

# Biotecnología del Petróleo



Mgter Ing. José Antonio Gálvez



**UNCUYO**  
UNIVERSIDAD  
NACIONAL DE CUYO

MENDOZA, ARGENTINA

**BIOPROCESOS**



FACULTAD  
DE INGENIERÍA

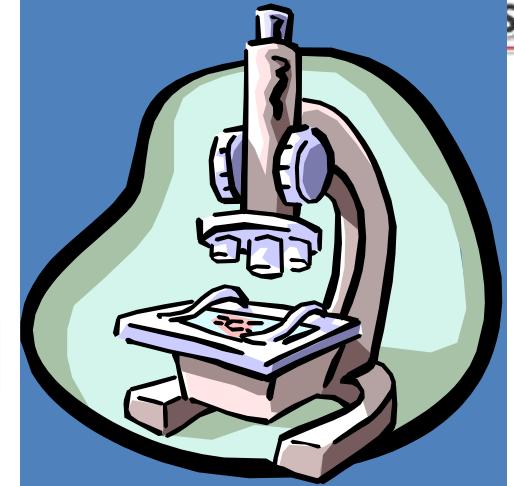
# Biodegradación: aspectos conceptuales





actividad  
biológica  
degradadora

# **MICROBIOLOGIA DE LA DEGRADACIÓN**



## **Los microorganismos:**

- Son medianamente predecibles**
- Son medianamente controlables**
- No está dicha la última palabra sobre su capacidad de afectar compuestos orgánicos o inorgánicos**





Botella 3 Dilución 8

Botella 1 Dilución 8

ACHROMOBACTER  
ACTINOMYCES  
ALCALIGENES  
BACILLUS  
CORYNEFORMS  
ERWINIA  
FLAVOBACTERIUM  
LACTOBACILLUS  
NOCARDIA  
PECTOCOCCUS  
PSEUDOMONAS  
SARCINA  
SPIRILLUM  
STREPTOMYCES  
VIBRIO  
XANTHOMYCES

# bacterias

---

Fuente: PETROLEUM  
MICROBIOLOGY,  
R.M. ATLAS,  
MACMILLAN PUBLISHING CO, 1984



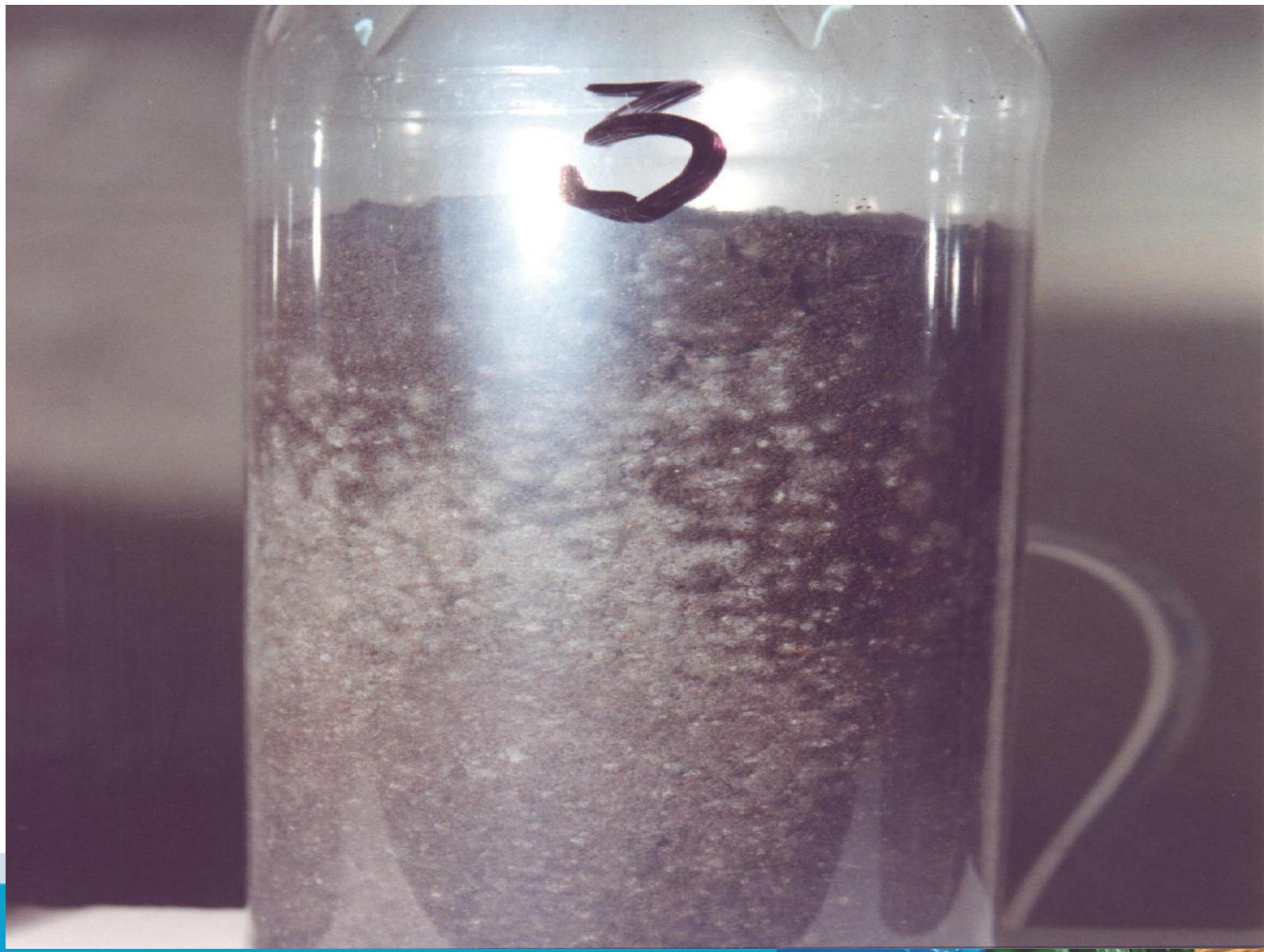
ASPERGILLUS  
BITRYTIS  
CANDIDA  
CLADOSPORIUM  
FUSARIUM  
HANSENULA  
OIDIODENDRUM  
PENICILIUM  
PAECYLOMYCES  
SACCHAROMYCES  
RHODOTORULA  
TORULOPSIS  
TRICHODERMA  
SACCHAROMYCOPSIS  
RHODOSPORIDIUM



