Potencialidad de Paspalum densum en la fitorremediación de suelos contaminados con petróleo

Eugenio Torres Rodríguez[1], Yainer Maceo Medel[2], Yanisel Salgado Cedeño[3], Rodisnel Perdomo Rivera[1]

1 Centro de Estudios de Química Aplicada. Universidad de Granma. Cuba.
2 Centro Universitario Municipal. Yara. Cuba.
3 Centro Universitario Municipal. Buey Arriba. Cuba.

Recibido:

Recibido en: 29/04/2019

| Aceptado:
Aceptado en: 02/05/2019

Contacto: Eugenio Torres Rodríguez - etorresrodriguez@udg.co.cu

Resumen

La fitorremediación es una tecnología barata y ambientalmente amigable para descontaminar suelos. Muchas plantas utilizadas con este objetivo, tienen interés en la alimentación por lo que se hace necesario la búsqueda de nuevas variantes. Este trabajo describe un estudio preliminar en el que se determinó la capacidad fitorremediadora de *Paspalum densum* (cortadera). Fueron utilizadas dos muestras de suelo contaminadas con 40000 ppm de petróleo; las que se repartieron en 10 vasijas. En 7 de las 10 vasijas se plantó *Paspalum densum* (X2). En las tres vasijas restantes se tomaron como referencias para determinar la pérdida de petróleo en el suelo sin los efectos de la planta (X1). Al cabo de 75 días, se retiraron las plantas y se extrajo el petróleo de ambas muestras de suelo. La cuantificación de petróleo en X1 y X2, se realizó mediante espectroscopía ultravioleta-visible. Según la comparación de los datos obtenidos a partir de X1 y X2, *Paspalum densum* es capaz de eliminar 14536 ppm de 1 Kg de suelo contaminado con 40000 ppm de petróleo al cabo de 75 días; estos resultados unidos a la capacidad de resistencia a condiciones extremas, hacen de la planta un candidato ideal para la fitorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos.

Palabras clave: petróleo, contaminación, espectroscopía ultravioleta-visible, *Paspalum densum*, fitorremediación

Potentiality of *Paspalum densum* in the phytoremediation of oil-contaminated soils.

Summary

Phytoremediation is a cheap and environmentally friendly technology to decontaminate soils. Many plants used for this purpose have an interest in food, so it is necessary to search for new variants. This work describes a preliminary study in which the phytoremediation capacity of *Paspalum densum* (cortadera) was determined. Two soil samples contaminated with 40000 ppm of oil were used; those that were distributed in 10 vessels. In 7 of the 10 vessels, *Paspalum densum* (X2) was planted. The three remaining vessels were taken as references to determine the loss of oil in the soil without the effects of the plant (X1). After 75 days, the plants were removed and the oil extracted from both soil samples. The quantification of oil in X1 and X2, was performed by ultraviolet-visible spectroscopy. According to the comparison of the data obtained from X1 and X2, *Paspalum densum* is able to eliminate 14536 ppm of 1 Kg of soil contaminated with 40000 ppm of oil after 75 days; These results, together with the ability to withstand extreme conditions, make the plant an ideal candidate for the phytoremediation of soils contaminated with hydrocarbons.

Keywords: petroleum, pollution, ultraviolet-visible spectroscopy, *Paspalum densum*, phytoremediation

Introducción

El petróleo es una mezcla extremadamente compleja y variable de compuestos orgánicos, donde la mayoría de ellos son hidrocarburos, que varían en peso molecular desde el gas metano hasta los altos pesos moleculares de alquitranes y bitúmenes. La contaminación de suelo y agua con hidrocarburos es un problema que se ha extendido como resultado de derrames de contenedores, rupturas de tuberías subterráneos y varios procesos industriales [1]. Los líquidos migran hacia el suelo y subsuelo. El efecto negativo de los hidrocarburos, se produce: en la vegetación de manera directa ocasionando la muerte y de manera indirecta afectando las condiciones físicas del suelo, alterando su fertilidad [2].

Para remediar la contaminación del suelo por petróleo, existen técnicas tradicionales como Desorción térmica o el lavado mecánico del suelo, sin embargo, estas son extremadamente costosas. La fitorremediación es una tecnología basada en el empleo de plantas para limpiar de contaminantes los suelos y aguas, es una de las estrategias más prometedoras por ser barata y ambientalmente amigable [3].

