

FIGURA 4.9. Reactor de chorro.

Finalmente, los chorros se pueden combinar con dispositivos mecánicos de dispersión con el fin de aumentar la dispersión del gas. Este método se emplea en el diseño de las boquillas de flujo radial que se utilizan en algunas aplicaciones a gran escala destinadas al tratamiento de aguas residuales, como por ejemplo los reactores BIOHOCH® de Hoechst^{32,45}. En este diseño, un chorro vertical ascendente de líquido choca con un disco desde cuyo centro se dispersa el aire. Para mejorar la circulación del líquido, estas boquillas radiales se colocan dentro de los tubos de corriente en el interior del reactor.

Cuando se utilizan chorros, la localización del chorro y la configuración del depósito serán de gran importancia en el diseño global. Por ejemplo, la empresa BASF utiliza un gran número de chorros de dos fases (de 40 a 56) para dispersar el aire dentro de unos tanques de aireación de 125 m de largo, 20 m de ancho y 5 m de profundidad, con unas eficiencias de transferencia de oxígeno en torno a 1,5-1,6 kg O₂/kWh^{41,45}. También se usan otras configuraciones, en las cuales las boquillas se encuentran reunidas en grupos de cuatro sobre el fondo del tanque de

aireación y la descarga de cada boquilla se realiza en un ángulo de 45°. En los reactores de torre destinados al tratamiento de aguas residuales, el reactor generalmente es más profundo y puede presentar formas diferentes para promover la recirculación interna, por ejemplo, cilíndrica o cónica invertida. El volumen de estos reactores puede ser pequeño, por ejemplo: 700 m³, o puede llegar hasta los 15.000 m³, con diámetros y alturas que pueden alcanzar los 46 y 20 m respectivamente⁴⁵. Los dispersores pueden presentar boquillas en dos fases, de tipos diferentes (como en el reactor de torre Bayer), o boquillas de flujo radial con tuberías de corriente (como en los reactores BIOHOCH® de Hoechst). Estos reactores ofrecerán unos altos niveles de transferencia de oxígeno (3,8 kgO₂/kWh)⁴⁵.

En los biorreactores de chorro zambullidor se puede encontrar una aplicación adicional de los chorros de líquido. En este diseño, la boquilla del chorro se sitúa por encima del líquido y descarga el chorro de forma directa o formando ángulo sobre el líquido. La oxigenación del líquido en el reactor se produce en tres etapas que se asocian respectivamente con la transferencia de oxígeno desde el aire al chorro libre, desde el aire a la superficie del líquido, en el reactor, y desde las burbujas de aire atrapadas en el seno del líquido por el chorro. La tasa de oxigenación está en función de algunos parámetros, tales como: velocidad del chorro, tamaño y tipo de boquilla, ángulo de incidencia y posición de la boquilla; y en general se encuentra dentro del rango 0,92-3,90 kgO₂/kWh⁴⁷. Sin embargo, en algunas plantas de tratamiento de aguas residuales se ha llegado a alcanzar un rendimiento de 8 kgO₂/kWh⁴⁵.

Biorreactores de bucle

Los *biorreactores de bucle* son tan sólo reactores de flujo pistón con recirculación. Sin embargo, el término *reactor de bucle* se refiere por lo general a los reactores con una tasa de recirculación mucho mayor que la tasa de afluente. En estos reactores, el líquido se mueve fundamentalmente en un circuito movido por una bomba localizada en la línea de recirculación. En el tratamiento de aguas residuales, los canales de oxidación son un buen ejemplo de reactores de bucle (véase más adelante «Canales de oxidación»).

Otros tipos de reactores

Dentro de la industria existen muchos tipos de reactores actualmente en uso. Sin embargo, la gran mayoría se pueden incluir dentro de las categorías descritas anteriormente, o, al menos, como una combinación de alguno de los elementos descritos. En los textos especializados se puede encontrar más información sobre la clasificación de reactores. Por otra parte, los reactores industriales pueden presentar algunos rasgos diferentes (p. ej., difusores de burbujas para la dispersión del aire, sistemas de aire ascendente para la recirculación del líquido, impulsores para la homogeneización y suspensión de las partículas) con el fin de satisfacer los requisitos específicos impuestos al reactor.

Sistemas de reactores aerobios

Lagunas de estabilización aerobias

Las lagunas aerobias representan uno de los métodos más antiguos de purificación de aguas residuales. Habitualmente, se trata de embalses de agua, con un tamaño que puede variar entre unos cientos de metros cuadrados y varios kilómetros cuadrados, rodeados por barreras naturales o artificiales de contención a donde fluyen las aguas residuales, y en donde diversos microorganismos llevan a cabo sus actividades metabólicas.

Mientras que en la mayoría de los procesos biológicos de tratamiento son los organismos heterotróficos quienes realizan las actividades de descontaminación, en las lagunas aerobias son los organismos autotróficos, como por ejemplo las algas, quienes juegan un papel fundamental^{13,32}. La fotosíntesis de estos organismos produce el oxígeno que los microorganismos emplean para atacar y degradar los contaminantes. A cambio, la población microbiana responsable de la degradación del contaminante genera dióxido de carbono y otros productos residuales que pueden ser utilizados por las algas. Las algas necesitan luz. Por lo tanto, las lagunas aerobias normalmente son poco profundas (entre 0,15 y 1 m), lo que permite que la luz llegue hasta el fondo de la laguna, y que ésta se mantenga bajo condiciones aerobias. Además, la poca profundidad incrementa el área de interfase aire-agua por unidad de volumen en la laguna y, por consiguiente, crece la tasa de transferencia del oxígeno.

Otros organismos mayores, como los protozoos, también están presentes en dicho ecosistema.

Debido a la elevada relación área/volumen, las lagunas aerobias pueden sufrir importantes variaciones de temperatura, tanto estacionales como diarias, originadas por el aislamiento, los cambios de temperatura y la tasa de evaporación. Estas variaciones de temperatura tienen un efecto importante sobre la población microbiana y, finalmente, sobre el rendimiento de la laguna.

Las lagunas de estabilización se pueden operar como estanques de almacenamiento, donde no existe efluente de líquido, sólo vaporización, mineralización de los contaminantes en compuestos volátiles, como por ejemplo: dióxido de carbono y sedimentación del material no degradable. De forma alternativa, las lagunas de estabilización se pueden operar como estanques de flujo continuo con un tiempo de retención determinado¹⁴.

Las cargas orgánicas en las lagunas aerobias son menores que en otros tipos de lagunas (como por ejemplo, las lagunas facultativas o anaerobias), ya que la existencia de cargas mayores daría lugar a condiciones anaerobias, especialmente en el fondo de la laguna.

Las cargas típicas se encuentran en torno a 0,01 kg de DBOs/(m³ · día), con DBOs de hasta unos cientos de miligramos por litro. El tiempo de retención en las lagunas aerobias varía entre unos pocos días y unos 100 días aproximadamente, con unas tasas de eliminación de la DBO en exceso que se sitúan entre el 80 y el 90 por ciento¹⁴.

Lagunas aireadas y sistemas de lagunas

Las lagunas aireadas son similares a las lagunas aerobias descritas anteriormente, con la diferencia de que las lagunas aireadas vienen provistas de aireadores superficiales que promocionan la transferencia de oxígeno y mantienen las condiciones aerobias en toda la laguna. Históricamente, las lagunas aireadas tienen una profundidad de entre 2 y 5 m. Estos valores son significativamente mayores que los presentados por las lagunas no aireadas, ya que el sistema de agitación está diseñado para transferir suficiente oxígeno y proporcionar un poder de mezcla capaces de asegurar las condiciones aerobias incluso en el fondo de la laguna, además de lograr la suspensión completa de los sólidos manteniéndolos fuera del fondo de la laguna^{13,14}.

La energía mecánica requerida por el sistema de agitación para alcanzar estos objetivos es bastante importante (normalmente del orden de 3 a 4 kW/m³). Sin embargo, existen lagunas cuyos agitadores se diseñan específicamente para entregar una menor cantidad de energía. En consecuencia, estas lagunas no se encuentran bien mezcladas. Por ello, operan aerobiamente en casi toda su profundidad pero mantienen condiciones anaerobias en el fondo, donde se acumula la biomasa aerobia (fangos) que se descompondrá anaerobiamente. Estas lagunas se denominan *lagunas facultativas* y se tratarán más adelante en la sección sobre sistemas anaerobios-aerobios mezclados.

Desde un punto de vista microbiológico, las lagunas bien aireadas y completamente aerobias operan de forma similar al proceso de fangos activados que se describe a continuación, en el cual los organismos aerobios se alimentan del material orgánico y crean flóculos microbianos. Sin embargo, al contrario que en el proceso de fangos activados, muchas lagunas aerobias operan generalmente como un sistema de flujo continuo de paso único sin recirculación. Esto quiere decir que la densidad de la biomasa normalmente es baja (0,05 gramos de biomasa seca por litro)³², y que el efluente de la laguna contiene flóculos microbianos que han de ser separados antes del vertido de las aguas residuales tratadas. Por todas estas razones, las lagunas aerobias generalmente forman parte de un *sistema de lagunas*. En estos sistemas, a la laguna aerobia le sigue una laguna facultativa y/o una laguna de sedimentación donde los fangos aerobios son parcialmente descompuestos o sedimentados. Algunas lagunas aireadas se operan incluso con un flujo de recirculación, mediante el cual los fangos aerobios se recirculan parcialmente desde una instalación de sedimentación localizada después de la laguna⁹. Estos sistemas, por lo tanto, se operan de forma idéntica al proceso de fangos activados.

Como las lagunas aireadas, las lagunas aerobias pueden verse afectadas de forma importante por las variaciones diarias y estacionales de temperatura, que pueden tener efectos diversos sobre la población microbiana y su capacidad para separar contaminantes.

Reactores de fangos activados

El proceso de fangos activados es uno de los más antiguos en el tratamiento de aguas residuales, y el concepto básico se aplica actualmente de diversas formas.

Históricamente, la práctica de introducir aire a través de las aguas residuales para reducir su concentración de contaminantes ha sido utilizada desde antes de 1890. Mediante este proceso, se promueve el crecimiento de los organismos aerobios que se alimentan del contaminante, y se evita el crecimiento de organismos anaerobios y la generación de olores molestos. Sin embargo, hasta 1910 no se produjo una mejora importante en el sistema, es entonces cuando se introduce la recirculación de parte de la biomasa generada durante el proceso de aireación (el *fango activado*). Mediante este paso de recirculación se logró un incremento de la concentración de biomasa dentro del reactor, lo que aceleró la velocidad del proceso de degradación.

Todos los procesos de fangos activados siguen un esquema general. Primero, se introducen las aguas residuales en un biorreactor (el tanque de aireación) en el cual se dispersa aire y se promueve el crecimiento aerobio (Fig. 4.10). Bajo una serie de condiciones óptimas, los microorganismos presentes en el reactor generan un gel polisacárido que será el responsable de provocar la aglomeración de estos microorganismos en flóculos microbianos llamados fango activado. La formación de estos aglomerados da lugar a la separación de los sólidos suspendidos en las aguas residuales, y a la incorporación de éstos al flóculo. Posteriormente, los microorganismos proceden a atacar a todo este material y lo transforman fundamentalmente en biomasa y dióxido de carbono, con la consiguiente descontaminación de las aguas residuales.

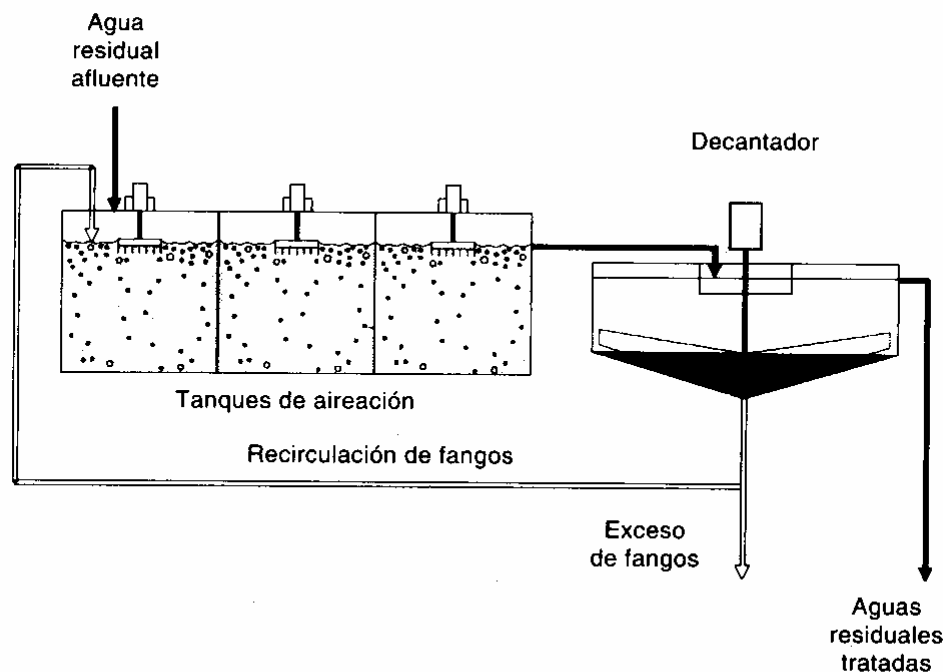


FIGURA 4.10. Proceso de fangos activos.

El efluente del reactor aireado, que contiene una cantidad importante de biomasa, va a un tanque de sedimentación o *decantador* (separador de fangos), un dispositivo capaz de separar el sobrenadante claro de la biomasa. El sobrenadante se lleva a un proceso de tratamiento final (si es necesario) o se vierte. La biomasa (fango) se recircula parcialmente al reactor de aireación. El exceso se evacua o trata por separado para reducir su volumen, el contenido en agua, y mejorar su estabilidad. Los fangos en exceso suponen un producto residual importante en el proceso de fangos activos, y se utilizan diversos sistemas alternativos para su tratamiento y evacuación final.

Cuando se dan condiciones no favorables, como cargas tóxicas, fluctuaciones de temperatura, o cambios del pH, los organismos filamentosos dominan a las poblaciones microbianas en el tanque de aireación. Entonces, el proceso se espesa y los flóculos microbianos tienden a quedarse suspendidos en lugar de sedimentarse. Como consecuencia de todo esto, el decantador no es capaz de separar y recircular la biomasa, y el proceso entero falla. El esponjamiento también se puede ver afectado por el diseño del reactor, tal y como se verá a continuación.

Los procesos de fangos activos no difieren en su principio básico operativo (que siempre es el mismo) sino en la configuración de los dos componentes principales del proceso, es decir, el tanque de aireación, y el decantador secundario. Actualmente existen muchos diseños de reactores, y los más importantes se examinarán en las secciones siguientes.

Reactores de fangos activos con mezcla completa. La configuración básica de este tipo de reactor es la de un depósito en el que se mezcla y airea completamente el contenido, por lo tanto, la composición del líquido en el interior será la misma en cualquier punto, como se muestra en la Figura 4.11a. Esto se puede lograr fácilmente en un tanque pequeño equipado con un sistema de agitación diseñado apropiadamente. Si el volumen del tanque es grande, se emplean múltiples agitadores o recirculadores internos, y chorros. Éstos normalmente son depósitos de hormigón en los que la aireación se proporciona mediante aireación de superficie o difusores. Los detalles sobre requisitos de aireación, energía y aireación ya han sido proporcionados anteriormente en la sección «Configuraciones básicas de los biorreactores».

Los sistemas de mezcla completa tienen la ventaja de que minimizan la reducción de nutrientes (incluyendo al oxígeno) en cualquier parte del tanque de aireación. Además, toleran bastante bien las sobrecargas puntuales, ya que cualquier variación en la composición del afluente se amortigua en la disolución que se genera cuando el afluente se mezcla con el contenido del reactor.

Si las aguas residuales tratadas contienen una alta concentración de hidrocarburos fácilmente degradables, la composición de la población microbiana estará dominada por los organismos filamentosos, y es probable que se produzca un esponjamiento. En estas circunstancias, no se recomienda el uso de un sistema de mezcla completa ya que éste tendería a mantener las condiciones de esponjamiento en el tanque de aireación. Sin embargo, los reactores aerobios de mezcla completa se emplean con frecuencia para tratar aguas residuales que contienen conta-

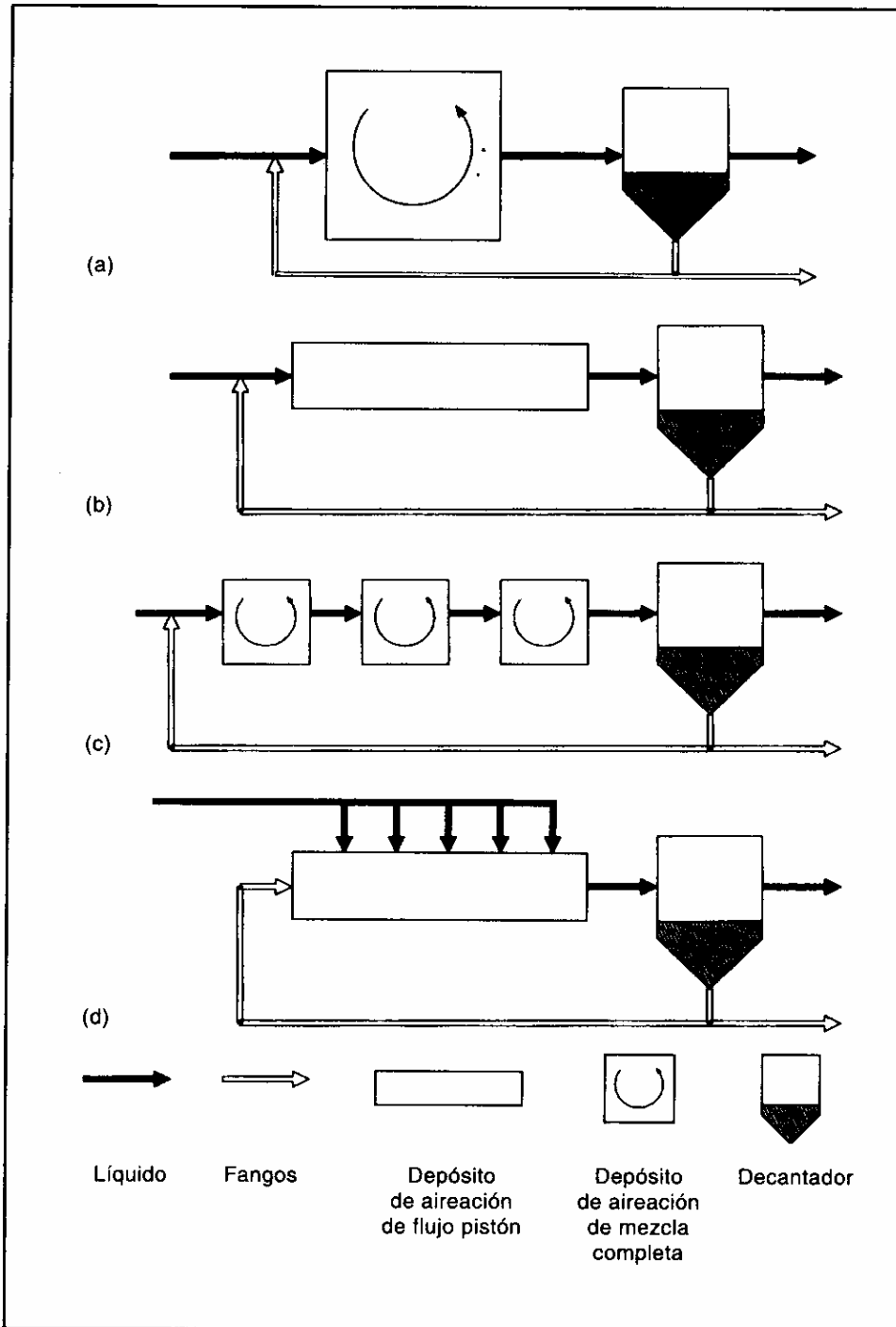


FIGURA 4.11. Tipos de procesos con fangos activados.

minantes complejos y difícilmente biodegradables, como los contenidos en los efluentes de las plantas químicas.

Desde el punto de vista del diseño de reactores, los sistemas continuos de mezcla completa son equivalentes a los CSTRs. Por lo tanto, se pueden diseñar calculando balances de masas en estado estacionario para la biomasa y el sustrato (es decir, la carga orgánica afluente), una vez impuestas las restricciones del sistema (como la velocidad de flujo del agua residual tratada y el porcentaje de eliminación de materia orgánica deseada) y establecidas las constantes cinéticas del proceso. El balance de masas para el sustrato se puede expresar como⁵:

$$\frac{1}{\Theta_s} = \mu_{\max} \frac{S_a}{S_a + K_s} - k_e$$

donde Θ_s es el tiempo medio de retención de los fangos activados en el sistema (*edad del fango*), y se define como la relación entre el volumen del fango y el caudal de purga del fango; μ_{\max} y K_s son constantes de la cinética de Monod para la población microbiana; k_e es la constante de la velocidad de respiración endógena; y S_a es la concentración del contaminante en el reactor y en el efluente. Según la definición establecida, Θ_s viene dado por:

$$\Theta_s = \frac{Vm_a}{(1 - \beta)Qm_e + \beta Qm_r}$$

donde V es el volumen del tanque de aireación; m_a , m_e , y m_r son las concentraciones de biomasa en el depósito y su efluente, en el efluente del decantador y en el flujo de recirculación, respectivamente; Q es la velocidad de flujo del afluente; y $(1 - \beta)Q$ y βQ son los caudales de la purga de fango y del fango recirculado desde el decantador, respectivamente. Además, a partir del balance de masas para el sustrato se obtiene la siguiente expresión:

$$Vm_a = \frac{(C_0 - C_a) Y Q \Theta_s}{1 + k_e \Theta_s}$$

donde C_0 es la concentración de contaminantes en el afluente e Y es el coeficiente entre la cantidad de biomasa producida por unidad de contaminante eliminado. Finalmente, el volumen del reactor de aireación se puede calcular mediante:

$$V = Q \Theta_s \left(1 + \alpha + \alpha \frac{m_r}{m_a} \right)$$

una vez establecida la relación de recirculación α (igual a la relación entre el caudal de recirculación y el caudal del afluente).

Algunos valores típicos para los parámetros cinéticos a 20 °C son: $Y = 0,5$; $\mu_{\max} = 2-6$ días⁻¹; $K_s = 30-300$ mg/l; $k_e = 0,05$ días⁻¹. La edad del fango normalmente es de 6-15 días⁵.

Reactores de flujo pistón con fangos activados. Los sistemas de flujo pistón normalmente se utilizan para tratar aguas residuales. En estos sistemas, el agua residual fluye por tanques de aireación alargados y estrechos, tal y como se muestra en la Figura 4.11b, con lo cual se minimiza cualquier efecto de mezcla. En la práctica, es difícil obtener un flujo pistón ideal en un sistema real. Es más, la presencia de burbujas de aire tiende a incrementar la turbulencia del sistema y a originar una dispersión axial.

El flujo pistón generalmente provoca el crecimiento de un fango de buena calidad con unas excelentes características de sedimentación. Esto es especialmente importante para los casos en los que la composición de las aguas residuales va a provocar el crecimiento de organismos filamentosos, como sucede cuando contiene altos niveles de materiales fácilmente degradables que dan lugar al esponjamiento. En estos casos, el uso de un flujo pistón normalmente logra una rápida caída de las concentraciones del contaminante en la primera parte del reactor, y disminuye la posibilidad de que la concentración en el resto del reactor propicie el crecimiento de organismos filamentosos. Por lo tanto, el fango que sale del reactor tendrá unas excelentes propiedades de sedimentación y se podrá separar eficazmente en el decantador.

Un inconveniente importante de los reactores flujo pistón es su sensibilidad respecto a una sobrecarga puntual, ya que cualquier incremento de la concentración del contaminante en las aguas residuales no se distribuye por igual en el reactor, sino que se confina en el lote de agua residual que lo contiene. Por esta razón, los reactores flujo pistón normalmente vienen precedidos de un reactor más pequeño que funciona como un CSTR; en este reactor se amortiguan parcialmente las fluctuaciones de concentración.

Reactores en serie con fangos activos. Para eliminar la sensibilidad a una sobrecarga puntual de los reactores flujo pistón con fangos activos y retener aún algunas de las características positivas de flujo, se pueden emplear diversos métodos. Uno de ellos consiste en dividir el reactor en una serie de reactores más pequeños de mezcla completa que se alimentarán en serie, tal y como se muestra en la Figura 4.11c. Otras combinaciones incluyen el uso de un sistema de distribución que envía el afluente a muchos puntos a lo largo de todo el reactor flujo pistón (Fig. 4.11d), o el uso de decantadores intermedios para la separación parcial y recirculación de los fangos producidos.

Canales de oxidación. Los canales de oxidación son esencialmente reactores de bucle en los que se realiza una depuración aerobia (Fig. 4.12). En general, se trata de largos (30-200 m) depósitos de hormigón introducidos en el suelo, con forma de pista de atletismo, en los que las aguas residuales se mueven circularmente. El punto de entrada para el afluente se encuentra justo antes de una de las rectas del depósito. Las aguas residuales se bombean horizontal y longitudinalmente mediante agitadores axiales horizontales sumergidos. La velocidad del agua es la suficiente (0,3-0,5 m/s) como para permitir que la mayoría de los sólidos se mantengan en suspensión y no se produzcan condiciones anaerobias en el fondo del estanque¹⁴.

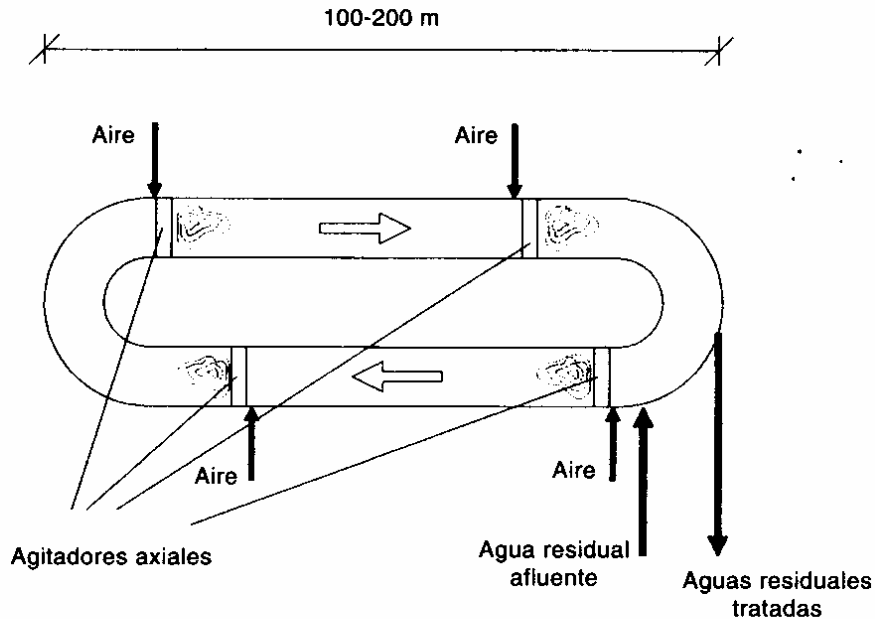


FIGURA 4.12. Estanque de oxidación.

Desde el punto de vista del reactor, los estanques de oxidación son reactores de flujo pistón con un importante caudal de recirculación.

El aire se dispersa en varios lugares a lo largo del circuito, de tal modo que se forman cortinas de burbujas cruzadas en el flujo de agua. Cuando las burbujas suben, se mueven transversalmente respecto al agua. Mediante un espaciamiento calculado de los puntos de inyección del aire se pueden crear zonas alternas, ricas y pobres en oxígeno, a lo largo del circuito. Allí donde el oxígeno sea abundante, podrá tener lugar la oxidación del amoníaco en nitratos (nitrificación) (además de la oxidación aerobia de la DBO). Por el contrario, donde exista menos oxígeno, se favorecerán las reacciones biológicas anóxicas, como por ejemplo la conversión de los nitratos formados durante la nitrificación en nitrógeno molecular (desnitrificación), con lo que se completa la separación de la carga de nitrógeno orgánico inicial. Esto constituye una característica atractiva de los estanques de oxidación. Como sucede en cualquier otro proceso de fangos activados, el efluente del estanque se separa de forma continua en un punto del circuito antes del punto de entrada y se envía a un decantador donde se separa parcialmente la biomasa y se recircula.

Estos sistemas tienden a ser relativamente insensibles a las sobrecargas puntuales, ya que estas cargas quedarían más o menos homogeneizadas a lo largo del circuito, debido a la alta relación que existe entre el flujo de agua del circuito y el flujo afluyente.

Otras configuraciones de reactores de flujo pistón. En las configuraciones tradicionales de estos reactores, la aireación se produce en todo el volumen del reactor. Además, las burbujas de aire generadas en estos reactores tienen un tiempo de retención relativamente corto debido a la escasa profundidad del reactor. En consecuencia, una parte importante de los gastos de operación de los reactores aerobios se destina al consumo de energía para la aireación y mezcla. Con el paso de los años han surgido varias alternativas para solucionar este problema. La más obvia consiste en incrementar la profundidad del reactor. Esto ofrece dos ventajas principales: aumenta el tiempo de retención de las burbujas de aire en el líquido, e incrementa la presión parcial del oxígeno por el aumento de la presión hidrostática en el punto de dispersión del aire (el fondo del reactor). Además, mediante el uso de chorros o de dispersores de gas introducidos en las tuberías de corriente es posible hacer recircular el líquido sin necesidad de ninguna agitación mecánica externa.

Todas estas mejoras han dado lugar al diseño de biorreactores de aire ascendente, como por ejemplo el *reactor de pozo profundo*; en este reactor se utiliza un pozo perforado en el suelo (de hasta 300 m de profundidad) como columna de burbujas^{32,45}. Debido a la presencia de un tubo de corriente, sólo se utiliza parte del reactor para airear las aguas residuales. Esto, a su vez, provoca el desarrollo de una fuerte circulación de líquidos sin la utilización de un impulsor.

Como se mencionó anteriormente, los reactores de pozo profundo han logrado unas excelentes tasas de transferencia de oxígeno con un consumo energético reducido. Otras alternativas, como el reactor BIOHOCH® descrito anteriormente, utilizan principios similares para lograr la circulación de líquidos, la dispersión de aire, y unas mejores tasas de transferencia de oxígeno³².

Reactores cerrados de fangos activos ricos en oxígeno. Otra forma de incrementar la presión parcial del oxígeno (y de ahí, su tasa de transferencia), sin construir reactores en grandes estructuras, consiste en aumentar la proporción de oxígeno en la mezcla de gas que se dispersa en el reactor. Las mezclas ricas en oxígeno normalmente se obtienen del aire (como materia prima) mediante la destilación criogénica o absorción con presión oscilante. En la mayor parte de los casos, es conveniente construir *in situ* la unidad de separación del aire.

La dispersión se puede lograr de diversas formas, pero fundamentalmente mediante agitación mecánica (sumergida o superficial). Para maximizar el tiempo de retención del gas oxígeno en el sistema, los reactores estarán cerrados. Además, los reactores se pueden organizar en serie con el fin de optimizar el consumo de oxígeno antes de emitir el gas a la atmósfera. La fase de gas (incluyendo al oxígeno) se debe purgar continuamente para separar el dióxido de carbono formado como consecuencia de la respiración aerobia. Los sistemas ricos en oxígeno han sido de gran utilidad en el tratamiento de las aguas residuales procedentes de las industrias petrolíferas y químicas. Además, este método se emplea en el tratamiento de aguas residuales que presentan problemas de olores (p. ej., las aguas procedentes de plantas de procesamiento de pescado) debido al bajo volumen de gas emitido.

Decantadores secundarios y espesadores. Aunque no son biorreactores, constituyen una parte esencial del proceso de fangos activados. Cualquiera de los procesos de fangos activos mencionados con anterioridad depende de la separación de biomasa de las aguas residuales tratadas para: (1) generar un efluente clarificado, y (2) recircular parte de la biomasa con el fin de hacer viable el proceso. Estos dos pasos fundamentales se consiguen mediante un decantador o espesador después del tanque de aireación. De hecho, cuando un proceso de fangos activos no cumple sus especificaciones de efluente, normalmente, se debe a que el decantador no rinde según lo esperado para su diseño.

La diferencia entre los términos *decantador* y *espesador* es bastante marginal, son casi idénticos, exceptuando que los decantadores generalmente presentan una construcción más ligera y se utilizan para un menor volumen de fangos³⁸. En la mayoría de las aplicaciones de tratamiento de aguas residuales se emplea un decantador.

La producción de un fango de buena calidad capaz de sedimentarse rápidamente es esencial para el buen rendimiento de un decantador. La sedimentación de fangos normalmente se produce como una sedimentación zonal, de tal forma que los flóculos de biomasa se adhieren y sedimentan como un manto¹⁴. Se puede observar una clara interfase entre la biomasa que sedimenta y el sobrenadante que se decanta. Durante el proceso de sedimentación es posible identificar tres zonas: una zona superior con un líquido claro, una zona en el fondo con la biomasa sedimentada que se comprime con el paso del tiempo, y una zona intermedia donde la biomasa disminuye su velocidad de sedimentación según se acerca a la capa sedimentada del fondo. El proceso de sedimentación inicialmente tiene lugar a una velocidad constante, antes de sufrir una desaceleración cuando la biomasa sedimentada comienza a compactarse. El proceso final de compresión-sedimentación se produce a una velocidad mucho más lenta. En el decantador se puede esperar el mismo proceso de sedimentación que se observa en los ensayos en probeta.

Se han desarrollado unos ensayos normalizados para estimar la calidad del fango sedimentado. Después de 30 min de sedimentación, un buen fango debería tener un volumen unas 40 veces mayor que los sólidos totales en suspensión. Si el volumen de los fangos fuese mayor, entonces probablemente se produciría un esponjamiento de fangos (*bulking*) en el decantador⁵.

Los decantadores se pueden clasificar según su forma, rectangular o circular, y según la posición del punto de entrada y de los puntos de salida de los fangos y del efluente decantado. Los decantadores rectangulares son dispositivos alargados, de sección rectangular (de 2 a 30 m de ancho) con una longitud que es entre 3 y 5 veces su anchura³⁸, alimentados en uno de sus extremos. El líquido se mueve de forma continua a través del decantador en un sistema flujo pistón a velocidad lenta, y durante el proceso los flóculos de biomasa se sedimentan en el fondo. El líquido decantado se separa en el otro extremo del decantador haciéndolo pasar sobre un vertedero. Los fangos se mueven mediante una serie de rascadores/rasquetas acoplados a una cadena continua, estos dispositivos rastrillan el fondo del decantador y empujan los fangos en sentido contrario al líquido. Los fangos se

recogen en el fondo del decantador, en un sumidero localizado debajo del punto donde el líquido afluente entra al decantador¹².

Los decantadores circulares son grandes dispositivos de forma circular (de 3 a 150 m de diámetro), con un fondo inclinado hacia el centro, tal y como se muestra en la Figura 4.13. Funcionan bajo los mismos principios que los decantadores rectangulares. La entrada se localiza habitualmente en el centro. El agua clarificada se mueve radialmente y se recoge en el borde, donde fluye por encima de un vertedero circular situado alrededor del decantador. Se emplea un mecanismo de raquetas para limpiar el fondo y empujar los fangos sedimentados hacia un sumidero central donde serán recogidos^{14,38}.

Reactores secuenciales discontinuos

Un *reactor secuencial discontinuo* (SBR) es un reactor en el que tiene lugar un proceso de fangos activados, dentro de un marco temporal secuencial, utilizando un único reactor para todos los pasos del proceso. Los mismos pasos que se encuentran implicados en un proceso convencional continuo de fangos activados (aireación, oxidación del contaminante, sedimentación de fangos, y recirculación) tienen lugar ahora uno tras otro de forma discontinua.

En un proceso SBR, cada ciclo comienza con el reactor casi vacío, sólo contendrá una capa de fangos aclimatados en el fondo (Fig. 4.14). Después, el reactor se llena con las aguas residuales y se inicia la aireación y agitación. El proceso de degradación biológica comienza durante el paso de llenado y continúa, una vez lleno el reactor, hasta lograr un nivel satisfactorio de depuración del contaminante. Entonces, la aireación y agitación se paran, y el fango comienza a sedimentarse. Según el tiempo de sedimentación, se podrían dar reacciones anaerobias que reducirían el contenido orgánico del fango. Una vez que los fangos se han sedimentado, se vierte la capa superior clarificada de las aguas residuales tratadas, y

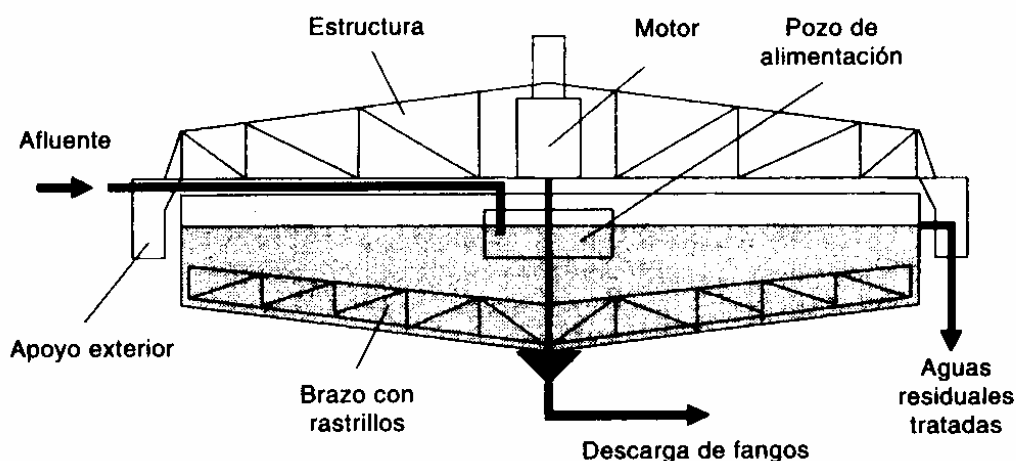


FIGURA 4.13. Decantador.

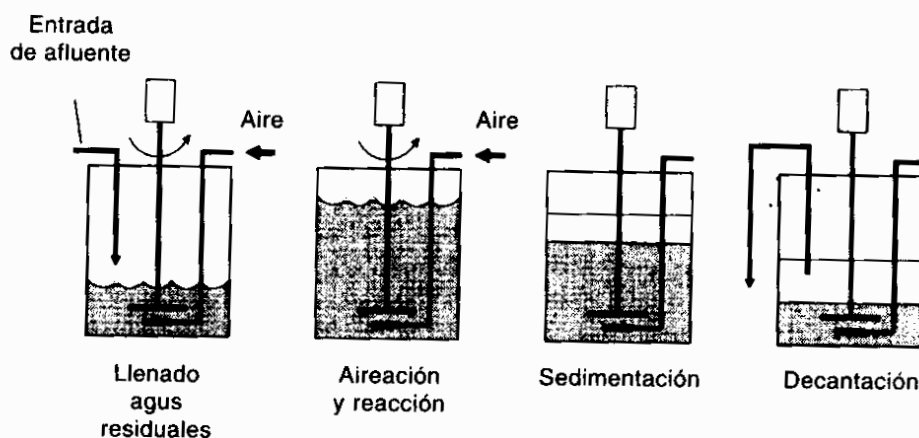


FIGURA 4.14. Operación de un SBR.

se puede iniciar un nuevo ciclo. La digestión anaerobia de los fangos también se puede incluir como uno de los pasos del ciclo¹⁸.

Desde el punto de vista del tipo de reactor, un SBR es un reactor convencional de aireación, equipado con sistemas de aireación, agitación y decantación, que puede asimilar los cambios que se produzcan en el nivel del líquido en cada ciclo del proceso⁴⁹. Esto puede realizarse utilizando un equipo de mezcla y aireación, y un dispositivo decantador flotante conectado a una bomba para vaciar el reactor²³.

La ventaja de los SBRs es que pueden asimilar unas grandes variaciones de caudal y composición del afluente sin fallar. No se puede decir lo mismo de los procesos de fangos activos convencionales, en los que un incremento en el afluente provoca un menor tiempo de retención de las aguas residuales en el tanque de aireación y de los fangos en el decantador, con el posible fallo de uno de los dos procesos o de ambos. Además, los compuestos tóxicos o los cambios importantes en la carga orgánica pueden provocar alteraciones en la dinámica de las poblaciones microbianas dentro de los procesos convencionales con fangos activos, con el consiguiente esponjamiento o fallo del proceso. Sin embargo, el tiempo de retención de las aguas residuales en un SBR se puede prolongar hasta que la población microbiana se haya recuperado y haya completado el proceso de depuración. De forma similar, se puede modificar el tiempo de sedimentación para permitir una sedimentación completa antes del vertido. En otras palabras, los procesos SBR, como todos los procesos discontinuos, son más flexibles⁵⁰. Por otra parte, el uso de SBRs para tratar un flujo continuo de aguas residuales requiere el uso simultáneo de múltiples reactores y/o la presencia de instalaciones para el almacenamiento de las aguas residuales hasta que uno de los SBRs esté disponible. También se han utilizado SBRs en aplicaciones de desnitrificación⁶.

Lechos bacterianos (o filtros percolados)

Los lechos bacterianos se han empleado para el tratamiento de aguas residuales desde su desarrollo por Corbett en la Inglaterra de 1890^{32,43}. Se pueden clasificar como reactores de lecho con relleno; en estos reactores, las aguas residuales escurren a través del relleno y son depuradas mediante la biomasa que crece sobre el propio relleno. En la Figura 4.15 se muestra un lecho bacteriano, éste generalmente está formado por un cilindro grande y abierto, de 1 a 12 m de altura, relleno con un material grueso y suelto, de 40 a 80 mm de tamaño, como por ejemplo: roca de lava, escoria, ladrillos, o plástico (índice de huecos, 50 por ciento; superficie específica, 90-100 metros cuadrados por metro cúbico de relleno)³². El reactor viene equipado con un sistema de distribución de agua; éste consiste en una serie de brazos giratorios colocados sobre el relleno que distribuyen igualmente las aguas residuales sobre la superficie de la capa superior del relleno. Las cargas hidráulicas típicas se encuentran en el rango $1-4 \text{ m}^3/(\text{día} \cdot \text{m}^2)$ para los reactores más pequeños, y $10-50 \text{ m}^3/(\text{día} \cdot \text{m}^2)$ para los más grandes. Las cargas orgánicas se sitúan entre $0,1$ y $5 \text{ kg DBO}/(\text{m}^3 \cdot \text{día})$.⁴⁴

Durante la operación del reactor se forma una biopelícula sobre la superficie de todo el relleno. Cuando las aguas residuales atraviesan el reactor, se van depurando progresivamente mediante la acción de la biomasa. La biomasa que vive directa o indirectamente de los nutrientes orgánicos contenidos en las aguas residuales constituye un ecosistema formado por bacterias, hongos, protozoos e, incluso, gusanos y larvas de insectos, además de poder contener algas en el caso de zonas suficientemente iluminadas^{19,32}. Las bacterias y los hongos son los respon-

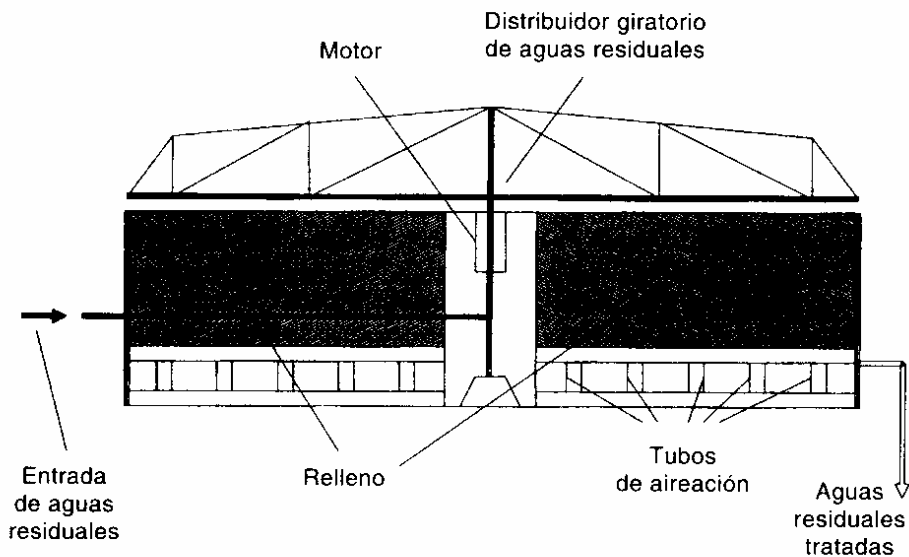


FIGURA 4.15. Lecho bacteriano.

sables principales de la eliminación de la carga orgánica en las aguas residuales. Estos organismos forman una biopelícula de unos 0,25 mm de espesor sobre el relleno; esta biopelícula es aerobia desde la interfase aire/película hasta la profundidad a la que penetra el oxígeno (unos 0,1-0,2 mm)⁵⁰, y anaerobia por debajo de este punto hasta la superficie del relleno. Los organismos superiores, como por ejemplo las larvas de insectos, viven en la biopelícula a partir de los organismos inferiores, y juegan un papel importante en el crecimiento y control de la biopelícula.

