

Bioremediación de hidrocarburos en aguas residuales con cultivo mixto de microorganismos: caso Lubricadora Puyango

(Bioremediation of hydrocarbons in wastewater with mixed culture of microorganisms: case car washers Puyango)

Judit García González,¹ Daniel Peñafiel Heredia,¹ Remberto Rodríguez¹

Resumen

Las aguas residuales de las lavadoras-lubricadoras de autos contienen grandes cantidades de hidrocarburos que son descargados en el alcantarillado público sin pasar por un tratamiento adecuado, incumpliendo la normativa. En este trabajo se evaluó el proceso de biorremediación de hidrocarburos totales en las aguas residuales de Puyango, para esto se aplicó un cultivo mixto de microorganismos degradadores de hidrocarburos y derivados, mediante la técnica de bioaumentación (aplicación directa de microorganismos). Para ello se realizó una caracterización de las aguas residuales, además se determinó el contenido de hidrocarburos totales del petróleo (TPH, por su sigla en inglés) y el caudal, durante siete días. Se aplicó un tratamiento consistente en una mezcla de bacterias: *Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas sp.* y *Mycobacterium sp.* en forma sólida (tableta de 80 g) con una concentración mínima de 4×10^8 UFC/ml soluble en agua, utilizando dos tabletas durante 30 días. Se determinó la concentración del TPH semanalmente, graficando la variación temporal y cuantificando el % de remoción. Los resultados indican que la técnica de bioaumentación fue efectiva ($p=0.003$) en la remoción del TPH obteniéndose porcentajes por encima del 86%. El tiempo de mayor remoción del TPH se obtuvo en la tercera semana de tratamiento con 92 %. Además, se obtuvo remociones de DQO-40 %, Aceites y grasas -50 %, Tensoactivos -43 % cumpliendo así la normativa vigente de descarga al alcantarillado público para el TPH.

Palabras clave

Biorremediación; hidrocarburos; aguas residuales; microorganismos; remoción.

Abstract

Wastewater from car washers and lubricators contain high levels of hydrocarbons. These are discharged into the public sewer system without proper treatment and without complying with the regulations. This study evaluated the process of bioremediation of total hydrocarbons in Puyango's wastewater, using bioaugmentation treatment by applying hydrocarbons-degrading microorganisms. First, a characterization of the wastewater was carried out, and the content of total petroleum hydrocarbons (TPH) and the flow rate was determined for seven days. A mixture of bacteria: *Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas sp.* y *Mycobacterium sp.* was applied in solid form (80 g tablet) with a minimum concentration of 4×10^8 CFU / ml soluble in water, using 2 tablets during 30 days of treatment. The concentration of the TPH was determined weekly, plotting the temporal variation and quantifying the % of removal. The results indicate that the technique of bioaugmentation was effective ($p = 0.003$) in the removal of the TPH, obtaining percentages above 86 %. The time of greatest removal of TPH was obtained in the third week of treatment with 92 %. In addition, COD removals were obtained -40 %, Oils and fats - 50%, Surfactants -43 %, fulfilling the current regulations for the TPH for discharge to the public sewer system.

Keywords

Bioremediation; hydrocarbons; wastewater; microorganisms; removal.

1. Introducción

Uno de los problemas ambientales más serios del Ecuador es precisamente la utilización de los cauces, estuarios y lagos como receptores de descargas de aguas residuales (municipales, domésticos e industriales) sin tratamiento previo alguno. El proceso de los desechos líquidos urbanos e industriales es casi inexistente, apenas un 7 % y las que hay se ubican en el Austro del país (CEPAL, 2012).

El crecimiento de las ciudades provoca un incremento del parque automotor, y por ende el apareamiento de servicios alrededor de la industria automotriz, así aumenta el número de lubricadoras-lavadoras de autos en los distintos puntos de la localidad. En la ciudad de Santo Domingo existen un total de 123 lubricadoras (GAD Provincial Santo Domingo de los Tsáchilas, 2015), las cuales no poseen un adecuado tratamiento de sus aguas residuales, y están cargadas con hidrocarburos totales del petróleo y sus derivados.

El petróleo crudo tiene una composición química compleja y variable, según su origen. Está formado entre un 50-90 % de sustancias hidrocarbonadas las cuales son: n-alcanos, alcanos ramificados (28.0-34.1 %), cicloalcanos (20.3-44.8 %), e hidrocarburos aromáticos (18.6-24.2 %). También están presentes pequeñas cantidades de otros elementos como N (0-0.5 %), S (0-6 %), y O (0-3.5 %), y algunos metales en forma de complejos y partículas coloidales (V, Ni, Co, Fe...) (Orozco et al., 2011; García y Aguirre, 2014). Son compuestos orgánicos que requieren consumo de oxígeno para su degradación, por ende disminuyen las concentraciones de oxígeno disuelto en las aguas y sus componentes pueden ocasionar efectos tóxicos (Orozco et al., 2011).

