

## Disminución del extracto orgánico total en suelos contaminados con hidrocarburos

### *Total Organic Extract Decrease in Contaminated Soil of Hydrocarbons*

MSc. Janet Nápoles-Álvarez<sup>I</sup>, Dra. Suyén Rodríguez-Pérez<sup>II</sup>,

Lic. Liuber Santiago-Blásquez<sup>III</sup>,

Dra. Arelis Ábalos-Rodríguez<sup>IV</sup>, [aabalos@cnt.uo.edu.cu](mailto:aabalos@cnt.uo.edu.cu)

<sup>I</sup>Centro de Estudios de Biotecnología Industrial, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba; <sup>II</sup>Vicerrectoría de Investigaciones Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba; <sup>III</sup>Empresa de Calderas ALASTOR, Santiago de Cuba, Cuba; <sup>IV</sup>Facultad de Ciencias Natural, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba

### Resumen

La contaminación de los suelos por hidrocarburos, debido a las malas prácticas y accidentes en el manejo de petróleo y sus derivados, es un problema medioambiental que requiere atención. En este trabajo se realizan ensayos de tratabilidad a nivel de laboratorio, utilizando lodos de digestión anaerobia y pleurotina para estimular y bioaumentar respectivamente la población indígena de un suelo contaminado con hidrocarburos. Los ensayos evidenciaron que la materia orgánica, determinada como hidrocarburos contaminantes, posee un valor de 107, 5 g/kg de suelo, la actividad respirométrica es mayor cuando se añade pleurotina que en presencia de lodos de digestión. En los ensayos en microcosmos con pleurotina se alcanzaron menores valores de materia orgánica estabilizándose el sistema a partir de la décima semana de tratamiento, pudiendo ser un indicador de remoción del contaminante.

**Palabras clave:** contaminación, petróleo, remoción, bioestimulación.

### Abstract

One of these days' environmental problems is the contamination of soils by hydrocarbons due to bad practices and oil and its derivatives handling accidents. In this work laboratory level treatability essays have been doing, using anaerobic digestion muds and pleurotin to stimulate and bioaugment, respectively, the indigenous population of hydrocarbons contaminated soil. The essays evidenced that, to a soil contamination of 107, 5 g/kg of soil, respirometric activity is higher when combining the soil with pleurotin than with digestion muds. In the microcosm essays with pleurotin, organic compounds is lower, stabilizing the system since the tenth week of treatment.

**Keywords:** contamination, petroleum, remotion, bioestimulation.

### Introducción

El suelo natural está compuesto por diferentes elementos. Cuando las cualidades originales del suelo han sido modificadas por la incorporación de agentes físicos, químicos o biológicos, entonces se trata de un suelo contaminado. La contaminación de los suelos por hidrocarburos es consecuencia de los procesos de fabricación, distribución, derrames, el propio uso del petróleo y sus derivados (diesel, kerosina, naftas, gasolinas y petróleo

combustible), y por ende su pérdida de fertilidad y capacidad biodegradativa, afectando la flora, la fauna y al propio hombre por la interrelación existente en los ecosistemas [1, 2]. Entre algunas de las tecnologías para la recuperación de suelos impactados con hidrocarburos, se encuentran la extracción con solventes, la incineración, la electrorremediación y la biorremediación [3, 4]. Esta última ha tenido aceptación por su bajo costo en comparación con otras tecnologías, ya que se basa en el uso de microorganismos (bacterias, hongos, levaduras y algas) o enzimas para producir una transformación parcial o total de contaminantes orgánicos. Existen diferentes técnicas de biorremediación de suelos contaminados, entre las que se destacan la bioventilación, biopilas y biolabranza. En todas ellas se busca la estimulación de los procesos degradativos que, de forma natural, tienen lugar en los ecosistemas acuáticos y terrestres [5, 6].

Si la biorremediación se lleva a cabo por la acción del hombre, se trata de biorremediación dirigida, en la cual el proceso de biodegradación se acelera al provocar la bioestimulación o bioaumentación de las poblaciones microbianas. La biorremediación por bioestimulación se basa en estimular el crecimiento de los microorganismos endógenos por la adición de nutrientes (fuentes de nitrógeno y fósforo fundamentalmente) y oxígeno. La biorremediación por bioaumentación consiste en inocular microorganismos exógenos capaces de degradar el contaminante por adaptación previa o manipulación genética [7- 9]. Convencionalmente para estimular el crecimiento microbiano se utilizan formulaciones químicas inorgánicas, que contienen los nutrientes antes mencionados, pero la búsqueda de estimulantes naturales o menos agresivos ha sugerido el estudio de residuos o subproductos de procesos biotecnológicos tales como la pleurotina (residual de la fermentación sólida para la obtención de setas comestibles de *Pleurotus ostreatus*) y los lodos de digestión del estiércol vacuno. Estos son utilizados como bioabono y biofertilizantes para mejorar la calidad de los suelos e incluso son comparables con el *humus* de lombriz [10, 11]. Estudios realizados a partir de la pleurotina, demuestran que ésta posee numerosas enzimas (ejemplo de esta la lacasa) y micelio de *Pleurotus sp*, que participan en la degradación de hidrocarburos [12, 13].