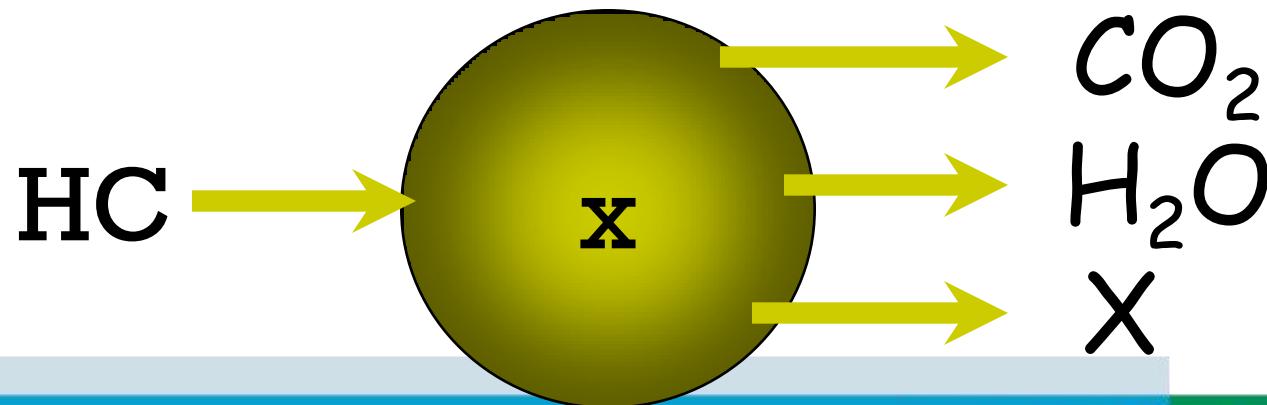
---

Fuente: PETROLEUM  
MICROBIOLOGY,  
R.M. ATLAS,  
MACMILLAN PUBLISHING CO,  
1984

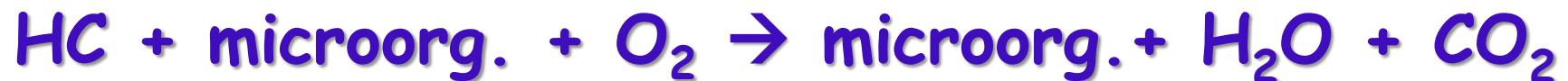




biodegradación: proceso natural por el cual microorganismos consumen hidrocarburos en condiciones aerobias y producen  $CO_2$ ,  $H_2O$ , X y productos parcialmente oxidados



Las reacciones de degradación son complejas y dependen del tipo de hidrocarburos (rico en naftas, ricos en gasoil o bien derrames muy antiguos), del tipo de suelo y del tipo de microorganismos presentes. De todos modos la transformación se puede resumir de la siguiente forma:



En regla general el 50 % de hidrocarburo se transforma en agua y dióxido de carbono y el resto se transforma en microorganismos. El nitrógeno y fósforo incorporados tienen como objetivo formar parte de los componentes celulares de los microorganismos que llevan a cabo la degradación del hidrocarburo.

