

SIMULACIÓN METABÓLICA DE LA BIODEGRADACIÓN DE ACEITES DIELECTRICOS USANDO SISTEMAS EXPERTO

METABOLIC SIMULATION OF BIODEGRADATION OF DIELECTRICS OILS USING EXPERT SYSTEMS

EDISON ALEXANDER AGUDELO

Escuela de Geociencias y Medio Ambiente, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, eaagudelo@unalmed.edu.co

EDGAR SUÁREZ GARCÍA

Escuela de Biociencias, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, esuarez@unal.edu.co

ANA MARÍA ECHAVARRÍA

Escuela de Biociencias, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, amechavaa@unal.edu.co

SANTIAGO CARDONA GALLO

Escuela de Geociencias y Medio Ambiente, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, sacardona@unal.edu.co

Recibido para revisar agosto 19 de 2009, aceptado septiembre 27 de 2010, versión final septiembre 28 de 2010

RESUMEN: La rápida industrialización y la acelerada producción de nuevos compuestos sintéticos han llevado a los gobiernos y entidades de control a regular de forma estricta los vertimientos de efluentes industriales. Sin embargo, con decenas de nuevos compuestos generados cada año, es imposible establecer protocolos de tratabilidad y estimar su impacto directo en los ecosistemas antes de su producción en industria. El uso de sistemas de predicción de rutas metabólicas permite estimar de forma preliminar las posibles transformaciones que un compuesto complejo puede sufrir como resultado de su interacción con ecosistemas, dando un indicio de la facilidad del tratamiento biológico y su riesgo para a salud del medio ambiente. En este trabajo se presenta la simulación de la biodegradación de tres compuestos de referencia presentes en tierra *Fuller* contaminada con aceites dieléctricos, con el ánimo de estimar su biodegradabilidad y la posible generación de intermediarios tóxicos. Para cada compuesto se identificaron sus principales transformaciones, así como las enzimas involucradas y los posibles microorganismos que propician estas transformaciones. Se comprobó que los contaminantes pueden ser biodegradados completamente y que no se generan intermediarios tóxicos de importancia, con lo cual se confirma la factibilidad del tratamiento biológico para aceites dieléctricos.

PALABRAS CLAVE: Aceites dieléctricos, Sistemas Experto, Biodegradación, Rutas Metabólicas.

ABSTRACT: Rapid industrialization and accelerated production of new synthetic compounds led Governments and entities control to strictly regulate dumping of industrial effluents. However, with dozens of new compounds generated each year, is impossible to establish protocols for industry and estimate its direct impact on ecosystems before its production in industry. Prediction of metabolic systems allow preliminary estimate the possible transformations that a complex compound may suffer as a result of their interaction with ecosystems, giving an indication of the biological treatment facility and your risk for the health of the environment. This work presents the biodegradation of three reference compounds in Fuller land contaminated with Dielectric, oils with the aim of estimating their biodegradability and possible toxic intermediates generation simulation. Its major transformations, as well as enzymes involved and possible microorganisms that promote these transformations were identified for each compound. It was found that contaminants can be biodegraded completely and that are not generated toxic intermediates of importance, which confirms the feasibility of the biological treatment for dielectric oils.

KEYWORDS: Dielectric oils, expert systems, biodegradation, metabolic pathways.

