



Biorecuperación y fitorremediación de suelo impactado por aceite residual automotriz

Biorestauration and phytoremediation of soil impacted by waste residual oil

Alonso-Bravo Jennifer Nayeli¹, Montaña-Arias Noé Manuel², Santoyo-Pizano Gustavo¹,
Márquez-Benavides Liliana³, Saucedo-Martinez Blanca Celeste¹, Sánchez-Yáñez Juan Manuel^{1*}

Datos del Artículo

¹Microbiología Ambiental Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, Medio Ambiente y Manejo de Residuos

²Departamento de Biología (Área de Botánica). División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Ixtapalapa. Ciudad de México.

³Instituto de Investigaciones Agrícolas Pecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich, México.

***Dirección de contacto:**

Microbiología Ambiental, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Ciudad Universitaria, Col FJ Mujica S/N, Felicitas del Río, 58000, Morelia,

Juan Manuel Sánchez-Yáñez.

E-mail address : syanez@umich.mx

Palabras clave:

Suelo,
ARA,
solución mineral,
Vicia sativa,
S. vulgare,
B. vietnamiensis,
P. chrysogenum,
NOM-138.

J. Selva Andina Res. Soc.
2018; 9(1):45-51.

Historial del artículo.

Recibido agosto, 2017.
Devuelto noviembre 2017
Aceptado diciembre, 2017.
Disponible en línea, febrero, 2018.

Editado por:
Selva Andina Re-
search Society

Key words:

Soil,
WMO,
mineral solution,
V. sativa,
S. vulgare,
B. vietnamiensis,
P. chrysogenum,
NOM-138.

Resumen

En suelo el derrame de 75000 ppm de aceite residual automotriz (ARA) una mezcla de hidrocarburos alifáticos, aromáticos y poli cíclicos, derivado de automóviles, es una concentración relativamente alta acorde con la regulación ambiental en México, relacionada con este tipo de contaminación, denominada NOM-138 SEMARNAT/SS-2003 (NOM-138), la que establece en suelo el límite máximo permitido de 4400 ppm, cualquier concentración superior, causa además pérdida de fertilidad. Los objetivos de esta investigación fueron: a) bioestimulación (BIS) de suelo impactado por 75000 ppm de ARA con solución mineral (SOMI) y *Vicia sativa* o abono verde (AVE) y b) Fitorremediación (FITO) mediante *Sorghum bicolor* potenciado con *Burkholderia vietnamiensis* y *Penicillium chrysogenum* para decrecer el ARA a valor inferior al máximo aceptado por la NOM-138.

Los resultados señalaron que la BIS con SOMI y *V. sativa* redujeron el ARA de 75000 a 36700 ppm, mientras que la FITO mediante *S. bicolor* con *B. vietnamiensis* y *P. chrysogenum* lo disminuyeron de 36700 a 790 ppm, valor inferior al máximo aceptado por la NOM-138. Lo anterior indica que en suelo la BIS con SOMI y *V. sativa* o AVE, lo enriquecieron con minerales N (nitrógeno) P (fosforo), principales limitantes nutricionales de la microbiota heterotrófica aerobia nativa, para mineralizar parcialmente el ARA, y concluir con la FITO mediante *S. bicolor* tratado con *B. vietnamiensis*/*P. chrysogenum* para su biorecuperación y decrecerlo a valor inferior al máximo aceptado por la NOM-138.

© 2018. Journal of the Selva Andina Research Society. Bolivia. Todos los derechos reservados.

Abstract

In soil spill by 75000 ppm of waste motor oil (WMO) a mix of hydrocarbons (HICO) aliphatic, aromatic is relatively high according to Mexican regulation NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 (NOM-138) which indicate that in soil the maximum limit accepted is 4400 ppm of HICO. WMO is an environmental problem because it's causes lost soil's fertility. The objectives of this research were a) biostimulation (BIS) of soil by 75000 ppm of WMO by mineral solution (MISO) and *Vicia sativa* as green manure (GEMA), b) phytoremediation (PHYTO) with *Sorghum bicolor* potencies by *B. cepacia* and *P. chrysogenum* for reducing WMO at concentration level value below the maximum accepted by the NOM-138. The results showed that BIS with MISO and *V. sativa* as GEMA reduced WMO from 75000 to 36700 ppm. Then PHYTO by *S. bicolor* potencies with *B. vietnamiensis* and *P. chrysogenum* decreased WMO from 36700 ppm to 790 ppm concentration value below to maximum accepted by NOM-138.

