



Evaluación de la actividad de biodegradación de microorganismos en la recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos

Evaluation of the activity of biodegradation of microorganisms in the recovery of soils contaminated by hydrocarbons

Ricardo Alberto Suarez-Vera¹, Jhon Daney Herrera-Escobar², Wilmer Figueroa-Medina³

¹Especialista en Gerencia en Riesgos Laborales, Seguridad y Salud en el Trabajo, risuarezv@sena.edu.co, SENA, Cúcuta, Colombia

²Ingeniero Agrónomo, jherrerae@sena.edu.co, SENA Regional Norte de Santander, Grupo de Investigación CEDRUM NDS, Cúcuta, Colombia

³Ingeniero Agrónomo, wfigueroa@sena.edu.co, SENA Regional Norte de Santander, Grupo de Investigación CEDRUM NDS, Cúcuta, Colombia

Como Citar: R.A Suarez-Vera, J.D Herrera-Escobar, W. Figueroa-Medina, “Evaluación de la actividad de biodegradación de microorganismos en la recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos”. *Respuestas*, vol. 25, no. S2, pp. 79-83, 2020.

Received on September 20, 2018; Approved on December 15, 2018

RESUMEN

Palabras clave:

Biorremediación,
Hidrocarburos,
Fenoles,
Suelo.

Se evaluó la actividad de biodegradación de microorganismos en la recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos. Se usaron dos concentraciones de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) iniciales: 4,7 % y 6,5% a los cuales se aplicó microorganismos degradadores de hidrocarburos (MDH) y microorganismos degradadores de fenoles (MDF). Se empleó diseño experimental factorial 2x2 con dos repeticiones, los tratamientos fueron T1: Suelo con TPH 4,7% + MDH, T2: Suelo con TPH 4,7% + MDH/MDF, T4: Suelo con TPH 6,5% + MDH, T5: Suelo con TPH 6,5% + MDH/MDF y dos testigos T3: Suelo con TPH 4,7% y T6: Suelo con TPH 6,5% sin aplicación de MD. La cantidad de microorganismos aplicada por tratamiento correspondió con la relación de 0,3% en peso del suelo a remediar. A cada uno se agregó suplemento nutricional tripolifosfato de sodio y urea 46%. La unidad experimental fueron bandejas plásticas con capacidad de 10 kg c/u de suelo contaminado. Los bioensayos se llevaron a cabo durante 62 días. Los resultados mostraron que el porcentaje de remoción fue mayor en T1: Suelo con TPH 4,7% + MDH y T4: Suelo con TPH 6,5% + MDH con 68% y 66% respectivamente. La utilización de la mezcla Degradador de hidrocarburos (MDH) + Degradador de Fenoles (MDF) en cuanto a % de remoción fue mayor para T2: Suelo con TPH 4,7% + MDH/MDF con un 65%. La prueba LSD Fisher (0.05) determinó diferencias significativas para concentraciones de hidrocarburos A (4,51) y B (6,51) con promedios de 1,60 TPH y 2,52 TPH respectivamente, lo que significa, a menor concentración inicial de TPH, mayor eficiencia de los microorganismos biodegradadores aplicados.

ABSTRACT

Keywords:

Bioremediation,
Hydrocarbons,
Phenols,
Soil.

The biodegradation activity of microorganisms in the recovery of soils contaminated by hydrocarbons was evaluated. Two initial concentrations of total petroleum hydrocarbons (TPH) were used: 4.7% and 6.5%, to which hydrocarbon-degrading microorganisms (MDH) and phenol-degrading microorganisms (MDF) were applied. 2x2 factorial experimental design was used with two replications, the treatments were T1: Soil with TPH 4.7% + MDH, T2: Soil with TPH 4.7% + MDH / MDF, T4: Soil with TPH 6.5% + MDH, T5: Soil with TPH 6.5% + MDH / MDF and two controls T3: Soil with TPH 4.7% and T6: Soil with TPH 6.5% without application of MD. The amount of microorganisms applied per treatment corresponded to the ratio of 0.3% by weight of the soil to be remedied. To each was added nutritional supplement tripolifosfato de sodio and urea 46%. The experimental unit were plastic trays with a capacity of 10 kg each of contaminated soil. The bioassays were carried out for 62 days. The results showed that the percentage of removal was higher in T1: Soil with TPH 4.7% + MDH and T4: Soil with TPH 6.5% + MDH with 68% and 66% respectively. The use of the mixture Degradador de hidrocarburos (MDH) + Depends of Phenols (MDF) in% of removal was greater for T2: Soil with TPH 4.7% + MDH / MDF with 65%. The Fisher LSD test (0.05) determined significant differences for concentrations of hydrocarbons A (4,51) and B (6,51) with averages of 1,60 TPH and 2,52 TPH respectively, which means, at a lower initial concentration of TPH, greater efficiency of applied biodegradable microorganisms.

