

Influencia de la variación de diésel en el proceso de bioventing en un suelo arenoso, en experimento en columna¹

Influence of diesel's variation in the bioventing process on a sandy soil, experiment in column

A. M. Muskus y C. Santoyo

Recibido Noviembre 28 de 2013 – Aceptado Junio 6 de 2014

Resumen - El presente estudio corresponde a la segunda fase del proyecto de cooperación institucional: Universidad Pontificia Bolivariana, Seccional Bucaramanga y el Instituto Colombiano de Petróleos, en busca de una solución a la contaminación de suelos arenosos con diésel hasta concentraciones del 6% y a una profundidad máxima de 80 cm. Se contaminó un suelo artificialmente con diésel al 2%, 4% y al 6% en peso y se evaluó la técnica de Bioventing utilizando montajes en columnas. Los parámetros de seguimiento fueron: caudal de entrada, concentración de diésel, oxígeno disuelto y crecimiento bacteriano; controlados durante cuatro meses. Los resultados mostraron que la técnica de Bioventing es efectiva para suelos arenosos, con bajos contenidos de materia orgánica, caudales de infiltración bajos, pH entre 6 – 8, temperatura de operación de 22°C y concentraciones de oxígeno disuelto superiores a 0,5 mg/L, presentando porcentajes de remoción de diésel superiores al 50% en suelos contaminados a una concentración de diésel del 2% en peso.

Palabras clave - Bioventing, diésel, experimentos en columna, suelos contaminados.

Abstract - This study is the second phase of an institutional cooperation project between Universidad Pontificia Bolivariana, in Bucaramanga and the Colombian Institute of Petroleum, in order to provide a solution to a problem presented in sandy soils contaminated with diesel up to concentrations of 6% and a maximum depth of 80 cm. Artificially soil was contaminated with diesel at 2%, 4% and 6% by weight and evaluated using the Bioventing technique in soil columns. Monitoring parameters were: inflow, diesel concentration, dissolved oxygen and bacterial growth, these parameters were monitored for four months. The results showed that the Bioventing technique is effective in sandy soils with low organic matter content, low infiltration flow, pH between 6-8, operating temperature of 22 ° C and dissolved oxygen concentrations above 0.5 mg/L. With these conditions, diesel removal percentages above 50% in diesel contaminated soil with an initial concentration of 2% by weight was found.

Key Words - Bioventing, contaminated land, column experiments. Diesel.

I. INTRODUCCIÓN

¹ Producto derivado del proyecto de Investigación “Evaluación de la influencia de un consorcio microbiano y de la variación de la concentración de diésel en la bioremediación de un suelo contaminado, replicando condiciones reales a escala de laboratorio.”, este trabajo ha sido apoyado por el Instituto Colombiano del Petróleo - ICP y La Dirección General de Investigaciones de la Universidad Pontificia Bolivariana, seccional Bucaramanga a través del grupo de investigación de Ingeniería sanitaria y Ambiental. – GINSA.

A. M. Muskus y C. Santoyo son docentes de la Universidad Pontificia Bolivariana, seccional Bucaramanga, Colombia (correos e.: angelica.muskus@upb.edu.co, claudia.santoyo@upb.edu.co).

La contaminación por hidrocarburos de petróleo es producida principalmente por emisiones de los sistemas de almacenamiento de combustibles en tanques subterráneos, por liberaciones accidentales durante el transporte o por la eliminación inadecuada de sus desechos [1]. Los suelos impactados con este tipo de compuestos orgánicos son causa de preocupación actual, debido a que existen diversas vías para la migración y dispersión del contaminante a través del medio ambiente, presentando un elevado riesgo para los ecosistemas y la salud humana [2, 3].

Los derrames subterráneos de los combustibles derivados del petróleo son difíciles de detectar y debido a su solubilidad en agua y elevada toxicidad, tienen un alto potencial para esparcirse y contaminar el suelo, los acuíferos y los sistemas de aguas subterráneas, por lo tanto, alcanzan fuentes de abastecimiento de agua potable de las comunidades [3]. Por esta razón, se ha desarrollado la biorremediación como una tecnología rentable y efectiva para la recuperación de suelos, que consiste en aprovechar las condiciones in-situ presentadas en el medio alterado, para aplicar estrategias de mejoramiento que faciliten una rápida degradación de los compuestos contaminantes. [4, 5, 6, 7].

Entre los hidrocarburos de interés ambiental se encuentra el diésel de petróleo, que por su composición química es de fácil degradación oxidigénica [8], permitiendo la biorremediación de suelos aplicando la técnica de bioventing, donde la microbiota nativa es estimulada a través de la adición de oxígeno y/o nutrientes en la zona no saturada del suelo, promoviendo el crecimiento bacteriano y la capacidad catabólica aerobia de los microorganismos autóctonos [9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 7], estimulando la degradación y no la volatilización de los compuestos presentes entre los poros del suelo.

La eficiencia de la técnica de bioventing está determinada por diferentes factores como:

- La permeabilidad del suelo contaminado que condiciona la capacidad de transporte de aire a través de los poros del mismo y la cantidad de oxígeno que puede ser entregado a la sub-superficie y a los microorganismos. En el caso de suelos de grano grueso como las arenas, tienen una permeabilidad intrínseca más elevada que aquellos de grano fino o arcilloso. El rango de humedad ideal se encuentra entre el 40% y el 85% de la capacidad de campo, permitiendo el desarrollo bacteriano y la disponibilidad de oxígeno.

- La estructura y la estratificación del suelo que afecta la forma en que los gases fluyen a través de la matriz del mismo. En general suelos fracturados y poco estratificados proporcionan un flujo de aire constante y sin variaciones drásticas en la zona no saturada [18].

- El pH y la temperatura, donde el pH óptimo está entre 6 y 8 y la temperatura entre los 10 y los 45° C; sin embargo, se debe tener en cuenta que las temperaturas en el subsuelo decrecen considerablemente de la temperatura normal del medio [25, 26, 27].