**C : N : P : K**

**HC : N : P : K**



# CONDICIONES NUTRICIONALES

Fuente de Carbono: hidrocarburo a degradar

Fuente de Nitrógeno: urea, nitrato de amonio

Fuente de fósforo: fosfato diamónico, superfosfato

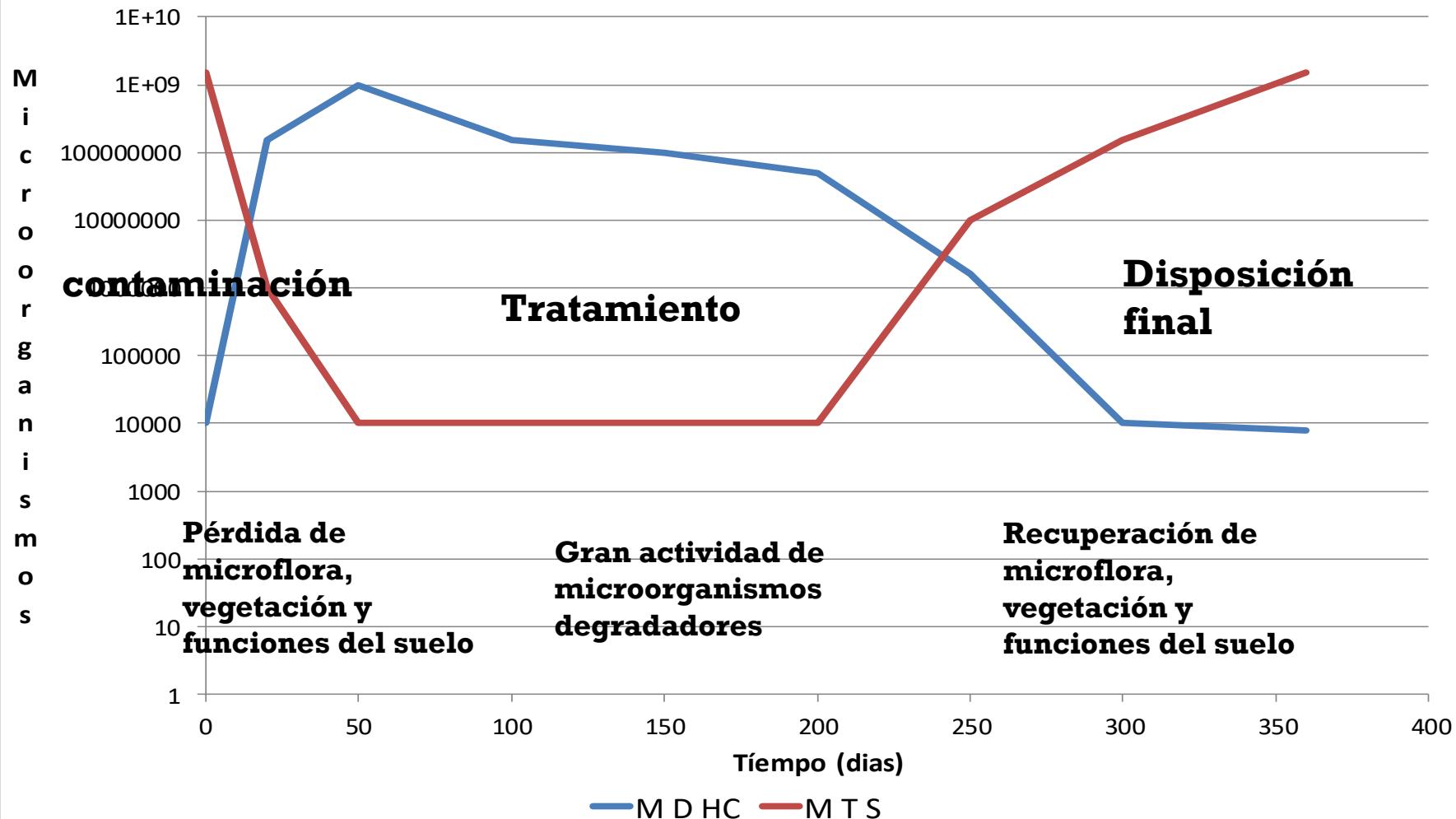
Fuente de oxígeno: aireación

Fuente de Potasio: fertilizante compuesto

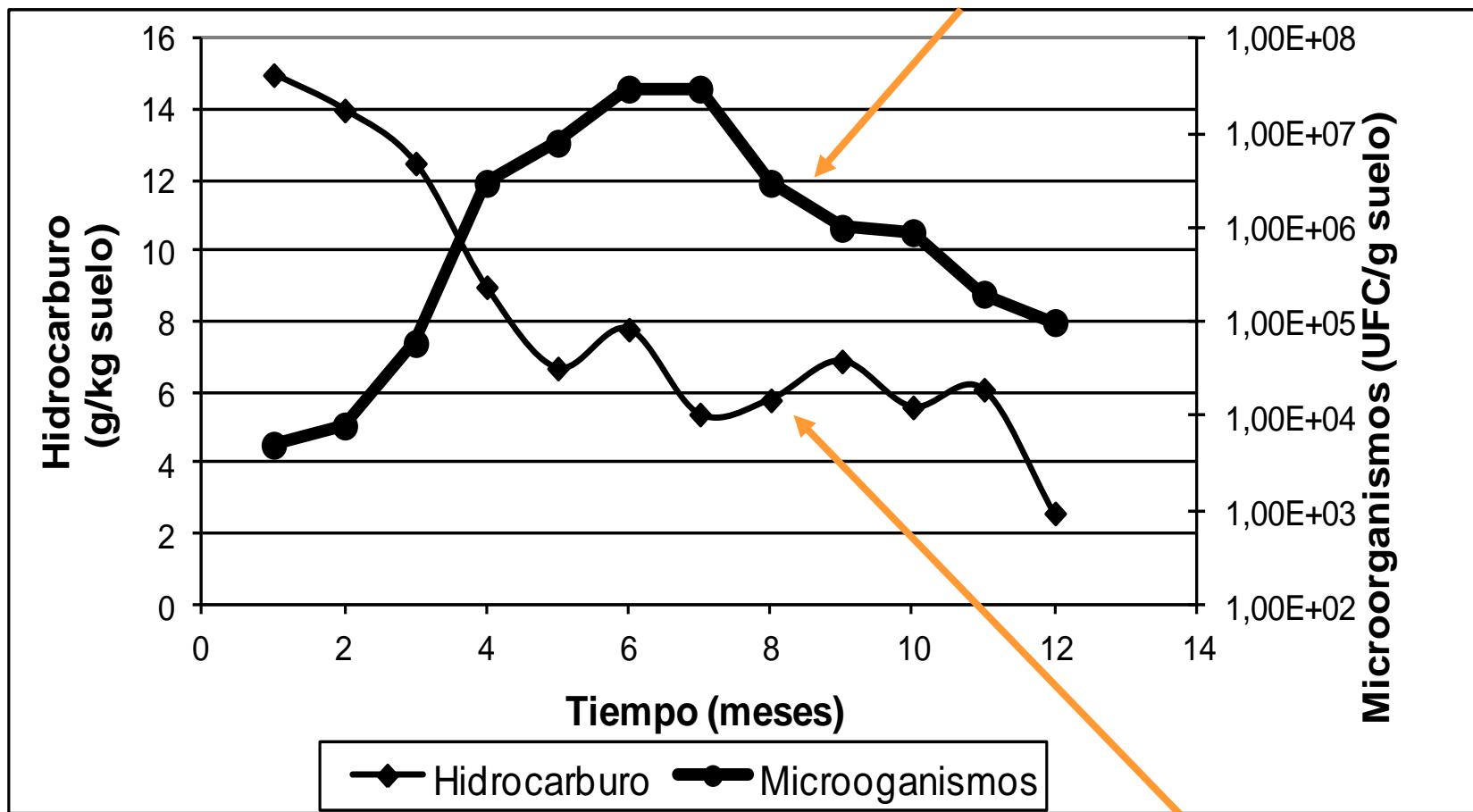
Nutrientes especiales: hierro, azufre, magnesio, vitaminas, en general están en el suelo en las cantidades requeridas o se pueden incorporar con un fertilizante compuesto



# Evolución de los microorganismos durante un proceso de contaminación y tratamiento del suelo



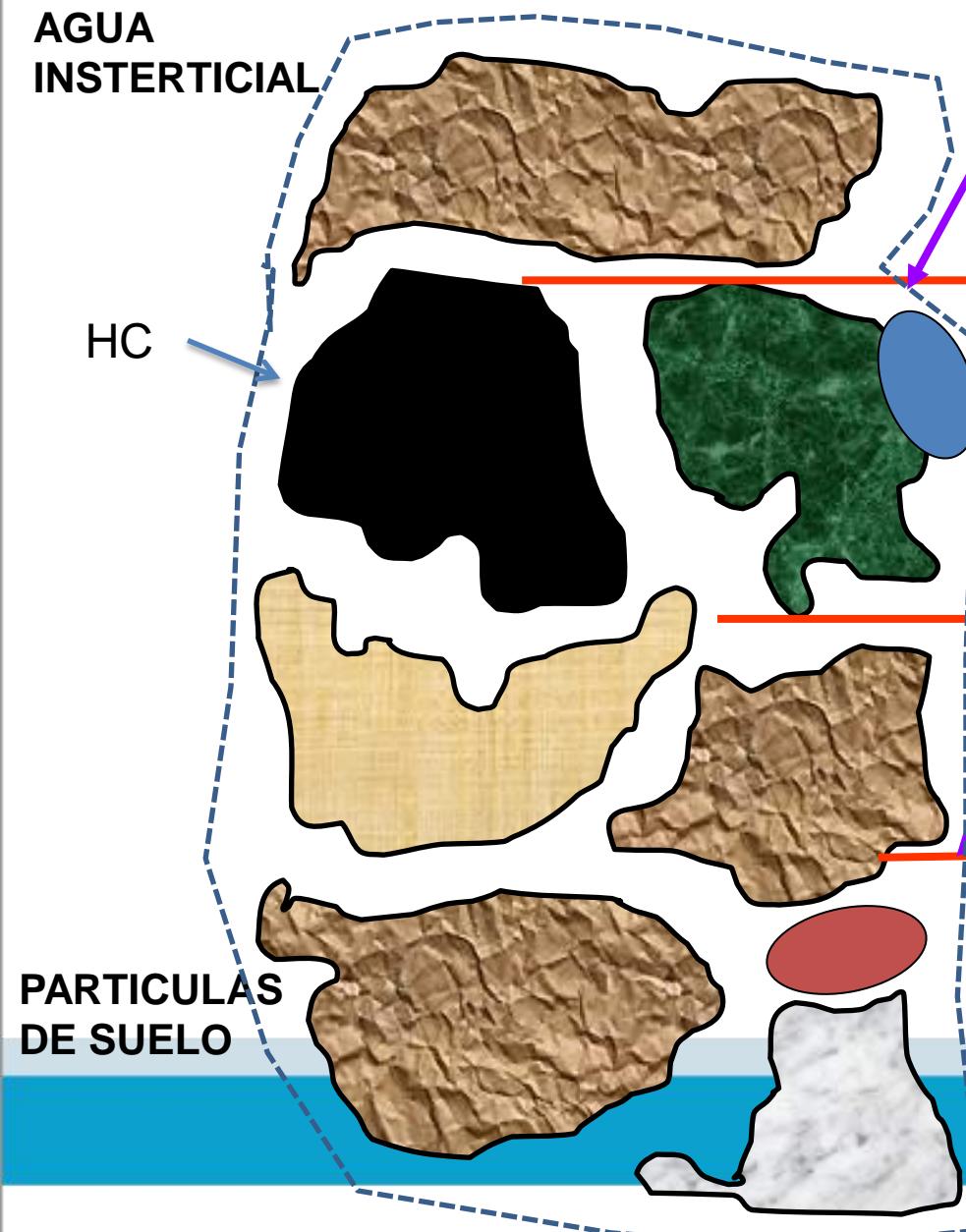
# microorganismos



## biodegradación



# Fenómenos de transporte



DISOLUCION

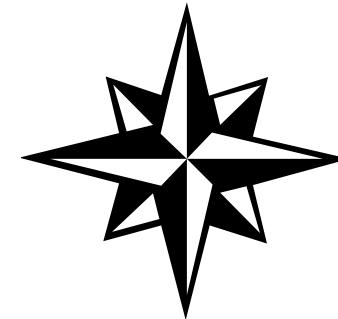
MICROORGANISMOS

DIFUSION

DESORCIÓN

Mass Transfer limitation of  
biotransformation  
*Bosma et al.*  
Environ. Sci Technology  
1997, 31, 248-252