*Corresponding author.

E-mail address: jherrerae@sena.edu.co (Jhon Daney Herrera-Escobar)



Peer review is the responsibility of the Universidad Francisco de Paula Santander.
This is an article under the license CC BY-ND

Introducción

Los hidrocarburos estipulan una actividad económica de primera importancia a nivel mundial ya que son los principales combustibles fósiles, además sirven de materia prima para todo tipo de plásticos, ceras y lubricantes. Pero son estas formas de elevado valor económico (petróleo y derivados) las responsables de graves problemas de contaminación en el medio natural [1]. La generación de impactos ambientales adversos en los diferentes compartimentos ambientales debidos a fugas y derrames de hidrocarburos (intencionales y no intencionales), así como afloramientos naturales, constituyen uno de los problemas ambientales más importantes para el recurso suelo [3].

La contaminación de los sistemas acuíferos y suelos ecológicamente sensibles con petróleo es un problema ambiental global muy importante. Se estima que más de 8 millones de toneladas métricas de petróleo se liberan anualmente al medio ambiente global por derrames, fugas, afloramientos naturales, producción costa afuera, transportación, aguas residuales industriales y escurrimientos urbanos [5].

El impacto ambiental de los derrames de crudo en Colombia ha dejado miles de hectáreas afectadas, sin dejar a un lado los kilómetros de ríos y quebradas. Estos daños a las fuentes hídricas, suelos, aire, fauna y vegetación, causados por actos terroristas a la infraestructura petrolera o como resultado de la actividad de la extracción del petróleo, son prácticamente irremediables, ya que los procesos de descontaminación no alcanzan a cubrir todas las áreas afectadas y se realizan mucho tiempo después de que el crudo ha penetrado al ecosistema [13].

En la actualidad los derrames de hidrocarburos por múltiples causas, presentan un reto para las diferentes entidades encargadas de la recuperación del espacio afectado por estos. La biorremediación es una opción de recuperación natural y aceleradora en la degradación de los residuos que afectan las condiciones normales del suelo de manera amigable con la naturaleza [10], mediante la adición de materiales a ambientes contaminados para producir una aceleración del proceso natural de biodegradación [9].

Para la descontaminación de suelos contaminados por hidrocarburos, en el mundo se han implementado diversos

métodos de descontaminación. El más empleado es en el que se aplican técnicas fisicoquímicas, con la desventaja de ser muy costoso y que puede emplear mucho tiempo en ver resultados. El Landfarming es una técnica de bajo costos pero, con la diferencia a otras, esta demora en el tiempo de degradación de los contaminantes, la generación de lodos contaminados es alta y se tiene que evacuar de forma eficaz y eficiente. [2]. Entre las alternativas actuales para el proceso de biorremediación existen ya microorganismos aislados que degradan hidrocarburos y fenoles con resultados positivos [10]. Dentro de los contaminantes hídricos, los fenoles constituyen un contaminante indeseable al conferirle al agua características organolépticas desagradables y nocivas para la salud humana, entre otros problemas [12]. Sin embargo a pesar de los beneficios de las tecnologías de biorremediación, existen algunas dificultades en la aplicación debido a las restricciones impuestas por el sustrato y variabilidad ambiental, el potencial limitado de biodegradación y la viabilidad de los microorganismos de origen natural, entre otras [7].

Con el presente estudio se pretende evaluar actividad de microorganismos degradadores de hidrocarburos y fenoles en la recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos.

Metodología

Ubicación

El estudio se realizó en la Hacienda Carrillo, corregimiento La Garita a 534 msnm, con una temperatura promedio de 28 °C y precipitación anual entre 500 y 1.000 mm/año, del municipio Los Patios, Norte de Santander (Colombia). Se emplearon bandejas plásticas con una capacidad de 10 kg c/u de suelo contaminado con hidrocarburo a concentraciones TPHs de 4,51% y 6,5%; a los cuales se les realizó la aplicación de microorganismos degradadores de hidrocarburos (MDH) y microorganismos degradadores de fenoles (MDF).

