

Evaluación de la remediación del suelo contaminado con aceite crudo utilizando microorganismos de montaña

SANDOVAL-REYES, Francisca*†, CORTÉZ-PÉREZ, Yuliana, REYES-RESENDIZ, Liliana y HERNÁNDEZ-ROMERO, Israel

Universidad Veracruzana Facultad de Ciencias Químicas Campus Poza Rica-Tuxpan

Recibido Octubre 6, 2017; Aceptado Noviembre 14, 2017

Resumen

El presente estudio busca evaluar la remediación del suelo contaminado con aceite crudo, utilizando microorganismos de montaña. La metodología aplicada consiste en evaluar las propiedades fisicoquímicas del suelo en campo: nitratos, pH y determinación de grasas y aceites; utilizando espectrofotómetro Hach DR2010, potenciómetro Orion y el método Soxhlet respectivamente antes y después del tratamiento con los microorganismos de montaña, se evaluó dos muestras de suelo de 10 y 20 ppm de aceite en un periodo de 60 días. Los resultados obtenidos en la primera muestra de 10 ppm se obtuvo una concentración final del 8.2 ppm por lo tanto se degradó 18% de aceite, para la segunda muestra de 20 ppm se obtuvo una concentración final de 13.1 ppm dando como resultado una degradación del 34.5% del aceite en suelo., en cuanto la concentración de nitratos incremento la concentración de 2.7 a 3.5 mientras que el pH disminuyó de 9.26 a 8.32 Por lo que se concluye que la presencia de microorganismos de montaña son un conjunto de microorganismos (hongos, levaduras y bacterias) que además de nutrir el suelo contribuye con la degradación de hidrocarburos pudiendo este ser utilizado para la remediación cuando son impactados por grasas y aceites.

Microorganismos de montaña (MM), hidrocarburo, composición, degradación

Abstract

The present study aims to evaluate the remediation of soil contaminated with hydrocarbon for agricultural production using mountain microorganisms. The physicochemical properties of the uncontaminated and contaminated soil (nitrates, phosphates, pH and determination of fats and oils by the Soxhlet method) were determined before and after treatment with the mountain microorganisms. The differences in the characteristics of both types of soils were evident. In the first sample, an initial concentration of 10 ppm was obtained with a final counterpoint of 8.2 ppm, thus 18% of the hydrocarbon was degraded for the second sample, with an initial concentration of 20 ppm of hydrocarbon and for the final concentration 13.1 ppm, resulted in a degradation of 34.5% total in the sample studied. As the concentration of nitrates increased the concentration of 2.7 to 3.5 while the pH decreased from 9.26 to 8.32. It is concluded that the presence of mountain microorganisms are a set of microorganisms (fungi, yeasts and bacteria) that besides nourishing the soil contributes to the degradation of hydrocarbons and this can be used for remediation when impacted by fats and oils.

Mountain microorganisms (MM), hydrocarbon, composition, degradation

Citación: SANDOVAL-REYES, Francisca, CORTÉZ-PÉREZ, Yuliana, REYES-RESENDIZ, Liliana y HERNÁNDEZ-ROMERO, Israel. Evaluación de la remediación del suelo contaminado con aceite crudo utilizando microorganismos de montaña. Revista de Sistemas Experimentales 2017, 4-13: 25-32

*Correspondencia al Autor (Correo electrónico: sanrey_10@hotmail.com)

†Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

Actualmente el suelo agrícola es impactado negativamente no solo al recibir fertilizantes, pesticidas y otros productos químicos periódicamente, además se ve afectado por los derrames de hidrocarburo, que a pesar de los beneficios que tiene esta industria en la vida del ser humano como fuente económica en el país, suele dañar el suelo haciéndolo infértil y con esto provocando pérdidas económicas a los agricultores o dueños de los predios.

Los hidrocarburos afectan severamente las propiedades físicas y químicas del suelo, como la textura, el pH, su permeabilidad, la pérdida de capacidad de soporte de crecimiento vegetal entre muchas otras. Para limpiar las zonas afectadas con hidrocarburos existen diferentes tipos de tratamientos, físicos, químicos y biológicos, siendo estos últimos ambientalmente seguros y económicamente accesibles a la hora de realizar tratamientos de bioremediación de hidrocarburos.

