

VARIACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LA BIORRESTAURACIÓN CON PASTOS, A DIFERENTES PROFUNDIDADES DE LA RIZÓSFERA, PARA SUELOS CONTAMINADOS CON DIESEL

Margarita Beltrán Villavicencio, Mabel Vaca Mier, Alicia Chacalo Hilu, Juan Martín Alcalá Hernández.

Universidad Autónoma Metropolitana – Azcapotzalco
Av. San Pablo No. 180, Col. Reynosa Tamaulipas, Azcapotzalco, 02200, México, D.F.
Teléfonos: 53 18 90 75/53 18 9579/Fax: 53 18 90 80
mbv@correo.azc.uam.mx, mvm@correo.azc.uam.mx

RESUMEN

En este trabajo se presenta un estudio de degradación de diesel a diferentes profundidades en presencia de las raíces de pasto y se compara con el proceso de atenuación natural. Se estudió la capacidad de la especie vegetal para tolerar al contaminante y la factibilidad de aplicarla en un proceso de fitorrestauración.

Se sembraron semillas de pasto en suelo contaminado con aproximadamente 10,000 y 20,000 ppm (base seca) de diesel. Se analizaron muestras de suelo (por triplicado) a tres profundidades (10-15 cm, 20-25 cm y 30-35 cm) durante cuatro meses.

Se observó que la degradación del diesel disminuye conforme aumenta la profundidad en el suelo, debido a que está condicionada por la generación y profundidad de raíces, las cuales presentan menor biomasa a mayor profundidad en los tiempos de experimentación. Las eficiencias en el suelo contaminado con 10,000 ppm de diesel, a las diferentes profundidades fueron 79.4%, 77% y 67.3% respectivamente y en el suelo con 20,000 ppm fueron de 77.4%, 66.2% y 36.6% respectivamente; en atenuación natural existió un 30% de degradación con porcentajes de volatilización entre 37 y 39%.

ABSTRACT

In this work we studied the degradation of diesel at different depths, in the presence of grass roots. The process is compared to natural attenuation. The capacity of the vegetal species to tolerate the pollutant and the factibility of its application in a process of phytoremediation, were studied.

Grass seeds were grown in soil polluted with approximately 10,000 and 20,000 ppm diesel (dry basis). Samples of soil were analyzed in triplicates, at three depths (10-15 cm, 20-25 cm and 30-35 cm) during four months.

It was observed that the degradation of diesel diminished as the depth of soil increased, because it is conditioned by the generation and depth of the roots. These roots showed less biomass in function of depth, within the experimental times. The efficiencies in the soil contaminated with 10,000 ppm diesel, at different depths, were 79.4%, 77% and 67.3%, respectively. For the soil contaminated with 20,000 ppm diesel, were 77.4%, 66.2% and

36.6%, correspondingly. In natural attenuation a degradation of 30% and a volatilization within 37 and 39%, were observed.

PALABRAS CLAVE: biorrestauración, rizósfera, suelos, pastos, diesel.

INTRODUCCIÓN

La biodegradación en la rizósfera, conocida también como fitoestimulación o biorrestauración asistida por plantas, se refiere a la degradación de contaminantes en el suelo a través de la actividad microbial aumentada por la presencia de la rizósfera de algunas plantas.

Las plantas pueden producir exudados que se liberan al ambiente del suelo a través de sus raíces, por otro lado ciertos microorganismos pueden degradar compuestos orgánicos presentes en el combustible o solventes que son peligrosos para los humanos y otros ecorreceptores, convirtiéndolos a productos inofensivos a través de la biodegradación (Sutherland, 2002).

Las sustancias naturales liberadas por las raíces de las plantas (azúcares, alcoholes, ácidos) contienen carbón orgánico que actúa como recurso de nutrientes para los microorganismos del suelo, esta adición de nutrientes estimula la actividad microbiana hasta 20 veces más que la normalmente presentada en la parte del suelo sin raíces, por otra parte, otros estudios demuestran que la rizósfera puede tener de 10 a 100 veces más microorganismos que el resto del suelo (Sutherland, 2002; Pierzynski *et al.*, 2000).