En este trabajo se evalúa la remoción del extracto orgánico en un suelo contaminado con hidrocarburos, bioestimulando y bioaumentando con lodos anaerobios de digestión de estiércol vacuno y pleurotina.

## **Materiales y métodos**

### *Origen y toma de la muestra*

Las muestras procedieron de suelos contaminados localizados en un área industrial con altos niveles de manipulación de petróleo y sus derivados, localizada en la zona costera de Santiago de Cuba. El área de estudio escogida de 10 m<sup>2</sup> es cercana a la bahía y con una actividad de carga y descarga de buques cisternas para el trasiego de petróleo, que se ha mantenido por más de 10 años. Se realizó la toma de muestras mediante la técnica de cuarteo, a 5,0 cm de profundidad y se tamizó hasta 0,42 mm para eliminar las piedras y fracciones más gruesas. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

### *Caracterización física, química y biológica del suelo*

Las muestras de suelo fueron sometidas al análisis granulométrico por tamizado para partículas gruesas y por el método del hidrómetro para partículas finas. La determinación de los sólidos totales, totales fijos, totales volátiles y Carbono Orgánico Total (COT) se realizó según Jackson [14]. El pH, conductividad eléctrica, contenido de nitrógeno y fósforo, según APHA [15].

### *Ensayo rápido de la aireación de suelos*

Se dobló un papel de filtro a lo largo de sus diámetros y se colocaron dos muestras de suelo (punta de una espátula) en los extremos opuestos del papel. Se añadieron dos gotas de HCl  $c(x/Z^*)=0,1$  N a cada una de las muestras y una gota de la disolución de Tiocianato de potasio (KCNS) y otra de Hexacianoferrato (III) de potasio ( $K_3Fe(CN)_6$ ) en las zonas húmedas. La aparición de coloración roja con KCNS indicó la presencia de hierro férrico. La aparición de color azul con  $K_3Fe(CN)_6$ , indicó la presencia de hierro ferroso.

### *Determinación de la capacidad de campo*

Se dispuso una cantidad de suelo conocida, secada previamente a 105 °C, sobre un embudo con papel de filtro para impedir el paso del mismo (el peso del papel de filtro debe tenerse en cuenta). Se regó el sistema con agua destilada hasta aniego. Cuando cesó el goteo de agua se pesó el conjunto del

papel con la muestra de suelo húmeda. Descontando de este valor el peso de la muestra de suelo seca y el peso del papel de filtro (realizando todo el proceso sin suelo) se obtuvo el peso del agua que retiene el suelo.

***Determinación del Extracto Orgánico Total***

El contenido de hidrocarburos se determinó como Extracto Orgánico Total (EOT) mediante gravimetría, empleando como solvente n-hexano.

***Determinación de población microbiana heterótrofa y degradadora de hidrocarburos***

Se tomó 1 g de suelo y se añadió en 9 mL de solución salina 0,9 %; se agitó vigorosamente durante 2 min. Un mL de la fase acuosa se añadió a 9 mL de caldo nutriente. Se incubó por un tiempo de 24 h. La aparición de turbidez respecto al tubo control corrobora la existencia de población microbiana heterótrofa. El recuento de viables se realizó a partir de la solución salina, realizándose diluciones y se inoculó en placa [16]. La población degradadora de hidrocarburos se determinó a partir de la población heterótrofa. Un mL de la fase acuosa se añadió en 9 mL de medio nitrogenado [17]. Se añadió 1 mL de la fuente de carbono a evaluar (petróleo), se incubó durante 48 a 72 h y se procedió igual que en la determinación de la población heterótrofa.

***Determinación de la actividad respirométrica del suelo***

Las muestras de suelo se ajustaron a 60 % de capacidad de campo y se mantuvieron a temperatura ambiente del laboratorio (27 °C aproximadamente). En un recipiente de vidrio con cierre hermético se dispuso 10 g de suelo contaminada.

