



# Bioestimulación de bacterias autóctonas con adición de enmiendas en la degradación de cadenas hidrocarbonadas de suelos contaminados en la Refinería de petróleo Conchan en Lima-Perú, 2017

**Paul Gianfranco Cárdenas Moscol, Rita Cabello Torres , Lorgio Valdiviezo Gonzales , Rubén Munive Cerrón**

**Universidad Cesar Vallejo. Peru**

## Resumen

Esta investigación, tuvo por finalidad biorremediar parcelas de suelos contaminados con fracciones petrolígenas (F2:17777 mg/Kg) de cadena C10 a C28, de la Refinería Conchán, localizada entre 291159.00 E y 8645123.00 S distrito de Lurín, en Lima-Perú, ya que el contenido superaba el Estándar de Calidad Peruano para suelos de zonas industriales (5000 mg/Kg). La metodología comprendió la obtención de un compósito de suelo, dividido en 3 grupos, con diferentes contenidos de enmiendas: Guano de Islas, Cachaza y Cachaza-Guano más un testigo (sin enmiendas) de 25 kg/parcela. Se estimuló la actividad de las bacterias autóctonas contenidas en cada parcela, cuya concentración inicial fue de  $88 \times 10^3$  UFC/g, mediante aireación mecánica. Los resultados señalaron que las aplicaciones con guano de islas fueron más efectivas en la reducción de F2 (80 a 81%), mientras que la bioestimulación con cachaza solo se limitó a proveer materia orgánica, carbohidratos y nutrientes aprovechados en su mayor parte por la comunidad microbiana distrayendo una mayor acción sobre los hidrocarburos. La prueba de toxicidad post tratamiento mediante el cultivo de maíz (Zea Mays variedad Marginal T-28) durante 30 días mostró una coloración negra en cada planta con tamaños de hojas < 14 cm y contenido bajo de materia orgánica seca (0.005g) a excepción del suelo testigo, indicando estrés por las condiciones experimentadas en el suelo.

**Palabras clave:** hidrocarburos del petróleo, microorganismos nativos, bioestimulación

**Biostimulation of autochthonous bacteria with addition of amendments in the degradation of hydrocarbon chains of contaminated soils in the Conchan oil refinery in Lima-Peru, 2017**

## Abstract

The purpose of this research was to bioremediate parcels of soils contaminated with petroleum fractions (F2: 17777 mg / Kg) of chain C10 to C28, of the Conchán Refinery, located between 291159.00 E and 8645123.00 S district of Lurín, in Lima-Peru, because the Quality Standard for industrial areas (5000 mg / Kg) were overcome. The methodology included a soil composition, divided into 3 groups, with different contents of amendments: Guano Islands, Cachaza and Cachaza-Guano in addition to a plot without treatment of 25 kg / plot. The activity of the autochthonous bacteria contained in each plot, were stimulated by mechanical aeration, it had an initial concentration of  $88 \times 10^3$  CFU / g.

The results indicated that applications with island guano were more effective in reducing F2 (80 to 81%), while biostimulation with cachaza, it was limited because to providing organic

matter, carbohydrates and nutrients used mostly by the microbial community distracting more action on hydrocarbons.

The post-treatment toxicity test by growing maize (*Zea Mays* variety Marginal T-28) for 30 days showed a black coloration in each plant with leaf sizes <14 cm and low content of dry organic matter (0.005 g) with the exception of the control soil, indicating stress due to the conditions experienced in the soil.

**Keywords:** petroleum hydrocarbons, native microorganisms, biostimulation

## 1. Introducción

Más de 150 derrames de hidrocarburos en el ambiente se han evidenciado en los últimos 15 años en el Perú. (Osinergmin, 2015). Más del 50% de estos derrames originados por actividades en las refinerías de petróleo. Acciones como limpieza de tanques, separadores de agua-aceite y limpieza de ductos de crudo generan gran contaminación ambiental reduciendo considerablemente la biodiversidad nacional. La biorremediación es una tecnología de limpieza rentable para tratar suelos y sedimentos contaminados (Chang *et al*, 2013).

En este estudio se aplicó la bioestimulación de bacterias autóctonas del suelo con la finalidad de degradar tales hidrocarburos. (Alexander, 1994), que sobrepasaron los estándares de calidad (ECA PERU, 2013). Se empleó la técnica de la bioestimulación mediante el tratamiento con enmiendas aplicando guano de islas y cachaza para estimular el desarrollo de las bacterias autóctonas, por un período de 60 días sujetos a aireación para reducir el contenido de hidrocarburos totales- TPH. Una vez concluido este periodo se sembró la especie *Zea Mays* amarillo variedad T-28 marginal, por 30 días de cultivo para evaluar toxicidad de suelo.

