

Metodología rápida para evaluar la viabilidad de biorremediación de suelos con hidrocarburos usando microorganismos nativos

Ricardo Solís-Olivier¹, Mariely García-Lugo¹, Norman Avi Palacios-Altamirano¹, Alejandro Islas-García²

¹ Universidad La Salle México, Facultad de Ciencias Químicas. Ciudad de México, México

² Universidad La Salle México, Vicerrectoría de Investigación. Ciudad de México, México

ricardo.solis@lasallistas.org.mx, mg.3@lasallistas.org.mx,
norman.palacios@lasallistas.org.mx, alejandro.islas@lasalle.mx

Resumen. El suelo es un componente fundamental para el equilibrio ecológico debido forma parte los ciclos biogeoquímicos, servicios ecosistémicos y es importante para el desarrollo económico y social de la humanidad. En Colombia, la presencia de hidrocarburos en suelos ha aumentado por actividades como la extracción, el transporte, los derrames accidentales y debido a las tomas clandestinas, afectando ecosistemas naturales y zonas agrícolas. La biorremediación del suelo mediante microorganismos es una alternativa ambientalmente responsable para mitigar esta problemática de contaminación. Por lo anterior, en el presente trabajo se diseñó una metodología rápida para evaluar el potencial de biorremediación mediante microorganismos autóctonos del suelo contaminado con diésel. Para ello, se recolectaron muestras de suelo en tres zonas afectadas por el hurto de hidrocarburo en Colombia Cundinamarca, César y Santander. En el laboratorio se realizaron pruebas de degradación para cada suelo se incubaron durante siete días en medio líquido con nutrientes y diésel, junto con un control sin suelo. Después de la incubación, se extrajo el diésel residual con clorometano y se cuantificó utilizando espectroscopía infrarroja (IR), basándose en una curva de calibración entre 1000 y 11 000 ppm. Los resultados mostraron reducciones significativas del diésel respecto al control, con remociónes del 80 % en César, 70 % en Cundinamarca y 40 % en Santander, comprobando la capacidad degradadora de los microorganismos para degradar el diésel en el medio. Esta metodología puede utilizarse como herramienta preliminar de diagnóstico para seleccionar estrategias biotecnológicas de remediación adaptadas a condiciones locales, apoyando la utilización de metodologías amigables con el ambiente.

Palabras Clave: biodegradación, diésel, microorganismos nativos

1 Descripción de la problemática prioritaria abordada

En Colombia, la contaminación de suelos por hidrocarburos es debido a la extracción, transporte, derrames accidentales y al aumento de tomas clandestina por grupos delictivos que impactan el suelo en áreas naturales o en zonas agrícolas, dificultando su producción agrícola y disminuyendo la calidad de vida de las comunidades de las regiones [1]. La biorremediación es una tecnología que utiliza microorganismos y sus enzimas para biodegradar contaminantes del petróleo y sus derivados, además de otros contaminantes que están presentes en el suelo [2].

Las pruebas de tratabilidad en medio acuoso, es una alternativa más eficiente y rápida para evaluar el potencial para utilizar microorganismos en la biorremediación, debido a que los hidrocarburos se extienden horizontalmente en el medio acuoso, facilitando el contacto y disponibilidad para los microorganismos [3]. Asimismo, la espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) es un método analítico más accesible a nivel económico que la cromatografía de gases, dando resultados, aunque no tan precisos, suficientes para hacer un análisis.

2 Objetivo

Proponer una metodología rápida para evaluar la viabilidad de la biorremediación de suelos contaminados con diésel utilizando microorganismos nativos enfocada a su aplicación práctica en campo.

3 Propuesta teórico-metodológica

Para el desarrollo del proyecto se recolectaron muestras de suelos contaminados con diésel en tres regiones de Colombia con antecedentes de afectación en las zonas cercanas por tomas clandestinas: Cundinamarca, César y Santander, se realizó la caracterización fisicoquímica de pH, Capacidad de campo, materia orgánica, textura y porcentaje de nitrógeno de cada suelo [4].

En la parte experimental se realizaron pruebas del suelo de cada región para determinar la degradación de diésel por los microorganismos nativos. Estos ensayos fueron realizados en matraces Erlenmeyer de 125 mL con medio líquido enriquecido con micronutrientes y contaminado con diésel al 1 % v/v. Se incluyó un control que contenía únicamente el medio con diésel, sin suelo. Todos los matraces fueron incubados durante 7 días a 32 °C y 120 rpm en una incubadora agitadora.