Instalación del bioensayo

Inicialmente se tomó una muestra de suelo a una profundidad entre 0,25 y 1,0 m, a la cual se determinó la humedad mediante análisis gravimétrico realizado en el laboratorio de suelos del IGAC (Instituto Geográfico Agustín Codazzi). El pH del suelo contaminado fue de

6,92. La cantidad de agua suministrada al inicio fue para todas las unidades de 1400 ml, determinando como punto de saturación 1600 ml. Posteriormente se le suministró diariamente cantidades iguales a cada tratamiento de 300 ml.

Contaminación del suelo

El suelo extraído sin esterilizar fue contaminado con hidrocarburo quedando a concentraciones de TPH de 4,51% y 6,5%. Dicho suelo fue secado en forma natural durante 4 días y tamizado a 2,33 mm, proporcionando de esta manera la distribución homogénea del hidrocarburo y disminuyendo la formación de agregados [3].

Se establecieron 6 tratamientos, que consistieron en T1: Suelo con TPH 4,7% + MDH, T2: Suelo con TPH 4,7% + MDH/MDF, T3: Suelo con TPH 4,7% sin aplicación de MD, T4: Suelo con TPH 6,5% + MDH, T5: Suelo con TPH 6,5% + MDH/MDF, T6: Suelo con TPH 6,5% sin aplicación de MD. Las unidades experimentales dispuestas en casa malla, consistieron en bandejas plásticas de capacidad 10 kg c/u de suelo contaminado con hidrocarburo a concentraciones descritas anteriormente. La cantidad de microorganismos aplicada a cada tratamiento corresponde a la relación del 0,3% en peso del suelo a remediar. Para estimular el desarrollo y crecimiento de microorganismos, a cada uno se le agregó un suplemento nutricional con tripolifosfato de sodio y urea al 46% [3]. Para la cuantificación de los TPHs presentes al inicio y al final del estudio, se utilizó la técnica de extracción Soxhlet, por gravimetría, método EPA 9071 B-SM 5520 D, realizado por el laboratorio CHEMILAB, ubicado en Bogotá D.C. y de esta manera determinar el porcentaje de remoción del contaminante en relación a este parámetro.

Diseño y factores experimentales

Se empleó un diseño experimental factorial 2x2 con dos repeticiones, los tratamientos utilizados fueron los descritos anteriormente. La unidad experimental fueron bandejas plásticas con capacidad de 10 kg c/u de suelo contaminado. Los resultados se sometieron a análisis de varianza y pruebas de comparación múltiple por el test de Tukey y LSD Fisher para la mínima significancia, utilizando el paquete de diseños experimentales [8].

Resultados y Discusión

Los resultados de laboratorio mostraron que el porcentaje de remoción fue mayor en los tratamientos T1: Suelo con TPH 4,7% + MDH y T4: Suelo con TPH 6,5% + MDH con el 68% y 66% respectivamente; adicionalmente se evidencia que la utilización de la mezcla Degradador de hidrocarburos (MDH)+ degradador de Fenoles (MDF) en cuanto al % de remoción fue mayor para el tratamiento T2: Suelo con TPH 4,7% + MDH/MDF con 65% de remoción. Para los tratamientos control T3: Suelo con TPH 4,7% sin aplicación de MD y T6: Suelo con TPH 6,5% sin aplicación de MD, la remoción fue del 7% y 5% respectivamente (Tabla I).

Tabla I. Porcentaje de remoción de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) por tratamiento utilizado.

TRATAMIENTO	*TPHs (%) INICIAL	MICROORGANISMO APLICADO	*TPHs (%) FINAL	REMOCIÓN (%)
T1	4,71	Degradador de hidrocarburos (MDH)	1,53	68
T2	4,71	Degradador de hidrocarburos (MDH)+ degradador de Fenoles (MDF)	1,67	65
T3	4,71	NINGUNO	4,37	7
T4	6,51	Degradador de hidrocarburos (MDH)	2,19	66
T5	6,51	Degradador de hidrocarburos (MDH) + degradador de Fenoles (MDF)	2,85	56
T6	6,51	NINGUNO	6,18	5

*Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH)

La menor remoción en términos de TPHs corresponde con el tratamiento T5: Suelo con TPH 6,5% + MDH/MDF con un 56% de remoción; eficiencia representativa al ser comparada con otras investigaciones como la realizada por [4], en el que las eficiencias máximas de remoción del 25 % aplicando microorganismos propios de la vacaza más aserrín de bolaina, mostraron resultados positivos en términos de remoción de contaminantes de esta naturaleza.