## 2. Metodología

### 2.1 Diseño experimental

El área de estudio comprendió un terreno eriazo de 1575 m<sup>2</sup> donde se disponen residuos contaminados en las actividades de la refinería, expuesto a la intemperie y las altas temperaturas

de calor sin ningún almacenamiento temporal existente.

El diseño experimental correspondió a un modelo completamente al azar con un diseño factorial de 3 x 3 con post prueba, y una muestra sin tratamiento de acuerdo al empleado por Wiersma. (Hernández, Fernandez, Baptista, 1991), Se aplicó en parcelas de 25 kg de acuerdo a:

- (1) GI: Suelo con consorcio nativo y enmienda de guano de islas al 25%
- (2) C: Suelo con consorcio nativo y enmienda de cachaza al 22.78%
- (3) C+GI: Suelo con consorcio nativo y enmiendas de cachaza al 22.78% y guano de islas 5%
- (4) S: Muestra sin tratamiento de 25 kg suelo.

### Tabla 1

#### Características fisicoquímicas del suelo.

| Características principales    | Valores        |
|--------------------------------|----------------|
| <b>Propiedades Físicas</b>     |                |
| M.O. (%)                       | 1.01%          |
| D.A. (g/cm <sup>3</sup> )      | 1.0662         |
| Textura                        | Franc Arc-Aren |
| <b>Propiedades Químicas</b>    |                |
| pH                             | 7.92           |
| C.E. (dS/m)                    | 0.0562         |
| C.I.C. (%)                     | 81%            |
| F1 (C5-C10) (mg/kg)            | <0.1           |
| F2 (C28-C40) (C10-C28) (mg/kg) | 17 777         |
| F3 (mg/kg)                     | <0.1           |

Los resultados experimentales fueron sometidos al coeficiente Alfa de Cronbach por SPSS 19.0. El valor generado fue de 1.00 lo cual está dentro del rango de excelente confiabilidad.

## 2.2 Hidrocarburos de petróleo expresados en fracciones (F1, F2 Y F3)

Se evaluó la presencia de los hidrocarburos totales de petróleo (HTP) expresados en fracciones F<sub>1</sub> para (C5-C10), F<sub>2</sub>(C10-C28) F<sub>3</sub>(C28-C40) en 04 sitios colectados una profundidad de 0 -10 cm de suelo industrial y se aplicó la metodología EPA Method 8015-C para su identificación por Cromatografía de Gases con detector FID. Además la información fue complementada con mediciones de parámetros fisicoquímicos relacionados a su potencial de adsorción: pH, C.E., CO, capacidad de intercambio iónico (CIC) y textura para evaluar cualquier alteración de sus propiedades.

## 2.4 Determinación de microorganismos autóctonos degradantes de las fracciones HC

Se efectuó un recuento de los microorganismos aerobios mesófilos viables UFC/g, en los 04 sitios de muestreo para estimar la microflora total presente en cada parcela. La temperatura estuvo comprendida entre 20°C y 45°C. (Procedimiento según ISO 4833-1:2013).

Cada 10 días se cuantificó la población de microorganismos aeróbicos mesófilos autóctonos. Terminado el tratamiento se sembró la especie indicadora *Zea Mays L. T-28 marginal* en un periodo de 30 días a profundidad de 02 cm y razón de 5 semillas/parcela, se realizó un riego controlado cada 02 días para mantener su capacidad de campo.

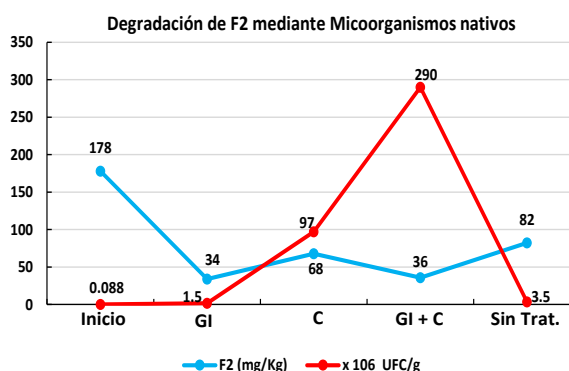
## 3. Resultados

### 3.1 Desarrollo de la población microbiana autóctona degradadora

El contenido inicial de la población bacteriana fue de  $88 \times 10^3$  UFC/g y a los 60 días, las composiciones probadas mostraron sus

