

ESTUDIO DE MATERIA ORGÁNICA Y NUTRIENTES DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS A TRATAMIENTOS DIFERENTES

STUDY OF ORGANIC MATTER AND NUTRIENTS OF HYDROCARBONS CONTAMINATED SOIL TO DIFFERENT TREATMENTS

Jackeline Herrera Navarrete*, Alejandro Ruíz Marín, Yunuén Canedo López, José del Carmen Zavala Loría, Silvia Campos García, Mirna Yolanda Sabido Pérez, Naín Elvira Antonio, Luis Jorge Pérez Reda, Reyes García Zarracino¹

Fecha de recepción 14 de octubre del 2010

Fecha de aceptación 10 de diciembre del 2010

RESUMEN

El suelo es un componente esencial para los ecosistemas terrestres, en el se encuentran microorganismos que necesitan de ciertos nutrientes que les ayuden a la biodegradación de ciertos contaminantes. Sin embargo, los contenidos de materia orgánica y nutrientes tales como nitrógeno y fósforo varían en los diferentes tipos de suelo e incluso llegan a ser limitantes.

Análisis de materia orgánica (MO), nitrógeno total (NT) y fósforo fueron realizados en tres tipos diferentes de suelo: arena, sedimento y arena + L. activados después 60 días de tratamiento. Los tratamientos empleados en este estudio son: (a) atenuación natural (AT) y bioaugmentación (BA; con 250 ml de inóculo).

Los porcentajes de MO mostraron diferencia significativa entre los suelos, mientras que por cada suelo no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Se dio un incremento en los porcentajes de nitrógeno en las muestras de sedimento y arena + lodos activados después de 30 días de tra-

tamiento y después empezó a descender. Con respecto al P, hubo variaciones significativas entre los suelos de sedimento y arena con los mezclados de lodos activados.

PALABRAS CLAVE: Suelo, materia orgánica, lodos activados, atenuación natural, bioaugmentación.

ABSTRACT

The soil is an essential component of terrestrial ecosystems, contains microorganisms that need nutrients to enhance the biodegradation of pollutants. However, the content organic matter and nutrients such as nitrogen and phosphorus vary in the different types soils.

Analysis of organic matter (MO), Total nitrogen (NT) and phosphorus (P) were performed with three types different of soil: sand, sediment and sand + activated sludge after 60 days of treatment. The treatments, including are: (a) natural attenuation (AT) and bioaugmentation (BA; with 250 ml inoculum).

¹ Universidad Autónoma del Carmen, Campeche. DES-DACQYP. Facultad de Química. Calle 56 x Av. Concordia. Col. Benito Juárez. C.P. 24180. México.

*Autor para correspondencia: yaque_2002@hotmail.com

The percentages of organic matter show significant variation between the soils while for each soil did not show any significant variation between the treatments.

An increase in the percentages of nitrogen was observed in the samples of sediment and sand + activated sludge after 30 days of treatment and then started a decrease. With respect to the phosphorus, there are significant variations between the soils of sediment and sand with the mixing of activated sludge.

KEY WORDS: Soil, organic matter, activated sludges, natural attenuation, bioaugmentation.

INTRODUCCIÓN

El suelo es un ecosistema diverso que se encuentra involucrado íntimamente en el ciclo de materia orgánica, nutrientes y humedad. En comparación con el aire y el agua el suelo es más variable y complejo en composición y funciona como un degradador para los contaminantes, un filtro en la cual se retarda el paso de químicos al agua subterránea, y como un bioreactor en la cual algunos contaminantes pueden ser descompuestos o degradados (Alloway, 1995).

La biodisponibilidad de los contaminantes se relacionan con las fuertes interacciones que ocurren entre la matriz suelo y los contaminantes hidrofóbicos pudiendo evolucionar causando su retención o absorción irreversible. (Aichberger *et al.*, 2005). Este fenómeno se encuentra ligado a las caracte-

terísticas fisicoquímicas del contaminante y del suelo así como de un medio donde los microorganismos heterotróficos sean capaces de utilizar estos contaminantes como una fuente de carbono y energía para su crecimiento, produciendo sustancias no tóxicas como el CO₂, agua y biomasa.