Se realizaron los siguientes tratamientos:

**Tratamiento I.** Control

**Tratamiento II.** Suelo con lodos de digestión anaerobia (1:1 m/m)

**Tratamiento III.** Suelo con pleurotina (1:1 m/m)

En el recipiente se dispuso un vial con 10 mL de hidróxido de sodio (NaOH)  $c(x/z^*)=0,2$  mol/L para absorber el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) producido por la actividad microbiana del suelo. Durante 15 días se valoró la cantidad de NaOH remanente con ácido clorhídrico (HCl)  $c(x/z^*)= 0,1$  mol/L y se reemplazó por otro vial con 10 mL de NaOH. Previo a la valoración se añadieron 10 mL de cloruro de bario (BaCl<sub>2</sub>)  $c(x/z^*)= 0,2$  mol/L para precipitar los carbonatos y 3 gotas de fenolftaleína como indicador.

---

*Ensayos en microcosmos*

Los microcosmos se prepararon en 9 bandejas de aluminio con 600 g de suelo cada una. Se realizaron los tres tratamientos ya descritos en el ensayo de actividad respirométrica del suelo. Durante doce semanas se determinó cada siete días la materia orgánica extraíble.

*Caracterización de lodos de digestión anaerobia y pleurotina*

El lodo procedió de un digestor anaerobio de primera generación utilizado para el tratamiento de estiércol vacuno y la *pleurotina* de la planta experimental de producción de setas comestibles (*Pleurotus ostreatus*). Ambos sustratos de trabajo fueron suministrados por el Centro de Estudios de Biotecnología Industrial (CEBI) de la Universidad de Oriente (Cuba).

Tanto al lodo de digestión anaerobia como a la *pleurotina* se le realizaron los análisis de nitrógeno, fósforo, población microbiana heterótrofa y degradadora de hidrocarburos según procedimientos descritos anteriormente.

**Resultados y discusión**

El análisis granulométrico permite evaluar las propiedades de las fracciones de los suelos. En este caso el suelo está compuesto por un 76,7 % de arena; 6,9 % de grava y 16,4 % de arcilla, por lo cual se considera como un suelo arenoso. Los suelos arenosos son fácilmente cultivables, con buena aireación y poca capacidad de retención de agua y de nutrientes, debido al gran tamaño de poros que los caracteriza [18]. Sin embargo, los ensayos de aireación del suelo detectaron que los suelos presentan un déficit de oxígeno, relacionado con la presencia de petróleo en el suelo, situación que limita la circulación de aire y medio acuoso edáfico.

Se determinó el contenido de HCs como EOT para evaluar las fracciones de petróleo que destilan entre 60-500 °C (naftas, kerosinas, diesel, crudo de petróleo y gasoil de vacío ligero y pesado) empleando el n-hexano como uno de los solventes más descritos en extracción de hidrocarburos. El EOT fue de 107,5 g/kg de suelo. Este extracto oleoso puede contener parafinas no volátiles (n-alcanos), naftenos (cicloalcanos), hidrocarburos aromáticos, resinas y asfaltenos. Se realizó la extracción de EOT del suelo libre de contaminación, mostrando como resultado que con este solvente sólo se extraen hidrocarburos y no la materia orgánica propia del suelo.

El contenido de sólidos totales fue de un 96,3 %. Durante este tratamiento a 105 °C realizado para la determinación de sólidos totales, desaparece el olor a hidrocarburos, ya que se volatilizan parafinas, isoparafinas y naftenos de bajo peso molecular con temperatura de ebullición entre 20 y 150 °C. Solo se detectó un 7 % de sólidos volátiles, valor que coincide con el contenido de COT, lo que hace suponer que el COT procede del contaminante. La fracción inorgánica o mineral, expresada por los sólidos totales fijos fue de un 93 %. La humedad en el suelo es fundamental para la evolución y desarrollo de los microorganismos presentes en él. La capacidad de campo es una medida del contenido de agua que retiene el suelo; es decir marca el límite entre el agua capilar y la gravitacional (máxima cantidad de agua que puede retener el suelo después de tres días de aporte de agua). Se determinó una capacidad de campo de 9,68 %, indicando la baja retención de agua por ser un suelo arenoso; además, la cantidad de hidrocarburos presente también es un factor que impide la retención del agua y el desarrollo de microorganismos. Un déficit de agua puede disminuir el transporte de nutrientes y de contaminantes y la migración bacteriana a través del suelo; y por el contrario, el exceso desplaza el aire de los poros del suelo, generándose condiciones anaerobias al agotarse el oxígeno disuelto en agua. Es por esto que en los procesos de biorremediación se recomienda mantener la humedad al 60 % de la capacidad de campo [19].

