

Resumen

En el presente trabajo se aborda el estudio cinético del proceso de biodegradación de una mezcla comercial de bifenilos policlorados, Aroclor 1242, en sistemas agua/sedimentos empleando un cultivo mixto aclimatado. Las variables ensayadas han sido: relación masa de sedimento/volumen de agua (m/V), adición de un co-sustrato, influencia de la bioestimulación y bioaumentación y adición de un tensioactivo no iónico.

Los resultados obtenidos, empleando el modelo de Middleton o modelo General de Biorremediación, muestran que el modelo se ajusta a todos los casos estudiados y permite obtener parámetros cinéticos de interés como son, la concentración de sustrato resistente a la biodegradación y la constante cinética de velocidad.

Palabras clave:

Suelo contaminado, biorremediación, lixiviados, biodegradación, PCB, planta piloto.

Abstract

The biodegradation kinetics of polychlorinated biphenols in water/sediment systems

This article presents a kinetic study of the biodegradation process of a commercial mixture of polychlorinated biphenols, Aroclor 1242, in water/sediment systems using an acclimated mixed culture. The variables tested were: the sediment mass to water volume ratio (m/V), the addition of a co-substrate, the influence of biostimulation and bioincrease and the addition of an ionic tensioactive.

The results obtained employing the Middleton or General Bioremediation Model show that the model fits all the cases studied and makes it possible to obtain useful kinetic parameters such as the concentration of biodegradation-resistant substrate and the kinetic rate constant.

Keywords:

Contaminated soil, bioremediation, leachates, biodegradation, PCB and pilot plant.

Cinética de biodegradación de bifenilos policlorados en sistemas agua/sedimento

Por: Manzano Quiñones, M.A.^(*); Sales Márquez, D. y Quiroga Alonso, J.M.

^(*) Departamento de Ingeniería Química, Tecnología de Alimentos y Tecnologías del Medio Ambiente. Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales. Universidad de Cádiz. Polígono Río San Pedro s/n. 11.510 Puerto Real (Cádiz)

1. Introducción

El reconocimiento de la perjudicialidad de los PCB ha dado lugar a que surja un gran énfasis por desarrollar tecnologías de tratamiento de los residuos que lo contienen. Aunque la incineración es la tecnología más utilizada para residuos con alta concentración de PCB, se hacen necesarias otras alternativas para residuos con una gran fracción de material inerte y como son los suelos y sedimentos (Watts y col., 1993). El tratamiento biológico aerobio aparece como una opción para este tipo de residuos. Sin embargo, la mayoría de las investigaciones se han realizado utilizando cultivos puros, focalizándose principalmente sobre la capacidad de una cepa en particular para biodegradar los PCB.

En el presente trabajo se han realizado experimentos a escala de laboratorio al objeto de estudiar la influencia que ejercen diversas variables de operación y la estructura química de los bifenilos policlorados en su cinética de biodegradación.

2. Material y métodos

El sedimento empleado ha sido de tipo cuarzoarenitas (analizado mediante Difracción de Rayos X, Phillips PW 1830) libre de materia orgánica (< 0.05 % peso) ya que es el tipo de suelo más afectado por fugas accidentales (Ravikumar y Gurol, 1994) y se contaminó siguiendo el método utilizado por Barriault y Sylvestre (1993) con Aroclor 1242 (Ref.- 48585, SUPELCO) hasta alcanzar una concentración de 100 mg/kg.

La determinación de los PCB se realizó través de Cromatografía Gaseosa con Detector de Captura Electrónica (Perkin Elmer Autosystem, ⁶³Ni) empleando como estándar interno el hexaclorociclohexano. El método cromatográfico empleado fue el de Oford y col. (1994), empleando el desarrollado por Quensen y col. (1990) para la extracción de los PCB.

El cultivo mixto aclimatado a la degradación de PCB empleado en el presente trabajo son cepas gram negativas del género *Pseudomonas* y

fueron cedidas por el "New York State Centre for Hazardous Wastes Management", (SUNY at Buffalo, NY) que a su vez las habían aislado de terrenos fuertemente contaminados por bifenilos policlorados próximos a las instalaciones industriales de ALCOA (Aluminium Company of America) en Buffalo (NY, EE.UU.). Este cultivo mixto se mantuvo suspendido en un reactor de inoculación que se alimentaba semanalmente con una disolución nutriente tamponada (Furukawa y col., 1979) de PCB y con bifenilo (20 mg/L) para incrementar la biomasa. En el momento de comenzar un ensayo de biodegradación se tomaba cierta cantidad del contenido del reactor de inoculación, se centrifugaba (a 2.000 rpm durante 1 hora, ALC. Centrifugette 4206) eliminando el sobrenadante y las bacterias se resuspendían en un medio nutriente mineral tamponado para

su empleo en los experimentos de biodegradación.