# **PARAMETROS CRITICOS DE CONTROL**



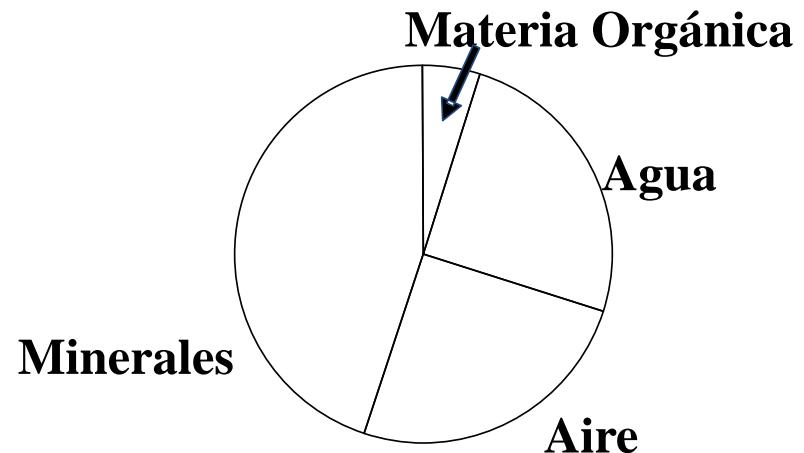
**Análisis de criterios para monitoreo y control de variables de proceso en degradación de hidrocarburos en sistemas de fase sólida**

**Ercoli y otros, IAPG.-**

# Componentes del suelo

El suelo está formado por

- Minerales: 45 %
- Materia orgánica: 5 %
- Agua: 25 %
- Aire: 25 %



# Suelo contaminado con crudo

Además de los componentes mencionados tiene:

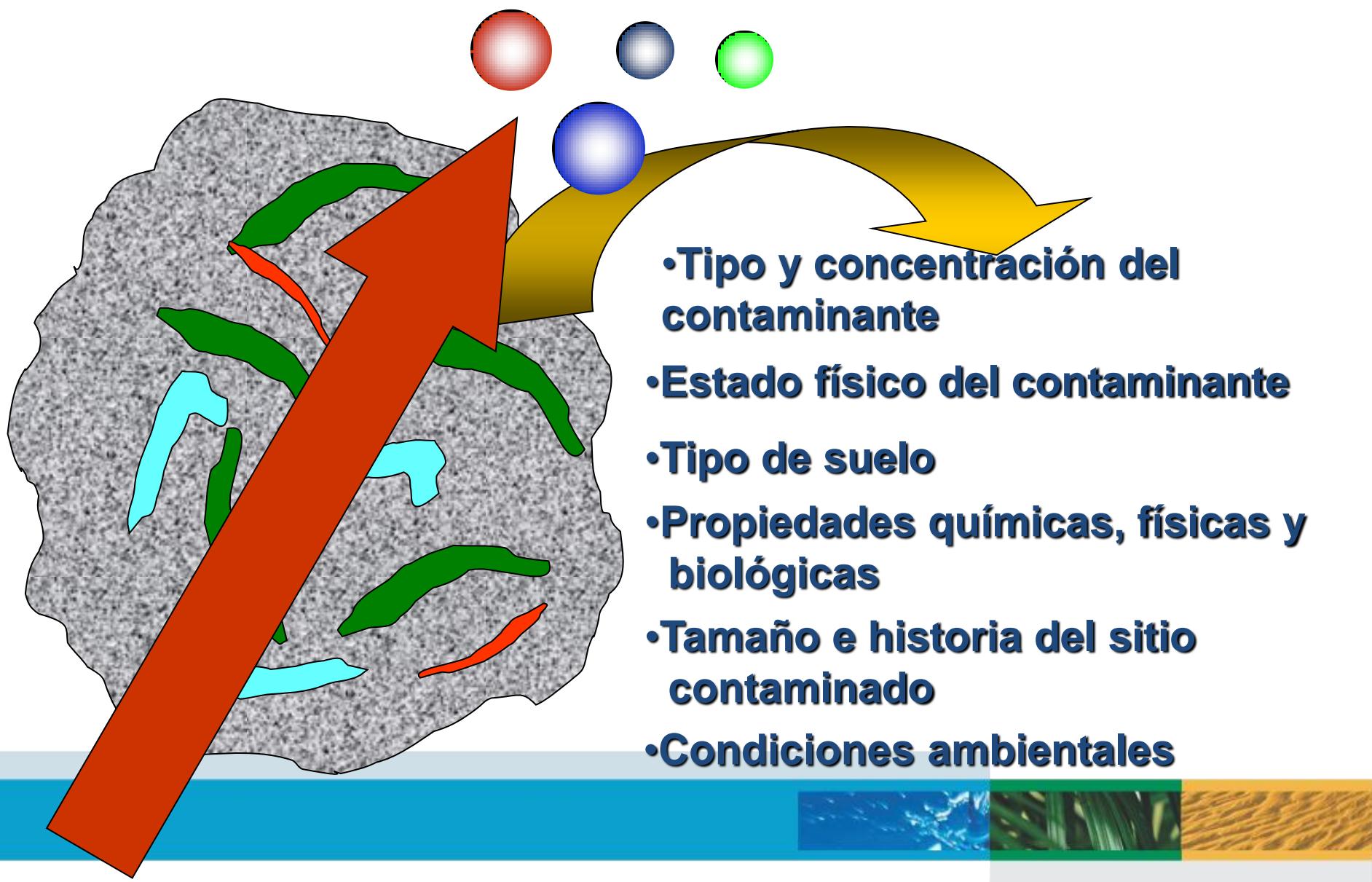
- Hidrocarburos
- NaCl
- Metales pesados
- Otros contaminantes