- Las propiedades fisicoquímicas del contaminante como son su peso molecular, volatilidad, solubilidad, coeficientes de partición y las concentraciones presentes en el subsuelo, determinan su dispersión en el medio y la facilidad con la que ellos son adsorbidos y degradados por los microorganismos. [18].

- La microbiota presente en el suelo es otro factor importante en el proceso. En los suelos aireados se desarrolla

una diversidad de microorganismos oxidigénicos como bacterias, algas, hongos, protozoos y actinomicetos, donde las bacterias son el grupo más numeroso y bioquímicamente activo, incluso a niveles bajos de oxígeno. Las bacterias degradantes de hidrocarburos requieren de carbono como fuente de energía y material para el crecimiento celular y nutrientes adicionales como el nitrógeno y fósforo. Teniendo en cuenta las necesidades de nutrientes se ha determinado que la relación óptima entre Carbono: Nitrógeno: Fósforo, se debe encontrar entre 100:10:1, necesario para mantener los procesos de degradación [19, 20, 21]. Para la efectividad de la técnica de bioventing, es necesario que las poblaciones de bacterias heterótrofas sea superior a 100 UFC; cantidades inferiores indican la presencia de concentraciones excesivas de contaminante o bajas concentraciones de oxígeno y nutrientes [22, 23].

La biodegradación oxidigénica de los hidrocarburos saturados varía según el tipo de compuesto. En el caso de sustancias saturadas de tipo alcano, el principal mecanismo de transformación se lleva a cabo por la acción enzimática de la monooxigenasa, que transforma el alcano en alcohol primario por oxidación del grupo metil terminal. El alcohol formado se convierte en ácido graso por el complejo enzimático de las deshidrogenasas, el cual entra al metabolismo de la β -oxidación para la obtención de energía y oxalato para la síntesis de material celular [36]. Otra vía de degradación menos significativa de estos hidrocarburos alifáticos, es por oxidación del grupo metil subterminal, donde actúan las monooxigenasas, deshidrogenasas y esterasas, formando un alcohol secundario por procesos cometabólicos propios de algunos microorganismos. [37]. En el caso de los alcanos ramificados su oxidación comienza por una hidroxilación y deshidrogenaciones sucesivas; el proceso no es eficiente debido a que la estructura ramificada no permite una transformación completa de los ácidos grasos producidos y por lo tanto un número reducido de microorganismos lo pueden utilizar como fuente de carbono y energía [38]. La biodegradación oxidigénica de los hidrocarburos alicíclicos ha sido poco estudiada [39]; estos compuestos son más difíciles de biodegradar debido a que las enzimas que intervienen en el metabolismo son más especializadas y por lo tanto menos abundantes en la microbiota; los consorcios microbianos juegan un papel importante actuando por procesos de cometabolismo o sinergismo [40]. Para el caso de los hidrocarburos aromáticos la oxidación se lleva a cabo por acción de las enzimas oxigenasas, (benceno 1,2 dioxigenasa, toukeno dioxigenasa, xileno monooxigenasa, naftaleno 1,2 dioxigenasa y bifenil 2,3 dioxigenasa) que catalizan la incorporación de dos átomos de oxígeno al anillo aromático formando areno cis-diol [41]; posteriormente el compuesto formado se transforma en catecol por reacciones de deshidrogenación catalizada por cis-dihidrodiol dehidrogenasa.

II. METODOLOGÍA

Utilizando experimentos en columnas, se evaluó la

técnica de Bioventing como alternativa de biorremediación de suelos arenosos contaminados con diésel a diferentes concentraciones, simulando la Zona No Saturada del Suelo, como se ilustra en la Fig. 1.

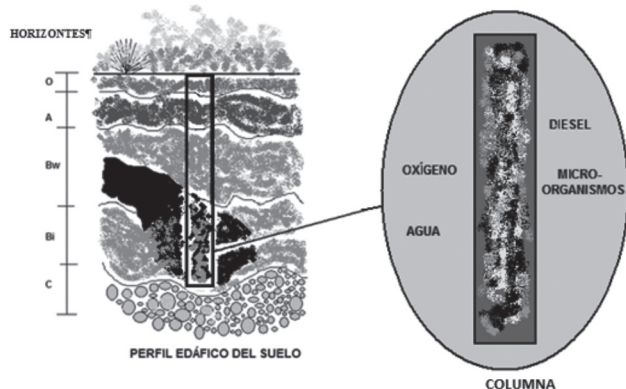


Fig. 1. Representación de la Zona No Saturada del Suelo simulada en la columna. [42]

Para el desarrollo metodológico de esta etapa se tuvieron en cuenta los siguientes parámetros:

A. Diseño de las columnas.

Las columnas se diseñaron tomando como referencia la Norma Técnica Alemana DIN V 19736 [43] que establece la relación altura-diámetro, la forma de la columna, el tipo de material y el sentido de la circulación del agua dentro de la columna. Para establecer las dimensiones de la columna se tuvo en cuenta la contaminación de los subsuelos en las zonas impactadas con hidrocarburos, donde se presentan eventos de contaminación más frecuentes, a una profundidad de 50 cm desde la superficie en sentido vertical, como se ilustra en la Fig. 1.

La columna se diseñó con una altura de 50.8 cm; un diámetro interno de 12.08 cm, obteniendo una relación de 4.2; un diámetro externo de 13.33 cm y un volumen de 6 l. Cada columna posee tres puertos equidistantes entre sí para la adición de aire, como se muestra en la Fig. 2.

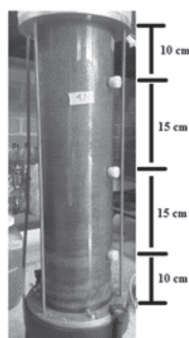


Fig. 2. Diseño de la columna.