Diferentes son las tecnologías aplicables para tratar aguas residuales contaminadas con hidrocarburos. García y Aguirre (2014) y Acuña et al. (2012) plantean que a diferencia de los métodos químicos y físicos, los procesos de biorremediación ofrecen varias ventajas, tales como una bajo costo, un manejo seguro y no generan impacto ambiental. La biorremediación se define como el proceso mediante el cual los microorganismos presentes en un sitio producen la eliminación de un contaminante (Acuña et al., 2012; Rivera et al., 2018). Las técnicas clásicas de biorremediación son bioaugmentación y bioestimulación, ambas con la posibilidad de ser aplicadas *in situ* o *ex situ* (Acuña et al., 2012 y Martínez et al., 2011). La bioaugmentación, que es la aplicada en este trabajo, es la incorporación de microorganismos especializados al sitio contaminado con el fin de mejorar el rendimiento en el proceso de biorremediación (Acuña et al., 2012).

Los microorganismos capaces de biodegradar hidrocarburos están ampliamente distribuidos en la naturaleza, dado que el petróleo es un producto natural y que la contaminación crónica producida a lo largo de los años ha provocado la adaptación de la microflora del lugar para metabolizar estos compuestos (Adams, Domínguez y García, 1999; Ferrera et al., 2006; Rivera et al., 2018).

Los microorganismos degradan con facilidad los hidrocarburos lineales de la fracción alifática, especialmente los que contienen menos de 28 carbonos, aunque se han llegado a describir biodegradaciones de hidrocarburos de hasta 44 carbonos. Los isoprenoides, y los hidrocarburos cíclicos o nafténicos son degradados más lentamente que los lineales. Respecto a los hidrocarburos aromáticos, a medida que aumenta el número de anillos y los substituyentes alquilo, por tanto, su peso molecular, aumenta su resistencia a la biodegradación. Esto se debe principalmente a que se incrementa la hidrofobicidad, razón por la cual no están disponibles a los microorganismos, presentando un tiempo de consumo que va desde los 16 a 126 días para el fenantreno y de hasta aproximadamente 1400 días para el benzo[α]pireno (Solanas, 2009; Orozco et al., 2011; García y Aguirre, 2014).

García y Aguirre (2014) afirman que durante el proceso de degradación del petróleo intervienen varias especies de bacterias y que gracias a la participación y combinación de los diferentes procesos metabólicos de las bacterias presentes en ambientes acuáticos pueden alcanzarse tasas de consumo hasta del 100 %. Además Salleh et al., (2003) señala que la variabilidad de especies y géneros se debe a que diferentes bacterias tienen afinidad por ciertos hidrocarburos. García y Aguirre (2014), agrupan los géneros de bacterias que degradan los diferentes tipos de hidrocarburos (Tabla 1). También se menciona el uso de cianobacterias filamentosas del género *Fischerella*, *Phormidium* y *Spirulina* en la degradación de hidrocarburos presentes en aguas residuales (Ferrera et al., 2006).

Tabla 1. Bacterias degradadoras de hidrocarburos

Compuesto	Bacteria	Compuesto	Bacteria
Alcanos	<i>Acinetobacter</i> sp.	Mono-aromáticos	<i>Ralstonia</i> sp.
	<i>Actinomyces</i>		<i>Rhodococcus</i> sp.
	<i>Arthrobacter</i>		<i>Pseudomonas</i> sp.
	<i>Bacillus</i> sp.	Poli-aromáticos	<i>Alteromonas</i> sp.
	<i>Micrococcus</i> sp.		<i>Arthrobacter</i> sp.
	<i>Planococcus</i>		<i>Bacillus</i> sp.
	<i>Rhodococcus</i> sp.		<i>Mycobacterium</i>
	<i>Pseudomonas</i> sp.		<i>Pseudomonas</i> sp.

Fuente: García y Aguirre (2014).

La transformación ideal de los hidrocarburos por parte de los microorganismos es la mineralización, que supone que el microorganismo utiliza el contaminante como única fuente de carbono y energía, y en sí como substrato de crecimiento (Martínez et al., 2011; Rivera et al., 2018; Solanas, 2009). Además, el medio donde se encuentra el contaminante debe proporcionar las mejores condiciones a los microorganismos para que su actividad metabólica sea la adecuada para degradar los hidrocarburos, comprobado en el trabajo de Rivera et al. (2018). En el caso de los hidrocarburos, aunque existen microorganismos que pueden degradarlos anaeróbicamente, sabemos que el metabolismo más eficaz es el aeróbico por lo que la presencia de oxígeno será un requisito imprescindible (Solanas, 2009).

