

# Biorremediación de lodos petroquímicos mediante el uso de la biota microbiana autóctona en un oxisol del municipio Lagunillas del estado Zulia, Venezuela

Bioremediation of petrochemicals sludges by native microflora in an oxisol at the Lagunillas Municipality, Zulia State, Venezuela

Iván CHIRINOS ✉, Miguel LARREAL y Jesús DIAZ

Departamento de Ingeniería Suelos y Agua. Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela. E-mails: ichirinos3@gmail.com y miguellarreal@cantv.net ✉ Autor para correspondencia

Recibido: 25/03/2009      Fin de arbitraje: 26/07/2009      Revisión recibida: 28/12/2010      Aceptado: 30/12/2010

## RESUMEN

Con el fin de evaluar el proceso de degradación de lodos petroquímicos ricos en hidrocarburos, se realizó un trabajo de investigación en un oxisol del municipio Lagunillas del estado Zulia. Se diseñaron parcelas de 1m x 2m, con una separación entre parcela de 50 cm, y una altura de borde de 40 cm. El lodo fue adicionado en dosis crecientes de 0, 5, 7,5 y 10 L\*m<sup>-2</sup> con cuatro repeticiones. En este experimento no se aplicó ningún tipo de fertilizante mineral ni orgánico. La población bacteriana total, *Pseudomonas* y *Alcaligenes* fueron evaluadas mensualmente, hasta los 150 días. La degradación de los hidrocarburos, tanto aromáticos como saturados o alifáticos, se evaluó a los 30, 120 y 300 días, determinando el % de remoción de los mismos. Los resultados mostraron que las bacterias del género *Alcaligenes* se desempeñaron mejor y se adaptaron de manera aceptable ante las condiciones de alta concentración de hidrocarburos al contrario de las *Pseudomonas*. La degradación de hidrocarburos fue más rápida en aromáticos que en alifáticos, debido a la volatilidad de los primeros.

**Palabras clave:** Biorremediación, hidrocarburo aromático, hidrocarburo alifático

## ABSTRACT

In order to evaluate degradation process of hydrocarbons in petrochemicals sludge was made an investigation in an oxisol soil at the Municipality Lagunillas at the Zulia state. Designed plots with 1m x 2m as dimensions, 50cm between plots and 40 cm of height. Sludge was aggregated in crescents doses (0.0, 5.0, 7.5 and 10.0 L\*m<sup>-2</sup>) and 4 replications. No mineral and organic fertilizer was used. The total bacterial population, *Pseudomonas* and *Alcaligenes* was evaluated every month, till 150 days. Hydrocarbons degradation, aromatic and aliphatic, was evaluated at 30, 120 and 300 days, determining their degradation %. The results showed that the *Alcaligenes* bacterial was better to degrade hydrocarbons than the *Pseudomonas* bacteria. Aromatic hydrocarbons degradation was more rapid than aliphatic hydrocarbons, due to the aromatic volatility.

**Key words:** Bioremediation, aromatic hydrocarbon, aliphatic hydrocarbon

## INTRODUCCIÓN

La sociedad actual, con un alto desarrollo industrial y tecnológico para la obtención de bienes de consumo, basado en un elevado uso de energía, genera una serie de desechos que impactan de forma negativa sobre los ecosistemas: suelo, agua y aire.

En el caso particular del suelo, se puede aprovechar la capacidad que este posee para procesar y degradar en su interior compuestos de origen orgánico, a través de la biorremediación (Benavides *et al*, 2006).

En nuestra región, las actividades petrolera y petroquímica han generado durante décadas una gran cantidad de desechos ricos en hidrocarburos que de

alguna manera han impactado el medio ambiente, provocando deterioro de la flora, fauna y en los recursos hídricos de las zonas adyacentes a los sitios de explotación (Bracho *et al*, 2004). Esto ha obligado al establecimiento en la región de Centros de Manejo de Desechos, autorizados por el estado, bajo el cumplimiento de ciertos requisitos, y que han obtenido resultados satisfactorios en tratamiento de dichos de desechos, con un mínimo impacto al ecosistema, empleando la técnica de biorremediación.

Estos Centros de Manejo de Desechos están ubicados en zonas cuyos suelos poseen condiciones ideales para tal fin como son: baja fertilidad y poca capacidad para el uso agrícola debido a la condición de acidez que los caracteriza, típicos de las regiones tropicales con períodos definidos de precipitación.