Algunos suelos contienen microorganismos nativos que tienen la capacidad de degradar hidrocarburos siendo un proceso natural de degradación. Esta estrategia es ventajosa pues evita dañar los hábitats que son ecológicamente sensibles como el mangle. Sin embargo, su aplicación toma bastante tiempo para ser completada debido a que el tamaño de los microorganismos degradadores es baja.

Cuando la población de bacterias es nula en sitios contaminados, tales como los sitios contaminados por hidrocarburos poliaromáticos de alto peso molecular (Maila MP *et al.*, 2004) la inoculación (bioaugmentación) resulta una técnica apropiada y factible.

El presente trabajo tiene como objetivo desarrollar un análisis del comportamiento de la materia orgánica (MO) y los nutrientes en diferentes tipos de suelo contaminados con hidrocarburos bajo tratamientos diferentes. Las características de estos elementos son usadas como indicadores del nivel de contaminación, la salud del suelo y determina el éxito en los esfuerzos de restauración.

MATERIALES Y MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDIO

La Laguna de Términos se localiza al sur del Golfo de México, en el estado de Campeche entre los 18°24' y 19°00' N y los 91°15' y

92°00' O. Es de las más grandes del país con una longitud de 70 km y un ancho de 28 km, con un área de 1566.5 km² y una profundidad media de 3.5 m (De la Lanza et Lozano M., 1999).

La laguna recibe descargas de agua dulce principalmente de tres ríos (Palizada, Chumpan y Candelaria) y comunica al mar a través de dos entradas Puerto Real y Ciudad del Carmen. Los vientos prevalecientes del este fuerzan una circulación de este a oeste de las aguas costeras, causando un flujo neto de agua de mar dentro de la laguna por la parte noreste y afuera por la sureste. Esta circulación muestra una salinidad semipermanente en la Laguna, con acumulación de agua dulce y salobre principalmente en la parte sureste. La deposición de sedimentos finos (arcilla y limo) ocurre en esta área mientras que al noroeste predominan el carbonato de calcio rico en sales de origen marino (Yañez-Arancibia et Day. 1988).

Los márgenes de la laguna están cubiertas de manglar dominadas principalmente por tres tipos *Rhizophora mangle* L. (rojo), *Avicennia germinans* L. (negro), *Laguncularia racemosa* Gaertn f. (blanco) (Rivera-Monroy et al., 1998). Su clima es tropical, con una estación lluviosa de junio a octubre, una época de nortes de noviembre a marzo y una seca de abril a junio.

TOMA DE MUESTRAS

Las muestras de arena y sedimento que se emplearon para los experimentos de laboratorio fueron tomadas alrededor de la Laguna de Términos (Fig. 1) a principios del año en enero de 2010; la toma de muestras se realizaron con ayuda de una draga con una profundidad de 5 metros, colectándo-

las directamente en frascos de vidrio previamente tratados; las cuáles se conservaron a bajas temperaturas (4 °C) y se enviaron al laboratorio para sus posteriores análisis.

PREPARACIÓN DEL SUELO

Se usaron los dos tipos de suelo para la degradación de hidrocarburos (HC): arena, sedimento y arena + l. activados.

Una alícuota (1.025 kg) de suelo fue contaminado artificialmente con el 10% (w/w) de hidrocarburo maya, mezclándose a mano hasta distribuir homogéneamente el hidrocarburo a través de las partículas del suelo y se dejó adsorber durante 24 hrs. Por lo tanto, los tratamientos son los siguientes: (a) atenuación natural (AT) y bioaugmentación (BA; con 250 ml de inóculo). En el primer tratamiento las muestras fueron colocadas en reactores tal y como llegaron del sitio de muestreo; mientras que en BA las muestras fueron secadas a 60 °C pasándose posteriormente a través de un tamiz de 2 mm.