Para evitar posibles atascamientos, el reactor se debe operar en un punto de equilibrio, es decir, la velocidad de crecimiento de la biomasa tiene que ser igual a la velocidad a la que se aclara la biomasa. En los lechos bacterianos con poca carga, la velocidad del flujo al lecho es baja y, en consecuencia, también lo es la velocidad de eliminación mecánica de la biomasa. Por lo tanto, la DBO en el afluente de estos reactores es muy baja. Por otra parte, en los reactores con grandes cargas, las aguas residuales se mezclan con el flujo de recirculación desde la salida del reactor. El flujo resultante es tan grande que se elimina de forma mecánica una cantidad importante de la biomasa del reactor. Por lo tanto, estos reactores pueden llevar sin atascarse aguas residuales que contienen altas concentraciones de DBO.

El nivel inferior del reactor viene provisto de aperturas a través de las cuales se puede hacer pasar el aire necesario para dar oxígeno a los microorganismos. El aire se mueve a través del reactor mediante convección natural (ascendente en invierno, descendente en verano) debido a la diferencia de temperatura entre el relleno y el aire exterior.

Como en el proceso de fangos activos, existe un tanque de sedimentación secundario para separar las aguas residuales tratadas y la biopelícula separada del reactor. Los lechos bacterianos tienden a ser mejores que los procesos convencionales de fangos activos en términos de costes operativos, clarificación del efluente y sensibilidad a las sobrecargas puntuales. Sin embargo, requieren una inversión inicial mayor, son más sensibles a los cambios externos de temperatura, y pueden presentar problemas importantes de insectos y olores.

Biodiscos [contactores biológicos rotatorios (RBCs)]

Los *biodiscos* (RBCs) son otro tipo de reactores que, como los lechos bacterianos, utilizan una biopelícula expuesta a las aguas residuales para depurar los contaminantes. En este caso, la biopelícula se forma sobre la superficie de unos grandes discos de plástico (de 1,7 a 3,7 m de diámetro) que giran lentamente a unas 2-5 rpm, estos discos están montados sobre un eje horizontal situado justo por encima del líquido tratado (Fig. 4.5). Por lo tanto, aproximadamente el 40 por ciento de la superficie del disco siempre se encuentra sumergido en las aguas residuales. Debido a la rotación, diferentes sectores de los discos se exponen de forma alterna al líquido y al aire, de esta forma se consigue la oxigenación de la biopelícula sin necesidad de una compresión o dispersión del aire. La biopelícula formada sobre los discos tiene un espesor aproximado de 0,3 a 4 mm, y está en contacto con las aguas residuales no sólo cuando se encuentra sumergida en ellas, sino también cuando está en el aire, ya que siempre lleva consigo una fina película de líquido^{44,50}.

En las plantas de tratamiento continuo, las aguas residuales se mueven a través de tanques longitudinales en sentido paralelo al eje giratorio y perpendicular a los discos. Habitualmente, se utilizan en serie varias de estas unidades. Se colocan sobre el eje tantos discos como sea posible con el fin de maximizar el área superficial por unidad de longitud de eje y, por lo tanto, por unidad de volumen de aguas residuales (típica relación área/volumen: $100 \text{ m}^2\text{-l m}^3$)⁴⁴.

Para determinar el grado de depuración conseguida por los RBCs se ha logrado desarrollar la siguiente fórmula¹⁵:

$$\frac{C_{ef}}{C_{af}} = 14,2 \left[\frac{(Q/A)^{0,558}}{\exp(0,320N_s)C_{af}^{0,684}T^{0,248}} \right]$$

donde C_{ef} y C_{af} son las concentraciones de los contaminantes (en g DBO/m³), Q es el caudal en g/día, A es el área del disco en pies², N_s es el número de etapas, y T es la temperatura en °C.

La biopelícula se desprende periódicamente debido a su crecimiento, éste reduce la cantidad de nutrientes que llegan a los microorganismos acoplados al disco y les hace entrar en una fase de respiración endógena. Lo que provoca que la biopelícula sea incapaz de seguir adherida a la superficie del disco. Normalmente, después de un RBC hay un decantador para separar las aguas residuales tratadas del exceso de biomasa desprendido.

En general, los RBCs se asocian a un bajo consumo de energía y a una buena tolerancia a las cargas súbitas³⁶. Sin embargo, son bastante sensibles a los cambios de temperatura.

Digestores aerobios

Los fangos procedentes del tratamiento primario, o los fangos generados durante cualquiera de los tratamientos secundarios aerobios, se pueden procesar de varias formas con el fin de reducir su contenido en materia orgánica antes de su vertido final. Uno de los métodos utilizados es la *digestión aerobia*, en este caso, el protoplasma celular de la biomasa se oxida mediante un proceso de respiración endógena. Esto tiene lugar cuando la biomasa ha consumido su suministro externo de materia oxidable y comienza a usar su propio material celular como fuente de nutrientes. De esta forma, se puede oxidar entre el 70-80 por ciento de la masa celular para formar dióxido de carbono, amoníaco, sales y agua, el resto será material inerte y estable que no se podrá descomponer fácilmente.

Los digestores aerobios normalmente son reactores discontinuos, cargados con fangos aerobios, que se airean durante un período de tiempo hasta conseguir la eliminación orgánica deseada. El proceso se opera en un reactor cerrado utilizando aire o una mezcla de gas rica en oxígeno. El tiempo de procesamiento es bastante largo, generalmente superior a los 30 días. También se pueden usar bacterias termofílicas que operan a temperaturas entre los 25 y 50 °C. El incremento de temperatura tiene un efecto positivo sobre la cinética del proceso, que se puede

completar en un tiempo mucho más corto (3-4 días)⁹. Alternativamente, el digestor puede operar de forma continua. En este caso, se añade un decantador al tanque de aireación, de igual forma que en el proceso de fangos activos.

El proceso de digestión se puede modelar mediante una cinética de primer orden. Para la digestión discontinua el proceso se puede expresar de la forma siguiente:

$$\frac{X_{\text{final}}}{X_{\text{princ.}}} = e^{-kt}$$

donde $X_{\text{princ.}}$ y X_{final} son, respectivamente, las concentraciones de la fracción biodegradable de sólidos en suspensión al principio y al final del proceso; k es la constante cinética del proceso de digestión; y t es el tiempo de degradación. El proceso continuo en un sistema de mezcla completa se puede expresar mediante:

$$\frac{X_{\text{af}}}{X_{\text{ef}}} = \frac{1}{1 + kt_{\text{res}}}$$

donde X_{af} y X_{ef} son las concentraciones de la fracción biodegradable de sólidos en suspensión de los flujos afluentes y efluentes, respectivamente; y t_{res} es el tiempo de retención del material en el reactor.

El oxígeno consumido durante el proceso se puede estimar como 1,4 kg de oxígeno por kg de biomasa depurada. Como el proceso requiere un largo tiempo de retención, normalmente se pueden utilizar agitadores de baja potencia (0,01-0,02 kW/m³) y una aireación superficial.

Otros reactores aerobios

Además de las configuraciones descritas anteriormente, se pueden usar todos los tipos de reactores citados en la sección anterior. Algunos procesos especializados pueden requerir una adaptación del reactor. Éste puede ser el caso cuando se utilizan organismos especializados para el tratamiento de residuos peligrosos. Por ejemplo, para tratar un flujo fuertemente contaminado con cloruro de metileno, usando un cultivo puro de *Hyphomicrobium*, se empleó con éxito un reactor de lecho fluidizado con aireación separada⁴⁰. El uso de una aireación externa vino dictado por la necesidad de minimizar el arrastre por aire del compuesto volátil tóxico. Probablemente, en el futuro, aparecerán otras aplicaciones similares cuando sea más común la biorrecuperación de los flujos contaminados con materiales tóxicos o peligrosos.

Sistemas de reactores anaerobios

Lagunas anaerobias

Las lagunas anaerobias son similares a las lagunas descritas anteriormente, tan sólo cambia el hecho de que ahora se establecen unas condiciones anaerobias. Estas

condiciones se pueden conseguir si la carga orgánica del afluente es alta, si no se agita la laguna, y si es lo suficientemente profunda como para posibilitar que se establezcan condiciones anaerobias en toda su profundidad (excepto en la zona cercana a la superficie).

Estas lagunas pueden llegar a ser bastante grandes, de decenas de metros cuadrados o de varios kilómetros cuadrados. La profundidad típica está en torno a 1-5 m. Las cargas en las lagunas anaerobias pueden alcanzar los 2,95 kg DBO/(m³ · día), con una DBO inicial de unos 3.000 mg/l. Los tiempos de retención también varían de forma significativa, desde 3-4 días hasta 245 días¹⁴.

En algunos casos puede ser necesario añadir nutrientes, como por ejemplo: nitrógeno y fósforo, a las aguas residuales con el fin de mantener correctamente el equilibrio nutricional de los microorganismos anaerobios. El control del olor puede ser problemático, pero se puede minimizar añadiendo nitrato de sodio¹⁴.

Las lagunas anaerobias se pueden utilizar también como lagunas de sedimentación; en este caso, el material se separa mediante su sedimentación en el fondo de la laguna y su posterior digestión anaerobia antes de que las aguas residuales pasen a una laguna aerobia.

Biorreactores anaerobios para el tratamiento de aguas residuales

Desde finales del siglo pasado se han utilizado los organismos anaerobios para tratar las aguas residuales que contienen grandes cantidades de sólidos en suspensión⁴⁸. Como presentan muchas ventajas frente a los procesos aerobios, por ejemplo, una baja producción de fangos, un bajo consumo energético y la generación de metano como producto secundario utilizable, los procesos anaerobios se emplean ahora para tratar diversos tipos de aguas residuales altamente contaminadas. Sin embargo, el uso de sistemas anaerobios no se ha extendido tanto como cabría esperar, probablemente debido a los problemas que comúnmente se asocian con su operación, por ejemplo, la sensibilidad a los contaminantes tóxicos. De hecho, la operación secuencial de las asociaciones de microorganismos anaerobios les hace (y especialmente a los metanógenos, que son los organismos últimos de la cadena anaerobia) más vulnerables a fallos en el proceso. De cualquier forma, la escasa fama que todavía tienen algunos procesos anaerobios también se puede deber al hecho de que los operadores y diseñadores no hayan sabido aprovechar adecuadamente los conocimientos acumulados durante los últimos veinte años sobre microbiología de las asociaciones anaerobias. Es probable que según se vayan incorporando estos conocimientos al diseño y operación de las nuevas plantas (ya se ha iniciado durante los últimos años), los procesos de tratamiento anaerobio se conviertan en una alternativa más popular para el tratamiento de aguas residuales.

Como sus parientes aerobios, los reactores anaerobios para el tratamiento de aguas residuales se pueden clasificar según la forma en que retienen la biomasa dentro del reactor. A continuación se examinarán con más detalle los diferentes tipos de reactores.

Reactores de procesos anaerobios de contacto. El *proceso de contacto* es el equivalente anaerobio del proceso aerobio de fangos activos. La configuración básica del reactor consiste en un tanque cerrado, normalmente dotado de agitación, en el que la biomasa se suspende en flóculos y la alimentación de las aguas residuales se realiza de forma continua. El tiempo de retención de las aguas residuales es mucho menor que el tiempo medio de retención de la biomasa, ya que después del reactor existe un tanque de sedimentación en el que se separa la biomasa del sobrenadante y se recicla parcialmente al reactor. En la Figura 4.16 se muestra un esquema de este proceso.

La cinética de la digestión anaerobia es bastante sensible a los cambios de temperatura. Por lo tanto, se puede equipar al reactor con un dispositivo que proporcione la energía necesaria para mantener la temperatura más alta que en el ambiente. Esto puede tener un impacto importante sobre la operación del reactor. Si el reactor no se calienta, el tiempo de retención hidráulica del sistema puede estar en torno a los 30-60 días. Bajo condiciones mesofílicas (32-37 °C), el tiempo de retención se puede reducir a 10-15 días, y a temperaturas incluso más altas (60 °C, condiciones termofílicas) es posible descender hasta 4 días³⁹.

Para llevar a cabo el proceso, el pH en el reactor se debe mantener dentro de unos límites aceptables, es decir, entre 6,7 y 7,8. Si es necesario, el pH se puede controlar añadiendo cal al afluente.

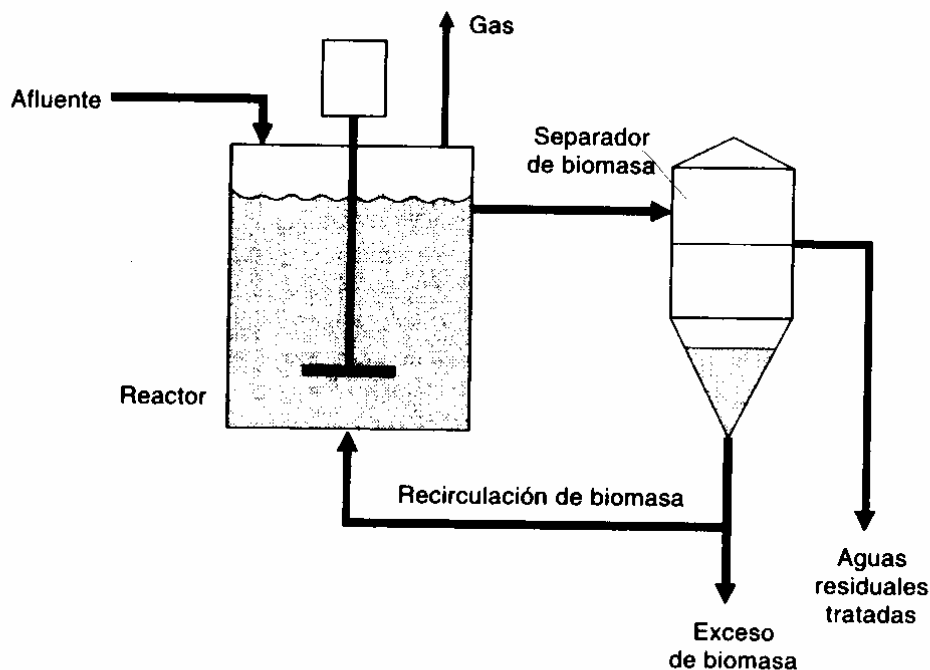


FIGURA 4.16. Proceso anaerobio de contacto.

Un reactor típico tendrá forma cilíndrica, con un fondo cónico o curvado, y dispondrá de un sistema de agitación capaz de homogeneizar la mezcla y suspender la biomasa. El gas producido durante el proceso (fundamentalmente, metano y dióxido de carbono) se separa en la parte superior del reactor. El diseño del tanque de sedimentación o del dispositivo para separar la biomasa puede ser mucho más complejo. Los flóculos anaerobios tienden a tener una baja densidad y a contener burbujas de gas producidas por el metabolismo anaerobio. Por lo tanto, sedimentan lentamente. Además de los tanques de sedimentación tradicionales con fondos cónicos, es posible emplear otros dispositivos, como por ejemplo los decantadores laminares; en este caso, el licor mezcla del reactor pasa a través de unos canales inclinados que promueven la floculación de los sólidos en suspensión contra las láminas que forman los canales y su sedimentación posterior en el fondo del reactor. También se han ensayado otros métodos para promocionar la separación de los sólidos, como: la desgasificación al vacío o el centrifugado²⁸. Mediante este tipo de reactor se puede lograr un alto contenido en biomasa (5 g/l) y una importante eliminación de DBO (80 por ciento con un DBO inicial de 5.600 mg/l), con una capacidad de reactor en torno a 3-5 kg DQO/(m³ · día)²⁸.

Reactores de filtro anaerobio. En la Figura 4.17 se muestra el esquema de un *reactor de filtro anaerobio*. A pesar de su denominación, se puede clasificar como un reactor de lecho con relleno. Este reactor presenta alguna similitud respecto al lecho bacteriano aerobio, en ambos casos la biomasa se acopla a un soporte sólido para prevenir su desprendimiento⁵². Sin embargo, el filtro anaerobio se rellena completamente con el líquido que fluye de forma ascendente o descendente (a excepción del gas que se forma durante el proceso). Se pueden utilizar diferentes tipos de material de relleno, como anillos Rashig, grava, y relleno plástico de diversas formas y tamaños¹⁷. El relleno normalmente es bastante grueso (2-6 cm), ya que los filtros anaerobios tienden a atascarse. Esto se produce cuando los organismos anaerobios forman grandes flóculos en vez de una película fina acoplada a la superficie del relleno, y, por lo tanto, llenan la interfase y originan un efecto de canalización y de desprendimiento de la biomasa³². Debido a su baja difusión radial, los lechos con relleno normalmente operan en flujo pistón. Como se señaló con anterioridad, esto provoca que los sistemas sean más vulnerables a los choques tóxicos y a los cambios en la composición del afluente.

No obstante, los filtros anaerobios presentan diversas ventajas: una alta eficacia con bajas cargas orgánicas, una gran capacidad de carga, estabilidad global en presencia de sustancias tóxicas y bajas necesidades energéticas. Se han logrado reducciones de DQO de 4 a 10 kg(m³ · día) con tiempos de retención del orden de 4 a 18 h⁴⁵.

Reactores de proceso UASB. El acrónimo UASB significa *Upflow anaerobic sludge blanket* (reactor de lecho de fangos anaerobios de flujo ascendente). El proceso, que opera utilizando un reactor de columna sin material de relleno, se puede

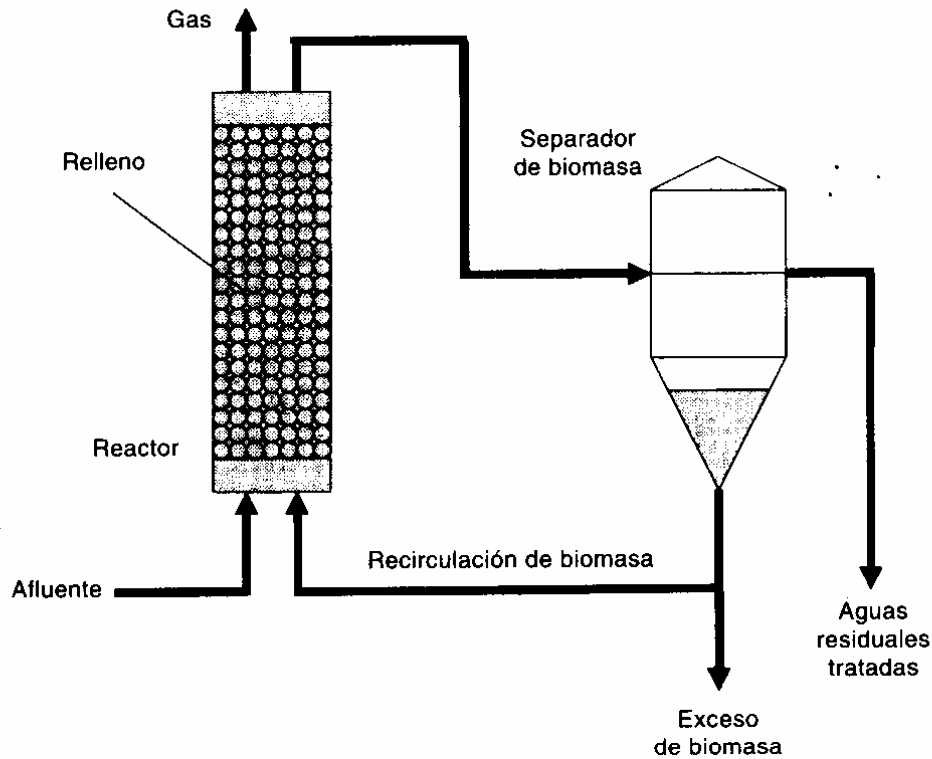


FIGURA 4.17. Filtro anaerobio.

describir como un sistema con recirculación interna de biomasa basado en la sedimentación por gravedad.

Como se muestra en la Figura 4.18, el afluente inyectado en el fondo de la columna se encuentra primero con una capa gruesa (1,5-2,5 m) de gránulos de biomasa producidos por los organismos anaerobios bajo determinadas condiciones. Estos gránulos, que forman un lecho con un alto contenido en biomasa (de 60-70 g/l hasta 100-150 g/l)¹⁴, son los principales responsables de la eliminación de los contaminantes. Los gránulos poseen una densidad lo suficientemente alta como para quedar retenidos en la parte baja de la columna sin ser arrastrados por las aguas residuales que suben en el reactor. Por encima de esta capa de biomasa existe una región de 2 a 4 m que contiene organismos individuales, flóculos y gránulos pequeños, con una concentración de biomasa de unos 15-25 g/l. Esta biomasa se mantiene en suspensión y es arrastrada en sentido ascendente por el flujo del líquido y las burbujas de gas que se forman durante el proceso anaerobio. Toda esta región posee recolectores de gas en forma de campana que sólo dejan pasar el líquido a la parte superior del reactor. Por encima de los recolectores de gas existe una zona en calma de unos 2 m que permite que gran parte de

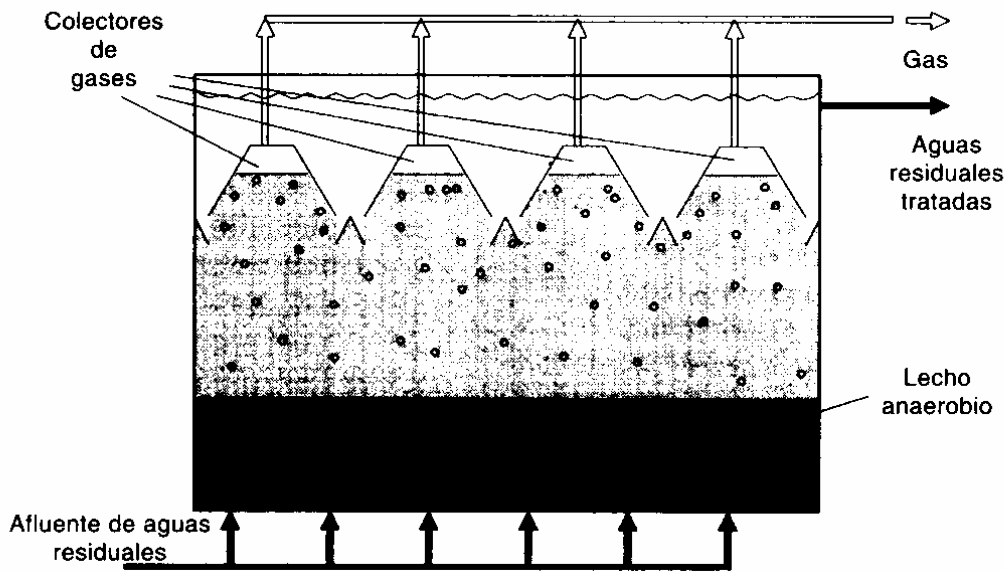


FIGURA 4.18. Reactor UASB.

los sólidos vuelvan a las regiones inferiores donde podrán seguir con su actividad metabólica.

Este tipo de reactor se ha utilizado en aplicaciones industriales con un rendimiento de eliminación de unos $4-10 \text{ kg DQO}/(\text{m}^3 \cdot \text{día})$. Sin embargo, se han registrado tasas incluso mayores [$96 \text{ kg DQO}/\text{m}^3 \cdot \text{día}$]. Los tiempos de retención están en torno a 3-8 h.

Reactores anaerobios de lecho fluidizado. En los reactores anaerobios de lecho fluidizado, la retención de la biomasa dentro del reactor se consigue mediante la inmovilización de los microorganismos sobre pequeñas partículas de soporte que se suspenden empleando un líquido en ascenso, pero que son lo suficientemente densas como para evitar su separación con el efluente. Para este propósito se pueden usar determinados sólidos, como por ejemplo, partículas de carbono o arena.

Sólo recientemente se han empleado los reactores de lecho fluidizado para el tratamiento anaerobio a gran escala de aguas residuales²⁵. En una aplicación específica se ha usado este tipo de reactor para degradar el efluente que procedía de una planta de levadura de cerveza. En este caso, los reactores tenían un diámetro de 4,6 m, una altura de 21 m (incluyendo los 13 m del lecho con relleno), y un volumen de lecho fluidizado de 215 m^3 . Estos reactores operaron con una concentración de biomasa (40 g/l), una velocidad de líquido superficial ($10-30 \text{ m/h}$) y una eficacia de eliminación de DQO [$20-27 \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{día})$] muy altas²⁰. Otras fuentes también han informado sobre rendimientos óptimos de este tipo¹⁴.

Otros reactores anaerobios. En principio, se pueden utilizar varias configuraciones de reactor para diseñar los reactores anaerobios. La diferencia principal entre unas y otras residirá en la forma en la que se retiene la biomasa dentro del reactor, en cómo se separa del flujo clarificado y en cómo se recircula, y/o se inmoviliza sobre un material de soporte sólido. Se pueden encontrar ejemplos de diferentes tipos de reactores en la literatura relativa al tema ^{7,27,45}.

Digestión anaerobia de fangos

Todos los procesos aerobios de tratamiento de aguas residuales descritos anteriormente generan una cantidad importante de fangos en exceso que es preciso evacuar. Una práctica común consiste en usar la digestión anaerobia de fangos para reducir su volumen y contenido en materia orgánica. Como los organismos anaerobios, y especialmente los metanógenos, utilizan menos eficazmente la materia orgánica contenida en los fangos, los fangos digeridos anaerobiamente contienen una menor cantidad de material celular. Esto da lugar a un fango digerido que normalmente es muy estable, no putrescible, con un contenido muy bajo en patógenos, y que puede ser vertido en el suelo o incluso empleado como fertilizante. Además, la digestión anaerobia se aplica también a los fangos producidos durante el tratamiento primario. Este fango generalmente es menos homogéneo y más difícil de degradar que los fangos activos.

La digestión de fangos anaerobios se puede realizar de forma continua o discontinua. En su forma más simplificada y antigua, el digester de fangos consiste tan sólo en un depósito cerrado (a veces incluso un foso) al que se transfieren los fangos, éstos se dejan digiriéndose durante un largo período de tiempo. El proceso se puede operar de forma continua en reactores de varios tamaños (entre 500 y 10.000 m³)³². Si el depósito no tiene un sistema de calentamiento ni de mezcla, el proceso puede emplear entre 30 y 60 días⁹. Los reactores tecnológicamente más avanzados incluyen provisiones para el precalentamiento del afluente, la mezcla, dispersión e inoculación de fangos, el control de la temperatura, control del pH, y recolección y separación del gas procedente de los fangos. La dispersión de los fangos se puede lograr de varias formas, por ejemplo: mediante la agitación mecánica de la mezcla utilizando agitadores (con o sin un tubo de corriente); mediante la recirculación del gas desde la parte superior hasta el fondo del reactor, y su posterior dispersión empleando boquillas o tubos de corriente para homogeneizar el fango; o mediante el uso de un sistema de recirculación externa que consiga bombear el líquido desde la parte superior del reactor hasta el fondo, lugar donde se expulsa empleando una boquilla de chorro. Algunas de estas configuraciones de reactor se examinaron anteriormente bajo el epígrafe «Configuraciones básicas de los reactores».

Una buena mezcla y un buen control de la temperatura pueden acelerar el proceso de forma significativa. Mediante una operación dentro del rango mesofílico (32-37 °C) el tiempo de retención puede descender a 15 días, con concentraciones de biomasa en torno a 1-4 g/l. Además, como el metano generado durante el pro-

ceso posee un valor calorífico importante (23.100 kJ/m^3), se puede utilizar para mantener una temperatura correcta dentro del reactor.

Sistemas combinados

Los *sistemas combinados* se definen aquí como aquellos procesos para el tratamiento de aguas residuales que utilizan organismos tanto aerobios como anaerobios con el fin de obtener un producto residual final que sea estable y ambientalmente aceptable. Cuando se haya logrado adquirir un conocimiento más profundo sobre la microbiología de los dos tipos de microorganismos, probablemente se emplearán de forma selectiva para solucionar los problemas de tratamiento más difíciles aprovechando el potencial degradador específico de cada grupo. Con el tiempo, esto requerirá el diseño de reactores con unas configuraciones específicas capaces de aportar las condiciones deseadas para cada actividad microbiana. A continuación se examinan algunos de los sistemas combinados.

Lagunas facultativas

La laguna facultativa probablemente es una de las aplicaciones más antiguas de los sistemas combinados. Las *lagunas facultativas* son grandes estanques de agua, sin agitación y sin aireación, en los que se establecen condiciones aerobias en la capa superior de la laguna y condiciones anaerobias en las capas inferiores. El establecimiento de estas condiciones depende de la carga orgánica de la laguna, de su temperatura y de su profundidad. Este tipo de lagunas suelen tener una profundidad de 1 a 2 m, lo que más o menos se sitúa en un nivel intermedio entre la profundidad de las lagunas aerobias y la profundidad de las anaerobias. Los terraplenes normalmente se construyen con pendientes de entre un 15 y un 25 por ciento¹⁴, y se utilizan materiales capaces de resistir la erosión, como por ejemplo grava y piedras, además se toman medidas para tener en cuenta las posibles fluctuaciones de nivel.

Las lagunas facultativas presentan una rica variedad de población microbiana, desde algas y bacterias en las capas superiores hasta organismos facultativos y asociaciones de microorganismos estrictamente anaerobios en las capas inferiores y en los sedimentos. El espesor de la capa en la que viven los organismos aerobios dependerá de la profundidad a la que penetre el oxígeno, o bien de la profundidad a la que se encuentren las algas capaces de producir oxígeno mediante fotosíntesis. Por lo tanto, el espesor de esta capa cambiará de forma importante del día a la noche y de una estación a otra, debido al cambio de intensidad en la radiación solar. Por otra parte, unas cargas orgánicas altas contribuirán a incrementar el espesor de la capa anaerobia. Se ha logrado establecer una relación entre estos factores y la profundidad de penetración del oxígeno³⁷. Si las cargas orgánicas son excesivas [unos $4.000 \text{ kg DBO}/(\text{km}^2 \cdot \text{día})$ para aguas residuales turbias], la capa de oxígeno casi desaparecerá por completo, y se establecerán condiciones anaerobias en toda la laguna. Esto posiblemente ocasionará problemas de olores.

Lagunas facultativas con agitación superficial

Estas lagunas son similares a las anteriores en el hecho de que aparecen estratificadas en capas anaerobias y aerobias. Sin embargo, están equipadas con agitadores superficiales diseñados para mezclar y dar oxígeno tan sólo a la capa aerobia superior. Por lo tanto, la energía consumida por estos agitadores normalmente es menos de 1kW/m^3 , cantidad inferior al nivel de energía consumido en las lagunas aireadas. Debido a la profundidad de la laguna (comparable a la de las lagunas aireadas) esta intensidad de agitación no es suficiente como para suspender los sedimentos que se depositan en el fondo de la laguna, por lo cual la capa inferior será anaerobia.

Estas lagunas facultativas aireadas se pueden utilizar como estanques de tratamiento primario (por ejemplo, en el tratamiento de aguas residuales altamente coloreadas que no permiten que la luz penetre dentro del líquido), o en los sistemas de lagunas (descritos anteriormente) que reciben aguas residuales ya tratadas en lagunas aireadas¹³.

Proceso de fangos activos/digestión anaerobia de fangos

Los componentes individuales de estos procesos fueron examinados en las secciones anteriores. Aquí es importante destacar que el tratamiento *completo* de las aguas residuales mediante este proceso (el más utilizado) necesita un paso rápido de oxidación aerobia, en el cual la carga orgánica se oxida formando dióxido de carbono y convirtiéndose parcialmente en biomasa (proceso de fangos activos), seguido de una transformación reductora anaerobia más lenta que convierte el producto residual de este proceso de tratamiento (es decir, biomasa) en dióxido de carbono y metano (digestión anaerobia de fangos).

Procesos combinados anaerobios-aerobios para el tratamiento de efluentes muy contaminados

Como se señaló anteriormente, la cantidad de biomasa generada en cualquier tipo de tratamiento se puede considerar proporcional a la cantidad de residuos eliminados. Sin embargo, los organismos aerobios son más eficaces y rápidos a la hora de utilizar los nutrientes orgánicos normalmente disponibles en las aguas residuales. Por lo tanto, los procesos aerobios son más rentables a la hora de tratar aguas residuales con una baja carga contaminante, sobre todo cuando las ventajas asociadas a una separación de residuos eficaz son más importantes que el coste asociado con la manipulación y tratamiento de los fangos generados durante el proceso. Además, el tratamiento anaerobio por sí solo no siempre da lugar a una reducción de los niveles DBO que permita el vertido del efluente.

Sin embargo, cuando la concentración de contaminantes es importante, resulta atractiva la baja relación biomasa-eliminación de DBO que proporcionan los organismos anaerobios. En estos casos puede ser rentable el someter las aguas residuales a un primer tratamiento anaerobio al que seguirá una etapa aerobia. Esta tesis

fue demostrada recientemente por Eckenfelder et al.¹⁴, cuyo análisis económico puso de manifiesto que si las aguas residuales tenían un DBO por encima de 1.000 mg/l, podía ser beneficioso un proceso combinado anaerobio/aerobio.

Esta aproximación ha sido utilizada en diversas aplicaciones^{10,22}, incluyendo una reciente en la que se utilizó una combinación de carbono activo y etapas anaerobia (primera etapa) y aerobia (segunda etapa). Estas aplicaciones se desarrollaron principalmente para tratar aguas residuales muy contaminadas. En todos estos casos, los reactores utilizados en cada etapa fueron del tipo descrito anteriormente para cada clase de organismos. En la Figura 4.19 se muestra un proceso anaerobio-aerobio.

Procesos combinados anaerobios-aerobios para el tratamiento de residuos peligrosos

Además de las ventajas ya mencionadas, los organismos anaerobios pueden presentar una característica adicional que les hace atractivos para el tratamiento de residuos. Recientemente se ha demostrado que los organismos anaerobios son los responsables de algunos de los procesos reductores que podrían tener un impacto importante sobre el tratamiento de diversos tipos de residuos peligrosos. En concreto, se ha demostrado que los organismos anaerobios son capaces de deshalogenar reductoramente algunos compuestos tóxicos, como por ejemplo los aromáticos clorinados, compuestos muy lentamente biodegradables aerobiamente^{33,42,43}. Sin

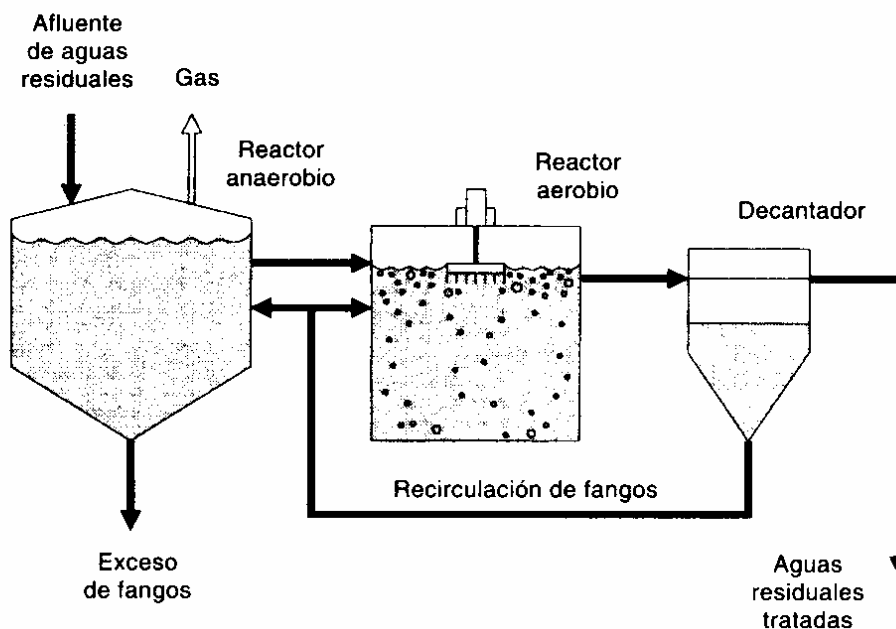


FIGURA 4.19. Proceso anaerobio-aerobio para el tratamiento de efluentes muy contaminados.

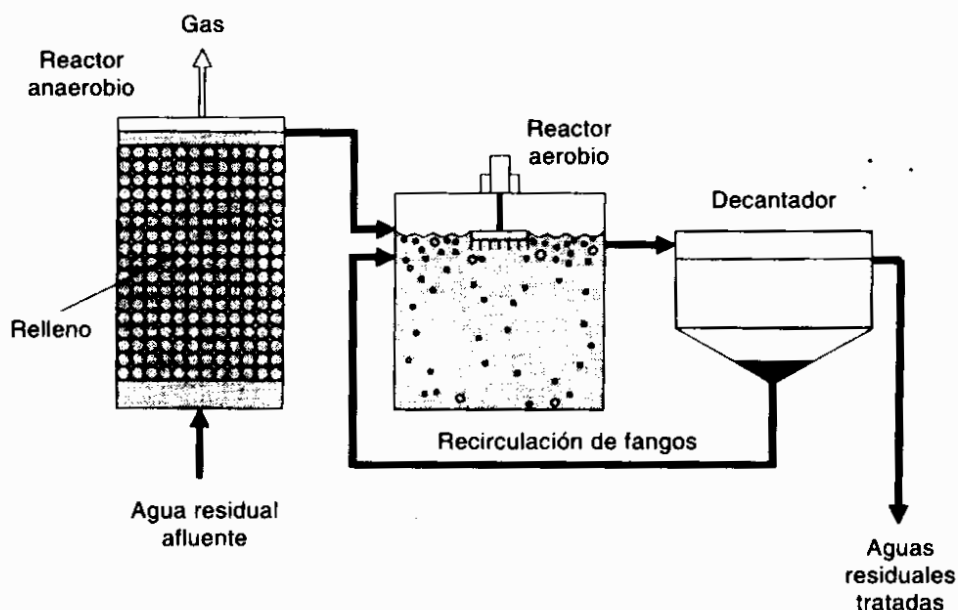


FIGURA 4.20. Proceso anaerobio-aerobio para el tratamiento de residuos peligrosos.

embargo, mientras transcurre el proceso y se va deshalogenando la molécula, va descendiendo la capacidad deshalogenadora de los organismos anaerobios. Afortunadamente, los compuestos deshalogenados resultantes se pueden degradar de forma aerobia. Por lo tanto, una alternativa viable para el tratamiento de estos compuestos es su exposición secuencial a cultivos anaerobios y aerobios especializados, tal y como aparece en la Figura 4.20. Si el proceso se opera de forma continua, se necesitará el uso secuencial de dos reactores mantenidos bajo condiciones anaerobias y aerobias, respectivamente. Debido a las bajas concentraciones de los compuestos tóxicos, parecen favorables los reactores con biomasa inmobilizada. Recientemente se ha demostrado la validez de este método^{3,16,26}. Sin embargo, el proceso todavía se encuentra en fase de investigación.

Referencias bibliográficas

1. Adams, C. E., W. W. Eckenfelder, and R. C. Stien. 1974. Modification to Aerobic Digester Design. *Water Res.* 8:213-225.
2. Aivasidis, A., and C. Wandrey. 1988. Recent Developments in Process and Reactor Design for Anaerobic Wastewater Treatment. *Water Sci. Technol.* 20:211-218.

3. Armenante, P. M., D. Kafkewitz, G. Lewandowski, and C. M. Kung. 1992. Integrated Anaerobic-Aerobic Process for the Biodegradation of Chlorinated Aromatic Compounds. *Environ. Progr.* 11:113-122.
4. Armenante, P. M., G. Lewandowski, and I. U. Hag. 1992. Mineralization of 2-Chlorophenol by *P. Chrysosporium* Using Different Reactor Configurations, *Hazardous Waste Hazardous Material*. 9(3):213-229.
5. Bailey, J. E., and D. F. Ollis. 1986. *Biochemical Engineering Fundamentals*, 2nd ed. McGraw-Hill, New York.
6. Baltzis, B., G. Lewandowski, and S. Sanyal. 1991. Sequencing Batch Reactor Design in a Denitrifying Application. In D. W. Tedder and F. Pohland (eds.), *Emerging Technologies in Hazardous Waste Management II*. ACS Symposium Series. American Chemical Society, Washington, D.C.
7. Bates, R. L., P. L. Fondy, and J. G. Fenic. 1966. Impeller Characteristics and Power. In V. W. Uhl and J. B. Gray (eds.), *Mixing*, Vol. 1. Academic Press, New York.
8. Chaudhry, G. R., and S. Chapalamadagu. 1991. Biodegradation of Halogenated Organic Compounds. *Microbiol. Rev.* 55:59-79.
9. Cheremisinoff, P. N. 1990. Biological Treatment of Hazardous Waste, Sludges and Wastewater. *Pollut. Eng.* 22(5):87-94.
10. Collivignarelli, C., G. Urbini, A. Farneti, A. Bassetti, and U. Barbaresi. 1990. Anaerobic-Aerobic Treatment of Municipal Wastewaters with Full-Scale Upflow Anaerobic Sludge Blanket and Attached Biofilm Reactors. *Water Technol.* 22:475-482.
11. Copa, W. M., and T. J., Vollstedt. April 24, 1990. Two-Stage Anaerobic/Aerobic Treatment Process. U.S. Patent 4,919,815.
12. Daigger, G. T., and R. E. Roper. 1985. The relationship between SVI and the Activated Sludge Settling Characteristics. *J. Water Pollut. Contr. Fed.* 57:859-866.
13. Dienemann, E. A., J. F. Magee II, D. S. Kosson, and R. C. Ahlert. 1987. Rapid Renovation of a Sludge Lagoon. *Environ. Progr.* 6:158-165
14. Eckenfelder, W. W., Jr. 1989. *Industrial Water Pollution Control*. McGraw-Hill, New York.
15. Eckenfelder, W. W., Jr., Y. Argaman, and E. Miller. 1989. Process Selection Criteria for the Biological Treatment of Industrial Wastewaters. *Environ. Progr.* 8(1):40-45.
16. Fathepure, B. Z., and T. M. Vogel. 1991. Complete Degradation of Polychlorinated Hydrocarbons by a Two-Stage Biofilm Reactor. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:3418-3422.
17. Genung, R. K., C. W. Hancher, A. L. Rivera, and M. T. Harris. 1982. Pp. 365-380. In E. L. Gaden, Jr. (ed.), *Biotechnology and Bioengineering Symposium No. 12*. Wiley, New York.
18. Goronszy, M. 1979. Intermittent Operations of the Expanded Aeration Process for Small Systems. *J. Water Pollut. Contr. Fed.* 41:279-287.
19. Grady, C. P. L., Jr., and H. C. Lim. 1980. *Biological Wastewater Treatment*. Marcel Dekker, New York.
20. Heijnen, J. J. 1984. Technik der Anaeroben Abwasserreinigung. *Chem.-Ing.-Tech.* 56:526-532.
21. Hines, D. A., M. Bailey, J. C. Oursby, and F. C. Roesler. 1975. Novel Aeration System Bows. *Water Wastes Eng.* 12(12):59-64.
22. Hoffman, C. A., W. M. Copa, and M. R. Mayer, Dec. 2, 1986. Method for Anaerobic Treatment of High Strength Liquors. U.S. Patent 4,626,354.
23. Irvine, R. L., and A. W. Busch. 1979. Sequencing Batch Reactors: An Overview. *J. Water, Pollut. Contr. Fed.* 51:235-243.