Los experimentos se realizaron en tubos de ensayo de vidrio pyrex de 15 mL de capacidad con tapón roscado y septum de PTFE, disponiéndose para cada día de muestreo de tres tubos de ensayo (dos duplicados y un abiótico con 400 mg/L de $HgCl_2$). Todos ellos contenían 1 gramo de suelo contaminado por PCB (100 mg de Aroclor 1242/kg) y la solución acuosa con nutrientes que contiene el inóculo (10^6 bact./mL). Semanalmente, incluso en los ensayos abióticos, los tubos de ensayo se abrían y se saturaban de oxígeno el espacio en cabeza de los mismos. El conjunto de los tubos de ensayo se colocó en un agitador horizontal (Heidolph, UNIMAX 2010) a 260 rpm durante 4 meses permitiendo evolucionar la temperatura con la del ambiente ($25 \pm 2^\circ C$).

3. Resultados y discusión

Las variables ensayadas fueron: (I) la relación masa de suelo/volumen de agua, (II) el efecto de la adición de un tensioactivo no iónico (nonilfenol polietoxilado, Empilan NP8, Albright & Wilson) a distintas concentraciones, (III), la adición de bifenilo como cosustrato a distintas concentraciones y frecuencias, y (IV) el efecto de la bioestimulación y bioaumentación (B y B): incremento mensual de un 10% de los nutrientes inorgánicos y 10^8 bacterias/gramo suelo/mes.

A continuación (Figura 1) se muestra la evolución del porcentaje de Aroclor 1242 residual en los distintos ensayos realizados. Todos los ensayos se realizaron con una relación m/V=1/10 g/mL y con 1000 mg/L de bifenilo adicionados al comienzo del experimento excepto cuando el objeto de estudio fue estudiar la relación m/V y de la dosis de cosustrato.

