

Biorremediación por bioestimulación y bioaumentación con microorganismos nativos de un suelo agrícola contaminado con hidrocarburos

Alejandro Islas-García | Maribel Peralta-Rodríguez | Libia Vega-Loyo
| Ricardo López-Aguilar | Refugio Rodríguez-Vázquez

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados | INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

correo-e: rrodrig@cinvestav.mx

Resumen

La contaminación de suelos agrícolas por hidrocarburos es uno de los principales problemas derivados de fugas o derrames durante su transporte. En el presente trabajo se realizó la biorremediación mediante la bioestimulación y bioaumentación con dos microorganismos aislados del mismo suelo contaminado. Se observó una remoción de hidrocarburos rango diesel (HRD) del 3 al 31% para tratamientos bioaumentados con *Bacillus sp.*, y del 12 al 78% con *Meyerozima sp.* Asimismo del 11 al 93% con ambos microorganismos. Sin embargo, estos valores fueron similares, 31 al 81%, al tratamiento de bioestimulación. Por lo que para este suelo resultó que la bioestimulación es la alternativa más factible para la remoción de los contaminantes de este suelo agrícola, comparada con la bioaumentación.

Palabras clave: remoción, diesel, microcosmos.

Introducción

En los procesos de biorremediación existen dos opciones: la bioestimulación y la bioaumentación. La bioestimulación de un sistema contaminado es la introducción de nutrientes, en particular los fertilizantes orgánicos y inorgánicos, con el fin de promover el crecimiento y estimular a los microorganismos autóctonos con capacidad de degradar los contaminantes de interés (Juwarkar *et al.*, 2010; Pankrantz, 2004).

La bioaumentación es la adición de cepas o consorcios de microorganismos nativos y no-nativos para eliminar su contaminación (Fantroussi & Agathos, 2005). En el presente trabajo se determinó la remoción de Hidrocarburos Rango Diesel (HRD: C₁₀ a C₂₈) de un suelo agrícola, mediante bioestimulación y bioaumentación con dos cepas previamente aisladas del mismo suelo agrícola contaminado; una bacteria (*Bacillus sp.*) y una levadura (*Meyerozima sp.*) (Islas-García, 2014).

Metodología

La biorremediación del suelo se realizó a nivel microcosmos en frascos serológicos de vidrio de 125 mL, conteniendo 30 g de suelo. El diseño experimental consistió de 6 tratamientos y 2 controles, en todas las pruebas se aplicó la bioestimulación, excepto un control. La bioestimulación se efectuó a una proporción de nutrientes (C:N:P) de 100:10:1, con adición nitrógeno y fósforo ((NH₄)₂SO₄ y KH₂PO₄), micronutrientes hierro y magnesio (Fe SO₄ y MgSO₄), paja de trigo como material orgánico y con el ajuste de la humedad al 50% de la Capacidad de Campo y fueron aireados cada 2 días. La bioaumentación consistió en la inoculación de 4mL conteniendo 2.65x10⁸ UFC/ml de *Bacillus sp.* y/o 4.38 x10⁸ UFC/ml de *Meyerozima sp.* A los 20 días de tratamiento se efectuó nuevamente la bioestimulación para reacondicionar los microcosmos.

Los tratamientos T1 (no estéril) y T2 (estéril) se bioaumentaron con *Bacillus sp.*, T3 (no estéril) y T4 (estéril) se bioaumentaron con *Meyerozima sp.*; T5 (no estéril) y T6 (estéril) se bioaumentaron con ambas cepas. El control C (no estéril) no se bioestimuló ni bioaumentó, CB (no estéril) sólo se bioestimuló pero no se bioaumentó. Las variables respuesta fueron: Remoción de HRD a los 10, 20 y 30 días de tratamiento y la producción de CO₂ (cada 2 días), para determinar indirectamente la actividad microbiológica de cada microcosmos.