Estas condiciones de suelo mejoran con el aporte de nutrimentos producto de la degradación de los componentes orgánicos presentes en los desechos, como consecuencia de la actividad de microorganismos del suelo que poseen la capacidad de desdoblar esos compuestos hasta sustancias no tóxicas y asimilables por los organismos vivos del suelo (Siqueira, 1988).

Una manera de lograr dicha degradación, bajo condiciones de clima tropical, sería el aprovechamiento de la microflora del suelo (Atlas y Bartha, 2002).

La biodegradación de hidrocarburos por poblaciones nativas de microorganismos representa uno de los mecanismos primarios por el cual los hidrocarburos contaminantes son eliminados del ambiente. Las tasas de degradación bajo condiciones óptimas de laboratorio se encuentran entre 2.500 – 100.000 g/m<sup>3</sup>/día, bajo condiciones de campo (*in situ*) están en un orden de magnitud bajo, en el rango de 0,001-60 g/m<sup>3</sup>/día (Atlas, 1981).

Esta tasa de descomposición microbiana de compuestos orgánicos en los suelos es una función de varios factores: disponibilidad de microorganismos; cantidad de estos microorganismos; grado de actividad de estos, tipo de sustrato, concentración de los compuestos orgánicos, etc.

Existen además factores muy importantes como contenido de materia orgánica y arcilla, nivel de humedad, pH, aireación y contenido de nutrimentos (Vecchioli *et al.*, 1990).

La actividad y/o población de las bacterias nativas puede ser incrementada por el suministro de nutrimentos esenciales para el crecimiento de las mismas, además de la adición de cepas bacterianas lo cual puede alterar drásticamente las características físicas y químicas de las superficies sólidas, alterando la capacidad de sorción de contaminantes por la fase sólida del suelo (Siqueira, 1988).

La tasa de degradación de las moléculas orgánicas depende básicamente de su estructura química. La biodegradabilidad disminuye con la reducción del tamaño de la cadena; y las formas insaturadas son menos biodegradables que las saturadas, de la misma forma que las cadenas ramificadas en relación a las lineales y las cíclicas en relación a las abiertas (Benavides *et al.*, 2006).

El paso inicial en el proceso de degradación de hidrocarburos por bacterias y hongos envuelve oxidación del sustrato por oxigenasas, para lo cual se requiere oxígeno molecular. La disponibilidad de oxígeno en suelos, sedimentos y acuíferos es frecuentemente limitante y depende del tipo de suelo (Overcash y Pal, 1979).

La degradación anaeróbica de hidrocarburos por microorganismos también ocurre, no obstante, es muy baja y su significación ecológica puede ser menor (Atlas y Bartha, 2002).

Este estudio tuvo como objetivo evaluar el proceso de biodegradación de lodo petroquímico *in situ*, aprovechando la microflora nativa, y bajo condiciones naturales, sin fertilización, sin inoculación de bacterias, con el fin de lograr la descontaminación de suelos sometidos a derrames de productos hidrocarbonados.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento fue realizado empleando un suelo Francoarcilloarenoso (FAa) en el Centro de Manejo de Desechos de la Empresa Samfor (Cuadro 1) ubicado en el Danto, municipio Lagunillas, del estado Zulia, Venezuela, zona cuya precipitación media anual es de 650 mm., la evaporación acumulada de 2.383 mm., la temperatura media anual de 28,3 °C y radiación solar cercana a 400 cal\*m<sup>-2</sup>.

Se usó lodo petroquímico no tratado en dosis crecientes de 0,0; 5,0; 7,5 y 10,0 L\*m<sup>-2</sup>, dispuestos e incorporados al suelo dentro de cuadrículas de 2 m<sup>2</sup> de superficie y bordes de separación de 40 cm. de altura. La caracterización química del lodo aparece en el cuadro 2. El carbono orgánico se determinó por el método de Walkley-Black, implica la oxidación de la materia orgánica mediante digestión húmeda (120 °C) con una mezcla de dicromato de potasio y ácido sulfúrico. En síntesis, un volumen exacto de dicromato de potasio es agregado a una muestra de suelo finamente molida, el cual oxida una parte del carbono orgánico ( $\approx$  77% del carbono total) y el excedente de dicromato de potasio es titulado con sulfato ferroso. Luego, por diferencia se estima la cantidad de carbono orgánico oxidado (Houba *et al.*, 1995).