B. Caracterización de las muestras de suelo contaminado.

Teniendo en cuenta los acontecimientos de contaminación más frecuente ocurridos en las áreas impactadas con hidrocarburos, donde se presentan concentraciones del

contaminante entre un rango del 2% al 6%, se seleccionó un suelo arenoso del área sur oriental de los predios de la Universidad Pontificia Bolivariana, cercano a la quebrada La Palmichala, ubicación $7^{\circ}02'15.46''N$ $73^{\circ}04'10.22''W$ y elevación de 989 msnm. Se contaminó al 2%, 4% y 6% en peso, de manera artificial con diésel de petróleo. Posteriormente se determinaron las características fisicoquímicas, como fueron textura, humedad gravimétrica, densidad real, pH, cantidad de materia orgánica, capacidad de intercambio iónico y granulometría; los análisis se realizaron en el laboratorio de suelos de la Universidad Pontificia Bolivariana.

C. Diseño Experimental.

Para evaluar la técnica de Bioventing se realizó el empaquetamiento de cuatro columnas; tres de ellas con suelo contaminado con diésel de petróleo a concentraciones de 2%, 4% y 6% respectivamente y una con suelo no contaminado. A todas las columnas se les inyectó agua a través de una bomba peristáltica MF 07519-25, con un caudal constante de 0,2 LPS que simulara condiciones de infiltración natural por efecto de la lluvia sin producir arrastre del contaminante. Además a cada columna se le adicionó oxígeno por medio de aireación constante y utilizando una bomba con regulador de caudal y cuatro salidas, marca RESUN- modelo AC-9904 y con un caudal de 0.2 L/min por puerto. Para cada condición se montó una columna control empaquetadas con el mismo sustrato e inyección de agua, pero sin adición de oxígeno. Se determinó la humedad del suelo contaminado en las tres condiciones trabajadas y al suelo no contaminado, con el medidor de humedad de suelos marca EXTECH Instruments modelo MO 750.

Se evidenció que la adición del contaminante aumentó la humedad del suelo con valores de 0.2% para el suelo sin contaminar y 0.6%, 1.4% y 4.1% para las muestras de suelo contaminado al 2%, 4% y 6% respectivamente. Posteriormente se realizó el montaje de cada una de las columnas teniendo en cuenta las diferentes condiciones. La Fig. 3 muestra el montaje realizado para el desarrollo experimental.



Fig. 3. Montaje final del sistema de biorremediación

D. Puesta en marcha y control del proceso.

Se realizó una prueba de trazador con una solución salina del 1% para determinar las condiciones de empaquetamiento de la columna y la porosidad efectiva. Con la porosidad

efectiva, se calculó la velocidad efectiva dentro de la columna y se estableció el tiempo que tardó una gota de agua en atravesar el medio poroso (suelo arenoso), lo cual correspondió a 6 días lo que equivale al Volumen de Poro Intercambiable (VPI). En total para el tiempo de seguimiento realizado a las columnas, se determinó un total de 12 VPI.

El proceso se controló por un periodo de cuatro meses como se observa en la Fig. 4 y se desarrolló de la siguiente manera:

Etapas de arranque: Se determinó la concentración de diésel, el contenido bacteriano en suelo contaminado a diferentes concentraciones y en suelo no contaminado; se midió el oxígeno disuelto y se controló el caudal de entrada de agua en cada columna.

Etapas de desarrollo: El proceso se controló por un periodo de cuatro meses, tomando muestras del agua de salida de la columna y se midió la concentración de diésel y el contenido bacteriano.

Etapas finales: Después de los cuatro meses de monitoreo, se desmontaron las columnas y se determinó la humedad del suelo, concentración de diésel en el suelo y su contenido bacteriano.

Durante los cuatro meses se monitoreó la concentración de oxígeno disuelto, se controló el caudal de entrada de agua en cada columna y se determinó el pH.

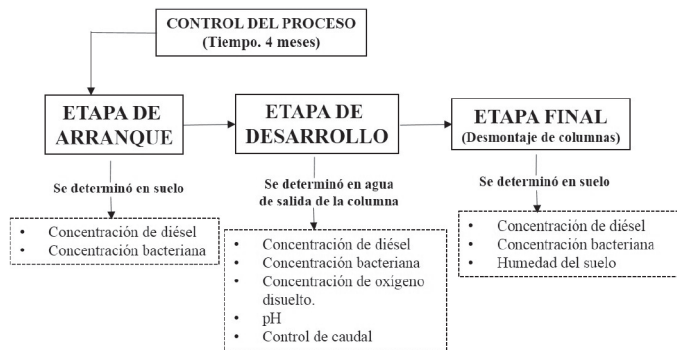


Fig. 4. Descripción del proceso

Los métodos para el análisis de las muestras fueron: técnica de vertido en placa y determinación de las Unidades Formadoras de Colonias para el conteo bacteriano [44], determinación de diésel en agua y suelo, por el método EPA 418.1 y medición de oxígeno disuelto en agua y pH con el equipo Tipo Hqd Portable Meter Modelo HQ40d con una sonda de Oxígeno LDO10101 y de pH PHC 30101.

III. ANÁLISIS DE RESULTADOS

La Tabla 1 muestra los resultados obtenidos de las características fisicoquímicas determinadas del suelo no contaminado y contaminado a las diferentes concentraciones trabajadas.

TABLA I. RESUMEN DE LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS REALIZADOS AL SUELO CONTAMINADO Y NO CONTAMINADO.

