acción del biocida, comportamiento que ha sido documentado por otros autores que han usado el cloruro de mercurio en ensayos de biorremediación (Hong-Gyu et al., 1990; Chaîneau et al., 2005). Por el contrario, en los demás tratamientos (T2 al T9) se registró una reducción significativa del contenido de crudo o extraíbles con hexano, atribuible al desarrollo del proceso de biodegradación.

Cuadro 3. Tasa de degradación (TD, incluyendo pérdidas abióticas) y tasa de biodegradación (TB, restando el control abiótico), expresada en porcentaje con respecto al contenido inicial de crudo

| Tratamiento | 15 días | | 45 días | | 60 días | |
|--------------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|
| | TD | TB | TD | TB | TD | TB |
| T1. Abiótico | 5,8 a | 0,0 a | 9,0 a | 0,0 a | 21,4 a | 0,0 a |
| T2. Sin NPK | 15,0 b | 9,2 b | 42,6 b | 36,6 b | 46,9 b | 26,0 b |
| T3.NPK1 | 23,0 c | 17,2 c | 57,0 c | 48,0 c | 92,6 c | 72,0 c |
| T4 NPK2 | 25,2 c | 19,4 c | 86,0 d | 77,0 d | 96,3 c | 74,9 c |
| T5 NPK3 | 31,8 c | 26,0 c | 78,8 e | 69,8 e | 94,1 c | 72,7 c |
| T6 K1 | 16,7 b | 10,9 b | 23,9 b | 14,9 b | 54,4 d | 33,0 d |
| T7 K2 | 27,1 c | 21,3 c | 62,0 c | 53,0 c | 61,5 d | 41,0 d |
| T8 K3 | 18,1 b | 12,3 b | 57,4 c | 48,4 c | 57,2 d | 35,8 d |
| T9 NP | 13,0 b | 7,2 b | 74,9 e | 65,9 e | 84,0 e | 62,6 e |

Medias en un mismo tiempo seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes según la prueba de Tukey (P≤0,05)

En el T2 (tratamiento sin N, P y K) se registró una degradación de 47 % a los 60 días, de los cuales 21 % fueron por pérdidas abióticas, y en consecuencia 26 % corresponde a la biodegradación. En los tratamientos donde se agregó N, P y K (T3, T4 y T5) se registró un incremento significativo de la degradación a los 60 días ($P \leq 0,05$) con respecto a T2. Esto evidencia la efectividad de estos nutrimentos para estimular la biodegradación, resultados que coinciden con los estudios de otros autores (Chaîneau et al., 2005, Pardo et al., 2004). Para los tratamientos T3, T4 y T5, las tasas de biodegradación a los 60 días fueron de 72, 75 y 73 %, respectivamente, no existiendo diferencias significativas, entre ellos. Asimismo, se registró un incremento de la biodegradación en los tratamientos T3, T4 y T5, con respecto a T9 (sólo con N y P, sin K) a los 60 días, lo cual evidencia el efecto positivo de los tres macronutrimentos en conjunto, aunque estas diferencias no se aprecian claramente a los 15 y 45 días. Con base a estos resultados, cualquiera de las relaciones de $C/K=200$, 400 ó 600 combinada con la relación $C/N=60$ y $C/P=800$ podría ser usada para incrementar la biodegradación del hidrocarburo, en este tipo de suelo y con este crudo; sin embargo, ya que en la relación $C/K=600$, se usa menor contenido de potasio por unidad de crudo, ésta sería la recomendable para así reducir el uso de fertilizante potásico y su costo asociado. Dibble y Bartha (1979) quienes realizaron un estudio

sobre los factores abióticos en la biorremediación de hidrocarburos, usaron la relación ($C/K=400$), aunque destacan que no se han realizado suficientes esfuerzos por obtener la relación óptima.