INÓCULO

Para la preparación del inóculo se tomaron muestras del Corcovado sitio cercano a pozos de perforación en el estado de Veracruz. El sobrenadante se empleó para la inoculación de placas de agar a las cuales se les agregaron 150 µl de HC (crudo maya) distribuido en la superficie del agar como única fuente de carbono. Las placas se incubaron a 25±1 °C por 48 horas; posteriormente, las bacterias que crecieron en presencia de HC fueron cultivadas por duplicado en un medio mineral líquido en matraces de 250 ml previamente esterilizado.

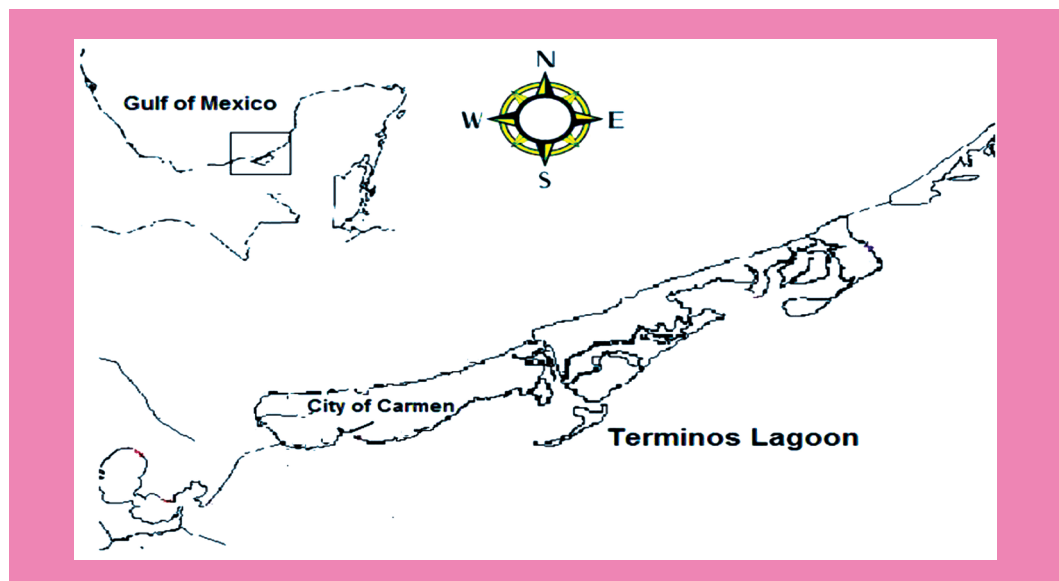


Figura 1. Localización de la Laguna de Términos donde se hicieron la recolección de las muestras

El medio mineral líquido en el cual las bacterias fueron aclimatadas se preparó de la siguiente manera (g l^{-1}): 1.71 de K_2HPO_4 ; 1.32 de KH_2PO_4 ; 1.26 de NH_4Cl ; 0.011 de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0.02 de CaCl_2 , 1 ml de solución con metales traza (Márquez-Rocha, 2001). Se determinó la tasa de crecimiento (μ , d^{-1}) y producción de biomasa (g l^{-1}). Las bacterias aisladas fueron usadas para los posteriores experimentos de bioaugmentación.

CONDICIONES DE BIODEGRADACIÓN

En atenuación natural cada tipo de suelo se colocó en frascos de polietileno a una temperatura de 26 ± 1 °C, manteniendo en todos los reactores el 30% de volumen de agua. Todos los experimentos fueron hechos por duplicado y las muestras fueron programadas cada 15 días durante dos meses.

En el segundo tratamiento se colocaron en reactores tubulares de pvc las muestras

contaminadas previamente preparadas, las cuales fueron inoculadas con las bacterias aisladas y seleccionadas anteriormente empleando 250 ml de inóculo. Todas las muestras de BA fueron aireadas para el abastecimiento de oxígeno a las bacterias presentes y bajo las mismas condiciones de humedad y temperatura que el primer tratamiento. También los muestreos fueron hechos cada 15 días durante dos meses.

