

## Tratamiento intensivo de suelos biorremediados en reactor Airlift

E. ERCOLI<sup>1</sup>, J. GÁLVEZ<sup>1</sup>, R. MÜLLER<sup>2</sup>, U. STOTTMEISTER<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Bioprocesos, Universidad Nacional de Cuyo, Facultad de Ingeniería, 5500 Mendoza, Argentina

<sup>2</sup>UFZ - Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH, Sektion Sanierungsforschung, Permoserstrasse 15, 04318 Leipzig, Alemania

### 1. Introducción

El tratamiento microbiológico de suelos, sedimentos y otros sólidos contaminados con hidrocarburos en la forma usual de aplicación lleva varios meses y los resultados muestran un decrecimiento asintótico del contaminante degradable. En casi todos los casos estudiados descritos en la literatura puede ser observado un remanente del contaminante después del tratamiento (ARENDE et al. 1993).

La razón de este fenómeno no resulta clara hasta el momento. Probablemente sean los equilibrios de sorsión-desorsión o la distribución no homogénea en la materia sólida los responsables de este comportamiento. Trabajos recientes analizan individualmente los tres tipos de limitación mencionados anteriormente: degradabilidad, difusividad y desortividad (ARENDE et al. 1993). Algunos trabajos sugieren que la difusión desde los agregados es el mecanismo limitante en la degradación hidrocarburos. Experimentos realizados con reactores tipo slurry para estudiar la biodegradabilidad de hexadecano y diesel oil muestran que la concentración residual de hidrocarburo después del tratamiento no es causada por incapacidad de los microorganismos presentes para degradar dichos substratos o por la formación de sustancias inhibitoras del desarrollo microbiano, ya que bajo otras condiciones de desarrollo mineralizan completamente el contaminante (GEERDINK 1995).

Los suelos contaminados poseen una distribución no uniforme de contaminante según la granulometría del mismo y el contenido de materia orgánica. En los suelos biorremediados ocurre un fenómeno similar. (NEEBE y FEIL 1993).

Las alternativa de usar reactores biológicos para realizar un tratamiento intensivo se encuentra seriamente limitada por los costos que implica mover grandes volúmenes de suelo. (ARENDE et al. 1993).

La base de planteo de este trabajo consiste en tratar solamente la parte altamente contaminada, o sea la fracción de partículas más finas, en un biorreactor aireado neumáticamente. La hipótesis de este trabajo se fundamenta en que en un sistema de depuración intensiva es posible lograr altas velocidades de transferencia de masa, fases homogéneas y condiciones controladas de desarrollo microbiano lo cual permite una descontaminación más profunda.

### 2. Materiales y métodos

Unidad de tratamiento (fig. 1): Esta unidad está formada por un tanque de lodos, un hidrociclón para separar la fracción fina del suelo y el reactor biológico. Todos están construidos en acero inoxidable AISI 316. El hidrociclón tiene 400 mm de altura, 100 mm de diámetro, 45 mm de diámetro de la salida superior y 5 mm de diámetro de la salida inferior. El reactor airlift tiene 218 mm de diámetro y 1025 mm de altura con un cilindro interior de 140 mm de diámetro y 900 mm de altura con fondo toriesférico de 35 mm de flecha máxima.

Posee una camisa de agua, para termostatación. Se puede controlar pH, temperatura y caudal y presión de aire de ingreso.