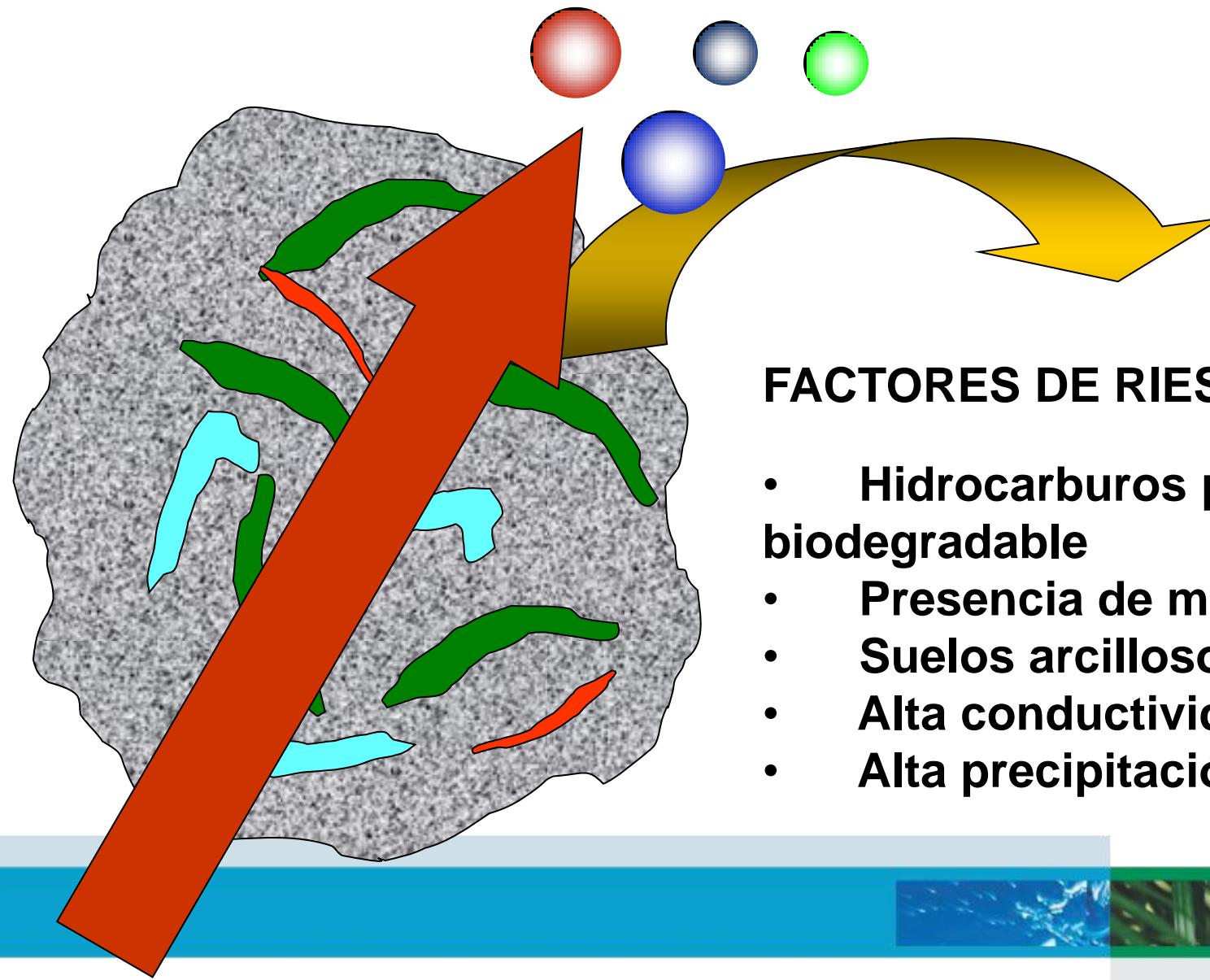
Que traen como efecto degradación de la calidad del suelo en particular:

- Modificación de la flora microbiana



# Factores que gobiernan la posibilidad de remoción de un contaminante desde el suelo





## FACTORES DE RIESGO

- **Hidrocarburos poco biodegradable**
- **Presencia de metales**
- **Suelos arcillosos**
- **Alta conductividad**
- **Alta precipitación pluvial**

# Tipo y concentración de contaminantes

- Tipo de hidrocarburos
  - alifáticos
  - aromáticos
  - nitrogenados y azufrados
- Concentración de hidrocarburos
- Antigüedad de la contaminación



# Biodegradabilidad relativa de hidrocarburos

BIOPROCESOS

Perry and Cerniglia, 1973.

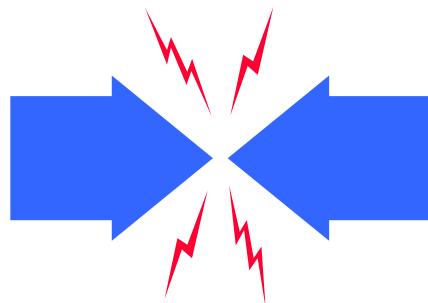
## Más biodegradable

- Alcanos lineales (C10 a C19)
- Alcanos ramificados (C12 a C18)
- Gases (C2 a C4)
- Alcanos (C5 a C9)
- Alquenos (C3 a C11)
- Alquenos ramificados
- Aromáticos
- Cicloalcanos
- Compuestos halogenados
- Compuestos nitrogenados y azufrados
- Fibras sintéticas
- Polímeros

## Menos biodegradable



# Principales condiciones ambientales



- Temperatura ambiente
- Temperatura en suelo
- Variación de temperatura entre el día y la noche
- Déficit hídrico
- Precipitaciones



## NIVEL DE OXIGENO

Es incrementado:

- evitando saturación con agua
- presencia de suelo arenoso
- evitando compactación
- evitando alto potencial redox
- bajas concentraciones de material degradable

## HUMEDAD

- sirve como medio de transporte
- el exceso de agua es detrimental (inhibe el pasaje de oxígeno a través del suelo)



## Estado físico del contaminante

Componente particulado de un tamaño menor, igual, mayor que la partícula del suelo con contaminado

Contaminante presente como película líquida

Contaminante adsorbido a la partícula de suelo

Contaminante adsorbido a la partícula orgánica de suelo

Contaminante presente como fase sólida o líquida en los poros de la partícula de suelo

Contaminante disuelto en la fase acuosa en los poros de la partícula de suelo

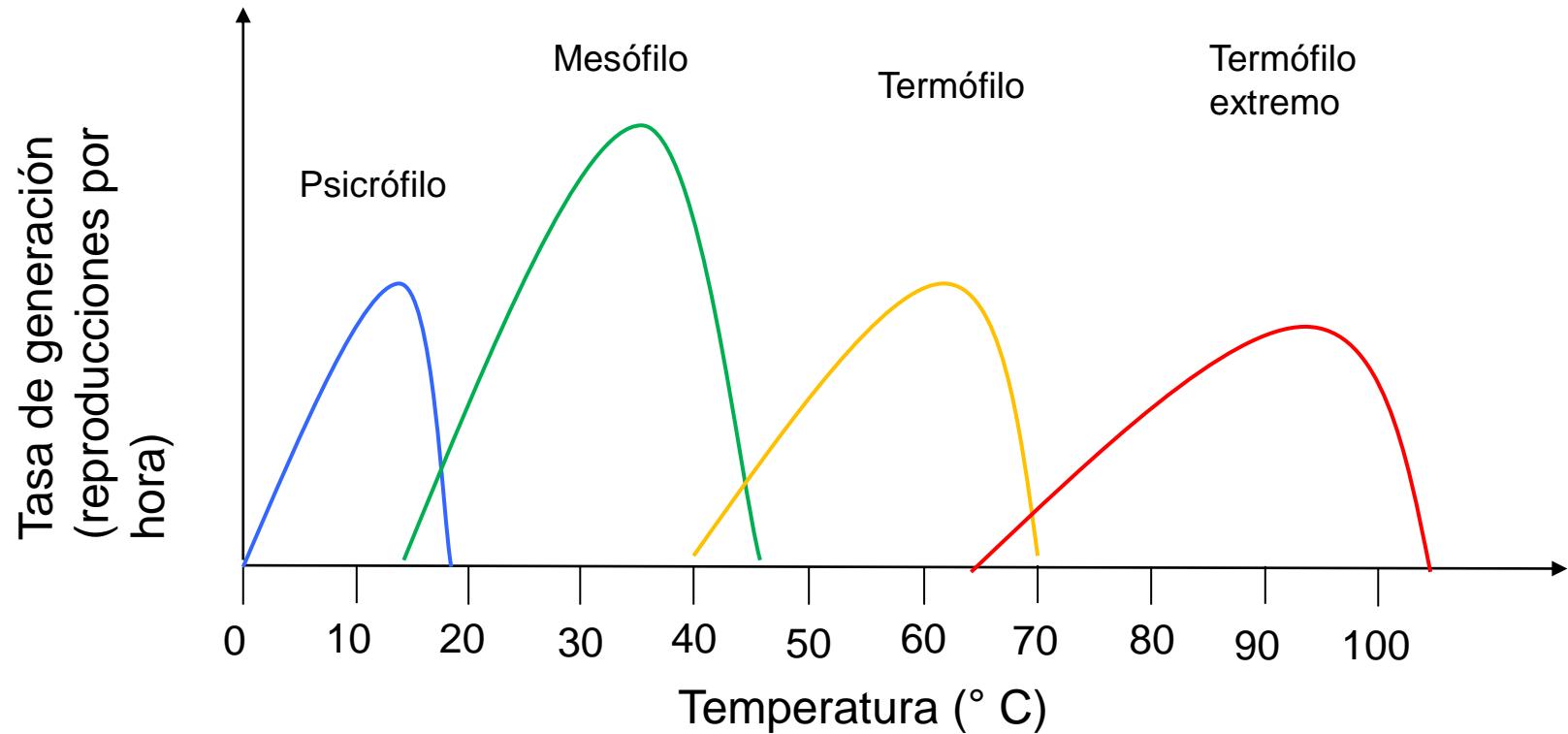
## Propiedades del contaminante usadas como base para la selección técnica del tratamiento