ANÁLISIS DEL SUELO	SUELO NO CONTAMINADO		SUELO CONTAMINADO	
	Blanco	2%	4%	6%
Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	542,3	324,0	268,7	331,3
pH H_2O	6,3	5,8	5,4	5,5
pH KCl	4,9	4,4	4,2	4,6
ΔpH	-1,4	-1,4	-1,2	-1,0
Densidad real (g/cm^3)	2,5	1,7	1,5	1,5
% Arena	91,0	92,0	92,0	93,0
% Carbono orgánico	0,2	0,7	0,8	1,1

Se obtuvieron conductividades más altas en el suelo no contaminado comparado con las conductividades encontradas en el suelo contaminado en un 2%, 4% y 6% con diésel; esto es posible debido a que la contaminación puede llegar a impedir la solubilización de algunas sales; sin embargo en todos los casos, las conductividades analizadas se refirieron a un suelo no salino. Al determinar el pH en el suelo no contaminado y en el suelo contaminado, se observó una leve disminución del pH en este último, lo que tiende a aumentar y a acentuar la acidez ya presente en el suelo inicial, teniendo en cuenta que a pH inferior a 5,5 la solubilidad de algunos iones como el Al y el Mn aumentan así como también la presencia de iones H^+ . Aunque la variación del pH fue muy leve e inferior a la unidad, en el suelo no contaminado y contaminado al 2% con diésel, se infiere que no existe presencia de acidez intercambiable y desaparece la posibilidad de toxicidad con Al^{3+} , H_3O^+ o Mn^{2+} , lo que favorece la actividad biológica bacteriana. Por el contrario, se produce una disminución leve pero significativa en los suelos contaminados en un 4% y 6% con diésel, en los cuales ya se considera la presencia de formas de aluminio intercambiable ($\text{Al}(\text{OH})^{2+}$ y Al^{3+}) y aunque no es significativo el contenido de H_3O^+ es levemente desfavorable para el desarrollo de las actividades microbianas en el suelo.

El cálculo del delta pH también evidencia la situación explicada anteriormente, ya que a medida que aumenta la contaminación con diésel, la carga del suelo pasa de ser intercambiador catiónico a disminuir su carga negativa en el suelo con un 6% de diésel.

La densidad real en el suelo, determinada mediante la masa y el volumen del suelo seco, se ve disminuida casi en una unidad a medida que aumenta la contaminación, esto es debido a que el diésel, al quedar adsorbido en las partículas secas del suelo, modifica el volumen de las mismas, lo cual se refleja en una disminución de la densidad real.

El porcentaje de carbono orgánico aumenta proporcionalmente a medida que aumenta la contaminación en el suelo, teniendo un valor inicial en el suelo no contaminado de 0,2% e incrementándose gradualmente a medida que aumenta la concentración de diésel, y

encontrándose los valores más altos de carbono orgánico de 1,1% en el suelo contaminado al 6% con diésel. Esto se debe a que los hidrocarburos que conforman el diésel, tienen una estructura que se encuentran entre C10 - C23 y con mínimo contenido de compuestos volátiles, esto facilita su determinación a través del método de oxidación de Walkley-Black, lo que refleja los valores más altos de carbono orgánico encontrados en los suelos con una concentración más alta de diésel.

El análisis de los resultados obtenidos de la medición del caudal de agua en la entrada de cada una de las columnas evaluadas mostró fluctuaciones para las columnas no aireadas entre 0,13 y 0,20 mL/min y para las columnas aireadas entre 0,13 y 0,18 mL/min. En promedio el caudal manejado para todo el sistema fue de 0,17 mL/min el cual presentó una leve variación, comparándolo con el caudal fijado (0,2 mL/min). Se puede resaltar que se logró un caudal relativamente homogéneo en la fase de operación de las columnas, excepto por algunos inconveniente de funcionamiento que repercutieron en las mediciones del caudal de entrada realizadas.

La concentración de oxígeno presentó constantes variaciones durante la fase de operación de la segunda etapa del proyecto. Tanto las columnas aireadas como las no aireadas, presentaron variaciones en las concentraciones de oxígeno monitoreadas. En las columnas aireadas, las concentraciones de oxígeno se mantuvieron entre los rangos de 5,1 y 7,4 mg de O₂/L y para las columnas no aireadas las concentraciones variaron entre 3,9 y 4,7 mg de O₂/L. Se puede analizar, que aunque se produjo una oxigenación inducida en las columnas aireadas, la diferencia entre la concentración de oxígeno disuelto en el elutriado entre las columnas aireadas y las no aireadas no fue significativo, por lo que las columnas no aireadas también recibieron una contribución importante de este aceptor de electrones, favoreciendo el crecimiento microbiano para las dos condiciones debido a que concentraciones mayores de 0.5 mg O₂/L favorecen la degradación oxigénica del contaminante en estudio [45].

En cuanto a los datos de conductividad eléctrica en el elutriado, se puede concluir que no se presentó una variación significativa entre la conductividad eléctrica en las columnas aireadas con promedio de 212 ms/cm y las no aireadas con un promedio de 226 ms/cm. Esto indica que las columnas trabajaron bajo unas condiciones adecuadas de salinidad y que no existen concentraciones elevadas de iones disueltos en el elutriado.

En cuanto al seguimiento del pH en el elutriado, se observó que tanto las columnas aireadas como las no aireadas mantuvieron un pH constante durante su periodo de funcionamiento. Se obtuvieron pH promedios con una variación entre 7,0 y 7,3 para todas las columnas. Los resultados nos indican que el pH obtenido en el elutriado, refleja las adecuadas condiciones presentes en la columna y que el pH no es un factor limitante que afecte el crecimiento de las poblaciones microbianas en ellas.

Los microorganismos del suelo son sensibles a las perturbaciones del medio y estos efectos se pueden evidenciar por la medición del número de microorganismos presentes en él y la actividad enzimática [46].

La Figura 5 muestra el número de bacterias presentes en el suelo inicial no contaminado y en el suelo contaminado a diferentes concentraciones (2%, 4% y 6%), evidenciándose una disminución significativa en el número de microorganismos en el sustrato con diésel, debido a la muerte celular causada por la sustancia en estudio. Entre mayor concentración del contaminante, se observó mayor afectación.

Los productos del petróleo pueden inhibir el número y la actividad de la microbiota del suelo lo cual depende de la concentración del contaminante, el tipo de contaminante y de las propiedades del suelo [47].