Una alternativa es el uso de los microorganismos de montaña (MM), que son una mezcla diversa de microbiología proveniente de ecosistemas poco o nada perturbados, que inoculados ayudan a mejorar suelos que han sido afectados con hidrocarburos. Con esto se busca beneficiar a los agricultores ubicados en zonas donde sus suelos hayan sido contaminados con estos tóxicos.

Con este proyecto lo que se busca es utilizar una alternativa de bajo costo y de fácil aplicación, como lo es el estudio de Microorganismos de Montaña (MM), que son organismos beneficiosos para el suelo ya que contienen levaduras, bacterias fotosintéticas y bacterias ácido lácticas. Este tipo de microorganismos ayudan a mejorar la calidad del suelo, al aportar los nutrientes que éste necesita y a su vez degradar contaminantes.

La técnica de los MM fue utilizada por primera vez en la Universidad de Ryukus, Okinawa, Japón por el Doctor Teruo Higa quien desarrolló las múltiples aplicaciones en la agricultura como promotor del crecimiento de las plantas y supresor de enfermedades en la ganadería. En el presente trabajo se evalúa la actividad de los Microorganismos de Montaña (MM) en la remediación del suelo agrícola contaminado con hidrocarburos, y demostrar que el uso de Microorganismos de Montaña (MM) pueden devolver las características fisicoquímicas necesarias para la producción agrícola; además de contribuir con un proyecto que es fácil y económico de aplicar por los propios campesinos siendo un proyecto sustentable.

Hipótesis

La actividad de los Microorganismos de Montaña (MM) favorece la remediación de las propiedades fisicoquímicas del suelo agrícola contaminado por hidrocarburos.

Marco teórico

Microorganismos de montaña

El concepto de microorganismos eficientes (EM) o microorganismos de montaña fue desarrollado por el profesor Teruo Higa, en la Universidad de Ryukyus, Okinawa, Japón (Higa, 1991; y Widiadana, 1991).

El profesor Higa inició el desarrollo de los MM en 1968 y fue hasta 1982 que este producto se volvió más desarrollado. “Los MM surgieron como una alternativa en cuanto al uso de agroquímicos. Actualmente su uso se ha extendido a aplicaciones en los campos de medio ambiente, industria y salud” (Higa y Wood, 2009)

Los microorganismos de montaña consisten en una mezcla de microorganismos beneficiosos, que pueden ser aplicados como inoculantes para incrementar la diversidad microbiana de los suelos y plantas. Contienen una mezcla de tres microorganismos principales (levaduras, bacterias fotosintéticas y bacterias ácido lácticas). Como Almánzar (2012) nos describe cada microorganismo como:

Levaduras: Degradan proteínas complejas y carbohidratos. Producen sustancias bioactivas (vitaminas, hormonas, enzimas) que pueden estimular el crecimiento y actividad de otras especies, así como de plantas superiores.

Las levaduras son importantes por su capacidad para realizar la descomposición mediante fermentación (predominantemente alcohólica) de diversos compuestos orgánicos, principalmente los azúcares o hidratos de carbono, produciendo distintas sustancias.

La fermentación es una forma de obtener energía mediante el metabolismo sencillo de azúcares, en el que se descompone en otras sustancias más sencillas y dióxido de carbono en forma de gas. Díaz-Plascencia (2011).

De acuerdo con la investigación del Aislamiento e Identificación de bacterias y levaduras resistentes a petróleo por Ismael Acosta Rodríguez de la Universidad autónoma de San Luis Potosí se estudiaron las bacterias *Rhodococcus aetherivorans* y *E. wratislaviensis*, *Streptomyces* spp y *Pseudomonas aeruginosa* sp, las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida albicans* y los hongos filamentosos *Penicillium* sp y *Aspergillus* sp, *Trichoderma asperellum*, con objetivo de la identificación de bacterias tolerantes a petróleo crudo encontrando que todas las bacterias crecen mejor en presencia del hidrocarburo.

Se aislaron 15 bacterias y una levadura resistentes a petróleo, con el potencial para degradarlo. Además en presencia de petróleo crudo como fuente de carbono, presentan una gran actividad de alcohol oxidasa, la cual puede utilizar metanol, etanol y petróleo crudo como sustratos, por lo cual pueden utilizarse para eliminar el hidrocarburo presente en aguas y suelos contaminados.

