

## DESARROLLO DE UN MODELO MATEMÁTICO PARA LA BIORREMEDIACIÓN DE HIDROCARBUROS EMPLEANDO MICROORGANISMOS PROVENIENTES DE SUELOS CONTAMINADOS

Manzo, María Fiorela<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC-UNL-CONICET)  
Directora: Lovato, María Eugenia

Área: Ingeniería

Palabras claves: Biorremediación, Modelado, Hidrocarburos.

### INTRODUCCIÓN

La biorremediación es una tecnología amigable con el medio ambiente que utiliza comunidades microbianas para degradar compuestos contaminantes, reduciendo los desequilibrios en los ecosistemas. A pesar de sus ventajas, la información actual sobre la biorremediación de hidrocarburos en suelos es limitada, debido a la compleja naturaleza fisicoquímica y biológica del mismo. El modelado matemático se presenta como una herramienta clave para optimizar y escalar esta tecnología, permitiendo simular y predecir con mayor precisión los resultados. Este trabajo se enfocó en desarrollar un modelo para describir la biorremediación de una matriz de suelo en medio acuoso, con la intención de aplicarlo posteriormente en suelos contaminados in situ.

### OBJETIVOS

- Proponer ecuaciones cinéticas que representen el proceso global de degradación de hidrocarburos a partir del uso de microorganismos provenientes de suelos contaminados. Ajustar y optimizar los valores de las constantes cinéticas correlacionándolas con los datos experimentales.
- Desarrollar un modelo matemático que permita describir el proceso de biorremediación microbiana de hidrocarburos considerando la degradación del sustrato, los fenómenos de transferencia de materia y diversos factores inhibitorios.
- Verificar el modelo desarrollado a partir de ensayos experimentales confirmatorios de biorremediación.

Título del proyecto: Transformaciones biológicas para el saneamiento y disposición de lodos y biosólidos provenientes de aguas residuales generadas en plantas de higiene urbana.

Instrumento: CAI+D-UNL Orientado código 21820210100032LI

Año convocatoria: 2021

Organismo financiador: Universidad Nacional del Litoral

Directora: Dra. María Eugenia Lovato; co-director: Dr. Ricardo Manzo



## METODOLOGÍA

Se realizaron ensayos de biodegradación de hidrocarburos (HC) *in vitro* en medio líquido donde se utilizaron tres cepas diferentes de *Pseudomonas* (Suppo, 2021). Las mismas fueron obtenidas a partir de suelos correspondientes a sitios contaminados con hidrocarburos de Santa Fe, mediante su aislamiento por enriquecimiento y resiembras de los cultivos hasta obtener colonias bacterianas características de un cultivo axénico (Guzmán, 2017). Los ensayos de biodegradación se efectuaron en reactores discontinuos, conteniendo medio de cultivo Bushnell-Hass (BH), el combustible Infinia Diésel a una concentración inicial del 4% (v/v) o 33,6 g sustrato/L y una concentración de inóculo bacteriano del 3% (v/v). Para cada ensayo realizado, a diferentes tiempos a lo largo de 16 días, se determinó la concentración de microorganismos por dos metodologías distintas: por recuento microbiológico (que permitió estimar el número de unidades formadoras de colonias UFC/ml de cultivo), y en forma gravimétrica, determinándose los gramos de biomasa producida por litro de medio de degradación. La concentración de sustrato se estimó al comienzo y al final de las experiencias mediante cromatografía gaseosa (GC – FID).

Como primera etapa, se procedió a desarrollar un modelo no estructurado - no segregado, para describir matemáticamente el proceso de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos suspendidos en medio líquido. Para ello se buscó representar el transporte de materia, la distribución y la transformación de las diferentes fracciones de HC contenidas en el combustible entre las diferentes fases que componen al sistema en estudio. Se asumió la conservación de masas del sustrato con partición del mismo entre las fases líquidas y sólidas, además de contemplar la reacción química entre los microorganismos y el hidrocarburo involucrado (Fernández *et al.*, 2016).