Otros factores que condicionan los estudios de biorremediación son el pH y los nutrientes que posea el suelo. El pH del suelo fue 7,2 unidades, valor que está dentro del rango óptimo (6-8 unidades) para la actividad microbiana. El contenido de nitrógeno y fósforo en el suelo es  $2,7 \times 10^{-5}$  mg/g de suelo y  $9,5 \times 10^{-10}$  mg/g de suelo respectivamente, siendo insuficiente para que la población microbiana pueda asimilar y degradar los componentes del petróleo. El metabolismo microbiano requiere fuente de carbono, nitrógeno y fósforo fundamentalmente. La fuente de carbono puede ser el hidrocarburo al aportar el carbono necesario para producir compuestos celulares y biomasa. El nitrógeno interviene en la síntesis de aminoácidos y enzimas, y el fósforo actúa en la formación de los compuestos energéticos celulares que se utilizan en los procesos de síntesis y degradación [16]. Dado que la utilización de estos compuestos es muy rápida, los suelos no alcanzan a cubrir todas las necesidades metabólicas y deben ser incorporados en fertilizantes agrícolas

en forma de urea o sulfato de amonio, y en algunos estudios se ha utilizado nitrato. No obstante, el uso excesivo de nutrientes inorgánicos puede inhibir los procesos de biodegradación por la posible interacción química con los minerales del suelo [8, 20].

Para determinar si es adecuado un determinado tratamiento biológico se necesita evaluar el comportamiento de las poblaciones microbianas, la degradación del contaminante y las condiciones medioambientales más favorables para el sistema creado. La biodegradación se lleva a cabo si existe población microbiana y además está adaptada al sustrato, es decir, si posee las enzimas que catalizan las reacciones de degradación de los hidrocarburos. La complejidad de la composición del petróleo y sus derivados, requiere la existencia de una amplia capacidad enzimática para lograr su degradación. Las poblaciones individuales pueden metabolizar un número limitado de hidrocarburos, sin embargo, las mixtas son capaces de degradar compuestos hidrocarbonados complejos y mezclas de ellos tanto en suelos como en aguas, asimilando estos compuestos como fuente de carbono [9]. En el suelo objeto de análisis, la población heterótrofa de bacterias fue de  $4 \times 10^6$  UFC/g de suelo, no detectándose hongos y levaduras. Es más frecuente encontrar bacterias adaptadas a estos compuestos que hongos y levaduras en el suelo. La población degradadora de hidrocarburos resultó ser 10 UFC/g de suelo. Estos resultados evidencian una población microbiana deprimida, lo que sugiere la biorremediación por bioestimulación o bioaumentación o una combinación de ambas estrategias. Se puede lograr un incremento importante de la población microbiana con la incorporación de nutrientes, la cual siempre es mejor que introducir población exógena al sitio contaminado, pero cuando esta población no es suficiente es necesario aplicar la bioaumentación. Zanaroli y col. [2] describen la degradación componentes parafínicos del diesel con un consorcio comercial de microorganismos ya que una población microbiana mixta es más eficiente que un microorganismo puro.

Considerando la baja concentración de nutrientes y la pobre población microbiana en el suelo, se determinó estimular las poblaciones existentes. La pleurotina se comporta como un fertilizante orgánico y como un acondicionador de los suelos por los altos valores de nutrientes que posee. Los resultados obtenidos según Bermúdez y col. [11] para el cultivo de ajo

puerro chino (*Allium chinese* G. Don), muestra valores superiores en los efectos de las plantas que si se utiliza humus de lombriz, debido a los nutrientes que éste posee. Por otro lado, los lodos de digestión anaerobia son considerados como bioabono porque poseen un contenido de nutrientes dentro del rango contenido los abonos orgánicos empleados en la agricultura cubana y es muy similar al humus de lombriz. Además se ha descrito que este lodo contiene hormonas reguladoras del desarrollo vegetal (ácido indolacético, ácido indolbutírico y ésteres de ácido indolacético) que unida a sus otras propiedades hacen atractivo su uso para lograr el desarrollo de los cultivos [10, 21].

Los valores de nitrógeno y fósforo en el lodo resultaron ser muy cercanos a los del suelo contaminado con petróleo  $2,6 \times 10^{-5}$  mg/g de suelo y  $7,8 \times 10^{-10}$  mg/g de suelo, respectivamente; mientras que en la pleurotina se obtuvieron valores más altos,  $3,4 \times 10^{-2}$  mg/g de nitrógeno y  $4 \times 10^{-4}$  mg/g de fósforo. Estos resultados evidencian que la pleurotina ofrece mayores potencialidades que el lodo para ser utilizado en la bioestimulación de la biota indígena del suelo.