En el caso de la concentración de diésel en el suelo, estudios han reportado que concentraciones mayores al 3% (p/p) de diésel causa un efecto negativo sobre la microbiota [48], lo cual se pudo evidenciar en los resultados obtenidos donde hubo menor afectación a una concentración de 2% y mayor afectación al 6%.

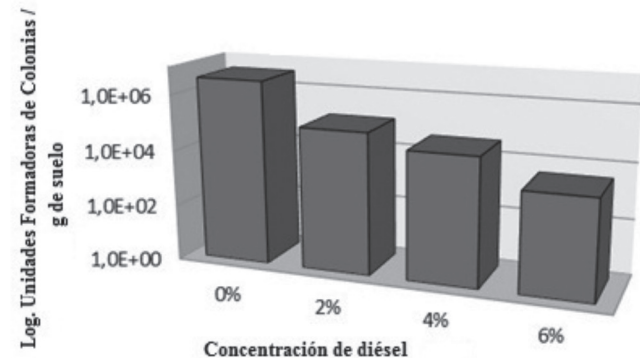


Fig. 5. Cuento bacteriano en suelo inicial no contaminado y contaminado con diésel.

Las Figuras 6 y 7 muestran los resultados obtenidos, del seguimiento al conteo bacteriano en el elutriado en las columnas aireadas y no aireadas.

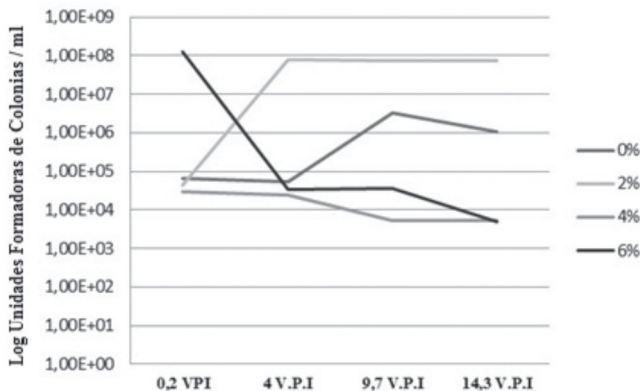


Fig. 6. Cuento bacteriano en el elutriado de las columnas aireadas a diferentes concentraciones del contaminante.

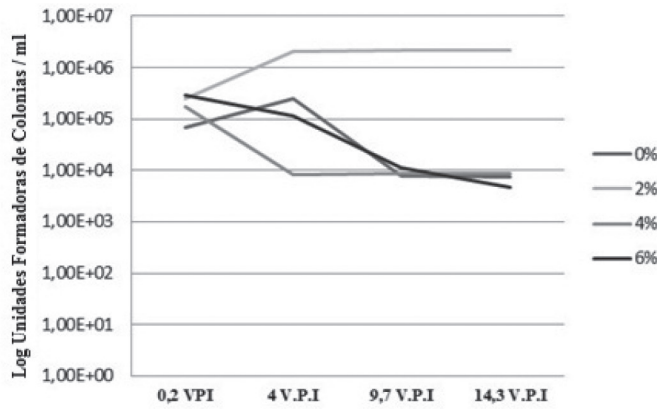


Fig. 7. Conteo bacteriano en el elutriado de las columnas no aireadas a diferentes concentraciones del contaminante.

Se puede concluir también, que no se presentó crecimiento bacteriano durante el tiempo monitoreado en las muestras contaminadas al 4% y al 6% en las dos condiciones. Esto indica que no hubo actividad metabólica significativa para la obtención de materia y energía que permitiera la división celular y por lo tanto el aumento en el número de microorganismos. Las investigaciones realizadas por MALGORZATA, H-P and MALGORZATA, M. 2011, [47], plantean que en suelos arenosos con bajo contenido de materia orgánica, el diésel afecta directamente el crecimiento bacteriano debido a que se presenta menor adsorción del contaminante en las partículas del suelo y mayor disponibilidad para los microorganismos, produciendo mayor toxicidad debido a la inhibición de la enzima deshidrogenasa.

En el caso del suelo contaminado al 2% se observó crecimiento significativo en el primer mes del monitoreo tanto en la columna aireada como en la no aireada, lo que evidencia que las concentraciones de oxígeno aplicadas establecieron condiciones oxigénicas en las dos columnas favoreciendo el desarrollo bacteriano; esto confirma lo planteado por MAROTO, M y ROGEL J, 2002, [45], quienes afirman que para condiciones aerobias la condición ambiental óptima de concentración de oxígeno disuelto en el agua debe ser superior a 0,5 mg/l. Sin embargo; se puede inferir que la diferencia en la cantidad de oxígeno suministrada en las dos columnas (Entre 5,1 y 7,4 mg de O₂/L para la columna aireada y 3,9 y 4,7 mg de O₂ /L para la no aireada) influyó en el mejor crecimiento de la columna aireada. A partir del segundo mes de monitoreo en las dos columnas se establece una fase estacionaria en el crecimiento bacteriano donde el número de individuos que nacen es igual al número de individuos que mueren.

En el caso de la columna control con aireación se observó crecimiento bacteriano hasta el segundo mes monitoreado donde posiblemente los nutrientes fueron aportados por el bajo contenido de materia orgánica del suelo; a partir del segundo mes se observó una fase de disminución del contenido de las células bacterianas debido al agotamiento

de nutrientes. La columna no aireada no mostró crecimiento significativo durante el tiempo monitoreado.

Los resultados obtenidos, de la determinación de la concentración de diésel en el elutriado, mostraron en todas las columnas que no se presentó un arrastre significativo del contaminante (< 2 mg/L), el cual no pudo ser cuantificado por el método EPA 418.1 Modificado para TPHs. Debido a estos resultados, se consideró pertinente la realización de los análisis de las concentraciones de diésel al suelo contaminado, al inicio y final del montaje experimental. Los resultados obtenidos de la determinación de la humedad del suelo después de desmontar las columnas, observándose un aumento en el contenido de agua del suelo en todas las columnas debido a la infiltración suministrada.

