

MICORREMOCION DE ZINC EN SUELOS CONTAMINADOS CON ACEITE USADO AUTOMOTRIZ, EN LA CIUDAD DE DURANGO, MEXICO.

Rosales Morales Adán^{1*}, Néstor Naranjo Jiménez², Jesús Herrera Corral², Norma Almaraz Abarca², Natividad Uribe Soto².

^{1*} Maestría en Ciencias en Gestión Ambiental, CIIDIR-IPN-Unidad Durango. Becario Institucional.

² Instituto Politécnico Nacional. CIIDIR Unidad Durango. Sigma 119, Frac. 20 de noviembre II. Durango México, 34220. Becarios COFAA.

RESUMEN. Después de su uso, el aceite lubricante adquiere concentraciones elevadas de metales pesados por el desgaste del motor y por contacto con combustibles. Al hablar de contaminación por metales hay que considerar la forma o especie química bajo la que se encuentra, ésta va a influir decisivamente en su distribución en el suelo. La toxicidad por ingestión excesiva de zinc es rara, pero se han informado molestias gastrointestinales y diarrea después de ingestión de bebidas que permanecieron en latas galvanizadas, o por uso de utensilios galvanizados. El objetivo de este trabajo fue determinar la remoción de zinc por el hongo de la pudrición blanca *Pleurotus ostreatus* en suelos afectados con aceite automotriz usado en la ciudad de Durango, Dgo. El hongo de la pudrición blanca *Pleurotus ostreatus* B4 M1 DNA removi6 de suelos contaminados con aceite automotriz usado (AUU) removi6, después de 15 días, el 34% de la concentración inicial Zn, que fue 1943.835mg/Kg de suelo, y el 46.3% a los 30 días. La remoción de zinc se puede acrecentar, si se manipulan los parámetros de humedad, tamaño del inoculo y especie o variedad del hongo *Pleurotus sp* y considerar la susceptibilidad del hongo a la toxicidad del contaminante.

Palabras clave: *Pleurotus*, zinc, metal pesado

ABSTRACT. After use, the lubricant oil acquires high concentrations of heavy metals due to engine wear and to contact with fuels. Speaking of metal pollution must be considered, the form or chemical species under which they are to be found, this is going to influence their distribution in the soil. The toxicity of zinc is too rare but it has been reported gastrointestinal upset and diarrhea after ingestion of drinks remained in galvanized cans or use of galvanized utensils. The objective of this study was to determine the removal of zinc by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus* in soil affected with car used oil in the city of Durango, Dgo. The white rot fungus *Pleurotus ostreatus* B4 M1 DNA removed, after 15th day, from contaminated soils 34% of the initial concentration of Zn (1943.835mg/Kg soil), and 46.3% at 30 days. The removal of zinc can be increased according to conditions of moisture, inoculums size, and species or variety of *Pleurotus sp*.

Key word: *Pleurotus*, zinc, heavy metal.

INTRODUCCIÓN

El parque automotriz mundial genera alrededor del 65% del total de aceite usado generado, mientras que el restante 35% es de origen industrial (EPA 1991). La denominación aceite usado comprende a los aceites de origen mineral, que durante el uso perdieron sus propiedades características, volviéndose inapropiados para continuar su utilización con el mismo propósito. Comprenden a los aceites lubricantes de motores (de vehículos y máquinas industriales), los fluidos hidráulicos y de transmisión.

Después de su uso, el aceite lubricante adquiere concentraciones elevadas de metales pesados producto principalmente del desgaste del motor o maquinaria que lubricó y por contacto con combustibles. Además, se encuentran con frecuencia solventes clorados en los aceites usados, provenientes principalmente por contaminación durante su uso (reacción del aceite con compuestos halogenados de los aditivos). La presencia de hidrocarburos aromáticos, solventes clorados, junto con altas concentraciones de algunos metales pesados constituyen la principal preocupación de los aceites usados (Benavente, G. 1999.).