Se comprobó la existencia de microorganismos tanto en el lodo como en la pleurotina. La población heterótrofa de bacterias en el lodo fue de  $4 \times 10^7$  UFC/g de lodos y en la pleurotina fue  $5 \times 10^{12}$  UFC/g de pleurotina. Se determinaron  $4 \times 10^7$  UFC/g de pleurotina de levaduras en la pleurotina. La población degradadora de hidrocarburos resultó  $10^5$  UFC/g de lodos y, en la pleurotina,  $2 \times 10^3$  UFC/g de pleurotina para bacterias y  $3 \times 10^2$  UFC/g de pleurotina para levaduras. En ninguna de la muestras se observó crecimiento de hongos. La población degradadora de hidrocarburos en el lodo es superior a la detectada en el suelo contaminado, lo que contribuye a bioaumentar la microbiota del suelo.

Ambos subproductos biotecnológicos pueden aplicarse en biorremediación por bioaumentación, pues poseen población degradadora de hidrocarburos. Aunque la mayoría de las investigaciones describen la degradación de fracciones de hidrocarburos con poblaciones bacterianas, también se pueden encontrar referencias sobre la participación de hongos. Volke y col. [22] refiere la biodegradación de altas concentraciones de hexadecano utilizando *Aspergillus niger*. Resulta llamativo que en la pleurotina no existan micelios de



hongos de *Pleurotus ostreatus*, el cual es un hongo ligninolítico capaz de degradar e incluso mineralizar compuestos de hidrocarburos.

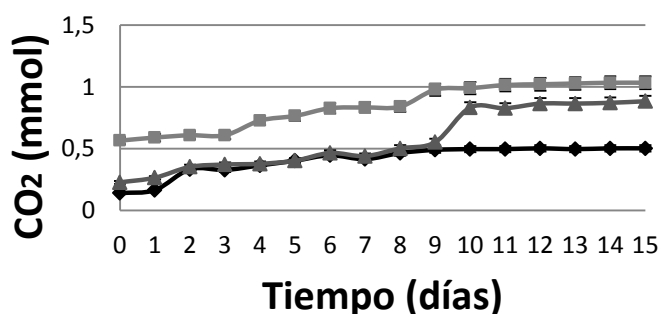
Las condiciones de almacenaje de la pleurotina pueden influir en la detección de micelios de *Pleurotus* puesto que este material se seca al sol (31-36 °C) y posteriormente se almacena para su uso. Para estudios en los que se realiza la bioaumentación se ha utilizado una amplia gama de hongos de pudrición blanca en la remediación de suelos contaminados. La composición del complejo enzimático ligninolítico varía en diferentes especies de hongos de pudrición blanca, no obstante las enzimas ligninoperoxidasa, mangesoperoxidasa y las lacasas resultan ser las mayoritariamente detectadas, además de ser correlacionadas con los procesos de degradación de contaminantes por estos organismos [23, 24]. Los resultados evidencian que el lodo de digestión anaerobia es el de mayor población de bacterias degradadora de hidrocarburos, con el cual, se puede lograr un incremento importante de la población microbiana del suelo. Sin embargo, aunque en la pleurotina el número de bacterias degradadoras fue menor, se presenta una mayor diversidad pues se observaron también levaduras.

La actividad metabólica de los microorganismos puede evaluarse mediante la evolución de CO<sub>2</sub> producido por la microbiota indígena del suelo. En la figura 1 se observa el comportamiento de la actividad respirométrica para los diferentes tratamientos con respecto al tiempo. En el tiempo inicial, la actividad respirométrica es mayor cuando se añade al suelo la pleurotina y los lodos de digestión, probablemente influenciado por la carga microbiana aerobia que posee cada subproducto biotecnológico. En el suelo sin tratar aumenta la actividad respirométrica ligeramente durante los primeros 8 días para permanecer constante en 0,5 mmol de CO<sub>2</sub>. Esta baja producción de CO<sub>2</sub> se debe al poco crecimiento de los microorganismos en este suelo sin tratamiento. Los procesos en que tiene lugar la biodegradación natural de hidrocarburos son muy lentos, además no existen en este suelo los nutrientes necesarios para el desarrollo de los microorganismos autóctonos. Las concentraciones de nitrógeno-fósforo asimilables presentes en el suelo, suelen ser limitantes para un incremento o activación de la población microbiana [24].