Los pastos de pradera se han aplicado para la restauración de suelos contaminados con PAH (hidrocarburos poliaromáticos, por sus siglas en inglés) y se sugiere que las raíces de estos pastos pueden ser muy efectivas para la estimulación de la microflora en la rizósfera debido a sus fibras naturales. Estas fibras proveen de más área superficial a la raíz para la colonización microbiana que otras raíces y esto resulta en un incremento en la población microbiana del suelo contaminado (Alexander, 1999; Fiorenza *et al.*, 2000).

En México una de las principales industrias, es la petrolera, tanto en el aspecto económico como en el ambiental. Económicamente es importante por el volumen de producción, generación de empleos y demanda que satisface, entre ellas la elaboración de combustible y lubricantes para la industria y el transporte.

En los países petroleros, es común que la problemática ambiental más importante esté asociada tanto a la generación de residuos durante la extracción y refinación, como a las fugas, derrames y accidentes que son responsables de muchas emergencias ambientales.

En el informe anual de PEMEX, se establece que el derrame de hidrocarburos representó el 0.3 % de las emisiones y descargas totales. El 56 % de este volumen fue consecuencia de los 93 derrames ocurridos en instalaciones de PEMEX Refinación (PR). El volumen restante se debió a los 763 derrames en instalaciones de PEMEX Exploración y Producción (PEP). En términos de hidrocarburos líquidos transportados por ductos en tierra, PEP derramó 14.3 barriles por cada millón de barriles transportados mientras que PR derramó 17.1 barriles. En las instalaciones de PEMEX ocurre el 57% de las emergencias ambientales que se presentan a nivel nacional con materiales peligrosos. En promedio en el 70% de los accidentes en PEMEX existe afectación en el suelo, en el 72% de los eventos ocurridos en el 2002 se

encuentran involucradas cuatro sustancias: petróleo crudo, gasolina, diesel y combustóleo (PROFEPA, 2002).

De esta manera es muy importante el tratamiento de suelos contaminados, ya sea por metales, hidrocarburos o cualquier otro contaminante que pueda afectar la salud humana o la del mismo ambiente. Existen muchas tecnologías para la restauración de suelos sin embargo éstas no son tan rentables en comparación con la fitorrestauración (Schnoor, 1997).

Otras ventajas que presenta la fitorrestauración son que la perturbación al ambiente es prácticamente nula ya que la energía que requiere la obtiene del sol y de los procesos biológicos, químicos y físicos emanados de las plantas, la generación de residuos secundarios es muy pequeña, en términos estéticos es muy aceptable, además de su capacidad para asimilar una importante gama de contaminantes tanto orgánicos como inorgánicos.

En este trabajo se presenta un estudio de degradación de diesel a diferentes profundidades en presencia de las raíces de pasto *Lolium perenne* y se compara con el proceso de atenuación natural. Se estudió la capacidad de la especie vegetal para tolerar al contaminante y la factibilidad de aplicarla en un proceso de fitorrestauración.

METODOLOGÍA

En el presente trabajo se optó por utilizar el pasto de la especie *Lolium perenne* ya que es una especie resistente y de alta generación de biomasa, es factible y de bajo costo siendo estas cualidades factores muy importante al decidir por un proceso de fitorrestauración.

El crecimiento del pasto se llevó a cabo en el invernadero del departamento de Energía de la UAM-A, el cual se caracterizó con respecto a la temperatura y la humedad relativa.

Preparación y caracterización del suelo. Se caracterizó el suelo sin contaminar (testigo) obtenido de la UAM-A. Posteriormente este suelo se contaminó con diesel para obtener concentraciones aproximadas de 10,000 ppm y 20,000 ppm del combustible en base seca. El suelo ya contaminado se estableció en rizotrones. Los rizotrones (consistentes en caja de madera con dimensiones internas de 70 cm x 40 cm x 10 cm con una cubierta reticulada de vidrio), tuvieron como objetivo analizar el crecimiento del pasto (tanto raíces como parte aérea) y la degradación de diesel. Eran desmontados en cada muestreo para no alterar el experimento, así cada vez se disponían de rizotrones sin alterar para los análisis correspondientes. Para proteger las raíces de la luz del sol se colocó papel aluminio en el lado de cristal. Se colocaron con un ángulo de inclinación de 75° para forzar el crecimiento de las raíces sobre la superficie de vidrio y facilitar de esta manera el estudio de éstas (Chacalo, 2000).

Los análisis de la degradación del diesel se efectuaron por medio de determinaciones de TPH's, en un cromatógrafo de gases marca Varian Mod. CP 3380, basándose en el método EPA 8015A para compuestos orgánicos no halogenados (EPA-B, 1992) previa digestión en microondas según el método EPA 3015 (EPA, 1994).