Se llama metal pesado a aquel elemento metálico que presenta una densidad superior a 5g/mL, aunque para efectos prácticos en estudios medioambientales se amplía esta definición a todos aquellos elementos metálicos o metaloides, de mayor o menor densidad, que aparecen comúnmente asociados a problemas de contaminación. Algunos de ellos son esenciales para los organismos en pequeñas cantidades, como el Fe, Mn, Zn, B, Co, As, V, Cu, Ni o Mo, y se vuelven nocivos cuando se presentan en concentraciones elevadas, mientras que otros no desempeñan ninguna función biológica y resultan altamente tóxicos, como el Cd, Hg y Pb.

La toxicidad por ingestión excesiva de zinc es rara, pero se han informado molestias gastrointestinales y diarrea después de ingestión de bebidas que permanecieron en latas galvanizadas, o por uso de utensilios galvanizados. Con todo no se han observado pruebas de toxicidad hematológica, hepática o renal en individuos que ingirieron hasta 12 g de zinc elemental durante un periodo de 12 días.

En lo que refiere a la exposición industrial, la fiebre por humo de metal originada por la inhalación de humos de zinc representa el efecto más importante. Este trastorno se ha relacionado a la inhalación de humos de óxido de zinc, pero pueden observarse en la inhalación de humos de otros metales (Klassen, & Watkins, 2001).

Al hablar de contaminación por metales hay que considerar, la forma o especie química bajo la que se encuentra, es decir, su especiación, esta va a influir decisivamente en su distribución en el suelo, condicionando su solubilidad, su movilidad en el suelo y las aguas superficiales y subterráneas, su biodisponibilidad y toxicidad, por tanto, su comportamiento como contaminante potencial (Mulligan, *et al.*, 2001).

Las plantas y los microorganismos (bacterias hongos y algas) del suelo también pueden interaccionar con los metales mediante mecanismos de extracción, estabilización, biosorción, bioacumulación, biomineralización y biotransformación (Lloyd and Macaskie, 2000). Diversas investigaciones han mostrado que los hongos de la pudrición blanca (PB) además de biorremediar espacios contaminados con hidrocarburos, tienen la capacidad de acumular en su estructura celular diferentes metales pesados, siempre que no rebasen sus límites de tolerancia. Los hongos de PB a través de su micelio pueden concentrar metales presentes en el sustrato donde se desarrollan. Gadd, *et al.*, (2002.).

El crecimiento de *Daedalea quercina*, en medios que contenían cantidades equimolares de metales de Zn, Cu y Pb, las concentraciones de estos iones metálicos disminuyeron en un periodo de 30 días (Gabriel, *et al.*, 1996).

Sanglimsuwan, *et al.* (1993). Evaluó el crecimiento de *Pleurotus ostreatus* durante 7 días en medios de cultivo papa- dextrosa que contenían 5mM de Cu y Zn, el hongo acumuló 10µg/g en peso seco de Cu y 5µg/g de peso seco de Zn. El objetivo fue determinar la remoción de zinc por el hongo de la pudrición blanca *Pleurotus ostreatus* en suelos

afectados con aceite automotriz usado en la ciudad de Durango, Dgo. Por lo anterior se procedió a evaluar la micorremoción con el hongo *Pleurotus* sp de zinc en suelos contaminados con aceite usado automotriz, en Durango, Dgo., México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo. El muestreo se hizo en un taller mecánico ubicado en la ciudad de Durango, que carece de techo y piso. La muestra se tomo en el área de mayor contaminación aparente (mancha de aceite en suelo), esta fue de aproximadamente 8 a 9 Kg., a 20 cm. de profundidad, con un área de 50x40cm. (Figura 1) de igual forma se muestreo en un terreno baldío contiguo sin afectación (aproximadamente a 50 metros del taller mecánico). Las muestras fueron llevadas al laboratorio para su preparación y análisis correspondientes.