Paspalum densum es una planta que mostró capacidad para germinar en un suelo contaminado con 75000 ppm [4], sin embargo, no se reportan estudios relacionados con las potencialidades de la planta para ser usad en la fitorremediación de suelos.

En este trabajo se describe un estudio para determinar de forma preliminar la capacidad fitorremediadora de *Paspalum densum* en un suelo contaminado con petróleo. La cuantificación de petróleo en las muestras de suelo se efectuó mediante un método sencillo, la espectroscopia ultravioleta–visible.

Materiales y métodos

Para determinar la capacidad fitorremediadora de *Paspalum densum* se depositó 1 kg de suelo (contaminado con 40000 ppm de petróleo) en 10 vasijas de latón. En 7 de las 10 vasijas (X2) se sembró un rizoma de la planta (1 x vasija). Las tres vasijas restantes (X1) se tomaron como referencias para determinar la pérdida de petróleo en el suelo sin los efectos de la planta. El riego se realizó una vez a la semana, todas las vasijas se mantuvieron a la sombra a una temperatura promedio de 27,6 °C. Al cabo de 75 días se separaron cada una de las plantas cuidadosamente, para evitar la pérdida de suelo. La toma de la muestra de suelo se efectuó según el Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados [5].

Para la extracción de petróleo de las muestras de suelo se usó una modificación el método ASTM D5369-93. 2003 [6]. Se tomaron 2 g de suelo de cada muestra y luego de humectarla con 5 mL de $CHCl_3$ se colocaron en un balón de 50 mL, se añadieron 20 mL de $CHCl_3$ y 1 g de gel de sílice. La mezcla se sometió a la acción de ultrasonido durante 30 minutos, luego se filtró y se repitió la extracción 2 veces con 20 mL de $CHCl_3$ cada una. Todos los extractos se trataron con Na_2SO_4 anhidro y fueron filtrados [7]. La cuantificación de petróleo en las muestras de suelos (X1 y X2) se realizó mediante espectroscopía UV-Visible a una longitud de onda de 232 nm en un espectrofotómetro FT marca Rayleigh UV-2100 de procedencia china. La disolución madre para confeccionar la curva de calibración se preparó en un matraz de 100 mL en el que se añadieron 20 mL de $CHCl_3$ (se determinó la masa: 90,781 g), posteriormente se añadió 1 mL de la muestra (petróleo) y se determinó la masa nuevamente (91,617 g). La diferencia de peso: 0,836 g es la masa del mL de petróleo. La concentración exacta de la disolución madre se fue de 16,72 ppm. A partir de la disolución madre se prepararon 5 patrones: 1; 3; 5; 8 y 10 ppm. (Por encima de 10 ppm la absorbancia supera el valor de 0,8 y no se cumple la Ley de Lambert-Beer). La absorbancia de cada patrón fue medida a 232 nm.

Para la medición de la concentración de petróleo a partir de X1 y X2, ambas muestras se diluyeron hasta 10 ppm (El coeficiente de dilución usado fue 4000), los resultados obtenidos se muestran en la Tabla II. Todas las variables fueron abaladas estadísticamente usando análisis de varianza (ANOVA) con desviación estándar de la media determinada por la prueba de Tukey para un nivel de significación de 5 %. El programa estadístico usado fue Statgraphics v 5.0.

Resultados y discusión

Montaje del experimento

Como planta biorremediadora se utilizó *Papalum densum* debido a su demostrada capacidad de germinar en suelos contaminados con altas concentraciones de petróleo [4].

fig1

Figura 1: *Paspalun densum (cortadera) en su hábitat.*

Se contaminó el suelo con 40000 ppm de petróleo, porque esta es la cantidad reportada en estudios similares usados como referencia [8].

En este tipo de estudio se debe descartar la perdida de petróleo del suelo por otros factores en los que no intervenga la planta. Por esta razón se utilizaron siete vasijas en cada una de las cuales se colocó 1 kg de suelo que se contaminó con 40000 ppm de petróleo y se plantó *Paspalum densum* (X2). En otras tres vasijas se depositó la misma cantidad de suelo y petróleo, pero sin la presencia (X1). La cuantificación de petróleo en las muestras de suelo (X1 y X2) se realizó al cabo de 75 días, porque a partir de ese periodo la planta alcanza su máximo crecimiento y comienza a perder las primeras hojas secas.