24. Jackson, M. L. 1964. Aeration in Bernoulli Types of Devices. *AICHE J.* 10:836-842.
25. Jewell, W. J., M. S. Switzenbaum, and J. M. Morris. 1981. Municipal Wastewater Treatment with the Anaerobic Attached Microbial Film Expanded Bed Process. *J. Water Pollut. Contr. Fed.* 53:482-490.
26. Kafkewitz, D., P. M. Armenante, G. Lewandowski, and C. M. Kung. 1992. Dehalogenation and Mineralization of 2,4,6-Trichlorophenol by the Sequential Activity of Anaerobic and Aerobic Microbial Populations. *Biotechnol. Lett.* 14:143-148.
27. Kobayashi, H. A., E. Conway de Macario, R. S. Williams, and A. J. L. Macario. 1988. Direct Characterization of Methanogens in Two High-Rate Anaerobic Biological Reactors. *Appl. Environ. Microbiol.* 54:693-698.
28. Lettinga, G., A. F. M. van Velsen, S. W. Hobma, W. De Leeuw, and A. Kluapwijk. 1980. Use of the Upflow Sludge Blanket (USB) Reactor Concept for Biological Wastewater Treatment, Especially for Anaerobic Treatment. *Biotechnol. Bioeng.* 22:699-734.
29. Levenspiel, O. 1972. *Chemical Reaction Engineering*, 2nd ed. Wiley, New York.
30. Lewandowski, G., P. M. Armenante, and D. Pak. 1990. Reactor Design for Hazardous Waste Treatment Using a White Rot Fungus. *Water Res.* 24:75-82.
31. Middleton, J. C. 1985. Chapter 17: Gas-Liquid Dispersion and Mixing. pp. 322-355. In N. Harnby, M. F. Edwards, and A. W. Nienow (eds.), *Mixing in the Process Industries*. Butterworths, London.
32. Mudrack, K., H. Sahm, and W. Sittig. 1987. *Environmental Biotechnology*. pp. 623-660. In P. Praeve, U. Faust, W. Sittig, D. A. Sukatasch (eds.), *Fundamentals of Biotechnology-1987*. VCH, Weinheim, Federal Republic of Germany.
33. Neilson, A. H., A. Allard, P. Hynning, and M. Remberger. 1988. Transformations of Halogenated Aromatic Aldehydes by Metabolically Stable Anaerobic Enrichment Cultures. *Appl. Environ. Microbiol.* 54(9):2226-2232.
34. Ngian, K. F., and W. R. B. Martin. 1980. Bed Expansion Characteristics of Liquid Fluidized Particles with Attached Microbial Growth. *Biotechnol. Bioeng.* 22:1843-1856.
35. Oldshue, J. Y. 1983. *Fluid Mixing Technology*. McGraw-Hill, New York.
36. Opatken, E. J., H. J. Howard, and J. J. Bond. 1988. Biological Treatment of Leachate from a Superfund Site. *Environ. Progr.* 7:12-18.
37. Oswald, W. J. 1968. Advances in Anaerobic Pond System Design. *Water Resour. Symp.* 1:409-426.
38. Perry, R. H., and D. W. Green. 1984. *Perry's Chemical Engineers' Handbook*, 6th ed. McGraw-Hill, New York.
39. Pfeffer, J. T., and J. C. Liebman. 1976. Energy from Refuse by Bioconversion, Fermentation and Residue Disposal Processes. *Resour. Recovery Conserv.* 1:295-313.
40. Pierce, G. E. (Celgene Corp.). 1992. Personal communication.
41. Prokop, A., P. Janik, M. Sobotka, and V. Krumphanzl. 1983. Hydrodynamics, Mass Transfer and Yeast Culture Performance of a Column Bioreactor with Ejector. *Biotechnol. Bioeng.* 25:1147-1160.
42. Quensen, J. F., J. M. Tiedje, and S. A. Boyd. 1988. Reductive Dehalogenation of Polychlorinated Biphenyls by Anaerobic Microorganisms from Sediments. *Science.* 242:752-756.
43. Reineke, W., and H. J. Knackmuss. 1980. Hybrid Pathway for Chlorobenzoate Metabolism in *Pseudomonas* sp. B13 Derivatives. *J. Bacteriol.* 142:467-473.
44. Rich, L. G. 1973. *Environmental Systems Engineering*. McGraw-Hill, New York.
45. Schuegerl, K. 1987. *Bioreaction Engineering*, vol. 2. Wiley, New York.

46. Suflita, J. M., A. Horowitz, D. R. Shelton, and J. M. Tiedje. 1982. Dehalogenation: A Novel Pathway for the Anaerobic Biodegradation of Haloaromatic Compounds. *Science*. 218:1115-1117.
47. Tojo, K., and K. Miyanami. 1982. Oxygen Transfer in Jet Mixers. *Chem. Eng. J.* 24: 89-97.
48. Verstraete, W. H., and D. Schowanek. 1987: Aerobic versus Anaerobic Wastewater Treatment. In Proc. 4th Europ. Congress on Biotechnology, vol. 4, pp. 49-63.
49. Weber, A. S., and Matsumoto. 1987. Feasibility of Intermittent Biological Treatment for Hazardous Waste. *Environ. Progr.* 6:166-171.
50. Wentz, C. 1989. Hazardous Waste Management. McGraw-Hill, New York.
51. Wu, A. C., E. D. Smith, and Y. T. Hung. 1980. Modeling of Rotating Biological Contactor Systems. *Biotechnol. Bioeng.* 22:2055-2064.
52. Young, J. C., and M. F. Dahab. 1982. Operational Characteristics of Anaerobic Packed-Bed Reactors. pp. 303-316. In E. L. Gaden, Jr. (ed.), *Biotechnology and Bioengineering Symposium No. 12*. Wiley, New York.
53. Zlokarnik, M. 1979. Scale-Up of Surface Aerators for Waste Water Treatment. pp. 157-180. In T. K. Ghose, A. Fichter, and N. Blackebrough (eds.), *Advances in Biochemical Engineering*, vol. 11. Springer Verlag, Berlin.

Capítulo 5

MODELACIÓN DE LOS PROCESOS BIOLÓGICOS IMPLICADOS EN LA DEPURACIÓN DE LOS SUSTRATOS ORGÁNICOS PELIGROSOS

Bruce E. Rittmann

*Profesor de Ingeniería Ambiental
John Evans Northwestern University
Evanston, Illinois*

Pablo B. Sáez

*Profesor Asociado de Ingeniería Ambiental
Universidad Pontificia de Chile
Santiago, Chile*

Este capítulo desarrolla los fundamentos teóricos y cuantitativos para la modelación de los procesos biológicos mediante los cuales se produce la depuración biológica de los compuestos orgánicos peligrosos. Todos los modelos de procesos biológicos deben tener en cuenta el crecimiento y mantenimiento de una biomasa activa, lo que requiere el uso de sustratos primarios con donantes y receptores de electrones capaces de conseguir energía para la síntesis y el mantenimiento celular. Por lo tanto, cualquier modelo debe comenzar con un balance de masas de la biomasa activa y de los sustratos primarios. Aunque los compuestos peligrosos pueden ser a veces sustratos primarios, a menudo no pueden desempeñar este papel y deben eliminarse mediante utilización secundaria. Por lo tanto, se debe realizar un balance de masas individual para cada sustrato secundario. Los sustratos primarios y secundarios están conectados en cuanto a su utilización, ya que los sustratos primarios soportan el crecimiento de la biomasa que posteriormente va a

usar los sustratos secundarios. La clave final consiste en tener en cuenta las interacciones directas entre sustratos, como por ejemplo, las limitaciones y los requisitos de los cosustratos. Los sustratos secundarios pueden alterar el crecimiento de la biomasa mediante una limitación del uso del sustrato primario y de la producción celular, mientras que los sustratos primarios pueden limitar directamente la transformación de los sustratos secundarios. Estos efectos limitantes se modelan mediante parámetros cinéticos, cuyos valores varían según la presencia de otros componentes (limitantes). Los efectos del cosustrato se producen cuando la enzima degradadora requiere un sustrato específico u otro cosustrato. Existen varios ejemplos de la cinética de los cosustratos. Uno de los ejemplos ilustra la formulación de modelos y demuestra cómo las interacciones entre sustratos pueden afectar de forma significativa al rendimiento del proceso.

Introducción

El eje central de la modelización de las aplicaciones de biotratamiento implica la formulación y solución de ecuaciones de balances de masas para las especies biológicas y químicas más importantes. Puesto que los sistemas de biotratamiento pueden ser demasiado complejos como para que se comprendan mediante un conocimiento puramente cualitativo, el modelo matemático será la herramienta crucial para desarrollar y aplicar el biotratamiento.

El proceso de formulación de modelos proporciona la base intelectual que conecta los múltiples materiales y fenómenos que actúan en un sistema de biotratamiento. La formulación identifica los factores que son verdaderamente relevantes y los integra. El marco cuantitativo de un modelo proporciona un criterio de importancia objetiva: los fenómenos o las especies son importantes cuando su inclusión afecta al balance de masas. Por lo tanto, la modelización es una herramienta intelectual que permite integrar y priorizar multitud de procesos.

De esta forma, la solución de un modelo nos proporcionará una herramienta práctica. Las soluciones se pueden utilizar para diseñar un nuevo proceso capaz de cumplir los objetivos de tratamiento, o bien, para analizar por qué un proceso que ya funciona cumple o incumple su objetivo. La naturaleza cuantitativa del modelo lo hace útil para las aplicaciones de ingeniería que implican volúmenes, flujos, y tiempos reales.

La mejor estrategia consiste en construir un modelo lo más sencillo posible. En principio, sólo se deben incluir los factores importantes. La adición de factores que no sean importantes complica el modelo, oscurece las conexiones esenciales y favorece las posibilidades de error. Una vez elegidos los factores correctos, se deben cuantificar de forma que representen la realidad de un modo sencillo pero adecuado. Las expresiones matemáticas sencillas hacen que un modelo sea más fácil de comprender y de solucionar matemáticamente. Sin embargo, hay que destacar que también se debe evitar el exceso de simplificación o sobresimplificación —negligencia o tratamiento demasiado superficial de los fenómenos fundamentales—. Un buen modelo mantendrá un equilibrio entre lo completo y la simplicidad.

Este capítulo se centra en los factores que se deben tener en cuenta cuando se formula un modelo para las aplicaciones de biotratamiento, identifica los fenómenos que pueden ser importantes, define bajo qué condiciones se deben incluir los fenómenos en un modelo, indica cómo interactúan, y ofrece orientaciones sobre cómo se pueden cuantificar. Todas estas cuestiones son imprescindibles para aquellas personas que están elaborando modelos y para quienes intentan seleccionar modelos construidos por otros. Lo importante son las situaciones en las que los procesos biológicos se muestran activos respecto a la destoxificación de los productos químicos orgánicos peligrosos. Este capítulo da respuestas a las siguientes preguntas: «¿Qué factores se deben incluir en los modelos sencillos pero adecuados?», y «¿Cómo se pueden incluir estos factores?».

Fundamentos de la modelación de procesos biológicos

Objetivos del metabolismo microbiano

Las bacterias y, en menor grado, los hongos, son responsables de las reacciones de biodegradación que utilizamos en el biotratamiento. Aunque la mayoría de las reacciones de degradación forman parte del metabolismo normal de estas células, el objetivo del metabolismo de los microorganismos no es la eliminación de los contaminantes ambientales. El objetivo principal del metabolismo microbiano es crecer y mantenerse. Por lo tanto, la formulación de los modelos debe comenzar por la biomasa activa y por los factores que permitan este crecimiento y mantenimiento.

Los microorganismos crecen y se alimentan extrayendo nutrientes, electrones, y energía del ambiente. Los nutrientes son C, N, P, S, y otros oligo-elementos que conforman la base de los constituyentes celulares: carbohidratos, aminoácidos, lípidos y ácidos nucleicos. Los electrones son necesarios para reducir los nutrientes a la forma química utilizada por los constituyentes celulares, y para generar la energía necesaria que posibilite la síntesis y el mantenimiento de la biomasa.

El proceso más básico del metabolismo microbiano es la transferencia de electrones desde un sustrato donante hasta un sustrato receptor. La Figura 5.1 ilustra la oxidación del donante (D), el cual emite electrones que son llevados por un cosustrato interno reducido (ICH_2). Algunos de los electrones llevados por ICH_2 se transfieren a un sustrato receptor (A), y esta transferencia genera energía en forma de un compuesto de almacenamiento de alta energía, adenosintrifosfato (ATP). El resto de los electrones y parte del ATP se emplean para generar biomasa nueva, mientras que el ATP restante satisface las necesidades de mantenimiento de las células.

Como la transferencia de electrones entre los sustratos donantes y receptores es esencial para crear y mantener la biomasa, estos materiales se denominan *sustratos primarios*. En cualquier reacción, para tener una biomasa activa es necesario contar con sustratos primarios. Para la bacteria más comúnmente activa en la destoxificación, el *donante de electrones primario* será uno dentro de varios com-

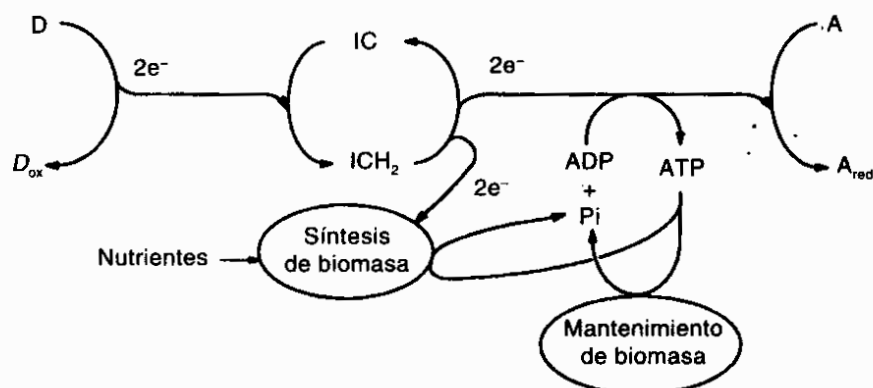


FIGURA 5.1. Flujos de electrones y de energía típicos en una célula bacteriana. D = sustrato primario donante, D_{ox} = sustrato donante oxidado, A = sustrato primario receptor, A_{red} = sustrato receptor reducido, ICH₂ = cosustrato interno reducido, IC = cofactor interno oxidado, e⁻ = electrón, ATP = adenosina trifosfato, ADP = adenosina difosfato y P_i = fosfato inorgánico.

puestos orgánicos posibles. El donante de electrones primario puede ser o no uno de los compuestos que se desean detoxificar. El receptor de electrones primario normalmente es O₂, NO₃⁻, NO₂⁻, SO₄²⁻ o CO₂, aunque en las fermentaciones también se pueden emplear compuestos orgánicos.

Fenómenos de biotransformación

Una vez que se tenga una biomasa activa, se podrá producir cualquier reacción de biotransformación, siempre que los microorganismos posean las enzimas necesarias para catalizar la reacción. Sin embargo, se debe dar respuesta a tres preguntas antes de poder formular correctamente un modelo para la biodegradación de un contaminante específico:

1. ¿El contaminante específico es un sustrato primario o secundario?
2. ¿Existen otros sustratos que estén modelando la cinética de biodegradación del contaminante específico?
3. ¿Es capaz toda, o parte de la biomasa activa, de detoxificar el contaminante específico?

Sustrato primario o secundario. Un compuesto específico no tiene por qué ser el sustrato primario para las bacterias que lo biodegradan. Cuando existen otros materiales que sirven como sustrato primario, un compuesto específico se puede

biodegradar como *sustrato secundario*, es decir, como un sustrato cuya oxidación (o, a veces, reducción) produce un bajo flujo de electrones y energía que se muestra incapaz de mantener la biomasa que lo degrada (Kobayashi y Rittmann, 1982; Stratton et al., 1983).

Los sustratos secundarios se pueden dividir en dos tipos. El primero, denominado *sustrato secundario de baja concentración*, incluye a los sustratos que pueden aportar flujos de electrones y energía al metabolismo celular, pero la velocidad que presentan estos flujos es menor que el flujo mínimo necesario para mantener la biomasa activa. Lo que provoca que estos flujos sean muy bajos es que el sustrato secundario está presente en una baja concentración. Rittmann y McCarty (1980) derivaron S_{\min} , la concentración mínima requerida para mantener una biomasa en estado estacionario. Los sustratos secundarios de baja concentración podrían soportar la biomasa, pero su concentración es menor que S_{\min} .

Otro tipo de sustrato secundario es el denominado *cometabolito clásico*, término utilizado para describir un compuesto cuya transformación no puede generar flujos de energía y electrones (Alexander, 1981; Dalton y Sterling, 1982). Generalmente, el cometabolito se transforma mediante metabolismo incidental, es decir, mediante una enzima que normalmente reacciona con un compuesto diferente, pero relacionado, que cataliza un paso de transformación sencillo para el cometabolito. Como no se produce ningún otro paso de transformación, la transformación del cometabolito no genera flujos de electrones y energía. Por lo tanto, un cometabolito clásico no puede ser sustrato primario; incluso aunque su concentración sea elevada.

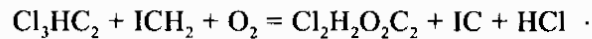
El término *cometabolismo* se emplea en ocasiones con demasiada libertad para hacer referencia a cualquier situación en la que otro sustrato aumente la biodegradación de un compuesto específico. Esta utilización del término es desafortunada, ya que oscurece su significado: ser requisito obligado para un sustrato primario, ya que la transformación del cometabolito no produce flujos de electrones ni energía.

Moduladores. La opinión tradicional en cinética de biodegradación es que la velocidad de degradación está controlada por la concentración del compuesto degradado y de la biomasa activa. Aunque estas nociones tradicionales sobre control cinético sean correctas, existen otros compuestos que también pueden afectar a la cinética de transformación. El término general para designar a los otros compuestos que afectan a la biotransformación es el de *modulador*. Pueden actuar tres tipos diferentes de moduladores.

Los *cosustratos* reaccionan directamente con el compuesto degradado (o quizás con un intermediario metabólico) en el punto de reacción de la enzima. Aunque la mayoría de los cosustratos son receptores o donantes de electrones, la reacción del cosustrato no forma parte del flujo de electrones que necesita la biomasa. En lugar de eso, los cosustratos reaccionan directamente con el sustrato específico.

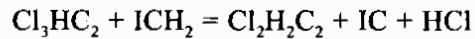
Uno de los sustratos más conocidos es el oxígeno molecular (O_2), que participa en las reacciones de la monooxigenasa y dioxigenasa, tal y como sucede en la

reacción siguiente de la monooxigenasa con tricloroetileno (TCE) (Little et al., 1988):



Por lo tanto, la concentración del oxígeno disuelto puede afectar de forma directa a la velocidad de degradación del TCE.

La reacción de la monooxigenasa ilustra también el segundo tipo principal de sustrato: el *cosustrato interno reducido*, ICH_2 , que proporciona dos electrones. Los cosustratos internos reducidos son necesarios para las reacciones reductoras de deshalogenación (Vogel et al., 1987), tal y como se refleja en la reducción del TCE a dicloroetano:



Aunque los electrones transportados por el ICH_2 finalmente proceden del sustrato primario donante de electrones, la concentración interna de ICH_2 controla directamente la cinética de la reacción en las reacciones de la monooxigenasa y de deshalogenación reductora. Por lo tanto, el ICH_2 es un cosustrato interno.

En los dos ejemplos anteriores de cosustratos, el TCE es un ejemplo de *cometabolito* porque las enzimas de la monooxigenasa poseen metano como sustrato normal. Por consiguiente, el metano es un sustrato primario que requiere dos cosustratos (ICH_2 y O_2), pero el TCE es un *cometabolito* cuya transformación requiere también de ambos cosustratos.

Los *limitantes* de los sustratos disminuyen la velocidad de las reacciones catalizadas por las enzimas mediante su reacción directa con la enzima. Uno de los tipos de limitación se denomina *competitiva*, ya que el limitante compite para acceder al lugar de reacción (centro activo) de la enzima. Otro tipo de limitación es *no competitiva*, ya que el limitante se une con la enzima en un lugar donde no se produce la reacción (centro activo), pero lo hace de tal forma que dificulta la capacidad de reacción de la enzima hacia el sustrato específico. Los limitantes competitivos normalmente son análogos al sustrato específico; un buen ejemplo es la competencia entre el TCE y el metano, sustrato normal de la metano monooxigenasa que transformaría ahora el TCE (Tsien et al., 1989).

Esta limitación puede afectar a la biodegradación de un sustrato secundario directa o indirectamente. En el caso directo, el limitante afecta a la enzima que está degradando el sustrato secundario. En el caso indirecto, el limitante retrasa la utilización del sustrato primario. Esta limitación del uso del sustrato primario puede frenar la transformación del sustrato secundario mediante la reducción de la cantidad de biomasa activa y/o la alteración de la disponibilidad de cosustratos internos, como por ejemplo de ICH_2 . La Figura 5.2 ilustra los lugares donde la limitación afecta a los flujos primarios de electrones y de energía.

La *autolimitación* es un caso especial de limitación, en este caso, las altas concentraciones de un sustrato limitan su propia degradación (Godrej y Sherrard, 1988; Sáez y Rittmann, 1989). La investigación de los compuestos autolimitantes, como

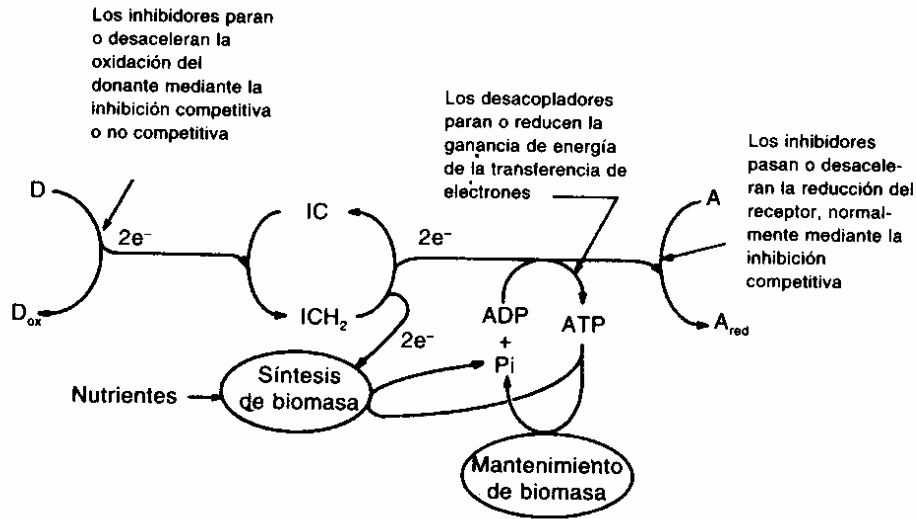


FIGURA 5.2. Diagrama ilustrativo de cómo los limitantes pueden afectar a los flujos primarios de electrones y energía.

los fenólicos, normalmente ha implicado a compuestos específicos que constituyen el sustrato primario donante de electrones. Por lo tanto, los sustratos autolimitantes probablemente dificultan el flujo de electrones en diversos lugares, y no solamente limitan su propia transformación enzimática.

El último tipo de modulador es el *inductor*, éste controla la formación de las enzimas que llevan a cabo las reacciones de transformación. Un microorganismo con capacidad genética para transformar un compuesto solamente podrá hacerlo cuando los genes expresen dicha capacidad, lo que implica que el código contenido en el ADN se transcriba en un ARN mensajero, el cual lo traducirá a la enzima. Aunque algunos genes siempre se expresan espontáneamente, muchos genes degradadores se expresan solamente cuando un compuesto inductor está presente para iniciar la transcripción del ADN. Los inductores normalmente son sustratos o análogos estructuralmente similares.

Biomasa activa en transformación. En su versión más simplificada, toda la biomasa tendría la misma capacidad de transformación respecto a todos los compuestos. Sin embargo, en los sistemas reales de biotratamiento sabemos que la biomasa no es uniforme y que debería ser diferenciada. Dentro de la formulación de modelos se pueden considerar cuatro niveles de *diferenciación de biomasa*: 1. biomasa metabólicamente activa frente a inerte; 2. biomasa en suspensión frente a biomasa sedimentada; 3. diversidad ecológica, y 4. distribución de plásmidos.

Las bacterias metabólicamente activas, que se pueden mostrar activas en las reacciones de biotransformación, normalmente constituyen tan sólo una fracción de lo que se mide mediante los ensayos tradicionales de «biomasa» (sólidos en

suspensión volátiles). Gran parte de lo que parece ser biomasa son sólidos orgánicos metabólicamente inertes producidos por la descomposición y muerte de las bacterias activas. Solamente la biomasa activa es capaz de llevar a cabo reacciones de transformación.

Parte de la biomasa se encuentra en suspensión libre, mientras otra parte se adhiere a las superficies sólidas formando biopelículas. La distinción clave consiste en que la biomasa en suspensión se mueve con el flujo de agua, mientras que en el caso de la biomasa adherida el agua fluye sobre ella. Además, los mecanismos de transporte que ponen en contacto a los sustratos con las bacterias a menudo son limitantes en los sistemas con biopelículas (Rittmann y McCarty, 1980).

Las bacterias activas de los sistemas de biotratamiento normalmente incluyen muchas cepas distintas. Aunque existe alguna redundancia ecológica, es común una gran diversidad ya que distintas cepas utilizan los sustratos primarios presentes en el afluente. El uso de diferentes sustratos primarios crea nichos ecológicos. Algunos nichos son muy diferentes desde un punto de vista funcional, mientras que otros sólo presentan diferencias sutiles. Por ejemplo, las bacterias que utilizan fenol como donante primario de electrones son completamente distintas a las que utilizan amoníaco, pero son relativamente similares a las que usan benceno.

La idea de que es necesario contar con una cepa por separado para cada tipo de sustrato es bastante errónea. Por otra parte, ninguna cepa sirve para todos los sustratos posibles. Por lo tanto, la realidad se sitúa entre estos dos extremos. El modelo de selección ecológica se debe basar en el uso del sustrato primario porque éste es quien controla la capacidad de crecer y competir de las diferentes cepas. Se desconoce cómo afecta la presencia de un sustrato secundario a la selección ecológica, ya que los sustratos secundarios contribuyen poco o nada al crecimiento celular.

La cuestión final en la diferenciación de la biomasa es la distribución de los plásmidos. Los plásmidos son pequeñas hebras de ADN que no son necesarias para el funcionamiento celular normal, contienen genes degradadores interesantes, y se pueden copiar entre bacterias (Rittmann et al., 1990). Como los plásmidos no son esenciales, las bacterias pueden vivir bastante bien sin ellos. Sin embargo, si una célula adquiere un plásmido, dicha célula puede ganar en capacidad degradadora. Si aumenta la fracción de biomasa que contiene el plásmido, entonces la concentración de biomasa activa en la reacción degradadora aumentará proporcionalmente. De modo similar, debería crecer en la misma proporción la velocidad de degradación.

El contenido en plásmidos de la biomasa depende del equilibrio entre la transferencia y pérdida de plásmidos. La transferencia de plásmidos aumenta con concentraciones celulares altas, con la disponibilidad de una fuente de energía (p. ej., sustratos primarios) para estimular la reacción conjugativa, y con la entrada de células donantes que contengan plásmidos (Smets et al., 1990; MacDonald et al., 1992). Las tasas de pérdidas no se conocen muy bien, pero probablemente aumentan cuando las bacterias crecen rápidamente.

Balances de masas

Un modelo matemático es aquel formado por una serie de ecuaciones de balances de masas que incluyen a las especies químicas y microbianas más significativas. Esta sección desarrolla los balances de masas que normalmente se requieren para la elaboración de un modelo completo. Los términos de velocidad que se incluyen en las ecuaciones de balances de masas se discuten en la sección siguiente. Por lo tanto, esta sección se centrará en dónde y cómo se incorporan las expresiones de velocidad en un modelo.

Ya que la biomasa finalmente debe utilizar los sustratos primarios para su creación y sostenimiento, es esencial realizar un balance de masas sobre uno o más de los sustratos primarios: el donante y receptor de electrones. A continuación se presentan las ecuaciones para el balance de masas de cada sustrato y de un volumen de reactor de mezcla completa:

$$V \frac{dD}{dt} = Q(D_0 - D) + R_D - r_D V \quad (5.1)$$

$$V \frac{dA}{dt} = Q(A_0 - A) + R_A - r_A V \quad (5.2)$$

- donde D = concentración del sustrato primario donante de electrones [$M_D L^{-3}$] *
 D_0 = concentración inicial del sustrato primario donante de electrones [$M_D L^{-3}$] *
 R_D = tasa de adición del donante de electrones (o de eliminación, si es negativa) independiente al flujo líquido normal [$M_D T^{-1}$]
 r_D = tasa de utilización microbiana del sustrato primario donante de electrones [$M_D L^{-3} T^{-1}$]
 V = volumen del reactor de mezcla completa [L^3]
 Q = caudal [$L^3 T^{-1}$]
 t = tiempo [T]
 A = concentración del sustrato primario receptor de electrones [$M_A L^{-3}$]
 A_0 = concentración inicial del sustrato primario receptor de electrones [$M_A L^{-3}$]
 R_A = tasa de adición (o de eliminación) del receptor de electrones independiente al flujo normal de líquido [$M_A T^{-1}$]
 X_a = concentración de biomasa activa [$M_x L^{-3}$]
 r_A = tasa de utilización del sustrato primario donante de electrones [$M_A L^{-3} T^{-1}$]

* En corchetes se encuentra la dimensión de las unidades para cada parámetro. Las dimensiones principales son: M = masa, L = longitud y T = tiempo. Los subíndices diferencian tipos de masas, como D = donante, A = receptor y X = biomasa. Toda masa se debe expresar en unidades proporcionales a sus equivalentes en electrones. La demanda química de oxígeno (DQO) es la unidad de masa más común que cumple este requisito. Si se emplean otros sistemas de unidades (p. ej., SSV para biomasa), es necesario utilizar factores de conversión.

Las ecuaciones (5.1) y (5.2) poseen tres características comunes en todos los balances de masas.

- La parte izquierda expresa el cambio de masa por unidad de tiempo. Para el caso común de estado estacionario, su diferencial es cero.
- La parte derecha contiene tres tipos de términos. El primero es de *advección*, que define cuánta masa entra en el afluente y sale con el efluente. El segundo es un término para los afluentes (o efluentes cuando R es negativo) que entran (salen) independiente al flujo líquido. El tercero incluye todas las reacciones que se producen en el volumen del reactor. En estas ecuaciones, el donante primero se consume para la síntesis celular ($Y_D r_D V$), mientras que el receptor primario se consume para la síntesis celular [$(1 - Y_D) r_D V$] y para la oxidación que apoya el mantenimiento (asimilación) celular ($bX_a V$).

El segundo balance de masas esencial hace referencia a la biomasa activa:

$$V \frac{dX_a}{dt} = Q(X_{a0} - X_a) + R_x + r_x V \quad (5.3)$$

donde X_{a0} = concentración inicial de biomasa activa [$M_x L^{-3}$]

R_x = tasa de entrada (o salida) de biomasa independiente al flujo líquido normal [$M_x T^{-1}$]

r_x = tasa de crecimiento neto de la biomasa activa [$M_x L^{-3} T^{-1}$]

Muchos de los compuestos degradados son sustratos secundarios. El balance de masas para un sustrato secundario es el siguiente:

$$V \frac{dS}{dt} = Q(S_0 - S) + R_s - r_s V \quad (5.4)$$

donde S = concentración del sustrato secundario [$M_s L^{-3}$]

S_0 = concentración inicial del sustrato secundario [$M_s L^{-3}$]

R_s = tasa de entrada (o de eliminación) del sustrato secundario independiente al flujo líquido normal [$M_s T^{-1}$]

r_s = tasa de transformación microbiana del sustrato secundario [$M_s L^{-3} T^{-1}$]

La expresión de los términos r es la cuestión principal de la siguiente sección. Después se insertan las representaciones matemáticas correctas en las Ecs. (5.1) a (5.4). Los términos R_D , R_A , R_x y R_s representan los mecanismos de adición y separación abióticos. Aunque puedan ser muy importantes, especialmente para los receptores primarios y sustratos secundarios, no son procesos biológicos y no se definirán más. Se puede encontrar información adicional en Namkung y Rittmann (1987), Rittmann et al. (1988), Rittmann (1990), y Smets et al. (1990).

Resolución de las ecuaciones de balances de masas

Aunque llevar a cabo una discusión detallada acerca de cómo solucionar las ecuaciones de balances de masas está fuera del alcance de este capítulo, se pueden establecer varios principios generales.

- Todas las ecuaciones se resuelven simultáneamente.
- Para los sistemas sencillos, es posible establecer una solución analítica cerrada. Las simplificaciones que permiten soluciones analíticas son: que el sistema esté en estado estacionario, que la biomasa activa no esté diferenciada, y que los términos para las tasas abióticas (R) y bióticas (r) sean funciones lineales de la concentración del sustrato. Namkung y Rittmann (1987) ofrecen un buen ejemplo de solución analítica describiendo el destino de los productos químicos orgánicos sintéticos en el tratamiento de fangos activos.
- Cuando los sistemas no son sencillos, la solución se debe obtener mediante métodos numéricos informatizados. Las soluciones informatizadas son imprescindibles cuando el sistema no se encuentra en estado estacionario y cuando los términos R y r no son lineales.

Las soluciones de ordenador pueden variar desde hojas de cálculo hasta complejos códigos informatizados que deben funcionar mediante potentes ordenadores. Es necesario utilizar un mayor poder de ordenador cuando aumenta el número de especies y los términos R y r se desvían mucho de la linealidad, el modelo debe calcular los resultados para períodos de tiempo determinados y distintos lugares. Se puede encontrar más información sobre las técnicas de solución informatizada en Finlayson (1980), Wang y Anderson (1982), y Smith (1978), entre otros.

Expresiones de cinética

Esta sección presenta y discute las expresiones matemáticas utilizadas para los términos de la tasa biótica (r). El objetivo es representar de forma cuantitativa la fórmula para los fenómenos biológicos que afectan a los sustratos primarios y secundarios. De una relevancia especial son los enlaces entre los diferentes sustratos y biomasa activa. Las expresiones para la diferenciación de la biomasa están fuera del alcance de esta sección.

Sustratos primarios y biomasa activa

La tasa neta de crecimiento de las bacterias activas requiere dos términos. El primero representa la síntesis de la biomasa, que es proporcional a la utilización del sustrato primario, tal y como se muestra en la Figura 5.1. El segundo término representa la tasa a la cual se oxida la biomasa para proporcionar energía con el fin de lograr su mantenimiento, fenómeno denominado *metabolismo endógeno* (Roels, 1983). Cuando la tasa de oxidación de la biomasa se representa mediante

un modelo de primer orden, el crecimiento neto de las bacterias activas se puede expresar matemáticamente como:

$$r_s = Y_{\text{eff}}(r_D) - b_{\text{eff}}X_a \quad (5.5)$$

donde Y_{eff} = coeficiente efectivo de producción real [$M_x M_D^{-1}$]

b_{eff} = coeficiente efectivo de descomposición de primer orden [T^{-1}]

Para la Ec. (5.5) es fundamental la introducción de los coeficientes efectivos de producción y descomposición Y_{eff} y b_{eff} . Estos coeficientes incluyen de forma explícita las interacciones entre los sustratos (que se explican a continuación). El desarrollo de la Ec. (5.1) supone que la transformación de los sustratos secundarios no producirá un incremento de la biomasa.

La tasa de utilización del donante de electrones primario, suponiendo que este compuesto limite la cinética de crecimiento, viene dada por una relación pseudo-Monod,

$$r_D = \frac{\bar{q}_{D-\text{eff}} X_a D}{K_{D-\text{eff}} + D} \quad (5.6)$$

donde $\bar{q}_{D-\text{eff}}$ = tasa específica máxima efectiva de utilización del donante de electrones primario [$M_D M_x^{-1} T^{-1}$]

$K_{D-\text{eff}}$ = concentración de semisaturación efectiva del donante de electrones primario [$M_D L^{-3}$]

La tasa de utilización del receptor de electrones primario está relacionada con la tasa de utilización del donante y la tasa de crecimiento de la biomasa.

$$r_A = r_D - r_x + f_m b_{\text{eff}} X_a \quad (5.7)$$

donde f_m = la fracción de electrones del donante que originalmente se convirtió en biomasa y posteriormente se transfirió al receptor de electrones para apoyar la asimilación.

El valor de f_m se puede calcular mediante:

$$f_m = \frac{f_d b_{\text{eff}} \Theta_x}{1 + b_{\text{eff}} \Theta_x} Y_{\text{eff}} \quad (5.8)$$

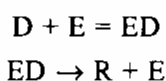
donde f_d = la fracción biodegradable de la nueva biomasa

Θ_x = tiempo de retención de la biomasa [T] en estado estacionario = $X_a V / r_x$

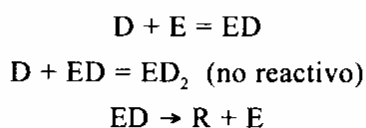
Coefficientes efectivos para los sustratos primarios

Los coeficientes efectivos — $\bar{q}_{D\text{-eff}}$, $K_{D\text{-eff}}$, Y_{eff} y b_{eff} — dependen del tipo de sustrato primario y del tipo de interacciones existentes entre los sustratos primario y secundario. En la Tabla 5.1 se resumen, y a continuación se discuten, las posibles relaciones entre los coeficientes efectivos:

La primera situación representa a un sistema en el cual el donante primario no es autolimitante, y no se produce ninguna interacción entre los sustratos primario y secundario. En este caso se utiliza la función de Monod (1949) para la tasa de utilización del sustrato primario; todos los coeficientes efectivos son constantes y no dependen de la concentración del sustrato secundario. La relación de Monod tiene un homólogo en una reacción catalizada por una enzima en la que la enzima E y el sustrato primario D se combinan para formar un complejo ED, que posteriormente se disociará en un producto R y una enzima E libre (no combinada):



El segundo sistema implica a un sustrato primario autolimitante, sin interacciones entre los sustratos primarios y secundarios. En este caso, cuando existe una gran cantidad de sustrato primario, disminuye la reacción catalizada por las enzimas debido al exceso de sustrato primario. Este fenómeno se conoce como *autolimitación o limitación por sustrato primario*. La forma habitual de expresar la cinética de un sustrato primario autolimitante es mediante la expresión de Haldane (Andrews, 1968), en la que $\bar{q}_{D\text{-eff}}$ y $K_{D\text{-eff}}$ disminuyen cuando se produce un incremento de la concentración del sustrato primario. El sustrato primario parece ser un limitante competitivo cuando está presente a altas concentraciones, combinándose con el complejo ED para dar el intermedio no reactivo ED₂.



En realidad, la autolimitación probablemente es más complicada que la formación de un complejo no reactivo. Sin embargo, la expresión de Haldane normalmente representa satisfactoriamente los efectos limitantes.

El tercer sistema consiste en un sustrato primario no autolimitante y un sustrato secundario que es limitante competitivo del sustrato primario. Los limitantes competitivos incrementan el coeficiente $K_{D\text{-eff}}$ y no tienen ningún efecto sobre el coeficiente $\bar{q}_{D\text{-eff}}$. El sustrato secundario limitante competitivo S se une con la enzima E, dando lugar a un complejo no reactivo limitante de enzimas ES:

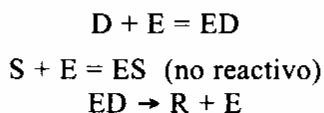


Tabla 5.1. Coeficientes efectivos para la utilización del sustrato primario y el crecimiento celular

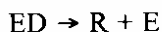
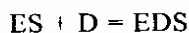
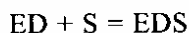
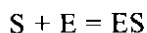
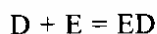
Sistema		Referencia	$\bar{q}_{D\text{-eff}}^{**}$	$K_{D\text{-eff}}^{**}$	Y_{eff}^{**}	b_{eff}^{**}
Sustrato primario	Interacciones SP y SS*					
1. No autolimitante	Ninguna interacción	Monod (1949)	\bar{q}_D	K_D	Y	b
2. Autolimitante	Ninguna interacción	Andrews (1968)	$\frac{\bar{q}_D}{1 + (D/K_1)}$	$\frac{K_D}{1 + (D/K_1)}$	Y	b
3. No autolimitante	El SS es inhibidor competitivo del SP	Bailey y Ollis (1986)	\bar{q}_D	$K_D \left(1 + \frac{S}{K_2}\right)$	Y	b
4. No autolimitante	El SS es inhibidor no competitivo del SP	Bailey y Ollis (1986)	$\frac{\bar{q}_D}{1 + (S/K_3)}$	K_D	Y	b
5. No autolimitante	SS es un desacoplador	Gottschalk (1986)	\bar{q}_D	K_D	$\frac{Y}{[1 + (S/K_4)]}$	$b \left(1 + \frac{S}{K_5}\right)$

* SP = sustrato primario; SS = sustrato secundario.