1. INTRODUCCIÓN

La industria eléctrica utiliza aceites dieléctricos como aislantes en transformadores de distribución y potencia; este aceite es un derivado del petróleo que se compone de hidrocarburos isoparafínicos, nafténicos y aromáticos, y es considerado un residuo tóxico y peligroso (decreto 4741 de 2005). Este aceite juega un importante papel en el funcionamiento de estos equipos, ya que eleva la rigidez dieléctrica del aislamiento, refrigera y protege de la corrosión las partes constitutivas del mismo [2]. Con el paso del tiempo dicho aceite va perdiendo sus cualidades aislantes y debido a sobre tensiones, temperatura y condiciones climáticas, se degenera formando sustancias de carácter ácido, que se depositan en forma de una capa de lodo que empeora sensiblemente la extracción de calor y avería el devanado del transformador, poniendo en serio peligro la vida útil de estos equipos. Por este motivo, el aceite debe regenerarse y ser tratado para eliminar las impurezas y los ácidos presentes en él. Para la regeneración del aceite dieléctrico se usa un adsorbente llamado tierra *Fuller* o tierra diatomácea, la cual proviene de un tipo de roca silícea de origen sedimentario que posee gran capacidad de adsorción de moléculas ácidas; dicha tierra se pone en contacto con el aceite a través de una columna empacada, en la cual se retiene el material lodoso, los ácidos generados y restos de agua. Al final del proceso queda el aceite regenerado y una tierra *Fuller* contaminada; durante mucho tiempo este material ha sido dispuesto en rellenos sanitarios convencionales [3], pero por su contenido en hidrocarburos superior al 20%, es considerado un residuo tóxico peligroso que atenta contra la salud del medio ambiente y las personas de acuerdo al decreto 4741 de 2005 del Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial [3]. Actualmente el principal tratamiento dado a la tierra *Fuller* contaminada con aceite dieléctrico es la incineración. Sin embargo, los altos costos implicados (\$1700/kg tierra contaminada [4]), las emisiones de gases de efecto invernadero y la limitada disponibilidad de incineradores (Colombia solo dispone de 170 incineradores, de los cuales solo el 11% presta los servicios de incineración a terceros [1])

hacen necesaria la búsqueda de nuevos sistemas de gestión de este residuo, incluido el tratamiento biológico. Sin embargo, dada la complejidad estructural de estos contaminantes, es importante asegurar que los sistemas biológicos serán eficientes para su degradación. En este trabajo se presenta la simulación de la ruta de biodegradación aeróbica de tres compuestos representativos presentes en aceites dieléctricos, empleando para ello el sistema de predicción de rutas metabólicas de la Universidad de Minnesota.

2. METODOLOGÍA

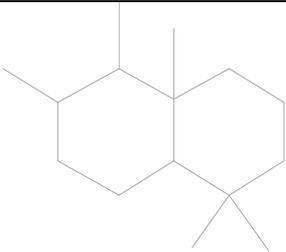
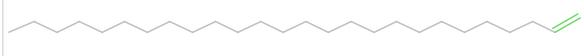
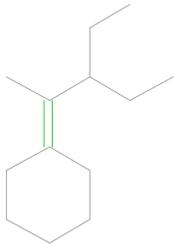
2.1. Uso de sistemas experto

Para la simulación de las rutas metabólicas se usó el sistema de predicción de rutas metabólicas de la Universidad de Minnesota (*University of Minnesota Biocatalysis and Biodegradation Database UM BBD*). Este sistema se construyó a partir de información científica reportada para la degradación de gran número de contaminantes y la formulación de reglas heurísticas definidas por paneles de expertos en biodegradación. Esta base de datos y su sistema heurístico de predicción está conformada por 185 rutas metabólicas, 1192 compuestos, 833 enzimas y 487 microorganismos. 258 reglas de biodegradación y la probabilidad de ocurrencia de cada reacción en condiciones aeróbicas son la base para la selección de cada paso de biodegradación [6,7].

2.2. Compuestos seleccionados

La selección de los compuestos referencia se basó en los resultados parciales del proyecto de investigación de maestría del estudiante de la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín Alexander Agudelo "Tratamiento secuencial Físicoquímico-Biológico de aceite dieléctrico presente en tierra *Fuller*". A partir de análisis cromatográficos y de abundancia relativa de compuestos presentes en muestras estándar de aceite dieléctrico retenido sobre tierra *Fuller* contaminada (espectro no mostrado), se identificaron tres compuestos de interés, los cuales son presentados en la tabla 1. Para cada compuesto se presenta su nombre, fórmula química, peso molecular y número CAS.

Tabla 1. Compuestos referencia seleccionados para la simulación de las rutas metabólicas
Table 1. Composed reference selected for the simulation of the metabolic pathways

| Compuesto | Información | Número CAS |
|---|---|-------------|
|  | Decahidro-4,4,8,9,10-pentametilnaftaleno Fórmula: C ₁₅ H ₂₈ Peso Molecular 208.22 | 080655-44-3 |
|  | 1-Hexacoseno Fórmula: C ₂₆ H ₅₂ Peso Molecular: 364.41 | 018835-33-1 |
|  | Ciclohexano, (2-etil-1-metil-butilidieno) Fórmula: C ₁₃ H ₂₄ Peso Molecular: 180.19 | 074810-41-6 |

2.3. Predicción de la ruta de biodegradación

La simulación de la ruta de biodegradación de cada compuesto inicia con la identificación previa de las condiciones en las cuales se pretende realizar el proceso o las que probablemente predominen en el reactor de interés, es decir, debe identificarse si las condiciones serán aeróbicas o anaeróbicas. Ello es importante pues cada etapa de biodegradación se escoge de acuerdo a la probabilidad de ocurrencia bajo condiciones aeróbicas.