Bacterias fotosintéticas: Pueden fijar el Nitrógeno atmosférico y el bióxido de Carbono en moléculas orgánicas tales como aminoácidos y carbohidratos, también sintetizan sustancias bioactivas. Llevan a cabo una fotosíntesis incompleta, lo cual hace que la planta genere nutrimentos, carbohidratos, aminoácidos, sin necesidad de la luz solar, eso permite que la planta potencialice sus procesos completos las 24 horas del día.

Las bacterias ácido lácticas: Las bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus*) producen ácido láctico a partir de azúcares y otros carbohidratos desarrollados por las bacterias fotosintéticas y las levaduras. El ácido láctico, como agente altamente esterilizador, suprime microorganismos patógenos e incrementa y acelera la transformación de la materia orgánica.

Un estudio realizado en Costa Rica por Castro, Murillo, Uribe y Mata Chinchilla (2012) acerca de "*Pseudomonas fluorescens*, *Azospirillum oryzae*, *Bacillus subtilis* y MM", obtuvieron un mayor crecimiento vegetativo además de una gran cantidad de fósforo, magnesio y potasio, con este artículo se puede reforzar que la utilización de MM ayuda al suelo brindándole una gran cantidad de nutrientes.

En el artículo de “*Alternativas de manejo de la fertilidad del suelo en ecosistemas agropecuarios*” de Sánchez, Hernández & Ruz (2011) mencionan que los efectos de los microorganismos en el suelo están enmarcados en el mejoramiento de las características físicas y biológicas y en la supresión de enfermedades. Entre estos, según Correa (2008), se pueden mencionar:

Efectos en las condiciones físicas del suelo: mejoran la estructura y la agregación de las partículas del suelo, reducen su compactación, incrementan los espacios porosos y mejoran la infiltración del agua. De esta manera se disminuye la frecuencia de riego; los suelos son capaces de absorber 24 veces más el agua proveniente de la lluvia y se evita la erosión por el arrastre de las partículas.

Efectos en la microbiología del suelo: suprimen o controlan las poblaciones de microorganismos patógenos que se desarrollan en el suelo; incrementan la biodiversidad microbiana, lo que genera las condiciones necesarias para que los microorganismos benéficos nativos prosperen.

En el artículo “*Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (Lycopersicon esculentum, Mill)*” de Terry, Leyva y Hernández (2005) hacen mención de la capacidad que tienen los MM para nutrir no solo el suelo, además de ayudar como plaguicida en las plantas, suprimen enfermedades de las plantas, tienen la capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico, y descomponen con mayor facilidad residuos orgánicos.

En este artículo “*Alternativas de manejo de la fertilidad del suelo en ecosistemas agropecuarios*” Sánchez, Hernández, & Ruz (2011) nos dicen que al usar Microorganismos incrementan las cosechas y mejoran las propiedades del suelo, a diferencia de los fertilizantes químicos que reducen la productividad de la tierra.

Hábitat

De acuerdo con Ramos, F (2016) para que la acción de los microorganismos sea eficiente se debe conocer los requerimientos ambientales, entre ellos se consideran la humedad, temperatura y pH. Existe mayor diversidad de microorganismos en ambientes de pH neutro entre valores de 6 a 8 y con temperaturas entre 15 y 45°C. La reproducción o inoculación de MM se realiza bajo fermentación anaeróbica.

Importancia

Los microorganismos eficientes, como inoculante microbiano, reestablece el equilibrio microbiológico del suelo, mejorando sus condiciones físico-químicas, incrementando la producción de los cultivos y su protección; además conserva los recursos naturales, generando una agricultura sostenible

Contaminación por aceites

Los aceites usados vertidos en suelos producen la destrucción del humus y contaminación de aguas superficiales y subterráneas. La eliminación por Vertido de los aceites usados, origina graves problemas de contaminación de tierras, ríos y mares. En efecto, los hidrocarburos saturados que contiene el aceite usado no son degradables biológicamente, recubren las tierras de una película impermeable que destruye el humus vegetal y, por tanto, la fertilidad del suelo.

Los aceites tienen tendencia en acumularse en el entorno, todo aquel aceite que se pierde por las calles, montes, cuando llueve se arrastra a ríos, lagos, acumulándose en sus sedimentos.