Figura 1. Suelo contaminado con AAU

Determinación de zinc. El análisis de zinc (Zn) se realizo con apego a lo establecido en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Se pesaron 0,250 g de las muestras, estas se vaciaron en vasos de precipitados y se agregaron 7mL de ácido nítrico y 3mL de ácido clorhídrico por muestra, dentro de una campana de extracción las muestras con acido se llevaron a calentar hasta reducir su volumen hasta 1 a 2mL Reducido el volumen, se agrega la misma cantidad de ácidos llevando de nuevo a la parrilla de calentamiento tapando en esta ocasión los vasos con vidrios de reloj, los vasos se retiraron de las parrillas cuando contenían un volumen aproximado de 1 a 2mL y se dejaron enfriar, ya fríos se agregaron 10mL de HCl 1:1, mas 15mL de agua destilada calentando de nuevo en la parrilla por 10 minutos, hecho esto, se enfriaron para su filtrado, con papel filtro Whatman N° 40 y se aforaron a 100mL, esta solución es la que contiene los metales extraídos de las muestras del suelo lista para su análisis con el Espectrofotómetro de Absorción Atómica (Perkin Elmer modelo Series 200).Tomando una alícuota de 1mL de cada una de las soluciones digeridas y depositándolas en cubetas plásticas de 1mL, estas se colocaron en el equipo de espectrofotometría de absorción atómica, para su análisis, previa calibración del equipo.

Bioensayo. En matraces de 500mL, previamente esterilizados, se les añadieron cantidades conocidas de suelo, agua, e inóculo en semilla de sorgo, y se homogenizaron para obtener un favorable desarrollo del micelio, en cada una de las unidades experimentales variando el contenido de cada uno de los tres factores mencionados (agua, suelo, inóculo). Preparadas las unidades experimentales y cada una se le colocó un tapón de algodón estéril para evitar su contaminación con otro agente extraño y

también permitir el intercambio de gases. Se incubaron a temperatura ambiente, en condiciones de oscuridad. Se tomaron muestras de cada una de las unidades experimentales de los tratamientos a los 0, 15 y 30 días, para determinar el contenido de Zn.

El diseño experimental fue completamente al azar con un arreglo factorial 3 x 3 x 3 para un total de 27 tratamientos (Tabla 3), el factor **a** corresponde a los tiempo(0, 15 y 30 días) el factor **b** corresponde a las tres diferentes cantidades de agua presente en los matraces para mantener condiciones de humedad diferentes(65, 75 y 85mL), el factor **c** corresponde a las tres diferentes concentraciones de inóculo(6.25, 25 Y 62.5g) con dos repeticiones de cada tratamiento, para un total de 54 unidades experimentales (Figura 2 y Tabla 1).



Figura 2. Unidades experimentales

Tabla 1.- Distribución de los tratamientos del bioensayo.

Tratamiento	Condición	Factor (a) tiempo (días)	Factor (b) humedad (mL)	Factor (c) inóculo(g)
T0	SSA	0	0	0
T01	SCA	0	0	0
T1p	SCA	0	65	6.25
T2p	SCA	0	65	25
T3p	SCA	0	65	62.5
T4p	SCA	0	75	6.25
T5p	SCA	0	75	25
T6p	SCA	0	75	62.5
T7p	SCA	0	85	6.25
T8p	SCA	0	85	25
T9p	SCA	0	85	62.5
T1b	SCA	15	65	6.25
T2b	SCA	15	65	25
T3b	SCA	15	65	62.5
T4b	SCA	15	75	6.25
T5b	SCA	15	75	25
T6b	SCA	15	75	62.5
T7b	SCA	15	85	6.25
T8b	SCA	15	85	25
T9b	SCA	15	85	62.5
T1b	SCA	30	65	6.25