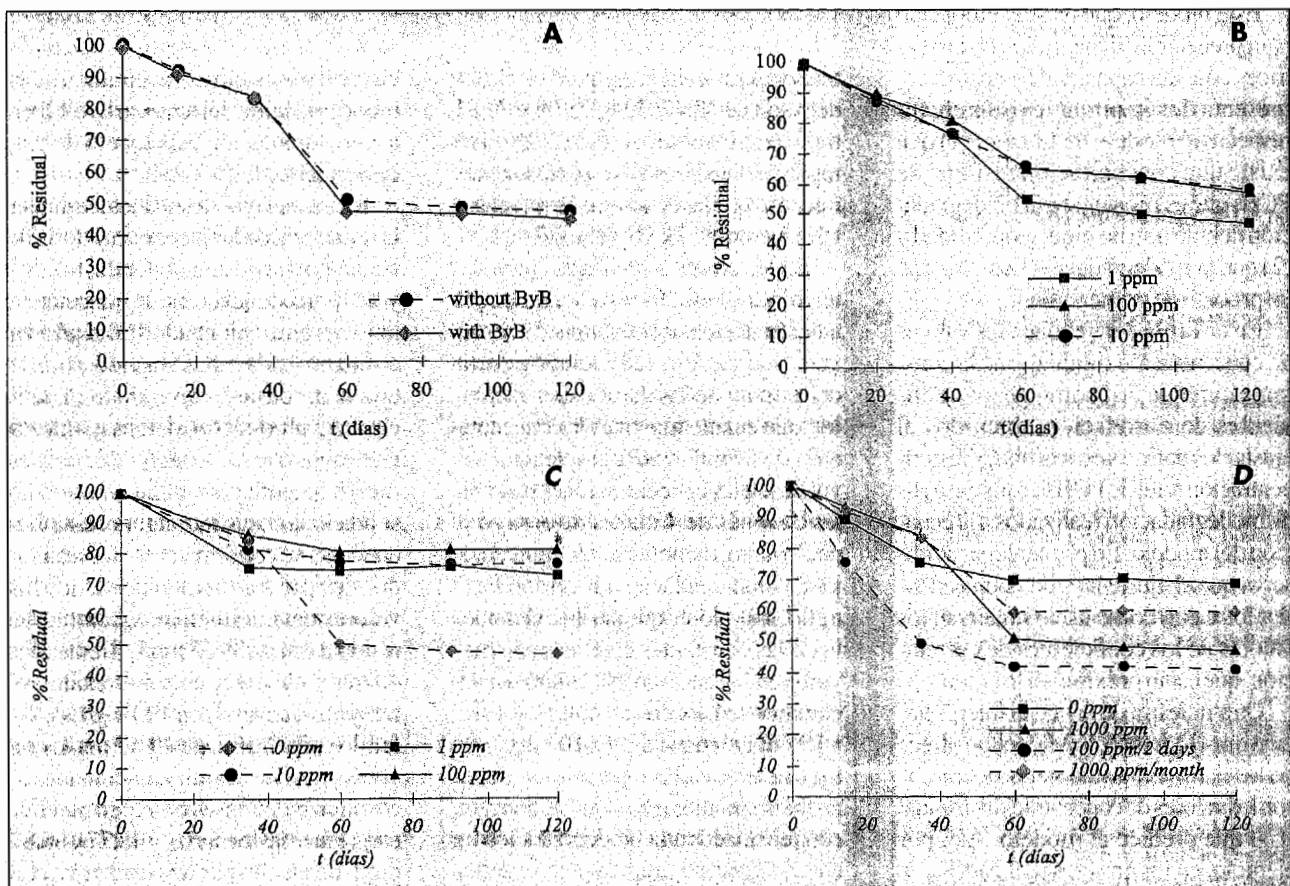


Figura 1. Evolución del porcentaje de Aroclor 1242 residual. (A) Influencia de la bioestimulación y bioaumentación (ByB). (B) Relación masa de de suelo/volumen de disolución (m/V). (C) Adición del tensioactivo no iónico Empilan NP8 a distintas concentraciones (D) Adición de bifenilo como cosustrato a distintas concentraciones y frecuencias.

Middelton y col. (1991) postularon un modelo empírico para evaluar la concentración de PAH en suelos vía biorremediación. El modelo, también conocido como "Modelo General de Biorremediación", está basado en datos de biorremediación de suelo/fangos realizados tanto a escala de laboratorio y piloto como en experiencias de campo. A continuación se muestra la ecuación que lo describe:

$$C_t = C_r + (C_o - C_r) e^{-kt}$$

donde:

C_t = la concentración del compuesto orgánico a tiempo t ,

C_o = la concentración inicial del compuesto orgánico,

C_r = la concentración del compuesto orgánico que es resistente a la biodegradación o que no está biodisponible, y

K = constante de velocidad de primer orden, t^{-1}

Este modelo, que ha sido empleado para predecir la biodegradación en matrices con alta capacidad de adsorción, presenta dos importantes diferencias respecto al modelo de Larson: (1) que existe una concentración residual de PCBs que es resistente a la biodegradación debido a su no biodisponibilidad y (2) que la biodegradación ocurre como un proceso de primer orden.

En la **Tabla 1** se recogen los valores de concentración residual y de la constante cinética, así como de los coeficientes de correlación obtenidos al ajustar los datos experimentales de concentración total de PCBs en los ensayos de biodegradación realizados a la ecuación del modelo. En primer lugar se observa que el ajuste ha sido bueno en todos los casos como así lo muestran los valores de los coeficientes de correlación, que están próximos a la unidad.

Otra muestra de la buena interpretación que el Modelo de Middelton ofrece de los datos experimentales obtenidos son los valores de concentración residual (C_r) que predice el modelo. Así, por ejemplo, en los ensayos realizados con distintas concentraciones del tensioactivo no iónico Empilan NP8, las concen-

	Influencia de la adición de tensioactivos (Empilan NP8) ⁽¹⁾				Influencia de la adición de cosustrato ⁽¹⁾			
	0 mg/L	1 mg/L	10 mg/L	100 mg/L	0 mg/L	1000 mg/L / 2 días	100 mg/L / 2 días	1000 mg/L / mes
C_r (mg/L) ⁽²⁾	42.47 (46)	72.8 (73)	75.08 (76)	79.81 (81)	66.87 (68)	42.47 (46)	38.33 (40)	48.77 (58)
k (días ⁻¹)	0.019	0.045	0.038	0.037	0.036	0.019	0.042	0.017
r^2	0.956	0.958	0.986	0.976	0.981	0.956	0.988	0.977

⁽¹⁾ En todos los ensayos la concentración inicial de PCBs fue de 100 mg/kg sedimento

⁽²⁾ Los datos entre paréntesis son los valores observados experimentalmente

	Bioestimulación y Bioaumentación ⁽¹⁾		Relación m/V ⁽¹⁾		
	Sin ByB	Con ByB	1/10	1/5	1/2
C_r (mg/L) ⁽²⁾	42.47 (46)	41.41 (45)	42.47 (46)	50.69 (54)	52.55 (55)
k (días ⁻¹)	0.019	0.019	0.019	0.014	0.014
r^2	0.956	0.948	0.956	0.962	0.961

⁽¹⁾ En todos los ensayos la concentración inicial de PCBs fue de 100 mg/kg

⁽²⁾ Los datos entre paréntesis son los valores observados experimentalmente

traciones residuales que predice el modelo son de 42.47, 72.8, 75.08 y 79.81 mg/L para los ensayos con 0, 1, 10 y 100 mg/L del tensioactivo respectivamente, mientras que las observadas experimentales fueron 46, 73, 76 y 81 mg/L.