ANÁLISIS QUÍMICO

En los análisis químicos se hicieron las siguientes determinaciones:

CONTENIDO DE MATERIA ORGÁNICA

Para la determinación de materia orgánica en de suelo en zona de playa y manglar se aplicó el método de ignición (basado en la pérdida de peso de la muestra calcinada respecto a la muestra original). Para esta determinación, se pesaron 5 gramos de

muestra en crisol previamente tarado P_1 y se calcinó en una mufla durante cuatro horas a 550 °C, transcurrido este tiempo se coloca el crisol en un desecador durante una hora y posteriormente se pesó el crisol en balanza analítica (tomándose el peso como P_2). Con la diferencia de P_2 menos P_1 se calcularon los respectivos porcentajes de materia orgánica, multiplicándose por 100 y dividiendo entre los gramos de la muestra seca utilizados.

CONTENIDO DE NITRÓGENO

Para la determinación de nitrógeno total se usa el método Kjeldhal, para ello se pesaron entre 0.25 a 1 gramo de muestra dependiendo del contenido de materia orgánica, se calentó con ácido sulfúrico hasta la descomposición de la muestra ajustando la unidad digestora a temperatura media alta hasta que el digestor se tornó claro; después de este tiempo se destiló la muestra con NaOH dejando a la salida del condensador un vaso de ácido bórico con indicadores y se procedió titular con H_2SO_4 0.01 N hasta que vire.

ANÁLISIS DE FÓSFORO

Para el análisis de fósforo, se pesaron 5 gramos de suelo y se colocaron en un matraz se añadieron 20 ml de solución extractora y se agitaron cinco minutos en un agitador mecánico; se filtraron para tomar alícuotas de 4ml del extracto al cual se le añadió 1 ml de agua destilada, un ml del reactivo molibdato -vanadato y se dejó reposar durante 20 minutos. Pasado este tiempo, se leyó el porcentaje de transmitancia usando una luz de 420 milimicras, se colocó el blanco en el espectrofotómetro, se ajustó el aparato a 100% y se procedió a realizar la curva de calibración.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 2 muestra que existen diferencias significativas de este elemento con respecto a los tres tipos de suelo bajo los tratamientos de AT y BA. Estas diferencias son causadas por las características particulares de cada suelo, cada uno de ellos presentan capacidades diferentes para retener agua, variaciones en su tamaño de poro y su permeabilidad; todas estas características son importantes para los procesos microbianos y de remediación biológica del suelo. Se puede observar que para cada suelo en particular no existen diferencias significativas con respecto a los dos tratamientos aplicados en cada caso.

Sin embargo, el suelo de arena + L. activados presenta una variación entre un tratamiento y otro. La adición de lodos activados a los suelos arenosos producen un incremento en el crecimiento de los microorganismos ayudando al proceso de mineralización de la MO al terminar este proceso la actividad y densidad de la microbiota declina a su estado original.

DISTRIBUCIÓN DE LOS NUTRIENTES

Los suelos arenosos son deficientes de nitrógeno como se observan en la Figura 3. A diferencia de los suelos de sedimento y arena + l. activados.

En el tratamiento AT para el sedimento y arenas + L. activados los porcentajes de NT empiezan a ser más altos a los 15 días de tratamiento posiblemente porque existen microorganismos que asimilaron parte del N para utilizarlo como nutriente para degradar los HC presentes en el suelo y después de los 30 días empiezan a decrecer con el