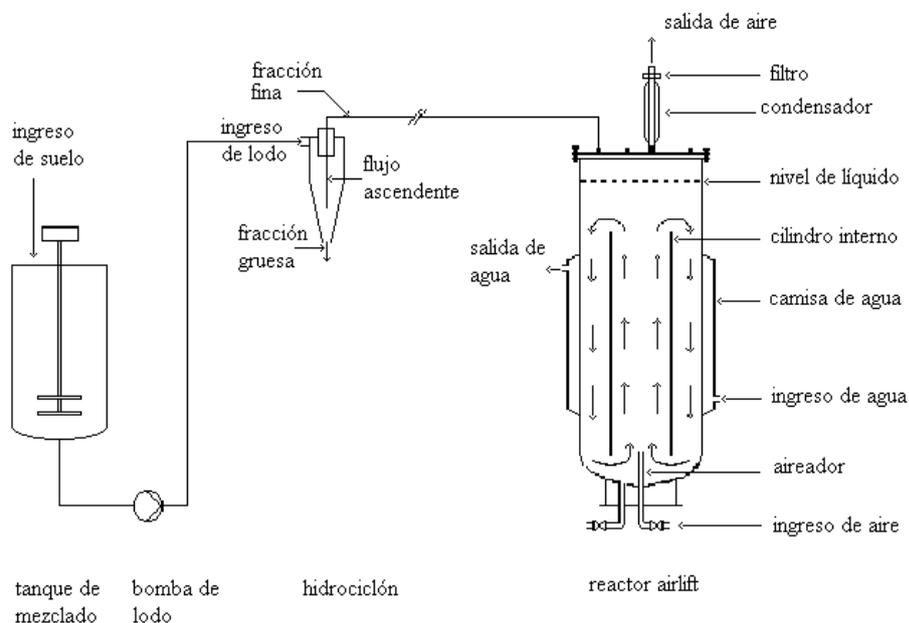


Fig. 1: Unidad de tratamiento

**Microorganismos:** Se utilizó un consorcio microbiano aislado del suelo de un campo petrolero de la provincia de Mendoza, Argentina, mediante la siguiente técnica: una cantidad de suelo fue transferida a un erlenmeyer conteniendo el siguiente medio de cultivo 5,0 g/l de NaCl; 0,2 g/l de MgSO<sub>4</sub>; 1,0 g/l de NH<sub>4</sub>PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>; 1,0 g/l de K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>H; 0,5 g/l de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0,02 g/l de extracto de levadura. Este erlenmeyer fue incubado en un agitador a 30°C y adaptado a concentraciones crecientes de contaminante durante 45 días. Posteriormente fue transferido asépticamente a un tubo de ensayo con el siguiente medio de mantenimiento: 5,44 g/l de KPO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>; 5,68 g/l de Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>H; 1,00 g/l de NH<sub>4</sub>Cl; 1,50 mg/l de FeCl<sub>3</sub>; 0,15 mg/l de CaCl<sub>2</sub>; 1,0 g/l de extracto de levadura; 16,00 g/l de gasoil parafínico; 25,0 g/l de agar. Posteriormente se almacenó en refrigeración a 4°C. El cultivo obtenido está formado por un bacilo esporulado Gram positivo aerobio facultativo y una levadura aerobia.

**Microscopio:** Se utilizó un microscopio Fisher Scientific, con objetivo de inmersión de 100 X y objetivos normales de 40 X y 60 X.

**Medio de cultivo:** Para los ensayos de degradación en proceso semicontinuo se utilizó el medio de cultivo A (tab. 1 y 2) disuelto en el producto de cabeza del hidrociclón. Para la preparación del inóculo se utilizó el mismo medio pero en lugar del producto de cabeza del hidrociclón se utilizó agua deionizada para la disolución y se incorporó 16 g/l de gasoil hidrogenado como fuente de carbono. Para los ensayos de optimización de medios se usaron los medios A y B (tab. 1y 2) combinando sus componentes de acuerdo a la tabla 4.

**Suelo contaminado:** Se ha utilizado un suelo modelo compuesto por arena tamizada (diámetro menor o igual a 2 mm): 95%; humus de lombriz (sin tamizar): 4,5%, gas oil hidrogenado: 0,5%.

Se prepararon dos tipos de suelo modelo (tab. 3).