Los alcanos lineales cuando son asimilados por las bacterias son metabolizados por la ruta de la β -oxidación produciendo alcohol como intermediario. En el caso de los monoaromáticos se ha observado que se degradan por diferentes rutas metabólicas, dependiendo de la estructura molecular del compuesto. De los hidrocarburos que conforman el BTEX (Benceno-tolueno-etilbenceno y xilenos), el tolueno es el de mayor consumo bajo condiciones aerobias, sin embargo, dependiendo de las bacterias presentes en las zonas contaminadas, estas moléculas pueden seguir diferentes rutas metabólicas (formación de tolueno cisdihidrodiol, benzyl alcohol, o-cresol, m-cresol y p-cresol). Resultados similares también se han observado en la degradación de xilenos en presencia de *Pseudomonas* sp. En la degradación de los poliaromáticos ocurre en primer lugar la oxidación de la molécula para formar dihidrodioles, posteriormente, los intermediarios dihidroxilados pueden sufrir un ataque enzimático en las posiciones orto o meta para formar catecol o protocatecuato para, finalmente, entrar al ciclo de los ácidos tricarboxílicos (García y Aguirre, 2014).

Las bacterias que crecen en presencia de hidrocarburos producen una serie de sustancias con propiedades tenso-activas llamadas biosurfactantes, capaces de solubilizar compuestos no polares, como los contenidos en el petróleo. Además estas moléculas tienen la propiedad de estimular el crecimiento microbiológico ayudando así a acelerar la biorremediación en las zonas contaminadas. Los biosurfactantes son más biocompatibles, más fácilmente biodegradables y por lo tanto menos tóxicos, menos perjudiciales al ambiente y más activos a bajas concentraciones (Ron y Rosenberg, 2002 y Araujo et al., 2008)

El objetivo de este trabajo consistió en evaluar el proceso de biorremediación de hidrocarburos totales de las aguas residuales de la Lubricadora Puyango, aplicando microorganismos degradadores de hidrocarburos y sus derivados, mediante la técnica de la bioaugmentación.

2. Metodología

2.1. Material estudiado

Las muestras de estudio pertenecen a las aguas residuales de la Lavadora y Lubricadora Puyango, de la ciudad de Santo Domingo, tomadas en el punto de descarga al alcantarillado público. Se realizó una caracterización inicial evaluando parámetros físicos y químicos característicos de estas aguas residuales. En el caso de Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH, por su sigla en inglés) se tomaron muestras puntuales durante siete días y se graficó la variación temporal de este indicador. El resto de los contaminantes se analizaron a una sola muestra compuesta.

2.2. Determinación del caudal

El objetivo de la determinación del caudal nos permitió conocer el volumen de descarga de aguas residuales que tiene la lubricadora para la dosificación exacta de los microorganismos.

La determinación del caudal se realizó utilizando el método volumétrico. Este método consiste en medir con un cronómetro el tiempo de llenado de un volumen conocido y se aplica cuando la corriente a medir presenta una caída de agua. Es importante cronometrar varios tiempos de llenado, para estimar un valor promedio. En nuestro caso la medición se realizó con un recipiente aforado de 20 litros, durante seis días seguidos. Para determinar el caudal se usó la *Ecuación 1* (González, 2014):

$$Q = \frac{V}{t} \quad (1)$$

Donde,

Q = Caudal (l/s)

V = Volumen (l)

t = tiempo (s)

2.3. Parámetros analizados

Los parámetros y los métodos de ensayo realizados se detallan en la *Tabla 2*.

Tabla 2. Parámetros y métodos de ensayo

Parámetros Técnicas y Métodos de Referencia			
Parámetro	Unidad	Técnica	Método de Ensayo
Demanda Biológica de Oxígeno (DBO ₅)	mg.l ⁻¹	Volumetría	APHA 5210 B
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	mg.l ⁻¹	Método de reflujo cerrado/volumétrico	APHA 5220 C
Aceites y grasas	mg.l ⁻¹	Gravimetría	APHA 5520 - B,
pH	Unidades pH	Electrometría	APHA 4500 - H*B
Tensoactivos	mg.l ⁻¹	espectrofotometría colorimétrica	APHA 5540 C
Hidrocarburos totales de Petróleo (TPH)	mg.l ⁻¹	cromatografía de gases	EPA 8015 C
Sólidos totales	mg.l ⁻¹	Gravimetría	APHA 2540 B
Cloro Activo	mg.l ⁻¹	espectrofotometría colorimétrica	APHA 4500 Cl G
Cromo Hexavalente	mg.l ⁻¹	colorimetría	APHA 3500 Cr B
Sulfatos	mg.l ⁻¹	espectrofotometría colorimétrica	APHA 4500 - SO4 E
Cadmio	mg.l ⁻¹	espectrometría de absorción atómica de llama	APHA 3111-B
Plomo	mg.l ⁻¹	espectrometría de absorción atómica de llama	APHA 3111-B
Zinc	mg.l ⁻¹	espectrometría de absorción atómica de llama	APHA 3111-B
Aluminio	mg.l ⁻¹	espectrometría de absorción atómica de llama	APHA 3111-B