Those results indicated that enrichment by MISO and GEMA induced WHO partial mineralization by heterotrophic aerobic native microorganisms, then PHYTO by *S. bicolor* and *B. cepacia*/*P. chrysogenum* completed its biorestauration by decreasing WMO level at below the highest accepted the Mexican environmental regulation NOM-138.

© 2018. Journal of the Selva Andina Research Society. Bolivia. All rights reserved.

Introducción

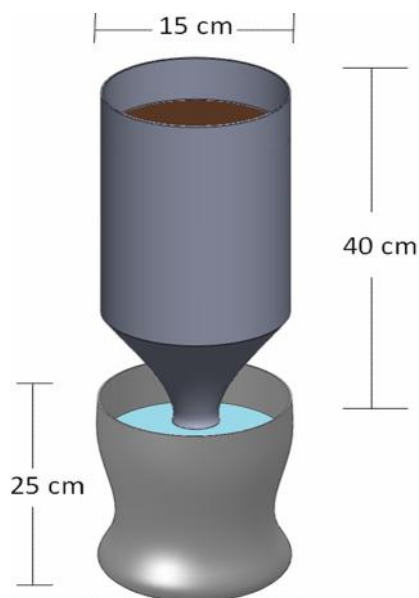
El suelo contaminado por productos derivados del petróleo, como el aceite residual automotriz (ARA) es un problema mundial al igual que en México. El ARA es una mezcla de moléculas insolubles de hidrocarburos (HICO) alifáticos, aromáticos y policíclicos generado por el ciclo de lubricación de automotores (Dua *et al.* 2002), el ARA según ley ambiental, conocida como Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección Ambiental (LGEEPA 2014), se clasifica como un residuo peligroso, mientras que la regulación mexicana denominada NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 (NOM-138), en suelo establece que la máxima concentración permitida es de 4400 ppm. En consecuencia 75000 ppm de ARA, es una relativamente alta, que normalmente se elimina por aplicación de métodos químicos con agentes oxidantes fuertes con la desventaja de que dejan residuos tóxicos. En el suelo, una alternativa de solución para este problema es la biorremediación por bioestimulación (BIS) secuencial, complementaria y acumulativa a base de compuestos inorgánicos de N (nitrógeno) y P (fósforo) limitantes nutricionales de la actividad de la microbiota heterotrófica aeróbica que permite la mineralización del ARA, en tanto que posteriormente la incorporación de *Vicia sativa* como abono verde con compuestos orgánicos de C (carbono) N y P de fácil degradación que restauran la relación C:N para equilibrar el exceso de ARA y el P aceleran la oxidación de esta mezcla de HICO (Domínguez-Rosado *et al.* 2004), se concluye con la fitorremediación (FITO) con *Sorghum vulgare* tolerante a este tipo de HICO (Smith *et al.* 1998, Graham *et al.* 1999) potenciado con *Burkholderia vietnamiensis* y *Penicillium chrysogenum*, microorganismos promotores de crecimiento vegetal (MIPROCEVE), que además tienen

capacidad de oxidar algunos de los HICO aromáticos del ARA, normalmente se aplica solo la BIS o la FITO, pero no necesariamente ambas, especial si los vegetales sembrados se inoculan con MIPROCEVE. Con la base en lo anterior los objetivos de esta investigación fueron: i) BIS de suelo impactado por 75000 ppm de ARA con solución mineral y *Vicia sativa* o abono verde, ii) FITO mediante *S. bicolor* potenciado con *B. vietnamiensis* y *P. chrysogenum* para decrecer el ARA a valor inferior al máximo aceptado por la NOM-138.