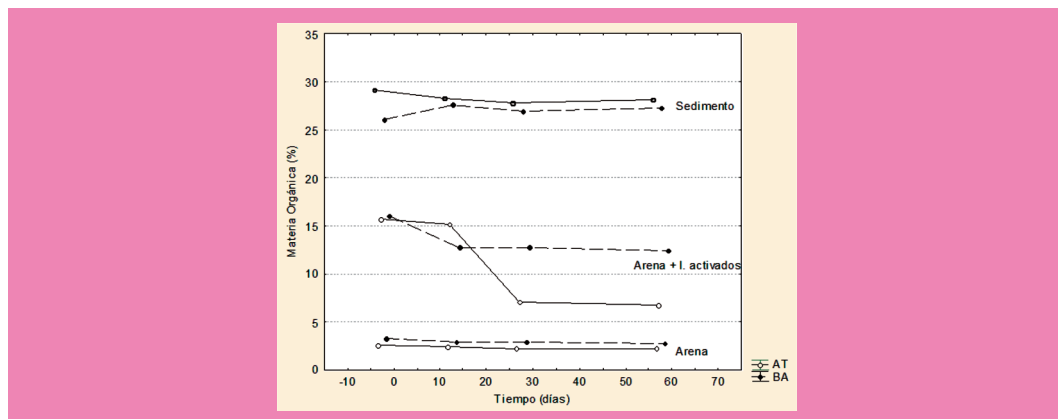


Figura 2. Contenido de MO en tres tipos de suelo bajo dos tratamientos diferentes: Atenuación natural (AT) y bioaugmentación (BA).

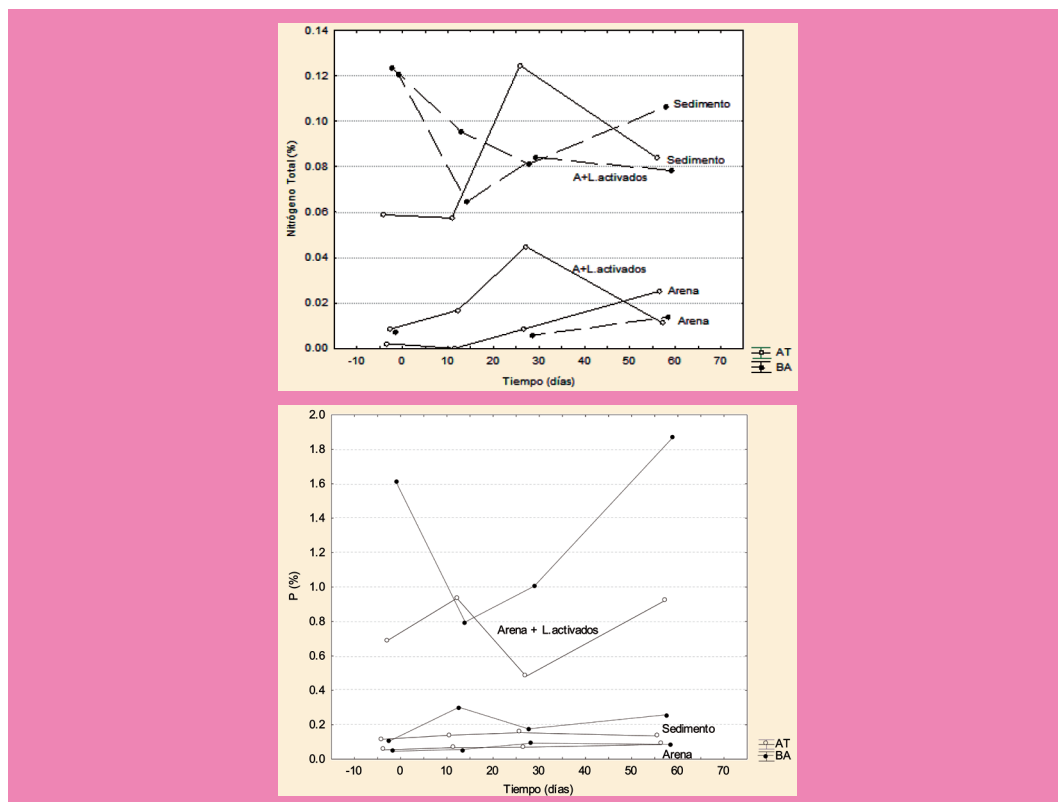


Figura 3-4. Contenido de NT y P bajo dos tratamientos diferentes: Atenuación natural (AT) y bioaugmentación (BA).

tiempo en ambos suelos. En la mayoría de los suelos el N está presente como material orgánico con una fracción menor de N inorgánico biodisponible (NO_3^- ó NH_4^+). Si la MO es suficientemente rica en N entonces se podrá dar la mineralización del N y otra parte es asimilado por los microorganismos y de nuevo pueden ser convertidos a través de la remineralización. (Walecka-Hutchison *et al.*, 2007). Caso contrario para el tratamiento de BA en los suelos de sedimento y arena + lodos activados donde debido a la posible deficiencia de N se introdujo inóculo para ayudar a la degradación del contaminante.