El suelo se caracterizó también después de contaminar para determinar posibles alteraciones, se analizaron por triplicado:

- clase textural (Siebe *et al.*, 1996)
- pH, método EPA 9045C (EPA, 1995)
- materia orgánica, método de Walkley-Black (Reyes, 1996)
- capacidad de intercambio catiónico, CIC, método Jackson (1976), con absorción atómica en un equipo Varian Spectra AA-200
- nitrógeno total, método Kjeldahl modificado para incluir nitratos (Reyes, 1996)
- fósforo total, método de Bray-I, la concentración de fósforo se midió por espectrofotometría, comparando contra una concentración conocida de fósforo (Reyes, 1996)
- espacio poroso, determinando densidad real y aparente (Reyes, 1996)
- metales pesados, primero se realizó la digestión ácida, de acuerdo al método EPA 3050A (EPA-A, 1992), después las muestras fueron analizadas por espectrofotometría de absorción atómica en un equipo Varian Spectra AA-200, los métodos EPA empleados para cada metal fueron: el 7420 para el Pb, el 7190 para el Cr, el 7471 para el Hg, el 7520 para el Ni, el 7061 para el As, el 7450 para el Mg, 7950 para el Zn, el 7080 para el Ba, el 7210 para el Cu, el 7460 para el Mn y el 7741 para el Se (EPA, 1986)
- potasio, se utilizaron las mismas muestras digeridas utilizadas en la determinación de metales pesados y fue determinado en el equipo de espectrofotometría de absorción atómica basándose en el método EPA 7610 (EPA, 1986).

Determinación del porcentaje de volatilización. Se contaminó suelo para obtener una concentración aproximada de 10,000 ppm y 20,000 ppm de diesel y se determinó la volatilización de éste basándose en la cantidad de diesel remanente en el suelo a través de mediciones de TPH's, analizando diariamente durante quince días y posteriormente cada mes (suelo previamente esterilizado).

Determinación de biomasa vegetal. El desarrollo del pasto se analizó por medio de la generación de biomasa y del crecimiento tanto aéreo como radicular en base seca.

Todas las condiciones experimentales se llevaron a cabo por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se presentan los resultados de la caracterización del suelo antes y después de contaminarse a las dos concentraciones de trabajo.

Tabla 1. Resultados de la caracterización del suelo.

Parámetro	Suelo antes de contaminar	Suelo después de contaminar	
		10,000 ppm	20,000 ppm
Nitrógeno total (%)	0.23 ± 0.02	0.21 ± 0.18	0.235 ± 0.020
Fósforo total (ppm)	89.5 ± 2.9	87.2 ± 3.8	88.0 ± 3.0
Potasio (ppm)	19.01 ± 0.24	16.4 ± 0.35	21.04 ± 0.20
Materia orgánica (%)	3.63 ± 0.43	2.295 ± 0.985	5.850 ± 0.055
pH	8.05 ± 0.15	8.76 ± 0.04	8.75 ± 0.02
Capacidad de intercambio catiónico (meq/100 g)	4.82 ± 0.84	77.2 ± 5.2	108.6 ± 6.3
Clase textural	Franco-limoso (87.5% limo, 12.5% arcilla)	Franco-limoso	Franco-limoso
Espacio poroso (%)	60.78 ± 0.52	42.3 ± 0.65	40.7 ± 0.42
Metales pesados			
Plomo (ppm)	25.85 ± 5.75	28.4 ± 5.8	16.8 ± 8.8
Cromo (ppm)	26 ± 1.6	13.5 ± 4.1	21.3 ± 9.6
Mercurio (ppm)	No detectable	No detectable	No detectable
Níquel (ppm)	4.35 ± 0.05	12.48 ± 0.05	11.72 ± 0.09
As (ppm)	0.3185 ± 0.0155	0.4215 ± 0.0254	0.2265 ± 0.0654
Magnesio (ppm)	399.5 ± 21.5	424.5 ± 59.9	452.3 ± 67
Zinc (ppm)	92.9 ± 11	48.7 ± 10.5	62.4 ± 8.6
Bario (ppm)	224 ± 21	225 ± 19	227 ± 21
Cobre (ppm)	24 ± 2.8	28.4 ± 5.8	21.0 ± 2.7
Manganeso (ppm)	299 ± 245	307.3 ± 27.4	249.7 ± 5.7
Selenio (ppm)	0.9 ± 0.2	1.2 ± 0.3	1.4 ± 0.24