En los ensayos realizados para determinar el efecto provocado por la adición del tensioactivo, puede observarse, tal y como se concluyó a partir del estudio de los datos experimentales, que cuanto mayor es la concentración de Empilan NP8 empleada, mayores son las concentraciones residuales después de 4 meses de ensayo y, por lo tanto, menores son los porcentajes de biodegradación obtenidos. Pese a ello, los valores que predice el modelo de las constantes cinéticas son mayores en los ensayos en los que se adicionaron tensioactivos, entre 3.7 y 4.5×10^{-2} días⁻¹ frente a 1.9×10^{-2} días⁻¹ en los que no se adicionó. Esto se debe, probablemente, a que en los ensayos con tensioactivo la biodegradación es un principio muy rápida pero se detiene antes que en el ensayo sin tensioactivo, lo que puede deberse a la genera-

ción de metabolitos resultantes de la biodegradación del tensioactivo o bien a una estimulación del proceso de biodegradación del bifenilo.

En los ensayos destinados a estudiar la influencia de la frecuencia y dosis de adición del cosustrato bifenilo, los mayores porcentajes de biodegradación se obtuvieron adicionando 100 mg/L del cosustrato cada 2 días, seguido, por este orden, del ensayo con 1000 mg/L adicionadas al comienzo del ensayo, de los realizados con 1.000 mg/L adicionadas mensualmente y por último cuando no se adiciona cosustrato alguno. Esta tendencia se ve confirmada por los resultados que predice el modelo ya que los valores del parámetro concentración residual son de 38.33 mg/L (frente a las 40 mg/L obtenidas experimentalmente), para el ensayo con 100 mg/L de bifenilo cada 2 días, de 42.47 mg/L con 1000 mg/L de bifenilo adicionadas al comienzo del ensayo (experimentalmente fueron 46 mg/L), y 48.77 y 66.87 mg/L residuales para los realizados con 1000 mg/L de bifenilo mensuales y sin cosustrato respectivamente (frente a las

	DiCB	TriCB	TetraCB	Totales
<i>C_r</i>	0.12 (0.09)	2.62 (2.7)	25.41 (25.9)	40.7 (41)
<i>k</i> (días ⁻¹)	0.0823	0.0654	0.044	0.074
<i>r</i> ²	0.982	0.967	0.966	0.987

(*) Los datos entre paréntesis son los valores experimentales

valores calculados de 58 y 68 mg/L respectivamente).

En cuanto a las constantes cinéticas que predice el modelo, los mayores valores de la constante se obtienen también en el ensayo con 100 mg/L de bifenilo cada dos días, 4.2×10^{-2} días⁻¹, seguida de la del ensayo sin bifenilo, 3.6×10^{-2} días⁻¹. En este último ensayo se observó que aunque la biodegradación cesaba antes que en el resto, era muy activa al comienzo del ensayo ya que no existía otra fuente de carbono para ejercer competencia con los congéneres más solubles del Aroclor 1242. En los ensayos con 1000 mg/L de bifenilo, las constantes cinéticas fueron similares, aunque ligeramente superiores en el ensayo en el que la adición se realizó inicialmente, 1.9×10^{-2} , frente a aquel en el que la adición era mensual, 1.7×10^{-2} días⁻¹.

En cuanto al efecto provocado por la adición continuada de bacterias aclimatadas y nutrientes inorgánicos (ensayos de bioaumentación y bioestimulación) se observa que no provocan efecto apreciable, ni en extensión (42.47 y 41.42 mg/L de PCBs residuales en los ensayos sin ByB y con ByB, respectivamente), ni en la velocidad del proceso ($k=1.9 \times 10^{-2}$ días⁻¹ en ambos casos).

Los datos cinéticos del ensayo destinado a determinar el efecto de la relación gramos de suelo/volumen de disolución, concluyen, que la relación m/V más adecuada era la 1/10. Así, es en este ensayo donde la *C_r* tiene el menor de los valores, 42.5 mg/L y una mayor constante cinética (1.9×10^{-2} días⁻¹); para los ensayos con relaciones 1/5 y 1/2 los valores de estos parámetros son de 50.7 y 52.55 mg/L para la concentración residual de PCBs y de 1.4×10^{-2} días⁻¹ para la constante cinética.