Materiales y métodos

Este experimento se realizó en un suelo franco-arenoso, pobre en materia orgánica, de tipo laterítico que se tamizó, solarizó (para reducir plagas y enfermedades vegetales) y contaminó con 75000 ppm de ARA, proveniente de un taller automotriz. El suelo se colocó en el sistema hidropónico de jarras de Leonard. El ensayo se estableció bajo un diseño experimental completamente al azar con 6 tratamientos y 6 repeticiones, que se dividió en dos fases, en la primera, el suelo impactado por 75000 ppm de ARA, se bioestimuló mediante SOMI: con la siguiente composición (g/L): 10 de NH_4NO_3 , 2.5 de K_2HPO_4 , 2.0 de KH_2PO_4 , 1.0 de MgSO_4 , 0.1 de NaCl , 0.1 de CaCl_2 , trazas de FeSO_4 , ajustado a pH de 6.5, además de 10.0 mL de solución de oligoelementos con la composición (g/L): 2.86 de H_3BO_3 , 0.22 de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.81 de $\text{MnCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.09 de K_2MnO_4 , el pH se ajustó a 6.8 (Sánchez-Yáñez, 2007) y que también se usó para alimentar al suelo sin contaminar o control relativo, en todos los casos la humedad del suelo se mantuvo al 80% de capacidad de campo por 14 semanas con agua potable.

Figura 1 Jarra de Leonard



Elaborado por: JYMR / JCRR

(García-Gonzalez *et al.* 2005)

En la segunda etapa de la BIS del suelo, se sembraron 10 semillas de *V. sativa* en 30 macetas con suelo sin ARA, cuando esta leguminosa llegó a plántula, se barbechó e incorporó en las jarras de Leonard por 30 días y se determinó la concentración de ARA por Soxhlet (NMX-F-089-S-1978). En la segunda fase se realizó la FITO para eliminar el ARA remanente de la BIS, en las jarras de Leonard (Figura 1), donde se sembraron semillas de *S. bicolor* inoculadas con 600×10^6 UFC de *B. vietnamiensis*/1.0 mL de NaCl 0.85%, (la cepa de *B. vietnamiensis* se aisló de *Zea mays var mexicana* ó teocintle), se utilizó detergente al 0.01% (La Corona^{MR}) por cada 20 semillas, luego cuando *S. bicolor* alcanzó el nivel de plántula se inoculó en la raíz con 3.0 mL de una suspensión de *P. chrysogenum* (hongo endófito aislado de *Z. mays var mexicana*) a una concentración de 1×10^6 UFC de propagulos/planta. El *S. bicolor* se alimentó con

la SOMI, que al llegar a etapa de floración se cuantificó la concentración del ARA por Soxhlet (Aurang *et al.* 1987, García-González *et al.* 2005).

Análisis estadístico de los resultados. Los datos experimentales fueron analizados por Tukey al 0.05% (Hernández-Valencia & Mager 2003, Ferrera-Cerrato *et al.* 2007).

Resultados

En la Tabla 1, se muestra en suelo la concentración de 75000 ppm de ARA, así como la concentración N total después de la BIS con la SOMI/14 semanas, posteriormente la siguiente BIS fue la incorporación de *V. sativa* como AVE/4 semanas, en consecuencia, el ARA se redujo de 75000 a 36700 ppm, mientras que se detectó una concentración de 0.74% de N total, valor numérico estadísticamente diferente al 0.62% en suelo usado como CR sin contaminar por ARA.

La Tabla 2, muestra la BIS secuencial, complementaria y acumulativa del suelo contaminado por 75000 ppm de ARA: primero con la SOMI, luego con *V. sativa* o AVE, para continuar con la FITO mediante *S. bicolor* potenciado con *B. vietnamiensis* y *P. chrysogenum* a nivel de floración, ahí el ARA decreció de 36700 ppm hasta 790 ppm, comparado con el suelo empleado como control negativo (CN), donde la atenuación natural no cambió la concentración del ARA durante las 32 semanas de duración del ensayo.