Se observa que los nutrientes del suelo no fueron afectados por la adición del diesel, el pH se vio incrementado ligeramente en aproximadamente 0.7 unidades, la materia orgánica en el caso de suelo con 20,000 ppm se incrementó debido a la incorporación de compuestos orgánicos a éste, la capacidad de intercambio catiónico también aumentó en relación con la concentración de diesel en el suelo, ya que el combustible es una mezcla de cientos de compuestos orgánicos, muchos de ellos polares. La textura no se ve afectada durante el proceso. El espacio poroso disminuyó respecto al registrado inicialmente, debido principalmente a la formación de agregados como consecuencia de las características aglutinantes del contaminante agregado. Con respecto a los metales, los valores finales para

ambas concentraciones son muy parecidos a los iniciales, por otra parte estos valores están dentro de los valores normales según Kabata-Pendias y Pendias (1992) para un suelo con las características del utilizado en la experimentación; por último la humedad en el suelo se mantuvo a capacidad de campo (30 y 35 %) para evitar la posible lixiviación del contaminante.

Volatilización

En la figura 1 se muestra la gráfica los datos obtenidos de volatilización.

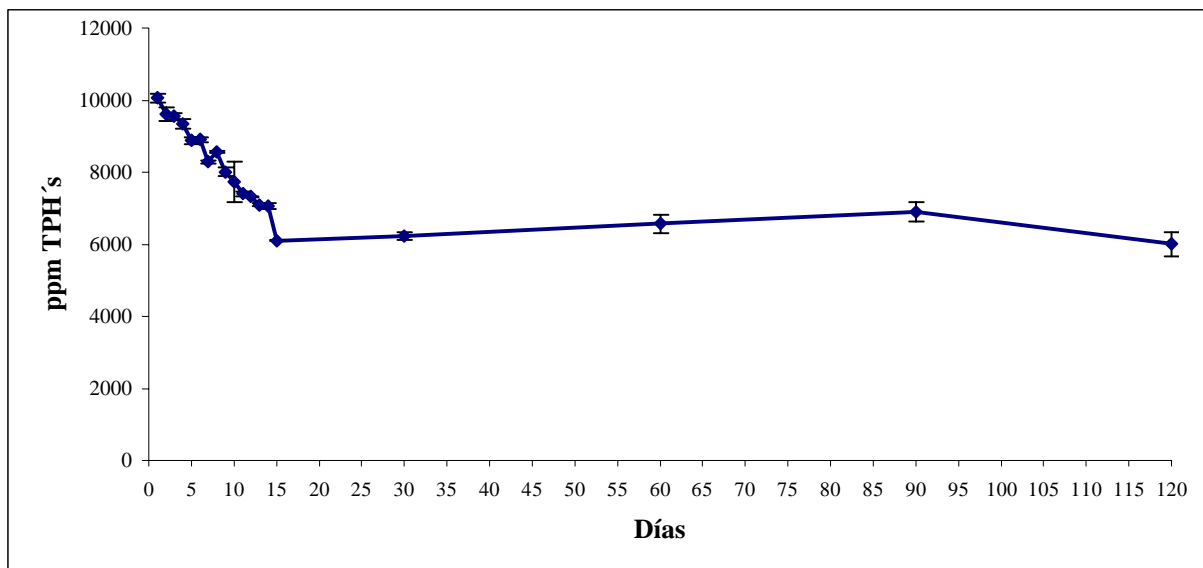


Figura 1. Volatilización de diesel

Se puede observar que la disminución de la concentración de diesel se presenta en mayor proporción en los primeros 15 días, la cantidad de diesel volatilizado fue de aproximadamente 4000 ppm de TPH's, correspondiendo a un porcentaje de 39.3 %, en el caso de 20,000 ppm se presentó la misma tendencia con un porcentaje de volatilización del 36.9%.

Biomasa vegetal

El pasto se desarrolló en cada uno de los sustratos contaminados, aunque al comparar la biomasa y estructura se apreciaron cambios importantes respecto a los pastos testigo crecidos en suelo sin contaminar. En las figuras 2 se aprecia su desarrollo y en la figura 3 se muestran la biomasa generada en base seca y en cada condición experimental, para las diferentes partes de la planta.