De acuerdo con los resultados de los análisis estadísticos se encontró por prueba de Tukey (0.05) que existen diferencias significativas entre el tratamiento T5: Suelo con TPH 6,5% + MDH/MDF con un porcentaje de TPH final de 2,85% y los demás tratamientos empleados. Mientras que no existieron diferencias significativas entre este mismo tratamiento y el tratamiento T4: Suelo con TPH 6,5% + MDH (Fig. 1).

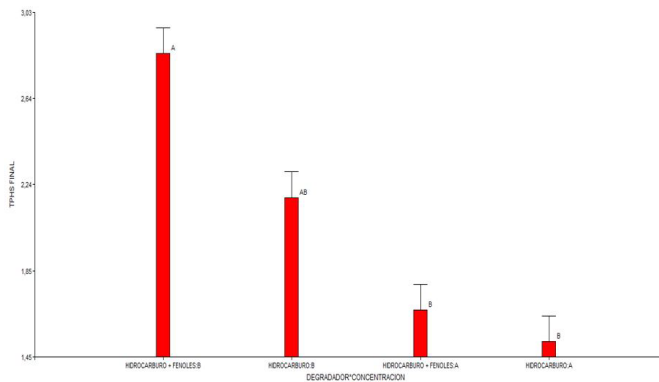


Figura 1. Diferencias de TPH final entre tratamientos utilizados.

Por otro lado mediante la aplicación de la prueba LSD Fisher (0.05) las concentraciones de hidrocarburos B (6,51) y A (4,51) con promedios de concentraciones 2,52 TPH y 1,60 TPH, respectivamente presentan diferencias significativas, lo que significa que a menor concentración inicial de TPH, mayor la eficiencia de los microorganismos biodegradadores aplicados (Fig. 2).

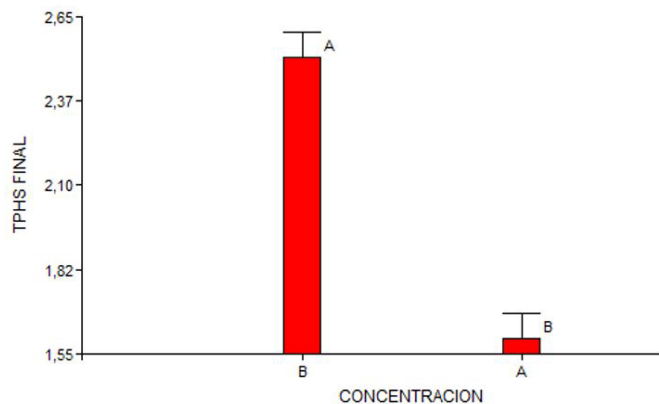


Figura 2. Promedios remanentes de TPH de las concentraciones utilizadas.

Al respecto [6] en estudio realizado encontraron que la concentración inicial de los hidrocarburos totales de petróleo (HTP) se ve influenciada inversamente por la biodegradación de microorganismos al pasar de 15.3, 19.0 y 29.2 g/kg de suelo a 84, 72 y 55 %, respectivamente, en 60 días.

Por otro lado, se determinó con los tratamientos control T3: Suelo con TPH 4,7% sin aplicación de MD y T6: Suelo con TPH 6,5% sin aplicación de MD, que la remoción fue del 7% y 5% respectivamente (Tabla 1), no fueron tomados como representativos estadísticamente; lo cual nos puede indicar que la contaminación por hidrocarburos generan grandes impactos en los ecosistemas y los microorganismos nativos presentes no

alcanzan a corregirlos de manera natural. Al respecto [11] en estudio relacionado mediante biorremediación bacteriana encontró estabilidad de toxicidad utilizando bioestimulación, bioaumentación y atenuación natural llegando a obtener concentraciones menores a 5000 ppm de TPH.

De acuerdo con lo anterior [3], mencionan que aunque la atenuación natural puede generar resultados positivos es una técnica poco recomendable para tratar derrames de hidrocarburos, pues los tiempos necesarios para el restablecimiento o la recuperación del ecosistema suelen ser tan largos, que permiten que el contaminante se mueva y genere impactos negativos no solo en el sitio del derrame sino también en ecosistemas adyacentes.