A partir de cada molécula que pretende ser simulada, el sistema de predicción arroja las transformaciones más probables e indica su probabilidad de ocurrencia en ambientes aeróbicos. La escogencia de una u otra transformación depende de las condiciones de proceso y de reglas heurísticas de biodegradación. Una vez se avance en la biotransformación, la complejidad estructural de la molécula se reduce conduciendo a estructuras típicas del metabolismo central microbiano o

moléculas para las que no existen transformaciones biológicas registradas. En el primer caso se confirma que el tratamiento biológico lleva a la mineralización total del contaminante, mientras que en la segundo se genera un intermediario que en la mayoría de casos no representa riesgo para la salud y el medio ambiente.

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1. Degradación decahidro-4, 4, 8, 9,10-pentametilnaftaleno

La primera etapa para el ataque biológico del *Decahidro-4,4,8,9,10-pentametilnaftaleno* se presenta en la figura 1. Como se nota, la primera transformación efectuada es la formación de un grupo hidroxilo en cualquiera de las posiciones del anillo. Este tipo de transformaciones pretenden insertar con posterioridad un grupo *cetona* y luego un grupo *ester* para conseguir la ruptura del anillo aromático. Estas transformaciones están mediadas por

deshidrogenasas y oxigenasas, en condiciones aeróbicas. Si se pretende verificar la biodegradabilidad de este compuesto en condiciones aeróbicas, por organismos comúnmente encontrados en suelos y agua,

la estrategia eficiente implica la oxigenación de los anillos aromáticos, los cuales se van reduciendo en complejidad para finalmente ingresarlo a rutas del metabolismo central celular.

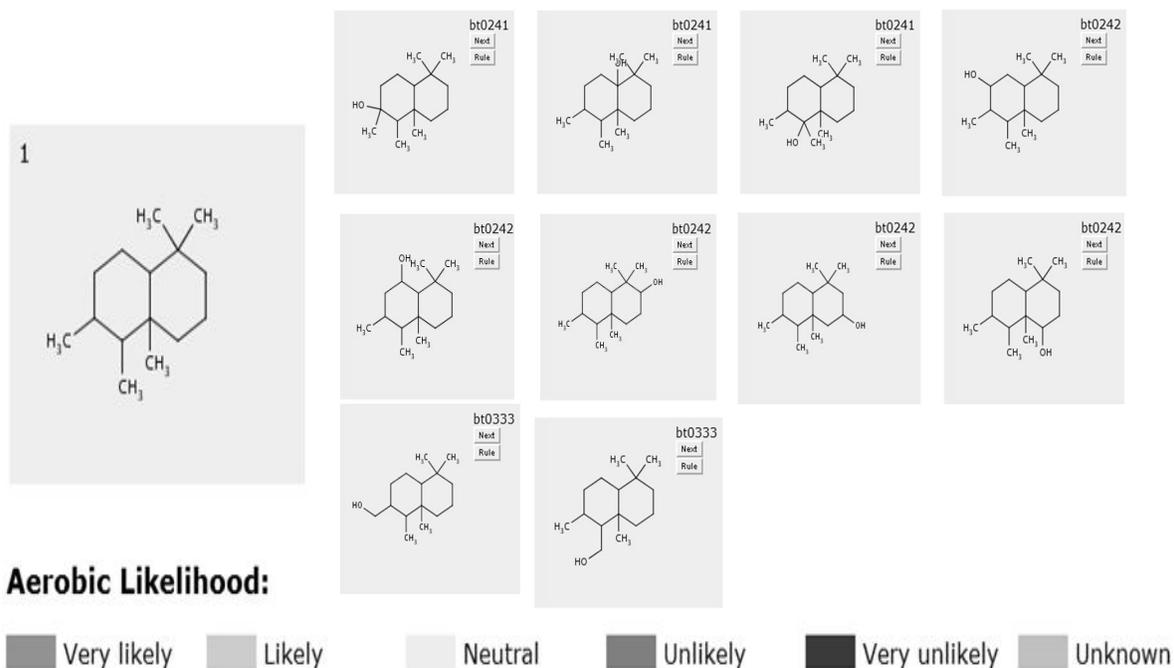


Figura 1. Primer paso para la degradación del compuesto Decahidro-4,4,8,9,10-pentametilnaftaleno
Figure 1. First step for the degradation of the composed Decahydro-4,4,8,9,10-pentamethylnaphthalene