- Volatilidad
- Solubilidad en agua o en disolventes orgánicos
- Inestabilidad térmica/química
- Biodegradabilidad



# Temperatura

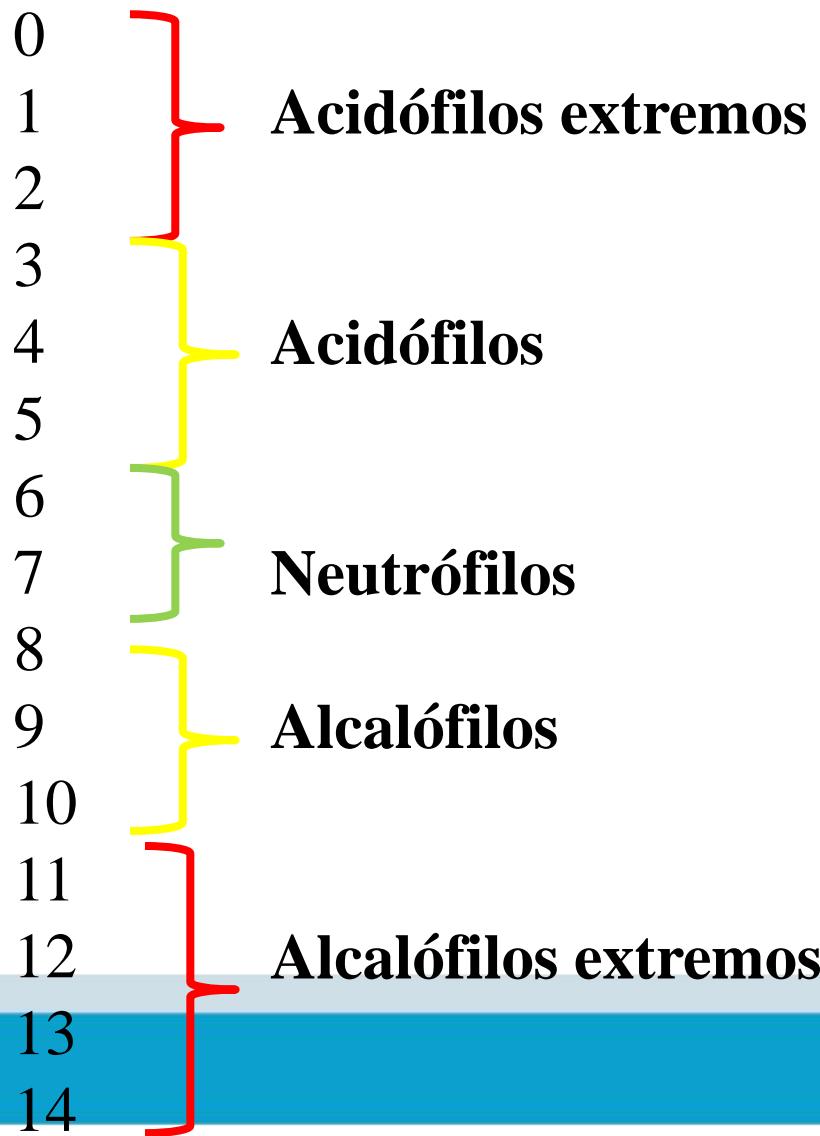
- La temperatura afecta la actividad microbiana
- La tasa de degradación decrecerá con la disminución de la temperatura
- Calentando el sitio de biorremediación se puede acelerar el proceso



**Clasificación microbiológica según temperatura óptima**

# Clasificación microbiana según pH

## Rango preferencial para vivir



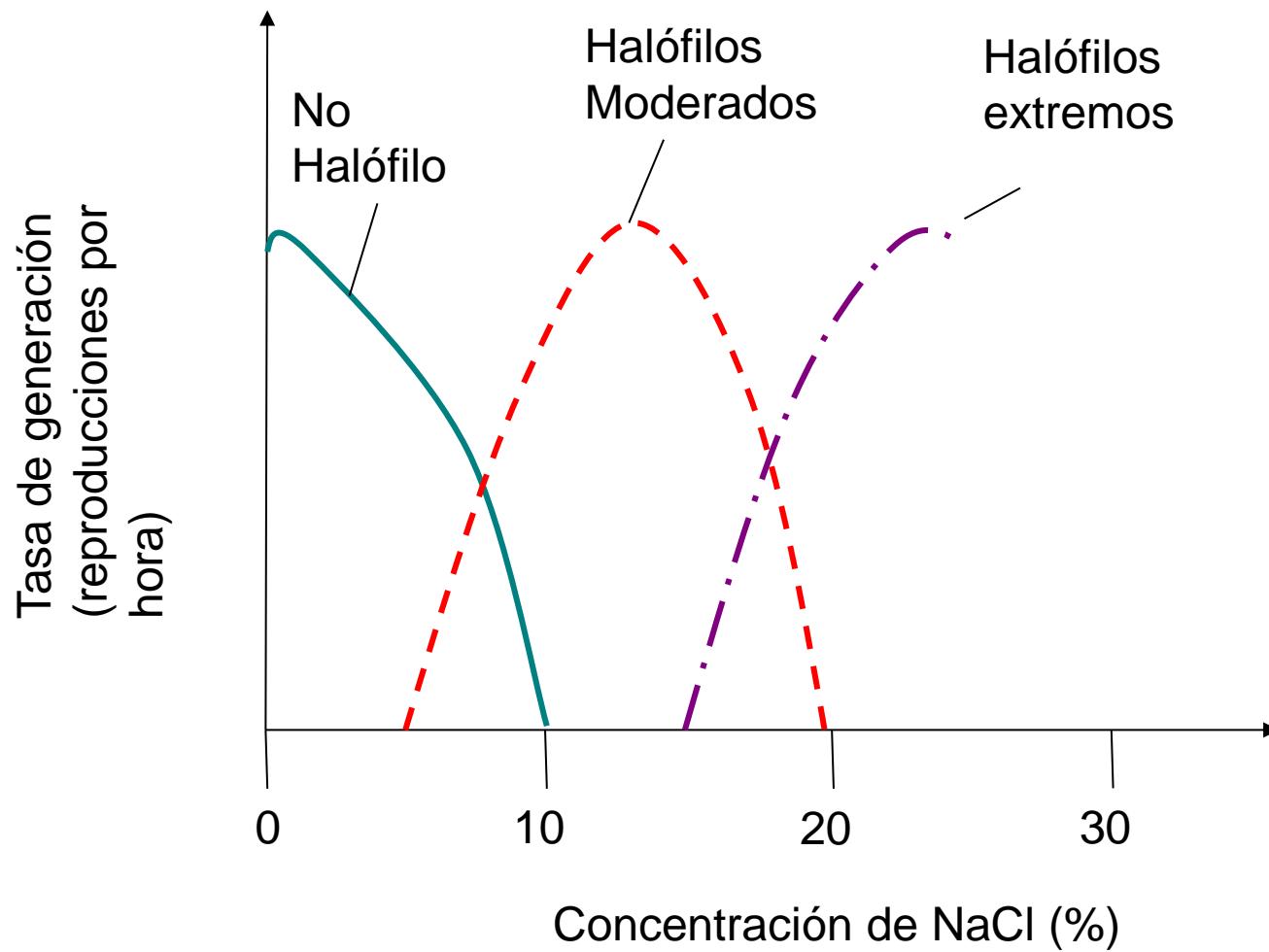
**pH afecta:**  
solubilidad  
disponibilidad  
Actividad biológica