Tab. 1: Composición de los medios de cultivo

Medio A		Medio B	
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	5,4 g/l	NaCl	5,0 g/l
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5,6 g/l	MgSO <sub>4</sub>	0,2 g/l
NH <sub>4</sub> Cl	1,0 g/l	NH <sub>4</sub> HPO <sub>4</sub>	1,0 g/l
Extracto de levadura	1,0 g/l	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1,0 g/l
Micronutrientes A	0,15 ml/l	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3,0 g/l
		Extracto de levadura	1,0 g/l
		Micronutrientes B	10,0 ml/l

Tab. 2: Composición de los micronutrientes

Micronutrientes A		Micronutrientes B	
FeCl <sub>3</sub>	10 g/l	FeSO <sub>4</sub> • 7 H <sub>2</sub> O	275 ml
CaCl <sub>2</sub>	1 g/l	ZnSO <sub>4</sub> • 7 H <sub>2</sub> O	550 mg/l
		CaCl <sub>2</sub> • 2 H <sub>2</sub> O	110 mg/l
		MnCl <sub>2</sub> • 4H <sub>2</sub> O	275 mg/l
		CuSO <sub>4</sub> • 5 H <sub>2</sub> O	110 mg/l
		CoSO <sub>4</sub> • 7 H <sub>2</sub> O	110 mg/l
		KCl	2750 mg/l
		NaCl	2750 mg/l

Tab. 3: Composición de los suelos modelo

Diámetro \ Arena	Grueso	Fino
Arena 0,501-2,000 mm	57,0%	9,5%
Arena 0,101-0,500 mm	28,5%	28,5%
Arena 0-0,100 mm	9,5%	57,0%
Humus	4,5%	4,5%
Gasoil hidrogenado	0,5%	0,5%

Los suelos modelo se almacenaron durante 90 días. Durante este período los recipientes se rotaron diariamente para homogeneizar el contenido. Posteriormente el suelo fue hidrociclado y el producto de cabeza fue utilizado para los ensayos de degradación. La distribución granulométrica se muestra en los gráficos 2 y 3 para los productos de cabeza de hidrociclón de los suelos modelos grueso y fino respectivamente.

Metodología experimental: Se realizó un ensayo preliminar para cada suelo modelo contaminado. Posteriormente se siguió trabajando sólo con el suelo modelo fino en todos los ensayos en proceso discontinuo. En los ensayos en proceso semicontinuo se utilizó el suelo modelo fino. El volumen de trabajo del reactor fue de 40 l. Se utilizaron dos tipos de aireadores: el primero en forma de boquilla elíptica para los ensayos preliminares y una placa perforada en los demás ensayos. El aire se introdujo con un caudal de 13 a 34 l/min. El pH se mantuvo en 6,80 y la temperatura en 30°C. Para el estudio de la influencia de la temperatura, ésta se elevó hasta 40°C. También se realizó un agregado de Tween 80.

Tab. 4: Combinaciones de los nutrientes en la optimización del medio de cultivo y concentraciones finales logradas en ensayos en erlenmeyers agitados

Componente	Medio base	Concentración de macro/micronutrientes	Concentración de hidrocarburo (ppm)	Degradación (%)	
Testigo	A	Medio de referencia (Sin degradación)	956	0	
	B	Medio de referencia (Sin degradación)	991	0	
Fósforo	A	1,0 g/l $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 1,0 g/l $\text{NaH}_2\text{PO}_4$	n.d.	n.d.	
	A	5,4 g/l $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 5,6 g/l $\text{NaH}_2\text{PO}_4$	198,81	79,2	
	B	1,0 g/l $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 1,0 g/l $\text{K}_2\text{HPO}_4$	101,23	89,8	
	B	5,0 g/l $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 5,0 g/l $\text{K}_2\text{HPO}_4$	234	76	
	Nitrógeno	A	1,0 g/l $\text{NH}_4\text{Cl}$	198,81	79,2
		A	5,0 g/l $\text{NH}_4\text{Cl}$	137,07	85,6
B		3,0 g/l $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1,0 g/l $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$	101,23	89,8	
B		15,0 g/l $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1,0 g/l $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$	274,48	72	
Micronutrientes Inorgánicos		A	micronutrientes A	198,81	79,2
	A	micronutrientes B	198,81	79,2	
	B	micronutrientes A	139,06	86	
	B	micronutrientes B	101,23	89,8	
Micronutrientes Orgánicos	A	0 g/l de extracto de levadura	95,25	90	
	A	0,2 g/l de extracto de levadura	n.d.	n.d.	
	A	1,0 g/l de extracto de levadura	198,81	79,2	
	B	0 g/l de extracto de levadura	81,31	91,8	
	B	0,2 g/l de extracto de levadura	89,28	91	
	B	1,0 g/l de extracto de levadura	101,23	89,9	
Condiciones Ambientales	A	pH constante (medio sin modificar)	198,81	79,2	
	A	11,0 g/l $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH libre (final 5,75)	53,43	94	
	B	pH constante (medio sin modificar)	101,23	89,8	
	B	2,0 g/l $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH libre (final 8,60)	109,19	89	