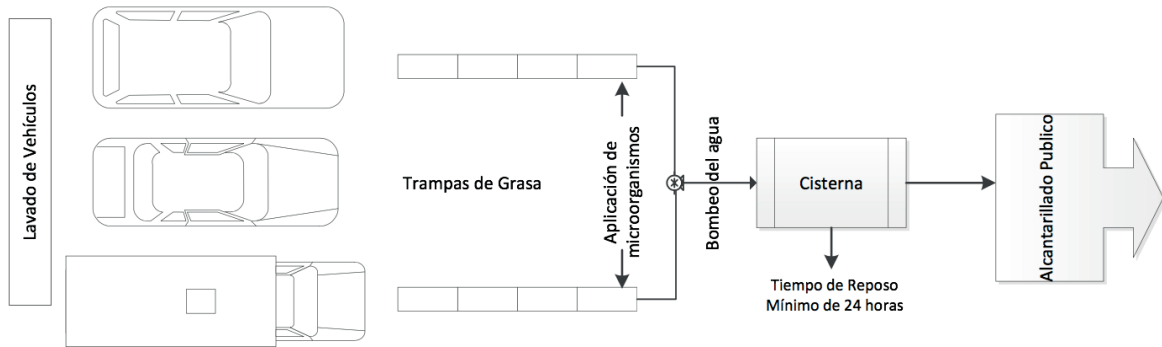
2.4. Sistema de tratamiento aplicado

Se utilizó en el tratamiento biológico una mezcla de bacterias encargadas de la degradación de varios tipos de hidrocarburos: *Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas sp.* y *Mycobacterium sp.* Según García y Aguirre (2014), cuando se intenta hacer simulaciones de degradación del petróleo se utilizan mezclas de bacterias, no una sola. La mezcla de bacterias se aplicó en forma sólida, tableta de 80 g, con una concentración mínima de 4×10^8 UFC/ml de microorganismos, fácilmente desgastable o soluble en agua. Reyes et al (2018) inoculó con células del consorcio bacteriano hasta alcanzar una concentración de 1×10^8 UFC/ml para la inmovilización de bacterias en capsulas de alginato de sodio en su estudio de biodegradación de hidrocarburos.

Las aguas provenientes del lavado de vehículos son direccionadas por canaletas perimetrales hacia la primera trampa de grasa, en donde se retienen los lodos residuales conforme van pasando por las distintas trampas de grasa. Una vez que el agua llega al último compartimento, se procedió a colocar la tableta de microorganismos, justo en la salida del efluente, y se dejó que la tableta se vaya desgastando conforme el efluente circula. Mientras tanto el agua cargada con microorganismos es bombeada hacia una cisterna con capacidad de 7.28 m³, en donde estos cumplen su papel de degradar el hidrocarburo presente en el agua durante el tiempo de retención en la cisterna (7 días). Una vez llena, por rebose se procede a descargar el agua tratada hacia el alcantarillado público. Se utilizaron dos tabletas de microorganismos, la primera se

desgastó en un tiempo de 15 días y se volvió a colocar otra tableta, para completar un tiempo total de 30 días de aplicación del tratamiento (*Figura 1*).

Figura 1. Esquema del sistema de tratamiento biológico aplicado en la Lubricadora Puyango, Santo Domingo 2016



2.5. Evaluación del tratamiento

Durante el mes de aplicación del tratamiento con los microorganismos, se tomaron muestras compuestas (en 4 puntos de la cisterna) semanalmente. Se analizó la cantidad de TPH y se graficó su variación temporal y el % de remoción según la *Ecuación 2*. El resto de los parámetros se analizó a una sola muestra compuesta al finalizar el tratamiento y se comparó con los límites permisibles para descargas al alcantarillado público establecido en *Tabla 8* del *Anexo 1*, del Acuerdo Ministerial 097 a la reforma del TULSMA. Las pruebas estadísticas se realizaron con el programa Inforstat v2018.

$$\% \text{ de remoción (indicador)} = \frac{\text{Concentración inicial} - \text{Concentración final}}{\text{Concentración inicial}} * 100 \quad (2)$$

3. Resultados y Discusión

3.1. Resultados del TPH y caudal

La cantidad de hidrocarburos totales del petróleo presente en las aguas residuales de la lubricadora varía de acuerdo a los días (*Figura 2 a*). Estas variaciones son debidas a distintos factores: la falta de limpieza de las trampas de grasa y el flujo de vehículos que se lavaron en la lubricadora. El valor promedio de la cantidad de hidrocarburo total de petróleo es de 38,3 mg.l⁻¹, con una desviación estándar de 32 mg.l⁻¹ desde un valor mínimo de 11 mg.l⁻¹ hasta un máximo de 97 mg.l⁻¹. Este valor medio sobrepasa el límite permisible de 20 mg.l⁻¹ establecido en la normativa vigente con diferencias significativas, con un (p=0.0099).