** q_D = tasa específica máxima de utilización del sustrato primario en ausencia de inhibición [$M_p M_r^{-1} T^{-1}$]; K_D = concentración de semisaturación del sustrato primario en ausencia de inhibición [$M_p L^{-3}$]; Y = coeficiente de producción real en ausencia de desacoplamiento [$M_x M_D^{-1}$]; b = coeficiente de descomposición de primer orden en ausencia de desacoplamiento [T^{-1}]; K_1 = constante de autolimitación para el sustrato primario [$M_p L^{-3}$]; K_2 = constante de inhibición debido a la presencia del sustrato secundario asociado a la concentración de semisaturación del sustrato primario [$M_p L^{-3}$]; K_3 = constante de inhibición debido a la presencia del sustrato secundario asociado a la presencia del sustrato secundario asociado a la concentración de semisaturación del sustrato primario [$M_p L^{-3}$]; K_4 = constante de inhibición debido a la presencia del sustrato secundario asociado al coeficiente de producción [$M_p L^{-3}$]; K_5 = constante de inhibición debido a la presencia del sustrato secundario asociado al coeficiente de descomposición [$M_p L^{-3}$]; D = concentración del sustrato primario [$M_p L^{-3}$]; S = concentración del sustrato secundario [$M_p L^{-3}$].

En este caso, los enlaces del sustrato primario y del limitante de la enzima se excluyen mutuamente. Como parte de la enzima está enlazada al complejo ES, no toda la enzima se encuentra disponible para catalizar la conversión del sustrato primario además, el sustrato secundario baja la velocidad de reacción. La reducción de velocidad provocada por el sustrato secundario limitante competitivo se puede compensar completamente mediante el aumento adecuado de la concentración del sustrato primario; la velocidad máxima que se puede dar en la reacción no se ve afectada por el limitante competitivo. Los limitantes competitivos normalmente son análogos del sustrato primario, ya que tienen relaciones estructurales cercanas al sustrato normal.

El cuarto sistema implica un sustrato primario no auto-limitante y un sustrato secundario que es un limitante no competitivo del sustrato primario. Los limitantes no competitivos bajan el coeficiente $\bar{q}_{D\text{-eff}}$ y no afectan al coeficiente $K_{D\text{-eff}}$. Un sustrato secundario que sea un limitante no competitivo reaccionará con la enzima metabólica en un lugar diferente del centro activo. El limitante y el sustrato primario se pueden enlazar de forma simultánea con la enzima, formando el complejo ternario EDS no reactivo o poco reactivo.



En presencia de un limitante no competitivo, ninguna cantidad de sustrato primario que se pueda añadir a la mezcla será capaz de proporcionar la tasa máxima de reacción que es posible conseguir sin el limitante. La limitación no competitiva también se denomina *limitación alostérica*. Originalmente, se dio el término *alostérico* («otra forma») a este mecanismo porque estos tipos de limitadores de la actividad enzimática reaccionan en un lugar distinto al centro activo. También pueden ser estructuralmente diferentes al sustrato primario.

El último sistema considerado consiste en un sustrato primario no autolimitante y un sustrato secundario que desenlaza la oxidación del sustrato primario y la síntesis de la biomasa. Este caso se puede modelar matemáticamente mediante la reducción del coeficiente Y_{eff} y/o el incremento del coeficiente b_{em} al mismo tiempo que se mantienen constantes los coeficientes $\bar{q}_{D\text{-eff}}$ y $K_{D\text{-eff}}$. Los desenlazadores normalmente hacen la membrana citoplasmática permeable a los protones. En consecuencia, dentro de la membrana no se puede establecer un bombeo de protones, y el ATP no se puede sintetizar mediante la fosforilación del transporte de electrones (Gottschalk, 1986). Debido a su modo de actuación, los desenlazadores también se denominan *protonoforos*.

Los mecanismos que afectan a los flujos de electrones y de energía debido a la presencia de limitantes competitivos y no competitivos y de desenlazadores se ilustran en la Figura 5.2. Matemáticamente, los limitantes competitivos incrementan

$K_{D\text{-eff}}$, los limitantes no competitivos reducen $\bar{q}_{D\text{-eff}}$ y los desenlazadores reducen Y_{eff} y/o incrementan b_{eff} .

Sustratos secundarios

Los sustratos secundarios pueden ser del tipo de baja concentración (es decir, por debajo de la S_{min}), o pueden ser cometabólicos. En algunos casos se implica a los cosustratos. Esta sección describe la cinética para estas tres situaciones.

La relación funcional para la tasa de transformación de los sustratos secundarios depende de las interacciones entre los sustratos primarios y secundarios. En el caso de baja concentración, cuando los sustratos no interactúan entre sí, se utiliza el modelo de Monod para la tasa de transformación del sustrato secundario (Stratton et al., 1983; Bouwer y McCarty, 1985).

$$r_s = \frac{\bar{q}_s X_a S}{K_s + S} \quad (5.9)$$

donde \bar{q}_s = tasa específica máxima de transformación del sustrato secundario
 $[M_s M_x^{-1} T^{-1}]$

K_s = concentración de semisaturación del sustrato secundario $[M_s L^{-3}]$

La interacción entre los sustratos primarios y secundarios se produce mediante X_a , que aumenta cuando existe más sustrato primario disponible.

La segunda situación, el cometabolismo clásico, se produce cuando el sustrato primero puede afectar directamente a la transformación del sustrato secundario. Las cinéticas se modelan matemáticamente utilizando una expresión pseudo-Monod,

$$r_s = \frac{\bar{q}_{s\text{-eff}} X_a S}{K_{s\text{-eff}} + S} \quad (5.10)$$

donde $\bar{q}_{s\text{-eff}}$ = tasa específica máxima de transformación del sustrato secundario
 $[M_s M_x^{-1} T^{-1}]$

$K_{s\text{-eff}}$ = concentración de semisaturación efectiva del sustrato secundario
 $[M_s L^{-3}]$

Los coeficientes efectivos, $\bar{q}_{s\text{-eff}}$ y $K_{s\text{-eff}}$, pueden tener expresiones similares a las que se muestran en la Tabla 5.1 para los sistemas 3 y 4, pero D es el compuesto que afecta a los coeficientes para la separación de S. Cuando el sustrato primario es un limitante competitivo del sustrato secundario, $\bar{q}_{s\text{-eff}} = \bar{q}_s$ y $K_{s\text{-eff}} = K_s (1 + D/K_1')$; por otra parte, $\bar{q}_{s\text{-eff}} = \bar{q}_s / (1 + D/K_1')$ y $K_{s\text{-eff}} = K_s$ cuando el sustrato primario es un limitante no competitivo del sustrato secundario. Los coeficientes K_2' y K_3' son las constantes de limitación $[M_D L^{-3}]$ debido a la presencia de un sustrato primario asociado a la concentración de semisaturación del sustrato secundario y a la tasa específica máxima de transformación del sustrato secundario, respectivamente.

La última situación plantea cómo describir las cinéticas del sustrato secundario cuando se necesita un cosustrato. La transformación del sustrato secundario requiere contribuciones que no se relacionan directamente con su transformación. Por lo tanto, la velocidad de transformación del sustrato secundario debe relacionarse con la concentración del cosustrato ó su tasa de utilización. En algunos casos, tales como la utilización directa de O₂ en una reacción de la monooxigenasa o la dioxigenasa (Little et al., 1988), el cosustrato (en esta ocasión O₂) puede tener su propia función de Monod que controla de forma efectiva a $\bar{q}_{s\text{-eff}}$

$$\bar{q}_{s\text{-eff}} = \bar{q}^s \frac{C}{K_c + C} \quad (5.11)$$

donde C = concentración del cosustrato [M_L^{-3}]

K_c = concentración de semisaturación del cosustrato [M_L^{-3}]

En otros casos, como cuando se utiliza ICH₂ en las reacciones de la monooxigenasa de deshalogenación, el cosustrato es el donante primario, pero juega un papel más indirecto: reduciendo IC a ICH₂. Sáez y Rittmann (1991) propusieron que la velocidad de transformación del sustrato secundario dependía de la tasa de utilización del cosustrato primario y de la oxidación de la biomasa,

$$r_s = \alpha (r_D) + \beta (b_{\text{eff}} X_d) \quad (5.12)$$

donde α = cantidad de sustrato secundario transformado por unidad de cosustrato primario consumido [$M_s M_D^{-1}$]

β = cantidad de sustrato secundario transformado por unidad de biomasa oxidada [$M_s M_x^{-1}$]

La ecuación (5.12) representa aquellos casos en los que las oxidaciones del sustrato primario y/o la biomasa proporcionan los electrones necesarios para la transformación del sustrato secundario. En presencia de un sustrato primario, la generación de electrones vía oxidación del sustrato primario normalmente es mucho más importante que la generación vía oxidación de biomasa; se puede llegar a una simplificación utilizando $\beta = 0$ en la Ec. (5.12).

Un ejemplo

La unión de las ecuaciones de balance de masas y las expresiones cinéticas permite la predicción del comportamiento en una situación dada. En esta sección, como ejemplo, investigamos el comportamiento de un reactor de fangos activos en estado estacionario en presencia de un sustrato primario no autolimitante y de un sustrato secundario que es limitante competitivo del donante primario y requiere al donante primario como cosustrato.

Cuando la concentración de biomasa activa en el afluente es escasa, las ecuaciones de balance de masas para un reactor de fangos activos en estado estacionario son las siguientes:

Para la biomasa activa:

$$r_x = \frac{X_a}{\Theta_x} \quad (5.13)$$

Para el sustrato primario:

$$r_s = \frac{D_0 - D}{\Theta} \quad (5.14)$$

Para el sustrato secundario:

$$r_s = \frac{S_0 - S}{\Theta} \quad (5.15)$$

donde Θ = tiempo de retención hidráulica ($T = V/Q$).

Las expresiones cinéticas para las tasas de biomasa activa, el sustrato primario y el sustrato secundario se convierten en:

Para la biomasa activa:

$$r_x = Y(r_D) - bX_a \quad (5.16)$$

Para el sustrato primario:

$$r_D = \frac{\bar{q}_D X_a D}{K_D(1 + S/K_2) + D} \quad (5.17)$$

Para el sustrato secundario:

$$r_s = \alpha(r_D) \quad (5.18)$$

En este ejemplo, el sustrato secundario no es un desenlazador ya que no afecta a los coeficientes Y_{eff} y b_{eff} ; el sustrato secundario es un limitante no competitivo del sustrato primario porque incrementa $K_{D\text{-eff}}$ mientras mantiene constante $\bar{q}_{D\text{-eff}}$ y $\beta = 0$, lo que significa que el suministro de electrones endógenos es escaso.

La concentración del sustrato secundario en el efluente se obtiene combinando las Ecs. (5.14), (5.15), y (5.18):

$$S = S_0 - \alpha(D_0 - D) \quad (5.19)$$

La concentración de biomasa activa en el reactor se obtiene combinando las Ecuaciones (5.13), (5.14) y (5.16):

$$X_a = \frac{Y(D_0 - D)}{1 + b\Theta_x} \cdot \frac{\Theta_x}{\Theta} \quad (5.20)$$

La concentración del sustrato primario en el reactor se obtiene combinando las Ecs. (5.14), (5.17), (5.19), y (5.20):

$$D = \frac{K_D [1 + S_0 / K_2 - \alpha D_0 / K_2]}{\bar{q}_D Y \Theta_x / (1 + b \Theta_x) - \alpha K_D / K_2 + 1} \quad (5.21)$$

La clave para la solución del modelo es que las concentraciones en el efluente de D y S dependen, además de hacerlo de los coeficientes cinéticos, de los parámetros operativos D_0 , S_0 y Θ_x . Para comprender mejor el efecto de los parámetros operativos, los coeficientes cinéticos mostrados en la Tabla 5.2 se emplean en el siguiente ejemplo cuantitativo.

La Figura 5.3 muestra el efecto de la concentración del sustrato primario en el afluente sobre las concentraciones en el efluente de D y S, para $S_0 = 500$ mg DBO_{Dl} y $\Theta = 1$ día. El rendimiento de eliminación para ambos sustratos aumenta mientras D_0 crece, ya que el sistema llega a ser menos limitado. Para D_0 9,2 mg/l, el sistema está completamente limitado por el sustrato secundario, ya no se separa ningún sustrato. Para $9,2$ mg/l $< D_0 < 5.000$ mg/l, el grado de limitación desciende al mismo tiempo que crece D_0 , y S y D descienden gradualmente y después rápidamente cuando D se aproxima a 5.000 mg/l. Finalmente, para $D \geq 5.000$ mg/l, el sistema se encuentra completamente no limitado, ya que la concentración del sustrato secundario en el reactor baja a cero. Los resultados de la Figura 5.3 ilustran cómo un incremento en la disponibilidad de los sustratos primarios permite una mayor acumulación de biomasa y proporciona más electrones para la eliminación del sustrato secundario. Ambos efectos dan lugar a una mayor eliminación del sustrato secundario y alivian la limitación.

TABLA 5.2. Coeficientes cinéticos utilizados en el ejemplo

Coeficiente	Valor*
Tasa de crecimiento de biomasa	
Y	0,5 mg SS/mg DBO _D
b	0,1 día ⁻¹
Tasa de utilización del sustrato primario	
\bar{q}_D	14,4 mg DBO _D /mg SS · día
K_D	1 mg DBO _D /l
K_2	10 mg DBO _D /l
Tasa de transformación del sustrato secundario	
α	0,1 mg DBO _S /mg DBO _D

* SS = Sólidos en suspensión (una medida de biomasa); DBO_D = Demanda bioquímica de oxígeno para el sustrato donante primario; DBO_S = Demanda bioquímica de oxígeno para el sustrato secundario.

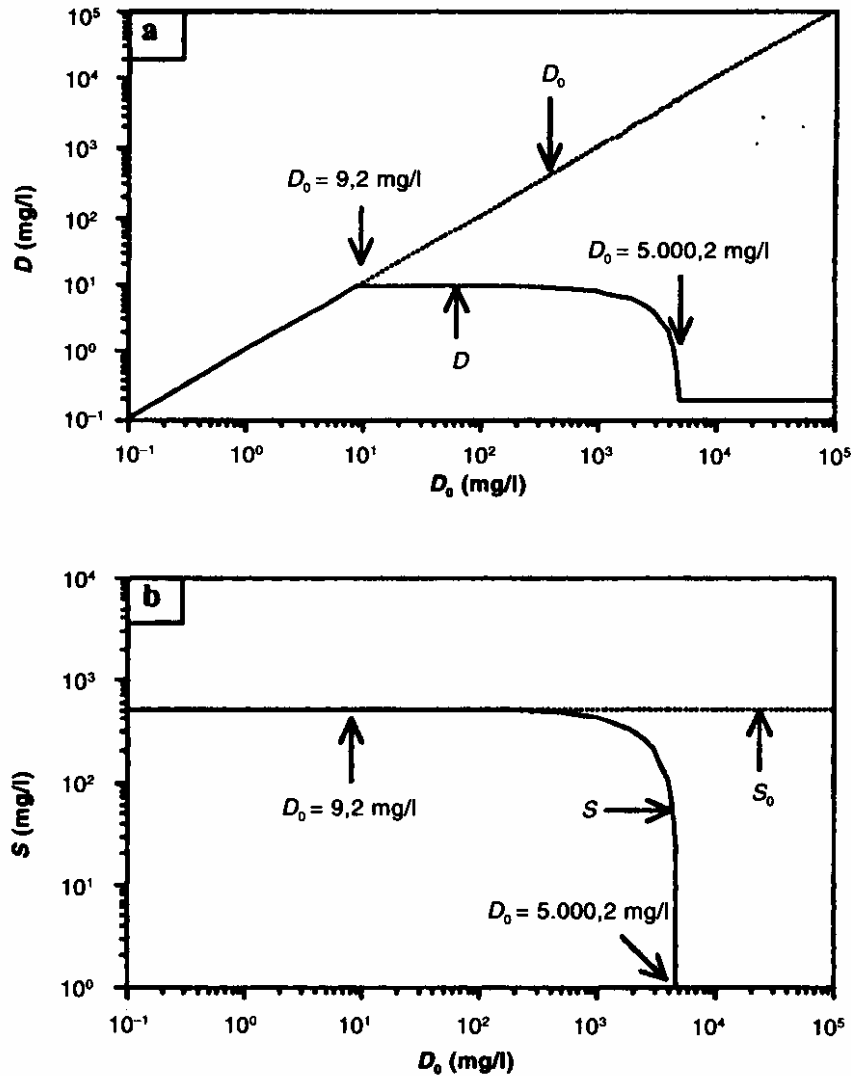


FIGURA 5.3. Efecto de la concentración del sustrato primario sobre las concentraciones en el afluente de (a) sustrato primario donante y (b) sustrato secundario. Las constantes son $S_0 = 500$ mg BOD₅/l y $\Theta_x = 1$ día.

La Figura 5.4 ilustra el efecto de la concentración del sustrato secundario S_0 en el afluente sobre las concentraciones efluentes de D y S para $D_0 = 500$ mg DBO₅/l y $\Theta_x = 1$ día. Desciende el rendimiento de eliminación para ambos sustratos mientras crece S_0 , ya que el sistema se encuentra más limitado. Para $S_0 \leq 50$ mg/l, el sistema se encuentra completamente no limitado, ya que se ha eliminado por completo el sustrato secundario. El grado de limitación crece mientras sube S_0 .

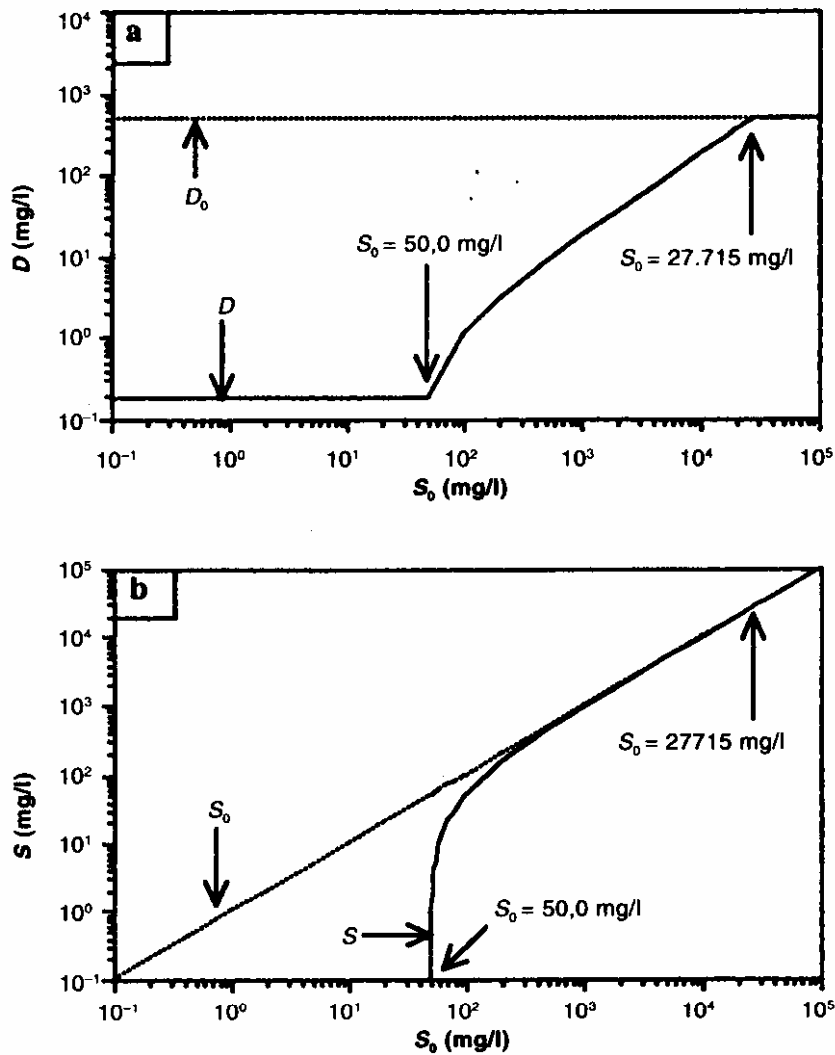


FIGURA 5.4. Efecto de la concentración en el afluente del sustrato secundario sobre las concentraciones en el efluente de (a) sustrato primario y (b) sustrato secundario. Las condiciones constantes son: $D_0 = 500$ mg BOD₅/l y $\theta_x = 1$ día.

para $50 \text{ mg/l} < S_0 < 27.700 \text{ mg/l}$. Finalmente, el sistema se encuentra completamente limitado sin ninguna eliminación de sustrato para $S_0 = 27.715 \text{ mg/l}$. Estos resultados muestran cómo un sustrato secundario inhibitor reduce la eliminación del sustrato primario, lo que reduce la biomasa activa y hace decrecer el flujo de electrones para la función como cosustrato del sustrato primario.

La Figura 5.5 muestra los efectos del tiempo de retención de la biomasa Θ_x sobre las concentraciones efluentes de D y S para $D_0 = 500$ mg DBO_D/l y $S_0 = 500$ mg DBO_S/l. Para $\Theta < 0,17$ días, el sistema está completamente limitado, y no se elimina ningún sustrato. El grado de limitación desciende cuando Θ_x es superior a 0,17 días. Debido a los valores de las constantes cinéticas y a las concentraciones de afluente consideradas, en este caso, la eliminación del sustrato secundario es baja. Sin embargo, cuando Θ_x aumenta lo suficiente, D se acerca a cero, aunque S todavía sea grande, debido a la acumulación de biomasa mediante retención celular.

En resumen, la modelación muestra que el sistema se vuelve menos limitante y ofrece mejores rendimientos de limitación cuando aumenta la concentración del sustrato primario en el afluente, disminuye la concentración en el afluente del sustrato secundario, y aumenta el tiempo de retención de la biomasa. Estas características son consecuencia directa de las interacciones entre sustratos: 1. una mayor eliminación del sustrato primario da lugar a una mayor acumulación de biomasa y un mayor flujo de electrones para la eliminación del sustrato secundario; 2. las concentraciones reducidas del sustrato secundario provocan una limitación menor, y 3. un tiempo de retención de biomasa mayor incrementa la acumulación de biomasa. Una vez reconocidas mediante la modelización, estas interacciones se pueden tener en cuenta en el diseño y operación de un proceso.

Conclusión

Este capítulo ha proporcionado los fundamentos conceptuales y cuantitativos para la modelación de un proceso biológico. Las características básicas de un modelo son:

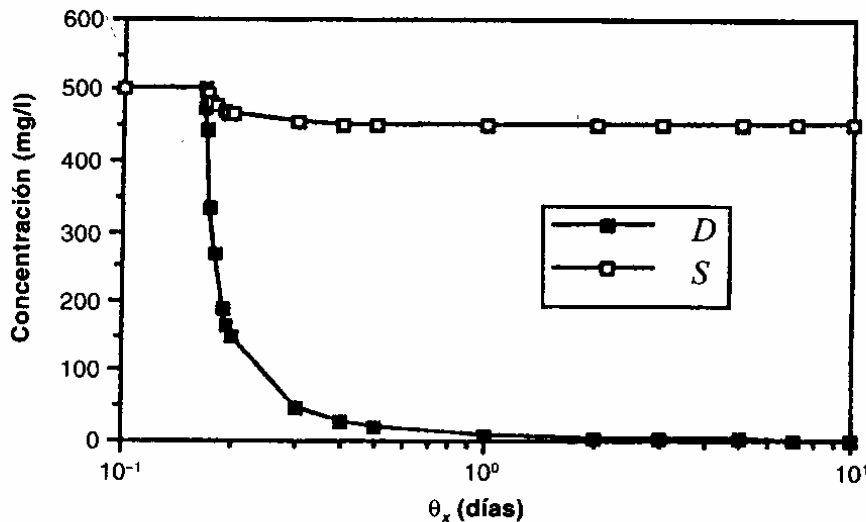


FIGURA 5.5. Efecto del tiempo de retención de la biomasa sobre las concentraciones de los sustratos primario y secundario en el efluente. Las condiciones constantes son: $D_0 = S_0 = 500$ mg BOD/l.

- Debe tener en cuenta el crecimiento y mantenimiento de una biomasa activa. Lo que requiere balances de masas sobre los sustratos primarios donantes y receptores de electrones, así como sobre la biomasa activa.
- Debe diferenciar a los sustratos secundarios, que no sirven de alimento para la biomasa, de los sustratos primarios:
- Debe considerar correctamente los diferentes tipos de interacciones entre los sustratos, incluyendo varios tipos de efectos de inhibición y de cosustratos.

Referencias bibliográficas

- Alexander, M. 1981. Biodegradation of chemicals of environmental concern. *Science*, 211:132-138.
- Andrews, J. F. 1968. A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates. *Biotechnol. Bioeng.*, 10:707-723.
- Bailey, J. E., and D. F. Ollis. 1986. *Biochemical Engineering Fundamentals*, McGraw-Hill, New York.
- Bouwer, E. J., and P. L. McCarty. 1985. Utilization rates of trace halogenated organic compounds in acetate-grown biofilms. *Biotechnol. Bioeng.*, 27:1564-1571.
- Dalton, H., and D. I. Stirling. 1982. Co-metabolism. *Philosoph. Trans. R. Soc. London Ser. B., Biolog. Sci.*, 297:481-496.
- Finlayson, B. A. 1980. *Nonlinear Analysis in Chemical Engineering*, McGraw-Hill, New York.
- Godrej, A. N., and J. H. Sherrard. 1988. Kinetics and stoichiometry of activated sludge treatment of a toxic organic wastewater. *J. Water Pollut. Contr. Fed.*, 60:221-226.
- Gottschalk, G. 1986. *Bacterial Metabolism*, 2nd ed., Springer-Verlag, New York.
- Kobayashi, H., and B. E. Rittmann. 1982. Microbial removal of hazardous organic chemicals. *Environ. Sci. Technol.*, 16:170A-181A.
- Little, C. D., A. V. Palumbo, S. E. Herbes, M. E. Lidstrom, R. L. Tyndall, and P. J. Gilmer. 1988. Trichloroethylene biodegradation by a methane-oxidizing bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54:951-956.
- MacDonald, J. A., B. Smets, and B. E. Rittmann. 1992. The effects of energy availability on the conjugative-transfer kinetics of plasmid RP4. *Water Research*, 26:461-468.
- Monod, J. 1949. The growth of bacterial cultures. *Annu. Rev. Microbiol.*, 3:371-394.
- Namkung, E. and B. E. Rittman. 1987. Estimating volatile organic compound emissions from publicly-owned treatment works, *JWPCF*, 59:670-678.
- Rittmann, B. E. 1990. Biotechnological control of hazardous organic contaminants in sewage works, pp. 21-36, in Proc. 4th WPCF/JSWA Joint Technical Seminar, Tokyo, Japan.
- Rittmann, B. E., D. Jackson, and S. L. Storck. 1988. Potential for treatment of hazardous organic chemicals with biological processes, pp. 15-64, in D. L. Wise (ed.), *Biotreatment Systems*, vol. III, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Rittmann, B. E., and P. L. McCarty. 1980. Model of steady-state-biofilm kinetics. *Biotechnol. Bioeng.*, 22:2359-2357.
- Rittmann, B. E., B. Smets, and D. A. Stahl. 1990. Genetic capabilities of biological processes. Part 1. *Environ. Sci. Technol.*, 24:23-29.
- Roels, J. A. 1983. *Energetics and Kinetics in Biotechnology*, Elsevier, Amsterdam.

- Sáez, P. B., and B. E. Rittmann. 1989. Discussion of kinetics and stoichiometry of activated sludge treatment of a toxic organic wastewater. *J. Water Pollut. Contr. Fed.*, 61: 357-358.
- Sáez, P. B., and B. E. Rittmann. 1991. Biodegradation kinetics of 4-chlorophenol, an inhibitory co-metabolite. *J. Water Pollut. Contr. Fed.*, 63:838-847.
- Smets, B., B. E. Rittmann, and D. A. Stahl. 1990. Genetic capabilities of biological processes. Part II. *Environ. Sci. Technol.*, 24:162-169.
- Smith, G. D. 1978. Numerical Solution of Partial Differential Equations: Finite Difference Methods. Clarendon Press, Oxford, United Kingdom.
- Stratton, R. G., E. Namkung, and B. E. Rittmann. 1983. Secondary utilization of trace organics by biofilms on porous media. *J. Am. Water Works Assoc.*, 75:463-469.
- Tsien, H. C., G. A. Brusseau, R. S. Hanson, and L. P. Wackett. 1989. Biodegradation of TCE by *Methylosinus trichosporium* OB3b. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55:3155-3161.
- Vogel, T. M., C. S. Criddle, and P. L. McCarty. 1987. Transformations of halogenated aliphatic compounds. *Environ. Sci. Technol.*, 21:722-736.
- Wang, H. E., and M. P. Anderson. 1982. Introduction to Groundwater Modeling, W. H. Freeman, San Francisco.

Capítulo 6

LIMITACIONES DE LA LEGISLACIÓN Y POLÍTICA VIGENTE: REGULACIÓN DE LA BIORRECUPERACIÓN DE RESIDUOS PELIGROSOS

David E. Giamporcaro

*Jefe de Sección, Programa de Biotecnología
Oficina de Prevención de la Contaminación y Tóxicos
Agencia de Protección Ambiental U.S.A.¹
Washington, DC*

Vamos a comenzar por una predicción: la década de los 90 será testigo de una importante expansión del uso de la biorrecuperación para degradar los residuos peligrosos, incluyendo las primeras aplicaciones comerciales de microorganismos sometidos a ingeniería genética². Este pronóstico optimista no se basa solamente en el estado actual de la ciencia de biorrecuperación. El progreso en este frente continúa a una velocidad impresionante; casi cada semana se anuncian logros im-

¹ Las opiniones expresadas son del autor, y no de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos.

² *Biorrecuperación* es «el proceso natural mediante el cual las bacterias u otros microorganismos alteran y rompen las moléculas orgánicas» dando lugar a los componentes constituyentes. La biorrecuperación está relacionada con la biodegradación (11). Existen dos métodos principales de biorrecuperación: la bioestimulación, método de recuperación predominante, y el bioaumentación (6). La bioestimulación implica la adición de materiales, como oxígeno, nitrógeno, fósforo, y oligoelementos, en una zona contaminada para acelerar los procesos naturales de biodegradación (20). El bioaumentación implica la introducción de microorganismos en una zona para aumentar la población autóctona o incrementar la velocidad degradadora (6).

portantes en las revistas técnicas. Sin embargo, el éxito futuro de la biorrecuperación depende no solamente de los logros científicos, sino también de la política y los requisitos reglamentarios (Day, 1990). Este pronóstico optimista se basa, por lo tanto, en el progreso realizado por la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de EE.UU. durante los últimos años a la hora de abordar los obstáculos reglamentarios y diferencias de datos que han impedido la aplicación de esta tecnología. Este desarrollo fomentará la comercialización de esta tecnología, y permitirá la aplicación de las técnicas de biorrecuperación de una forma ambientalmente correcta.

Este capítulo discutirá los estatutos y reglamentos federales, tanto existentes como en desarrollo, aplicables al uso de la biorrecuperación para el tratamiento de residuos peligrosos. Los principales estatutos implicados son el Acta de Recuperación y Conservación de Recursos (RCRA)³, y el Acta Global de Responsabilidad, Compensación y Respuesta Ambiental (CERCLA)⁴. La aplicación de esta tecnología también se puede ver afectada por la política y los reglamentos implantados bajo el Acta de Control de Sustancias Tóxicas (TSCA)⁵ y el Acta Federal de Plagas Agrícolas (FPPA)⁶. El propósito de este capítulo no es describir detalladamente los contenidos de estos estatutos y programas reglamentarios; ya se han escrito muchos tratados y artículos que cumplen esta finalidad, a los cuales se puede remitir el lector. El propósito de este capítulo es discutir el impacto, sobre el uso de la biorrecuperación, de los contenidos más importantes de los estatutos y programas reglamentarios mencionados anteriormente.

La promesa de biorrecuperación

Más de una década después de la aprobación de las leyes federales que intentaron solucionar el problema del tratamiento y evacuación de los residuos peligrosos, los EE.UU. todavía se enfrentan a un problema de una magnitud enorme. Aproximadamente 1.200 zonas de residuos peligrosos están registradas en la Lista de Prioridades Nacionales (NPL) establecida bajo el programa Superfondo (Bakst, 1991). EPA estima también que unas 4.000 zonas más precisan de una acción correctora según el RCRA. Todas juntas, según Thayer (1991), «Decenas de miles de lugares, incluyendo depósitos subterráneos y derrames de petróleo o de productos químicos, necesitarán tratamiento».

Enfrentados a una tarea de estas proporciones, la biorrecuperación ofrece algunas ventajas claras sobre las técnicas convencionales de tratamiento de residuos peligrosos. Una de las principales ventajas es el coste. La biorrecuperación ofrece importantes ahorros frente a las principales tecnologías de tratamiento de residuos

³ 42 U.S.C. §6901, y ss. En 1976 se aprobó el RCRA.

⁴ 42 U.S.C. §9601, y ss. En 1980 se aprobó el CERCLA, y generalmente se denomina Superfondo.

⁵ 15 U.S.C. §2601, y ss. En 1976 se aprobó el TSCA.

⁶ 7 U.S.C. §150aa, y ss. En 1957 se aprobó el FPPA, administrado por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA).

peligrosos. Los costes de incineración, por ejemplo, varían entre 300 \$ y 1.000 \$ por tonelada de suelo, mientras la evacuación terrestre supone entre 200 \$ y 300 \$ por tonelada. Frente a estas cifras, la biorrecuperación del suelo cuesta entre 50 \$ y 150 \$ por tonelada (Glass, 1991). Otra ventaja importante es que la biorrecuperación se puede realizar provocando un menor impacto ambiental negativo sobre el lugar afectado y, posiblemente, sobre el ambiente en general. Por ejemplo, la biorrecuperación *in situ* normalmente implicaría una perturbación mínima del suelo superficial. Además, la biorrecuperación evita algunos de los inconvenientes ambientales asociados a las principales tecnologías de tratamiento⁷.

Sin embargo, la mayor ventaja de la biorrecuperación quizás todavía no se haya aprovechado. Se trata del uso de las tecnologías de biorrecuperación como instrumento en la prevención de la contaminación. Varios expertos en el tema han citado la biorrecuperación para la minimización de los residuos como una de las aplicaciones futuras más prometedoras de la tecnología (Bakst, 1991; Glass, 1991). EPA conoce bien este potencial. El Administrador de EPA, William Reilly, en una reunión celebrada en junio de 1991 entre representantes de la industria de la biorrecuperación y la Agencia, dijo acerca de las diversas aplicaciones de esta biotecnología: «deben llegar a formar parte de nuestras futuras discusiones y acciones en la prevención de la contaminación» (U.S. EPA, 1991a).

No es sorprendente, entonces, que EPA haya mostrado tanto interés durante los últimos dos años y medio en relación a valorar los obstáculos científicos, institucionales y reglamentarios que existen en contra de la aplicación de esta tecnología. Reilly ha expresado claramente el compromiso de la Agencia respecto a aprovechar el potencial de la biorrecuperación:

«Creo que debemos seguir desarrollando de forma agresiva todo el potencial de la biorrecuperación para tratar los residuos peligrosos, y limpiar nuestras zonas abandonadas... Sigo creyendo que la biorrecuperación tiene el potencial para ser una tecnología de tratamiento dominante para las operaciones de limpieza en el futuro.» (U.S. EPA, 1991a.)

Regulación de los residuos peligrosos

Los dos estatutos con mayores implicaciones para la biorrecuperación, tanto a largo como a corto plazo, son el RCRA y el CERCLA.

El RCRA ha sido descrito como el programa reglamentario ambiental más complejo. El RCRA establece un sistema global para gestionar el almacenamiento, tratamiento, y evacuación de los residuos sólidos y peligrosos, incluyendo su identificación, y el establecimiento de las normas de tratamiento, almacenamiento y evacuación que son aplicables a los generadores y transportistas de residuos peli-

⁷ Por ejemplo, las incineradoras plantean inquietudes en relación a las emisiones atmosféricas y problemas con la evacuación de las cenizas (Glass, 1991; Thayer, 1991).

grosos, y a los propietarios y operadores de las instalaciones de tratamiento, almacenamiento y evacuación.

El CERCLA se aprobó para permitir y otorgar a EPA la capacidad de limpiar las zonas contaminadas en toda la geografía nacional. Como el CERCLA depende de alguna forma de las determinaciones y requisitos impuestos por el RCRA, este último estatuto y sus reglamentos serán discutidos en primer lugar.

Acta de conservación y recuperación de recursos (RCRA)

El RCRA se divide en varias secciones principales, o subtítulos. Esta discusión se centrará en los contenidos seleccionados de los Subtítulos C (Residuos Peligrosos), e I (Depósitos de Almacenamiento Subterráneo).

Subtítulo C: Identificación, tratamiento, almacenamiento y evacuación de residuos peligrosos. El Subtítulo C requiere que EPA identifique los residuos peligrosos; conceda permisos a las instalaciones que tratan, almacenan, y/o evacúan los residuos peligrosos; y fije los niveles de tratamiento de los residuos antes de su evacuación terrestre (Bakst, 1991). El RCRA está estructurado de tal forma que, en primer lugar, es necesario determinar si el residuo implicado cumple la definición estatutaria de residuo sólido. *Residuo sólido* se define, en general, como cualquier material sólido o líquido que va a ser desechado⁸.

Existen varias excepciones importantes a la definición de residuo sólido. Las aguas residuales domésticas, o mezclas de las mismas con residuos industriales vertidos a una Planta de Tratamiento de Propiedad Pública, y los vertidos puntuales de aguas residuales industriales sujetos a un permiso del Sistema Nacional de Permisos para el Vertido y Eliminación (NPDES) emitido bajo el Acta de Aguas Limpias⁹, no se consideran residuos sólidos y, por lo tanto, no están sujetos a la regulación del RCRA¹⁰.

EPA, además, ha establecido dos amplias categorías para los residuos peligrosos: (1) residuos característicos, y (2) residuos listados.

Los *residuos característicos* son residuos que presentan una o más de las cuatro características diferentes que se citan a continuación: inflamabilidad, reactividad, corrosividad y toxicidad. Las tres primeras, más o menos, son fáciles de explicar. Las normas de EPA establecen unos criterios específicos para determinar si los residuos son inflamables, reactivos, o corrosivos¹¹. La característica de toxicidad está relacionada con «el potencial de algunos constituyentes tóxicos para lixivarse a las aguas subterráneas» (Bakst, 1991). La característica de toxicidad se aplica a 40 compuestos inorgánicos y orgánicos que, si están presentes en los lixi-

⁸ 42 U.S.C. §6903 (27). Véase también 40 C.F.R. §261.2.

⁹ Los permisos del NPDES son emitidos por EPA y establecen los límites permisibles para el vertido de contaminantes en las aguas navegables de Estados Unidos. Véase 33 U.S.C §1342.

¹⁰ 40 C.F.R. §261.4(a).

¹¹ 40 C.F.R. §261.21 (inflamabilidad); §261.22 (corrosividad); §261.23 (reactividad).

viados de un residuo en una cantidad que exceda el límite reglamentario, convierten el material residual fuente en un material peligroso ¹².

Los *residuos listados*, como implica el término, hacen referencia a los materiales residuales o flujos de residuos procedentes de procesos industriales que EPA ha designado como peligrosos de forma explícita. Los residuos listados se dividen en cuatro categorías: F, K, P, y U. Los residuos F son los residuos designados procedentes de fuentes no específicas. Normalmente, son productos químicos, residuos y productos secundarios generados en diversos sectores industriales (Bakst, 1991; Hill, 1991) ¹³. Los residuos K son aquellos generados en fuentes específicas. Fundamentalmente se trata de fangos o productos secundarios generados en fuentes industriales específicas; por ejemplo, los fangos procedentes de la producción de diversos pesticidas (Hill, 1991) ¹⁴. Los residuos P son los productos químicos comerciales específicos muy peligrosos y sus lotes de producción sin especificación, así como el material residual procedente de los derrames de estos productos, y el material residual procedente de los contenedores que contenían estos productos (Bakst, 1991) ¹⁵. Los residuos U son los productos químicos comerciales específicos desechados o sus variantes sin especificación, y el material residual procedente de los derrames de estos productos (Bakst, 1991) ¹⁶. Con todo lo expuesto, estas listas contienen unos 400 productos químicos peligrosos o flujos de residuos industriales diferentes (Thayer, 1991).

Existen normas importantes que han ampliado aún más el alcance de la clasificación de residuo peligroso.

La «norma mezcla» de EPA establece que cualquier mezcla de un residuo sólido con un residuo peligroso será considerada como residuo peligroso (Bakst, 1991). La norma mezcla pretende evitar la evacuación de los residuos peligrosos recogidos en el RCRA mediante su unión a otros residuos sólidos. La mayoría de los residuos peligrosos característicos se pueden convertir en no peligrosos mediante un tratamiento que elimine las condiciones que provocaron su clasificación como peligrosos ⁷. Por ejemplo, si los residuos contuviesen uno de los compuestos sujetos a la característica de toxicidad en una concentración por encima del umbral reglamentario, se podrían convertir en no peligrosos mediante un tratamiento que provocase una reducción de la concentración del contaminante concreto por debajo del umbral reglamentario.

Sin embargo, la situación es diferente si el residuo sólido está mezclado con un residuo peligroso listado ¹⁸. En este caso, el tratamiento no modifica la clasificación del residuo mezclado como residuo peligroso. Un residuo peligroso listado

¹² 40 C.F.R. §261.24.

¹³ 40 C.F.R. §261.31.

¹⁴ 40 C.F.R. §261.32.

¹⁵ 40 C.F.R. §261.33(e).

¹⁶ 40 C.F.R. §261.33(f).

¹⁷ 40 C.F.R. §261.3(a)(2)(iii), (d)(1).

¹⁸ 40 C.F.R. §261.3(a)(2)(iv).

no puede cambiar su estado a residuo reglamentario mediante este tipo de tratamiento¹⁹.

La política «contenido» de EPA establece que cualquier medio ambiental (es decir, suelo o aguas subterráneas) que contenga un residuo peligroso listado será considerado como residuo peligroso, y se deberá tratar, almacenar, o evacuar como tal (Bakst, 1991)²⁰. Además, la norma «derivado de» de EPA establece que cualquier producto secundario generado por el tratamiento, almacenamiento, o evacuación de un residuo peligroso listado será considerado de la misma forma que el residuo listado (Bakst, 1991; Hill, 1991)²¹.

El efecto práctico de estas normas es que el suelo o el agua subterránea contaminada con residuos peligrosos listados, o el rechazo de cualquier proceso de tratamiento empleado para degradar un residuo peligroso listado —por ejemplo, las cenizas de una incineradora o la biomasa de un reactor— debe ser tratado, en sí mismo, como residuo peligroso.

El 6 de diciembre de 1991 el Tribunal de Apelación de Estados Unidos para el Distrito de Columbia invalidó y devolvió las normas «derivado de» y «mezclas» a EPA basándose en que la agencia no había notificado y comentado las normas lo suficiente antes de su promulgación en 1980²². Para evitar «una discontinuidad en la regulación de los residuos peligrosos», el tribunal recomendó a EPA volver a promulgar normas con carácter provisional²³.

EPA reinstauró las normas en marzo de 1992 publicando una norma final provisional²⁴. El objetivo de la norma final provisional es asegurar que no exista un agujero legal en la administración del programa de residuos peligrosos. Esta norma provisional caducó el 28 de abril de 1993. Durante el período intermedio, EPA volverá a proponer las normas sobre «mezcla» y «derivado de» con el fin de solicitar comentarios de la opinión pública acerca de las alternativas de gestión para los residuos mezclados y subproductos de tratamiento²⁵.