En el presente estudio, si bien se demuestra que a los 60 días el potasio en combinación con el N y P (T3, T4, T5) mejoró la tasa de biodegradación, en comparación con cualquiera de los otros tratamientos, también hay que señalar que sin la adición de K (T9) se obtuvo un contenido de crudo de 0,6 % a los 60 días (Cuadro 4), con lo cual se alcanzó en un tiempo aceptable, los criterios de limpieza de 1 % exigidos en el artículo 50 del Decreto 2635 (República de Venezuela, 1998). Bajo este contexto no sería necesaria la adición de K en este tipo de suelo y con este crudo. No obstante, si el criterio de limpieza fuese más estricto, se requeriría agilizar el proceso de biorremediación, en cuyo caso habría que considerar la adición de K. El efecto del K como acelerador de la biorremediación es consistente con el bajo contenido de este elemento que presentan los suelos estudiados (Cuadro 1) y es probable que en suelos con mejor condición de fertilidad potásica no se requiera este elemento. Por esta razón, conviene analizar en que tipos de suelos y de crudo es estrictamente necesario el uso de potasio, ya que pueden darse condiciones en donde bastaría usar sólo N y P.

Cuadro 4. Contenido de crudo al final del ensayo para los diferentes tratamientos

| Tratamiento | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 | T9 |
|-----------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|
| Contenido de crudo (% peso) | 2,7 a | 2,1 b | 0,2 f | 0,4 e | 0,3 ef | 1,5 c | 1,4 c | 1,5 c | 0,6 d |

Medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$)

Es de hacer notar que en los tratamientos con adición de potasio únicamente (T6, T7, T8) las concentraciones de crudo en el suelo son mayores al 1 % al término de los 60 días de ensayo (Cuadro 4). Asimismo, las tasas de biodegradación para estos tratamientos fueron menores ($P \leq 0,05$ %) a las de T3, T4 y T5, e incluso al T9, lo cual refleja el papel preponderante del nitrógeno y fósforo sobre la biodegradación así como el efecto positivo cuando se añaden los tres nutrimentos (N, P y K).

Otro aspecto importante a resaltar es la tasa de biodegradación obtenida en este estudio, comparada con otras investigaciones. Al respecto,

el porcentaje de biodegradación en el T9, correspondiente sólo a la adición de nitrógeno y fósforo, resultó mayor al reportado por Ehrmann et al. (2009) (63 % en 60 días vs. 50 % en 90 días), quienes trabajaron con el mismo suelo e igual tipo de crudo, acondicionadores y fuentes de fertilizantes a los usados en el presente estudio. Estas diferencias podrían atribuirse a que el agente extractante empleado (hexano) en nuestro ensayo para las determinaciones del crudo no haya sido tan eficiente en la extracción de todas las fracciones del hidrocarburo como lo es el diclorometano usado en los estudios de Ehrmann et al. (2009). De ser así, los hidrocarburos extraídos

con hexano se aproximarían más al contenido de saturados y aromáticos del crudo que al contenido total de crudo en el suelo (Weisman, 1998).

En el mencionado Decreto 2635 se acepta como nivel permisible de “aceites y grasas” en el suelo, el valor igual o menor a 1 %; sin embargo, no se especifica que se entiende por aceites y grasas, ni cuál es el método y agente de extracción a emplear. Desde la promulgación del decreto se ha aceptado que “aceites y grasas” es equivalente al crudo total, por lo cual existe una amplia gama de reportes de valores de crudo en suelos y desechos que varían dependiendo del tipo de agente extractante usado (hexano, tolueno, diclorometano), la naturaleza del suelo y composición del crudo, entre otros factores. Es por ello, que cuando se realizan estudios de biorremediación y en general de caracterizaciones de crudo en suelos y desechos es de suma importancia considerar el tipo de solvente y las condiciones utilizadas para la extracción.