La determinación HRD se realizó mediante el método de extracción EPA3546 (2007) en un horno de microondas CEM MARS-Xpress y el análisis por cromatografía de gases con detector de ionización de flama con el método EPA8015C (2007). Se empleó un cromatógrafo Thermo Scientific modelo GC Focus Series, equipado con columna capilar GRACE de 30 m de longitud por 0.32 mm de diámetro interno y 0.25 µm de grosor de capa ATTM-5, como gas acarreador se utilizó nitrógeno y como gases auxiliares hidrógeno y aire. Condiciones del equipo: inyector 250 °C (split flow: 39ml/min), detector 250 °C y columna 50-270 °C (rampa en 17.67 min). Las muestras se concentraron a un volumen de reconstitución de 2 mL y se inyectó 1 µL en el cromatógrafo de gases.

La determinación de la producción de CO₂ en los microcosmos se realizó mediante un cromatógrafo de gases GOW-MAC Modelo SERIES 580, columna concéntrica empacada ALLTECH CTR 8700, el gas acarreador fue el helio. Condiciones del equipo: inyector 40 °C, detector a 100 °C, corriente 125mA, columna temperatura ambiente (25 °C) (corrida de 4.0 min). El volumen inyectado de muestra fue de 2 mL.

Resultados y discusión

La producción de CO₂ se reporta como el CO₂ total acumulado durante los 30 días (figura 1). De esta manera se observó que los tratamientos T3 y T5 presentaron la mayor cantidad de CO₂ durante el

proceso de remediación, seguidos T1 y T2. Por otro lado, los tratamientos con menor producción de CO₂ fueron los tratamientos T4 y T6. El control C no mostró producción de CO₂, mientras que el control CB sí presentó una alta producción.

La alta o baja producción de CO₂ indican la actividad metabólica en cada tratamiento, pero el CO₂ no necesariamente es proporcional con la remoción del contaminante, debido a que quizá existen otros factores abióticos (fotólisis e hidrólisis) y bióticos como descomposición de materiales orgánicos que también generan CO₂. Esto nos demuestra la complejidad de los procesos microbianos y fisicoquímicos que suceden en los sistemas de suelos.

Se observó que los tratamientos inoculados con *Bacillus sp.* presentaron valores de remoción de HRD de 3 a 18% en el tratamiento T1 (no estéril) y de 11 a 31% en el T2 (estéril), determinando que cuando sólo está presente *Bacillus sp.* en el suelo contaminado existe una mayor remoción, en comparación al suelo (no estéril) con microorganismos nativos (figura 2). De forma similar en los tratamientos con *Meyerozima sp.* se observó para T3 (no estéril) remociones del 12 al 28% y para el T4 (estéril) del 12 al 78% (figura 2).

En los tratamiento inoculados con *Bacillus sp.* y *Meyerozima sp.* se presentaron los mayores valores de remoción con el 11 al 86% en el tratamiento (T5) (no estéril) y del 14 al 93% en el (T6) (estéril), demostrando que en conjunto estos microorganismos presentan una mayor remoción del contaminante.

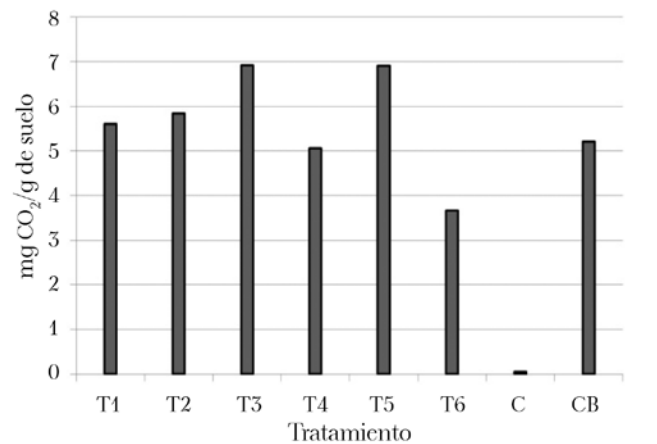


Figura 1. Producción total acumulada de CO₂ en los diferentes tratamientos.

Estos resultados nos indican que estas cepas, aisladas del mismo suelo contaminado tienen la capacidad de degradar este contaminante. Pero en presencia de los microorganismos nativos del suelo la remoción disminuye, tal vez debido a la competencia e inhibición entre las poblaciones inoculadas y las nativas. En general, se observó que remoción a los 10 y 20 días es baja en todos los microcosmos, mientras que la mayor remoción se presentó a los 30 días de tratamiento.