Cuando se determina que un residuo es peligroso, se desenlazan una serie de requisitos reglamentarios en relación a su almacenamiento, tratamiento²⁶, y eva-

¹⁹ 40 C.F.R. §261.3(c)(1). Para que un residuo peligroso listado, o el material —como suelo o aguas subterráneas— que contiene un residuo peligroso listado, no sea considerado peligroso, debe ser excluido de la lista. 40 C.F.R. §261.3(d)(2).

²⁰ 40 C.F.R. §261.3(b)(2).

²¹ 40 C.F.R. §261.3(c)(2)(i).

²² *Shell Oil Company contra EPA*, 950 F. 2d 741 (D.C. Cir. 1991).

²³ *Ibid.*, Slip Op. en 20-21.

²⁴ «Sistema de Gestión de Residuos Peligrosos; Definición de Residuo Peligroso; Normas sobre «Mezclas» y «Derivado de»; Norma Final Provisional», 57 *Registro Federal* 7628 (3 de marzo, 1992).

²⁵ Véase Sistema de Gestión de los Residuos Peligrosos; Definición de Residuos Peligrosos; Normas sobre «Mezclas» y «Derivado de»; Normativa Propuesta, 57 *Registro Federal* 7636 (3 de marzo, 1992).

²⁶ *Tratamiento* se define como «cualquier método, técnica, o proceso, diseñado para cambiar la naturaleza o composición física, química o biológica de cualquier residuo peligroso con el fin de convertir dicho residuo en un residuo no peligroso...» 42 U.S.C. §6903(34); 40 C.F.R. §260.10.

cuación. Cualquier instalación que trate, almacene o evacúe los residuos peligrosos del RCRA debe contar con un permiso de EPA, o estar operando bajo lo que se denomina «estado provisional» pendiente del permiso final. Mediante los permisos RCRA, o las normas aplicables a las instalaciones con estado provisional, EPA impone los requisitos que controlan la limpieza de los residuos peligrosos para la acción correctora. A continuación se discuten dichos requisitos.

Existen algunas excepciones importantes al requerimiento de un permiso o al cumplimiento de las normas provisionales antes de poder tratar o evacuar un residuo peligroso. Los generadores que originen menos de 100 kg de residuos peligrosos al mes (generadores en pequeñas cantidades) están exentos del RCRA²⁷. Los que generen más de 100 kg pero menos de 1.000 kg al mes pueden acumular y tratar los residuos peligrosos en la propia instalación durante un período límite de 180 días, en depósitos o contenedores que pueden cumplir los requisitos reglamentarios mínimos sin necesidad de obtener un permiso RCRA o cumplir las normas de estado provisional²⁸. De igual forma, los generadores de más de 1.000 kg de residuos peligrosos al mes pueden acumular y tratar los residuos *in situ* durante un período límite de 90 días sin el requisito de obtener un permiso²⁹.

Además, los propietarios u operadores de instalaciones de tratamiento completamente cerradas no están sujetos al permiso RCRA o a los requisitos de estado provisional³⁰. Una *instalación de tratamiento completamente cerrada* se define como una instalación «que está directamente conectada a un proceso de producción industrial y que está construida y operada de forma que evite la emisión de cualquier residuo peligroso, o de cualquier constituyente del mismo, al ambiente durante su tratamiento»³¹.

Estas excepciones son importantes, ya que permitirán el uso de la biorrecuperación o de cualquier otra forma de tratamiento de residuos peligrosos sin necesidad de obtener primero la aprobación del método de tratamiento bajo el programa RCRA. EPA ha adoptado de forma expresa que los residuos peligrosos se puedan tratar mientras se almacenan en los depósitos o contenedores durante los períodos de acumulación de 90 o 180 días³².

La excepción que se aplica a las instalaciones de tratamiento completamente cerradas también puede tener consecuencias importantes sobre el uso de la biorrecuperación como forma de tratar flujos de residuos. Los biorreactores instalados como sistemas de tratamiento final de tubería para los efluentes industriales se pueden clasificar bajo el RCRA como instalaciones de tratamiento completamente cerradas. Además de que reducen las inquietudes reglamentarias debido a su naturaleza cerrada, los biorreactores se pueden diseñar también para tratar flujos residuales industriales específicos. La integración de los biorreactores en los procesos

²⁷ 40 C.F.R. §261.5(a).

²⁸ 40 C.F.R. §262.34(d).

²⁹ 40 C.F.R. §262.34(a).

³⁰ 40 C.F.R. §264.1(g)(5).

³¹ 40 C.F.R. §260.10.

³² 51 *Registro Federal* 10146, 10168 (24 de marzo, 1986).

industriales ya existentes para minimizar los residuos no debe plantear muchos problemas de carácter técnico, ya que la tecnología es similar a la utilizada durante décadas para el tratamiento de las aguas residuales industriales (Glass, 1991). La tecnología de tratamiento continuo característica de los biorreactores es similar a la tecnología utilizada para el tratamiento de aguas residuales (Glass, 1991). De hecho, varias empresas nacionales de biorrecuperación están investigando el uso de sistemas contenidos para la degradación de los residuos (Garg y Garg, 1990; Glass, 1991)³³.

Cuando no sean aplicables las excepciones ya mencionadas, las provisiones de acción correctora del RCRA controlarán el uso de los métodos de tratamiento para degradar los residuos peligrosos en las instalaciones de tratamiento, almacenamiento o evacuación.

Las enmiendas al RCRA de 1984³⁴ modifican de forma dramática el programa de acción correctora. Antes de 1984, las normas del RCRA para la acción correctora se dirigían fundamentalmente a supervisar la lixiviación a las aguas subterráneas de los constituyentes peligrosos presentes en almacenes, pilas de residuos, unidades de tratamiento terrestre, o vertederos (Hill, 1991)³⁵. Las enmiendas de 1984 requieren una acción correctora por parte de la instalación oficial, o en estado provisional, dedicada al tratamiento, almacenamiento o evacuación para limpiar los derrames o escapes de constituyentes peligrosos procedentes de cualquier unidad de gestión de residuos sólidos localizada dentro de la instalación. Una *unidad de gestión de residuos sólidos* es cualquier estructura utilizada para recolectar, almacenar, tratar, o evacuar residuos sólidos³⁶.

Las normas de acción correctora promulgadas por EPA en 1985 son muy generales. EPA exige que los propietarios u operadores de las instalaciones de tratamiento, almacenamiento o evacuación «lleven a cabo la acción correctora necesaria para proteger la salud pública y el medio ambiente en relación a cualquier emisión

³³ La política «contenido en» y las normas «derivado de» y «mezcla» discutidas anteriormente quizás no sean aplicables a los biorreactores integrados en procesos industriales para la minimización de residuos. Los requisitos del RCRA para el tratamiento, almacenamiento, y evacuación de residuos peligrosos solamente se aplican después de que se genere un residuo peligroso (Day, 1990). Por lo tanto, los biorreactores utilizados para el tratamiento de los flujos de procesos industriales con el fin de evitar la generación de un residuo peligroso, no entrarán en los requisitos del RCRA. Sin embargo, otras normas de EPA (p. ej., los permisos NPDES bajo el Acta del Agua Limpia) pueden ser aplicables para los efluentes de estos biorreactores, según el medio al que finalmente se vierta el efluente.

³⁴ Enmiendas de 1984 sobre Residuos Sólidos y Peligrosos, Pub. L. No. 98-616.42 U.S.C. §6901 y ss.

³⁵ Véase 40 C.E.R. §264.92-264.100.

³⁶ La definición *unidad de gestión de residuos sólidos* ha puesto a un gran número de estructuras al alcance de los requisitos de acción correctora. EPA estima que existen 5.700 instalaciones de tratamiento, almacenamiento y evacuación en Estados Unidos, lo que engloba a unas 80.000 unidades de gestión de residuos sólidos. Esto no incluye a las instalaciones federales que se cuentan por centenas y que también están sujetas a estos requisitos (Bakst, 1991). El programa de acción correctora del RCRA «se espera que supere en número, con mucho, al programa Superfondo» (Bakst, 1991).

de residuos peligrosos o constituyentes procedentes de cualquier unidad de gestión de residuos sólidos en la propia instalación», y requiere que «la acción [c]orrectora se especifique en el permiso [de la instalación]»³⁷. En la práctica, esto ha permitido que EPA pueda controlar el proceso de limpieza en una instalación RCRA mediante la especificación del/de los método/s de tratamiento que se pueden utilizar para afrontar una emisión de residuos peligrosos en la instalación. EPA realiza este control modificando el permiso de una instalación aprobada por el RCRA para que especifique el/los método/s de tratamiento que se pueden utilizar en la acción correctora, o emitiendo o modificando la orden administrativa de una instalación en estado provisional con el mismo objetivo (Hill, 1991).

La aprobación de los métodos de tratamiento que se pueden emplear para la limpieza de las emisiones en las unidades de gestión de residuos sólidos dentro de las instalaciones de tratamiento, almacenamiento, o evacuación implican un proceso de evaluación de múltiples etapas. Primero, EPA realiza una evaluación de la instalación, y a continuación una investigación de la misma. Finalmente, se lleva a cabo un estudio sobre las medidas correctoras para identificar el/los método/s de tratamiento a aplicar (Bakst, 1991). El proceso es largo y costoso, y suele retrasar la acción de limpieza establecida bajo el RCRA de modo parecido a los retrasos sufridos bajo el programa Superfondo en las zonas NPL.

Las empresas que proporcionan servicios de biorrecuperación *in situ* en una instalación con permiso del RCRA o en una instalación en estado provisional normalmente no tienen obligación de sacar su propio permiso (Bakst, 1991). Estas empresas no se consideran ni generadoras de residuos, ni propietarias u operadoras de la instalación. Sin embargo, EPA debe aprobar de forma expresa el proyecto de biorrecuperación mediante una modificación del permiso RCRA de la instalación, o concediendo o modificando la orden administrativa de la instalación en estado provisional. Además, es necesario destacar que una empresa de biorrecuperación que reciba y trate residuos peligrosos en su propia instalación *si* deberá obtener un permiso o cumplir las normas de estado provisional (Bakst, 1991). En este caso, la empresa será considerada propietaria u operadora de una instalación de tratamiento, almacenamiento, y evacuación. Las enmiendas al RCRA de 1984 prohibieron también la evacuación terrestre de algunos residuos peligrosos si éstos no han sido pretratados a los niveles especificados³⁸. EPA implantó también este requisito mediante la promulgación de una serie de normas que prohibían la evacuación terrestre de diferentes grupos de residuos peligrosos: disolventes³⁹, y residuos que contienen dioxinas⁴⁰, los residuos denominados «lista de California»⁴¹, y los residuos peligrosos específicos listados y los característicos agrupados en las normas comúnmente denominadas «Primer Tercio»⁴², «Segundo Tercio»⁴³, y «Ter-

³⁷ 40 C.F.R. §264.101.

³⁸ 42 U.S.C. §6924(d).

³⁹ 40 C.F.R. §268.30.

⁴⁰ 40 C.F.R. §268.31.

⁴¹ 40 C.F.R. §268.32.

⁴² 40 C.F.R. §268.33.

⁴³ 40 C.F.R. §268.34.

cer Tercio»⁴⁴. Las normas de evacuación terrestre (NETs) se han convertido en uno de los elementos más controvertidos del programa RCRA, e influyen directamente sobre el uso de la biorrecuperación en las acciones correctoras de las instalaciones RCRA.

La prohibición de evacuación terrestre no es aplicable si se puede demostrar que no se producirá ninguna migración de los constituyentes peligrosos fuera de la unidad de evacuación mientras los residuos sean peligrosos⁴⁵. En este caso, es posible lograr una excepción a las NETs solicitando una petición de «no migración» a EPA⁴⁶.

Sin embargo, en ausencia de tal solicitud, las NETs requieren que, antes de la evacuación terrestre, los residuos peligrosos sean pretratados mediante un método específico (p. ej., incineración), o que el nivel de concentración del residuo cumpla un nivel establecido, lo que se denomina *normas de tratamiento*. En la norma Tercer Tercio, por ejemplo, la biorrecuperación ha sido identificada como un método permisible de tratamiento para 16 residuos diferentes. Incluso cuando se hayan establecido determinados métodos de tratamiento, existe un mecanismo reglamentario que permite el uso de métodos alternativos equivalentes a los métodos de tratamiento que se hayan especificado⁴⁷. Cuando se han establecido unas normas de tratamiento, se puede utilizar cualquier método —incluyendo la biorrecuperación— capaz de conseguir el valor límite de la norma de tratamiento antes de la evacuación al terreno de los residuos.

El problema radica en los niveles de concentración que se hayan fijado en las normas de tratamiento. Cuando se implantaron las restricciones de evacuación terrestre en las enmiendas al RCRA de 1984, EPA exigió que las normas de tratamiento se fijasen según la reducción de residuos que se pudiese conseguir utilizando la *mejor tecnología disponible contrastada* (MTDD). Los sectores más críticos han denunciado que, como consecuencia de este requisito, las normas de tratamiento se suelen basar en los niveles de descontaminación que se pueden lograr mediante tecnologías convencionales, como por ejemplo la incineración, y, por lo tanto, en objetivos de descontaminación artificialmente altos, difíciles de conseguir biológicamente (Bakst, 1991; Day, 1990; Glass, 1991). Los sectores críticos también han cuestionado el requisito MTDD por dar lugar a unas normas de tratamiento basadas en la tecnología y no en la salud (Day, 1990; Thayer, 1991).

Otra inquietud es que las NETs pueden restringir los casos en los que se puede utilizar la tecnología de biorrecuperación. Las NETs consideran que ciertos residuos peligrosos no se pueden localizar «en o sobre el suelo»⁴⁸ si previamente no se tratan con una tecnología específica, o cumplen las normas de tratamiento aplica-

⁴⁴ Recientemente, algunas partes de la norma tercera se han devuelto a la agencia. Véase «Gestión de Productos Químicos Residuales contra EPA», 976 F. 2d 2 (D. C. Cir. 1992) 40 C.F.R. §268.35.

⁴⁵ 42 U.S.C. §6924(d)(1).

⁴⁶ 40 C.F.R. §268.6.

⁴⁷ 40 C.F.R. §268.42(b).

⁴⁸ *Evacuación terrestre* se define como la disposición de un residuo peligroso «en o sobre... el suelo». 40 C.F.R. §268.2(c).

bles. Por lo tanto, cualquier disposición del material —suelo o aguas subterráneas— contaminado con residuos peligrosos listados en las NETs puede disparar el requisito de pretratamiento. Los sectores críticos han señalado que esto puede restringir el uso de la biorrecuperación como método primario o secundario de tratamiento (Day, 1990).

Recientemente, EPA ha adoptado una serie de medidas para plantear estos problemas. Las enmiendas al RCRA de 1984 establecieron una excepción de cuatro años a la aplicabilidad de las NETs al suelo y a los escombros contaminados que recibiesen una acción de respuesta mediante el programa Superfondo o una acción correctora RCRA⁴⁹. Esta excepción estatutaria expiraba el 8 de noviembre de 1988. EPA ha completado la excepción mediante una serie de exenciones nacionales que consisten en un período de dos años antes de la aplicación de los requisitos NETs al suelo y a los escombros contaminados con una serie de residuos específicos⁵⁰. Por ejemplo, en la norma Tercer Tercio recientemente promulgada, EPA estableció una exención nacional para el suelo y los escombros contaminados con diversas categorías de residuos, incluyendo aquellos con las normas de tratamiento basadas en la incineración, vitrificación, y tratamiento del mercurio⁵¹.

EPA ha reconocido que los requisitos MTDD de las NETs quizás no sean aplicables a las acciones correctoras RCRA o CERCLA hasta que se establezcan las normas MTDD para el suelo y los escombros contaminados⁵². «Las normas MTDD se establecieron para los flujos residuales de procesos o para los residuos puros, no para materiales, como suelo y escombros, contaminados con residuos peligrosos» (Thayer, 1991).

Sin embargo, cuando caduquen las exenciones nacionales, el suelo y los escombros contaminados con residuos sujetos a las NETs no se podrán evacuar de

⁴⁹ 42 U.S.C. §6924(d)(3).

⁵⁰ Las exenciones nacionales para el suelo y los escombros contaminados con residuos específicos sujetos a las NETs están codificadas en 40 C.F.R. §268.30 (c) (exención para el suelo y los escombros contaminados con residuos F001-F005); 40 C.F.R. §268.31(a)(1) (exención para el suelo y los escombros contaminados con residuos F020-F023 o F026-F028); 40 C.F.R. §268.32(d)(1) y (d)(2) (exención para el suelo y los escombros contaminados con los residuos de la lista de California); 40 C.F.R. §268.33(c) (exención para el suelo y los escombros contaminados con los residuos Primer Tercio con un estándar de tratamiento basado en la incineración); 40 C.F.R. §268.43 (d) (exención para el suelo y los escombros contaminados con los residuos Segundo Tercio con una norma de tratamiento basada en la incineración); 40 C.F.R. §268.35(c), (d) y (e) (exención para diversas categorías de residuos del Tercer Tercio).

⁵¹ *Registro Federal* 22.520, 22.634-22.635 (1 de junio, 1990). La exención nacional para suelos y escombros contaminados con los residuos peligrosos listados en la norma Tercer Tercio ha sido prorrogada hasta el 8 de mayo de 1993. Las restricciones globales de evacuación terrestre para los residuos Tercer Tercio entraron en vigor el 8 de agosto de 1990.

⁵² EPA está desarrollando estándares MTDD por separado para los suelos y escombros contaminados con residuos listados en las NETs. Los estándares MTDD para los escombros se promulgaron en agosto de 1992: «Restricciones de Evacuación Terrestre para Residuos Listados Nuevos y Escombros Peligrosos», *57 Registro Federal* 37194 (18 de agosto, 1992). La norma recoge 17 tecnologías diferentes de tratamiento MTDD —incluyendo la biorrecuperación— que se pueden utilizar para tratar los escombros peligrosos.

forma terrestre sin un pre-tratamiento. Mientras tanto, las normas de tratamiento para el suelo y los escombros contaminados se establecen mediante la emisión de exenciones genéricas o lugar-específicas⁵³. Las exenciones se pueden otorgar si «el residuo no se puede tratar para conseguir un nivel específico, o bien, cuando la tecnología de tratamiento no es apropiada para el residuo». El solicitante «debe demostrar que, debido a que las propiedades físicas y químicas del residuo difieren significativamente de las que presentaban los residuos analizados durante el desarrollo de la norma de tratamiento, el residuo no se puede tratar a los niveles especificados o mediante los métodos propuestos»⁵⁴.

EPA ha propuesto también otras posibles soluciones a los problemas planteados por las NETs. En julio de 1990, EPA propuso una serie de reglamentos para llevar a cabo la acción correctora en las instalaciones de tratamiento, almacenamiento y evacuación RCRA⁵⁵. Las normas propuestas incorporan varios conceptos importantes. Por ejemplo, las normas de acción correctora tienen en cuenta un proceso más flexible de evaluación del lugar. EPA espera que la flexibilidad en el proceso de evaluación de la acción correctora permita que los lugares RCRA lleguen al estado de limpieza más rápidamente de lo que ha sucedido con los lugares Superfondo (Thayer, 1991).

La norma propuesta adopta también un estándar basado en la salud para elegir el nivel apropiado de limpieza en las instalaciones RCRA. Respecto a los residuos cancerígenos, las normas de limpieza para los constituyentes en aguas subterráneas, aguas superficiales, suelos y aire se basarían en los estándares específicos medioambientales que existen en la actualidad, como por ejemplo, los niveles máximos de contaminantes establecidos en el Acta de Agua Potable. Cuando no existan tales estándares, los estándares de limpieza «se establecerían de acuerdo con el rango de seguridad para riesgos, 1×10^{-4} – 1×10^{-6} »⁵⁶. Se emplearían factores lugar-específicos para establecer dónde fijar el nivel de limpieza dentro de este rango⁵⁷.

La norma propuesta también crearía *unidades de gestión de acción correctora*, o UGACs, que posibilitarían el tratamiento de los residuos peligrosos dentro de una zona específica sin disparar las normas de tratamiento NET (Thayer, 1991). Si se implantasen, las UGACs representarían una excepción importante a la aplicabilidad de las NETs. Este concepto haría posible que varias unidades diferentes de gestión de residuos sólidos en una instalación RCRA fuesen consideradas como una sola unidad a efectos de las NETs. Los residuos se podrían recolectar y verter sobre el suelo dentro de los límites de una UGAC sin disparar las normas de trata-

⁵³ 40 C.F.R. §268.44.

⁵⁴ 40 C.F.R. §268.44(a).

⁵⁵ «Acción Correctora para Unidades de Gestión de Residuos Sólidos en las Instalaciones de Residuos peligrosos», 55 *Registro Federal* 30798 (27 de julio, 1990). Estas normas propuestas sustituirán a las normas generales de acción correctora que se encuentran ahora en 40 C.F.R. §264.101.

⁵⁶ 55 *Registro Federal* 30798, 30826 (27 de julio, 1990).

⁵⁷ *Ibidem*.

miento NETs; de esta forma se lograría una mayor flexibilidad en la selección de los métodos de tratamiento (Bakst, 1991)⁵⁸.

Además, EPA ha propuesto recientemente el establecimiento de una unidad de almacenamiento y tratamiento denominada *edificio de contención*⁵⁹. Dentro de esta unidad se podrían tratar y almacenar ciertos residuos peligrosos, incluyendo escombros contaminados, sin disparar los requisitos NETs⁶⁰. Es importante que EPA haya reconocido que los proyectos de biorrecuperación *in situ* a menudo tienen lugar dentro de estructuras temporales, y haya solicitado sugerencias sobre qué niveles se deben aplicar en estos *edificios de tratamiento con biorrecuperación*.⁶¹ EPA ha reconocido también que se realizan diversos tipos de tratamientos, incluyendo la biorrecuperación, en depósitos y contenedores, y ha propuesto que se permitan estas técnicas de tratamiento dentro de los edificios de contención⁶².

Subtítulo 1: Depósitos de almacenamiento subterráneo. El Subtítulo 1 se añadió al RCRA como parte de las enmiendas de 1984⁶³. Este subtítulo impone a los depósitos de almacenamiento subterráneo (DAS) una serie de requisitos, incluyendo requisitos para la acción correctora, similares a los impuestos en el Subtítulo C del RCRA a los propietarios y operadores de instalaciones de tratamiento, almacenamiento y evacuación (Hill, 1991). En caso de producirse un escape en un DAS, el propietario u operador probablemente tendrá que desarrollar y entregar un plan de acción correctora⁶⁴. Además, puede existir una cláusula temporal o permanente del DAS que dispare la acción correctora si se detecta un escape⁶⁵.

Los estados son quienes regulan principalmente la contaminación con petróleo provocada por los escapes en los DAS. Existen diferencias considerables entre los distintos estados a la hora de establecer los estándares de limpieza para los suelos o aguas subterráneas contaminadas con petróleo o productos relacionados. «[L]os criterios numéricos que activan la recuperación de los suelos contaminados con productos petrolíferos... determinarán si la biorrecuperación es una tecnología de tratamiento viable» (Asociación Nacional de Gobernadores, 1991).

Investigación y desarrollo bajo el RCRA. Las normas RCRA también tienen en cuenta la concesión de permisos de investigación, desarrollo y demostración (ID&D) para las instalaciones de tratamiento de residuos peligrosos que proponen

⁵⁸ Los reglamentos que implantan el concepto UGAC se promulgaron en febrero de 1993. 58 *Registro Federal* 8658 (16 de febrero, 1993).

⁵⁹ Véase «Restricciones de Evacuación Terrestre para Residuos Listados Nuevos y Escombros Contaminados», 57 *Registro Federal* 958, 978 (9 de enero, 1992).

⁶⁰ Bajo el programa NET actual, el tratamiento y almacenamiento de residuos peligrosos dentro de una estructura es considerado como una pila externa de residuos, lo que a su vez es considerado como un tipo de evacuación terrestre prohibida. 57 *Registro Federal* 958, 978. (9 de enero, 1992).

⁶¹ 57 *Registro Federal*, 958, 981 (9 de enero, 1992).

⁶² *Ibidem*.

⁶³ 42 U.S.C. §6991-6991i.

⁶⁴ 40 C.F.R. §280.66(a).

⁶⁵ 40 C.F.R. §280.70(a), §280.72.

«utilizar una tecnología o proceso innovador y experimental en el tratamiento de residuos peligrosos»⁶⁶. Estos permisos especifican el tipo y la cantidad de residuos sólidos que se pueden tratar, e incluyen condiciones sobre cómo se llevará a cabo la investigación, es decir, imponen una serie de controles y requisitos.

El programa de permisos ID&D no se ha convertido en un elemento importante del programa reglamentario RCRA. EPA ha concedido pocos permisos ID&D, debido fundamentalmente a la necesidad de dedicar los recursos al desarrollo y a la implantación de otros aspectos del programa de residuos peligrosos.

Una vía más importante de investigación bajo el RCRA son los estudios de tratabilidad⁶⁷. Los *estudios de tratabilidad* se definen como aquellos estudios que sirven para determinar cómo se puede tratar eficazmente un residuo peligroso⁶⁸. Los laboratorios o instalaciones de ensayo pueden realizar pruebas, sin obtener un permiso RCRA o de estado intermedio, en muestras que no superen: 1.000 kg de residuos no peligrosos, 1 kg de residuos peligrosos agudos, o 250 kg de suelo, agua, o escombros contaminados con residuos peligrosos agudos⁶⁹. Estos laboratorios o instalaciones de ensayo están sometidos a requisitos de notificación y mantenimiento de informes, y a algunas limitaciones en cuanto a las cantidades de residuos peligrosos que se pueden almacenar antes de iniciar los estudios de tratabilidad, y en cuanto a las cantidades de residuos peligrosos que se pueden utilizar para un ensayo de tratabilidad de un solo día⁷⁰.

Acta global de responsabilidad, compensación y respuesta ambiental (CERCLA)

La interfase entre el RCRA y el CERCLA presenta dos partes. En primer lugar, el proceso de evaluación utilizado para determinar el tratamiento apropiado de las zonas contaminadas Superfondo esencialmente es equivalente al utilizado para determinar la acción correctora en las instalaciones RCRA. En segundo lugar, CERCLA considera que, en la fijación de los estándares de limpieza de las zonas Superfondo, se deben cumplir todos «los requisitos aplicables o relevantes y apropiados» (RARA)⁷¹. Este requisito asegura que, en un limpieza Superfondo, se cumplan los estándares de tratamiento establecidos bajo el RCRA.

Proceso CERCLA de evaluación. Antes de poder realizar el tratamiento en una zona Superfondo, EPA, a menudo, conjuntamente con las *partes potencialmente*

⁶⁶ 40 C.F.R. §270.65(a).

⁶⁷ 40 C.F.R. §261.4(e),(f).

⁶⁸ Véase definición de *estudio de tratabilidad* en 40 C.F.R. §260.10.

⁶⁹ Las oficinas regionales de EPA, o los oficiales estatales en los estados autorizados, pueden aprobar cantidades adicionales.

⁷⁰ De C.F.R. §261.4(f)(1) a (f)(11).

⁷¹ CERCLA Sección 121(d)(2)(A), 42 U.S.C. §9621(d)(2)(A).

responsables (PPRs)⁷² debe completar un proceso de evaluación para determinar la naturaleza y cantidad de contaminantes en una zona, y establecer el método o métodos de tratamiento más eficaces con el fin de llevar a cabo su limpieza. Este proceso se suele denominar «proceso IC/EV». La fase de *investigación correctora* (IC) implica una caracterización detallada de la zona. El *estudio de viabilidad* (EV) consiste en una evaluación de los métodos de tratamiento alternativos que se podrían aplicar en la zona.

Al concluir este proceso, que frecuentemente dura algunos años, EPA emite un *Informe de Decisión* (IDD) que refleja los métodos específicos de tratamiento que se deben aplicar a la zona.

Requisitos aplicables o relevantes y apropiados (RARAs). El requisito que se debe tener en cuenta en los «requisitos aplicables o relevantes y apropiados» antes de realizar una acción de limpieza en una zona Superfondo, conceptualmente, implicaría que las acciones correctoras CERCLA deberían cumplir las NETs del RCRA. Por lo tanto, la prohibición de colocar un residuo peligroso, encontrado en una zona Superfondo, dentro de o sobre el suelo sin el pretratamiento especificado en las NETs sería aplicable tanto a las limpiezas Superfondo como a las acciones correctoras del RCRA.

Sin embargo, EPA ha especificado que los requisitos MTDD de las NETs son «inapropiados o imposibles de conseguir para los suelos y escombros (contaminados) procedentes de acciones correctoras CERCLA»⁷³. EPA ha dictaminado que los suelos y escombros contaminados se califiquen por una desviación de la tratabilidad⁷⁴, y que dicha desviación se incluya en un IDD de Superfondo cuando el tratamiento de suelos y escombros contaminados forme parte de la acción correctora⁷⁵. En consecuencia, los métodos de biorrecuperación utilizados en una zona Superfondo no tienen por qué cumplir las normas MTDD del RCRA. Las normas aplicables se determinarían de una forma lugar-específica en el IDD.

Además, EPA aplica el concepto *zona de contaminación* (ZC) a las limpiezas bajo el Superfondo. Una ZC es una zona de contaminación continua. El movimiento de sustancias peligrosas dentro de una ZC no se califica como *colocación* según las NETs; por lo tanto, el requisito de pretratamiento no es aplicable. Esta aproximación ha permitido una mayor flexibilidad en la selección de los métodos de recuperación en las zonas Superfondo (Bakst, 1991).

⁷² Las *partes potencialmente responsables* son aquellas personas que tengan o puedan tener la responsabilidad de parte o de todo el coste de limpieza en una zona Superfondo. Las PPRs pueden incluir a las personas propietarias de una instalación de evacuación de residuos, a las que organizaron la evacuación de sustancias peligrosas en tal instalación, o a aquellas que transportaron sustancias peligrosas a dicha instalación. 42 U.S.C. §9607(a).

⁷³ «Plan Nacional de Contingencia para la Contaminación con Petróleo y Sustancias Peligrosas; Dictamen Final», 55 *Registro Federal* 8666, 8760 (8 de marzo, 1990).

⁷⁴ 40 C.F.R. §268.44.

⁷⁵ 55 *Registro Federal* 8666, 8761 (8 de marzo, 1990).

Demostración de las tecnologías de tratamiento alternativas o innovadoras

Las medidas reglamentarias discutidas anteriormente, que EPA ha implantado durante los últimos años para facilitar el uso de los métodos de biorrecuperación en el tratamiento de residuos peligrosos, sólo representan una pequeña parte de los esfuerzos realizados por la agencia en este campo. EPA ha puesto en marcha también numerosos programas administrativos para mejorar la utilización de esta y de otras tecnologías innovadoras.

Estos esfuerzos han sido estimulados, al menos en parte, por los incentivos reglamentarios. Las enmiendas al CERCLA de 1986⁷⁶ dieron lugar a dos cambios importantes en el Acta que repercuten directamente sobre la biorrecuperación. La Sección 121(b) del SARA⁷⁷ requirió que EPA seleccionase las actividades correctoras para lograr la reducción permanente y significativa de los contaminantes en una zona de residuos peligrosos. La sección declara, de forma específica, que EPA «llevará a cabo una evaluación de las soluciones permanentes y de las tecnologías posibles de tratamiento o de recuperación de recursos que, en su totalidad o en parte, lograrán el descenso permanente y significativo de la toxicidad, movilidad, o volumen de la sustancia, producto o contaminante peligroso». Este lenguaje da primacía a los métodos de tratamiento que provocan la descomposición completa de los contaminantes en una zona de residuos peligrosos.

Además, la Sección 311(b) de SARA⁷⁸ establece que EPA «llevará a cabo un programa de investigación, evaluación, ensayo, desarrollo y demostración de las tecnologías de tratamiento alternativas o innovadoras... que se puedan utilizar en las acciones correctoras para conseguir una mayor protección de la salud humana y del bienestar ambiental».

Empujada por estos mandatos estatutarios, EPA ha iniciado varios programas con el fin de promover las tecnologías innovadoras, incluyendo la biorrecuperación. Estos programas se han centrado en diversas áreas problemáticas: el desarrollo de datos válidos y sostenidos sobre el rendimiento de las tecnologías innovadoras, el desarrollo de bases de datos para diseminar la información conseguida, la mejora de la información y del desarrollo profesional en los diversos tipos y usos de tecnologías innovadoras, y la mejora del apoyo financiero para la investigación en el desarrollo y aplicación de estas tecnologías innovadoras (Giamporcaro, 1991; Spann, 1991). A continuación, se tratan algunos de estos programas.

La Iniciativa de Biorrecuperación. La Iniciativa de Biorrecuperación se inició en 1990 para documentar el rendimiento de las aplicaciones a gran escala de la biorrecuperación (U.S. EPA, 1991*b*). Esta iniciativa pretende también proveer de ayuda técnica a los gestores y coordinadores de los proyectos de recuperación en

⁷⁶ Acta de Enmiendas y Reautorización del Superfondo, 1986 (SARA), Pub. L. No. 99-499.

⁷⁷ 42 U.S.C. §9621(b).

⁷⁸ 42 U.S.C. §9660(b).

relación a los usos de la biorrecuperación en zonas RCRA y CERCLA, y el desarrollo de una base de datos sobre tratabilidad (U.S. EPA, 1991c).

Hasta diciembre de 1991, se han seleccionado seis zonas para la evaluación *in situ* de la biorrecuperación⁷⁹. Estas zonas presentan diversos tipos de contaminación, incluyendo la contaminación de suelos y de aguas subterráneas con hidrocarburos (combustible de aviones) y disolventes industriales y pilas de fangos residuales. La caracterización de la zona ya se ha iniciado en dos lugares, y en un tercero se está realizando un estudio de tratabilidad. La biorrecuperación ha comenzado en las tres zonas restantes.

El comité de acción para la biorrecuperación. El Comité de Acción para la Biorrecuperación (CAB) se estableció en 1990 con el fin de aportar un foro para el progreso científico y de las aplicaciones prácticas de la biorrecuperación. El CAB trabaja mediante seis subcomités cuyos responsabilidades incluyen: la priorización de las necesidades de investigación en la biorrecuperación; el desarrollo e implantación de una capacidad nacional de respuesta a los derrames de petróleo mediante la biorrecuperación; el desarrollo de protocolos para realizar ensayos sobre el rendimiento de los productos de biorrecuperación; la identificación y recogida de información sobre biorrecuperación en estudios de casos para los sectores público y privado; la mejora de la educación sobre biorrecuperación destinada a científicos, ingenieros, y el público en general; y la investigación del papel de las tecnologías de biorrecuperación en la prevención de la contaminación (U.S. EPA, 1991c).

Bases de datos para la biorrecuperación. EPA ha establecido numerosas bases de datos sobre la variedad y rendimiento de los métodos de biorrecuperación que servirán como fuentes de datos centralizadas y fácilmente accesibles. Por ejemplo, el Centro de Información sobre Tecnología Alternativa de Tratamiento (ATTIC) contiene resúmenes de estudios de casos para diversas tecnologías innovadoras de tratamiento. El Sistema Informático de Proveedores de Tecnologías Innovadoras de Tratamiento (VISITT) incluye datos de rendimiento sobre las tecnologías innovadoras de tratamiento procedentes de 86 proveedores, incluyendo la biorrecuperación.

Se está realizando un esfuerzo relacionado por parte de la Corporación Nacional de Aplicación de Tecnologías Ambientales (NETAC), empresa cooperativa establecida en 1988 entre EPA y la Fundación de la Universidad de Pittsburg. NETAC está preparando protocolos para probar el rendimiento de los productos de biorrecuperación en la descomposición de derrames de petróleo. Una vez establecidos los protocolos, se desarrollará un Centro de Evaluación de Productos Biotecnológicos para conseguir datos fiables y comparables en relación al rendimien-

⁷⁹ Las seis zonas corresponden a la zona Superfondo de Libby, Libby, Montana; el Derrame del Oleoducto de Park City, Park City, Kansas; la zona Superfondo de Allied Signal, St. Joseph, Michigan; la Base Aérea de Eielson, Alaska; la Base Aérea de Hill en Utah; y la zona Superfondo de Brookhaven, en Brookhaven, Massachusetts (U.S. EPA, 1991c).

to de los productos disponibles (Barron, 1991). Este sistema permitirá a las agencias reguladoras federales y estatales evaluar rápidamente los productos alternativos cuando tengan que seleccionar medidas correctoras para la limpieza de derrames de petróleo.

El programa SITE. El Programa de Evaluación de Tecnología Innovadora del Superfondo (SITE) se estableció en 1986. Mediante el programa SITE, EPA financia parcialmente los proyectos para evaluar el rendimiento y coste de las tecnologías alternativas e innovadoras emergentes. Las *tecnologías innovadoras* son aquellas de las que faltan datos sostenidos y fiables en relación a la aplicabilidad y rendimiento de la tecnología. Las *tecnologías emergentes* son las tecnologías a escala piloto (Bakst, 1991). Hasta la fecha, se han elegido 12 zonas bajo el programa SITE para la aplicación de la biorrecuperación en el tratamiento de diversos medios contaminados (Glass, 1991).

Apoyo a la investigación de biorrecuperación. EPA está incrementando también sus programas de investigación sobre biorrecuperación. En 1987, la Oficina de Investigación y Desarrollo de EPA estableció un Programa para el Desarrollo de la Tecnología de Biosistemas, mediante este programa, un consorcio de laboratorios de EPA realizan y financian la investigación sobre biorrecuperación. Recientemente, este programa ha sido ampliado con el Programa de Aplicación *In Situ*, que recibió su financiación inicial en el año fiscal 1992 (U.S. EPA, 1991d).

Estos dos programas se combinan con la Iniciativa de Biorrecuperación descrita anteriormente para crear un programa de investigación global, que actualmente cuenta con 40 proyectos de investigación. Estos proyectos incluyen estudios sobre la biorrecuperación aerobia y anaerobia de pesticidas, la biorrecuperación de sedimentos contaminados con PCBs, y el tratamiento en biorreactor de aguas superficiales contaminadas. Los fondos para el programa en el año fiscal 1992 fueron de 5,8 millones de dólares, y se espera que en el año fiscal 1993 se incrementen hasta 10 millones de dólares (U.S. EPA, 1991d).

Hasta la fecha, el resultado de estos esfuerzos ha sido impresionante. En 1987, la biorrecuperación se seleccionó como una alternativa correctora en las zonas Superfondo, bien sola o combinada con otras tecnologías de tratamiento de residuos, en tan sólo cinco casos (U.S. EPA, 1988). De forma similar, la Oficina de Evaluación Tecnológica (OTA) realizó un estudio de caso en 1988 para la elección correctora en 10 zonas Superfondo; en sus conclusiones destacó que se había ignorado la biorrecuperación en varias de las evaluaciones correctoras (Garg y Garg, 1990).

La situación ha cambiado sustancialmente durante los últimos años. En 1991, EPA identificó 124 zonas del RCRA, Superfondo, UST o PCB que estaban «considerando, planificando, operando o [habían] completado la biorrecuperación». Bajo el programa Superfondo, se había elegido la biorrecuperación como el método corrector solo o en combinación con otras tecnologías en 31 de 560 proyectos, «convirtiéndola en una de las principales tecnologías innovadoras utilizadas» (Thayer, 1991). El Administrador de EPA, William Reilly, quizás haya sido quien mejor

ha caracterizado los logros conseguidos hasta la fecha cuando afirmó: «Creo que el progreso realizado es ...un progreso de colaboración entre la industria, el gobierno y la comunidad investigadora —e indica lo que se puede conseguir cuando todos los sectores implicados cooperan—» (U.S. EPA, 1991a).

Acta para el Control de Sustancias Tóxicas

El Acta para el Control de Sustancias Tóxicas (TSCA)⁸⁰ se aprobó con la finalidad de conseguir dos objetivos principales: permitir que EPA analice nuevas sustancias químicas antes de su comercialización⁸¹ y regular las sustancias químicas existentes y nuevas que presenten un riesgo no razonable para la salud o el ambiente⁸². Para conseguir estos objetivos, se concedió a EPA el poder de exigir el ensayo de sustancias químicas⁸³, y la potestad para mantener informes y recoger datos⁸⁴. La cobertura del TSCA no es aplicable para algunas categorías de sustancias químicas, como pesticidas, aditivos de comida y comida, medicinas, y cosméticos; estas y otras sustancias químicas específicas están sujetas a la regulación de otros estatutos o de otras agencias federales⁸⁵.

Programa de biotecnología del TSCA y microorganismos modificados genéticamente

Las provisiones del TSCA que han tenido mayores consecuencias sobre el uso de la biorrecuperación están en la Sección 5 del Acta, bajo la cual EPA opera actualmente su programa de biotecnología TSCA. La Sección 5 del TSCA requiere que las sustancias químicas nuevas sean revisadas por EPA antes de su comercialización. Los fabricantes de sustancias químicas nuevas deben entregar a EPA una Nota de Prefabricación (NPM) al menos 90 días antes de comercializar la sustancia. Durante el período de revisión de 90 días⁸⁶, EPA analiza el producto para determinar si la nueva sustancia química puede suponer un riesgo no razonable para la salud o el ambiente, y, si es así, se imponen controles reglamentarios «para prohibir o limitar la fabricación, el procesamiento, la distribución comercial, el uso o la evacuación de tal sustancia o prohibir o limitar cualquier combinación de estas actividades»⁸⁷. Además, EPA puede designar por norma unos usos específicos de las sustancias químicas como «usos nuevos significativos» que requieren una notificación similar a la agencia, y una revisión por parte de la misma⁸⁸.

⁸⁰ 15 U.S.C §2601 y ss. El TSCA fue aprobado en 1976.

⁸¹ TSCA Sección 5, 15 U.S.C §2604.

⁸² TSCA Sección 5(e), 15 U.S.C. §2604(e); TSCA Sección 6, 15 U.S.C. §2605.

⁸³ TSCA Sección 4, 15 U.S.C. §2603.

⁸⁴ TSCA Sección 8, 15 U.S.C. §2607.

⁸⁵ TSCA Sección 3(2), 15 U.S.C. §2602(2).

⁸⁶ El período de revisión se puede ampliar a 90 días más. TSCA Sección 5(c), 15 U.S.C. §2604(c).

⁸⁷ TSCA Sección 5(e), 15 U.S.C. §2604(e).

⁸⁸ TSCA Sección 5(a)(2), 15 U.S.C. §2604(a)(2).

Los requisitos de notificación de la Sección 5 del TSCA se aplican solamente a la fabricación y al procesamiento de sustancias químicas con fines comerciales⁸⁹. En la implantación del TSCA no han existido dudas acerca de que las organizaciones con fines lucrativos tienen propósitos comerciales, y que la investigación y el desarrollo (I&D) llevado a cabo por estas organizaciones presenta, de igual forma, una finalidad comercial⁹⁰. Sin embargo, algunas actividades de investigación realizadas por instituciones académicas o no lucrativas, que implican el uso de nuevas sustancias químicas, quizás no tengan una finalidad comercial y, por lo tanto, es posible que no se vean en la necesidad de notificar su actividad a EPA.