En la Figura 1 se presentan los valores de producción de CO₂ a lo largo del proceso de biodegradación y se observa que se conformaron tres grupos bien diferenciados. Los tratamientos T3, T4 y T5 (con N, P y K) y T9 (con N y P) corresponden al grupo que presentó la mayor producción de CO₂; los tratamientos T2 (sin nutrientes), T6, T7 y T8 (sólo con K) corresponden al grupo con una producción intermedia de CO₂, mientras que el control abiótico (T1) tuvo una producción muy baja. Los tratamientos en los que se registró la mayor producción de CO₂ corresponden a aquellos donde se obtuvo la mayor tasa de biodegradación tal como era de esperarse ya que la producción de CO₂ representa una medida indirecta del grado de biodegradación o mineralización del hidrocarburo; por el contrario en el T1, hubo una baja mineralización de las fracciones del hidrocarburo, evidenciada por la baja producción de CO₂, lo que confirma la inactivación de la población microbiana. Estos resultados son consistentes con los trabajos de Dibble y Bartha (1979), León et al. (1998) e Infante et al. (2001).

Otro aspecto a resaltar es que la producción de CO₂, en todos los tratamientos excepto en T1, fue baja al inicio y se incrementó con el tiempo, atribuible a la mineralización de los hidrocarburos; luego comenzó a disminuir entre los 21 y 28 días hasta alcanzar niveles similares a

los iniciales, posiblemente por agotamiento de las fracciones del hidrocarburo más fácilmente mineralizables.

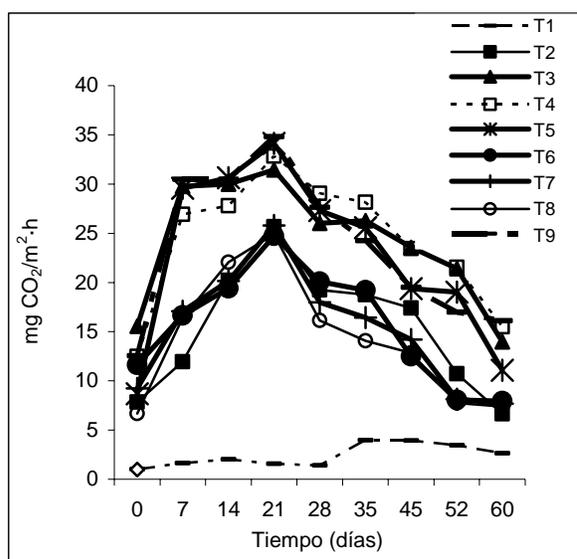


Figura 1. Producción de CO₂ en los diferentes tratamientos

En la Figura 2 se muestran los cromatogramas tanto del crudo original (Figura 2a) como de las fracciones de crudo extraídas del suelo para los tratamientos T3, T4 y T5. La comparación entre las Figuras 2a y 2b muestra una disminución evidente que llega hasta la casi desaparición completa de las parafinas lineales al cabo de los 60 días de tratamiento, como consecuencia de pérdidas abióticas y bióticas. Aun cuando desde el punto de vista cromatográfico no se discriminó entre las pérdidas de hidrocarburo por factores abióticos o bióticos, es claro que la mayor reducción de hidrocarburos extraíbles y la mayor producción de CO₂ correspondieron a los procesos de biodegradación (Cuadro 3, Figura 1). Además es conocido que la pérdida de parafinas lineales se debe principalmente a los factores bióticos o proceso de biodegradación, ya que estas fracciones son altamente biodegradables (Gibson, 1984). En los cromatogramas de los tratamientos evaluados se demuestra una desaparición de todas las parafinas lineales, inclusive las de mayor tamaño. Es importante desatacar que las señales intensas observadas al inicio de los cromatogramas de la Figura 2b corresponden al solvente de extracción, y no a fracciones de hidrocarburos provenientes del crudo.