Figura 2. Pasto en rizotrón a los 4 meses y con 20,000 ppm de diesel (base seca).

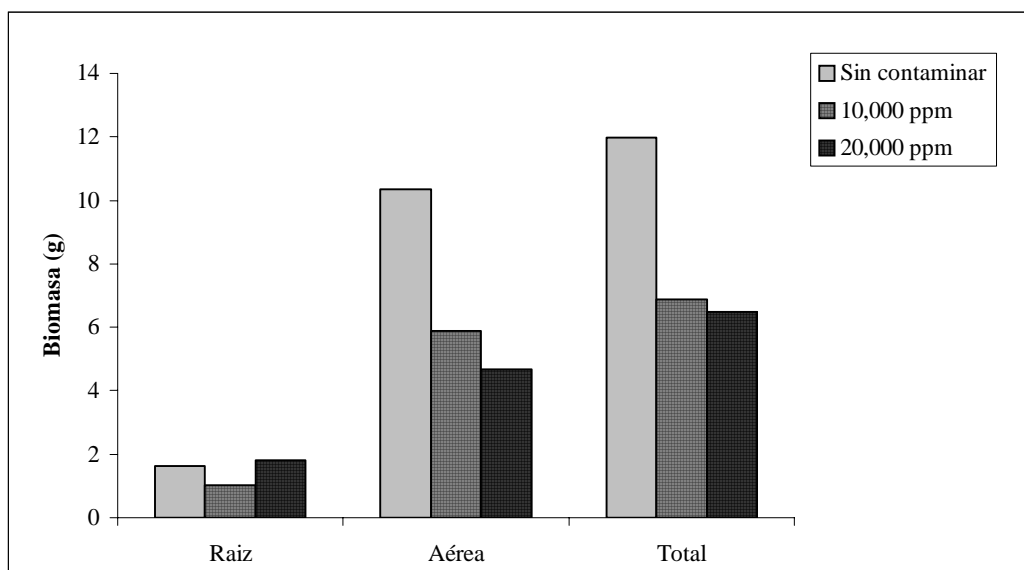


Figura 3. Generación de biomasa en rizotrones.

En la figura 3 se puede apreciar que hubo una inhibición en el crecimiento del pasto a mayor concentración de diesel, ya que se generó menor cantidad en los rizotrones con 20,000 ppm de diesel comparativamente con el de 10,000 ppm de diesel y el control (donde se generó la mayor cantidad de biomasa).

En la figura 4 y 5 se presentan los porcentajes de degradación de diesel en el suelo con pasto y sin pasto a las diferentes profundidades y a las dos concentraciones de trabajo.

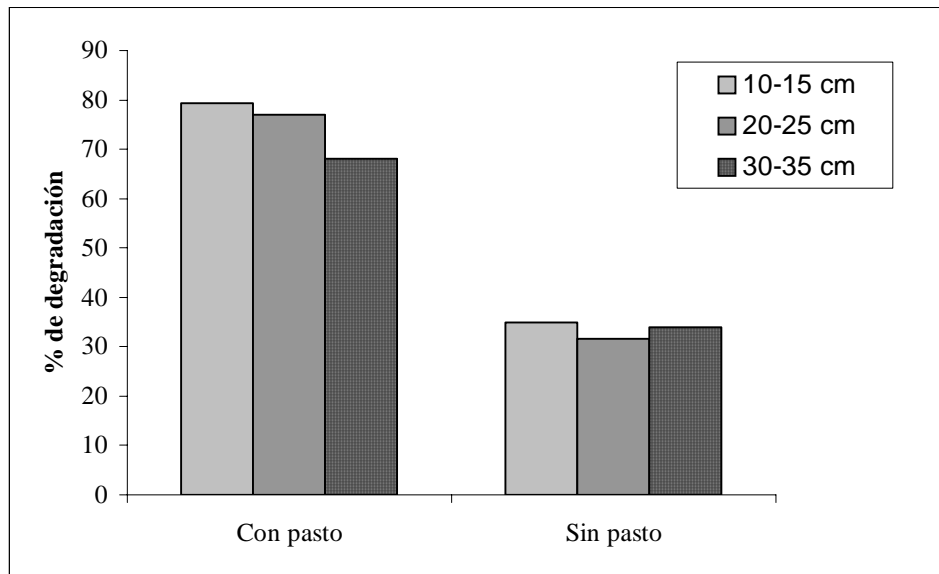


Figura 4. Porcentaje de degradación de diesel a las diferentes profundidades, con y sin pasto (10,000 ppm).