Se determina si una sustancia química es «nueva» o no, según esté incluida o no, explícita o implícitamente, en el Inventario de Sustancias Químicas del TSCA, que EPA está obligada a mantener conforme a la Sección 8(b) del TSCA⁹¹. Las sustancias químicas se recogen explícitamente en el inventario del TSCA cuando EPA recibe la Notificación de Comienzo (NC) enviada por un fabricante. La NC refleja la intención de iniciar la distribución comercial de una sustancia química por parte de un fabricante. Además, algunas sustancias químicas, como los minerales, están implícitamente incluidas en el inventario del TSCA; es decir, se consideran ya comercializadas en Estados Unidos y, por lo tanto, no es necesaria la notificación a EPA, o la revisión por parte de este organismo⁹². Una vez que la sustancia química está incluida en el inventario del TSCA, explícita o implícitamente, se puede utilizar para cualquier finalidad (si no está sometida a algún otro tipo de regulación en el TSCA o en otros estatutos), y no se requiere ningún otro tipo de notificación posterior a EPA.

En 1984, EPA publicó una Declaración de Política⁹³ en la cual la Agencia clarificaba que el término estatutario *sustancia química* incluía a los organismos vivos, también a los microorganismos⁹⁴. EPA propuso además que los microorganismos producidos mediante técnicas específicas, como por ejemplo la tecnología de recombinación del ADN o la fusión celular, se deben considerar «sustancias químicas nuevas» sujetas a los requisitos NPM de la Sección 5 del TSCA.

⁸⁹ TSCA Sección 5(i), 15 U.S.C. §2604(i).

⁹⁰ Sin embargo, conforme a la Sección 5(h)(3) del TSCA, las sustancias químicas fabricadas o procesadas solamente en pequeñas cantidades (como determina EPA por norma), y tan sólo para I&D, están exentas de los requisitos de notificación de la Sección 5.15 U.S.C. §2604(h)(3).

⁹¹ 15 U.S.C. §2607(b).

⁹² El amianto sería un ejemplo de sustancia química listada de forma implícita en el inventario del TSCA.

⁹³ «Propuesta de Política Sobre Algunos Productos Microbianos», 49 *Registro Federal* 50886 (31 de diciembre, 1984). La Declaración de Política de EPA se publicó dentro de un documento más amplio titulado «Propuesta para un Marco Reglamentario de Biotecnología», 49 *Registro Federal* 50856 (31 de diciembre, 1984).

⁹⁴ *Sustancia química* se define según el TSCA como «cualquier sustancia orgánica o inorgánica con identidad molecular particular, incluyendo: (i) cualquier combinación de tales sustancias provocada totalmente o en parte como consecuencia de una reacción química provocada por el hombre o la naturaleza...» TSCA Sección 3(2), 15 U.S.C. §2602(2).

En respuesta a los sectores críticos que argumentaban que la aproximación propuesta por EPA a la hora de controlar los microorganismos nuevos se basaba en los procesos mediante los cuales se crearon dichos organismos, en vez de basarse en el riesgo que pudiesen suponer, EPA cambió su aproximación a la definición de microorganismos nuevos según la Sección 5 del TSCA. En 1986, como parte del Marco Coordinado para la Regulación de la Biotecnología, EPA emitió una Declaración de Política anunciando que los microorganismos intergenéricos (los que implican la combinación del material genético procedente de organismos de diferentes géneros) se considerarían sustancias químicas nuevas bajo la Sección 5 del TSCA⁹⁵. Quienes intentasen fabricar estos microorganismos con fines comerciales tendrían que entregar una NPM a EPA. La agencia también solicitó una entrega voluntaria de NPMs a quienes intentasen introducir en el medio ambiente microorganismos intergenéricos con fines de investigación, y a quienes trabajasen con microorganismos patógenos o que contuviesen material genético procedente de patógenos⁹⁶.

Por lo tanto, según el programa actual TSCA de biotecnología, quienes tengan la intención de utilizar microorganismos intergenéricos para la biodegradación comercial de residuos peligrosos tendrán que entregar un NPM a EPA. Quienes tengan intención de introducir en el ambiente microorganismos intergenéricos para investigar la biorrecuperación, serán animados a que entreguen a EPA un NPM de forma voluntaria.

EPA no ha recibido ningún NPM hasta la fecha en relación a microorganismos intergenéricos utilizados con fines de biorrecuperación. Los proyectos de biorrecuperación se suelen centrar en la bioestimulación o el bioaumento de los microorganismos, ya presentes en una zona, que son capaces de descomponer los constituyentes peligrosos en los suelos o aguas subterráneas (Glass, 1991). Sin embargo, la industria de biorrecuperación muestra cada vez un mayor interés hacia el uso de microorganismos modificados genéticamente. Muchos expertos creen que se utilizarán microorganismos modificados genéticamente para la biorrecuperación en biorreactores, y quizás en demostraciones de campo, durante los próximos cinco-diez años (Garg y Garg, 1990; Glass, 1991; Roy, 1991). Como señalan Sayler y Day (1991), «La próxima generación de productos y procesos de biorrecuperación incorporará de forma rutinaria la ingeniería genética para mejorar las cepas y conseguir un mayor control del proceso, garantizar un alto rendimiento, y controlar la actividad ambiental».

Se cree que los microorganismos modificados genéticamente ofrecerán varias ventajas para la biorrecuperación. Muchos expertos creen que los microorganismos modificados genéticamente permitirán ejercer un mayor control sobre las rutas degradadoras enzimáticas, incluyendo la dirección del flujo metabólico para

⁹⁵ «Marco Coordinado para la Regulación de la Biotecnología», 51 *Registro Federal* 23.302 (26 de junio, 1986). La declaración de política de EPA aparece en 51 *Registro Federal* 23.313.

⁹⁶ EPA cree que los investigadores que tengan intención de introducir al ambiente microorganismos intergenéricos normalmente entregarán una NPM voluntaria. La agencia no ha recibido ninguna NPM bajo las provisiones de patógenos de la declaración de política de 1986.

evitar cualquier posible intoxicación intermedia (Thayer, 1991). La ingeniería genética también puede posibilitar una mayor supervivencia de los microorganismos que participan en la biorrecuperación aumentando su resistencia a los factores que impiden su actividad y viabilidad (Sayler y Day, 1991; Thayer, 1991). Los microorganismos modificados genéticamente también pueden lograr una aceleración de las rutas degradadoras, incrementado de esta forma la viabilidad comercial de la tecnología en su conjunto (Glass, 1991; Thayer, 1991).

Microorganismos que se producen de forma natural

Los microorganismos que se producen de forma natural y los microorganismos intragenéricos (cuya creación implica el intercambio de material genético entre microorganismos del mismo género) no están sujetos a los requisitos de notificación de la Sección 5 del TSCA, según lo anunciado en la Declaración de Política de 1986. Estas categorías de microorganismos se consideran ya existentes en la naturaleza y, por lo tanto, listadas implícitamente en el inventario del TSCA.

Esto, sin embargo, no quiere decir que EPA no pueda ejercer un control reglamentario sobre los microorganismos que se producen de forma natural, incluyendo los utilizados en la biorrecuperación, si la agencia considera que el uso de dichos microorganismos supone un riesgo no razonable para la salud o el ambiente. Por ejemplo, EPA puede ejercer su autoridad, según la Sección 5, y designar los usos específicos para un microorganismo que se produce de forma natural. La agencia también puede ejercer acciones contra los microorganismos que considere inquietantes, según las Secciones 6 o 7 del Acta, o puede exigir el mantenimiento de informes según la Sección 8 del Acta. Además, todos los fabricantes o procesadores de sustancias químicas tienen el deber, bajo la Sección 8(e) del TSCA, de notificar a EPA cualquier «información que apoye de forma razonable la idea de que (una sustancia química) representa un riesgo sustancial para la salud o el ambiente»⁹⁷.

La industria de la biorrecuperación se ha preocupado especialmente por el tratamiento dado a los microorganismos que se producen de forma natural en el programa TSCA de biotecnología. Esta inquietud tiene su origen en un documento que EPA puso a disposición del público en 1988⁹⁸. En aquel documento, la agencia declaró que estaba considerando el exigir una declaración de todos los usos comerciales que implicaban la emisión al ambiente de los microorganismos producidos de forma natural desde el 1 de diciembre de 1985. La intención de la agencia era establecer una lista de los usos que no estarían sujetos a informes. Quienes tuviesen intención de utilizar un microorganismo no listado con fines comerciales habrían tenido que entregar una notificación de uso nuevo a EPA antes de hacerlo. Mediante este plan, se habrían declarado a la agencia todos los usos posibles de los microorganismos que se producen de forma natural. Cualquier utilización de un microorganismo no incluido en la lista, o utilización de un microorganismo listado

⁹⁷ 15 U.S.C. §2607(e).

⁹⁸ «Biotecnología; Solicitud de Comentarios Respecto a la Aproximación Reglamentaria», *Registro Federal* 7.027 (15 de febrero, 1989).

para un uso no listado, habría requerido la entrega de una notificación de uso nuevo.

En julio de 1991, EPA reunió a un subcomité del Comité Consejero para la Ciencia Biotecnológica (BSAC) con el fin de plantear las cuestiones científicas surgidas en el borrador de una propuesta normativa TSCA de biotecnología, actualmente en fase de desarrollo por parte de la agencia⁹⁹. Las normas del borrador no proponen continuar con la aproximación delineada en el documento de 1988; es decir, establecer una lista con todos los usos comerciales de los microorganismos que se producen de forma natural, y exigir la entrega de notificaciones de uso nuevo para los microorganismos no incluidos en la lista.

En las normas propuestas en el borrador de julio de 1991, EPA expresó su idea de cambiar la definición de microorganismos «nuevos» adoptada en la Declaración Política de 1986. La nueva norma probablemente presentará varias alternativas para definir qué microorganismos estarían sujetos a notificación bajo la Sección 5 del TSCA. La aproximación preferida por EPA es definir *microorganismos nuevos* como aquellos con tendencias hereditarias deliberadamente modificadas, exceptuando los microorganismos que entran dentro de algunas categorías de exclusión. Bajo el programa actual, los microorganismos que se producen de forma natural no se considerarían nuevos. Además, según la aproximación preferida por EPA, los microorganismos utilizados para la biorrecuperación que entran en una de las categorías de exclusión, de modo similar, no estarían sujetos a examen bajo la Sección 5 del TSCA.

En resumen, «la [b]iorrecuperación probablemente no se verá afectada de forma significativa por el TSCA si no se emplean microorganismos modificados genéticamente» (Bakst, 1991).

Biorrecuperación de PCBs

Los bifenilos policlorados (PCBs) se encuentran dentro de una posición reglamentaria única. Cuando el Congreso aprobó el TSCA en 1976, destacó expresamente a los PCBs para su regulación. Mediante la Sección 6(e) del TSCA¹⁰⁰, el Congreso prohibió la fabricación, procesamiento o distribución de PCBs a partir del 1 de enero de 1978, excepto si se fabricaban para uso completamente interno, y ordenó a EPA promulgar normas que controlasen la evacuación de los PCBs¹⁰¹.

Las normas de EPA para la evacuación de PCBs son aplicables a los PCBs y «artículos con PCB» que contengan concentraciones de PCB de 50 ppm o más¹⁰². Los PCBs, tal y como se definen en las normas, incluyen: fluido dieléctrico de aceite mineral y otros líquidos que contienen concentraciones de PCB de 50 ppm o más, pero menores a 500 ppm; suelos y otros materiales sólidos contaminados

⁹⁹ El BASC es un comité científico que aconseja sobre cuestiones de biotecnología; forma parte de la Oficina de Prevención, Pesticidas y Sustancias Tóxicas de EPA (OPPTS).

¹⁰⁰ 15 U.S.C. §2605(e).

¹⁰¹ *Ibid.*

¹⁰² 40 C.F.R. §761.60.

con PCBs, y los materiales dragados y fangos del tratamiento de aguas residuales municipales¹⁰³. Los *artículos con PCB* incluyen: transformadores, condensadores, y otros artículos fabricados que contienen PCBs¹⁰⁴.

Permisos de operación comercial. Las normas sobre PCBs plantean dos tipos de permisos de evacuación: permisos comerciales y permisos I&D (Giamporcaro, 1991). Los permisos comerciales pueden ser concedidos por la oficina central de EPA o por las oficinas regionales. Las normas PCB normalmente consideran que los PCBs y los artículos PCB se pueden evacuar en una incineradora, un vertedero de residuos químicos, o en una caldera de alto rendimiento¹⁰⁵.

Las normas también contienen provisiones que permiten el uso de métodos alternativos para la destrucción de estos materiales¹⁰⁶. Los métodos alternativos tienen que lograr un nivel de rendimiento equivalente al que se consigue mediante incineración o el uso de las calderas de alto rendimiento. Para que se consideren «equivalentes», los métodos alternativos, como por ejemplo la biorrecuperación, deben reducir las concentraciones de PCBs por debajo de 2 ppm por cada congénere de PCB, tal y como se mide con la cromatografía de gases¹⁰⁷. El efecto práctico de esta norma es que la concentración real de PCBs en una muestra contaminada que se considera evacuada variará en función del número de congéneres de PCBs presentes en la muestra. Por ejemplo, si la muestra contaminada contienen solamente un congénere de PCB, la concentración final de PCBs tendría que ser de 2 ppm o menos. Sin embargo, si la muestra contuviese seis congéneres diferentes, la concentración final de PCBs en la muestra podría ser de 12 ppm o menos. Esta flexibilidad posibilita el uso de métodos de evacuación alternativos.

EPA ha concedido 38 permisos comerciales para la evacuación de PCBs. Veinticuatro de estos permisos han sido para métodos de evacuación alternativos, aunque solamente uno implicaba la descomposición biológica de los PCBs.

Permisos I&D. Las normas sobre PCBs también tienen en cuenta los permisos I&D para su evacuación¹⁰⁸. Los permisos que implican el uso de menos de 500 lb de material con PCBs se revisan a nivel regional, mientras que los que implican 500 lb o más son revisados por la oficina central de EPA.

Hasta la fecha, EPA ha aprobado 15 permisos I&D que implicaban métodos de descomposición biológica para los PCBs. Seis de estos permisos se han aprobado a nivel central, y nueve a nivel regional. Toda la investigación se ha centrado en el uso de microorganismos producidos de forma natural, y en diversos métodos de descomposición biológica. Cada año sube el número de solicitudes I&D. Por ejem-

¹⁰³ 40 C.F.R. §761.3.

¹⁰⁴ *Ibid.*

¹⁰⁵ 40 C.F.R. §761.60(a),(b).

¹⁰⁶ 40 C.F.R. §761.60(e).

¹⁰⁷ Desde un punto de vista químico, los PCBs están formados por 209 estructuras químicas diferentes, denominadas «congéneres».

¹⁰⁸ 40 C.F.R. §761.60(i)(2).

plo, de los seis permisos expedidos por la oficina central de EPA, el primero se concedió en 1988 para el uso del hongo de carne de gallina con el que se trataría suelo contaminado con PCBs. En 1990, se entregaron dos permisos I&D. Uno era para un estudio *in situ* de los factores que incluyen sobre la biorrecuperación anaerobia de los sedimentos de un estanque contaminados con PCBs. El otro era para el tratamiento de suelos y sedimentos contaminados con PCBs en un biorreactor a escala piloto. En 1991 se concedieron tres permisos I&D. Dos fueron para el tratamiento *in situ* de suelos y sedimentos de río contaminados, y el tercer proyecto consistía en un estudio sobre la eficacia al combinar fotólisis y biorrecuperación en el tratamiento de suelos contaminados.

Evacuación de PCBs en zonas RCRA y superfondo. Aunque la evacuación de PCBs se debe llevar a cabo de acuerdo con un permiso especial emitido bajo la Sección 6(e) del TSCA, las provisiones recogidas en los programas RCRA y Superfondo también se deben tener en cuenta cuando existe una contaminación con PCBs en las zonas cubiertas por estos dos programas. En las normas RCRA, los PCBs se tratan como un constituyente peligroso, que si aparece en los residuos sólidos podrá ser razón suficiente como para que éstos se incluyan en la lista de residuos peligrosos¹⁰⁹. De hecho, algunos residuos P-listados y U-listados contienen PCBs. Estos residuos deben cumplir los requisitos de tratamiento y evacuación, tanto del TSCA como del RCRA¹¹⁰. Es decir, la concentración de PCBs en un residuo peligroso listado en el RCRA se debe reducir según los requisitos de evacuación de PCBs del TSCA, tal y como se discutió anteriormente.

Además, la elección del método de tratamiento para la evacuación de materiales contaminados con PCBs en una instalación RCRA o zona Superfondo viene determinada por los procesos de evaluación de la zona llevados a cabo por los respectivos programas. El hecho de que un propietario u operador de una instalación RCRA, o una parte potencialmente responsable en una zona Superfondo, haya obtenido un permiso I&D para utilizar una tecnología en particular con el fin de degradar los materiales contaminados con PCBs, no limita la elección de alguna otra tecnología para la acción correctora en dicha zona. Por ejemplo, varias de las zonas que han recibido permisos I&D para PCBs bajo el TSCA están en un proceso de acción correctora conducido por el RCRA. Estos permisos incluyen una declaración según la cual el permiso de PCBs no se puede utilizar para predeterminar o apoyar la selección de ciertas medidas correctoras bajo el RCRA.

En relación a esto, es importante destacar que aunque existe un volumen considerable de investigación para evaluar la eficacia de la biorrecuperación de los PCBs, hecho evidenciado por el número de permisos I&D concedidos durante los últimos años para la biorrecuperación de los PCBs, la investigación aún está en sus etapas iniciales, y todavía no se ha demostrado la eficacia de estos métodos

¹⁰⁹ Véase 40 C.F.R. §261.11(a)(3) y 40 C.F.R. Parte 262 App. VIII.

¹¹⁰ Véase de forma general, «Restricciones de Evacuación Terrestre para Residuos Nuevos Listados y Escombros Contaminados», 57 *Registro Federal* 958, 1.006 (9 de enero, 1992).

para degradar los PCBs a gran escala. Es de esperar que durante la próxima década, cuando la investigación avance, se puedan conceder más permisos comerciales para la biorrecuperación de los PCBs.

Acta federal sobre pestes agrícolas

El Acta Federal Sobre Pestes Agrícolas (FPPA), administrada por el Servicio de Inspección de la Salud Ambiental y de las Plantas (APHIS) del USDA, hasta la fecha, ha tenido una aplicabilidad más teórica que práctica en el uso de los métodos de biorrecuperación para el tratamiento de residuos peligrosos. El FPPA exige un permiso a quienes quieran importar o transportar «una peste» agrícola dentro del comercio interestatal. Una *peste agrícola* se define bajo el FPPA como la etapa viva de cualquier organismo «que pueda herir directa o indirectamente o causar enfermedades o daños a cualquier planta o partes de la misma, o a cualquier producto procesado, fabricado, u otros, relacionado con las plantas»¹¹¹.

Las normas del FPPA implantadas por el APHIS se aplican tanto a los organismos modificados como a los no modificados que poseen las características de peste agrícola¹¹². En junio de 1987, APHIS promulgó unas normas bajo el FPPA en las cuales se concedió el poder para exigir un permiso antes de poder emitir al ambiente o transportar microorganismos modificados genéticamente que contengan material genético derivado de un microorganismo listado como peste agrícola por el APHIS¹¹³, y que puedan causar heridas, enfermedades o daños a las plantas¹¹⁴.

Por lo tanto, los requisitos del FPPA se aplicarían solamente en el caso de que un microorganismo utilizado para la biorrecuperación tuviese las características de peste agrícola, o bien, si el microorganismo fuese modificado genéticamente, se derivase de una peste agrícola listada y tuviese las características de peste agrícola. Aunque APHIS ha concedido cientos de permisos atendiendo a su normativa, ninguno de estos permisos ha implicado el uso de microorganismos con fines de biorrecuperación.

Conclusión

Durante los últimos años se ha avanzado mucho a la hora de plantear las áreas problemáticas en la aplicación de la biorrecuperación; queda aún mucho por hacer. Quizás el logro más importante haya sido el establecimiento de una infraestructura para la recopilación y disseminación de datos e información sobre biorrecuperación. Estos esfuerzos deben continuar.

¹¹¹ 7 U.S.C. §150aa(c).

¹¹² Véase 7 C.F.R. Parte 330, 7 C.F.R. Parte 340.

¹¹³ Véase 7 C.F.R. §340.2 para la lista de microorganismos que son o contienen pestes agrícolas.

¹¹⁴ 7 C.F.R. Parte 340.

El área que puede necesitar de una atención especial quizás sean los obstáculos o los desincentivos reglamentarios respecto al uso de esta tecnología. En particular, las exenciones nacionales recogidas en las NETs del RCRA pueden obstaculizar, al menos a corto plazo, la aplicación de esta tecnología. Además, cuando se desarrollen las normas MTDD para los suelos y escombros contaminados, se debe enfocar cuidadosamente el impacto potencial sobre la biorrecuperación.

Por último, la promulgación de las normas finales sobre biorrecuperación del TSCA puede ayudar a acelerar el desarrollo de la siguiente etapa en la biorrecuperación—el uso de microorganismos genéticamente modificados—. Estas normas clarificarán la naturaleza y alcance de la aplicabilidad del TSCA para el uso de microorganismos en la biorrecuperación, y, por otra parte, ayudará a las empresas de biorrecuperación a evaluar mejor los costes de inversión asociados al desarrollo de los microorganismos genéticamente modificados para este propósito.

Referencias bibliográficas

- Bakst, J. S. 1991. Impact of present and future regulations on bioremediation. *J. Ind. Microbiol.* 8:13-22.
- Barron, T. 1991. EPA closing in on standards for oil spill bioremediation. *Environ. Today* 2:1, 59.
- Day, S. M. 1990. Federal regulations and policies hold the «veto power» over commercialization of biotreatment—an industry perspective. Hazardous Materials Management, HAZMACON 90, Anaheim, CA.
- Garg, S., and D. P. Garg. 1990. Genetic engineering and pollution control. *Chem. Eng. Progr.* 86:46-51.
- Giamporcaro, D. E. 1991. Bioremediation waste control more promising. Reprint. BioWorld. Io Publishing, San Mateo, CA.
- Glass, D. J. 1991. The promising hazardous waste bioremediation market in the United States. Reprint. Decision Resources, Burlington, MA.
- Hill, R. L. 1991. An overview of RCRA: The «mind-numbing provisions of the most complicated environmental statute. *Environ. Law Rep.* 21:10254-10276.
- National Governors' Association. 1991. States' Use of Bioremediation: Advantages, Constraints and Strategies. National Governors' Association, Washington, D.C.
- Nicholas, R. B., and D. E. Giamporcaro. 1989. Nature's prescription. *Hazmat World*, pp. 30-36, June.
- OTA. 1991. Bioremediation for Oil Spills. Office of Technology Assessment, OTA-BP-0-70, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C., May.
- Roy, K. A. 1991. Ecova's hopes for success hitched to bioremediation's rising star. *Hazmat World*, pp. 40-43, May.
- Sayler, G. S., and S. M. Day. 1991. Special Report: Bioremediation—Experts explore various biological approaches to cleanup. *Hazmat World*, pp. 51-53 (January).
- Spann, J. J. 1991. EPA workshop on innovative technologies. *Water Environ. Technol.*, p. 18 (sidebar).
- Thayer, A. M. 1991. Bioremediation: Innovative technology for cleaning up hazardous waste. *Chem. Eng. News* 69:23-25, 28, 32-37, 41-44.

- U.S. EPA. 1988. ROD (Record of Decision) Annual Report. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., July.
- U.S. EPA. 1990. Summary Report on the EPA—Industry Meeting on Environmental Applications of Biotechnology. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., February 22.
- U.S. EPA. 1991a. Summary of the Second EPA/Industry Meeting on Environmental Applications of Biotechnology. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., June 14.
- U.S. EPA. 1991b. Furthering the Use of Innovative Technologies in OSWER Programs. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., August, Doc. No. 9380.0-17FS.
- U.S. EPA. 1991c. Bioremediation in the Field. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., December.
- U.S. EPA. 1991d. Bioremediation Research Program Strategy. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., December.

Capítulo 7

BIORRECUPERACIÓN *IN SITU*: FUNDAMENTOS Y PRÁCTICAS

Carol D. Litchfield
Chester Environmental
Monroeville, Pennsylvania

Fundamentos de la biorrecuperación *in situ*

La *biorrecuperación in situ* (BIS) es el tratamiento en el propio lugar, sin excavación, de los suelos y aguas subterráneas contaminados con compuestos orgánicos. Este capítulo sobre BIS tratará solamente la contaminación de las zonas vadosa (no saturada) y saturada de un acuífero. No abordará el tratamiento de estanques, lagunas y sedimentos de fangos, ya que éstos requieren una aproximación de ingeniería completamente diferente, aunque los principios biológicos suelen ser los mismos; tampoco se revisarán los diferentes estudios de laboratorio, tan necesarios para una buena BIS.

La biodegradación *in situ* es un proceso natural que ha venido aconteciendo desde que los primeros microbios y materia orgánica estuvieron presentes en exceso en el suelo. Fundamentalmente, la *biodegradación* es el reciclaje o redistribución en los suelos y el agua del carbono, nitrógeno y otros nutrientes. Este proceso es esencial para un correcto mantenimiento de los ciclos del carbono y nitrógeno en la naturaleza. En los últimos años se ha reconocido que la biodegradación *in situ* también se puede aplicar a los residuos peligrosos, y se han desarrollado técnicas para detectar y aumentar la biorrecuperación natural *in situ*. Éste será el enfoque central de este capítulo.

Se han desarrollado dos aproximaciones de ingeniería para el diseño de la BIS. Una se centra en el tratamiento de los sistemas poco profundos de aguas subterráneas y la zona saturada, tal y como se aprecia en la Figura 7.1. El bombeo del agua desde un pozo de recuperación crea un cono de depresión en la zona saturada. El agua recuperada se hace pasar a través de un filtro para separar del acuífero los sólidos en suspensión, también puede entrar en un sistema de tratamiento en la superficie, por ejemplo, un biorreactor o un sistema de arrastre por aire. Después, se añaden al agua nutrientes y un receptor de electrones, y se devuelve el agua al acuífero, entrando en una zona cercana a la fuente de contaminación —por ejemplo, en el foso de un depósito excavado—. Aquí, en la zona vadosa, se acumula el agua subterránea, que proporciona nutrientes y humedad a las bacterias autóctonas en el suelo contaminado no saturado. La gravedad y la acción de bombeo de los pozos de recuperación arrastran las aguas subterráneas hacia la zona saturada, donde pasa por encima de los suelos contaminados e introduce los nutrientes necesarios para la degradación microbiana. El carbono casi nunca es un factor limitante en la subsuperficie contaminada, sin embargo, sí lo es con frecuencia el fósforo y/o el nitrógeno. Por lo tanto, es fundamental realizar estudios de tratabilidad para determinar qué nutrientes limitan la BIS natural y qué concentraciones son las más eficaces para aumentarla.

La segunda aproximación implica el tratamiento de los suelos no saturados. Aunque se trata de un desarrollo más reciente, varios ensayos de campo han demostrado la utilidad de esta técnica. El concepto básico se muestra en la Figura 7.2. En esta aproximación, se introduce aire en la zona vadosa a una velocidad relativamente lenta para evitar la deshidratación de suelos y microorganismos. La humedad se introduce en los suelos junto con los nutrientes necesarios mediante

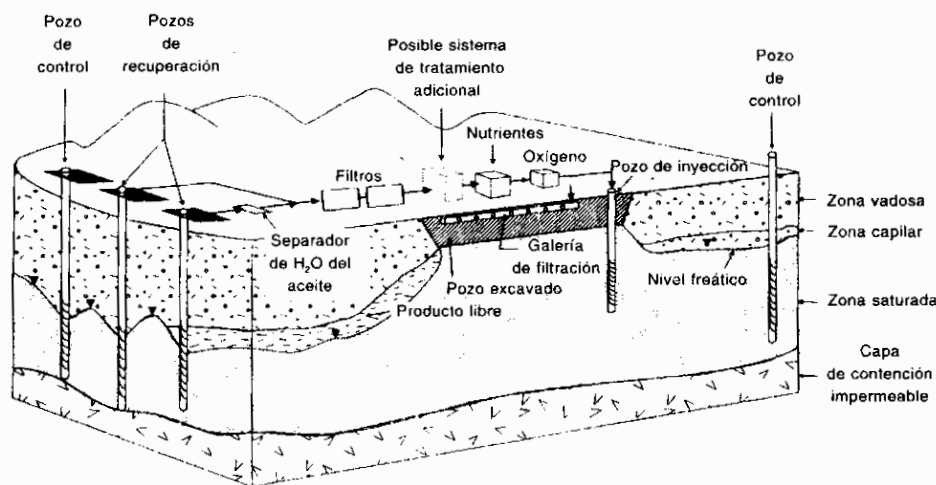


FIGURA 7.1. Diagrama de un diseño idealizado de biorrecuperación *in situ*.

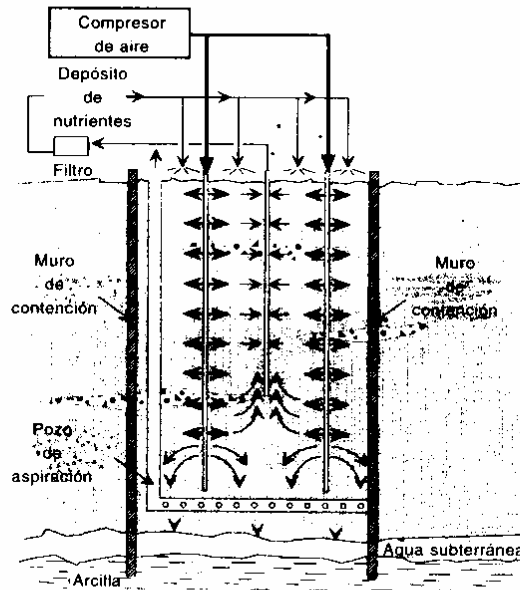


FIGURA 7.2. Diseño de un proceso de bioventilación.
Adaptado de Lund et al., Ref. 56.

un rociador o sistema de drenaje. Debajo de la zona contaminada se construyen tuberías horizontales para capturar la humedad añadida y aspirar el aire hasta el acuífero. Esta técnica suele denominarse *bioventilación*.

Este capítulo describirá la BIS, sus requisitos y limitaciones, seguirá su desarrollo como herramienta aceptable para la recuperación de suelos y aguas subterráneas, y citará estudios de caso que han aplicado la BIS tradicional o la bioventilación.

Requisitos de una BIS

Para poder aumentar la BIS mediante la adición de nutrientes limitantes, se deben considerar dos factores importantes: las características de la zona y los microorganismos.

Características de la zona

Si se desea diseñar correctamente un sistema de tratamiento *in situ* hay que poseer un amplio conocimiento de las características del suelo y del acuífero de la zona. Recientemente, Sevee⁸⁰ ha publicado un resumen de un ensayo general geotécnico para los suelos de acuíferos, y se pueden encontrar otras referencias sobre ensayos hidrogeológicos en Fréze y Cherry³⁰, y Bouwer¹¹. Como mínimo, estos ensayos

geotécnicos deben determinar una serie de factores: la naturaleza exacta y extensión horizontal y vertical de la contaminación; si impacta en el agua subterránea o tan sólo en los suelos de la zona vadosa; la profundidad hasta el agua subterránea; la conductividad hidráulica y/o la permeabilidad de los suelos (es decir, si se puede llevar el agua y los nutrientes a través de las zonas saturada y vadosa, y con qué rapidez); la productividad específica y el coeficiente de almacenamiento del acuífero; la zona de influencia de los pozos de recuperación o reinyección; la dirección del flujo de las aguas subterráneas; la capacidad del acuífero para recibir el agua reciclada; la capacidad de intercambio de cationes en los suelos para estimar la adsorción de nutrientes por parte de las partículas de suelo; y la composición aniónica y catiónica de los suelos y aguas subterráneas.

Se han desarrollado métodos estándar para algunos de estos ensayos geotécnicos⁵ (véase Tabla 7.1), y se deben utilizar si se está proyectando la biorrecuperación *in situ* o una estrategia correctora más tradicional. Para otros tipos de ensayos, las Refs. 30 y 80 contienen detalles sobre los procedimientos aceptados. En muchos estados se exige que un hidrogeólogo/geólogo cualificado sea quien realice los ensayos. Los requisitos de los permisos estatales están cambiando constantemente, por lo tanto, si existen dudas acerca de la situación en un estado en particular, lo mejor es consultar con el departamento de medio ambiente de dicho estado.

Además, es imprescindible conocer los métodos de perforación e instalación de los pozos de control para asegurarse de que se utiliza el diseño correcto con el fin de controlar de forma óptima la BIS¹⁹.

Si se desea tener éxito en el tratamiento de cualquier zona contaminada, es necesario tener un conocimiento lo más amplio posible sobre geología, geoquímica, e hidrología, ya que un aspecto importante de la BIS es el reciclaje o introducción del agua en los suelos cerca de la superficie o subsuperficie. Es crucial, entonces, que se establezca un control hidrogeológico para que el agua no entre en zonas no deseadas y, de esta forma, se extienda aún más la contaminación. Tam-

TABLA 7.1. Algunos métodos ASTM para la caracterización de suelos⁵

Ensayos geotécnicos	Número ASTM
Tamaño de partícula	D-422
Contenido de humedad	D-2216
Densidad relativa mínima	D-4254
Densidad <i>in situ</i>	D-2435
Gravedad específica	D-854
Limites Atterberg	D-4318
Densidad bruta	D-1587 o D-2937
Descripción de suelos	D-2488
Conductividad hidráulica en la zona vadosa, comparación de métodos, una guía	D-5126

bién es importante evitar el uso excesivo de nutrientes, y el aumento de microorganismos y del flujo de las aguas subterráneas en las zonas no contaminadas.

Además, es fundamental conocer la geología y geoquímica de la zona para evitar interacciones no deseadas entre los suelos o aguas subterráneas y los nutrientes añadidos. Esto es especialmente relevante cuando se añaden fosfatos a suelos con un alto contenido en calcio y a aguas subterráneas, o cuando se añade oxígeno a ambientes que contienen altas cantidades de hierro o manganeso reducidos que pueden oxidarse. Ambas situaciones provocan una precipitación y el consiguiente atascamiento de la formación. Unos altos niveles en calcio, hierro o magnesio no son problemas insuperables, pero se deben tener en cuenta para poder diseñar sistemas que controlen o eliminen el problema.

Otras características locales que se deben evaluar para cualquier actividad correctora son: la localización de objetos enterrados, como cables eléctricos, tubos de agua, alcantarillas; y la situación del espacio exterior, es decir, topografía, presencia de tuberías suspendidas, cables eléctricos, etc., y la localización de edificios, aparcamientos, carreteras, u otras estructuras y zonas de actividad. Todos estos elementos pueden influir sobre la localización del equipo, sobre cuáles son las fuentes de contaminación, e incluso sobre la extensión y velocidad migratoria de la zona contaminada.

Características microbianas

La premisa básica para una BIS es que los microorganismos estén presentes en la zona subsuperficial, que se adapten a los contaminantes, y que estén presentes todos los nutrientes necesarios o se puedan añadir para lograr una biodegradación óptima de los contaminantes.

Esto parece algo obvio y fundamental, pero, en fechas tan recientes como los años 70, se podían encontrar datos en la literatura especializada en relación a las bajas cifras de microorganismos que existían en las aguas subterráneas. Se llegó a la hipótesis de que el agua que se filtraba a través del suelo perdía todos los microorganismos y, a consecuencia de ello, las aguas subterráneas se mostraban esencialmente estériles. En 1973, McNabb y Dunlap⁵⁹ revisaron la literatura existente y afirmaron, al contrario de las creencias prevalentes, que los microorganismos estaban muy extendidos en la subsuperficie. Por lo tanto, postularon que existía la posibilidad de una degradación microbiana de los materiales orgánicos en las aguas subterráneas. Ghiorse y Balkwill, durante un estudio realizado en las zonas primitivas de Oklahoma y Louisiana³¹, demostraron también que existía una población microbiana muy diversa en la subsuperficie.

Sin embargo, muchos científicos creían que los microorganismos obtenidos en la subsuperficie, de hecho, eran contaminantes derivados de los suelos superficiales. Esta cuestión no se resolvió hasta que McNabb y Mallard⁶⁰, y Wilson y colaboradores⁶¹, describieron una técnica para recuperar suelos subsuperficiales no contaminados. La técnica depende de un dispositivo de recorte acoplado a un extrusor utilizado para empujar el suelo del portatestigos^{60,65}. Se utilizó una modificación de esta técnica durante el programa de perforaciones profundas llevado a

cabo en Savannah River, Carolina del Sur, donde se aislaron e identificaron microorganismos en testigos (controles) sacados a 265 m⁷. Algunos estudios realizados en Alemania también han demostrado la presencia de microorganismos en la subsuperficie⁹⁰. Ghiorse y Wilson³² publicaron una revisión de los métodos de detección, distribución y actividades de los microbios en los ambientes subsuperficiales que mostraba claramente los avances logrados en nuestros conocimientos sobre la ecología microbiana en la subsuperficie durante los últimos 10-15 años.

Sin embargo, no es suficiente con que los microorganismos estén presentes, también se deben adaptar al ambiente y a los contaminantes. En 1972, McKee et al⁶¹, informaron de que las especies que se producen de forma natural de los géneros *Pseudomonas* y *Arthrobacter* estaban implicadas en la desaparición de la gasolina adsorbida por las partículas de suelo. La gasolina desapareció a la velocidad de 2 g de gasolina/g de células bacterianas. Al año siguiente, Litchfield y Clark⁵⁴ informaron de la existencia de importantes cantidades de bacterias hidrocarbonocásticas (degradadoras de hidrocarburos) presentes en las aguas subterráneas contaminadas con hidrocarburos del petróleo, y de que estas cifras estaban relacionadas con la concentración del contaminante. Según estos estudios, se había producido una adaptación natural para posibilitar la biodegradación de los hidrocarburos del petróleo.

Existen estudios similares que tratan la contaminación con hidrocarburos no petrolíferos. Spain y Van Veld demostraron que las poblaciones presentes en los sedimentos fluviales del río Escambia, cuando se colocaban en ecotestigos, se podían adaptar a la exposición repetida al α -nitrofenol⁸². Este concepto de adaptación microbiana a los contaminantes orgánicos también fue examinado por Aelion et al., este grupo estudió las tasas de mineralización de algunos compuestos seleccionados¹. De los cinco compuestos aromáticos y bromuro de etileno (EB) ensayados por ellos, solamente el α -nitrofenol mostró la respuesta de adaptación deseada. El fenol, α -cresol, y EB se mineralizaron tan rápidamente que los autores llegaron a la conclusión de que la adaptación de las poblaciones al acuífero ya había tenido lugar¹.

Lee et al. presentaron un trabajo adicional documentando la adaptación o selección de microbios para degradar contaminantes en una zona contaminada con creosota en Conroe, Texas⁴⁹. En los microcosmos conseguidos con suelos procedentes de la zona contaminada en este lugar, había seis compuestos específicos de creosota con una pérdida de uno ó dos órdenes de magnitud mayor que la observada en los microcosmos preparados con suelos procedentes de una zona limpia cercana⁴⁹.

De estos estudios surge la duda de si los contaminantes ejercen presiones selectivas sobre la población y, por lo tanto, apoyan a los microorganismos capaces de degradar contaminantes y les permiten sobrevivir en mayor número que los demás, o si se produce una alteración genética que permite a las nuevas bacterias degradadoras del contaminante competir mejor que los otros microorganismos. Existen pruebas circunstanciales a favor de ambas teorías. Ogunseitán et al. encontraron plásmidos en cantidades significativamente mayores en las bacterias aisladas de una zona contaminada que en las de una zona primitiva (limpia)⁶⁹. Jain et

al. demostraron también que los plásmidos catabólicos que se producen de forma natural se podían mantener sin la introducción de cepas autóctonas⁴². Más recientemente, se constató la presencia de plásmidos en gran número de bacterias aisladas procedentes de las perforaciones profundas realizadas en el Savannah River²⁹. Por lo tanto, se puede producir un intercambio genético y modificaciones genéticas naturales en respuesta a los compuestos orgánicos introducidos.

También hay que señalar que se han encontrado múltiples poblaciones de bacterias coexistiendo en los suelos^{47,77}. Azam y Hodson han llegado a resultados similares estudiando conjuntos microbianos marítimos; en este caso, observaron cinéticas no lineales durante la mineralización de los compuestos orgánicos en un rango de concentración de sustrato de tres órdenes de magnitud. Los autores atribuyeron esto a la existencia de diversas poblaciones con distintas constantes de afinidad que respondían a las diferentes concentraciones de los sustratos⁶. Estas poblaciones múltiples provocan cinéticas multifásicas para la biodegradación. El grado en el que se produce esto durante una BIS real aún no se ha investigado. Si las cinéticas multifásicas fuesen operativas en aguas subterráneas contaminadas, esta información serviría para responder a los sectores críticos que consideran la BIS no aplicable en una zona determinada porque las concentraciones son demasiado altas o bajas.

Finalmente, para que los microorganismos degraden activamente a los contaminantes, deben contar con suficientes nutrientes. Normalmente, la subsuperficie es deficiente en uno o más nutrientes o micronutrientes, por lo tanto, para lograr una degradación óptima es crucial llevar a cabo ensayos de tratabilidad con el fin de establecer qué componentes son necesarios y en qué concentraciones. Esto implica el ensayo de los suelos y de las aguas subterráneas para conseguir fuentes de nitrógeno, como amoníaco o nitratos; para obtener fosfatos y otros micronutrientes. Swindoll et al.⁸⁵ y Lewis et al.⁵⁰ demostraron la importancia de estos nutrientes en la degradación microbiana. Lewis et al. descubrieron que la duración del período de retardo era mayor en las poblaciones microbianas con ambientes limitados en nitrógeno o fósforo, y que la duración era menor con la adición de nitrógeno o fósforo⁵⁰. También es importante saber si el sistema es anóxico u oxidado, ya que esto afectará al estado de oxidación-reducción de muchos elementos y, por lo tanto, a su biodisponibilidad. En 1987, Barker et al. demostraron que unos niveles bajos de oxígeno limitaban la biodegradación del benceno, tolueno y xileno (BTX). En general, los ensayos de tratabilidad suelen consistir en la adición de oxígeno u otro receptor de electrones a los materiales en el acuífero, junto con una fuente de nitrógeno y/o fosfatos, y quizás también oligoelementos o potasio.

Limitaciones a la BIS

Existen cuatro factores importantes que pueden limitar la aplicación de una BIS:

- Tiempo.
- Metabolitos secundarios o recalcitrantes.

- Geoquímica e hidrología.
- Factores ambientales.

El grado en el que estos factores limitan la aplicación de una BIS a menudo es más una cuestión política y económica que científica. Sin embargo, hay situaciones, especialmente en lo que respecta a los productos de degradación y al control hidrogeológico, que podrían limitar la aplicación de esta tecnología.