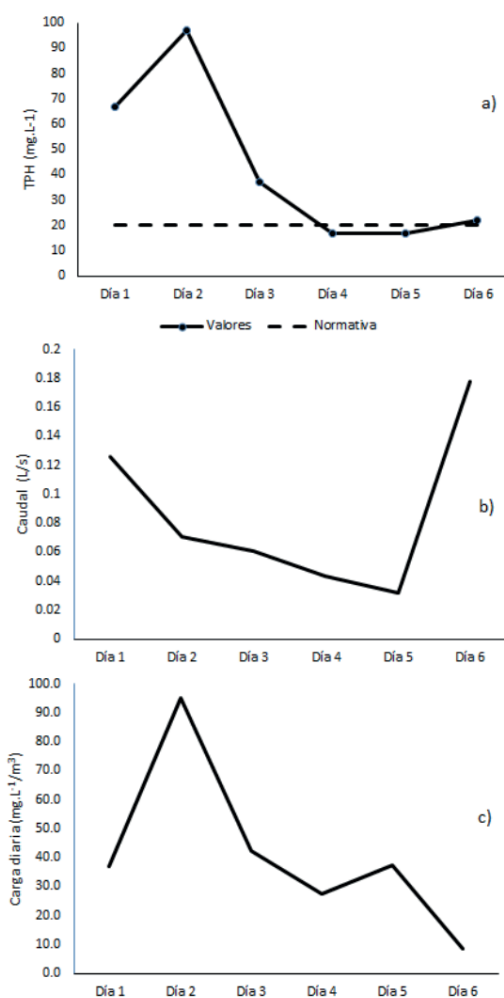
El comportamiento del caudal de las aguas residuales respecto a los días de la semana varía (*Figura 2 b*). Puede apreciarse que los días 1 y 6 representan los valores más altos, debido que los días lunes y sábado, son los días con más afluencia de vehículos en la lubricadora, y por ende el caudal va a ser mayor, en cambio de los días 2 al 5, es decir de martes a viernes se

mantuvo en un caudal similar, ya que la afluencia de vehículos fue baja. El caudal promedio es de 0,085 l/s y considerando que el efluente no es constante durante las 8 horas laborables, se tomó un estimado de 4 h/d, tenemos un caudal de aguas residuales de 1,224 m³/d.

La carga diaria del contaminante TPH por m³ de aguas residuales resulta variable, apreciándose mayor carga los primeros días de la semana donde hay mayor afluencia de vehículos (figura 2 c).

Estos valores del TPH tanto en términos de concentración como en términos de carga son inferiores a los reportados por derrames, fundamentalmente en los mares (García y Aguirre, 2014). Sin embargo, estas características son positivas para la utilización de la bioremediación. En los estudios de Qingguo et al. (2017) plantea que el % de degradación disminuye apreciablemente a medida que aumenta la concentración del petróleo crudo en aguas marinas. En este caso obtuvo para concentraciones de petróleo entre 2-4 (% w/v) una eficiencia de degradación entre 56-68 %, para concentraciones mayores de 6 hasta 12 (% w/v), decrece la eficiencia desde un 50 % hasta un 20 %.

Figura 2. Características de las agua residuales de la Lubricadora Puyango, diciembre 2016; a) valores del hidrocarburos totales del petróleo (TPH) en mg/l; b) caudal l/s; c) carga diaria del TPH por m³ de aguas residuales



3.2. Caracterización de las aguas residuales

La caracterización del resto de los parámetros de las aguas residuales de la Lubricadora Puyango, antes y después del tratamiento con los microorganismos aparecen en la *Tabla 3*.

Tabla 3. Caracterización de las aguas residuales de la Lubricadora Puyango antes y después del tratamiento con microorganismos y sus límites permisibles, 2016

Detalle	Unidad	Antes del Tratamiento	Límite Permissible**	Después del Tratamiento
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO ₅)	mg.l ⁻¹	<80	250.0	<80
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	mg.l ⁻¹	751.32	500.0	452.83
Aceites y Grasas	mg.l ⁻¹	104.00	70	52.00
pH		7.20	6-9	6.51
Tensoactivos	mg.l ⁻¹	5.78	2.0	3.29
Hidrocarburos totales de Petróleo (TPH)	mg.l ⁻¹	38.30*	20.0	3.21*
Sólidos totales	mg.l ⁻¹	244.30	1600.0	234.60
Cloro Activo	mg.l ⁻¹	0.01	0.5	0.12
Cromo Hexavalente	mg.l ⁻¹	<0.05	0.5	<0.05
Cadmio	mg.l ⁻¹	<0.01	0.02	0,003
Sulfatos	mg.l ⁻¹	76.00	400.0	9.17
Plomo	mg.l ⁻¹	<0.40	0.5	<0.40
Zinc	mg.l ⁻¹	0.31	10.0	0.004
Aluminio	mg.l ⁻¹	1.20	5.0	0.80

*Indican valores promedio.