diferencias respecto al desarrollo microbiano en el suelo aireado, siendo el tratamiento de cachaza + guano (GI + C) la que generó mayor contenido microbiano ( $290 \times 10^6$  UFC/g), seguido del tratamiento con cachaza con  $97 \times 10^6$  UFC/g, no así en el tratamiento bioestimulado con guano de islas  $1.5 \times 10^6$  UFC/g y la muestra control (4)  $3.5 \times 10^6$  UFC/g), esto fue debido al contenido de materia orgánica, sacarosa y materia orgánica, en la cachaza a diferencia del guano de islas que aunque presentó mayor contenido de nutrientes no favoreció el desarrollo microbiológico.

La bioestimulación con cachaza provoca un aumento de colonias de microorganismos productores de enzimas y de ácidos orgánicos que se encargan de solubilizar el Fósforo absorbido en los suelos (Lima, 2011; Mendes *et al*, 2013; Yang *et al*, 2013). Zavaleta (1992) advirtió que el Guano de Islas enriquece la microflora del suelo por la presencia de bacterias nitrificantes propias del guano, sin embargo en esta investigación se observó un menor desarrollo de microorganismos en las parcelas tratadas. Las concentraciones aplicadas serían selectivas y limitarían el crecimiento poblacional por deficiencia de materia orgánica biodegradable. La mezcla de cachaza + guano muestra una alianza como medio de cultivo facilitador para la acción de nutrientes del

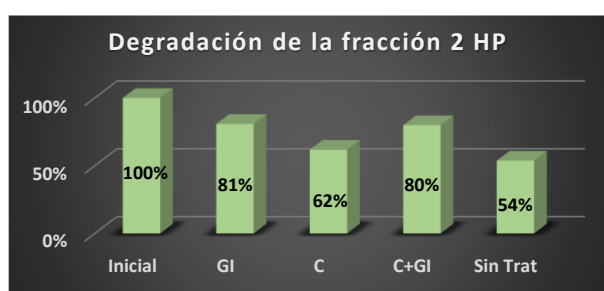


guano de islas y el desarrollo microbiano facilitando la degradación hidrocarbonada.

**Fig.1 Población bacteriana aerobias mesófilas y la degradación de HP.**

**3.2 Degradación de hidrocarburos de petróleo en parcelas de investigación**

Después de 60 días de tratamiento, la degradación de la fracción 02 de hidrocarburos en las parcelas presentó mayor remoción en los tratamientos con guano de islas, 81% se logró con aplicación de guano seguido de la combinación guano + cachaza (GI+C) con un 80%, mientras la bioestimulación con cachaza logró un 62% frente a la muestra control que removió el 54% del contenido inicial (Figura 2).



**Fig 2. Degradación de HP mediante bioestimulación en suelo contaminado con petróleo.**

Aunque la bioestimulación con cachaza brindó las condiciones adecuadas para un desarrollo exponencial de la población microbiana, no fue una condición definitiva para degradar fracciones de cadena media (F2), los porcentajes de reducción de F2 similares entre los tratamientos GI (81%) y C+GI (80%) sugieren que la aplicación del guano de isla ejerce una acción más selectiva de las especies microbianas de las cuales solo llegan a predominar aquellas capaces de adaptarse y metabolizar las cadenas medias. (C10-C28).

| Tratamiento                  | Inicio                       |             | Día 60<br>Muestra Final      |             |
|------------------------------|------------------------------|-------------|------------------------------|-------------|
|                              | D.A.<br>(g/cm <sup>3</sup> ) | M.O.<br>(%) | D.A.<br>(g/cm <sup>3</sup> ) | M.O.<br>(%) |
| Guano de Islas: GI           | 1.07                         | 1.02        | 1.06                         | 1.65        |
| Cachaza: C                   | 1.07                         | 1.01        | 0.94                         | 1.14        |
| Guano Isla + cachaza (C +GI) | 1.07                         | 1.02        | 0.94                         | 0.79        |
| Sin tratamiento              | 1.07                         | 1.01        | 1.07                         | 1.02        |

Estos resultados guardan relación con lo sostenido por Buendía (2012), quien señala que la bioestimulación de bacterias autóctonas tiene gran capacidad de degradar los HP del suelo, inclusive la muestra sin tratamiento redujo sin adición de enmiendas el contenido de fracción 2 de HP en un 54%.