Extracción de petróleo de las muestras de suelo

En la bibliografía consultada se reportan diferentes métodos para la extracción de petróleo de las muestras de suelo [9-13], sin embargo, en este trabajo se empleó la extracción asistida por ultrasonido por ser más rápida y eficiente. En el método empleado, el uso de gel de sílice permite que los ácidos formados por procesos de descomposición de materia orgánica sean separados de la muestra, por otra parte el tratamiento del filtrado con Na_2SO_4 anhidro, elimina el agua del extracto. El tiempo óptimo para extracción

asistida por ultrasonido fue de 30 min, por encima de este tiempo disminuye el volumen del extracto, lo que pudiera deberse a la evaporación del disolvente por calentamiento. El método de extracción usado requiere menor tiempo y simplifica el proceso de extracción respecto a los procedimientos reportados [9-13].

Curva de calibración

Cuando se grafica la absorbancia medida frente a la concentración de los patrones se obtiene un gráfico que permite evaluar la linealidad del método en un intervalo de concentraciones de 1 a 10 ppm (Tabla 1).

Tabla 1. Absorbancia medida y concentración de los patrones.

Muestras	Concentración (ppm)	Absorbancia	
		x? ± SD	SE
Patrón 1	1	0,083±0,0025	0,0014
Patrón 2	3	0,182±0,0010	0,0005
Patrón 3	5	0,310±0,0005	0,0003
Patrón 4	8	0,560±0,0005	0,0003
Patrón 5	10	0,757±0,0011	0,0006
x?:media; SD: desviación estándar; SE: error estándar			

Se realizaron tres curvas en el desarrollo de la estandarización, de las cuales se eligió la de mejor coeficiente de correlación (R^2) para el desarrollo de la medición (Figura 2) [14].

fig1

Figura 2: *Curva de calibración.*

Cuantificación de petróleo en las muestras de suelo (X1, X2)

Una vez obtenidos los valores de absorbancia de cada patrón, utilizando las mismas condiciones (? = 232 nm) se determinó la absorbancia de las muestras problemas X1, X2. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Absorbancia medida y concentración de las muestras de suelo.

Muestras	Absorbancia		Concentración (ppm)		Concentración x 4000	
	x?±SD	SE	x?±SD	SE	x?±SD	SE
X1	0,601±0,001	0,0006	8,354±0,015	0,008	33416±60,044	34,666
X2	0,327±0,002	0,0008	4,720±0,028	0,010	18880±114,189	43,159
x?:media; SD: desviación estándar; SE: error estándar						

La determinación experimental de las concentraciones de X1 y X2 al cabo de 75 días, permitió conocer las cantidades de petróleo en la muestra de suelo contaminado en la que se plantó *Paspalum densum* (X2) y la muestra de suelo contaminado sin la presencia de la planta (X1).

Los resultados obtenidos al multiplicar los valores de concentración determinados experimentalmente por el coeficiente de dilución (4000), se muestran en la Figura 3.

fig3

Figura 3: *Variación de la concentración de petróleo en el suelo al inicio del experimento, al cabo de 75 días en la muestra de suelo sin planta (X1) y la muestra de suelo con planta (X2).* Letras diferentes indica que existen diferencias significativas.

Debido a que una parte del petróleo puede ser eliminado por evaporación, arrastre físico debido al riego y descomposición por efecto de microorganismos no asociados a la planta, para conocer el verdadero efecto biorremediador de *Paspalum densum* es necesario despreciar la cantidad de petróleo que se eliminó en la muestra de suelo sin planta: (33416 – 18880) ppm = 14536 ppm. En el período estudiado (75 días) la planta logró eliminar 14536 ppm por cada Kg de suelo contaminado con 40000 ppm. Estos resultados fueron corroborados estadísticamente, existiendo diferencias significativas entre las tres concentraciones: contaminación inicial, muestra de suelo contaminado sin la planta (X1) y la muestra de suelo contaminado en la que se plantó Paspalum densum (X2). Este método es rápido y sencillo.