T2b	SCA	30	65	25
T3b	SCA	30	65	62.5
T4b	SCA	30	75	6.25
T5b	SCA	30	75	25
T6b	SCA	30	75	62.5
T7b	SCA	30	85	6.25
T8b	SCA	30	85	25
T9b	SCA	30	85	62.5

SSA= Suelo sin aceite, SCA= Suelo con aceite, Factor a: tiempo, 0,15, 30 días. Factor b: humedad. 65, 75,85 mL. Factor c: inoculo, 6.25, 25, 62.5 g

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en la remoción de Zn fue de 7.25 a 28.47 % a 15 días de los tratamientos, siendo T1 el menor y T6 el mayor remoción respectivamente. A 30 días, T9 presento un 46.3%, seguido de T3 44.4% y T6 43.9% de remoción respectivamente, en contraparte T4 presento 23% (Tabla 2).

Tabla 2. Distribución de los tratamientos de acuerdo a su concentración y % de remoción de Zn.

Tratamientos	0 días	Remoción (%) 0 días	15 días	Remoción (%) 15 días	30 días	Remoción (%) 30 días
T0	284.512	0	284.512	0	284.512	0
T01	1943.835	0	1943.835	0	1943.835	0
T1	1943.835	0	1802.278	7.25	1395.893	28.18
T2	1943.835	0	1567.353	19.36	1142.707	41.21
T3	1943.835	0	1401.686	27.89	1080.301	44.42
T4	1943.835	0	1614.092	16.96	1496.064	23.03
T5	1943.835	0	1723.286	11.34	1097.576	43.53
T6	1943.835	0	1389.11	28.47	1089.77	43.93
T7	1943.835	0	1792.439	7.78	1361.157	29.97
T8	1943.835	0	1636.118	15.83	1225.751	36.94
T9	1943.835	0	1529.273	21.32	1043.834	46.30

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante una ANAVA, con el programa estadístico COSTAT 3.0. La variable independiente fue la concentración de Zn. Los tratamientos mostraron diferencias altamente significativas (***) para el factor **a**, **c** y la interacción **a*c**, significativas (*) para la interacción **a*b*c** y finalmente no significativa (ns) para el factor **b**, interacciones **b*c**, y **a*b**, La tabla 3 muestra los resultados de dicho análisis (Tabla 3).

Tabla 3. Análisis de varianza factorial (ANAVA) en los efectos de **a**, **b**, **c** y sus interacciones.

Principales efectos	Gl	CM	P	ns
Tiempo (a)	2	2383270.4932	.0000	***
Humedad (b)	2	2601.4070528	.6700	ns

Inoculo (c)	2	240549.65194	.0000	***
Interacción				
b*c	4	5878.6968053	.4675	ns
a*c	4	69695.617329	.0000	***
a*b	4	6816.4887056	.3930	ns
a*b*c	8	17420.144014	.0240	*
Error	27	6400.5716027		

Gl: grados de libertad, CM: cuadrados medios, p: niveles de significancia, ns no significativo, *** altamente significativo, * significativo

La prueba de discriminación entre medias de Duncan, para el factor **a** mostró que los tratamientos a los 30 días, presentaron mayor remoción de Zn, seguidos por el tiempo 15 días, finalmente cero días con menor eficiencia. En tanto el factor **b** no presenta diferencias estadísticas en las tres concentraciones establecidas de humedad. El factor **c** mostró que los tratamientos con inoculo de 62.5g presentaron mayor remoción de Zinc, seguido del inoculo de 25g y finalmente el de 6.25g con menor eficiencia. En la tabla 3, se muestra su distribución en este aspecto.

Tabla 3. Tabla resumen de la prueba de Duncan para los factores a y c para el Zn, nivel de significancia 0.05.