**3.3 Desarrollo del cultivo *Zea Mays T-28 marginal***

El desarrollo de las raíces tuvo difícil adaptación ante la degradación del alto contenido de la fracción 2 en el suelo, y se asoció más a la presencia de material orgánico proveído por la cachaza (talla raíz: 18cm). La especie *Zea Mays L.* no desarrolló tamaños estándar (hoja < 14cm, tallo ≤ 5 cm, raíz ≤ 5cm) indicando el estrés del proceso, todas las plantas evidenciaron tallos de color negruzco y sus hojas también se vieron afectadas en su mayoría. El mayor peso de la materia seca y foliar (0.005 g) la obtuvo por bioestimulación con cachaza.

**Conclusiones**

La adición de enmiendas como cachaza acciona como un poderoso medio de cultivo para el desarrollo exponencial de la comunidad microbiana, sin embargo el guano de islas ejerció una acción más selectiva al concentrar nutrientes más que materia orgánica, favoreciendo la adaptación de la comunidad mesófila, que en menores cantidades logro ser más eficaz en la degradación de la fracción de carbono se de C<sub>10</sub>-C<sub>28</sub>.

El cultivo de maíz como indicador de estrés de las propiedades del suelo tratado en 02 meses, mostro una biometría inferior a la estándar para el tiempo evaluado.

El proceso de bioestimulación de una comunidad autóctona representa una tecnología apropiada, para romper cadenas petrolígenas, porque se encuentra mejor adaptada al estrés, sin embargo, la inclusión del guano de islas como enmienda ha sido suficiente para el desarrollo selectivo de microorganismos que en

menores contenidos, con mayor poder de degradativo sobre los derivados del petróleo.

### **Agradecimientos**

Un agradecimiento a los docentes de la Universidad Cesar Vallejo por el apoyo brindado en el desarrollo del estudio.

### **Referencias Bibliográficas**

Osinergmin. (2009) Eliminación del mayor impacto ambiental de los campos petroleros. Centro documental

Chang, W., Akbari, A., Snelgrove, J., Frigon, D., Ghoshal, S., 2013. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in contaminated clayey soils from a sub-arctic site: the role of aggregate size and microstructure. *Chemosphere* 91, 1620e1626. DOI: 10.1016/j

Kauppi, S., Sinkkonen, A., Romantschuk, M., 2011. Enhancing bioremediation of diesel-fuel-contaminated soil in a boreal climate: comparison of biostimulation and bioaugmentation. *Int. Biodeter. Biodegr* 65, 359e368. DOI: 10.1016/j.ibiod.2015.11.019

Hernandez, Fernandez, Baptista. 1991. Metodología de la Investigación. Juarez, Mexico. ISBN 968-422-931-3

Yang, S.; Liu, J.; Wu, J.; Tan, H.; Li, Y. 2013. Effects of vinasse and press mud application on the biological properties of soils and productivity of sugarcane. *Sugar Tech* 15:152–158. DOI:10.1007/s12355-012-0200-y.

Mendes, G. O.; Freitas, A. L. M.; Pereira, O. L.; Silva, I. R.; Vassilev, N. B.; Costa, M. D. 2013. Mechanisms of phosphate solubilization by fungal isolates when exposed to different P sources. *Annals of Microbiology*, 1-11pp.

DOI: 10.1007/s13213-013-0656-3.

Lima, C. C. 2011. Disponibilidade de fósforo para a cana-de-açúcar em solo tratado com

compostos orgânicos ricos em silício. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 15:1222–1227

DOI: 10.1590/S1415-43662011001200002

Buendia R., Hildebrando. Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante el compost de aserrín y estiércol. *Rev. Del Instituto de Investigación (RIIGEO)*, (15): 123-130, 2012.

\*Para citar este artículo: Cárdenas Moscol PG, Cabello Torres R., Valdiviezo Gonzales L., Munive Cerrón R. Biostimulation of autochthonous bacteria with addition of amendments in the degradation of hydrocarbon chains of contaminated soils in the Conchan oil refinery in Lima-Peru, 2017. *Revista Bistua*. 2017. 15(2):16-20

+ Autor para el envío de correspondencia y la solicitud de las separatas: Paul Gianfranco Cárdenas Moscol. Universidad Cesar Vallejo. Peru

Recibido: Septiembre 30 de 2016

Aceptado: Enero 28 de 2017