Cuando se obtuvieron espectros UV-Visible comparativos a las muestras obtenidas a partir de X2 (suelo contaminado en el que se plantó *Paspalum densum*) y X1 (suelo contaminado sin la planta), se observa que ambos espectros son similares, lo que indica la presencia de los mismos hidrocarburos en ambas muestras, sin embargo, el espectro de la muestra de X2 está por debajo del espectro de obtenido para la muestra de X1 (Figura 4).

fig4

Figura 4: *Espectros uv-visible de las muestras de suelo contaminado con (verde) y sin la presencia (amarillo) de Paspalum densum.*

Este comportamiento se debe a que hay una menor concentración de petróleo en la muestra de suelo contaminado en la que se plantó *Paspalum densum* (X2) respecto a la muestra de suelo contaminado sin la presencia de la planta (X1) y corrobora los resultados obtenidos en la cuantificación de petróleo en ambas muestras.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio si bien son preliminares y se realizaron a pequeña escala, constituyen un paso importante en la búsqueda de plantas que debido a sus características puedan ser usadas en la fitorremediación de suelos contaminados con petróleo. Por otra parte hasta el momento en que se realizó el trabajo no se reportan usos para la planta descrita en el estudio. Las características de *Paspalum densum*: resistencia a la sequía, capacidad para germinar en suelos con alto contenido de petróleo [4] y en terrenos que han sido sometidos a la quema para eliminar plantas indeseables, así como las diversas formas de reproducción que presenta, hacen de la planta un candidato ideal para la fitorremediación de suelos contaminados con altos niveles de petróleo.

Referencias:

1. **Park I-S, Park J-W** (2010) A novel total petroleum hydrocarbon fractionation strategy for human health risk assessment for petroleum hydrocarbon-contaminated site management. *Journal of Hazardous Materials*, 179: 1128-1135.

2. **Joner, E.J., A. Johansen, A.P. Loibner, M.A. de la Cruz, O.H.J Szolar, J.M. Portal, C. Leyval** (2001). Rhizosphere effects on microbial community structure and dissipation and toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons

(PAHs) in spiked soil. *Environmental Science & Technologies*, 35: 2773-2777.

3. **Jeannette Marrero-Coto, Isis Amores-Sánchez, Orquídea Coto-Pérez** (2012) Fitorremediación, una tecnología que involucra a plantas y microorganismos en el saneamiento Ambiental. *ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar* 46: 52 – 61.

4. **Yainer M. M. y col.** Germinación de Paspalum densum (cortadera) en un suelo contaminado con petróleo. Revista QuímicaViva (QV) 2017. 3: 25-31. Recuperable de http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/

5. 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, D. F.* 2006. ISBN 968-489-039-7. 179.

6. ASTM D5369-93. 2003. Standard practice for extraction of solid waste simples for chemical analysis using soxhlet extraction. *Environmental Assessment, Book of Standards*, Vol. 11.04.

7. 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, D. F*. 2006. ISBN 968-489-039-7. 179pp.

8. ASTM D5369-93 2003. Standard practice for extraction of solid waste simples for chemical analysis using soxhlet extraction. *Environmental Assessment, Book of Standards* Vol. 11.04, September 2004.

9. **Schwab A. P., Su J., Wetzel S., Pekarek S., Banks M. K.** (1999) Extraction of petroleum hydrocarbons from soil by mechanical shaking. *Environmental Science & Technologies* 33: 1940-1945.

10. **Weisman W.** (1998) Analysis of petroleum hydrocarbons in environment media.Vol. 1. Total petroleum hydrocarbon criteria working group series. *Association of American Railroads BP Oil Company. United States Air Force, Armstrong Laboratory, Occupational Medicine Division.*

11. US EPA 3500B (1996) Organic extraction and sample preparation. SW 846 Test methods for evaluating solid waste, physical/chemical methods.

12. US EPA 3540C (1996) Soxhlet extraction organics. SW-846 Test methods for evaluating solid waste physical/chemical methods.

13. **Arce O. J.M., Rodríguez V. R., Rojas A. N.G.** (2004) Identification of recalcitrant hydrocarbons present in a drilling waste-polluted soil. *Journal of Environmental Science and Health Part A* 39: 1535-1545.

14. **Taborda Q., O., Alzater., E. J., Montoya N., C.H.** (1989) Aplicación del numeral 5.4 Métodos de ensayo y calibración y validación de métodos de la norma ISO-IEC 17025 en el Laboratorio de Aguas de la Universidad Tecnológica de Pereira. *Procedimiento general para validación de metodologías analíticas*: 1-10.

QuímicaViva

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista QuímicaViva

Volumen 18, Número 2, Agosto de 2019

ID artículo:E0149

Versión online