En la figura 4 se observa que el porcentaje de degradación del diesel en el suelo con pasto tiende a disminuir conforme aumenta la profundidad, esto se debe a que la densidad de raíces es menor y por consiguiente la biodegradación disminuye, se logró una reducción de hasta el 79.4% de diesel.

En el caso del suelo sin pasto el mayor porcentaje de degradación (34.9%) se presenta a la primera profundidad (10-15 cm), esto se debe a que está muy cerca de la superficie y el contaminante tiende a volatilizarse más fácilmente.

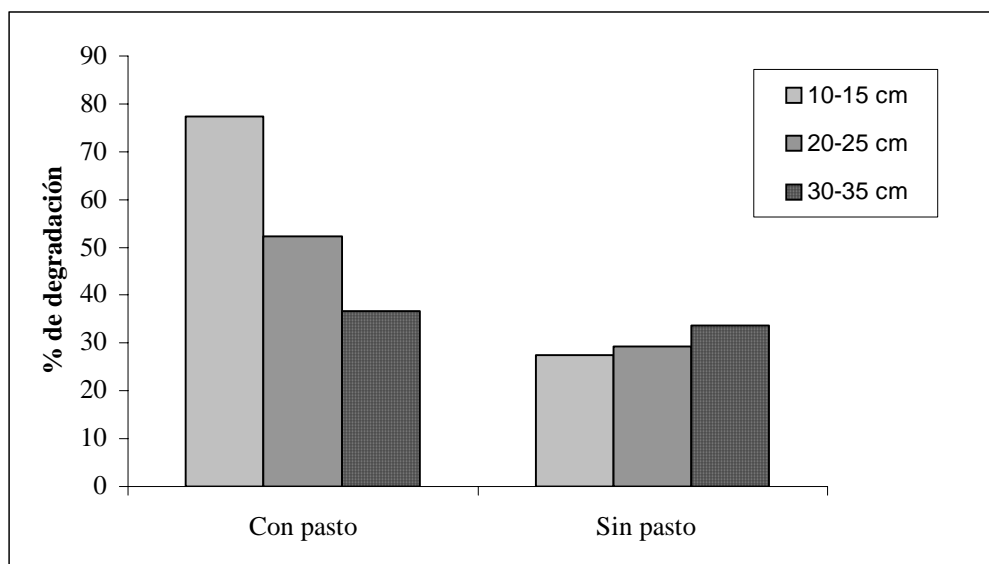


Figura 5. Porcentaje de degradación de diesel a las diferentes profundidades, con y sin pasto (20,000 ppm).

En la figura 5 se observa que se logran tasas de degradación de hasta 77% para el suelo con pasto y el porcentaje de degradación disminuye conforme aumenta la profundidad, esto se debe a que se tiene una relación con la generación de biomasa de las raíces a cada longitud, siendo precisamente la zona más profunda donde la degradación es mínima ya que ésta fue la última en ser poblada por las raíces.

Para el caso del suelo sin pasto se observa que conforme aumenta la profundidad, aumenta la degradación del diesel, sin embargo este aumento no es muy alto ya que se encuentran porcentajes muy parecidos todos cercanos al 30%.

Lo anterior podría explicarse si se considera que el pasto sirvió como un tapón que disminuyó la volatilización del diesel y la consecuente contaminación a la atmósfera.

CONCLUSIONES

Las características del suelo que se ven afectadas por la incorporación de diesel, principalmente son la materia orgánica, la capacidad de intercambio catiónico y la porosidad.

El crecimiento del pasto se inhibió por la presencia del diesel, siendo mayor el efecto a más altas concentraciones de diesel en donde generó menor cantidad de biomasa (20,000 ppm), le siguió el contaminado con 10,000 ppm, con respecto al control (suelo sin contaminar) donde se presentó la mayor generación de masa vegetal.

La eficiencia de la degradación del diesel en el suelo con pasto está en función de la profundidad de las raíces y la densidad de las mismas (biomasa radicular), ya que se observó que conforme aumentaba la profundidad, la degradación del diesel es menor, sin embargo este crecimiento radicular está condicionado por la misma concentración produciendo más biomasa conforme disminuye la concentración del diesel en el suelo.