Para la determinación del nitrógeno (N) se realizó la digestión con ácido sulfúrico concentrado de una muestra en un bloque digestor a 375 °C. El

nitrógeno orgánico es transformado a nitrógeno amoniacal por la acción del ácido sulfúrico y los catalizadores (sulfato de potasio, sulfato de cobre y selenio). Luego se realizó una destilación en presencia de hidróxido de sodio, recogiendo el destilado en una solución ácido bórico indicadora y titulándola con un ácido de concentración conocida (ácido sulfúrico o ácido clorhídrico) estandarizado (Bremner, 1996).

El fósforo disponible del suelo fue extraído con una solución de bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ) 0,5 M, con un pH 8,5. En suelos alcalinos, calcáreos y neutros que contienen fosfatos de calcio, esta solución precipita el calcio como  $\text{CaCO}_3$ , y consecuentemente, se induce un aumento en la concentración de fósforo de la solución de suelo. En suelos ácidos, conteniendo hierro y aluminio, la concentración de fósforo en la solución del suelo aumenta a medida que el pH aumenta. Este método es conocido como de Olsen (Houba *et al.*, 1995).

Luego de su disposición se procedió al secado del mismo por efecto del aire (durante 10 días), se incorporó mediante el uso de implementos sencillos como escardilla, pala, etc., a la aplicación de riego con una frecuencia diaria y labranza manual mínima para facilitar la aireación. La humedad se mantuvo

cercana a capacidad de campo (CC) alrededor de 27%.

El método de biorremediación usado en este experimento fue Landfarming que consiste en: método *in situ* que combina la utilización de los microorganismos autóctonos para degradar compuestos orgánicos por el suelo y la aireación suministrada con el uso de implementos manuales de labranza. (Benavides *et al.*, 2006).

El muestreo de suelo se efectuó a los 30, 60, 90, 120 y 150 días para determinar el tamaño de la población bacteriana (heterótrofos totales, *Pseudomonas* y *Alcaligenes*), a través de la técnica de recuento en placas, empleado por Daniels en 1972. Por medio de esta técnica se determinó el número de

Cuadro 2. Caracterización química del lodo empleado en el ensayo.

Variable	Valor
pH	7,9
Hydrocarburos aromáticos (mg/kg)	3800
Hydrocarburos saturados(mg/kg)	4200
Carbono orgánico (mg/kg)	4312
Nitrógeno Total (mg/kg)	1785
Fósforo (mg/Kg)	587

Cuadro 1. Caracterización física y química del suelo bajo estudio.

Profundidad (cm)	Arena (mm)					Partícula (%)			Textura
	Muy Gruesa 2-1	Gruesa 1-0,5	Media 0,5-0,25	Fina 0,25-0,1	Muy Fina 0,1-0,05	Arena	Limo	Arcilla	
0-24	0,20	3,17	9,73	21,36	14,36	49,04	23,46	27,50	FAa
24-45	0,30	2,45	8,37	22,10	8,20	41,42	30,68	27,90	FAa
45-75	0,41	1,57	7,50	22,69	4,83	37,00	34,30	28,70	FA
75-124	0,43	1,63	7,15	20,93	3,38	33,52	36,18	30,30	FA

Profundidad (cm)	pH $\text{H}_2\text{O}$ 1: 2	C E ( $\text{dS m}^{-1}$ ) $\text{H}_2\text{O}$ 1: 2	Carbono orgánico (%)	Fósforo disponible (ppm) Bray I	Al ( $\text{cmol*kg}^{-1}$ )
0-24	4,33	0,19	1,01	3,39	1,44
24-45	4,37	0,12	0,26	1,45	1,80
45-75	4,31	0,19	0,20	1,64	1,62
75-124	4,15	0,16	0,12	1,33	1,80

Profundidad (cm)	Bases intercambiables ( $\text{cmol*kg}^{-1}$ )					H ( $\text{cmol*kg}^{-1}$ )	C.I.C $\text{NH}_4\text{AcO}$ ( $\text{cmol*kg}^{-1}$ ) (1)	C.I.C Suma ( $\text{cmol*kg}^{-1}$ ) (2)
	Ca	Mg	Na	K	Total			
0-24	0,53	0,07	0,19	0,31	1,10	2,0	7,50	4,54
24-45	0,50	0,10	0,15	0,11	0,86	2,0	5,62	4,66
45-75	0,25	0,23	0,17	0,11	0,76	1,8	5,62	4,18
75-124	0,28	0,12	0,15	0,18	0,73	2,0	5,00	4,53