Tras el periodo de incubación, se extrajo una alícuota de cada matraz, incluyendo el control, y se centrifugó a 5000 rpm durante 3 minutos para remover la biomasa. Del sobrenadante, se realizó una extracción del contaminante con 1 mL de diclorometano. Se agitó vigorosamente durante 1 minuto para extraer la fracción orgánica, y luego se separó la fase orgánica correspondiente.

Finalmente, se extrajeron 20 µL de la fase orgánica seca por triplicado de cada muestra para su análisis mediante espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), utilizando un equipo Perkin-Elmer, modelo Spectrum Two [5]. Para cuantificar el diésel, se construyó una curva de calibración con soluciones de diésel en diclorometano en un rango de 1000 a 11 000 ppm [6].

4 Discusión de resultados

La caracterización fisicoquímica de los suelos en las zonas de muestreo: Cundinamarca, César y Santander, mostraron los siguientes valores. En cuanto al pH, se observaron valores que van de ligeramente ácidos en Santander (4.6 ± 0.07) a alcalinos en César (7.4 ± 0.02), mientras que Cundinamarca mostró un pH cercano a la neutralidad (6.5 ± 0.22). La capacidad de campo fue significativamente mayor en Santander (97.95%), lo que indica un alto potencial de retención de agua asociado a su textura franco-limosa, en contraste con César (42.7%) y Cundinamarca (61.78%), ambos con texturas franco-arcillosas. Respecto a la materia orgánica, Santander presentó el valor más alto ($8.49 \pm 1.02\%$), lo que sugiere una mayor fertilidad y actividad biológica, mientras que Cundinamarca y César registraron valores bajos ($1.33 \pm 0.5\%$ y $1.63 \pm 0.10\%$, respectivamente). Finalmente, el contenido de nitrógeno también fue mayor en Santander ($0.047 \pm 0.005\%$), seguido por César ($0.035 \pm 0.007\%$) y con el valor más bajo en Cundinamarca ($0.011 \pm 0.009\%$).

La comparación de los espectros del FTIR (Figura 1) muestra una disminución sistemática de las bandas características de hidrocarburos alifáticos en las muestras con suelo respecto al control y al diésel de referencia. En particular, las señales de estiramiento C-H de grupos $-\text{CH}_3/-\text{CH}_2$ ($\approx 2954-2924$ y 2854 cm^{-1}) presentan menores absorbancias tras la incubación con suelo, lo que es consistente con una reducción del contenido de diésel por biodegradación.

La Figura 2 muestra los resultados obtenidos de los porcentajes de remoción del diésel y las concentraciones finales del contaminante de los tratamientos para los tres suelos analizados durante los siete días de incubación. Se observa que la muestra de César alcanzó la mayor remoción con 86.5 % y menor concentración final de hidrocarburo, lo que indica una biodegradación altamente eficiente. Cundinamarca, aunque menos efectiva, mostró una remoción del 67.5 %, mientras que Santander presentó la menor eficiencia con aproximadamente 39.6 %.

Las diferencias en la degradación del diésel en los diferentes suelos pueden explicarse por sus diferentes características fisicoquímicas de cada uno de ellos, tales como textura, contenido de materia orgánica, nutrientes y porosidad, que pueden afectar la estructura y los tipos de comunidades microbianas nativas [7]. Pero también la concentración inicial de diésel de cada suelo puede

ser un factor importante. Una mayor remoción en César podría asociarse a mejor biodisponibilidad del hidrocarburo (menor adsorción fuerte a la fracción sólida) y/o a poblaciones microbianas más adaptadas a compuestos diésel. Por el contrario, la respuesta más baja en Santander podría relacionarse con adsorción/retención del contaminante, inhibición por condiciones fisicoquímicas propias del suelo o densidades microbianas menos eficaces. En todos los casos, la reducción del área de los espectros asociados a compuestos alifáticos indica pérdida de fracciones más lábiles que frecuente sucede en etapas tempranas de biodegradación, pero que nos indican que los microorganismos nativos tienen la capacidad metabólica de degradar el contaminante.