Con respecto a la degradación del combustible, en el suelo con pasto, se tienen porcentajes de degradación aproximadamente del 79.4 % para el suelo con 10,000 ppm de contaminante y de 77.4 % para en suelo con 20,000 ppm, en la profundidad de entre 10 y 15 cm, para la profundidad de entre 20 y 25 cm, se obtuvo 77 % de degradación de diesel en el suelo con 10,000 ppm contra 66.2 % en el suelo con 20,000 ppm; mientras que para la profundidad de 30 a 35 cm se obtuvieron degradaciones de diesel de 67.3 % en el suelo contaminado con 10,000 ppm de diesel y de 36.6 % para el de 20,000 ppm.

Los resultados indican que se presenta mayor degradación en el suelo con 10,000 ppm, siguiendo el suelo con 20,000 ppm y al final el suelo sin pasto (atenuación natural) con porcentajes de degradación de aproximadamente del 30% y considerando una volatilización del 37 al 39 %.

En el caso del suelo contaminado con 20,000 ppm de diesel se recomienda analizar por un periodo mayor la degradación del diesel a las alturas de 20-25 cm y 30-35 cm para ver si es posible lograr los niveles de limpieza obtenidos en las otras condiciones, ya que las concentraciones al final del muestreo siguen siendo muy altas.

REFERENCIAS

- Alexander, M., (1999). *Biodegradation and Bioremediation*, 2^{da} edición, Ed. Academic Press, USA, 334-338.
- Chacalo, A. H., (2000). *Crecimiento de Raíces Quercus crassifolia, Q. Crassipes y Fraxinus uhdei en Dos Tipos Diferentes de Suelo Urbano*, Tesis que para obtener el grado académico de Doctora en Ciencias (Biología), Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Diario Oficial de la Federación, (2002), NOM-EM-138-ECOL-2002, Que establece los límites máximos permisibles de contaminación en suelos afectados por hidrocarburos, la caracterización del sitio y procedimientos para la restauración. México.
- EPA, (1986). *Cd, K, Zn, Hg, Pb, Fe, Cu, Mg, As, Ni, Cr (Atomic Absorption, Direct Aspiration)*, Métodos: 7130, 7610, 7950, 7471, 7420, 7110, 7461, 7061, 7520, 7190 respectivamente.
- EPA-A, (1992). *Acid Digestión of Sediments, Sludges and Soils*, Método 3050A, Revisión 1, Julio.
- EPA-B, (1992). *Nonhalogenated Volatile Organics by Gas Chromatography*. Método 8015A.
- EPA, (1994). *Microwave-assisted acid digestion of aqueous samples and extracts*. Método 3015 SW-846 Update II.
- EPA, (1995). *Soil and Waste pH*. Método 9045C. Revisión 3.
- Fiorenza, S., Oubre, L. C., Herb, W. C., (2000). *Phytoremediation of Hydrocarbon-Contaminated Soil*, 1^{ra} edición, Ed. Lewis, USA.
- Jackson, M. L., (1976). *Análisis químico de suelos*, Ediciones Omega, España.
- Kabata-Pendias, A., Pendias, (1992). *Trace Elements in Soils and Plants*, 2^{da} edición, CRC Press, 27-28.
- Pierzynsky, M. G., Thomas, S. J., Vance, F. G., (2000). *Soils and Environmental Quality*, 2^{da} edición, Ed. CRC, USA.
- PROFEPA, (2002). *Estadísticas de emergencias Ambientales*, Procuraduría Federal de Protección al Ambiente, Auditoría Ambiental, Emergencias ambientales y Percepción Social, México.
- Reyes, J. I., (1996). *Fundamentos teórico-prácticos de temas selectos de la ciencia del suelo. Parte I*. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, Libros de texto, Manuales de Prácticas y Antologías, México.

Schnoor, J. L., (1997). *Phytoremediation*, Center for Global and Regional Environmental Research GWRTAC (Ground Water Remediation Technologies Analysis Center), USA.

Siebe, Ch., Jahn, R., Stahr, K., (1996). *Manual para la descripción y evaluación ecológica de suelos en el campo*, Publicación Especial 4, Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C., Chapingo, México.

Sutherland, S. S., (2002). *Natural and Enhanced Remediation Systems*, Ed. Lewis, USA, 252-267.