En la **Tabla 2** se muestra a modo de ejemplo los resultados por grupos de

homólogos, igual número de átomos de cloro, en el ensayo que se realizó con una relación m/V=1/10 g/mL, con una adición de bifenilo de 100 mg/L cada dos días, sin adición de tensioactivo, y sin bioestimar ni bioaumentar la población bacteriana.

En ella se observa que el ajuste ha sido bueno como así lo muestran los coeficientes de correlación obtenidos y la similitud existente entre los valores de concentración residual calculados experimentalmente, presentados entre paréntesis en la tabla, y los predichos por el modelo. También puede verse en dicha tabla la influencia del número de cloros de los congéneres, aumentando las cantidades relativas residuales y disminuyendo las constantes cinéticas de degradación al incrementarse el grado de cloración. Así, el modelo predice una concentración residual de los congéneres diclorados de 0.09 mg/L que sería un 0.7% de los inicialmente presentes (13 mg/L) con una constante de degradación de 8.2×10^{-2} días⁻¹, mientras que para los triclorobifenilos la concentración residual es de 2.62 que pasa a representar el 7.5% de la concentración inicial (35 mg/L) y con una constante cinética inferior que en los DCB, de 6.5×10^{-2} días⁻¹. En el caso del grupo de los tetraclorados la concentración residual predicha es de 25.41 mg/L, un 74% de los inicialmente presentes, con una constante cinética de 4.4×10^{-2} días⁻¹.

4. Conclusiones

• Los experimentos de biodegradación de PCBs en sistemas agua/sedimentos con el cultivo mixto de bacterias aclimatadas ha permitido una degradación del 60% antes de 60 días de ensayo. Los mejores porcentajes de eliminación de los bifenilos policlorados se obtienen cuando se adicionan 100

mg/L de bifenilo cada dos días, y con una relación masa de suelo/volumen de disolución nutriente tamponada con bacterias de 1/10 g/mL, sin que sea necesaria nueva adición de nutrientes, de bacterias aclimatadas frescas, ni de tensioactivos.

• El grado de biodegradación de los PCBs en suelos es dependiente del grado de cloración, siendo mayor en el caso de los diclorados (para los que se obtiene el 100% de degradación a los 40 días de ensayo), seguido de los triclorados (90% a los 60 días de ensayo) y los tetraclorados (30% a los 60 días de ensayo).

• El proceso de la biodegradación de los PCBs adsorbidos en suelos puede modelizarse mediante el modelo cinético de Middleton, obteniéndose valores adecuados de los parámetros con alta significación física y correlacionados con los datos experimentales.

5. Bibliografía

- [1] BARRIAULT, D. Y SYLVESTRE, M. "Factors Affecting PCBs Degradation by an Implanted Bacterial Strain in Soil Microcosm". *Can. J. Microbiol.*, 39, pp 594-602. 1993.
- [2] FURAKAWA, K.; TONIZUKA, N. Y KAMIBAYASHI, A. "Effect of Chlorine Substitution on the Bacterial Metabolism of Various Polychlorinated Biphenyl". *Appl. Environ. Microbiology*, 38 (2), pp 301-310. 1979.
- [3] MIDDLETON, A.C.; NAKLES, C.V. Y LINZ, D.G. "The Influence of Soil Composition on Bioremediation of PAH-Contaminated Soil", *Remediation*, Autumn, pp 391-406, 1991.
- [4] OFJORD, G.D.; PUHAKKA, J.A. Y FERGUSON, J.F. "Reductive Dechlorination of Aroclor 1254 by Marine Sediment Cultures". *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 28, No 13, 1994.
- [5] QUENSEN, J.F.; BOYD, S.A. Y TIEDJE, J.M. "Dechlorination of Four Commercial Polychlorinated Biphenyl Mixtures (Aroclors) by Anaerobic Microorganisms from sediments", *Appl. and Environ. Microbiol.*, Vol. 56, N° 8, pp 2360-2369, 1990.
- [6] RAVIKUMAR J.X. Y GUROL, M.D. "Chemical oxidation of chlorinated organics by hydrogen peroxide in the presence of sand". *Environ. Sci. Technol.* Vol. 28, N° 3, pp 394-400, 1994.
- [7] WATTS, R.J.; UDELL, M.D. Y MONSEN, R.M. "Use of Iron minerals in Optimizing the Peroxide Treatment of Contaminated Soils", *Water Environ. Res.* 65, 839, 1993.