La falta de nutrientes en suelos arenosos podría limitar la degradación de hidrocarburos. Ciertos estudios han demostrado que las fuentes disponibles de nitrógeno y fósforo son necesarias para una efectiva degradación de hidrocarburos (Atlas, 1991).

Con respecto al fósforo, el contenido máximo fue obtenido en los suelos de arena + L. activados, atribuyéndose a las características del suelo para retener estos nutrientes. A diferencia del sedimento que presentó porcentajes similares de este nutriente con los suelos arenosos probablemente debido a las condiciones del experimento falta de humedad o aireación.

CONCLUSIÓN

Los resultados indican que los suelos de sedimento y arena+ L. activados presentan los porcentajes más altos de MO esto se atribuye a las características fisicoquímicas que presentan estos suelos con respecto a los suelos arenosos las cuales son limitantes

para el crecimiento de bacterias heterotróficas que faciliten la degradación de HC.

Los contenidos de N en sedimento y arena + L. activados variaron con respecto al tratamiento utilizado en AT empezaron a ser altos a los 15 días de tratamiento y después de 30 días empezaron a decrecer. Caso contrario, con los tratamientos de BA para ambos suelos.

Con respecto al P, si hubieron variaciones en los suelos de arena + L. activados crece y decrece para el tratamiento de AT mientras que en BA tiene el mismo comportamiento que el N. El sedimento presentó porcentajes similares que la arena posiblemente a variaciones presentes durante el experimento.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por CONACYT y Fondos Mixtos. Se agradece a los alumnos Obed Barrientos y Maricela Sayonara por su importante apoyo para el desarrollo de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Alloway, B.J. 2001. Soil pollution and land contamination: 352-376. In: Harrison R.M. (Eds.) Pollution: causes, effects and control, The Royal Society of Chemistry. 562 p.
- Aichberger H., Hasinger M., Braun R. and Loibner A. P. (2005). Potential of preliminary test methods to predict biodegradation performance of petroleum hydrocarbons in soil. 16:115-125.
- Atlas R.M. 1991. J. Chem. Tech. Biotechnology. 52,149.
- De la Lanza-Espino G. y Lozano Montes H., (1999). Comparación fisicoquímica de las lagunas de Alvarado y Términos. 9(1):15-30.
- Heiri O., Lotter A. F. and Lemcke G. 2001. Loss on ignition as a method for estimating organic and carbonate content in sediments: reproducibility and comparability of results. J. of Paleolimnology, 25:101-110.
- Maila M. P. and Cloete T. E., (2004). Bioremediation of petroleum hydrocarbons through landfarming: Are simplicity and cost-effectiveness the only advantages?. 3:349-360.
- Márquez-Rocha F. J., Hernández Rodríguez V., Lamela M.T. 2001. Biodegradation of diesel oil and soil by a microbial consortium. Water, Air and Soil Pollution. 128:313-320.
- Nelson *et al.* 1953. The development evaluation and use of soil test for phosphorus availability. Agron. 4:153-188.
- Rivera-Monroy V.H., Madden C. J., Day J.W., Twilley R.R., Vera-Herrera F. and Alvarez-Guillén H. 1988. Seasonal coupling of a tropical mangrove forest and an estuarine water column: enhancement of aquatic primary productivity. Hydrobiología 379:41-53.
- Yañez-Arancibia A. and Day J.W. 1988. Ecological characterization of the Terminos Lagoon. In: A. Yañez Arancibia and J.W. Day. (Eds). Ecología de los ecosistemas costeros en el sur del Golfo de México: La región de la Laguna de Términos. Pp.1-27. Universidad Nacional Autónoma de México. Organización de Estados Americanos. México
- Walecka C.M. and Walworth J.L., 2007. Evaluating the effects of gross nitrogen, mineralization, immobilization, and nitrification on nitrogen fertilizer availability in soil experimentally contaminated with diesel. 18:133-144.