Metodológicamente, el ensayo en fase acuosa con lectura por FTIR demostró ser rápido, reproducible y de bajo costo para diagnosticar el potencial biorremediador de suelos. Esta aproximación permite priorizar sitios y estrategias (bioestimulación, bioaumentación o atenuación natural monitoreada) con base en evidencias obtenidas en pocos días, además de que pueden ser un complemento a los análisis de degradación más extensos.

La investigación se alinea directamente con varios Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), como es el ODS 3 (Salud y bienestar), para la meta 3.9: Reducir sustancialmente el número de muertes y enfermedades producidas por productos químicos peligrosos y la contaminación del aire, el agua y el suelo; el ODS 12 (Producción y consumo responsables), con la meta 12.4: gestión ambientalmente racional de químicos y residuos mediante tecnologías biológicas y el ODS 15 (Vida de ecosistemas terrestres), para la meta 15.3: contribución a la neutralidad en degradación de tierras al habilitar la recuperación de suelos impactados.

5 Conclusiones y perspectivas futuras

La metodología propuesta constituye una herramienta ágil y eficaz para evaluar el potencial degradador de microorganismos nativos del suelo frente a hidrocarburos en ambientes contaminados. En todos los tratamientos se observó que los microorganismos nativos tienen la capacidad metabólica de degradar el diésel. Por otro lado, los resultados evidenciaron que la eficiencia de remoción del diésel varía entre cada suelo, lo que resalta la influencia de las características propias de cada suelo y sus poblaciones microbianas. Esta prueba rápida permitirá facilitar el monitoreo de los procesos microbiológicos involucrados y fortalecerá la toma de decisiones en la selección de estrategias bio-tecnológicas orientadas a la recuperación integral de suelos contaminados.

4 Referencias

- 1.García, E., Roldán, F., & Garzón, L. (2011). Evaluación de la bioestimulación (nutrientes) en suelos con-taminados con hidrocarburos utilizando respirometría. *Acta Biológica Colombiana*, 16(1), 195–208.
- 2.Rodríguez-Gonzales, A., Zárate-Villarroe, S. G., Bastida-Codina, A. (2022). Biodiversidad bacteriana pre-sente en suelos contaminados con hidrocarburos para realizar biorremediación. www.scielo.sa.cr. https://doi.org/10.15359/rca.56.1.9
- 3.Franzmann, P., Robertson, W., Zappia, L., Davis, G. (2002). The role of microbial populations in the containment of aromatic hydrocarbons in the subsurface. *Biodégradation. Países Bajos*. 13:65-78.
- 4.Fernández, L., Rojas, N., Roldán, T., Ramírez, M., Zegarra, H., Hernández, R., Reyes, R., Flores, D., Arce, J. (2006) Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados. Instituto Mexicano del Petróleo. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología. México.
- 5.García, Y. C., Jiménez, K. A., Clemente, A. C. N., & Ríos, B. T. (2020). Determinación de hidrocarburos del petróleo en matrices acuosas mediante el empleo de la espectroscopía infrarroja. CENIC, 076-089. <https://revista.cnic.cu/index.php/RevQuim/article/view/345>
- 6.Lafont, J. J., Páez, M. S., & Torres, Y. C. (2011). Análisis Químico de Mezclas Biodiesel de Aceite de Cocina Usado y Diesel por Espectroscopía Infrarroja. *InformaciÓN TecnolÓGica*, 22(4), 35-42. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642011000400005>

7. Acuña, A. J., Cambarieri, L., & Pucci, G. N. (2020). Impacto sobre la biota microbiana del suelo por con-taminantes provenientes de estaciones de servicio. Revista Peruana de Biología, 27(3), 417-422. <https://doi.org/10.15381/rpb.v27i3.17387>