** Tabla 8 del Anexo 1, del Acuerdo Ministerial 097 a la reforma del TULSMA: Descarga al alcantarillado público.

Los resultados muestran que antes del tratamiento se incumplen con los parámetros de DQO, aceites y grasas, tensoactivos y TPH (*Tabla 1*). Estos compuestos son característicos en las aguas residuales de este tipo de industria, debido a que en su proceso tecnológico (lavado, cambio de aceite, engrasado, abrillantado) se utilizan como materias primas fundamentales el agua, aceites y lubricantes, y detergentes. Además, los lubricantes presentan aditivos para mejorar sus propiedades, aplicando de un 15 % - 25 % que implica una composición adicional de polímeros, como son: Polimatacrilato, Copolímeros de Hidrocarburos Etilénicos, Derivados de isopreno, de isopreno - estireno hidrogenado, Alquilaril-sulfonato, alquilfenato, alquilosalicilato, entre otros (Albarracín, 2006).

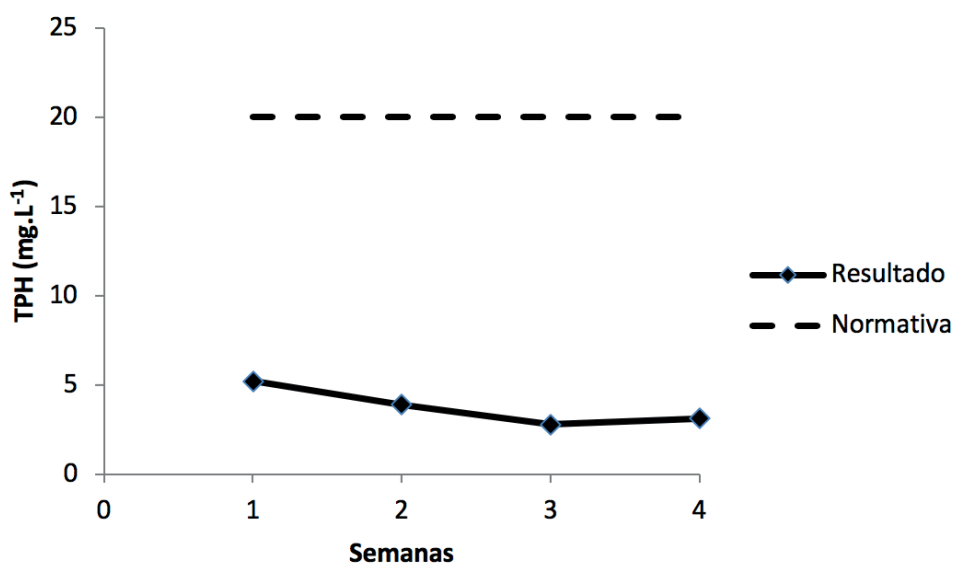
Después de aplicado el tratamiento, la mayoría de parámetros están bajo el límite permisible según la normativa ambiental vigente (*Tabla 1*). Se obtuvo una remoción mayor del DQO del 40 %, aceites y grasas del 50 %, y TPH del 90 %, siendo estos los valores más significativos en este trabajo. No se cumplió con la reducción esperada de la cantidad de tensoactivos presentes en el agua, ya que a pesar de tener un porcentaje de remoción del 43 %, no cumple con el límite permisible que es 2.0 mg.l⁻¹. Se presume que esto se deba por el tipo de detergente que se utiliza

para el lavado de los vehículos. Además, Fortunato et al. (1997), señala que la adaptación de una población microbiana al sustrato tensoactivo que debe degradar, debe ser durante un período no inferior a 20 días, lo que es necesario con el fin de lograr la optimización del proceso, lo cual en este caso no se dio porque el tiempo de retención en la cisterna que tenían las bacterias fueron de 5 a 7 días. También es posible a la segregación de biosurfante propio del metabolismo de estas bacterias que hace que se incremente la cantidad de tensoactivos en las aguas residuales (Araujo et al., 2008; Ron y Rosenberg, 2002). Varjani y Upasani (2017) plantean que un tipo de biosurfante *rhamnolipid* es producido por *Pseudomonas aeruginosa* DS 10-129 en sitios contaminados con gasolina y diésel.

3.3. Resultado del TPH después del tratamiento

Todos los resultados obtenidos después del tratamiento se encuentran por debajo del límite permisible (20 mg.l^{-1}) (Figura 4). Los valores a lo largo del mes fueron bastantes similares, encontrándose en la tercera semana con el valor más bajo de TPH, con un 2.9 mg.l^{-1} . El promedio fue de 3.75 mg.l^{-1} con una desviación estándar de 1.07 mg.l^{-1} , lo que demostró que los microorganismos fueron eficientes en la degradación del hidrocarburo ($p=0.003$).