A continuación, se mencionan las **hipótesis** más relevantes establecidas para simplificar el sistema y permitir un análisis y procesamiento de datos más directo:

- El sistema se consideró cerrado, y la masa total se mantuvo constante.
- Se asumió un sistema completamente mezclado, por lo que las fases se consideraron uniformemente distribuidas en el reactor, facilitando el análisis de las concentraciones de los contaminantes y la biomasa en el sistema.
- Se supuso que los HC del diésel se encontraron presentes en el sistema en cuatro fases: Absorbidos en el suelo/ sólido (S); disueltos en la fase acuosa (A); libres en la fase líquida orgánica/no acuosa (NA); volatilizados en la fase gaseosa (G).
- Se consideró la existencia de los fenómenos de transporte de HC entre las diferentes fases.
- Después de la inoculación, se consideró que los microorganismos están homogéneamente distribuidos en la fase A y tienen acceso a los HC presentes en las fases S, A y NA.
- Se asumió que la biodegradación en las fases S y NA se llevó a cabo a través de las interfases A-S y A-NA debido a la generación de biosurfactantes.
- Se asumió que el consorcio microbiano responsable de la biodegradación de HC sigue una cinética de crecimiento según la ecuación de Monod, donde el crecimiento solamente depende de un sustrato limitante.

En la **Tabla 1**, se muestran las principales ecuaciones utilizadas en el modelo planteado.

**Tabla 1.** Ecuaciones utilizadas para el modelado del proceso de biodegradación de hidrocarburos.

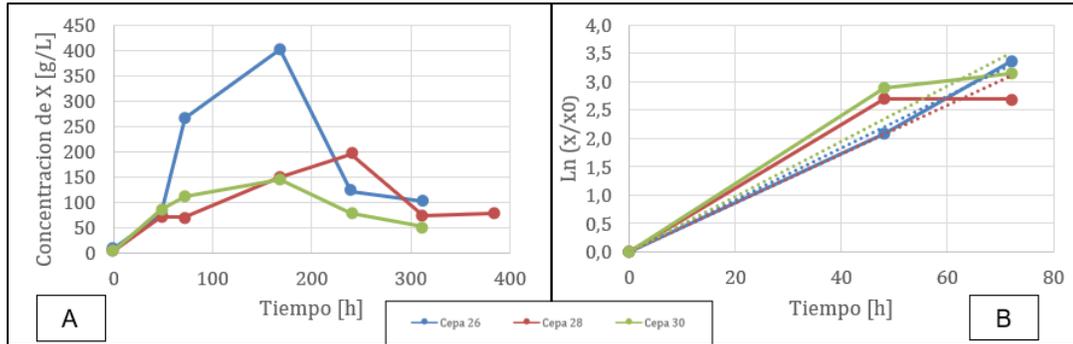
Ecuación para el crecimiento microbiano (cinética de Monod)	$r_x = \frac{dx}{dt} = \mu * x \rightarrow x = x_0 * e^{\mu * t}$ donde $\mu = \frac{\mu_{max} * S}{K_S + S}$ siendo $\mu$ la velocidad de crecimiento microbiano, $\mu_{max}$ y $K_S$ los parámetros cinéticos y S la concentración de sustrato, en este caso nuestro HC en cuestión
Ecuación para el consumo de sustrato por biodegradación	$-r_S = \frac{dS}{dt} \rightarrow S = S_0 - \frac{(x-x_0)}{Y_{x/S}}$ donde $Y_{x/S} = \frac{r_x}{r_S}$ es el rendimiento definido como la cantidad de biomasa producida por la cantidad de sustrato consumido
Ecuaciones planteadas para determinar la concentración del hidrocarburo en el tiempo	
Balance de materia total	$\frac{dC_T}{dt} = \frac{dC_S}{dt} + f_a \frac{dC_A}{dt} + \frac{dC_{NA}}{dt} + \frac{dC_G}{dt}$
Balance de materia en la fase S	$\frac{dC_S}{dt} = J_n - f_a K_{S\_A} (C_{A^*} - C_A) - \frac{\mu_{max} * (C_S - C_{SI})}{K_S + C_S - C_{SI}} * \frac{x}{Y_{x/S}}$ siendo $J_n = \alpha (C_{Sd} - C_S)$ Incluye los fenómenos de transferencia de materia de la fase solida a la fase orgánica y acuosa junto con el termino cinético de degradación del diésel
Balance de materia en la fase A	$\frac{dC_A}{dt} = K_{S\_A} (C_{A^*} - C_A) + K_{NA\_A} (C_{A^*} - C_A) - \frac{\mu_{max} * (C_A - C_{AI})}{K_S / f_a + C_A - C_{AI}} * \frac{x}{Y_{x/S}}$ Fenómenos transferencia de materia de la fase solida a la acuosa y de la fase orgánica a la acuosa, además del término cinético
Balance de materia en la fase NA	$\frac{dC_{NA}}{dt} = -J_n - f_a K_{NA\_A} (C_{A^*} - C_A) - K_{NA\_G} (C_{G^*} - C_G) + K_{NA\_A} (C_{A^*} - C_A) - \frac{\mu_{max} * (C_{NA} - C_{NAI})}{K_S + C_{NA} - C_{NAI}} * \frac{x}{Y_{x/S}}$ Fenómenos de transferencia de materia de la fase solida a la orgánica, de la orgánica a la acuosa como también al aire, junto con el término cinético
Balance de materia total para el crecimiento microbiano generado en todo el sistema	$\frac{dC_x}{dt} = \frac{\mu_{max} * (C_{NA} - C_{NAI})}{K_S + C_{NA} - C_{NAI}} * x + \frac{\mu_{max} * (C_S - C_{SI})}{K_S + C_S - C_{SI}} * x + \frac{\mu_{max} * (C_A - C_{AI})}{K_S \frac{1}{f_a} + C_A - C_{AI}} * x - K_D * x$ Se consideran todos los términos cinéticos correspondientes a las fases sólida, orgánica y acuosa, contemplando la muerte celular
Balance de materia en la fase G	$\frac{dC_G}{dt} = K_{NA\_G} (C_{G^*} - C_G)$ Únicamente se considera la transferencia de materia de la fase orgánica al aire por la volatilización del HC