A nivel experimental prevalecerán condiciones aeróbicas. Los pasos siguientes para la degradación incluyeron solo aquellos que ocurren con mayor probabilidad en presencia de oxígeno. En la figura 2 se presenta la simulación completa para el *Decahidro-4,4,8,9,10-pentametilnaftaleno*, para el cual se obtuvo una mineralización completa bajo condiciones

aeróbicas, siendo el último compuesto el *Isobutirato*, luego de 25 transformaciones enzimáticas. Este compuesto se metaboliza fácilmente posteriormente hasta CO₂ y Agua. Nótese adicionalmente que la ruptura de anillos aromáticos ocurre con alta probabilidad en presencia de oxígeno, con lo cual se puede descartar en tratamiento anaeróbico.

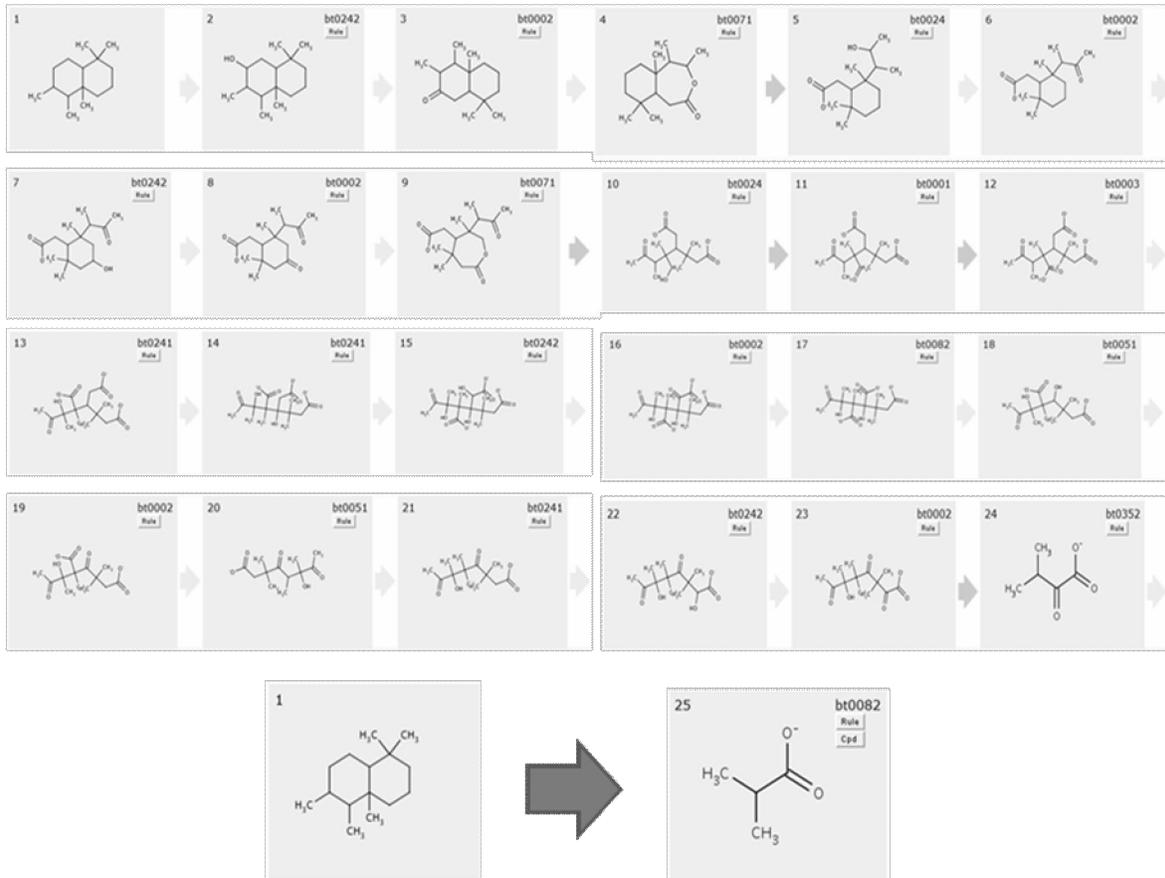


Figura 2. Ruta completa para la biodegradación aeróbica del Decahidro-4,4,8,9,10-pentametilnaftaleno
Figure 2. Complete route for the aerobic biodegradation of the Decahydro-4,4,8,9,10-pentamethylnaphthalene