n.d.: no determinado

**Determinaciones analíticas:** Los hidrocarburos totales se determinaron mediante técnicas de espectrofotometría infrarroja por la norma Stichting CONCAWE I-72 (ANONIMOUS 1972). El método consta de las siguientes etapas: se toma una muestra homogénea de lodo y se lleva el contenido a pH = 5 con ácido clorhídrico. Se agregan 5 g de cloruro de sodio y 50 ml de tetracloruro de carbono y se agita vigorosamente por 15 minutos. Luego se deja sedimentar por 10 minutos y se extrae un volumen de 10 ml de la capa de tetracloruro de carbono.

Se agrega un gramo de Florisil y se agita por 2 minutos. Se deja sedimentar. El sobrenadante se analiza en la región espectral comprendida entre 3,2 y 3,6  $\mu\text{m}$  comparándola contra un blanco de tetracloruro de carbono. Se determina el peso de los sólidos presentes en la muestra mediante filtrado o secado de la misma.

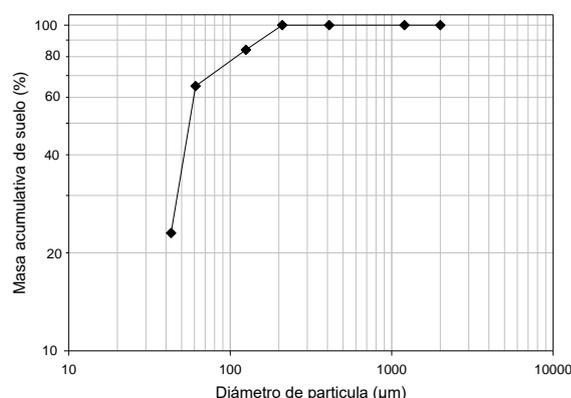


Fig. 2: Distribución de partículas en el producto de cabeza del hidrociclón para el suelo modelo grueso

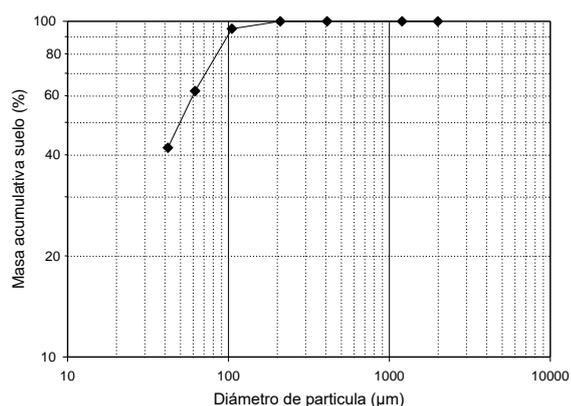


Fig. 3: Distribución de partículas en el producto de cabeza del hidrociclón para el suelo modelo fino

### 3. Resultados y discusión

**Ensayos preliminares:** los resultados se muestran en los gráficos 2 y 3 para los suelos modelo grueso y fino respectivamente. Se observa que se puede tratar eficientemente una suspensión de partículas finas altamente contaminada en un reactor airlift. Se han logrado degradaciones del 77% del hidrocarburo presente en un período de 62 horas para el suelo grueso y 55% en el modelo fino en 14 horas.