Tiempo

La BIS no es una tecnología instantánea y rápida. Se necesita tiempo: para realizar el estudio de tratabilidad necesario, para el trabajo geotécnico, y para que crezcan los microorganismos y descompongan los contaminantes *in situ*. Si el cliente está obligado a limpiar una zona dentro de un marco temporal muy limitado, quizás no sea posible utilizar la BIS en dicha zona. Sin embargo, y con mucha frecuencia, se emplea el tiempo como excusa para no usar una BIS, ya que existe la percepción de que los métodos tradicionales de bombeo y tratamiento van a ser más rápidos y aceptables para la comunidad reguladora. En la mayoría de los casos, exceptuando la excavación, la BIS es más rápida y completa que las tecnologías de bombeo y tratamiento. Si se utiliza conjuntamente con el arrastre por aire o un biorreactor en la superficie, las dos tecnologías combinadas serán sustancialmente más rápidas que cualquier tecnología por sí sola, y el coste añadido será mínimo.

Producción de metabolitos secundarios o recalcitrantes

Una de las razones fundamentales para llevar a cabo estudios de tratabilidad es determinar la capacidad de aumento de la población autóctona, el grado de biodegradación posible en condiciones ideales de laboratorio, y el potencial para la formación de productos secundarios metabólicos no deseados. Si no se puede estimular la formación de una población importante de microorganismos para que degrade el contaminante, entonces la zona no será candidata a la BIS. En general, se espera una biodegradación de al menos un 20-25 por ciento durante un estudio de tratabilidad de 4-6 semanas. Si no se produce esto, y en más de 40 casos sólo ha sucedido dos veces, se recomienda el uso de otras tecnologías para la recuperación de la zona.

Un caso igual de grave, pero más difícil de solucionar, es la generación de metabolitos secundarios. Si se produce una biotransformación en vez de una mineralización, entonces habrá que determinar la toxicidad de estos nuevos productos. Si son menos tóxicos y/o inmóviles que el contaminante original, entonces la BIS aún será una elección razonable. Sin embargo, si son más tóxicos y/o móviles, hay que evaluar los riesgos para determinar si la BIS es viable. En la mayor parte de los casos, la respuesta será negativa. No obstante, existe la posibilidad de incluir un sistema de tratamiento en la superficie (quizás operando bajo diferentes condiciones redox) para mitigar el efecto de estos productos de transformación y continuar la acción de la BIS en los suelos subsuperficiales.

Hay que ser extremadamente cuidadosos, sin embargo, a la hora de extrapolar los datos de laboratorio a situaciones reales. Recientemente se dio una situación potencialmente limitante en el laboratorio para una zona que contenía clorobenceno. Uno de los intermediarios en la biodegradación del clorobenceno es el 3-clorocatecol⁷³. Cuando se observaron las bacterias degradadoras del clorobenceno, se descubrió que algunas colonias aparecían de color púrpura. Esta coloración era resultado de la acumulación de 3-clorocatecol. Afortunadamente, las bacterias aisladas de las colonias no purpúreas podían utilizar el 3-clorocatecol y el clorobenceno. De esta forma, se pudo demostrar que el consorcio microbiano natural no permitiría la acumulación de este intermediario durante la BIS, y la agencia estatal aprobó la biorrecuperación *in situ* en esta zona⁶⁸. Por lo tanto, hay que tener en cuenta que el consorcio bacteriano natural quizás consiga mineralizar mejor las mezclas complejas de lo que indican los cultivos puros o incluso los estudios de laboratorio y, de este modo, se evite la acumulación de productos secundarios metabólicos.

Existen compuestos, mezclas, y sustancias que son recalcitrantes, o para las cuales no se ha desarrollado todavía ningún tratamiento *in situ* que sea práctico. Entre estos compuestos están: algunos de los bifenilos policlorados (PCBs), especialmente los PCBs congéneres mayores del 1.248; los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPAs) con anillos de seis miembros o más; los residuos mezclados con radioisótopos; el amianto; y algunos metales, como cadmio, mercurio o cromo. Si existen metales en una zona durante los estudios de tratabilidad, se deberá demostrar que no se produce una movilización de los complejos metálicos que anteriormente permanecían inmóviles. Algunos cambios sutiles en el pH o en el contenido orgánico pueden alterar la afinidad o estado de oxidación de un metal y hacerle más móvil, con lo que se crea un problema donde anteriormente no existía. De modo similar, el metabolismo microbiano puede provocar la precipitación de metales en forma de sulfuros en condiciones anaerobias. Esto puede ser ventajoso o provocar un atascamiento en el acuífero. La utilidad de la precipitación selectiva *in situ* de los metales aún tiene que ser investigada en este campo.

Geoquímica e hidrología

Un factor limitante en la BIS es el control de las aguas subterráneas. Por supuesto, se trata de un problema para cualquier tecnología correctora, pero se vuelve más relevante cuando se están añadiendo nutrientes y/o oxígeno a la subsuperficie. Si no existe un control sobre la distribución de las aguas recicladas con nutrientes, no dispondremos de ninguna indicación acerca de si las enmiendas llegan a la zona contaminada o están afectando a otras regiones. Esto no solamente prolonga el período de recuperación, y quizás conduzca a un biotratamiento incompleto, sino que además es muy costoso y provoca un enriquecimiento innecesario de las aguas subterráneas. Las condiciones que pueden provocar un escenario como éste son: un lecho de roca fracturado o un acuífero definido de forma pobre o incompleta.

Aunque la arcilla no sea el mejor medio para una BIS, siempre que sea posible mover el agua y los nutrientes a través del acuífero (aunque sea lentamente), se

podrá implantar la BIS. Una formación poco permeable tardará más en alcanzar los niveles de limpieza, pero si el tiempo no es un factor crítico, la BIS es posible en las formaciones de arcilla arenosa o arcillosas. Si se dan estas circunstancias, cualquier tecnología de tratamiento empleará más tiempo del que necesitaría en una formación más permeable ($>10^{-5}$ cm/s).

Factores ambientales

Los factores ambientales que se citan con más frecuencia como influyentes en la BIS son: temperatura, pH, y potencial redox. Ninguno de estos factores es necesariamente una limitación para la BIS. La temperatura de las aguas subterráneas no cambia con las estaciones. Puede que haya un ligero incremento de 3 a 4 °C en las aguas subterráneas poco profundas sureñas durante el verano, y una caída similar en las aguas subterráneas norteñas durante el invierno, pero estas fluctuaciones no están fuera de los límites del crecimiento microbiano. De hecho, el consorcio microbiano presente en el acuífero se ha adaptado a estas condiciones, y es capaz de metabolizarse y reproducirse a temperatura ambiente.

El pH del acuífero normalmente es de 6-9. En algunos casos los contaminantes han bajado el pH a 4, pero incluso en esta situación se ha podido demostrar la biodegradación en el laboratorio, lo que indica que el consorcio microbiano es capaz de adaptarse a las condiciones ambientales locales. El peligro potencial viene cuando se produce un cambio drástico en el pH debido al ácido generado durante la biodegradación. Si el acuífero no está bien tamponado, existe el potencial, especialmente con los compuestos altamente clorados, de que se produzcan altas cantidades del ion de cloruro, lo que puede causar una caída importante del pH. Esto podría conducir a una inhibición de la actividad microbiana, y, tal y como se mencionó anteriormente, a movilizar compuestos que antes estaban inmovilizados. Sin embargo, con unos estudios de tratabilidad cuidadosamente diseñados, se puede prever este problema, y diseñar métodos para evitarlo.

Lo mismo se puede decir para el potencial redox y para los cambios que puedan ser necesarios en la disponibilidad de oxígeno del acuífero. La mayoría de los acuíferos no contaminados y poco profundos (menos de 60 m) contienen algo de oxígeno, mientras que los acuíferos más profundos a menudo contienen sulfato o nitrato. Sin embargo, donde existe contaminación no es raro encontrar niveles muy bajos de oxígeno disuelto. Esto se puede deber a la BIS natural. De hecho, Rifai y Bedient, utilizando el modelo de ordenador Bioplume II, confirmaron que los niveles de oxígeno subían al mismo tiempo que bajaban los de nitrógeno⁷⁴. Chang et al.^{16,17} llegaron a conclusiones similares constatando que los pozos que contenían <0,9 ppm de BTX tenían unos niveles de oxígeno disuelto mucho más altos que los pozos que contenían >1,0 ppm de BTX. Por lo tanto, para conseguir una biodegradación óptima, el oxígeno puede llegar a ser el factor limitante más crítico. Se puede solventar esta deficiencia mediante la adición de aire a la subsuperficie, de oxígeno puro, de peróxido de hidrógeno, o de otro receptor de electrones, como nitratos. La desventaja al añadir oxígeno, obviamente, es que también se van a oxidar el hierro y el manganeso, que posteriormente se pueden precipitar y provo-

car el atascamiento del acuífero. Pero si se han realizado los estudios necesarios, descritos anteriormente, la precipitación se puede evitar y se puede lograr la oxigenación del acuífero de forma segura.

Ventajas de la BIS

Existen cuatro ventajas fundamentales cuando se procede al aumento de las tasas naturales de biodegradación. La primera es que se reducen de forma importante los tiempos de recuperación en comparación con los procesos no aumentados o las tecnologías tradicionales de bombeo y tratamiento. Se tratan al mismo tiempo tanto los suelos subsuperficiales como las aguas subterráneas y, de esta forma, se evita que a largo plazo los contaminantes se lixivien de las partículas del suelo. Cuando sólo se tratan las aguas subterráneas, mediante el arrastre por aire o un biorreactor en la superficie, los suelos sirven de depósito a los contaminantes y, lentamente, los orgánicos se lixiviarán a las aguas subterráneas. La tasa de lixiviación dependerá del coeficiente de reparto de los contaminantes en las partículas de suelo, entre la matriz orgánica del suelo, y las fases de agua y gas.

Otra ventaja importante al usar la BIS es que, bajo condiciones aerobias, los contaminantes se mineralizan normalmente en CO₂, agua, biomasa y sales, si es el caso. Esto eliminaría las responsabilidades futuras que se pudiesen derivar de una excavación y vertido del suelo contaminado. Una tercera ventaja serían los costes. Aunque la incineración sea más rápida, es cada vez más difícil obtener permisos para la incineración, y tanto los costes de transporte como los de excavación dan lugar a un coste de recuperación entre tres y diez veces mayor que el originado por una BIS. Finalmente, puesto que la BIS es un proceso natural que utiliza la población de microorganismos autóctonos, por lo general, se percibe como un proceso ecológicamente más aceptable. Sólo se añaden compuestos orgánicos al acuífero, y se trata de sustancias que van a ser consumidas cuando los microorganismos degraden los contaminantes. Por lo tanto, la BIS proporciona una tecnología eficaz y rentable para la limpieza de los acuíferos contaminados.

Estudios de casos: hidrocarburos del petróleo

Introducción histórica

La primera BIS documentada fue descrita por Jamison et al. en 1975⁴³. Estos autores describieron el derrame de un oleoducto, en el este de Pennsylvania, que contaminó una formación dolomítica con gasolina. Después de la recuperación del producto libre, y de la adición de 58 toneladas de sulfato de amoníaco, 29 toneladas de fosfatos mono- y dibásicos, y aire, estimaron que se habían biodegradado aproximadamente 172 m³ (1.080 barriles) de gasolina. Esto representaba un tercio del derrame original, 509 m³ (3.200 barriles)⁴³. El número de bacterias fue originalmente de 1×10^3 a 1×10^4 unidades formadoras de colonias/ml, y alcanzaron

un máximo de $4,2 \times 10^6$ unidades formadoras de colonias/ml antes de que disminuyese la población cuando desapareció la fuente de carbono de la gasolina.⁷¹

Desde los estudios iniciales de Raymond⁷¹, tanto él como sus colaboradores han realizado otras biorrecuperaciones *in situ* en acuíferos arenosos en Millville, New Jersey⁷²; Long Island, Nueva York⁴⁸; y Watsonville, California⁵³. En cada caso se realizaron descripciones de la geología/hidrología, se hicieron ensayos de tratabilidad y se determinaron las necesidades de aditivos, nutrientes y oxígeno, además de informar sobre el nivel de recuperación logrado.

Estudios de casos publicados

Debido al trabajo pionero de Raymond sobre biorrecuperación de hidrocarburos del petróleo, la mayoría de las aplicaciones de la BIS, hasta ahora, se han centrado en este grupo de contaminantes. La mayor parte de los estudios de casos documentados incluyen descripciones de geología, hidrogeología, datos sobre las concentraciones de contaminantes y distribuciones entre las fases acuosas y sólidas, y conductividad hidráulica, así como resultados de los ensayos de biotratabilidad. En la Tabla 7.2 se recogen algunos de los estudios de casos mejor descritos sobre hidrocarburos del petróleo.

Uno de los ensayos de campo más completos sobre la BIS ha sido el trabajo realizado en la Estación Aérea de los Guardacostas de Traverse, Traverse City, Michigan^{4,88,89}. Este lugar se contaminó con cerca de 38 m^3 (10.000 galones) de combustible para reactores (JP-4) debido a una junta rota en un depósito subterráneo. La zona, de aproximadamente 1,6 km (1 milla), en East Bay, Lago Michigan, es un acuífero poco profundo de arena y grava. La profundidad hasta el agua subterránea es de 4,5 m y el flujo de las aguas subterráneas presenta una dirección noreste hacia East Bay. Se diseñó un ensayo piloto para evaluar las necesidades de nutrientes y de peróxido de hidrógeno con el objeto de aumentar la BIS. La zona de ensayo fue una parcela de 10 por 30 m en la que se instalaron cinco pozos de inyección; nueve pozos de control de 10 cm y doce pozos agrupados de pequeño diámetro y distintas profundidades equipados con sondas especiales distribuidas a distintas profundidades, entre 4 m y 8,5 m por debajo de la superficie.

El diseño y la operación del sistema seguían el modelo de ordenador Bioplume II. Después de calcular la demanda de oxígeno del sistema, se estableció que era necesario lograr una tasa de flujo de $9 \text{ m}^3/\text{h}$ [40 galones por minuto (gpm)] para subir el nivel freático 30 cm con objeto de alcanzar el material atrapado en el borde capilar. Se dividió el agua y se inyectaron $4,5 \text{ m}^3/\text{h}$ (20 gpm) directamente, mientras que $2,5 \text{ m}^3/\text{h}$ (11 gpm) fueron tratados con los nutrientes necesarios antes de la inyección. Junto con la adición de nutrientes, se suministró oxígeno líquido puro al sistema durante aproximadamente 3 meses, posteriormente se añadió peróxido de hidrógeno durante el periodo del ensayo piloto. Después de la adición del oxígeno líquido, se realizaron diversos ensayos con trazador para determinar el transporte del oxígeno disuelto, cloruro, amoníaco y fosfatos.

Durante todo el estudio, además de los nutrientes y del oxígeno, se controló el benceno, tolueno; etilbenceno, y los xilenos (BTEX), el pH, la conductividad, la

temperatura, el nivel del agua, y las cifras microbianas utilizando los procedimientos estándares publicados. Los testigos se recogieron asépticamente antes de que se iniciase el proyecto, después de 3 meses de operación, y aproximadamente 5 meses después.

Los resultados, después de aproximadamente 9 meses de operación, mostraron que mientras se consumían el oxígeno y los nutrientes, descendía la cantidad de BTEX, lo que servía como indicativo del consumo microbiano. Además, había un incremento de hasta un orden de magnitud en las cifras de las bacterias degradadoras de hidrocarburos, especialmente en los niveles más profundos. El incremento dependía de la proximidad al oxígeno, de los nutrientes y de la presencia de BTEX. Se observó que el oxígeno se consumía primero en los niveles menos profundos y que no pasaba al siguiente nivel hasta que el nivel de BTEX era indetectable o <10 ppb. Tal y como se podía esperar en un acuífero arenoso, la permeabilidad no se vio afectada por la adición de peróxido de hidrógeno^{88,89}.

Problemas con el suministro de oxígeno y su sustitución por nitrato

Se han dado varios casos en los que añadiendo peróxido de hidrógeno a sistemas de BIS han surgido problemas de descomposición rápida^{21,38,81} o precipitación⁹¹. Esto ha propiciado el desarrollo de ensayos con nitrato como receptor de electrones alternativo. Una de las primeras zonas en las que se empleó nitrato para la degradación anaerobia de los hidrocarburos del petróleo fue el Valle del Rin, en Saarbrücken, Alemania⁹⁰. En la Tabla 7.2 se muestra información básica sobre la geología y contaminación en esta zona. Se eligió la BIS debido al tamaño de la zona y a la presencia de edificios sobre la zona contaminada. El hierro y el metano fueron algunos de los problemas a plantear. Al agua filtrante se le añadió cloruro de amoníaco, fosfatos y nitrato, este último en cantidades de aproximadamente 4 mg/mg de hidrocarburo. El agua de lavado también se saturó con oxígeno mediante un sistema de aireación. Con el tiempo aumentaron tanto el CO₂ como el gas nitrógeno. Los hidrocarburos alifáticos descendieron desde un nivel inicial de 2 mg/l hasta 0,1 mg/l después de dos años. Originalmente presentes en torno a 5,5 mg/l, los xilenos descendieron hasta 0,08 mg/l durante los 24 meses de operación. Los investigadores constataron que la cantidad de oxígeno que se calculaba que estaba presente no podía justificar el grado de biodegradación, y llegaron a la conclusión de que en este sistema el principal receptor de electrones había sido el nitrato⁹⁰.

En la Estación del Guardacostas estadounidense de Traverse City, Michigan, se realizó otro estudio importante sobre la BIS en condiciones desnitrificantes. Las características generales de esta zona se han descrito anteriormente^{4,88}.

Para el ensayo piloto de desnitrificación se trató con nitrato de sodio y nutrientes (fosfatos y cloruro amónico), añadidos mediante una galería de infiltración utilizando agua recirculada, una parcela de 10 m por 10 m, pendiente arriba de la zona del ensayo aerobio. La desaparición del benceno y del tolueno coincidió con el suministro de oxígeno al acuífero, suministro realizado mediante el agua aireada recirculada. Sin embargo, el incremento repentino de nitratos en las aguas sub-

TABLA 7.2. Selección de estudios de casos publicados sobre la biorrecuperación *in situ* de derrames de hidrocarburos del petróleo

Localización	Tipo y cantidad de contaminante	Ensayo completo (C) o ensayo piloto (P)	Geología*	Área	Adición de nutrientes	Receptor de electrones	Duración del tratamiento	Rendimiento	Problemas	Empresas**	Referencia
Watsonville, California	Gasolina, 3.785 l	C	CL, ML, SC, ocas. SW	ND***	NH ₄ ⁺ fosfatos	H ₂ O ₂	13 meses	>90%	ND	DERS	53
Long Island, Nueva York	Gasolina, 37.850 l.	C	GP, CL lentes	45 x 90 x 2,2 m	NH ₄ ⁺ fosfatos	H ₂ O ₂	64 meses	>99%	ND	DERS	48
Norte de Indiana	Gasolina, 302.800 l.	P	GM	60-120 x 180-300 m	NH ₄ ⁺ fosfatos	H ₂ O ₂	6 meses	63-80%	Ca, Mg, Fe	IT	3
Refinería en Michigan	Hidrocarburos del petróleo, ND	P	ND	ND	ND	Agua aircada	106 días	78-90%	Lluvias e inundaciones	OHM	78
Sur de California	Gasolina, ND	C	GM, CL y SM lentes	2.787 m ²	RESTORE™ 375	H ₂ O ₂	6 meses	84 a >99%	Otro derrame	IT	2,14
Oakland, California	Gasolina, 5.000 ppm en suelo	C	GM, ML	6-8.000 m ³	ND	H ₂ O ₂	9 meses	80%	ND	HL	63
Canadá	Gasolina, ND	C	GP relleno, lecho de roca fracturado	A + B = 24 x 30 m C = 21 x 72 m	NH ₄ ⁺ fosfatos	H ₂ O ₂	6 meses	A = 95% B = 40-50% C = 85%	Materia adsorbido	GTI	13
Valle Superior del Rin, Alemania	Derrame de petróleo, est. 17 toneladas	C	SW, ML	270 x 90 m	NH ₄ ⁺ fosfatos	Nitrato, 300 ppm	24 meses	>95%	Hierro y metano	ND	90

Camp Grayling, Base Aérea, Grayling, Michigan	Gasóleo, 16.000-25.000 ppm en suelo	C	SW, CL lentes	45 x 45 x 4,2 m	ND	Biorreactor sobre el suelo con recirculación de agua aireada	11 meses	>95%	ND	Hunter	51
Este de Missouri	Gasolina, 113.550 l	C	Suelo impermeable con lecho de roca fracturado	108 x 216 m	ND	H ₂ O ₂	32 meses	>99%	ND	J. Mathes	9
Sur de California	Gasolina, 200 ppm total de hidrocarburos de petróleo	C	SC	Agua subterránea a 18 m y aprox. 12 x 15 m sobre la superficie	ACT™ (NH ₄ ⁺ , fosfatos)	H ₂ O ₂	10 meses	>99%	Baja permeabilidad	CAA	28
Amsterdam, Holanda	BTEX/aceite mineral, 200 y 6.000 mg/kg suelo, respectivamente	C	ND	ND	ND	Agua saturada con oxígeno	3 meses	79% del aceite; 98% del BTEX	ND	DRM	83
Arnhem, Holanda	Aceite mineral, 10.000 mg/kg de suelo	C	ND	6,3 m de suelo no saturado hasta el agua subterránea	ND	KNO ₃	Continuo	Después de 2 meses, 5-56%	ND	DRM	83
Este de Pensilvania	Gasolina, 3.400 l	C	SP, MH	540 x 400	NH ₄ ⁺ , fosfatos	H ₂ O ₂	24 meses	99%	Nivel freático bajo por sequía	GTI	52

* Las abreviaturas se basan en el Sistema Unificado de Clasificación de Suelos.

** Los nombres de las empresas se han abreviado de la siguiente forma: DERS = DuPont Environmental Remediation; OHM = OH Materials, Inc.; IT = International Technology Corp.; GTI = Groundwater Technology Inc.; Hunter = Hunter Bioscience, Inc.; J. Mathes = John Mathes & Associates; CAA = Cambridge Analytical Associates Bioremediation Systems;

DRM = De Ruiter Milieutechnologie B.V.

*** ND = No declarado.

terráneas recuperadas coincidió con la desaparición de los *m*- y *p*-xilenos. Esto indicaba que el nitrato sólo se utilizaba durante la biodegradación de los xilenos. Las concentraciones medias en el suelo de los distintos contaminantes descendieron: el benceno pasó de 0,84 a 0,032 mg/kg, el tolueno de 33 a 0,013 mg/kg, el etilbenceno de 18 a 0,36 mg/kg, el *m*- y *p*-xileno de 58 a 7,4 mg/kg, y el *o*-xileno de 26 a 3,2 mg/kg. Las concentraciones de alquilbenceno también se redujeron en más del 90 por ciento, pero aún estaban presentes en niveles de 17 a 258 mg/kg de peso seco. Los autores constataron que, al menos en este estudio, se habían dado sendos procesos aerobios y anaerobios en la descomposición microbiana del BTEX y de los restantes componentes del combustible JP-4^{20,40,41}.

Aparentemente, hubo un ejemplo de biorrecuperación anaerobia natural en el combustible de los aviones reactores del Aeropuerto Internacional de Miami³⁵. Cuando los intentos por recuperar el producto libre tropezaron con bolsas de gas metano en los suelos arenosos porosos, hubo que desarrollar un sistema seguro para la recuperación del gas, que incluía el uso de materiales a prueba de explosiones y una fórmula para diluir el 75 por ciento del metano presente en la atmósfera hasta alcanzar un 5 por ciento, límite inferior de explosiones. Ya se han instalado varios sistemas de recuperación del gas³⁵, pero no se ha planteado la cuestión básica: la degradación anaerobia microbiana que provoca la producción del gas. Aquí, de nuevo, como en el caso de Alemania⁹⁰, la presencia del metano implica la existencia de una BIS anaerobia que tiene lugar de forma natural.

Biotratamiento en una zona vadosa

Con frecuencia, no es posible elevar el agua desde la zona saturada hasta la zona vadosa para efectuar la BIS. Esto es especialmente cierto cuando existe una pobre permeabilidad o capacidad de retención del agua, o cuando la profundidad del agua subterránea es mayor de 3-6 m. Algunos avances recientes en los diseños de ingeniería han dado lugar al desarrollo de tratamientos *in situ* para la zona vadosa, forzando aire en dicha zona y añadiendo humedad y nutrientes a los suelos (Fig. 7.2). Una de las primeras descripciones de esta técnica fue la realizada por Staps para una operación a escala piloto en Holanda⁸³. Como describió Staps, el tratamiento de la zona vadosa mediante la adición de aire, humedad, y nutrientes es una combinación de procesos físicos y químicos. Para el ensayo piloto, se añadieron 125 kg de gasolina a un suelo arenoso limpio que se ventiló mediante un sistema al vacío conectado a drenes. Se aplicaron nutrientes para mantener una relación C:N:P de 100:10:2. Se construyeron drenes adicionales para recuperar el agua añadida. Durante 250 días de ensayo, la concentración de gasolina en la arena descendió desde 17.000 ppm hasta <100 ppm. Los investigadores calcularon que el 58 por ciento de la gasolina se separó mediante la evaporación originada por la ventilación, el 27 por ciento desapareció por la degradación microbiana, el 7,5 por ciento se incorporó al agua recuperada, y el 6,8 por ciento se perdió debido a la evaporación incontrolada⁸³.

Desde ese experimento, se han llevado a cabo varios estudios piloto en relación a los hidrocarburos del petróleo. Ely y Heffner obtuvieron una patente para usar un sistema al vacío en la zona vadosa que aumentaba la biodegradación natu-

ral²⁵, por otro lado, Hinchee et al. presentaron un modelo conceptual para aumentar la biodegradación mediante la ventilación del suelo^{21,39}. Todos estos autores han reconocido la importancia de diferenciar entre las pérdidas por evaporación y por biodegradación, y sugieren la necesidad de controlar los gases de ventilación, el CO₂ y O₂. La ventaja que ofrecen estos sistemas es que se pueden extraer o empujar a través de la zona vadosa grandes cantidades de aire, lo que permite introducir oxígeno en cantidades proporcionalmente mayores —por ejemplo, 1,7 Nm³/h (1 scfm) introducirá 23 lb/día de oxígeno en los suelos—³⁸. Otra ventaja es que los gases pueden penetrar más fácilmente que los líquidos, con lo que se incrementa la transferencia en masa del oxígeno y se distribuye a más organismos el oxígeno necesario para la biodegradación.

Esta tecnología de ventilación del suelo se adapta bien a la situación descrita por Brown y Crosbie¹². En este caso, la mayor parte de la contaminación con gasolina residual estaba presente a una profundidad de 3-4 m por debajo de la superficie terrestre, en una región de fluctuaciones estacionales en el agua subterránea. Se construyeron seis pozos para la extracción del vapor del suelo. Los vapores recogidos del suelo pasaron por columnas de carbón vegetal para tratarlos antes de su emisión a la atmósfera. Se controló el gas efluente y la cantidad de CO₂, inicialmente del 11 por ciento, descendió hasta el 1,4 por ciento cuando bajó la concentración media de hidrocarburos¹².

En la Base Aérea de Hill, Utah, se produjo un derrame de JP-4 en enero de 1985 provocando la emisión de 102,2 m³ (27.000 galones) de combustible.²² Aproximadamente 7,6 m³ (2.000 galones) se recuperaron como producto libre, y el combustible restante se retuvo en los suelos no saturados de un área de aproximadamente 4.050 m² (1 acre) y 17 m de profundidad. El nivel freático estaba a 200 m de la superficie terrestre. Se empleó una ventilación del suelo de alto volumen durante unos 9 meses y se controló la respiración ese tiempo. Los autores calcularon que se degradó entre el 15 y 25 por ciento de los hidrocarburos, y el resto de los productos volátiles se recogieron mediante el procedimiento de ventilación de suelos de alto volumen. Después, se instaló un sistema de bioventilación que operaba a una velocidad igual a la tercera parte o la mitad de la tasa de alto volumen y se controlaron los efectos provocados por la adición de humedad y humedad más nutrientes. En base al control de los gases *in situ* y en las chimeneas de ventilación, los autores llegaron a la conclusión de que el 80-90 por ciento de la disminución producida en los hidrocarburos del petróleo se podía atribuir a la biodegradación con adición de humedad, el parámetro más importante. La combinación de bioventilación de alto y bajo volumen redujo el nivel de contaminantes en los suelos desde una media de 410 mg/kg, antes de la ventilación, hasta una media de 2,8 mg/kg, después de 21 meses de tiempo total de tratamiento²².

Estos resultados que muestran los efectos beneficiosos de la adición de nutrientes no han sido confirmados por Miller et al. para un derrame de combustible de reactor en la Base Aérea de Tyndall, Florida⁶². En este lugar, un ensayo piloto de 7 meses mostró que solamente el 55 por ciento de los hidrocarburos se biodegradaban, pero ajustando tan sólo el flujo de aire, en base a un consumo de oxígeno del 2 al 4 por ciento, el resultado se podía haber incrementado hasta el 85 %.

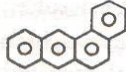
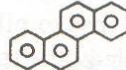
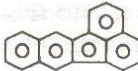

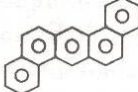

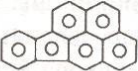
Sin embargo, ni la adición de humedad ni la adición de nutrientes tenía ningún impacto sobre el nivel de biodegradación⁶².

La técnica de bioventilación del suelo se puede estimular mediante la adición de aire y nutrientes justo a nivel freático, y realizando una succión mediante el vacío sobre los suelos para forzar aire húmedo a través de la franja capilar y la zona vadosa. Corey et al. han patentado una modificación de este concepto que denominan *bioventilación in situ*¹⁸. En la zona de Savannah River se realizó un ensayo real⁵⁵. Se informó sobre la eliminación de aproximadamente 7.250 kg (16.000 lb) de disolventes clorados durante los 139 días que duró el proceso. Se perforó un pozo horizontal de 50 m por debajo de la zona contaminada, y se localizó un segundo pozo horizontal en la zona vadosa a una profundidad de 23 m. Se introdujo aire de purgado en el pozo inferior, y se hizo un vacío en el pozo superior. La separación se vio incrementada en unos 9,5 kg/día sobre lo obtenido mediante la extracción horizontal al vacío, y la extracción horizontal fue 5 veces más eficaz que la de un pozo vertical de extracción al vacío⁵⁵. En este ensayo no se añadieron nutrientes, pero el control microbiano indicó un incremento en la biomasa y la formación de colonias debido al incremento del flujo de aire en el acuífero. Este sistema puede funcionar como un proceso de bioventilación *in situ*, tan sólo con la adición de los nutrientes necesarios mejorarían las velocidades de biodegradación y los gases expulsados se podrían controlar buscando cualquier incremento de CO₂ originado por el aumento de la actividad microbiana. Éste es un concepto muy interesante y necesita de una mayor aplicación y validación en estudios de campo, especialmente para compuestos semivolátiles.

Estudios de casos: zonas contaminadas con creosota y HPC

En los estudios de casos descritos anteriormente se puso un mayor énfasis sobre la reducción de la fracción BTEX y, ocasionalmente, sobre la reducción de los niveles de TPH en los suelos. (Los TPHs son mezclas extremadamente complejas de cientos de compuestos orgánicos alifáticos y aromáticos.) Como los microorganismos pueden degradar una porción importante de estas mezclas complejas, ¿podrían degradar también los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPAs) asociados a las plantas de tratamiento de madera o plantas de coque, o fábricas de gas. Para sorpresa de muchos, se demostró que los anillos fusionados de dos, tres, cuatro e incluso cinco miembros eran biodegradables. Los anillos de seis miembros o más son mucho más recalcitrantes. Esta recalcitrancia no es sorprendente cuando se considera la complejidad de los compuestos húmicos y ligninas y su persistencia en los suelos. Como sucede generalmente con los compuestos orgánicos, cuanto mayor sea su peso molecular, más lenta será su velocidad de biodegradación. La mayor parte del peso reglamentario, sin embargo, ha recaído sobre los HPAs cancerígenos (que contienen cinco o menos anillos) y, de forma secundaria, sobre la reducción de los HPAs totales en las aguas subterráneas y suelos. En la Tabla 7.3 se citan los siete HPAs potencialmente cancerígenos¹⁵. (HPC) o del inglés PCP (Potentially Carcinogenic PAHs).

TABLA 7.3. Lista de EPA de los HPAs potencialmente cancerígenos del nivel B-2 y sus estructuras

Nombre común	Estructura	NMC* (µg/l)
Benzo(a)antraceno		0,1
Criseno		0,2
Benzo(k)fluorantreno		0,2
Benzo(a)pireno		0,2
Dibenzo(a,h)antraceno		0,3
Benzo(b)fluorantreno		0,2
Indeno-(1,2,3-c,d)pireno		0,4

* NMC = Nivel máximo de contaminante, tal y como establece EPA.

Hasta la fecha, ha habido pocos estudios de casos documentados sobre la biorrecuperación *in situ* de HPAs. Esto probablemente se debe, en parte, a la creencia de que estos compuestos no son biodegradables, en parte, a que los tipos de industrias que utilizan o producen estas sustancias (plantas de coque, fábricas de gas, o plantas de tratamiento de madera) normalmente se localizan en zonas industriales y no residenciales y, finalmente, a que estos compuestos no son altamente volátiles o solubles en agua y, por lo tanto, no son tan móviles en las aguas subterráneas como lo son los BTEXs. Además, las velocidades de degradación, según los estudios de laboratorio, son más lentas y, por lo tanto, la biorrecuperación *in situ* será un proceso más lento.

Existen numerosos estudios de tratabilidad sobre las aguas subterráneas y los materiales procedentes de acuíferos contaminados con creosota y/o pentaclorofenol (Refs: 49, 57, 64, 86, 98, 99). Todos estos estudios demuestran que, con la

adición de nutrientes y el aumento de oxígeno, se pueden degradar la mayoría de los HPAs cancerígenos. Hay varios ensayos piloto en camino o esperando la aprobación reglamentaria final para poder realizar demostraciones reales sobre el grado y velocidad de la biodegradación.

Uno de estos ensayos piloto ha sido documentado por Lund y sus colaboradores, quienes han descrito su trabajo en el laboratorio y en las pruebas de campo para una planta de coque en Karlsruhe, Alemania⁵⁰. En el laboratorio, trataron los suelos con ozono para introducir oxígeno en los anillos con el fin de conseguir que fuesen más biodegradables, el resultado obtenido al final del período de ensayo (104 días) fue que se habían degradado aproximadamente el 40 por ciento de los HPAs. Se está realizando un ensayo piloto en campo en el que se han construido unos muros de una profundidad de 17 m alrededor de las parcelas de ensayo. Se excavó una capa de relleno de 2 a 3 m de profundidad, y se procedió a la separación del hormigón y los escombros que se pulverizaron y mezclaron con el suelo superficial, y de nuevo se introdujeron en la parcela de ensayo. La parcela ha sido deshidratada y se está bioventilando la zona al mismo tiempo que se añaden nutrientes mediante un sistema de riego⁵⁶. Hasta este momento, no se ha informado de ningún resultado.

Recientemente, la empresa Chester Environmental ha completado en el laboratorio un estudio de viabilidad sobre los suelos procedentes de una zona de tratamiento de madera en el Sureste de Estados Unidos. Utilizando la respirometría, las cuentas de placas y los análisis químicos, se demostraba que, con el aumento de nutrientes, los microorganismos eran capaces de degradar entre el 40 y el 90 por ciento de los HPAs individuales, incluyendo los HPAs potencialmente cancerígenos y el pentaclorofenol. El estudio de matraz duró 6 semanas y se llegó a una situación nutriente-limitante bajo estas condiciones de ensayo⁹⁸. Se está planificando una demostración piloto en una prueba de campo para el verano de 1993.

Mueller et al. también han demostrado la biodegradación microbiana natural de los HPAs en los suelos de la zona Superfondo del American Creosote Works en Pensacola, Florida⁶⁴. En sus condiciones de ensayo, el grado de eliminación varía desde el 53 por ciento de los HPAs que contienen cuatro o más anillos fusionados, hasta >80 por ciento de los compuestos nitrógeno-heterocíclicos y >95 por ciento de los HPAs de menor peso molecular (tres anillos fusionados o menos). Su estudio duró solamente 14 días, y durante este tiempo no se produjo ninguna biodegradación del pentaclorofenol⁶⁴.

Otros trabajos han demostrado que muchos de los HPAs se pueden degradar bajo condiciones anaerobias. Esta idea surgió observando la producción de metano en una zona contaminada con creosota en St. Louis Park, Minnesota^{23,24,34}. Se comprobó que el naftaleno y los compuestos fenólicos desaparecían más rápidamente de lo que se esperaba, y que el metano se formaba solamente en la mancha de contaminante. Por lo tanto, se estaba produciendo una biorrecuperación anaerobia natural²⁴. Después se aislaron diversos grupos metabólicos, incluyendo agrupaciones de metanogénicos (obligatoriamente anaerobias) y *Pseudomonas stutzeri* (respiradoras de nitrato), estos dos últimos grupos procedentes de los biorreactores del laboratorio y directamente del acuífero.

Finalmente, y en relación con la biodegradación de las zonas contaminadas con creosota, Flyvbjerg et al. demostraron en estudios de laboratorio que, bajo condiciones de desnitrificación, sólo se degradaba una pequeña parte de los compuestos de las aguas subterráneas contaminadas con creosota. Estos autores sugirieron que quizás se necesitasen múltiples tipos de condiciones anaerobias para lograr la recuperación completa de una zona²⁷. Todavía no se han probado las pruebas de tratamiento *in situ* que utilizan diferentes condiciones redox, desde metanogénicas a aerobias, pero, teóricamente, esto podría dar lugar a una recuperación más completa de una zona compleja contaminada con residuos mezclados.

Estudios de casos: otros compuestos orgánicos

Uno de los primeros intentos por demostrar la biodegradación de disolventes clorados fue el documentado por Jhaveri y Mazzacca^{44,45}. En este proceso se combinó el biorreactor en la superficie y el tratamiento *in situ*. El cloruro de metileno, el *n*-butanol, la propanona, y la dimetilnilina habían llegado a las aguas subterráneas mediante una línea de procesamiento subterránea en la zona de Waldwick, New Jersey. La zona estaba formada por una capa superficial de cieno y grava seguida de 3-5 m de morrena glacial, y debajo de esto aproximadamente 13 m de lodo y arena fina semiconsolidados. Esta capa tiene debajo cientos de metros de esquisto de Brunswick. Se combinó un biorreactor con película suspendida y la inyección pendiente arriba de agua tratada, unos pozos de aireación *in situ* localizados dentro de la mancha, y una serie de pozos de recuperación pendiente abajo. Después de tres años de operación, se había biodegradado el 90 por ciento de la mancha contaminada^{44,45}.

Uno de los tipos de contaminantes más penetrantes en las aguas subterráneas son los disolventes halogenados: el tetracloroetileno (PCE), tricloroetileno (TCE), dicloroetileno (DCE), y cloruro de vinilo (VC), junto con el etano, saturado de cloro, cloroformo y el tetracloruro de carbono. El destino de estos compuestos en la subsuperficie ha sido revisado recientemente por Vogel et al⁸⁷. Generalmente, está demostrado que, en condiciones anaerobias, estos compuestos se pueden deshalogenar hasta la etapa de cloruro de vinilo^{70,97}, aunque Rowland y Eisenberg han constatado la degradación anaerobia completa en un acuífero anaerobio poco profundo del sureste de Estados Unidos⁷⁶. Sin embargo, en condiciones aerobias, el metano, otros gases o un compuesto aromático pueden inducir a la degradación y/o cometabolismo del TCE^{36,65,92,93}. El metano u otros gases, como el propano, inducen las monooxigenasas^{92,93}, mientras que los compuestos aromáticos inducen la dioxigenasa⁶⁵, ninguna de estas enzimas es extremadamente específica y, por lo tanto, declorará los disolventes alifáticos. Ambos procesos han sido probados en ensayos de campo.

En un estudio de campo, se ensayó un sistema de inducción de la dioxigenasa mediante la adición de triptofano y de *Pseudomona P. cepacia* G4 a aguas subterráneas contaminadas con TCE. Durante los 20 días que duró el ensayo se produjo una reducción del TCE de un 97 por ciento⁶⁶. Este estudio se realizó antes de la

implicación del triptofano en problemas de tipo médico, y actualmente ha sido sustituido por otros inductores de la dioxigenasa. Después de una demostración de campo que logró una reducción del TCE de 700 ppb a 90 ppb en 25 días mediante el uso de *P. cepacia* G4, se ha planificado, para 1992, una recuperación a escala real utilizando un nuevo inductor (pendiente de patente)¹⁰⁰.

En la base aérea de Moffit Field, en California, se realizó un ensayo más amplio sobre un sistema inductor de monooxigenasa. Este trabajo lo realizaron McCarty y sus colaboradores^{75,79}. Los estudios de campo se basaron en los resultados obtenidos por Higgins³⁷ en el Reino Unido y por Wilson y Wilson; según estos autores, la monooxigenasa del metano no es específica y dechlorará los disolventes alifáticos. Roberts et al⁷⁵ describieron el diseño del ensayo de campo. Por debajo de una capa de arcilla superficial con un espesor de unos 4 m, el acuífero poco profundo estaba contaminado con un disolvente alifático clorado, el 1,1,1-tricloroetano (TCA). Los ensayos con trazador y los estudios de laboratorio mostraron que se podían inducir metanotrofos aerobios en el sistema mediante el suministro de oxígeno y metano. Estos gases se alteraron para evitar un exceso de crecimiento microbiano en los pozos de inyección⁷⁵. Se añadió TCE, *cis*- y *trans*-DCE, y VC al agua inyectada, y se siguió su progreso a través del acuífero mediante pozos de muestreo localizados aproximadamente a 1 m. Se calcularon los factores de retardo y se pulsó el sistema con metano y oxígeno. El estudio continuó durante 3 años y se constató la degradación de alrededor del 30 por ciento del *cis*-DCE, y de más del 95 por ciento del VC durante el tercer ensayo de 200 días. Sin embargo, sólo se transformó entre el 10 y el 20 por ciento del TCE durante esta tercera etapa de ensayo⁷⁹. Los porcentajes de TCE y de *cis*-DCE biotransformados habían sido mayores durante la segunda etapa del ensayo, 10-30 por ciento y 30-58 por ciento, respectivamente⁷⁵. Las velocidades de flujo utilizadas para este estudio fueron bastante rápidas (2 m/día), para que la biodegradación procediese con rapidez durante el corto intervalo del estudio. Estos autores demostraron también que la monooxigenasa del metano era necesaria para las biotransformaciones en este sistema, y que la inducción de la enzima sólo se podía conseguir mediante el suministro continuo de metano a los metanotrofos⁷⁹.

Para la BIS anaerobia, Suflita y sus colaboradores demostraron que se podía degradar el benzoato y el fenol de los lixiviados de vertederos bajo condiciones metanogénicas o sulfato-reductoras, pero la deshalogenación reductora quedaba limitada al sistema metanogénico⁸⁴. Más tarde demostraron que la inhibición del sulfato de la deshalogenación del ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético a veces se podía aliviar mediante la adición de molibdato al microcosmos del ensayo³³. Hasta el momento, no se ha informado sobre otros intentos de modificar la deshalogenación anaerobia natural con enmiendas de nutrientes que incluyan molibdato.