3.2. Degradación del 1-Hexacoseno

Para este compuesto de naturaleza alifática, las posibles transformaciones iniciales se presentan en la figura 3. Entre las cuatro transformaciones posibles arrojadas por el programa de simulación, solo rutas aeróbicas son seleccionadas para los pasos posteriores. La transformación biológica para este compuesto debe ser menos compleja, en vista de no disponer de compuestos aromáticos. Las primeras modificaciones, tal y como en el caso

anterior, corresponden a la inserción de grupos *hidroxilos* y luego de grupos *cetona*s. Con la introducción del grupo *alcohol* al extremo de la cadena y el grupo *cetona* adyacente (es decir, la formación de un grupo carboxilo en el extremo), los microorganismos pueden fraccionar continuamente los extremos de la cadena generando *acetato*, el cual es degradado por vías centrales del metabolismo (aquí no mostradas). En la figura 4 se observa la ruta completa simulada, la cual requiere 7 pasos para una mineralización del contaminante.

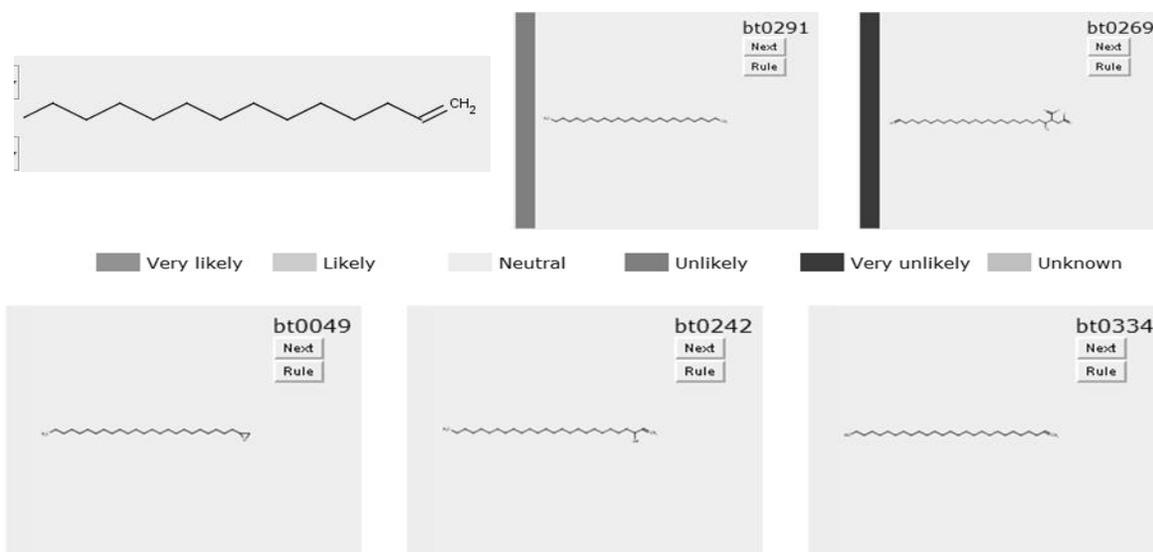


Figura 3. Transformaciones iniciales probables para la degradación del *1-Hexacoseno*
Figure 3. Probable initial transformations for the degradation of the 1-Hexacosen