Se pueden distinguir dos fases: una inicial de degradación rápida y una lenta. La fase inicial puede deberse a un efecto combinado de degradación y evaporación. Este comportamiento coincide con las experiencias reportadas en la literatura: una primera en donde el contaminante presente en la superficie de la partícula se desorbe rápidamente y es consumido por los microorganismos y una segunda etapa en donde se produce la desorción del contaminante presente en el interior de la partícula (GEERDINK 1995).

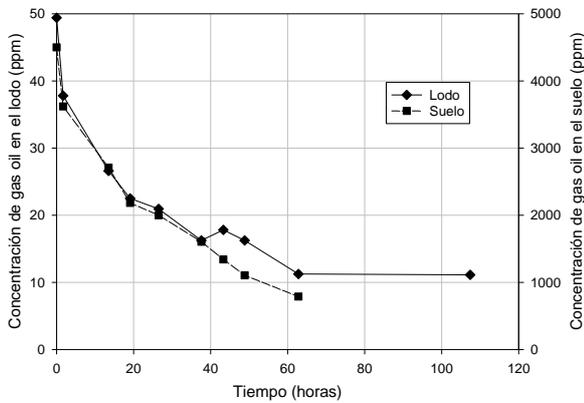


Fig. 4: Degradación de gas oil adsorbido sobre suelo modelo grueso

En los dos tipos de suelo estudiados se llega a una concentración final residual de hidrocarburo que no disminuye aunque se aumente el tiempo de tratamiento. Este valor límite representa alrededor del 25% de la concentración inicial del suelo para el suelo modelo grueso, mientras que para el suelo modelo fino la concentración residual corresponde al 50%.

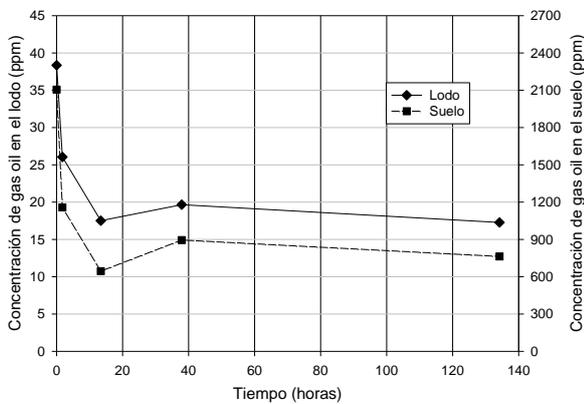


Fig. 5: Degradación de gas oil adsorbido sobre suelo modelo fino

Si se comparan los ensayos realizados con el suelo modelo grueso y el fino se observa que la concentración inicial del slurry dentro del reactor difiere en un 25%, pero si se analiza la diferencia correspondiente a la fase sólida, tenemos una diferencia del orden del 95% entre el modelo fino y el modelo grueso (se considera a los efectos de la

comparación la concentración menor; correspondiente al fino; como 100%). Este fenómeno se explica debido a la diferente composición granulométrica de los modelos y al efecto de la superficie específica en los fenómenos de sorción. En el modelo fino se tiene mayor proporción de partículas con baja granulometría (60%) mientras que en el grueso, dicha proporción es del 10%; por consiguiente, para una masa dada de contaminante, la concentración por unidad de superficie de partícula es menor en el modelo fino que en el modelo grueso. Dado que el hidrociclón separa las partículas de un determinado tamaño, en el modelo fino tendremos una masa mayor de suelo que es enviado al reactor que en el modelo grueso, lo que explicaría la menor diferencia observada en la concentración de contaminante en el slurry.