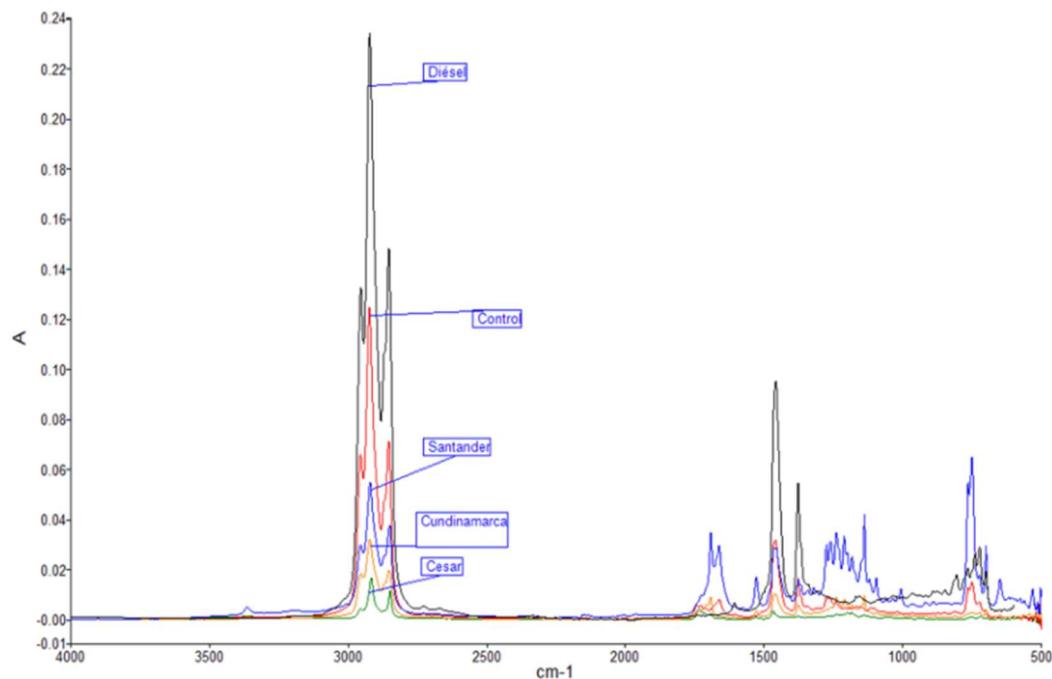


Figura 1. Espectros FT-IR de extractos de los tratamientos de las muestras. Fuente. Elaboración propia.

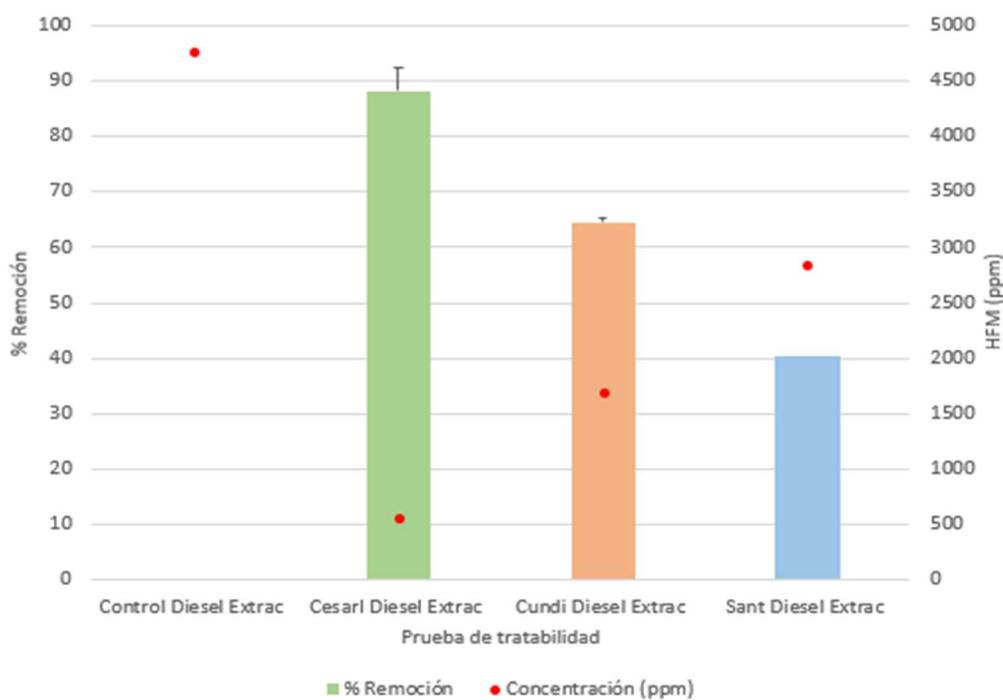


Figura 2. Remoción y concentración final del diésel en el medio líquido posterior al tratamiento. Fuente. Elaboración propia.