La Fig. 8 compara el crecimiento bacteriano del suelo inicial y del suelo final a diferentes concentraciones de contaminante.

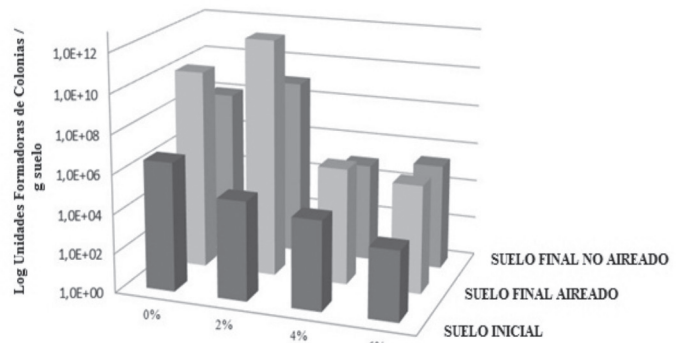


Fig. 8. Comparativo del conteo bacteriano entre el suelo inicial y el suelo final a diferentes concentraciones de contaminante.

Los resultados obtenidos, del conteo bacteriano en suelo, se relacionan con los datos obtenidos en el elutriado, donde el mejor crecimiento se evidenció en la columna con suelo contaminado al 2% de diésel confirmando lo analizado anteriormente.

Una vez se realizó el seguimiento a las columnas, se determinó la concentración final de diésel en el suelo contaminado para cada una de ellas y con estos resultados fue posible el cálculo del porcentaje de remoción final en los montajes aireados y en los no aireados. Los resultados se muestran en la Figura 9.

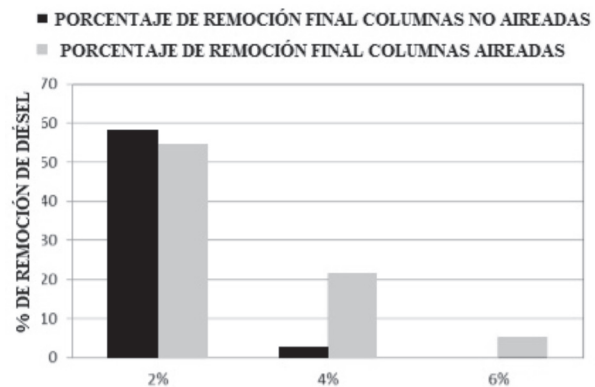


Fig. 9. Porcentajes de remoción de diésel en el suelo.

Según los resultados, se obtuvieron remociones significativas, superiores al 50%, en las columnas contaminadas al 2% con diésel y con una concentración inicial de 481 mg/kg, adicionalmente se observa que no se presentó una variación significativa entre la remoción presentada en la columna aireada en comparación con la no aireada. En las columnas contaminadas en un 4% con diésel, las cuales presentaron una concentración inicial de 641 mg/kg, se presentan remociones inferiores al 25%, sin embargo, la remoción más significativa se llevó a cabo en la columna aireada. En las columnas contaminadas en un 6% con diésel, las cuales presentaron una concentración inicial de 1019 mg/kg, se observa que se presentan remociones inferiores al 10%, sin embargo, la remoción más significativa se llevó igualmente en la columna aireada.

La remoción de diésel en los suelos contaminados se relaciona con el crecimiento bacteriano analizado anteriormente, donde se observó mejor crecimiento en el suelo contaminado a una concentración del 2%, tanto en condiciones aireadas como no aireadas; por lo tanto se puede plantear que la remoción del contaminante se realizó por degradación microbiana y por oxidación química.

IV. CONCLUSIONES

Se determinó que para suelos arenosos, con bajos contenidos de materia orgánica, caudales de infiltración bajos, pH entre 6 – 8, temperatura de operación de 22°C y concentraciones de oxígenos disueltos superiores a 0,5 mg/l, la técnica de Bioventing presentó los mejores porcentajes de remoción de diésel (superiores al 50%) en suelos contaminados a una concentración de diésel del 2% en peso, para un período de 4 meses.

En la columna control, el crecimiento bacteriano no fue significativo comparado con las columnas contaminadas al 2% con diésel, ya que la textura de suelo (arenoso), los bajos contenidos de materia orgánica (<1%) y la ausencia del contaminante, no permitieron una adecuada disponibilidad de nutrientes y sustrato necesarios para la obtención de energía y la generación de biomasa bacteriana.

Se corroboró la influencia de la contaminación con diésel en las propiedades del suelo, observándose que a medida que aumenta la concentración de la sustancia en estudio, las propiedades como el pH, la conductividad, la densidad real y el carbono orgánico variaron ligeramente, mientras que otras propiedades como la textura permanecieron constantes. Esto indica las propiedades que se alterarían en caso de presentarse un evento de contaminación, las cuales deberían ser monitoreadas, ya que estos cambios influyen en las poblaciones bacterianas presentes en el suelo causando alteraciones en el crecimiento.