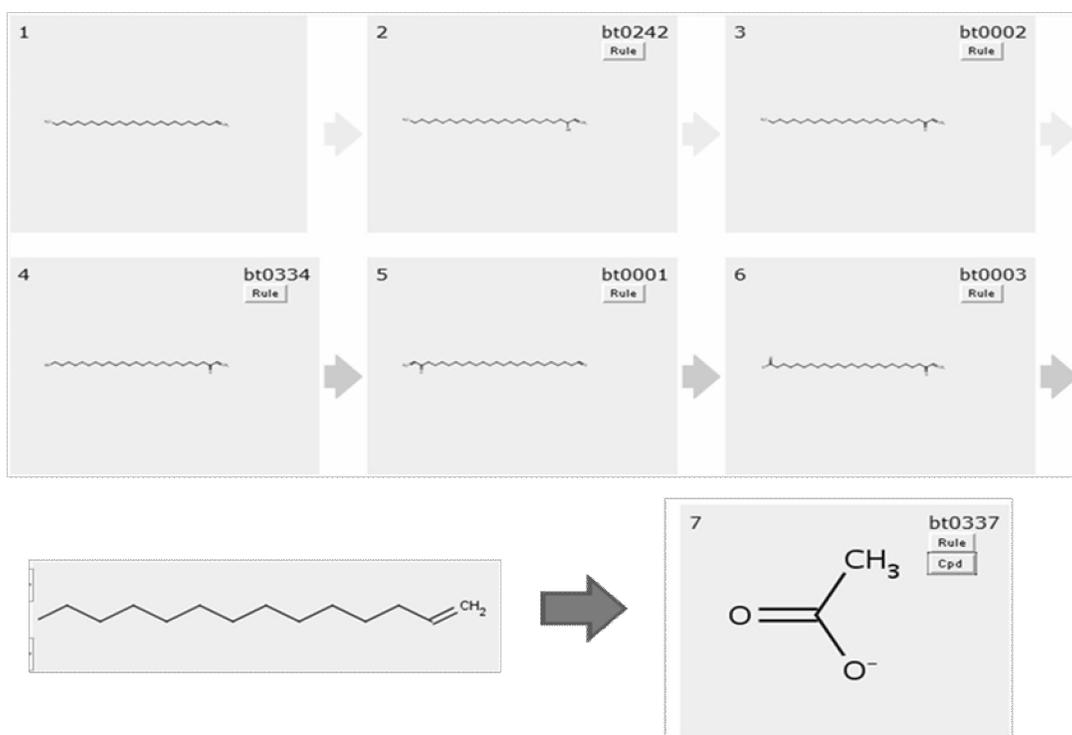


Figura 4. Ruta metabólica para la biodegradación del *1-Hexacoseno*
Figure 4. Metabolic pathways for the biodegradation of the 1-Hexacosen

3.3. Degradación del Ciclohexano, 2-etil-1-metil-butilidieno

Los posibles ataques microbianos iniciales para la degradación del *Ciclohexano, 2-etil-1-metil-butilidieno*, se muestran en la figura 5. Como se nota, la complejidad estructural se reduce

eficientemente al insertar grupos *ester* al interior del anillo. La primera transformación entonces implica la formación de un grupo alcohol en una zona del anillo asequible para el ataque enzimático.

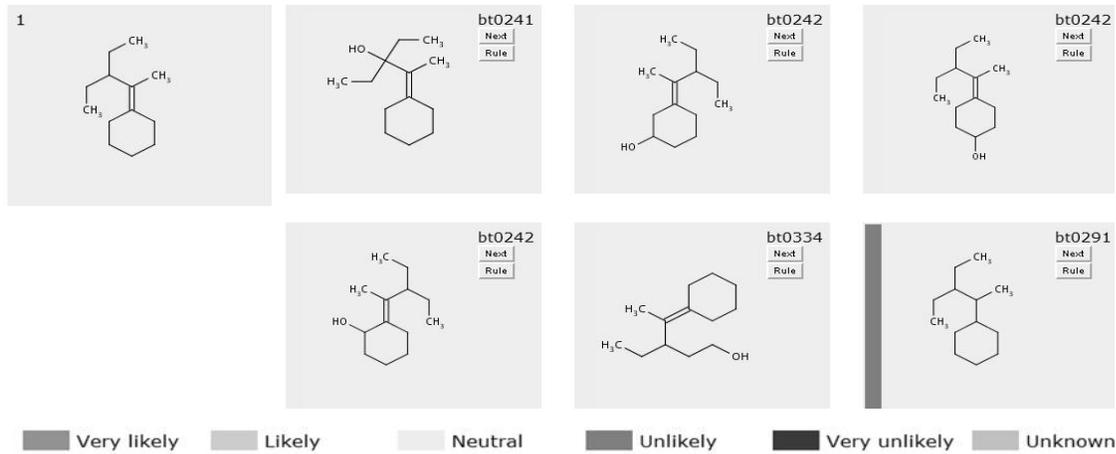


Figura 5. Posibles sitios para el ataque inicial del *Ciclohexano, 2-etil-1-metil-butilidieno*
Figure 5. Possible places for the initial attack of the *Ciclohexane, 2-ethyl-1-methyl-butylidene*