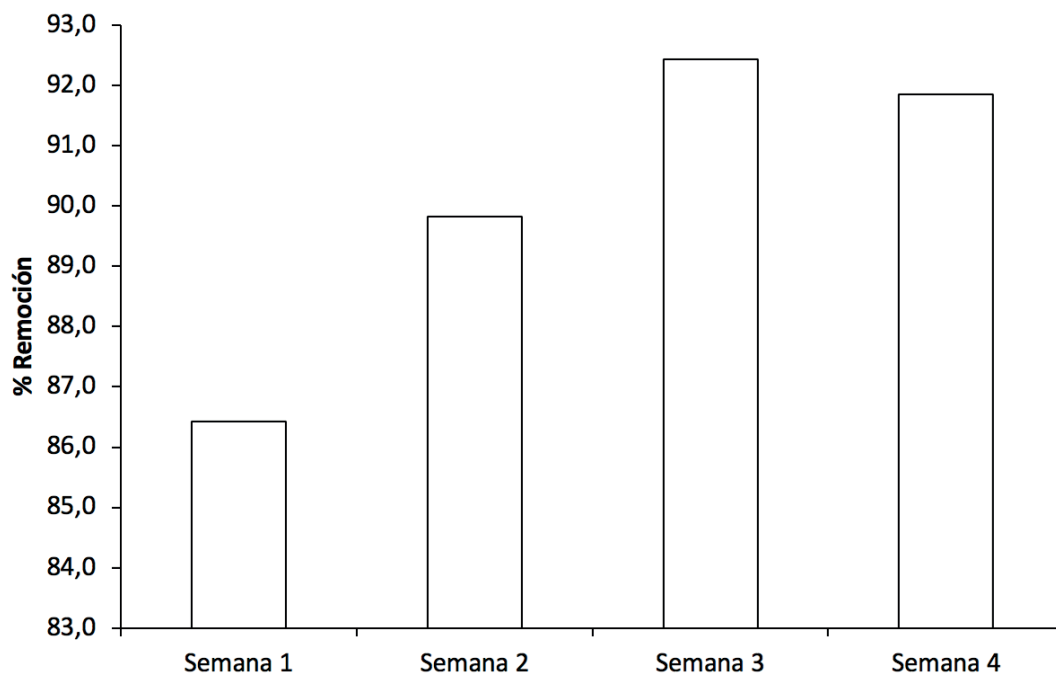
Figura 4. Valores semanales del TPH después de la aplicación de los microorganismos y comparación con límite permisible normado, 2016



Los porcentajes de remoción del hidrocarburo semanalmente con respecto al TPH promedio antes de aplicar el tratamiento (38.3 mg.l^{-1}) muestran que en las distintas semanas hubo valores de remoción por encima del 86 %, sin embargo la tercera semana se obtuvo el valor más alto, 92.4 %, motivado por mayor crecimiento de microorganismos en la cisterna durante los días (Figura 5). Estos resultados son similares a el estudio de Bagherzadeh, Shojaosadati y Hashemi (2008) donde se obtuvo % de remoción con cepas puras aisladas de *Pseudomonas sp.*, *Arthrobacter sp.*, *Mycobacterium sp.*, entre 51 y 34.3 %, sin embargo, con 5 formulaciones de cultivos mixtos obtuvo porcentajes entre el 63 al 71 %, comprobándose que es más efectivo el uso de cultivos mixtos.

Araujo et al. (2008) y Romaniuk et al (2007) en un estudio con cepas bacterianas observaron que las concentraciones de crudo disminuyeron rápidamente durante los primeros 30 días, período durante el cual los microorganismos degradaron entre un 50 % y un 60 % del hidrocarburo. Otros autores (García y Aguirre 2014; Ferrera et al., 2006) afirman que durante la biodegradación de los hidrocarburos del petróleo las bacterias oxidan el petróleo a dióxido de carbono, agua y energía, y Adams, Domínguez, y García (1999) plantean que aproximadamente 50 % del carbono en el petróleo es usado para biomasa bacteriana. En los trabajos de Araujo et al (2008) con la adición de biosurfante y la aplicación de un cultivo mixto se obtuvo porcentajes de remoción de hidrocarburo del 81 % (Figura 5).

Figura 5. Porcentaje de remoción del hidrocarburo total de petróleo con la aplicación de microorganismos en las aguas residuales de la Lubricadora Puyango, 2016



4. Conclusiones y recomendaciones

La aplicación de la bioaumentación mediante un cultivo mixto de *Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas sp.* y *Mycobacterium sp.* para la biorremediación de las aguas residuales de la Lubricadora Puyango resultó eficiente ($p=0.003$) obteniéndose porcentajes de remoción del Hidrocarburo Total de Petróleo por encima del 86 %.

Los mejores resultados de remoción del TPH se obtuvieron a la tercera semana de aplicación de los microorganismos con un 92 %.

Además, los microorganismos removieron el DQO (40 %), aceites y grasas (50 %), tensoactivos (43 %), permitiendo cumplir con la normativa vigente de descarga al alcantarillado público de todos los parámetros exceptuando los tensoactivos, lo que evidencia que es una alternativa técnicamente factible, viable y de bajo costo.

Es recomendable lograr un aprovechamiento de las aguas residuales de la lubricadora y recircularla al proceso de lavado de vehículos, y posteriormente continuar con el tratamiento adecuado a las mismas antes de su disposición.