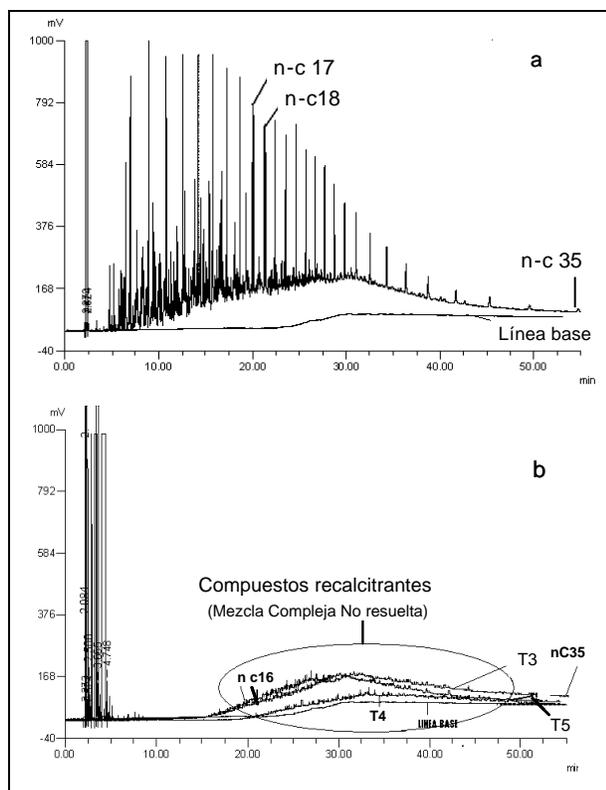


Figura 2. Análisis cromatográficos en el crudo inicial (a) y en los tratamientos 3, 4, y 5 a los 60 días (b)

En la Figura 2b se observan diferencias tanto en la forma como en la intensidad de la señal correspondiente a los compuestos recalcitrantes o mezcla compleja desconocida (UCM) para los tres tratamientos evaluados, lo que indica que la adición de diferentes dosis de K tiene algún efecto sobre el proceso de biodegradación. De acuerdo con los cromatogramas, T4 pareciera reflejar una mayor degradación (aunque no hay diferencias significativas en las tasas de biodegradación entre estos tratamientos (Cuadro 3) ya que la señal es menos intensa, y el máximo de la señal corresponde a tiempos de retención mayores, es decir, compuestos de mayor tamaño, lo que implica que se degradó una mayor fracción de compuestos de menor tamaño que en los casos de T3 y T5. Sin embargo se requeriría un mayor número de análisis cromatográficos para confirmar estas observaciones.

CONCLUSIONES

La biodegradación del crudo mediano Mesa, en

un suelo de textura franco arenoso fue mejorada por el efecto conjunto del suministro de nitrógeno, fósforo y potasio. Cualquiera de las relaciones C/K=200, C/K=400, C/K=600 combinada con la C/N=60 y C/P=800 podría ser usada para incrementar la biodegradación en este tipo de suelo y con este tipo de crudo. Se recomendaría usar la relación C/K=600, en la cual se usa menos contenido de potasio por unidad de crudo. Los tratamientos en los cuales se usaron N, P y K en cualquiera de sus tres dosis presentaron la mayor mineralización de las fracciones de hidrocarburos o producción de CO₂, lo cual se correspondió con las mayores tasas de biodegradación.

LITERATURA CITADA

1. Chaîneau, C.H., G. Rougeux, C. Yéprémian y J. Oudot. 2005. Effects of nutrient concentration on the biodegradation of crude oil and associated microbial populations in the soil. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 1490-1497.
2. Dibble, J. y R. Bartha. 1979. Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge. *Journal Applied and Environmental Microbiology* 37 (4): 729-739.
3. Ehrmann, U., C. Infante, y H. Martínez. 2009. Correlation between Physical Chemical Properties of Different Venezuelan Crude Oils and their Biodegradability. The 24th International Conference on Solid Waste Technology and Management. March-12-18. Philadelphia. pp. 1-7.
4. Gibson, D. 1984. *Microbial Degradation of organic compounds*. Volume 13 Dekker Marcel. New York
5. Hoyle, B., L. Scow, K. M. Fogg, F.E y J.L. Darby. 1995. Effect of carbon:nitrogen ration on kinetics of phenol biodegradation by *Acinetobacter johnsonii* in saturated sand. *Biodegradation* 6: 283-293.
6. Hong-Gyu, S., X. Wang y R. Bartha. 1990. Bioremediation Potential of terrestrial Fuel Spills. *Applied and Environmental Microbiology* 56(3): 652-656.