La tasa de degradación es más baja en el suelo modelo grueso que en el fino (fig. 4). Este comportamiento se puede explicar sobre la base de que en el modelo grueso el contaminante se hallaría en su mayor parte en los poros y en el interior de la partícula y en menor medida en la superficie. El contaminante presente en el interior de la partícula se desorbe lentamente. En los finos (fig. 5) ocurre un fenómeno opuesto: hay mayor superficie específica y menor longitud de poro por lo cual la desorción es más rápida (BOSMA et al. 1997).

Influencia de la concentración de oxígeno disuelto: El efecto de la concentración de oxígeno debido al cambio de aireador se puede observar en las figuras 6 y 7. Para mejorar la transferencia de oxígeno

Comentario [b1]: Zitat Bosma... fehlt im span. Original!

dentro del reactor se modificó el aireador cambiándolo por uno tipo placa circular con perforaciones múltiples. Si se analizan los resultados y curvas se puede concluir que el cambio de aireador produjo una mejora en la degradación desde 50% al 77% si consideramos la variación en la masa total en degradación. Esta diferencia no se refleja en la variación que experimenta la concentración final de hidrocarburos totales en fase sólida donde solo se produce una mejora del 6%, hecho que debe ser estudiado.

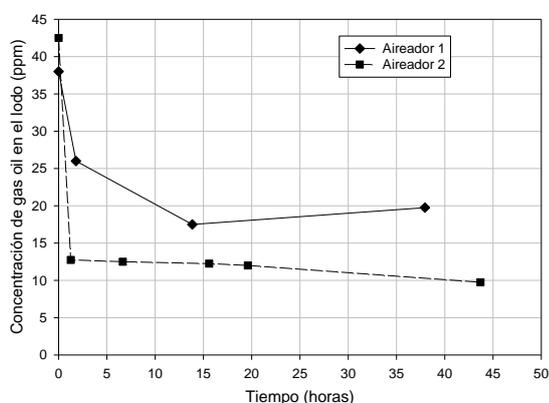


Fig. 6: Efecto de la concentración disuelto en el lodo

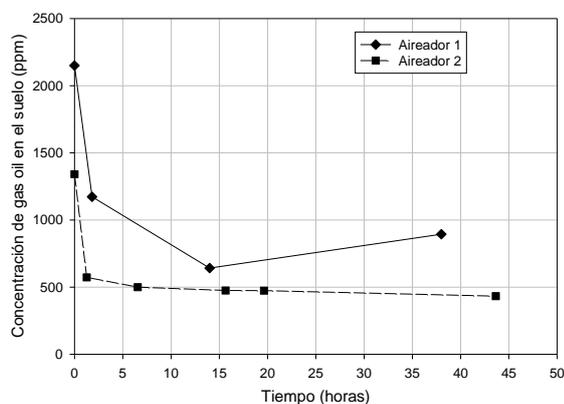


Fig. 7: Influencia de la concentración de oxígeno disuelto en el suelo

Una posible explicación es que en procesos donde se consume biológicamente un sustrato carbonado en muy bajas concentraciones, el oxígeno disuelto no constituye un sustrato limitante, por lo que la leve

mejora observada se podría deber a la mayor turbulencia que favorece la trans-ferencia de materia desde la super-ficie de la partícula al microorga-nismo (BAILEY y OLLIS 1986)

Influencia del incremento de la temperatura y efecto de surfactantes: Los efectos del incremento de la temperatura y el efecto de la adición de surfactantes se muestra en el [figura 8](#). Una vez que se llegó a la etapa asintótica se incre-mentó la temperatura para lograr una mayor desorción. Con este tratamiento se ha logrado una disminu-ción global de la concentra-ción de hidrocarburo del 86% en 90 horas, lo cual significa un incremento del orden del 15% en la degradación.

Los microorganismos necesitarían un período de 30 horas para adaptarse a las nuevas condiciones térmicas y recuperar una diversidad y concentración altas para el proceso degradativo.

El agregado del tensioactivo (Tween 80) no introduciría una mejora por lo menos si se coloca posteriormente de haber efectuado un incremento de temperatura.