## RESULTADOS/CONCLUSIONES

Se procedió a realizar un análisis los datos de las cepas 26, 28 y 30 evaluadas por Suppo (2021). Para ello se realizó una conversión de los valores obtenidos en UFC/ml a g/L con la relación  $4,44 \times 10^{-8} [(g/L)/(UFC/mL)]$  obtenida a partir de un artículo que correlacionó dichos valores (Feng *et al.*, 2021). Los resultados del crecimiento celular y la linealización del periodo de máximo crecimiento se aprecian en la **Figura 1**. Los parámetros cinéticos, los rendimientos de conversión estimados y el porcentaje de degradación de sustrato por cada cepa, calculados entre el tiempo inicial y final

del experimento, se presentan en la **Tabla 2**.

Se puede apreciar que el crecimiento microbiano alcanza su máximo entre las 170 y 240 horas, para luego decrecer debido a fenómenos inhibitorios del crecimiento, como así también a la muerte celular o el agotamiento del sustrato, los cuales no son contemplados por la cinética de Monod. Por ello, se están explorando otras cinéticas microbianas que describan mejor los ensayos realizados, como la cinética de Haldane, ecuaciones logísticas como la de Verhulst, entre otras.



**Figura 1.** A. Crecimiento Microbiano en función del tiempo; B. Región lineal del crecimiento microbiano; (Azul: cepa 26; Rojo: cepa 28; Verde: cepa 30).

Se planea realizar nuevos ensayos en reactores discontinuos con agitación, empleando suelo suspendido en el medio líquido, para obtener los valores de las constantes de las cinéticas microbianas y de los coeficientes de transferencia de materia, que eventualmente puedan extrapolarse al estudio en sistemas sólidos y así proceder con la simulación del fenómeno de biorremediación.

**Tabla 2.** Parámetros cinéticos y de crecimiento estimados.

$S_0$	33,6 [g/L]		$Y(x/S) = (x_{max} - x_0)/(S_f - S_0)$		
Cepa	% de degradación del Sustrato	$S_f$ [g/L]	$Y(x/S)$ [g biomasa / g sustrato]	$\mu_{max}$ [ $h^{-1}$ ]	$R^2$
26	70,05	10,0632	16,6925	0,0456	0,9991
28	80,18	6,6595	7,0823	0,0432	0,9606
30	93,79	2,0866	4,4045	0,0488	0,9763

### BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

Suppo C. (2021). Biorremediación de suelos contaminados con mezclas de hidrocarburos utilizando consorcios microbianos hidrocarbonoclásticos definidos. Tesina Lic. en Biotecnología. UNL. Dir: R. Manzo. 125 p.

Guzmán V. (2017). Biodegradación de hidrocarburos livianos empleando bacterias aisladas de suelos contaminados de la región. Tesina Lic. en Biotecnología. UNL. Dir: R. Manzo. 165 p.

Feng, Y., Tian, X., Chen, Y., Wang, Z., Xia, J., Qian, J., ... & Chu, J. (2021). Real-time and on-line monitoring of ethanol fermentation process by viable cell sensor and electronic nose. *Bioresources and Bioprocessing*, 8(1), 37.

Fernández, E. L., Merlo, E. M., Mayor, L. R., & Camacho, J. V. (2016). Kinetic modelling of a diesel-polluted clayey soil bioremediation process. *Science of the Total Environment*, 557, 276-284.