Para el caso del tratamiento con lodos de digestión anaerobia la actividad respirométrica aumentó después del noveno día de experimentación

(figura 1), es probable que a partir de ese día pueda decirse que la evolución de CO<sub>2</sub> se deba a la degradación del contaminante y por consiguiente a la oxidación del hidrocarburo. Según se evidencia, la existencia de una mayor población degradadora de hidrocarburos en el lodo anaerobio puede estimular este proceso en la medida en que intermediarios de la degradación del contaminante asimilables por estas bacterias, estén disponibles para su metabolismo. Esta situación pudo condicionar el comportamiento del sistema de modo similar al sistema no tratado. Quizás por eso el comportamiento metabólico inicial sea similar al control y posterior al noveno día se vea incrementado.

En el tratamiento con pleurotina (figura 1), se obtuvieron mejores resultados al obtenerse mayor acumulación de CO<sub>2</sub> al final del experimento. Es significativo que además esta actividad fuera mantenida, resultado de la mayor cantidad de microorganismos presentes en la pleurotina comparado con el suelo de partida; pero igual mayor diversidad microbiana y por tanto, mayores grupos ecofisiológicos y metabolismos degradativos que permitirían el mayor aprovechamiento de los nutrientes presentes en el mismo, incluso del propio contaminante.



**Figura. 1** Actividad respirométrica del suelo (mmol de CO<sub>2</sub>) para los diferentes tratamientos: Control (◆), Lodos (▲) y Pleurotina (■). Cada valor es la media de tres réplicas ± desviación estándar (barras de error)

El suelo tratado con lodos de digestión anaerobia y pleurotina permitió diseñar un proceso de bioestimulación y bioaumentación simultáneo al aprovechar los nutrientes que aportan ambos sustratos orgánicos, además de la microflora presente en los mismos, rica en organismos degradadores de hidrocarburos como es el lodo anaerobio.

Los ensayos en microcosmos, simulan condiciones ambientales próximas a situaciones de biorremediación. Estos son experimentos que duran meses e

incluso algunos autores reportan los resultados al año. Se determinó el contenido de HCs como EOT durante 12 semanas para evaluar la posible biodegradación del contaminante. La biodegradación de hidrocarburos en suelos arenosos es difícil para las poblaciones microbianas ya que el proceso está influenciado por fenómenos de transporte, además de los factores bióticos y abióticos [8].

En la figura 2 se muestra el contenido de HCs expresado en EOT para los distintos tratamientos durante las 12 semanas de experimento. En el suelo natural no se observaron signos de degradación, evidenciado por el mantenimiento del EOT, debido a que la población degradadora de hidrocarburos existente en el suelo es insuficiente, y además al déficit de fuentes nitrogenadas y fosfatadas capaces de intervenir en los procesos de asimilación del contaminante. Sin embargo, cuando se fertiliza y se bioaumenta la población indígena del suelo con lodos de digestión anaerobia se logra una disminución desde los inicios hasta la cuarta semana de experimentación, tiempo en el cual se estabiliza la degradación hasta la octava semana. Luego ocurre una ligera disminución de EOT en la octava semana, que antecede al incremento de la actividad respirométrica (figura 1) y se mantiene constante hasta alcanzar un valor de EOT de 79 g/kg de suelo. Esto es un indicio de lo que se planteó anteriormente, de la disponibilidad paulatina de intermediarios de la degradación de hidrocarburos asimilables por las bacterias presentes en este sustrato. Cuando se fertiliza y se bioaumenta con pleurotina (figura. 2) es más rápida la respuesta, evidenciándose por la disminución de EOT desde la primera hasta la décima semana de experimentación, tiempo en el cual se estabiliza con un valor de 56 g/kg de suelo, para un 52 % de remoción.

En la degradación inciden tanto la diversidad y mayor cantidad de organismos heterótrofos detectados, como el enriquecimiento de este suelo con los nutrientes que aporta el mismo. También pueden estar presentes enzimas ligninolíticas y sustratos facilitadores de procesos de peroxidación como ácidos orgánicos, los que podrían activarse en presencia del contaminante; compuestos en los cuales este sustrato resultante del crecimiento del hongo *Pleurotus sp.* es rico [13]. Los valores de remoción obtenidos en este trabajo son superiores a los alcanzados con fertilizaciones inorgánicas en los cuales sólo disminuyó aproximadamente un 40 % de EOT [8]. Otros investigadores

han obtenido resultados similares, en condiciones naturales, depositando inóculos de estirpes miceliales del hongo en el suelo y constatando la reducción de hasta el 40 % para diferentes moléculas de hidrocarburos aromáticos policíclicos [25].