Metodología

El enfoque utilizado es el cuantitativo porque es un enfoque que permite conocer de manera clara e imparcial los factores del problema a analizar, puesto que se recogen y analizan de manera objetiva datos a través de diferentes experimentos.

El primer método que se seleccionó fue el comparativo ya que se realizaron las comparaciones de diferentes muestras de suelo agrícola contaminado con aceite adicionados con MM, para analizar las características fisicoquímicas y verificar si hay un mejoramiento en la calidad del suelo agrícola y/o degradación del contaminante en el suelo agrícola contaminado con hidrocarburo.

El segundo método que se utilizó es el cuasi-experimental ya que no se controlan todas las variables, por ejemplo la cantidad exacta de los microorganismos de montaña.

Las técnicas que se utilizaron en el presente proyecto son; la extracción de aceite por el método Soxhlet realizando la destilación con rotavapor marca Yamato, utilizando el espectrofotómetro Hach DR2010 se determinó nitratos, así mismo utilizando el potenciómetro Orion se determinó el pH. En la Figura 1. Se muestra el diagrama de bloques del proceso de la investigación.

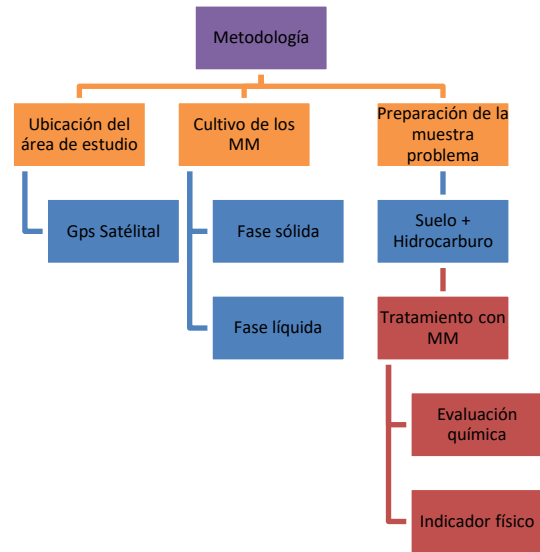


Figura 1 Metodología del proyecto

Ubicación del sitio

Utilizando un posicionador geográfico se ubicó la localidad el Palmar Km.40, carretera Cazones del municipio de Papantla, Veracruz, México con las coordenadas: latitud norte 20°38'39.807" y longitud oeste 97°21'58.76". Figura 2, fue la zona en la que se recolectó hojarasca del suelo, bajo los árboles viejos, su tipo de clima es cálido-subhúmedo según Gómez, D. (2011). Este es el hábitat de los microorganismos de montaña.

Se eligió esta zona ya que gran parte del suelo de la comunidad aún no ha sido contaminado con pesticidas y agroquímicos y cuenta con gran variedad de árboles en donde se pudo encontrar la hojarasca con microorganismos.

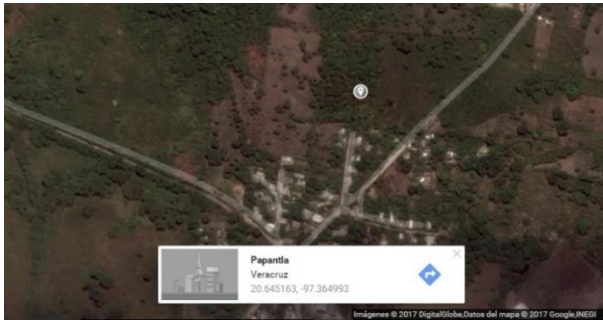


Figura 2 Ubicación del sitio de captura de los MM Palmar Km.40

Fuente: INEGI

Cultivo de microorganismos

Fase sólida

Para la obtención de los microorganismos de montaña se aplicó el protocolo artesanal elaborada por el Dr. Teruo Higa, Ramírez (2012).

Los materiales utilizados para elaborar la fase sólida de los MM se describen en la tabla 1.