Influencia del caudal de aire: La influencia del caudal de aire se muestra en la [figura 9](#). El caudal de aire influye significativamente en el proceso de degradación, con un caudal de 30 litros por minuto la concentración de contaminante disminuye rápidamente alcanzán-dose una degradación del orden de 55% en 2,5 horas y una final de 70% en 16 horas. Cuando el caudal de aire es 13 litros por minuto se llega a 20% de degradación en 1,6 horas y 55% en 20 horas.

**Comentario [b2]:** Abildungsnummer überprüfen (im dt.text Nummer 8!!!)

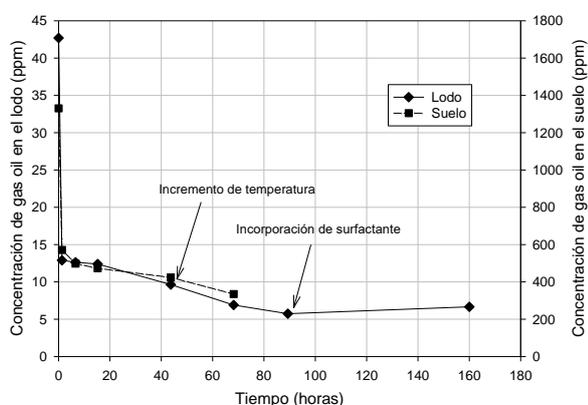


Fig. 8: Efecto del incremento de la temperatura e incorporación de surfactantes

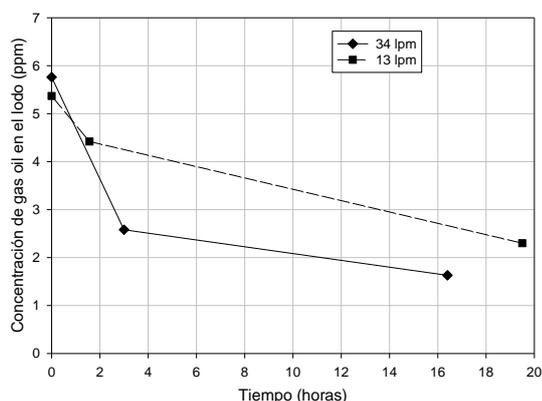


Fig. 9: Influencia del caudal de aire

Se observa una mayor degradación final cuando el caudal de aire es alto. Hay un desplazamiento del "piso" de concentración residual al incrementar el caudal de aire.

Análisis de la influencia de macro- y micronutrientes:

Los resultados se indican en la tabla 4. La influencia de cada nutriente y grupos de micronutrientes se analizó por separado.

**Nitrógeno:** Los mejores resultados se obtuvieron cuando la concentración se mantuvo entre 0,97 g/l y 1,33 g/l de  $\text{NH}_4^+$ . Tanto un exceso como un déficit disminuyen la degradación alcanzada en un orden del 10 al 15%.

**Fósforo:** En una concentración del orden de 1,36 g/l de  $\text{PO}_4^{-3}$ , se obtienen los mejores resultados. En concentraciones más altas se produce una disminución en la degradación del hidrocarburo del orden del 15%.

**Micronutrientes inorgánicos:** Al trabajar con dos soluciones de micronutrientes, una rica y otra pobre, con distintas formulaciones de macronutrientes, no se observan diferencias apreciables en la degradación final obtenida. Este hecho se debe a que los micronutrientes se encuentran en cantidades adecuadas en el suelo (arena y humus) y en el agua del medio de cultivo.

**Micronutrientes orgánicos:** Al trabajar con tres concentraciones de extracto de levadura como micronutriente orgánico no se observaron diferencias significativas en el medio B, mientras que en el medio A se observó que desfavorece la degradación. En el primer caso se podría explicar porque los componentes pueden ser aportados en cantidad suficiente por el humus y no es necesario incorporar el extracto de levadura.