Factor a			
Tratamiento	Media	Repetición	Intervalos de no significancia
3	1217.00305556	18	a
2	1612.014	18	b
1	1943.835	18	c
Factor c			
3	1480.9415	18	a
2	1580.4773889	18	b
1	1711.4331667	18	c

DISCUSIÓN

Sanglimsuwan et al. (1993) evaluó el crecimiento de *Pleurotus ostreatus* durante 7 días en medio de cultivo papa dextrosa (PDA), que contenía 5mM de Cu y Zn, *P. ostreatus* y acumulo 10µg/g peso seco de Cu y 5µg/g de peso seco de Zn. Para medios que contenían 3mM de Cd, el hongo acumuló 20µg/g de Cd. De acuerdo a lo anterior el hongo de la pudrición blanca *Pleurotus ostreatus* B4 M1 DNA en suelos contaminados con AUU removió un 34% de la concentración inicial de 1943.835mg/Kg de Zn a los 15 días y un 46.3% a los 30 días. En comparación con el trabajo Velmurugan et al, (2010) donde logro la biorremoción de Zn de 30 a 60% para biomasa muerta, seca y viva de *Fusarium* sp.

Por lo anterior los resultados obtenidos con el hongo *Pleurotus ostreatus* B4 M1 DNA muestran índices de remoción aceptables de Zn del suelo contaminado con AUU en condiciones apropiadas de temperatura, humedad, tipo de suelo, tamaño de inóculo, concentración. De acuerdo con Kapoor et al., (1999) donde mencionan que la eficiencia de biorremoción puede ser incrementada al manipular la biomasa microbiana en diferentes condiciones físicas y químicas, de ahí que la remoción de zinc se pueda acrecentar, si se manipulan los parámetros de humedad, tamaño del inóculo y especie o variedad del hongo *Pleurotus sp* y considerar la susceptibilidad del hongo a la toxicidad del contaminante,

BIBLIOGRAFÍA

- Benavente, R.,** A. Gonzalo. 1999. Aceite Lubricante Usado. Bravo Energy Chile S.A. Boletín N° 2.
- EPA. 1991.** Understanding Bioremediation A guide for Citizens. Environmental Protection Agency. USA.
- Gabriel, J.,** O. Kofronova, P. Rychlovský, M. Krenželok. 1996. Accumulation and effect of cadmium in the wood-rotting basidiomycete *Daedalea quercina*. Bull Environ Contam Toxicol 57: 383–90.
- Gadd, G. M.,** C. White. 1989. Heavy metal and radionuclide accumulation and toxicity in fungi and yeast. In: Pole, R.K., Gadd, G.M. (Eds.), Metal Microbe Interactions. IRL Press, Oxford, pp. 19–38.
- Kapoor, A.,** Viraragharan, T. and Cullimore, R.D. 1999. Removal of heavy metals using the fungus *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology* vol. 70, no. 1: 95-104.
- Klaassen, C.,** J. Watkins, J. 2001. Efectos Tóxicos de los Metales. Manual de toxicología. 5ª edición. Mc Graw Hill. México.
- Lloyd, J.R.,** L.E. Macaskie. 2000. Bioremediation of radionuclide containing wastewaters. In D.R. Lovley (ed). Environmental microbe-metal interactions. American Society for Microbiology, Washington, D.C, pp. 277-327.
- Mulligan, C. N.** 2001. Na overview of in situ bioremediation process. Proceedings of the 29th Annual Conference of the Canadian Society for civil Engineering. Victoria, BC.
- NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004,** que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio.
- Sanglimsuwan, S.,** N. Yoshida, T. Morinaga, Y. Murooka. 1993. Resistance to and uptake of heavy metals in mushrooms. J Ferment Bioeng 75:112–4.
- Palanivel Velmurugan,** Jaehong Shim, Youngnam You, Songho Choi, Seralathan Kamala-Kannan, Kui-Jae Lee, Hee Joung Kim and Byung-Taek Oh . 2010. Removal of zinc by live, dead, and dried biomass of *Fusarium spp.* isolated from the abandoned-metal mine in South Korea and its perspective of producing nanocrystals. *J Hazard Mater* (182)1, 317:325