Cantidad	Unidad de medida	Producto utilizado
3	Kg	Hojarasca fina del suelo de montaña
3	Kg	Maíz finamente molido
90	mL	Piloncillo líquido
10	mL	Agua
1	Cubeta	Una cubeta con tapa hermética con capacidad de 19 L

Tabla 1 Materiales para elaborar la fase solida de los MM

Fase líquida

Activación de los microorganismos de montaña

Los materiales para la activación de los MM en fase líquida se muestran en la tabla 2:

Muestras	Concentración de aceite crudo (ppm)	componentes
Blanco	0	Suelo sin aceite + MM
M1	10	Suelo + aceite +MM
M2	20	Suelo + aceite +MM

Tabla 2 Materiales para activación de los MM

Preparación de las muestras de suelo para el estudio se indica en la tabla 3.

Cantidad	Unidad de medida	Producto utilizado
750	gr.	MM sólido
1	L.	Piloncillo líquido
7.250	L.	Agua
1		Garrafa con capacidad para 10 L

Tabla 3 Preparación de muestras en estudio

Evaluación química

Transcurridos 60 días del tratamiento al suelo con MM. Se le realiza extracción de grasas y aceites por el método soxhlet, utilizando para la destilación el rotavapor YAMATO, la determinación de nitratos mediante equipo HACH DR2010, la determinación de fosfatos mediante equipo HACH y el pH con el potenciómetro marca Orion

Resultados

Del análisis de los datos, se identificó la evaluación química y se utilizó un indicador físico.

En cuanto a la evaluación química se realizó la extracción de aceites para conocer cuál fue la degradación del aceite en el suelo gráfico 1.

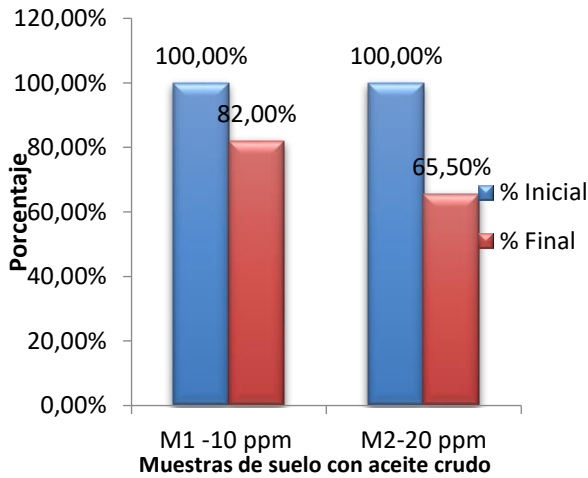
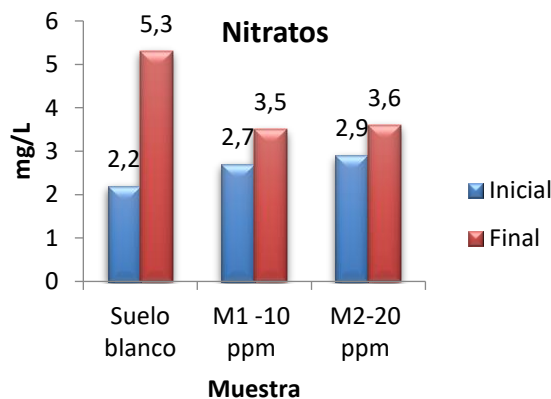


Gráfico 1 Extracción de aceite crudo en suelo

En el gráfico 1 se puede observar la concentración del aceite después del tratamiento con los microorganismos de montaña, se observa que en la primera muestra con 10 ppm se degradó un 18% del aceite en el suelo, mientras que en la segunda muestra la degradación fue de 34.5%, ambas en 60 días con el tratamiento de microorganismos de montaña.

En el gráfico 2 se observa la determinación de nitratos en el equipo HACH DR2010.



Gráficos 2 Determinación de nitratos en el suelo

En el gráfico 2 se observa que la mayor concentración de nitratos se presentó en el blanco, mientras que en la muestra 1 y 2 el incremento fue similar en proporción del suelo sin tratamiento.

En el gráfico 3 se observa las variaciones del pH antes y después del tratamiento.