Por última instancia, la combinación de los microorganismos degradadores de hidrocarburo + degradadores de fenoles no generaron mayores eficiencias de remoción en ninguno de los tratamientos, sin embargo [10] en estudio relacionado, mediante la aplicación de *P fluorescens* redujo el contenido de fenoles hasta en un 50% después de 15 días.

Conclusiones

Se pudo evidenciar la efectividad del proceso de biorremediación mediante la medición del porcentaje de remoción hidrocarburos totales (TPH) en los tratamientos evaluados, no obstante los resultados de la combinación de grupos de microorganismos con actividad degradadora en el proceso de biorremediación del suelo contaminado (Degradadores de hidrocarburos + degradadores de fenoles) no fueron tan eficientes.

Existe una mayor eficiencia de los microorganismos al degradar suelos con menor concentración de hidrocarburo, lo que significa que a menor concentración de hidrocarburos en el suelo, mayor eficiencia de los degradadores aplicados.

Agradecimientos

Esta investigación se realizó con financiación del Sistema de Investigación desarrollo tecnológico e innovación del SENA (SENNOVA), en la convocatoria 2016 bajo la modalidad proyecto de innovación para el grupo de investigación CEDRUM NDS, del SENA Regional Norte de Santander. Los autores agradecen a la Dra. Ludy

Patricia Nieto y al Dr. Jorge L. Grosso por su orientación durante el proceso de investigación.

Referencias

- [1]. Alonso, R. (2012). Proyecto de recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España.
- [2]. Ariza, C.; Mejia, S. (2017). Optimización del proceso de Landfarming para mejorar la funcionalidad del tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos mediante la adición de materia orgánica. *Scientific International Journal*. Vol. 14, No. 3. pp. 84-94.
- [3]. Arrieta, O., Rivera, A., Arias, L., Rojano, B., Ruiz, O., Y Cardona, S. (2012). Biorremediación de un suelo con diesel mediante el uso de microorganismos autóctonos. *Gestión y Ambiente*, 15(1), 27-40.
- [4]. Buendía R. Hildebrando. (2012). Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante el compost de aserrín y estiércol. *Revista del Instituto de Investigación (RIIGEO)*, 15(30), pp.123-130.
- [5]. Díaz, M.; Rivas, L.; Acosta, J.; Miller, S.; Romero, R.; Hernández, D.; Laffita, C. (2013). Evaluación a escala de banco de materiales absorbentes para recogida de hidrocarburos en suelos. IV congreso cubano de petróleo y gas (PETROGAS), protección medioambiental en la industria petrolera. 11 pág.
- [6]. Ferreira, T., Santos, F. Y Pessoa, F. (2013). Biorremediación de un suelo tropical contaminado con residuos aceitosos intemperizados. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 29 (1), 21-28.
- [7]. Garzón, J.; Rodríguez, J.; Hernandez, C. (2017). Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. *Revista Universidad y Salud*, 19(2), 309-318.
- [8]. InfoStat Versión actualizada (2017). Software estadístico. Universidad Nacional de Córdoba.
- [9] Ponce, D. (2014). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Universidad del Bío-Bío. Concepción, Chile. 107 pág.
- [10]. Jun Chen, Li Zhang, Qing Jin, Cuizhu Su, Lei Zhao, Xiaoxiang Liu, Shumeng Kou, Yujing Wang, Ming Xiao. (2017). Bioremediation of phenol in soil through using a mobile planteendophyte system, *Chemosphere* 182. Pag. 194-202.
- [11]. Martínez, A. (2018). Biorremediación bacteriana de suelo contaminado con fluidos y residuos de perforación mediante diferentes métodos (Tesis de maestría). Universidad Nacional, Medellín, Colombia.
- [12]. Rubiano H., Claudia Marcela; Laguna C., William Alejandro; Zapata S., Carmen Elena; Marin S., Juan Miguel. (2005). Estudio sobre las posibilidades de aplicación de la fotocatalisis heterogénea a los procesos de remoción de fenoles en medio acuoso *Gestión y Ambiente*, vol. 8, núm. 1. pp. 105-121.
- [13] Torres, K.; Zuluaga, T. (2014). Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia. 92 pág.