Tabla 1 En suelo concentración aceite residual automotriz por la bioestimulación con solución mineral, *Vicia sativa* o abono verde y el nivel del nitrógeno total⁺

Suelo	Concentración inicial de ARA (ppm)	Concentración de ARA después de la bioestimulación (ppm)	Concentración de nitrógeno total (%)
aceite residual automotriz + solución mineral + <i>Vicia sativa</i> o abono verde	75000	36700 ^a	0.74 ^a
Control negativo (C/N) con aceite residual automotriz no bioestimulado	75000	72000 ^b	0.62 ^b

*Tukey (0.05) = Letras distintas con diferencia estadística, += después de 18 semanas de la bioestimulación.

Tabla 2 En suelo concentración de aceite residual automotriz derivado de la bioestimulación secuencial, complementaria, acumulativa y la fitorremediación mediante *Sorghum bicolor* potenciado con *Burkholderia vietnamiensis* y *Penicillium chrysogenum*⁺

Suelo	Inicio Bioestimulación (ppm)	Final Bioestimulación (ppm)
Control absoluto sin contaminar por ARA + H ₂ O	0.0 ^{c*}	0.0 ^c
ARA + solución mineral + <i>Vicia sativa</i> (AVE)	75000 ^a	36700 ^a
Control negativo contaminado por ARA, no bioestimulado	75000 ^b	72000 ^b
Suelo	Final bioestimulación (ppm)	Final fitorremediación (floración) (ppm)
Control absoluto sin contaminar por ARA + H ₂ O	0.0	0.0 ^c
ARA + solución mineral + <i>V. sativa</i> (AVE) + <i>S. bicolor</i> con <i>B. vietnamiensis</i> y <i>P. chrysogenum</i>	36700 ^a	790 ^{a**}
Control negativo contaminado por ARA, no bioestimulado ni fitorremediado	72000 ^b	70000 ^b

*Tukey (0.05) = letras distintas = indican diferencia estadística.

**valor inferior al límite máximo permisible de la NOM-138 SEMARNAT/SS-2003 de 4400 ppm, ⁺luego de 32 semanas.

Discusión

En la Tabla 1, se muestra la BIS secuencial, complementaria y acumulativa del suelo contaminado por 75000 ppm de ARA, se sugiere que la SOMI lo enriqueció con sales de N para reequilibrar la relación de C:N, drásticamente modificada por el exceso de HICO del ARA, mientras que con el P, se complementó el suficiente para inducir a la microbiota nativa heterotrófica aerobia a oxidar parte la fracción alifática y la aromática del ARA, dado que la disminución del ARA es limitada por ausencia y disponibilidad de estos macroelementos, así como de los principales microelementos que son parte de la composición química de la SOMI (Graham *et al.* 1999, Gómez *et al.* 2009). La BIS del suelo mediante *V. sativa* incorporada como AVE, lo enriqueció indica que los compuestos orgánicos de C como glucosa y de N como proteínas de fácil degradación

favorecieron a la microbiota heterotrófica aerobia nativa a coometabolizar algunos de los HICO aromáticos del ARA, lo que redujo la concentración total hasta 37700 ppm, a un valor numérico estadísticamente distinto al del suelo usado como CN impactado por 75000 ppm de ARA con apenas a 72000 ppm, estos valores numéricos sin diferencia estadística, lo que indica que por el exceso de HICO, la atenuación natural no tuvo ningún efecto (Vallejo *et al.* 2005). Además de que en la Tabla 1 se registró que en el suelo bioestimulado impactado por las 75000 ppm de ARA, la concentración del N total disponible fue 0.74%, nivel que hizo posible la relativa reducción del ARA a 36700 ppm. El valor numérico del N total de 0.74% tuvo diferencia estadística comparado con los 0.62% en el suelo contaminado por el ARA, usado como CN, pero sin BIS, lo que explica porque, por un lado el exceso de C derivado del elevado nivel del ARA provocó un

drástico desequilibrio en la relación C:N, en tanto que los 0.62% del N total disponible, fue evidentemente insuficiente para que la atenuación natural pudiese disminuir esa alta cantidad de ARA (Gómez *et al.* 2009, Pérez-Armendáriz *et al.* 2011).