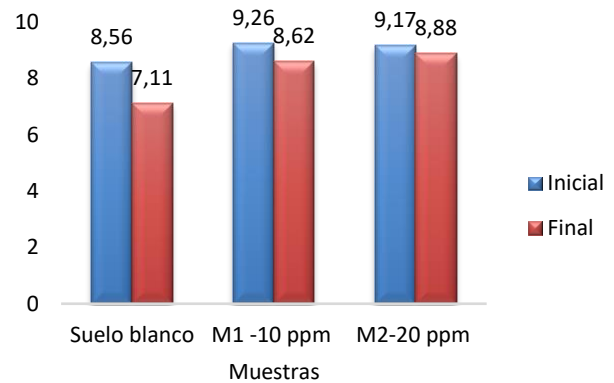


Gráfico 3 Determinación de pH en suelo

De acuerdo con los resultados en la figura 4 se muestra que el tratamiento con microorganismos de montaña disminuyó en la M1 y M2 en similar proporción mientras que en la muestra (blanco) suelo sin aceite crudo con tratamiento de MM disminuyó el pH de 8.6 a 7.11, quedando el suelo cerca del pH de un suelo fértil sin tratamiento establecido en 7.11-7.5.

Conclusiones

Con base a los resultados obtenidos se concluye que la hipótesis se cumple, ya que al analizar las dos muestras de suelo contaminadas por aceite, se obtuvo en la primera muestra de 10 ppm se degradó 18% de aceite, para la segunda muestra de 20 ppm se obtuvo una concentración final del 34.5% del aceite en suelo.

La concentración de nitratos aumento en las tres muestras, observando mayor incremento en el blanco, lo que confirma que en suelo que que no contiene contaminante los MM representan una fuente de nutrientes que hacen más fértil a éste, pudiendo ser una alternativa a utilizar en el campo agrícola como abono orgánico. En las dos muestras de suelo (M1 y M2) la concentración incrementó 0.8 mg/L, con esta investigación se confirma que puede ser utilizado como alternativa sustentable para la remediación de suelos contaminados con aceites.

Los microorganismos de montaña también favorecen a la regulación del pH y al igual que en la concentración de nitratos se ve que en suelo contaminado (M1 y M2) y no (blanco) disminuye acercándose a un pH de 7.11 7.5 recomendado para suelo fértil

Referencias

- Higa, 1991; Higa y Widiadana, 1991^a EM consiste en un cultivo mixto de microorganismos benéficos, de ocurrencia... Universidad de Ryukyus, Okinawa, Japón
- Higa, T., & Wood, M. (2009). Effective microorganisms for sustainable community development. *Cooperation with EM Research Organization, Okinawa, Japan.*
- Acosta Almánzar, H. A. (2012). Microorganismos eficientes de montaña.
- Díaz-Plascencia, D., Rodríguez-Muela, C., Mancillas-Flores, P., Angulo, C., Salvador, F., Ruíz, O., ... & Elías, A. (2011). Desarrollo de un inóculo con diferentes sustratos mediante fermentación sólida sumergida. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, 12(1)*. Colomer
- Barquero, L. C., Roos, M. M., Lorío, L. U., & Chinchilla, R. M. (2015). Inoculación al suelo con *Pseudomonas fluorescens*, *Azospirillum oryzae*, *Bacillus subtilis* y microorganismos de montaña (mm) y su efecto sobre un sistema de rotación soya-tomate bajo condiciones de invernadero. *Agronomía Costarricense, 39(3)*, 21-36.
- Mendoza, F. J., Herrera Prats, L., ROBLES MARTÍNEZ, F., Gallardo Izquierdo, A., & Carlos Alberola, M. (2012). Secado de residuos de jardinería en reactores mediante procesos biológicos. *Revista internacional de contaminación ambiental, 28*, 61-67.
- Sánchez, S., Hernández, M., & Ruz, F. (2011). Alternativas de manejo de la fertilidad del suelo en ecosistemas agropecuarios. *Pastos y Forrajes, 34(4)*, 375-392.
- Correa, M. F. (2008). *Evaluacion de caracteres PGPR en actinomicetos e interacciones de estas Rizobacterias con hongos formadores de Micorrizas*. Editorial de la Universidad de Granada.
- Alfonso, E. T., Leyva, Á., & Hernández, A. (2005). Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill). *Revista colombiana de Biotecnología, 7(2)*, 47-54.
- Ramos, F., & Lesly, M. (2016). Caracterización físico-química del biofertilizante Microorganismos de Montaña (MM) para la Finca Agroecológica Santa Inés, Zamorano, Honduras.
- Gómez, D., & Vásquez, M. (2011). *Abonos orgánicos*. PYMERURAL Y PRONAGRO