Otros investigadores han constatado la degradación del 2,4,6-trinitrotolueno (TNT) mediante *Phanerochaete chrysosporium* y han sugerido la aplicación de este hongo a los suelos contaminados con TNT²⁶. También se ha comprobado que este mismo hongo degrada los insecticidas alquihaluros que contaminan los suelos de acuíferos y las aguas subterráneas⁴⁶, pero, de nuevo, no se han llevado a cabo aplicaciones en sistemas de BIS ni a escala piloto ni real.

Existe un informe sobre la biorrecuperación *in situ* en una planta de herbicidas¹⁰ donde el acuífero se encuentra 11 m por debajo de un depósito glacial, (este depósito está formado por 8,5 m de arena cenagosa y arcilla situada encima de 3 m de arena gruesa y grava), y sobre un lecho de esquisto. El contaminante era el 4-cloro-2-metilfenol, compuesto muy biodegradable cuando se airea el agua subterránea. Se modificaron los sistemas existentes de bombeo y tratamiento incrementando el número de pozos de inyección y recuperación, y añadiendo bombas de transporte por aire a los pozos de recuperación. Después de seis meses de operación, se produjo una reducción del 50 por ciento en el tamaño de la mancha de contaminante¹⁰.

Conclusiones

La biorrecuperación *in situ* (BIS) o el biotratamiento de los suelos subsuperficiales y de las aguas subterráneas es una tecnología ya adulta. Se ha aplicado con éxito a la contaminación con hidrocarburos del petróleo durante casi 20 años y, más recientemente, a la contaminación con creosota y otros compuestos orgánicos. Quizás no sea la solución adecuada en todos los casos, pero se debe evaluar como una tecnología correctora posible en aquellos compuestos para los cuales sea aplicable. En algunos casos, incluso cuando la hidrogeología no sea óptima, puede ser el único método idóneo en base al análisis de los riesgos, costes, y límites de tiempo. La adaptabilidad y versatilidad de los microorganismos nunca deberían sorprendernos, y deberíamos dejar que sus capacidades sean el factor último determinante cuando estemos considerando la viabilidad de un proceso de biodegradación.

Reconocimientos

Para proporcionar una información resumida sobre las aplicaciones reales en los trabajos de campo, además de utilizar la literatura publicada, se ha contactado con numerosos expertos en BIS, quienes han compartido generosamente sus experiencias e informes con la autora. Agradezco también a G. Gromicko y S. F. Nishino su revisión del manuscrito, y a S. Sánchez su ayuda con la bibliografía.

Referencias bibliográficas

1. Aelion, C. M., C. M. Swindoll, and F. K. Pfaender. 1987. Adaptation to and Biodegradation of Xenobiotic Compounds by Microbial Communities from a Pristine Aquifer. *Appl. Environ. Microbiol.* 53:2212-2217.
2. Anonymous. N. D. In Situ Bioreclamation Case Study A. Gasoline Contamination in Southern California. International Technology Corporation. Torrance, CA, 4 pp.

3. Anonymous. 1987. In Situ Bioreclamation: A Case History. Gasoline Contamination in Northern Indiana. International Technology Corporation. Torrance, CA, 5 pp.
4. Armstrong, J. M., W. Korreek, L. E. Leach, R. M. Powell, S. V. Vandegrift, and J. T. Wilson. 1988. Bioremediation of a Fuel Spill: Evaluation of Techniques for Preliminary Site Characterization. pp. 931-943. NWWA/A-PI. Proceedings of Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Ground Water: Prevention, Detection and Restoration, Nov. 9-11, 1988. National Water Well Association, Dublin, OH.
5. American Society for Testing and Materials. 1984. Annual Book of ASTM Standards. Section 04.08 Soil and Rock; Building Stones. ASTM, Philadelphia, PA.
6. Azam, F., and R. E. Hodson. 1981. Multiphasic Kinetics for D-Glucose Uptake by Assemblages of Natural Marine Bacteria. *Marine Ecol. Prog. Ser.* 6:213-222.
7. Balkwill, D. L., J. K. Fredrickson, and J. M. Thomas. 1989. Vertical and Horizontal Variations in the Physiological Diversity of the Aerobic Chemoheterotrophic Bacterial Microflora in Deep Southeast Coastal Plain Subsurface Sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:1058-1065.
8. Barker, J. F., G. C. Patrick, and D. Major. 1987. Natural Attenuation of Aromatic Hydrocarbons in a Shallow Sand Aquifer. *Groundwater Monit. Rev.* 7:64-71.
9. Bell, R. A., and A. H. Hoffman. 1991. Gasoline Spill in Fractured Bedrock Addressed with *in Situ* Bioremediation. pp. 437-443. In R. E. Hinchee and R. F. Olfenbittel (eds.), *In Situ* Bioreclamation: Applications and Investigations for Hydrocarbon and Contaminated Site Remediation. Butterworth-Heinemann, Boston, MA.
10. Borow, H. S., and J. V. Kinsella. 1989. Bioremediation of Pesticides and Chlorinated Phenolic Herbicides—Above Ground and In Situ—Case Studies. pp. 325-331. Superfund '89. Proceedings of the 10th National Conference, Nov. 27-29, 1989. Hazardous Materials Control Research Institute. Greenbelt, MD.
11. Bouwer, H. 1984. Elements of Soil Science and Groundwater Hydrology. pp. 9-39. In G. Bitton and C. P. Gerba (eds.), *Groundwater Pollution Microbiology*. Wiley, New York, NY.
12. Brown, R. A., and J. R. Crosbie. 1989. Oxygen Sources for In Situ Bioremediation. pp. 338-344. Superfund '89. Proceedings of the 10th National Conference, Nov. 27-29, 1989. Hazardous Materials Control Research Institute. Greenbelt, MD.
13. Brown, R. A., R. Tribe, and A. Duquette. 1989. Bioreclamation: the three R's of product losses—response, regulation, remediation. *Water Contr.* February:10-11.
14. Brubaker, G. R., and J. H. Exner. 1988. Bioremediation of Chemical Spills. *Basic Life Sci.* 45:163-171.
15. Cerniglia, C. E., and M. A. Heitkamp. 1989. Microbial Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) in the Aquatic Environment. pp. 41-68. In U. Varanasi (ed.), *Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment*. CRC Press. Boca Raton, FL.
16. Chiang, C. Y., E. Y. Chai, J. P. Salanitro, J. D. Colthart, and C. L. Flein. 1987. Effects of Dissolved Oxygen on the Biodegradation of BTX in a Sandy Aquifer. pp. 451-470. NWWA/A-PI. Proceedings of Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Ground Water: Prevention, Detection and Restoration, Nov. 17-19, 1987. National Water Well Association, Dublin, OH.
17. Chiang, C. Y., J. P. Salanitro, E. Y. Chai, J. D. Colthart, and C. L. Klein. 1989. Aerobic Biodegradation of Benzene, Toluene, and Xylene in a Sandy Aquifer—Data Analysis and Computer Modeling. *Ground Water* 27:823-834.
18. Corey, J. C., B. B. Looney, D. S. Kaback. 1989. In-Situ Remediation System and Method for Contaminated Groundwater. U.S. Patent 4,832,122. The United

- States of America as represented by the United States Department of Energy, Washington, D.C.
19. Davis, H. E., J. Jehn, and S. Smith. 1991. Monitoring Well Drilling, Soil Sampling, Rock Coring, and Borehole Logging. pp. 195-237. In D. M. Nielsen (ed.), *Practical Handbook of Ground-Water Monitoring*. Lewis Publishers, Chelsea, MI.
 20. Downs, W. C., S. R. Hutchins, J. T. Wilson, R. H. Douglass, and D. J. Hendrix. 1989. Pilot Project on Bioremediation of Fuel-Contaminated Aquifer Using Nitrate: Part I-Field Design and Ground Water Modeling. pp. 219-233. NWWA/A-Pl. Proceedings of the Conference on Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Ground Water: Prevention, Detection and Restoration, Nov. 15-17, 1989. National Water Well Association, Dublin, OH.
 21. Downey, D. C., R. E. Hinchee, M. S. Westray, and J. K. Slaughter. 1988. Combined Biological and Physical Treatment of a Jet Fuel-Contaminated Aquifer. pp. 627-645. NWWA/A-Pl. Proceedings of Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Ground Water: Prevention, Detection and Restoration, Nov. 9-11, 1988. National Water Well Association, Dublin, OH.
 22. Dupont, R. R., W. J. Doucette, and R. E. Hinchee. 1991. Assessment of *In Situ* Bioremediation Potential and the Application of Bioventing at a Fuel-Contaminated Site. pp. 262-282. In R. E. Hinchee and R. F. Olfenbuttel (eds.), *In Situ Bioreclamation. Applications and Investigations for Hydrocarbon and Contaminated Site Remediation*. Butterworth-Heinemann, Boston, MA.
 23. Ehrlich, G. G., E. M. Godsy, D. F. Goerlitz, and M. F. Hult. 1982. Microbial Ecology of a Creosote-Contaminated Aquifer at St. Louis Park, Minnesota. *Dev. Ind. Microbiol.* 24:235-245.
 24. Ehrlich, G. G., D. F. Goerlitz, E. M. Godsy, and M. F. Hult. 1982. Degradation of Phenolic Contaminants in Ground Water by Anaerobic Bacteria: St. Louis Park, Minnesota. *Ground Water* 20:703-710.
 25. Ely, D. L., and D. A. Heffner. 1988. Process for In Situ Biodegradation of Hydrocarbon Contaminated Soil. U.S. Patent 4,765,902. Chevron Research Company, San Francisco, CA.
 26. Fernando, T., J. A. Bumpus, and S. D. Aust. 1990. Biodegradation of TNT (2,4,6-Trinitrotoluene) by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56:1666-1671.
 27. Flyvbjerg, J., E. Arvin, B. K. Jensen, and S. K. Olsen. 1991. Biodegradation of Oil and Creosote-Related Aromatic Compounds under Nitrate-Reducing Conditions. pp. 471-479. In R. E. Hinchee and R. F. Olfenbuttel (eds.), *In Situ Bioreclamation: Applications and Investigations for Hydrocarbon and Contaminated Site Remediation*. Butterworth-Heinemann, Boston, MA.
 28. Fogel, S., M. Findlay, and A. Moore. 1991. Enhanced Bioremediation Techniques for In Situ and Onsite Treatment of Petroleum Contaminated Soils and Groundwater. pp. 201-209. In E. J. Calabrese and Paul T. Kosteki (eds.), *Petroleum Contaminated Soils*, Vol. 2. Lewis Publishers, Chelsea, MI.
 29. Fredrickson, J. K., R. J. Hicks, S. W. Li, and F. J. Brockman. 1988. Plasmid Incidence in Bacteria from Deep Subsurface Sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 54:2916-2923.
 30. Freeze, R. A., and J. A. Cherry. 1979. *Groundwater*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ.
 31. Ghiorse, W. C., and D. L. Balkwill. 1983. Enumeration and Morphological Characterization of Bacteria Indigenous to Subsurface Environments. *Dev. Ind. Microbiol.* 24:213-224.

32. Ghiorse, W. C., and J. T. Wilson. 1988. Microbial Ecology of the Terrestrial Subsurface. In A. I. Laskin (ed.), *Advances in Applied Microbiology*. 33:107-172. Academic Press, New York, NY.
33. Gibson, S. A., and J. M. Suflita. 1990. Anaerobic Biodegradation of 2,4,5-Trichlorophenoxyacetic Acid in Samples from a Methanogenic Aquifer: Stimulation by Short-Chain Organic Acids and Alcohols. *Appl. Environ. Microbiol.* 56:1825-1832.
34. Godsy, E. M., D. F. Goerlitz, and G. G. Ehrlich. 1983. Methanogenesis of Phenolic Compounds by a Bacterial Consortium from a Contaminated Aquifer in St. Louis Park, Minnesota. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 30:261-268.
35. Hayman, J. W., R. B. Adams, and J. J. McNally. 1988. Anaerobic Biodegradation of Hydrocarbon in Confined Soils beneath Busy Places: A Unique Problem of Methane Control. pp. 383-396. NWWA/API. Proceedings of Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Ground Water: Prevention, Detection and Restoration, Nov. 9-11, 1988. National Water Well Association, Dublin, OH.
36. Hegeman, G. D., and D. G. Nickens. 1991. Aerobic bacterial remediation of aliphatic chlorinated hydrocarbon contamination. U.S. Patent 5,024,949. BioTrol, Inc., Chaska, MN.
37. Higgins, I. J. Apr. 6, 1982. Biotransformations Using Methane-Utilizing Bacteria. U.S. Patent 4,323,649. Imperial Chemical Industries, Ltd. London.
38. Hinchee, R. E., and D. C. Downey. 1988. The Role of Hydrogen Peroxide in Enhanced Bioreclamation. pp. 715-722. NWWA/API. Proceedings of Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Ground Water: Prevention, Detection and Restoration, Nov. 9-11, 1988. National Water Well Association, Dublin, OH.
39. Hinchee, R. E., D. C. Downey, and T. Beard. 1989. Enhancing Biodegradation of Petroleum Hydrocarbon Fuels through Soil Venting. pp. 235-248. NWWA/API. Proceedings of the Conference on Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Ground Water: Prevention, Detection and Restoration, Nov. 15-17, 1989. National Water Well Association, Dublin, OH.
40. Hutchins, S. R., W. C. Downs, D. H. Kampbell, G. B. Smith, J. T. Wilson, D. A. Kovacs, R. H. Douglass, and D. J. Hendrix. 1989. Pilot Project on Bioreclamation of Fuel-Contaminated Aquifer Using Nitrate: Part II—Laboratory Microcosm Studies and Field Performance. pp. 589-604. NWWA/API. Proceedings of the Conference on Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Ground Water: Prevention, Detection and Restoration, Nov. 15-17, 1989. National Water Well Association, Dublin, OH.
41. Hutchins, S. R., W. C. Downs, J. T. Wilson, G. B. Smith, D. A. Kovacs, D. D. Fine, R. H. Douglass, and D. J. Hendrix. 1991. Effect of Nitrate Addition on Bioreclamation of Fuel-Contaminated Aquifer: Field Demonstration. *Ground Water*. 29:571-579.
42. Jain, R. K., G. S. Sayler, J. T. Wilson, L. Houston, and D. Pacia. 1987. Maintenance and Stability of Introduced Genotypes in Groundwater Aquifer Material. *Appl. Environ. Microbiol.* 53:996-1002.
43. Jamison, V. W., R. L. Raymond, and J. O. Hudson, Jr. 1975. Biodegradation of High-Octane Gasoline in Groundwater. *Dev. Ind. Microbiol.* 16:305-312.
44. Jhaveri, V. W., and A. J. Mazzacca. 1983. Bioreclamation of Ground and Groundwater. Presented at the 4th National Conference on Management of Controlled Hazardous Waste Sites. Groundwater Decontamination Systems, Inc., Paramus, NJ. 19 pp.
45. Jhaveri, V., and A. J. Mazzacca. 1985. Bioreclamation of Ground and Ground Water by In-Situ Biodegradation. Case History. Presented at the 6th National Conference on

- Management of Uncontrolled Hazardous Waste Sites. Groundwater Decontamination Systems, Inc., Paramus, NJ. 32 pp.
46. Kennedy, D. W., S. D. Aust, and J. A. Bumpus. 1990. Comparative Biodegradation of Alkyl Halide Insecticides by the White Rot Fungus, *Phanerochaete chrysosporium* (BKM-F-1767). *Appl. Environ. Microbiol.*, 56:2347-2353.
 47. Kolbel-Boelke, J., E.-M. Anders, and A. Nehrkorn. 1988. Microbial Communities in the Saturated Groundwater Environment II: Diversity of Bacterial Communities in a Pleistocene Sand Aquifer and Their In Vitro Activities. *Microb. Ecol.* 16:31-48.
 48. Lee, M. D., and R. L. Raymond, Sr. 1991. Case History of the Application of Hydrogen Peroxide as an Oxygen Source for *In Situ* Bioreclamation. pp. 429-436. In R. E. Hinchee and R. F. Olfenbuttel (eds.), *In Situ* Bioreclamation: Applications and Investigations for Hydrocarbon and Contaminated Site Remediation. Butterworth-Heinemann, Boston, MA.
 49. Lee, M. D., J. T. Wilson, and C. H. Ward. 1983. Microbial Degradation of Selected Aromatics in a Hazardous Waste Site. *Dev. Ind. Microbiol.* 25:557-565.
 50. Lewis, D. L., H. P. Kollig, and R. E. Hodson. 1986. Nutrient Limitation and Adaptation of Microbial Populations to Chemical Transformations. *Appl. Environ. Microbiol.* 51:598-603.
 51. Lieberman, M. T., E. K. Schmitt, J. A. Chaplan, J. R. Quince, and M. P. McDermott. 1989. Bioremediation of Diesel Fuel Contaminated Soil and Groundwater at Camp Grayling Airfield Using the PetroClean™ Bioremediation System. pp. 641-654. NWWA/API. Proceedings of the Conference on Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Ground Water: Prevention, Detection and Restoration, Nov. 27-29, 1989. National Water Well Association, Dublin, OH.
 52. Litchfield, C. D., C. W. Erkenbrecher, Jr., C. E. Matson, L. S. Fish, and A. Levine. 1988. Evaluation of Microbial Detection Methods and Interlaboratory Comparisons during a Peroxide-Nutrient Enhanced *In Situ* Bioreclamation. pp. 52(1-6). In B. H. Olson and D. Jenkins (eds.), Proceedings: International Conference on Water and Wastewater Microbiology, Feb. 5-11, 1988, Vol. 2.
 53. Litchfield, C. D., M. D. Lee, and R. L. Raymond, Sr. 1989. Present and Future Directions in *In Situ* Bioreclamation. pp. 587-596. In A. J. Borner (ed.), Proceedings of the Second Annual Hazardous Materials Conference/Central, March 14-16, 1989. Tower Conference Management Company, Glen Ellyn, IL.
 54. Litchfield, J. H., and L. C. Clark. 1973. Bacterial Activity in Ground Waters Containing Petroleum Products. American Petroleum Institute Publication No. 4211. American Petroleum Institute, Washington, D.C. 37 pp. and appendices.
 55. Looney, B. B., T. C. Hazen, D. S. Kaback, and C. A. Eddy. 1991. Full Scale Field Test of the *In Situ* Air Stripping Process at the Savannah River Integrated Demonstration Test Site (U). Westinghouse Savannah River Company, Aiken, S. C. 90 pp.
 56. Lund, N.-Ch., J. Swinianski, G. Gudehus, and D. Maier. 1991. Laboratory and Field Tests for a Biological *In Situ* Remediation of a Coke Oven Plant. pp. 396-412. In R. E. Hinchee and R. F. Olfenbuttel (eds.), *In Situ* Bioreclamation: Applications and Investigations for Hydrocarbon and Contaminated Site Remediation. Butterworth-Heinemann, Boston, MA.
 57. Mahaffey, W. R., and R. A. Sanford. 1991. Bioremediation of PCP-Contaminated Soil: Bench to Full-Scale Implementation. *Remediation*, Summer: 305-323.
 58. Marrin, D. L., J. J. Adriany, and A. J. Bode. 1991. Estimating Small-Scale Differences in Air Permeability and Redox Conditions for the Design of Bioventing Systems. pp. 457-465. NWWA/API. Proceedings of The Petroleum Hydrocarbons and Organic Che-

- micals in Ground Water Prevention, Detection, and Restoration, Nov. 20-22, 1991. National Water Well Association, Dublin, OH.
59. McNabb, J. F., and W. J. Dunlap. 1973. Subsurface Biological Activity in Relation to Ground Water Pollution. *Ground Water* 13:33-44.
 60. McNabb, J. F., and G. E. Mallard. 1984. Microbiological Sampling in the Assessment of Groundwater Pollution. pp. 235-260. In G. Bitton and C. P. Gerba (ed.), *Groundwater Pollution Microbiology*. Wiley, NY.
 61. McKee, J. E., F. B. Laverty, and R. N. Hertel. 1972. Gasoline in Groundwater. *J. Water Pollut. Contr. Fed.* 44:293-302.
 62. Miller, R. N., C. C. Vogel, and R. E. Hinchee. 1991. A Field-Scale Investigation of Petroleum Hydrocarbon Biodegradation in the Vadose Zone Enhanced by Soil Venting at Tyndall AFB, Florida. pp. 283-302. In R. E. Hinchee and R. F. Olfenbuttel (eds.), *In Situ Bioreclamation: Applications and Investigations for Hydrocarbon and Contaminated Site Remediation*. Butterworth-Heinemann, Boston, MA.
 63. Mote, P. A., D. F. Leland, and D. R. Smallbeck. 1990. Accelerated Site Remediation Using Enhanced In Situ Biodegradation. Harding Lawson Associates, Novato, CA, 15 pp.
 64. Mueller, J. G., D. P. Middaugh, S. E. Lantz, and P. J. Chapman. 1991. Biodegradation of Creosote and Pentachlorophenol in Contaminated Groundwater: Chemical and Biological Assessment. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:1277-1285.
 65. Nelson, M. J. K., S. O. Montgomery, W. R. Mahaffey, and P. H. Pritchard. 1987. Biodegradation of Trichloroethylene and Involvement of an Aromatic Biodegradative Pathway. *Appl. Environ. Microbiol.* 53:949-954.
 66. Nelson, M. J. K., J. V. Kinsella, and T. Montoya. 1990. *In Situ* Biodegradation of TCE Contaminated Groundwater. *Environ. Progr.* 9:190-196.
 67. Nelson, M. J. K., and A. W. Bourquin. 1990. U. S. Patent 4,925,802. Ecova Corporation, Redmond, WA.
 68. Nishino, S. F., J. C. Spain, L. A. Belcher, and C. D. Litchfield. 1992. Chlorobenzene Degradation by Bacteria Isolated from Contaminated Groundwater. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:1719-1726.
 69. Ogunseitan, O. A., E. T. Tedford, D. Pacia, K. M. Sirotkin, and G. S. Sayler. 1987. Distribution of Plasmids in Groundwater Bacteria. *J. Ind. Microbiol.* 1:311-317.
 70. Parsons, F., G. B. Lage, and R. Rice. 1985. Biotransformation of Chlorinated Organic Solvents in Static Microcosms. *Environ. Toxicol. Chem.* 4:739-742.
 71. Raymond, R. L., V. W. Jamison, and J. O. Hudson. 1976. Beneficial Stimulation of Bacterial Activity in Groundwaters Containing Petroleum Products in I. Physical, Chemical Wastewater Treatment. *A-ICHe Symp. Ser.* 73:390-404.
 72. Raymond, R. L., V. W. Jamison, J. O. Hudson, R. E. Mitchell, and V. E. Farmer. 1978. Field Application of Subsurface Biodegradation of Gasoline in Sand Formation. Final report submitted to American Petroleum Institute, Washington, D.C. 137 pp.
 73. Reineke, W., and H.-J. Knackmuss. 1984. Microbial Metabolism of Haloaromatics: Isolation and Properties of a Chlorobenzene-Degrading Bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.* 47:395-402.
 74. Rifai, H. S., and P. B. Bedient. 1987. Bioplum II—Two Dimensional Modeling for Hydrocarbon Biodegradation and *In Situ* Restoration. pp. 431-450. NWWA/API. Proceedings of Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Groundwater: Prevention, Detection and Restoration, Nov. 17-19, 1987. National Water Well Association, Dublin, OH.
 75. Roberts, P., L. Semprini, G. Hopkins, and P. McCarty. 1989. Biostimulation of Me-

- thanotrophic Bacteria to Transform Halogenated Alkenes for Aquifer Restoration. pp. 203-217. NWWA/API. Proceedings of the Conference on Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Ground Water: Prevention, Detection and Restoration, Nov. 15-17, 1989. National Water Well Association, Dublin, OH.
76. Rowland, M. A., and T. N. Eisenberg. 1989. Anaerobic Biodegradation of Trichloroethylene in a Shallow Aquifer. pp. 188-191. Proceedings of Third National Outdoor Action Conference on Aquifer Restoration, Ground Water Monitoring, and Geophysical Methods. May 22-25, 1989. National Water Well Association, Dublin, OH.
 77. Schmidt, S. K., and M. J. Gier. 1990. Coexisting Bacterial Populations Responsible for Multiphasic Mineralization Kinetics in Soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 56:2692-2697.
 78. Schmitt, E. K., and J. A. Caplan. N. D. In-Situ Biological Cleanup of Petroleum Hydrocarbons in Soil and Groundwater. O. H. Materials Corp., Findlay, 14 pp., OH.
 79. Semprini, L., P. V. Roberts, G. D. Hopkins, and P. L. McCarty. 1990. A Field Evaluation of In-Situ Biodegradation of Chlorinated Ethenes: Part 2, Results of Biostimulation and Biotransformation Experiments. *Ground Water.* 28:715-727.
 80. Sevee, J. 1991. Methods and Procedures for Defining Aquifer Parameters. pp. 397-448. In D. M. Nielsen (ed.), Practical Handbook for Ground-Water Monitoring. Lewis Publishers, Chelsea, MI.
 81. Spain, J. C., J. D. Milligan, D. C. Downey, and J. K. Slaughter. 1989. Excessive Bacterial Decomposition of H₂O₂ During Enhanced Biodegradation. *Ground Water.* 27:163-167.
 82. Spain, J. C., and P. A. Van Veld. 1983. Adaptation of Natural Microbial Communities to Degradation of Xenobiotic Compounds: Effects of Concentration, Exposure Time, Inoculum, and Chemical Structure. *Appl. Environ. Microbiol.* 45:428-435.
 83. Staps, J. J. M. 1988. Developments in in situ bioremediation of contaminated soil and groundwater in the Netherlands. pp. 379-390. In Z. Filip (ed.), Biotechnologische In-situ-Sanierung. Fischer Verlag, Stuttgart/New York.
 84. Sufita, J. M., and S. A. Gibson. 1985. Biodegradation of Haloaromatic Substrates in a Shallow Anoxic Ground Water Aquifer. pp. 30-32. In N. N. Durham and A. E. Redelfs (eds.), Proceedings of the Second International Conference on Ground Water Quality Research. Oklahoma State University Printing Services, Stillwater, OK.
 85. Swindoll, C. M., C. M. Aelion, and F. K. Pfaender. 1988. Influence of Inorganic and Organic Nutrients on Aerobic Biodegradation and on the Adaptation Response of Subsurface Microbial Communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 54:212-217.
 86. Thomas, J. M., and C. H. Ward. 1989. In Situ Bioremediation of Organic Contaminants in the Subsurface. *Environ. Sci. Technol.* 23:760-766.
 87. Vogel, T. M., C. S. Criddle, and P. L. McCarty. 1987. Transformations of Halogenated Aliphatic Compounds. *Environ. Sci. Technol.* 21:722-736.
 88. Ward, C. H., J. M. Thomas, S. Fiorenza, H. S. R. Rifai, P. B. Bedient, J. M. Armstrong, J. T. Wilson, and R. L. Raymond. 1988. A Quantitative Demonstration of the Raymond Process for In Situ Bioremediation of Contaminated Aquifers. pp. 723-743. NWWA/API. Proceedings of Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Ground Water: Prevention, Detection and Restoration, Nov. 9-11, 1988. National Water Well Association, Dublin, OH.
 89. Ward, C. H., J. M. Thornas, S. Fiorenza, H. S. Rifai, P. B. Bedient, J. T. Wilson, and R. L. Raymond. 1989. *In Situ* Bioremediation of Subsurface Material and Ground Water Contaminated with Aviation Fuel: Traverse City, Michigan. pp. 83-96. Proceedings of the 1989 A&WMA/EPA International Symposium on Hazardous Waste

- Treatment: Biosystems for Pollution Control. Air and Waste Management Association. Pittsburgh, PA.
90. Werner, P. 1985. A New Way for the Decontamination of Polluted Aquifers by Biodegradation. *Water Supply* 3:41-47.
 91. Wetzel, R. S., D. H. Davidson, and C. M. Durst. N. D. Effectiveness of In Situ Biological Treatment of Contaminated Groundwater and Soils at Kelly Air Force Base, Texas. Science Applications International Corporation, McLean, VA. 18 pp.
 92. Wilson, B. H., and M. V. White. 1986. A Fixed-Film Bioreactor to Treat Trichloroethylene-Laden Waters from Interdiction Wells. pp. 425-436. In Proceedings of the Sixth National Symposium and Exposition on Aquifer Restoration and Ground Water Monitoring, May 19-22, 1986. National Water Well Association, Dublin, OH.
 93. Wilson, J. T., and B. H. Wilson. 1985. Biotransformation of Trichloroethylene in Soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 49:242-243.
 94. Wilson, J. T., J. F. McNabb, B. H. Wilson, and M. J. Noonan. 1983. Biotransformation of Selected Organic Pollutants in Ground Water. *Dev. Ind. Microbiol.* 24:225-233.
 95. Wilson, J. T., Jr., and B. H. Wilson. 1987. U.S. Patent 4,713,343. The United States of America as represented by the Administrator of the U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
 96. Wilson, S. B., and R. A. Brown. 1989. In Situ Bioreclamation: A Cost-Effective Technology to Remediate Subsurface Organic Contamination. *Groundwater Monitoring Review* 9:173-179.
 97. Wood, P. R., R. F. Lang, and I. L. Payan. 1985. Anaerobic Transformation, Transport, and Removal of Volatile Chlorinated Organics in Ground Water. pp. 493-511. In C. H. Ward, W. Giger, and P. L. McCarty (eds.), *Ground Water Quality*. Wiley, New York, NY.
 98. Baker et al., personal communication.
 99. Litchfield et al., personal communication.
 100. Nelson, personal communication.

Capítulo 8

USO DE MICROORGANISMOS MODIFICADOS PARA LA BIODEGRADACIÓN DE MATERIALES PELIGROSOS EN TRABAJOS DE CAMPO

Michael A. Gealt

*Departamento de Biociencia y Biotecnología
Universidad de Drexel
Philadelphia, Pennsylvania*

Morris A. Levin

*Instituto de Biotecnología de Maryland
Universidad de Maryland
College Park, Maryland*

Malcolm Shields

*Centro de Diagnóstico Ambiental
Universidad de West Florida
Pensacola, Florida*

La gran cantidad de residuos peligrosos que se generan y evacuan han dado lugar a una serie de condiciones ambientales que necesitan un tratamiento corrector. Tradicionalmente, el uso de vertederos ha sido una forma rentable de evacuar los residuos. Sin embargo, los costes incrementados del transporte y el reducido número de lugares para la instalación de vertederos obligan ahora a examinar los procesos de tratamiento que se pueden realizar en el propio lugar contaminado (tratamiento por aplicación al terreno, compostaje), y, preferiblemente, *in situ*. Por lo tanto, son los factores económicos los que empujan a la exploración de las técnicas de biorrecuperación como métodos alternativos, rentables, y ambientalmente aceptables.

Es difícil comprender por qué muchas personas piensan que la biorrecuperación es una aproximación nueva para la reducción de residuos. El hecho de que no estemos todos enterrados en materia orgánica confirma la eficacia del ciclo microbiológico del carbono. Ahora hemos elegido centrarnos en algunos de los aspectos de este ciclo que pueden ayudar a reducir los niveles de contaminación ambiental. Aunque la primera aplicación comercial de la biorrecuperación tuvo lugar hace ya más de cuarenta años, nuestro conocimiento sobre estos procesos llega hasta los tiempos de hombre primitivo. El uso actual de los procesos de tratamiento biológico (biotecnología) está más extendido de lo que es evidente para el público. Las plantas de tratamiento de aguas residuales son ejemplos a gran escala fáciles de identificar, y las fosas sépticas ofrecen un ejemplo aún más común. El mayor cambio que se ha producido en nuestra mentalidad es la idea de que quizás los microorganismos implicados se puedan trasladar a, o reclutarse en, el lugar contaminado, en vez de enviar los residuos hasta donde están los microorganismos.

Aunque se haya considerado el uso de microorganismos alterados genéticamente, hasta ahora, la mayor parte de la biorrecuperación se ha conseguido mediante una mejora del crecimiento de los microorganismos autóctonos, o aumentando la población microbiana con organismos exógenos aislados en el propio lugar, o mediante procedimientos similares (Fox, 1992). Estos microorganismos pueden ser mejores degradadores porque los procedimientos de selección o mutagénesis han mejorado su capacidad de degradación respecto a un material en particular. Por ejemplo, los estudios de casos han demostrado que la contaminación con petróleo crudo del suelo se puede reducir, hasta unos niveles aceptables para las agencias reglamentarias, en menos de 20 semanas y con unos costes totales de 45-155 dólares por metro cúbico utilizando solamente microorganismos autóctonos. Esto supone bastante menos tiempo y dinero que las alternativas no biológicas (Hildebrandt y Wilson, 1991; Levin, Manual de Biotecnología UNIDO, en fase de impresión). Desgraciadamente, como informaron Fox et al. (1990), existen suelos que, cuando se han analizado en ensayos de viabilidad, han mostrado una falta de organismos autóctonos capaces de llevar a cabo la mineralización. Evidentemente, la adición de bacterias u hongos extraños está indicado cuando se ha producido una extinción de los microorganismos autóctonos. Sin embargo, la nueva adición de microorganismos degradadores conocidos en una zona contaminada está muy lejos de garantizar una mejora en la biodegradación [véase Compeau et al., 1991, ejemplo en el que los organismos adicionales no mejoraron la degradación del pentaclorofenol (PCP)].

Si las capacidades o la viabilidad ambiental de los organismos exógenos se pudiese mejorar, su adición a un ambiente contaminado podría mejorar a su vez el proceso de degradación, bien cinéticamente o bien ampliando el espectro de los compuestos degradados. En algunos casos han surgido espontáneamente organismos con capacidades mejoradas. Por otra parte, los procedimientos empleados en la actualidad para conseguir cepas modificadas incluyen tanto métodos convencionales como de ingeniería genética. Los métodos convencionales para obtener bacterias alteradas, es decir, la selección y la mutagénesis, son fiables —poseen una eficacia probada a la hora de producir fenotipos alterados— pero lentos y te-

diosos. Además, nunca se está seguro de que el protocolo de selección vaya a dar lugar solamente al fenotipo deseado. Los protocolos de selección se deben diseñar cuidadosamente para identificar y aislar los fenotipos deseados.

Aunque los mayores éxitos con la biotecnología se han producido en los campos de la medicina y farmacología, es fácil imaginar éxitos futuros en la biotecnología ambiental. Con los avances realizados en ingeniería genética ya existen técnicas que permiten optimizar bacterias específicas para su uso en los trabajos de campo. El primer organismo diseñado para el uso en trabajos de campo fue una bacteria degradadora del petróleo desarrollada por Chakrabarty. Sin embargo, la técnica que utilizó este investigador (reproducción asistida por plásmidos) no se considera ingeniería genética según las definiciones reglamentarias actuales, y el organismo nunca llegó a ser usado en los trabajos de campo (Levin, 1983). La cepa *Pseudomonas*, degradadora del petróleo, fue creada mediante la introducción de diversos plásmidos degradadores para lograr la mineralización del xileno, tolueno, naftaleno, octano, salicilato, y de otros aromáticos y alifáticos sencillos. Esto representa un área atractiva para la biorrecuperación; es decir, un contaminante fácil de degradar en un lugar bastante inaccesible que hace muy caro el tratamiento físico (vitrificación, incineración, etc.). Algunos ejemplos podrían incluir: los escapes de depósitos subterráneos, derrames de petróleo y flujos de residuos industriales. Hay poca necesidad de utilizar una tecnología recombinante si los contaminantes son fáciles de atacar.

La aplicación principal de la tecnología ADN recombinante (ADNr) en biorrecuperación será el tratamiento de los *residuos recalcitrantes*: residuos difíciles de degradar debido a la escasez de rutas microbianas capaces de reconocerlos o transformarlos, especialmente a altas velocidades. Desgraciadamente, este tipo de contaminantes es muy amplio, incluye muchos pesticidas, compuestos heterocíclicos, aromáticos sustituidos y halogenados, y alifáticos (metanos, etanos y etenos). La selección directa no es útil en estos casos porque, o no está disponible la enzima, o la ruta, o sólo es posible inducirla mediante el compuesto recalcitrante.

Actualmente, existen varios organismos que han sido modificados con éxito en el laboratorio para mejorar sus capacidades degradadoras (Rojo et al., 1987; Don et al., 1985; Kukor y Osen, 1990; Zylstra et al., 1989). Pero estas cepas no se han probado en los trabajos de campo, ni tampoco otras que han surgido por mutación espontánea o mediante mutagénesis y procesos tradicionales de selección (Rojo et al., 1987; Knackmuss, 1976; Taeger et al., 1988). Se ha ensayado en los trabajos de campo con una cepa, la *Pseudomonas* B13, pero sólo en relación a su supervivencia, no para la finalidad para la cual fue diseñada, la degradación de los compuestos cloroaromáticos (Krumme et al., 1991).

El bioaumentación, tal y como se practica actualmente, utiliza organismos que se generan de forma natural. Los organismos añadidos, o proporcionan una asociación, o, aún más importante, incrementan de forma significativa el título de los degradadores. El retraso en el uso de microorganismos cultivados en el laboratorio se debe en parte a los reglamentos poco claros promulgados por las agencias federales, estatales y locales en relación a cuáles son los organismos modificados que merecen ser considerados como organismos nuevos. En un folleto publicitario apa-

recido en *The Biorremediation Report* (publicado por COGNIS, INC., Santa Rosa, CA 95407), se señalaba que «...la biorrecuperación es un enigma. Aunque se trate de un enigma muy estudiado». El enigma se clarificará dentro de los próximos años. Este capítulo examinará las ventajas e inconvenientes que presenta la utilización de organismos naturales y modificados desde el punto de vista científico y reglamentario.

Modificación de organismos mediante técnicas convencionales

Ventajas

Las ventajas del uso de microorganismos seleccionados para la biorrecuperación junto con técnicas de ingeniería tradicionales han sido ampliamente demostradas durante muchos años. En algunos casos, una práctica tradicional de ingeniería, p. ej., la ventilación del suelo, se ha combinado con el uso de organismos autóctonos para degradar materiales orgánicos, dando lugar a la bioventilación. Se ha utilizado este proceso con éxito en los trabajos de campo para tratar hidrocarburos del petróleo (Hoepfel et al., 1991). El compostaje se ha empleado con éxito para degradar munición (Williams y Myler, 1990).

Las zonas contaminadas, normalmente, son excelentes fuentes para el aislamiento de estos organismos. Los principios tanto de adaptación como de enriquecimiento contribuyen a esto. La *adaptación* es el proceso natural que permite que los organismos sobrevivan en presencia de abundantes sustancias tóxicas. Esta adaptación puede ser el resultado de modificaciones fisiológicas naturales, que dan lugar a una mayor concentración de los componentes celulares capaces de enlazar el material tóxico; de la alteración de las moléculas superficiales de enlace, lo que provoca una mayor exclusión de los materiales tóxicos; o de un transporte más eficaz del material tóxico al ambiente.

Por otra parte, los materiales que entran en la célula dan al proceso metabólico el potencial de elaborar nuevos sustratos para la producción de energía (provocando un enriquecimiento), aunque en algunos casos las enzimas actúen sobre el material tóxico sin producción de energía, en lo que se ha denominado *cometabolismo*. Cuando no se obtenga energía alguna del componente que se está transformando, la energía procedente de la utilización de otros sustratos mejorará sustancialmente las tasas de mineralización, pero es posible que afecte de forma adversa al tiempo que las células utilizan para realizar la transformación (Álvarez-Cohen y McCarty, 1991a, 1991b).

El *enriquecimiento* es un mecanismo primario que altera la estructura de la comunidad microbiana autóctona para incrementar la proporción de organismos degradadores. La existencia de un mayor número de organismos resistentes se debe a la capacidad de utilizar los compuestos orgánicos tóxicos como fuente de energía alternativa (destoxificándolos), y a la reducción en el número de competidores en relación a los nutrientes presentes en el ambiente (cuando desciende el número

de microorganismos sensibles al material tóxico). El incremento de metabolizadores se produce porque pueden obtener energía a partir de la degradación del material tóxico. Los procesos de selección y enriquecimiento se pueden realizar en el laboratorio, donde los cambios de la estructura comunitaria permiten el estudio de respuestas fisiológicas particulares —es decir, tasas de enriquecimiento y degradación—. En los trabajos de campo, el enriquecimiento se produce de forma natural, y es sin duda un factor primario en algunas aplicaciones como el compostaje, la bioventilación, el tratamiento terrestre, tratamiento de aguas residuales y aclimatación de los fangos activados.

Los ingenieros han tenido conocimiento, desde hace tiempo, de que un choque tóxico en un sistema de biorreactores, como por ejemplo un lecho bacteriano para el tratamiento de aguas residuales, da lugar a la pérdida de la comunidad microbiana seleccionada. La capacidad que tienen las comunidades naturales de adaptarse a los diversos choques ambientales es bien conocida. Sin embargo, la restauración natural de la comunidad es un proceso que necesita mucho tiempo, tiempo que se puede acortar en gran medida mediante la adición de organismos enriquecidos en otro lugar y procedentes de una comunidad similar, mediante la importación directa de microorganismos o la adición de células cultivadas a partir de muestras conservadas (deshidratadas o congeladas) obtenidas en comunidades similares. Este resultado se puede apreciar en el trabajo de Crawford y sus colaboradores sobre el tratamiento terrestre del dinoseb (véase Capítulo 10, por Roberts et al.).

En algunos casos se ha demostrado que ciertos miembros específicos de una comunidad se pueden adaptar; de hecho, esto supone una evolución de los mecanismos de control y de las combinaciones de rutas en una escala temporal que pocos podían imaginar (Focht, 1987; Kellogg et al., 1981). Esto se apoya también en el estudio de la degradación de los compuestos antropogénicos recalcitrantes, para los cuales, es dudosa la existencia de un ciclo ambiental natural. Los ejemplos específicos demostrados en el laboratorio incluyen: bifenilos policlorados (PCBs) (Unterman, 1991; Pettigrew-Pope, 1990; Bedart et al., 1984; Kellogg et al., 1981; Saylor, 1991; Furukawa et al., 1987), clorobenzenos (Spain, 1990), ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) (Pemberton et al., 1979; Timmis et al., 1987), y ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T) (Sangodkar, 1988). La biorrecuperación de los PCBs, hasta un nivel de 5-10 mg/kg, con *Alcaligenes A5* (Shields, 1985) se ha comprobado en lisímetros de 60 kg. Se ha demostrado que varias cepas diferentes de bacterias en cultivo puro degradan disolventes aromáticos tanto clorados como no clorados, incluyendo el benceno, tolueno, xileno, clorobenceno, y di- y triclorobenceno, en lechadas de suelo (Oldenhuis et al., 1989). También se ha demostrado ampliamente la degradación cometabólica de los disolventes cloroalifáticos mediante aislados ambientales inducidos por sustratos apropiados (Fox et al., 1990; Harker, 1992). El uso en trabajos de campo de cepas seleccionadas sólo está en sus inicios debido a la incertidumbre reglamentaria y, quizás, a la resistencia de la opinión pública.

Existen dos ventajas principales a la hora de usar mutantes seleccionados, tanto vía espontánea como mediante mutagénesis. Primero, y desde un punto de vista económico, se considerarán, en general, como sucesos naturales y no como organis-