Referencias

- Acuerdo Ministerial 097 de la Reforma al Texto Unificado de Legislación Secundaria (2015).
- Acuña, A., Tonín N., Díaz V., Pucci G. N. y Pucci O. H. (2012). Optimización de un sistema de biorremediación de hidrocarburos a escala de laboratorio. *Ingeniería Investigación y Tecnología XIII* (1), 105-112. ISSN 1405-7743 FI-UNAM.
- Adams Schroeder, R., Domínguez Rodríguez, V., y García Hernández, L. (1999). *Bioremediation Potential of Oil Impacted Soil and Water in the Mexican Tropics*. Tabasco: Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
- Albarracín, P. (2006). *Tribología y Lubricación Industrial y Automotriz*. t. I, 4ª. ed. Colombia.
- APHA. (1999). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. EE. UU.: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.
- Araujo, I., Gómez, A., Barrera, M., Angulo, N., Morillo, G., Cardenas, C., y Herrera, L. (2008). Surfactantes biológicos en la biorremediación de aguas contaminadas con crudo liviano. *INCI 33* (4). Obtenido de Scielo: http://www.scielo.org/ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442008000400004#fig3
- Bagherzadeh-Namaz, A., Shojaosadati, S. A. y Hashemi-Najafabadi, S. (2008). Biodegradation of Used Engine Oil Using Mixed and Isolated Cultures. *Int. J. Environ. Res.*, 2(4): 431-440. ISSN: 1735-6865.
- CEPAL. (2012). *Diagnóstico de la estadística del agua en Ecuador*. Ecuador.
- Ferrera, R., Rojas, N. G., Poggi, H. M., Alarcón A., Cañizares, R. O. (2006). Procesos de biorremediación de suelo y agua contaminados por hidrocarburos del petróleo y otros compuestos orgánicos. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 48(2), 179-187.
- Fortunato, M., Rossi, S., Korol, S., y D'aquino, M. (1997). *Eficiencia de la degradación microbiana de tensoactivos*. Buenos Aires: Cátedra de Higiene y Sanidad. Facultad de Farmacia y Bioquímica.
- GAD Provincial Santo Domingo de los Tsachilas. (2015). Lista Taxativa de las Actividades Económicas de la Provincia. Santo Domingo de los Tsachilas.
- García Cruz, U., y Aguirre Macedo, M. (2014). Biodegradación de petróleo por bacterias: algunos casos de estudio en el Golfo de México. Mérida. *Microbiología*, 641-652.
- González, A. (2014). *Manual Piragüero-Medición del caudal*. Medellín: LibroArte.
- Martínez, A., Pérez M. E., Pinto J., Gurrola B. A. y Osorio A. L. (2011). Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos empleando lodos residuales como fuente alterna de nutrientes. *Rev. Int. Contam. Ambie* 27(3): 241-252.
- Qingguo Chen, Jingjing Li, Mei Liu, Huiling Sun, y Mutai Ba. (2017). Study on the biodegradation of crude oil by free and immobilized bacterial consortium in marine environment. *PLOS ONE*. Pankaj Kumar Arora, MJP Rohilkhand University, INDIA. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174445>
- Osozco, C., Pérez, A., Gonzalez, M., Rodriguez, F. J., Alfayate, J. M., (2011). *Contaminación ambiental. Una visión desde la química*. Madrid: Editorial Paraninfo. ISBN 978-84-9732-178-5.
- Reyes, M., Puentes, E. A., Casanova, E. L., López, F., Panqueva, J. H. y Castillo, G. A. (2018). Inmovilización de bacterias potencialmente degradadoras de petróleo crudo en matrices orgánicas naturales y sintéticas. *Rev. Int. Contam. Ambie*. 34 (4): 597-609. DOI: 10.20937.
- Rivera Ortiz, P., Rivera Lárraga, J. E., Andrade E., Heyer L., De la Garza F. R. y Castro B. (2018). Bioestimulación y biorremediación de recortes de perforación contaminados con hidrocarburos. *Rev. Int. Contam. Ambie*. 34 (2): 249-262. DOI: 10.20937/RICA.2018.34.02.06

- Romaniuk, R.; Brandt, J; Rios, P y Giuffr , L. (2007). Atenuación natural y remediación inducida en suelos contaminados con hidrocarburos. *CI Suelo (Argentina)* 25 (2): 139-149.
- Ron, E., y Rosenberg, E. (2002). Biosurfactants and oil bioremediation. *Israel: Elsevier Science Ltd.*
- Salleh, A. B., Ghazali, F. M., Rahman, R. N. A. y Basri, M. (2003). Bioremediation of petroleum hydrocarbon pollution. *Indian Journal of Biotechnology*, 2: 411-425.
- Solanas, A. (2009). La biodegradación de hidrocarburos y su aplicación en la biorremediación de suelos. *Estudios en la zona no saturada del suelo*, vol. IX, O. Barcelona.
- Varjani, S., y Upasani, V. (2017). Crude oil degradation by *Pseudomonas aeruginosa* BCIM 5514: Influence of process parameters. *Indian Journal of Experimental Biology*, vol. 55: 493-497.