En la Tabla 2, fue evidente que en el suelo bioestimulado mediante la SOMI y el *V. sativa* o AVE, lo enriquecieron con los compuestos de N, para reestablecer el balance de la relación C/N, con lo que se favoreció la fitodegradación del ARA mediante *S. bicolor* a través del sistema radical (Asquith *et al.* 2012, Bahadure *et al.* 2013), mientras que su capacidad genética, se potenció con la inoculación con *B. vietnamiensis* y *P. chrysogenum*, para acelerar y mejorar la mineralización del ARA (Cunningham *et al.* 1996). En tanto que se sugiere que las raíces de *S. bicolor* aumentaron su resistencia natural a la fitotoxicidad del ARA, en parte porque *B. vietnamiensis* como *P. chrysogenum* son MIPROCEVE, reportados en la literatura con capacidad de convertir los exudados radicales de *S. bicolor*, en sustancias promotoras de crecimiento vegetal que facilitan la absorción de minerales de N y P en condición de stress como la provocada por la contaminación por el ARA (Cunningham *et al.* 1996, Ferrera-Cerrato *et al.* 2007, Asiabadi *et al.* 2014) y responder positivamente al estrés a ciertos aromáticos fitotóxicos del ARA (Vallejo *et al.* 2005), puesto que ambos géneros están reportados como degradadores HICO aromáticos similares a los existentes en el ARA (Smith *et al.* 1998). Lo anterior sugiere que el suelo impactado por el ARA remanente derivado de la BIS secuencial, complementaria y acumulativa, que hizo posible la FITO mediante *S. bicolor* que posee un sistema radical con penetración suficiente para mejorar eliminación de HICO (Ogedegbe *et al.* 2013, Osaigbovo *et al.* 2014), al facilitar la aireación, y la actividad oxidante de *B. vietnamiensis* y

P. chrysogenum de la mezcla de HICO (Hernández-Valencia & Mager 2003, Pérez-Armendáriz *et al.* 2011, Efe & Okpali 2012), lo anterior en el suelo hizo posible decrecer el ARA a un valor inferior al máximo aceptado por la NOM-138 de 790 ppm, para su reutilización con fines agrícolas, ya que este nivel de concentración es equivalente a lo detectado naturalmente en el suelo, con base en lo cual se biorestauro (Pérez-Armendáriz *et al.* 2011), sin riesgo de causar un daño ambiental secundario en comparación con los métodos físico-químicos que dejan residuos tóxicos y tienen un costo económico relativamente elevado.

Conflictos de intereses

Los participantes de esta investigación declaran que no existe conflicto de intereses relacionados con la planeación, ejecución, interpretación, así como aquellos que apoyaron y/o lo financiaron.

Agradecimientos

Por el apoyo a proyecto 2.7 (2018), Coordinación de la Investigación Científica-UMSNH, Morelia, Mich, México y BIONUTRA, CV de SA, Maravatío, Mich, México.

Literatura citada

- Asiabadi FI, Mirbagheri SA, Najafi P, Moatar F. Phytoremediation of petroleum-contaminated soils around Isahan oil refinery (Iran) by sorghum and barley. *Curr World Environ* 2014; 9(1):65-72.
- Asquith EA, Geary PM, Nolan AL, Evans CA. Comparative bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil by biostimula-