La biodegradación del *Ciclohexano, 2-etil-1-metil-butilidieno*, bajo condiciones aeróbicas, de acuerdo a la simulación encontrada ocurre en solo 6 pasos (figura 6). Se observa que la secuencia sugerida para el ataque de anillos permite su ruptura efectiva, mientras que la

presencia de un grupo *cetona* inicial en la estructura favoreció la producción casi inmediata de acetato como compuesto final en el metabolismo planteado, que luego fácilmente es llevado a CO_2 y agua en el metabolismo central.

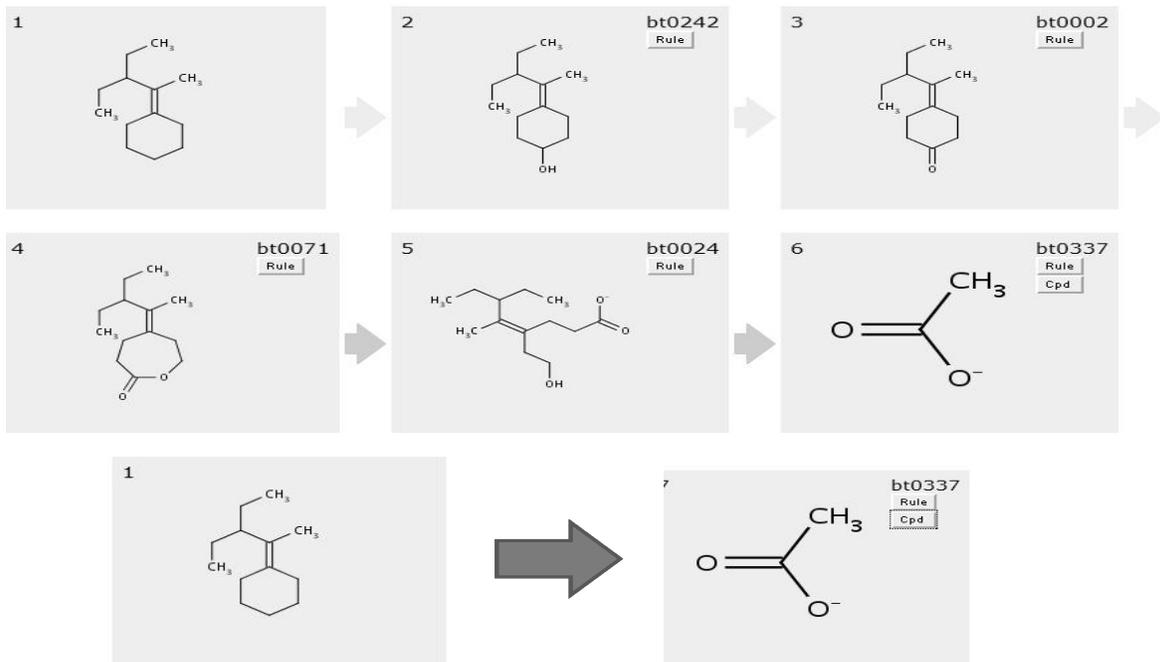


Figura 6. Ruta metabólica completa para la degradación del *Ciclohexano, 2-etil-1-metil-butilidieno*
Figure 6. Complete metabolic pathways for the degradation of the *Ciclohexane, 2-ethyl-1-methyl-butylidene*

3.4. Transformaciones identificadas

Son varias las transformaciones identificadas para las cuales se tiene información detallada acerca de enzimas involucradas, microorganismos y modificaciones específicas. Cuatro de las más importantes, sobre todo para lograr la ruptura de los anillos, son

brevemente presentadas a continuación.
i. La introducción de grupos *hidroxilo* en anillos y cadenas alifáticas está mediado principalmente por enzimas *monooxigenasas* y *deshidrogenasas*, presentes en organismos tales como *Brachymonas petroleovorans* y *Persephonella marina*. En la figura 7 se presenta la reacción general para esta transformación.