7. Infante, C. 2001. Biorrestauración de áreas impactadas por crudo por medio de Intebios y Biorize. *Interciencia* 26(10): 503-507.
8. Infante, C., M. Romero, A. Arrocha, D. Gilbert y F. Brito. 1999. In situ Bioremediation of pits from Puerto La Cruz Refinery. *Fifth International in situ and on site bioremediation* 5(3): 215-219.
9. Infante, C., M. Arias, G. Sánchez., N. León y L. Sanchez. 2001 In situ biostimulation. A key factor in bioremediation. *Sixth International in situ and on site bioremediation symposium. Ex Situ Biological Treatment Technologies, Magar, von Fahnestock and Leeson (eds.). Battelle* 6(6): 257-261.
10. Lee, S. y J. Kim. 2009. Effect of various amendments on heavy mineral oil bioremediation and soil microbial activity. *Bioresource Technology* 68: 848-855.
11. León, N., C. Infante, M. Arias, M. Márquez, S. Mcmillen y R. Smart. 1998. Biodegradability of Venezuelan crude oils. *SPE/HSE Health, Safety and Environment in Oil and Gas E & P Proceedings SPE 48921. Caracas.* pp. 1-7.
12. Mills, S.A. y W.T. Jr. Frankenberger. 1994. Evaluation of phosphorous sources promoting bioremediation of diesel fuel oil in soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 53: 280-284.
13. Mittal, A. y P. Singh. 2009. Polycyclic aromatic hydrocarbon degradation by developed consortium in microcosms study. *The Internet Journal of Microbiology* 7(1): 1-9.
14. Ortega, C. 2007. Potencial uso del potasio como acelerador del proceso de biodegradación de un crudo mediano en un suelo franco del estado Miranda. Tesis. Univ. Católica Andrés Bello (UCAB). 83 p.
15. Oldenburg, T., S.R. Larter y H. Huang. 2006. Nutrient supply during subsurface oil biodegradation-Availability of petroleum nitrogen as a nutrient source for subsurface microbial activity. *Energy Fuels* 20(5): 2079-2082.
16. Pardo, J., M. Perdomo y J. Benavides. 2004. Efecto de la adición de fertilizantes inorgánicos compuestos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con petróleo. *Nova. Univ. Colegio Mayor de Cundinamarca* 2(2): 40-49.
17. República de Venezuela. 1998. Normas para el control de la recuperación de materiales peligrosos y el manejo de desechos peligrosos. Decreto 2635. *Gaceta N° 5245. Caracas.*
18. Singh, A., O. P. Ward y R. Kuhad. 2005. Feasibility studies for microbial remediation hydrocarbon-contaminated soil. *In: Manual for Soil Analysis-Monitoring and Assessing Soil Bioremediation. Margesin, R y F. Schinner (eds). Springer-Verlag. Berlin Heidelberg.* pp. 131-151.
19. USEPA. 1986. Test methods for extracting nonvolatile and semivolatile organic compounds from solids such as soils, sludges, and wastes. Method 3540c. Soxhlet Extraction. Washington D.C.
20. USEPA. 1996a. Nonhalogenated Organics using GC/FID. Method 8015 B. Washington D.C.
21. USEPA 1996b. Silica Gel Cleanup. Method 3630 C. Washington D.C.
22. Weisman, W. 1998. Analysis of petroleum hydrocarbons in environmental media. *Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group. Vol. 1. W. Weisman (ed.). Amherst Sci. Pub.* <http://www.aehs.com/publications/> (consulta del 5/03/2009)
23. Wilke, B. M. 2005. Determination of chemical and physical soil properties. *In: R. Margesin y F. Schinner (eds.). Manual for Soil Analysis-monitoring and Assessing Soil Bioremediation. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg.* pp. 47-93.