**Aumento  
solubilidad  
de metales**

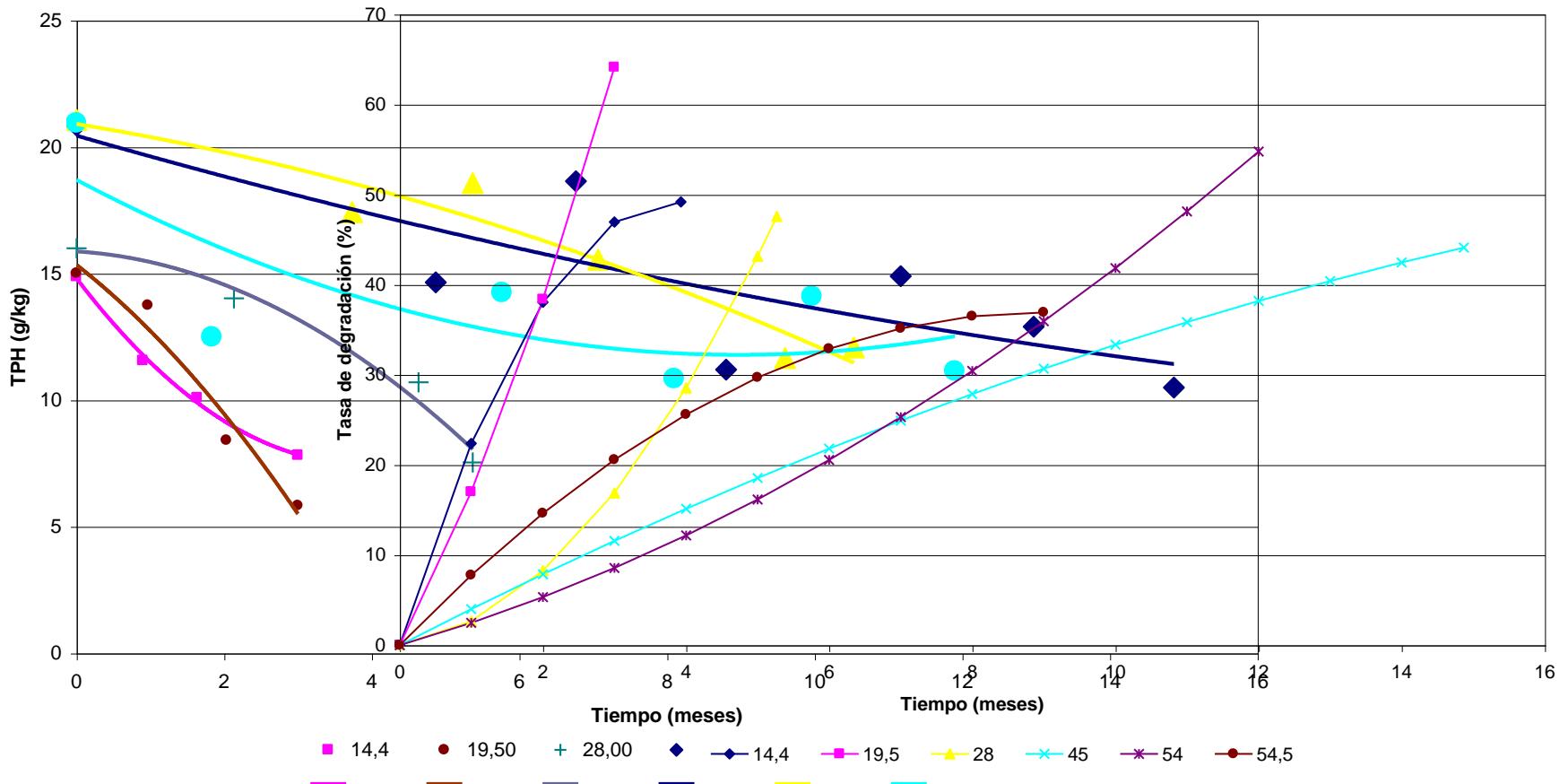
Muchos metales son insolubles a pH elevado. Elevando el pH del sistema de tratamiento se puede reducir el riesgo de envenenamiento de microorganismos



## Influencia de la salinidad



# Cómo afecta en el suelo?



**Estudio sobre la influencia de la conductividad del suelo en procesos de biorremediación.**

INGEPET 2005 (Gálvez y Ercoli)



# OXIGENO

Es incrementado:

- evitando saturación con agua
- presencia de suelo arenoso
- evitando compactación
- evitando alto potencial redox
- bajas concentraciones de material degradable

# HUMEDAD

- sirve como medio de transporte
- exceso de agua es detrimental (inhibe el pasaje de oxígeno a través del suelo)



# Factores favorables a la Biorremediación

- Número reducido de contaminantes
- Concentraciones no-tóxicas
- Población microbiana diversa
- Adecuados aceptores de electrones
- Ph 6-8
- Baja conductividad del suelo
- Medio poroso granular
- Alta permeabilidad
- Mineralogía uniforme

## Factores que determinan el éxito de una biorremediación

- Características del residuo
- Microbiología adecuada
- Tecnología de remediación
- Metodología analítica
- Muestreo estadístico



# Algunas evidencias presuntivas de biorremediación

BIOPROCESOS

- Acumulación de intermediarios formados durante el metabolismo.
- Elevada concentración de subproductos metabólicos
  - Incremento de la relación de productos difíciles de degradar respecto de los más degradables
- Biodegradación a razonables tasas en estudios de laboratorio con suelo del sitio
- Consumo de oxígeno y nutrientes
- Mas rápido consumo de oxígeno en áreas contaminadas comparadas con áreas no impactadas