REFERENCIAS

- [1] B. Thapa, A.K.C Kumar and Ghimire A, A review on bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminants in soil, Kathmandu university journal of science, engineering and technology, 8(1). 164-170, 2012.
- [2] C. Bona, I. Rezende, G. Santos and L. Souza, Effect of soil contaminated by diesel oil on the germination of seeds and the growth of *Schinus terebinthifolius*, Brazilian Archives of Biology and Technology, 54(6). 1379-1387, 2011.
- [3] L. Reynoso-Cuevas, M.E. Gallegos Martinez, F. Cruz Sosa and M. Gutiérrez Rojas, In vitro evaluation of germination and growth of five plant species on medium supplemented with hydrocarbons associated with contaminated soils, Bioresource Technology, 99(14). 6379-6385, 2008.
- [4] L. Nogueira, R. Inckot, G. Santos, L. Souza and C. Bona, Phytotoxicity of petroleum contaminated soil and bioremediated soil on *Allphylus edulis*, Rodriguiesia, 62(3). 459-466, 2011.
- [5] R.S. Ramadha, R.N. Jabbar and N. Abadulatif, Isolation, identification and assessment of the ability of local *Streptomyces* isolate from Iraq to utilize crude oil and diesel fuel, Al Gafarietal Scientific Research and Impact, 2(1). 9-28, 2013.
- [6] E.H. Lee, Y.S. Kang and K.S Cho, Bioremediation of diesel contaminated soils by natural attenuation, Biostimulation and Bioaugmentation employing *Rhodococcus* sp. EH831, Korean Journal Microbiology Biotechnology, 39(1). 86-92, 2011.
- [7] W. Graj, P. Lisiecki, A. Szulc, L. Chrzanowski and K.J. Wojtera, Bioaugmentation with petroleum degrading consortia has a selective growth promoting impact on crop plants germinated in diesel oil contaminated soil. Water Air, Soil Pollution, 224. 1676, 2013.
- [8] S. Anjana, K. Poonam and B.R. Meenal BR, Biodegradation of Diesel Hydrocarbon in Soil by Bioaugmentation of *Pseudomonas aeruginosa*: A Laboratory Scale Study. International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation, Vol. 2, No. 4, 202-212, 2014.
- [9] M.C. Marley, D.J. Hazebrouck and M.T. Walsh MT, The application of in situ air sparging as an innovative soils and ground-water remediation technology. Ground Water Monit Remediat 12:137-145, 1992.
- [10] K.R. Reddy, S. Kosgi and J.N Zhou, A Review of in-situ air sparging for the remediation of voc-contaminated saturated soils and groundwater. Hazard Waste Hazard Mater 12:97-118, 1995.
- [11] D.H. Bass, N.A. Hastings and R.A Brown RA, Performance of air sparging systems: a review of case studies. J Hazard Mater 72:101-119, 2000.
- [12] B.L. Hall, T.E. Lachmar and R.R. Dupont, Field monitoring and performance evaluation of an in situ air sparging system at a gasoline-contaminated site. J Hazard Mater 74:165-186, 2000.
- [13] G. Heron, J.S. Gierke, B. Faulkner, S. Mravik, L. Wood and C.G Enfield, Pulsed air sparging in aquifers contaminated with dense nonaqueous phase liquids. Ground Water Monit Remediat 22:73-82, 2002.
- [14] X.M. Yang, D. Beckmann, S. Fiorenza and C. Niedermeier, Field study of pulsed air sparging for remediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil and groundwater. Environ Sci Technol 39:7279-7286, 2005.
- [15] M.H. Huesemann and M.J. Truex, The role of oxygen diffusion in passive bioremediation of petroleum contaminated soils. J. Hazard. Mater. 51, 93-113, 1996.
- [16] D. Brinkmann, J. Röhrs and K. Schügerl, K, Bioremediation of diesel fuel contaminated soil in a rotating bioreactor Part I: Influence of oxygen saturation. Chem. Eng. Technol. 21, 168-172, 1998.
- [17] J. Troquet, C. Larroche and C.G. Dussap, Evidence for the occurrence of an oxygen limitation during soil bioremediation by solid-state fermentation. Biochem. Eng. J. 13, 103-112, 2003.
- [18] U.S. EPA. Manual: Bioventing Principles and Practice. Volume II: Bioventing Design. EPA/540/R-95/534a. 1995.
- [19] S.C. Choi, K.K. Kwon, J.H. Sohn and S.J. Kim, Evaluation of fertilizer additions to stimulate oil biodegradation in sand seashore mesocosms. J. Microbiol. Biotechnol. 12:431-436, 2002.
- [20] S. Kim, D.H. Choi, D.S. Sim and Y. Oh, Evaluation of bioremediation effectiveness on crude oil-contaminated sand. Chemosph. 59: 845-852, 2005.
- [21] J.J. Cooney, The fate of petroleum pollutants in freshwater ecosystems. K 03099 Pollution; J 02905 Water; P 2000 Freshwater Pollut. 1984.
- [22] M. Alexander, Biodegradation and Bioremediation 2nd ed. Academic Press, London, 1999.
- [23] R. Bartha R, Microbial ecology: fundamentals and applications. Addison_Wesley Publ., Reading, Mass, 1986a.
- [24] R.P.J. Swanell, K Lee and M. McDonagh, Field evaluation of marine oil spill bioremediation. Microb. Rev. (June): 342-365, 1996.