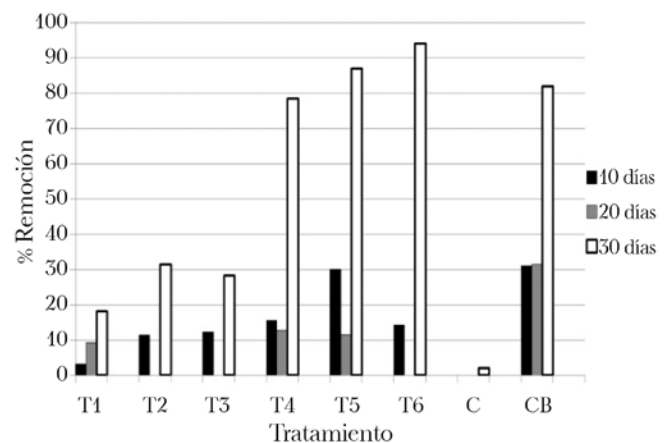


Figura 2. Remoción de HRD en diferentes tiempos y diferentes tratamientos.

El control C (no estéril) presentó una mínima remoción de 0 a 2%. Mientras que el control CB (no estéril estimulado) presentó valores de remoción de HRD del 31 al 81%, mostrando que la bioestimulación de los microorganismos nativos, sin inoculación de otros, puede degradar adecuadamente el contaminante.

Estos resultados denotan que no siempre la bioaumentación favorecerá la remoción del contaminante y que la bioestimulación puede ser suficiente para realizar la biorremediación del suelo impactado. Esto ha sido previamente reportado en otros trabajos, donde mencionan que la adición de microorganismos no aumentan las velocidades de degradación con respecto a lo que se consigue únicamente añadiendo nutrientes para estimular a la población microbiana nativa (Lee y Merlin, 1999; Van Hamme *et al.*, 2003).

Conclusiones

De acuerdo con los resultados se puede concluir que *Bacillus sp.* y *Meyerozima sp.* son microorganismos capaces de degradar los HRD; sin embargo, en presencia de las especies nativas del suelo contaminado, la degradación disminuye, probablemente por efecto de competencia.

Por otra parte se observó que los valores de remoción de los contaminantes en los microcosmos bioaumentados son similares al bioestimulado. De ahí que se demuestra que la bioestimulación es una alternativa más viable que la bioaumentación para la remediación de estos suelos agrícolas impactados.

Además es importante en la evaluación de las alternativas de biorremediación (bioestimulación o bioaumentación) de sistemas contaminados; realizar pruebas exploratorias previas a su aplicación a nivel de campo.

Referencias

- Environmental Protection Agency (EPA) (2000). *Method 8015C. Nonhalogenated organics by gas chromatography (FID)*. Recuperado de <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-07/documents/epa-8015c.pdf>
- Environmental Protection Agency (EPA) (2007). *Method 3546. Microwave extraction*. Recuperado de <https://www.epa.gov/hw-sw846/sw-846-test-method-3546-microwave-extraction>
- Fantroussi, S., E.I., Agathos, S. (2005). Is bioaugmentation a feasible strategy for pollutant removal and site remediation? *Current Opinion in Microbiology*, 8(3):268-275.
- Islas-García, A. (2014). *Biorremediación de suelos agrícolas contaminados con plaguicidas e hidrocarburos* (Tesis Doctoral). Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, México.
- Juwarkar, A., Singh, S., Mudhoo, A. (2010). A comprehensive overview of elements in bioremediation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 9(3):215-288.
- Lee, K., Merlin, F. (1999). Bioremediation of oil on shoreline environments: development of techniques and guidelines. *Pure and Applied Chemistry*, 71(4):461-471.
- Pankrantz, T. (2004). *Environmental Engineering Dictionary and Directory*. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Van Hamme, J., Singh, A., Ward, O. (2003). Recent Advances in Petroleum Microbiology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4):503-549.