## Algunas evidencias presuntivas de biorremediación

- Decaimiento de la contaminación cuando se oxigena y nutre
- Incremento en el número de protozoos lo cual sugiere que ha habido un incremento en el número de bacteria con los cuales se alimentan
- Cambio en la relación isotópica de carbono inorgánico
- Relaciones de PRISTANO y FITANO frente a la degradación de hidrocarburos alifáticos y aromáticos.
- Documentación de la cantidad de contaminante removido por procesos no biológicos, usando trazadores.
- Demostración de la conversión de contaminantes a metabolitos usando contaminantes isotópicamente marcados



# Biosurfactantes

## Propiedades de interés:

- Reducción de tensión superficial e interfacial
- Acción de humectación y penetración
- Dispersión
- Acción hidrofóbica e hidrofílica
- Secuestro de metales
- Acción anti-microbiana



## Ventajas

- Desorción de contaminantes desde la fase sólida
- Dispersión de la masa del contaminante
- Promoción de la partición del contaminante en la fase acuosa en el sistema subsuperficial

## Desventajas

- Distribución del surfactante en el medio contaminado
- Interferencia con el proceso de degradación y las propiedades del suelo.
- Toxicidad



# La tasa de biorremediación es controlada por tres procesos principales :

- ✓ El proceso de transferencia de oxígeno desde el aire a la solución acuosa
- ✓ El proceso de transferencia del aceite desde el suelo a la solución acuosa
- ✓ La tasa de biodegradación del aceite en la solución acuosa

En general la tasa de transferencia de masa de aceite (hidrocarburos) es menor que la tasa de transferencia de oxígeno y la tasa de biodegradación, y es la etapa controlante de la biorremediación en suelo contaminado con hidrocarburos

## BIOREMEDIATION OF OIL-CONTAMINATED SOIL USING SURFACTANT AND ADSORBENTS.

Aare Selberg, Toomas Tenno

University of Tartu, Jakobi 2, 51014 Tartu, Estonia

e-mail: [aare.selberg@mail.ee](mailto:aare.selberg@mail.ee)



# Restricciones a la biorremediación de contaminantes del suelo

BIOPROCESOS

## Físicas

- Absorción de orgánicos a la superficie del suelo
- Entrampado de orgánicos en poros pequeños
- Pobre distribución de aceptores de electrones
- Falta de humedad

## Biológicas

- Falta de capacidad metabólica
- Falta de nutrientes balanceados
- Toxicidad de los contaminantes
- Intolerancia al pH, sales o metales

Estrategia para mejorar la bioactividad de procesos microbianos



# Estrategia para mejorar la bioactividad de procesos microbianos

BIOPROCESOS

## Químicas

- Adición de surfactantes
- Promoción de cometabolismo
- Suministro de co-sustratos
- inducción de metabolismo por químicos análogos

## Microbiológicas

- Enriquecimiento selectivo in situ
- Bioaumentación con degradadores no indígenas

## Ambientales

- Alteración de las condiciones ambientales: pH, humedad



# Tecnologías de Bioremediación

## Ventajas

- Costo mas bajo que otras tecnologías convencionales.
- Los contaminantes se convierten usualmente en productos inocuos.
- Los contaminantes se destruyen, no se transfieren a medios diferentes
- No invasiva, permite usos continuos del sitio, una vez saneado.
- Relativa facilidad de implementacion.

## Desventajas

- Puede ser difícil de controlar.
- Los nutrientes introducidos en el ambiente para mejorar la biorremediación puede causar otro problema de contaminación.
- Puede no alcanzar los niveles requeridos de contaminantes.
- Requirere mucho tiempo.
- Puede requerir un monitoreo extensivo.
- Caida del control hidráulico.
- Proceso dinámico, que es difícil de predecir el nivel de efectividad



# Factores favorables a la biorremediación

- Concentraciones no-tóxicas < 50 g/kg de hidrocarburos
- Microorganismos degradadores de hidrocarburos > 1000 UFC/g
- Contenido de metales pesados < 2000 mg/kg
- Población microbiana diversa
- PH 6-9



# Macronutrientes de interés en biorremediación

- Nitrógeno: necesario para la formación de aminoácidos y metabolitos. Influye en la producción de biomasa.
- Fósforo: necesario para realizar las transferencias de energía en el microorganismo. Casi siempre es el sustrato limitante.



# Balances

- Para incorporar nutrientes se define una relación C:N:P:K



Se puede definir una fórmula para un microorganismo y de ahí obtener una relación estequiométrica sino se usan relaciones experimentales

Varía según los autores 100:10:1; 100:20:1; 9:1 y 200:1; 60:1 y 800:1; 100:1:0,2 (O&G), 100:10:1:0,33

- ¿Cuanto carbono hay en el hidrocarburo?



# Balances

- ¿Cuánto nitrógeno inorgánico hay en el suelo?
- Al fertilizar aumenta la toxicidad por nitritos y el amoniaco
- Como regla algunos autores recomiendan fertilizar cuando el contenido de Nitrógeno inorgánico es inferior a 50 ppm. Si es superior no por el aumento de la toxicidad y de la pérdida por lixiviación.
- Influencia del Potasio: 100:0,33 en algunos casos
- Micronutrientes
- Usamos: 100:10:1, se mide el nitrógeno total y el fósforo asimilable.



# Aportes de nutrientes

- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ : aporta 22,5 % de Nitrógeno
- $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ : aporta 44 a 46 % de Nitrógeno
- $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4\text{H}$ : aporta 20 % de Fósforo y 18 % de Nitrógeno (18-46-00)
- $\text{Ca}(\text{PO}_4\text{H}_2)_2$  : Superfosfato, aporta 21 % de Fósforo
- Otros fertilizantes: 15-15-15, KCl.



# Consideraciones

Incorporar todo el nutriente al suelo de una vez.

- Ventajas:

- ahorro de mano de obra

- simplificación de la logística

- Desventajas:

- Modificación del pH

- Amonificación

- Pérdidas por lixiviación

- Reacción con el suelo



# Consideraciones

- Incorporar los nutrientes en forma paulatina
- Ventajas: no se producen modificaciones significativas en la fisicoquímica del suelo
- Desventajas: mayor mano de obra, logística y controles químicos periódicos



# Cálculo de nutrientes

- Se fija la relación C:N:P:K
- Se fija una tasa de degradación
- Se realiza el balance de materia considerando la incorporación de fertilizante para lograr el incremento necesario de la concentración del nutriente.
- De acuerdo al fertilizante utilizado se definen los pasos y formulas de cálculo



# Cálculo de nutrientes

- $HCd = HC * \text{Tasa de degradación}$
- $CNR = HCd * [C:N:P:K]$
- P :  $[C:N:P:K] = 0,01$
- N:  $[C:N:P:K] = 0,1$



# Fósforo

- Masa de Nutriente:

$$P = (CNR - C_p) * \text{Masa de suelo}$$

$C_p$  = concentración medida

$$\text{Nutriente} = P/a_p$$

$a_p$  = aporte del fertilizante



# Nitrógeno

- Masa de Nutriente:
- $N = (CNR - M_N) * \text{Masa de suelo}$
- $M = \text{medido}$
- $\text{Nutriente} = (N - P * a_{NP}) / a_N$
- $a_N = \text{aporte de Nitrógeno del fertilizante}$
- $a_{NP} = \text{aporte de Nitrógeno del fosfato}$



# Potasio

- Masa de Nutriente:
- $K = (CNR-CP) * \text{Masa de suelo}$
- $C_K = \text{concentración medida}$
- Nutriente =  $K/a_K$
- $a_K = \text{aporte del fertilizante}$