- [25] S. H. Ferguson, P. D. Franzmann, I. Snape, A.T. Revill, M.G. Trefry and L.R. Zappia, Effects of temperature on mineralisation of petroleum in contaminated Antarctic terrestrial sediments. *Chemosphere* 52, 975–987, 2003.
- [26] S. Schiewer and T. Niemeyer, Soil heating and optimized nutrient addition for accelerating bioremediation in cold climates. *Polar Record*, 42, 23–31, 2006.
- [27] J.S. Poland, J.A. Page, K. Paudyn, A. Rutter and Rowe, R. K., Remediation of hydrocarbon contaminated soils in the Canadian Arctic with landfarms. In Biggar, K., Guidard, S., Mullick, A., and Nahir, M. (eds.), *Proceedings of the Assessment and Remediation of Contaminated Sites in Arctic and Cold Climates workshop*. pp. 209–215, Edmonton, AB, 6–8 May, 2007.
- [28] J.S. Heath, K. Koblis, S.L. Sager and Day, C., *Hydrocarbon Contaminated Soils. Volumen III*. Boca Raton: Lewis Publishers, 1993.
- [29] N. Das and P. Chandran, *Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: An Overview*, 2010.
- [30] M. Bouchez, D. Blanchet and J.P. Vandecasteele, The microbial fate of polycyclic aromatic hydrocarbons: carbon and oxygen balances for bacterial degradation of model compounds, *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol 45(4), 556–561. 1996.
- [31] H. Mulder, AM Breure, J.G.V. Andel, J.T.C Grotenhuis and W.H Rulkens WH, Influence of thermodynamic conditions on naphthalene dissolution and subsequent biodegradation. *Biotechnol Bioeng.*;57:145–154, 1998.
- [32] P.L. Stelmack PL, M.R. Gray and M.A. Pickard, Bacterial adhesion to soil contaminants in the presence of surfactant. *Appl Environ Microbiol.* 65:163–168, 1999.
- [33] M. Bouchez, D. Blanchet, V. Bardin and J.P. Vandecasteele, Evidence for interfacial uptake in hexadecane degradation by *Rhodococcus equi*: the importance of cell flocculation. *Microbiology*, vol 147(9). 2537-43, 2001.
- [34] P. Goswami, H.D. and Singh HD, Different modes of hydrocarbon uptake by two *Pseudomonas* species. *Biotechnol Bioeng.*;37:1–11, 1991.
- [35] G.S. Shreve, S. Inguva and S. Gunnam S, Rhamnolipid biosurfactant enhancement of hexadecane biodegradation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Mar Biol Biotechnol.*;4:331–337, 1995.
- [36] J. Ortega-Calvo and P.M. Gschwend, Influence of Low Oxygen Tensions and Sorption to sediment Black Carbon on Biodegradation of Pyrene. *Applied & Environmental Microbiology*, 76 (13), 4430-4437, 2010.
- [37] P. Franzmann, W. Robertson, L. Zappia and G. Davis, G, The role of microbial populations in the containment of aromatic hydrocarbons in the subsurface. *Biodégradation. Países Bajos*. 13:65-78, 2002.
- [38] M. Aitken, M, Mechanisms of organic pollutant transformation and degradation by microorganisms. En : *Bioremediation : Principles and Practice. Volumen I : Fundamentals and Applications*. Editado por Sikdar, S. e Irvine, R.. Technomic Publication. Pennsylvania, Estados Unidos. p. 333-383, 1998.
- [39] P. Werner, P. Börke, P and N. Hüßers, Leitfaden Natürliche Schadstoffminderung bei Teeröfaltlasten, im BMBF Förderschwerpunkt KORA. Schriftenreihe des Institutes für Abfallwirtschaft und Altlasten, TU Dresden, Band 58 ISBN 978-3-934253-50-6, 2008.
- [40] D. Wabbels and G. Teutsch, Leitfaden Natürliche Schadstoffminderungsprozesse bei mineralölkontaminierten Standorten. KORA Themenverbund I: Raffinerien, Tanklager, Kraftstoffe/Mineralöl, MTBE. ZAG Universität Tübingen, ISBN 978-3-89746-093-9, 2008.
- [41] D. Gibson, and R. Parales, Rebecca, Aromatic hydrocarbon dioxygenases in environmental biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology* 2000, 11:236–243. 2000.
- [42] L. Plata, A. Muskus y C. Santoyo, Evaluación de la influencia de una cepa bacteriana en la biorremediación de un suelo arenoso contaminado con diésel, a escala de laboratorio. Universidad Pontificia Bolivariana, Seccional Bucaramanga. Facultad de Ingeniería Ambiental, 2012.
- [43] DIN V 19736 Ableitung von Konzentrationen organischer Stoffe im Bodenwasser. Normenausschuß Wasserwesen (NAW).- DIN: Deutsches Institut für Normung e.V. (Ref.Nr. DIN V 19736:1998-10), 1998.
- [44] L. Fernández, Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados. Instituto Mexicano del Petróleo Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales Instituto Nacional de Ecología, 2006.
- [45] M. Maroto M y Rogel J, *Aplicación de Sistemas de Biorremediación de Suelos y Aguas Contaminadas por Hidrocarburos*, 2000. Disponible online: http://www.igme.es/internet/ewb_aguas/igme/publica/con_recu_acuiferos/028.pdf
- [46] V. Andreoni, L. Cavalca, M.A. Rao, G. Nocerino, S. Bernasconi and E. Dell'Amico, Bacterial Communities and Enzyme Activities of PAHs Polluted soils, *Chemosphere*; Vol 57: 401-412, 2004.
- [47] H. Malgorzata and M. Malgorzata, The influence of diesel fuel and biodiesel on soil microbial biomass. Department of Microbiology and environmental biotechnology, Slowackiego 17, 71-434, Poland. *Polish Journal of environmental studies*. Vol.20, NO. 2 (2011), 497-501, 2010.
- [48] A. Lapinskiené and P. Martinus, Research on anaerobic biodegradation of fats, biodiesel fuel and diesel fuel in soil medium. *Environmental research, engineering and management*, Vol. 39. No. 1, 30.37, 2007.



Claudia Santoyo Muñoz. Nació en Villavicencio, Meta, el 7 de mayo de 1971. Licenciada en Biología y Especialista en Microbiología Ambiental de la Universidad Industrial de Santander. La línea de interés de investigación son los procesos de biorremediación. Docente investigadora tiempo completo de la Universidad Pontificia Bolivariana, Seccional Bucaramanga, adscrita al Departamento de Ciencias Básicas.



Angélica María Muskus Morales. Nació en Bucaramanga, Santander, el 30 de Octubre de 1978. Ingeniera Sanitaria y Ambiental de la Universidad Pontificia Bolivariana, Especialista en Química Ambiental de Universidad Industrial de Santander y Magíster en Ciencias de la Ingeniería de la Universidad Técnica de Dresde, Alemania. La línea de interés de investigación son los procesos de remediación de suelos contaminados. Docente investigadora tiempo completo de la Universidad Pontificia Bolivariana, Seccional Bucaramanga, adscrita a la Facultad de Ingeniería ambiental.