Figura 7. Formación de alcohol secundario a partir de un alifático secundario
Figure 7. Formation of secondary alcohol from an aliphatic secondary

ii. La oxidación de los compuestos de interés hasta grupos cetona es llevada a cabo por enzimas tales como *deshidrogenasas* y

monooxigenasas. En la figura 8 se presenta el mecanismo básico para esta transformación.

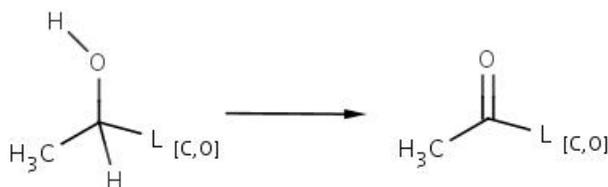


Figura 8. Formación de cetonas a partir de alcoholes secundarios
Figure 8. Formation of ketones from secondary alcohols

iii. Finalmente, la inserción de un *éster* cíclico se lleva a cabo mediante una oxidación tipo *Baeyer-Villiger*, presentada en la figura 9.

En esta transformación también participan enzimas del tipo *monooxigenasas* y *deshidrogenasas*.

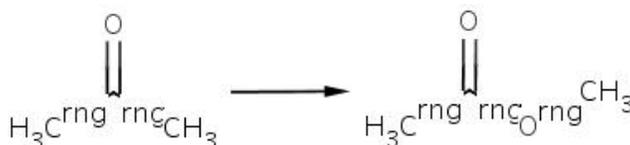


Figura 9. Oxidación *Baeyer-Villiger* para la formación de ésteres cíclicos a partir de cetonas cíclicas
Figure 9. Oxidation *Baeyer-Villiger* for the formation of cover with a mat cyclic from ketones cyclics

iv. La ruptura del anillo es llevada a cabo por enzimas tales como *hidrolasas* e *hidrolasas de ésteres carboxílicos*. Organismos tales como

Pseudomonas sp, *Mesorhizobium loti* y *Acinetobacter calcoaceticus*, participan en este tipo de transformaciones, mostrada en la figura 10.

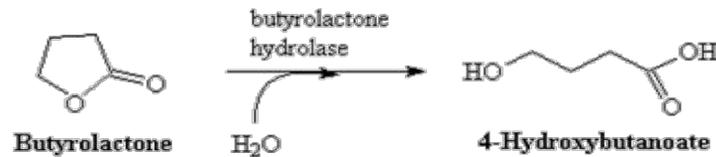


Figura 10. Ruptura del anillo aromático

Figure 10. Break of the aromatic ring

4. CONCLUSIONES

La simulación efectuada indica claramente que los compuestos representativos de los aceites dieléctricos seleccionados en este estudio son susceptibles de biodegradación, y que, bajo condiciones aeróbicas, las tres moléculas pueden ser mineralizadas completamente hasta los compuestos no tóxicos *isobutirato* y *acetato*, los cuales pueden ser llevados a CO₂ fácilmente por acción microbiana. Las principales enzimas que participan en la biodegradación son *deshidrogenasas*, *monooxigenasas* e *hidrolasas*. El tratamiento biológico aeróbico es por tanto una opción probable para el tratamiento de tierra *Fuller* contaminada con aceite dieléctrico.

REFERENCIAS

- [1] AMVA. Formulación Del Plan De Gestión Integral De Residuos Sólidos Regional Del Valle De Aburra. Convenio Área Metropolitana del Valle de Aburra- Universidad de Antioquia. P. 105. 2006.
- [2] ROJAS, C. Calidad Del Aceite Dieléctrico Utilizado En Transformadores. *Dyna*. Vol. 122, 41-52, 1997.
- [3] DURAN, M. CONTRERAS, N. Alternativa De Tratamiento Para Tierras Fuller Contaminadas Con Aceite Dieléctrico. *Scientia et Technica*, No 32, 419- 424, 2006.
- [4] ISA. Comunicación personal: Información suministrada por la Ingeniera Diana González del área ambiental de la empresa Interconexión Eléctrica ISA S.A. 2008.
- [5] University of Minnesota Biocatalysis and Biodegradation Database (UM-BBD) at www.umbbd.ahc.umn.edu. Agosto de 2009.
- [6] WACKED, L.P., HERSHBERGER, C.D. *Biocatalysis and Biodegradation*. ASM press. 2001.