- tion, bioaugmentation and surfactant addition. *J Environ Sci Eng* 2012;1(5):637-50.
- Aurand LW, Woods AE, Wells MR. Food Composition and Analysis. Test of food, USA; 1987. p. 57-84. [Consultado 12 feb. 2017]. Disponible en <http://depa.fquim.unam.mx/amyd/biblio.php?curso=236>.
- Bahadure S, Kalia R, Chavan R. Comparative study of bioremediation of hydrocarbon fuels. *Int J Biotechnol Bioengine Res* 2013;4(7):677-86.
- Cunningham SD, Anderson TA, Schwab AP, Hsu FC. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Adv Agron* 1996;56:55-114.
- Domínguez-Rosado E, Pichtel J, Coughlin M. Phytoremediation of soil contaminated with used motor oil: II. Enhanced microbial activities from laboratory and growth chamber studies. *Environ Eng Sci* 2004;21(2):157-68.
- Dua M, Sing A, Sethunathan R, Johri AK. Biotechnology and bioremediation: successes and limitations. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2002; 59:143-52.
- Efe SI, Okpali AE. Management of petroleum impacted soil with phytoremediation and soil amendments in Ekpan Delta State, Nigeria. *J Environ Prot* 2012;3(5):386-93.
- Ferrera-Cerrato R, Alarcón A, Trejo-Aguilar D, Sangabriel W, Mendoza-López M, Cruz-Sánchez J, et al. Fitorremediación de un suelo contaminado con combustóleo utilizando *Phaseolus coccineus* y fertilización orgánica e inorgánica. *Agrociencia* 2007;41:817-26.
- García-González MM, Farías-Rodríguez R, Peña-Cabriales JJ, Sánchez-Yáñez JM. Inoculación del trigo var. Pavón con *Azospirillum* spp. y *Azotobacter beijerinckii*. *Terra Latinoam* 2005; 23(1):65-72.
- Gómez G, Meneses M, Ballinas L, Castells F. Seasonal characterization of municipal solid waste (MSW) in the city of Chihuahua, Mexico. *Waste Manag* 2009;29(7):2018-24.
- Graham DW, Smith VH, Cleland DL, Law KP. Effects of nitrogen and phosphorus supply on hexadecane biodegradation in soil systems. *Water Air Soil Pollution* 1999;111:1-18.
- Hernández-Valencia I, Mager D. Uso de *Panicum maximum* y *Brachiaria brizantha* para fitorremediar suelos contaminados con un crudo de petróleo liviano. *Bioagro* 2003;15(3):149-55.
- LGEEPA. Ley general del equilibrio ecológico y la protección al ambiente. Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión, Última reforma DOF 15/05/2008, México, D. F., Disponible en: <http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/ref/lgeepa.htm>.
- Norma mexicana NMX-F-089-S-1978. Determinación de extracto etéreo (método soxhlet). Gobierno de México. Disponible en línea: <http://www.laselva.edu.mx/rcalderon/wpcontent/uploads/2012/11/Pr%C3%A1ctica-6-1PAL-An%C3%A1lisis.pdf>.
- Norma oficial mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2012, límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación. Gobierno de México; 2012.
- Ogedegbe AU, Ikhajiagbe B, Anoliefo GO. Growth response of *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze in a waste engine oil-polluted soil. *J Emerg Trends Eng Appl Sci* 2013;4(2):322-7.
- Osaigbovo AU, Law-Ogbomo KE, Agele SO. Effects of spent engine oil polluted soil and organic amendment on soil chemical properties, micro-flora on growth and Herbage of *Telfairia Occidentalis* (hook f). *BAJOPAS* 2014; 6(1):72-8.

Pérez-Armendáriz B, Castañeda-Antonio D, Castellanos G, Jiménez-Salgado T, Tapia-Hernández A, Martínez-Carrera D. Efecto del antraceno en la estimulación del crecimiento en maíz y frijol. *Terra Latinoam* 2011;29(1):95-102.

Sánchez-Yáñez J. Breve Tratado de Microbiología Agrícola, teoría y práctica, Ed. Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo, Centro de Investigaciones y Desarrollo del Estado de Michoacan. Sedagro Consustenta SA de CV, Morelia, Mich: México; 2007: p. 130-133, 136-138.

Smith VH, Graham DW, Cleland DD. Application of resource-ratio theory to hydrocarbon biodegradation. *Environ Sci Technol* 1998; 32(21):3386-95.

Vallejo V, Salgado L, Roldan F. Evaluación de la bioestimulación en la biodegradación de TPHs en suelos contaminados con petróleo. *Rev Colomb Biotecnol* 2005;7(2):67-78.