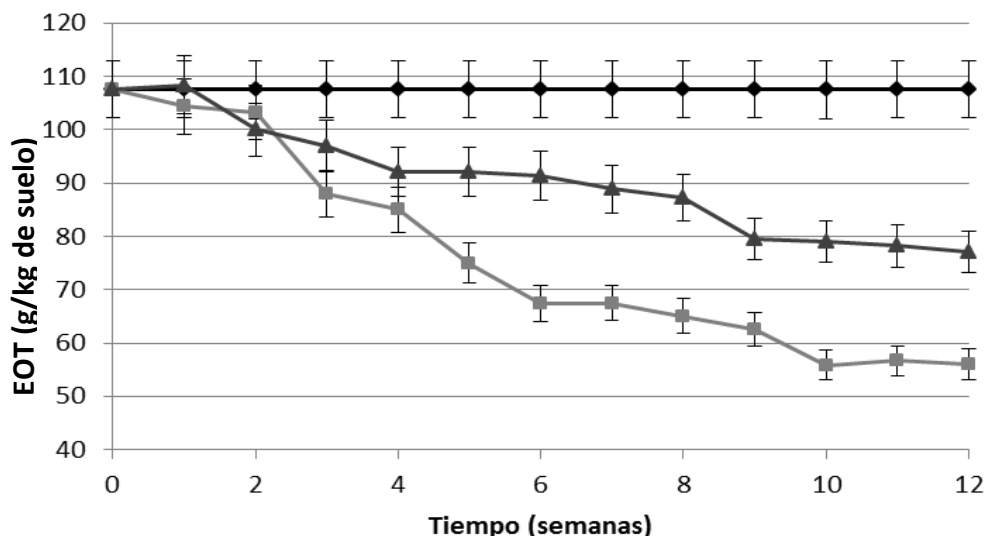


Figura. 2 Extracto Orgánico Total (EOT) para los diferentes tratamientos: Control (♦), Lodos (▲) y Pleurotina (■). Cada valor es la media de tres réplicas  $\pm$  desviación estándar (barras de error)

## Conclusiones

***El suelo analizado es arenoso, con un contenido de extracto orgánico total soluble en solventes orgánicos de 107,5 g/kg de suelo, y con una población microbiana muy deprimida. La mayor remoción de HCs en el suelo arenoso evaluado se obtiene al añadir pleurotina; combinándose la bioaugmentación y bioestimulación de la población microbiana, por el alto contenido de nutrientes y la población degradadora de hidrocarburos presentes en el sustrato. Se pueden ensayar simultáneamente ambas estrategias de biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos, empleando como sustratos residuos orgánicos de procesos biotecnológicos.***

## Bibliografía

1. LÓPEZ, S.; GALLEGOS, M.; PÉREZ, L.; GUTIÉRREZ M. "Contaminated soil phytoremediation by *Cyperus laxus* Lam. Cytochrome P 450 EROD – activity induce by hydrocarbons in roots". *International Journal of Phytoremediation*. 2008, vol. 10, pp. 289 – 301
2. ZANAROLI, G.; DI TORO, S.; TODARO, D.; VARESE, G.; VERTOLOTTI, A.; FAVA, F. "Characterization of two diesel fuel degrading microbial consortia enriched form a non acclimated, complex