Cuando el pH se dejó evolucionar libremente en el medio B, el proceso de degradación llevó el pH a 8,6 y no se observó ningún efecto en la biodegradación final. En el caso del medio A el pH descendió y se incrementó la degradación en el orden de 15% (la disminución de pH favorecería el desarrollo de las levaduras).

La composición del medio optimizado es: 5,00 g/l de NaCl; 0,20 g/l de MgSO<sub>4</sub>; 1,0 g/l de (NH<sub>4</sub>)H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 1,0 g/l de K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>H; 3,00 g/l de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 1,00 g/l de extracto de levadura; 2,75 mg/l de FeSO<sub>4</sub>•7 H<sub>2</sub>O; 5,50 mg/l de ZnSO<sub>4</sub>•7 H<sub>2</sub>O; 1,10 mg/l de CaCl<sub>2</sub>•2 H<sub>2</sub>O; 2,75 mg/l de MnCl<sub>2</sub>•4 H<sub>2</sub>O; 1,10 mg/l de CuSO<sub>4</sub>•5 H<sub>2</sub>O; 1,10 mg/l de CoSO<sub>4</sub>•7 H<sub>2</sub>O; 27,50 mg/l de NaCl y 27,50 mg/l de KCl.

#### 4. Conclusiones

- Se demostró la factibilidad de combinar un hidrociclón con un reactor airlift para lograr la degradación de la fracción de hidrocarburo remanente de un suelo biorremediado en un período de tiempo suficientemente corto.
- La degradación máxima lograda para el proceso discontinuo es de 75% a 30°C, alcanzando concentraciones de 15 - 20 ppm a temperatura ambiente. Se llega a una concentración de 6 ppm a 40°C, lo que representa una degradación del 86%.
- Se distinguen dos etapas en la desorción del contaminante: la primera en donde el gasoil presente en la superficie de la partícula se desorbe rápidamente y es consumido por los microorganismos. En esta fase, la etapa controlante, es la biodegradación del contaminante. En la segunda fase se produce la desorción del contaminante presente en el interior de la partícula, donde la etapa controlante es la transferencia de masa intrapartícula. Ambas etapas estarían limitadas por las características químicas del residuo.
- Un tiempo prolongado de tratamiento no produce un incremento significativo de la degradación en el proceso discontinuo.
- El aumento de la temperatura en la fase final del proceso favorece el proceso.
- El agregado del tensioactivo (Tween 80<sup>®</sup>) no introduciría una mejora, por lo menos si se coloca posteriormente de haber efectuado un incremento de temperatura.
- Se ha optimizado el medio de cultivo.

#### Bibliografía

- ANONYMOUS 1972: Methods for the analysis of oil in water and soil. Report No. 9/72. Stichting Concawe, The Hague, Belgium.
- ARENDT, F., ANNOKKEE, G. J., BOSMAN, R., VAN DEN BRINK, W. J. (Eds) 1993: Contaminated Soil '93, Fourth International KFK/TNO Conference on Contaminated Soil. Volume I and II. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
- BAILEY, J. E., OLLIS, D. F. 1986: Biochemical Engineering Fundamentals, 2nd Ed. McGraw-Hill.
- BOSMA, T. N. P., MIDDELDORP, P. J. M., SCHRAA, G., ZEHNDER, A. (1997): Mass transfer limitation of biotransformation: Quantifying bioavailability. Environ. Sci. Technol. 31, 248-252.
- CHISTI, M. Y. 1989: Airlift bioreactors, 1st Ed. Elsevier Applied Science, London.
- DEITSCH, J. J., SMITCHE, J. A. (1995): Effect of triton X-100 on the rate of trichloroethene desorption from soil to water. Environ. Sci. Technol. 29, 4, 1069-1080.
- GEERDINK, M. J. 1995: Kinetics of the microbial degradation of oil in soil slurry reactors. Technische Universiteit Delft. The Netherlands.

NEEBE, T. H., FEIL, A. (1993): The decontamination characteristic of polluted soils for assessment of suitability for treatment of former industrial sites. Rev. Aufbereitungstechnik 34, 27-35.