- source of microorganisms". *Microbial Cell Factories*. 2010, vo.l 9, pp. 1-10.
3. PAZOS, M.; ROSALES, E.; ALCÁNTARA, T.; GOMÉZ, J.; SANROMÁN, M.A. "Descontamination of soils containing PHAs by electroremediation: a review". *Journal of Hazardous Materials*. 2010, vol. 177, pp. 1 – 11.
  4. LUZ, C.; SANTOS, E.; SANTOS, M.O.; MUSSY, M.; YAMASHITA, M.; BASTOS, W.; BUCHA, G.; REIS, M.M.; REIS, M.G. "Estudos de biodegradação de óleo diesel por consórcio microbiano coletado em Porto Velho – Ro, Amazônia". *Quim. Nova*. 2011, vol. 34, núm. 5, pp. 775-779.
  5. MEDINA, A.; HUERTA, S.; GUTIÉRREZ, M. "Hydrocarbon biodegradation in oxygen – limited secuential batch reactors by consortium from weathered, oil – contaminated soil". *Can. J. Microbiol.* 2005, vol. 51, pp. 231 – 239.
  6. PUCCI, G.; ACUÑA, A.; TONIN, N.; TIEDEMANN, M.; PUCCI, O. "Diversidad de bacterias cultivables con capacidad de degradar hidrocarburos de la playa de Caleta Córdova, Argentina". *Rev. peru. biol.* 2010, vol. 17, núm. 2, pp. 237-244.
  7. SABATÉ, J.; VIÑAS, M.; SOLANAS, A.M. "Laboratory–scale bioremediation experiments on hydrocarbon – contaminated soils". *International Biorremediation & Biodegradation*. 2004, vol. 54, pp.19-25.
  8. NÁPOLES, J.; MARAÑÓN, A.; CUMBÁ, F.; ANLLO, Y.; ABALOS, A. "Tratabilidad de suelos contaminados con petróleo aplicando microcosmos". *Revista Cubana de Química*. 2005, vol. 17, pp. 179-185.
  9. VIÑAS, M. "Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos: caracterización microbiológica, química y ecotoxicológica". Tesis doctoral. Universidad de Barcelona. España. 2005, 342 p.
  10. QUEVEDO, P. "Utilización de lodos de digestión anaerobia como bioabonos en plantas ornamentales". Tesis en opción al título de Máster en Biotecnología. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad de Oriente. Santiago de Cuba. Cuba. 2004, 48 p.
  11. BERMÚDEZ, R.C.; GARCÍA, N.; GROSS, P.; SERRANO, M.; MUSTELIER I. "Aprovechamiento de la Pleurotina como abono orgánico". *Revista Agricultura Orgánica*. ACTAF 2010, vo.l 16, núm. 2, pp. 28 – 29.
  12. ROBERTSON, S.; MC GILL, W.; MASSICOTTE, H.; RUTHERFORD, M. "Petroleum hydrocarbon contamination in boreal forest soils: a mycorrhizal ecosystem perspective". *Biological Reviews*. 2007, vol. 82, pp. 213 – 240.
  13. XUANZHEN, L.; XIANGUI, L.; JING, Z.; YUCHENG, W.; RUI, Y.; YOUNZHI, F.; YONG, W. "Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by crude extracts from spent mushroom substrate and its possible mechanism". *Curr. Microbiol.* 2010, vol. 60, pp. 336 - 342.
  14. JACKSON, M. L. *Análisis químico de los suelos*. Edición Revolucionaria. Instituto del Libro. Cuba. 1979, 481 p.
  15. APHA. *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. 21th edition. American Press. Health Association. USA. 2005, 1350 p.
  16. MADIGAN, M.; MARTINKO, J.; PARKER, J. Brock. *Biología de los microorganismos*. Décima edición revisada. Prentice Hall Iberia. Madrid. España. 2010, 986 p.

17. RICE, L.; HEMMINGSEN, B. "Enumeration of hydrocarbon – degrading bacteria". *Methods in Biotechnology, 2. Bioremediation protocols*, Human Press. USA. 1997, pp. 99-107.
18. DOMÈNECH, X. *Química del suelo. El impacto de los contaminantes*. 3ra Edición. Miraguano S. A. Madrid. España. 2000, 190 p.
19. CHOROM, M.; SHARIFI, H. S.; MOTAMEDI, H. "Bioremediation of a crude oil – polluted soil by application of fertilizers". *Iran. J. Environ. Health. Sci. Eng.* 2010, vol. 7, núm. 4, pp. 319- 326.
20. DIAS, R. "Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos en clima frío y templado. Ensayo y evaluación de distintas estrategias". Tesis Doctoral. Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de la Plata. Argentina. 2011. 209 p.
21. RODRÍGUEZ, S.; TERRY, A.; IZQUIERDO, J.; BERMÚDEZ, R.C. "Utilización de lodos anaerobios como bioabonos". *Revista Agricultura Orgánica*. 2003, vol. 9, núm. 1, pp. 19-21.
22. VOLKE, T.; GUTIÉRREZ, M.; FAVELA, E. "Biodegradation of high concentrations of hexadecane by *Aspergillus niger* in a solid-state system: Kinetic analysis". *Bioresource Technology*. 2006, vol. 97, pp. 1583–1591.
23. POZDNYAKOVA, N. N.; NIKIFOROVA, S. V.; MAKAROV, O. E.; TURKOVSKAYA, O. V. "Effect of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons on Laccase Production by White Rot Fungus *Pleurotus ostreatus* D1". *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2010, vol. 47 núm. 5, pp. 543–548.
24. SAYARA, T.; BORRÀS, E.; CAMINAL, G.; SARRÀ, M.; SÁNCHEZ, A. "Bioremediation of PAHs-contaminated soil through composting: Influence of bioaugmentation and biostimulation on contaminant biodegradation". *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2011, vol. 65, núm. 6, pp. 859 – 865.
25. LESTAN, D.; LAMAR, R.T. "Development of fungal inocula for bioaugmentation of contaminated soils". *Appl Environ. Microbiol.* 1996, vol. 62, pp. 2045-2052.