Unidades Formadoras de Colonia en muestras de 50 g de mezcla suelo-lodo cada gramo de suelo ( $\text{UFC} \cdot \text{g}^{-2}$ ), tomando 1 mL de cada fiola para realizar diluciones seriadas en solución salina al 0,85% hasta  $10^6$  diluyendo 10 mL en 90 mL de agua y sembrando 100  $\mu\text{L}$  de cada dilución en placas de agar nutritivo. Los cuales se incubaron por 24 h a 30 °C, después de lo cual se cuantificaron las colonias bacterianas en las placas que contenían entre 30 y 300 colonias.

El muestreo de suelo para la determinación de los hidrocarburos aromáticos y saturados se realizó a los 30 días de iniciado el ensayo, luego a los 120 días y el último muestreo se efectuó a los 300 días, colocando la muestra en envases refrigerados para evitar la pérdida de estos compuestos por volatilización y/o desnaturalización. El análisis de las muestras se realizó mediante el método de extracción con cloroformo y determinación gravimétrica del hidrocarburo extraído. La fracción saturada y la aromática fueron diluidas con hexano y benceno, respectivamente, la determinación se obtuvo por colorimetría para aromáticos y cromatografía de gases para saturados, según metodología establecida por la Agencia Americana de Protección Ambiental (Rudolph, *et al.*, 2002). No se muestran las concentraciones obtenidas por cromatografía debido a la prohibición expresa de la empresa PEQUIVEN, por lo que sólo se expresan en porcentajes de remoción.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Población bacteriana

Los resultados obtenidos en cuanto a población bacteriana, parámetro importante en la evaluación de la biorremediación, muestran según la figura 1, el comportamiento como se describe a continuación:

La máxima población de bacterias totales presentes se alcanzó en la dosis de 0 L de lodo  $\cdot \text{m}^{-2}$  de suelo y estuvo por encima de las 200.000 unidades formadoras de colonia  $\cdot \text{g}^{-1}$  de suelo ( $\text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$  de suelo), seguida de las dosis de 5,0; 7,5 y 10,0  $\text{L} \cdot \text{m}^{-2}$ .

Este resultado es lógico y tiene sentido debido a que durante el proceso de degradación del lodo (derivado de hidrocarburos) resultan productos intermedios que poseen un alto grado de toxicidad y provocan un impacto negativo en la biota microbiana del suelo, disminuyendo su población por debajo de las 100.000  $\text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$  de suelo para la dosis 5  $\text{L} \cdot \text{m}^{-2}$  y

por debajo de las 50.000  $\text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$  para las dosis de 7,5 y 10  $\text{L} \cdot \text{m}^{-2}$ .

Esto según Siqueira, (1988), se explica por las diferentes transformaciones debido a las reacciones químicas por las que pasan los compuestos orgánicos en el suelo, entre las cuales se conocen: Conjugación: cuando el sustrato se torna más complejo por la adición o acomplejamiento con metabolitos microbianos, pudiéndose tornar más recalcitrante y más tóxico. Activación: es la conversión, por acción enzimática, del sustrato no tóxico a una molécula tóxica.

Dado que el ensayo fue realizado en un suelo de reacción ácida (Cuadro 1), esto demuestra que además de los compuestos tóxicos derivados de las reacciones de degradación inicial, se suma el efecto limitante del factor pH, ya que la mayoría de los microorganismos, especialmente las bacterias se ven limitadas y afectadas por la acidez del suelo (Atlas y Bartha, 2002).

Por otro lado, es importante resaltar el hecho de que la población bacteriana total, disminuye drásticamente para la dosis 0 (cero) a pesar de no estar afectada por el lodo, lo cual tiene su explicación en la falta de nutrientes debido a que el ensayo se diseñó para realizarse sin fertilización, y al disturbar el suelo dejándolo sin cubierta vegetal, se afecta la condición original del mismo desmejorando su calidad como sustrato, mermando la población bacteriana, acentuada a partir de los 60 días de iniciado el experimento.

Entre los géneros de bacterias específicas para degradar hidrocarburos se encuentra las *Pseudomonas*, cuya población tuvo un comportamiento similar a la población total (Figura

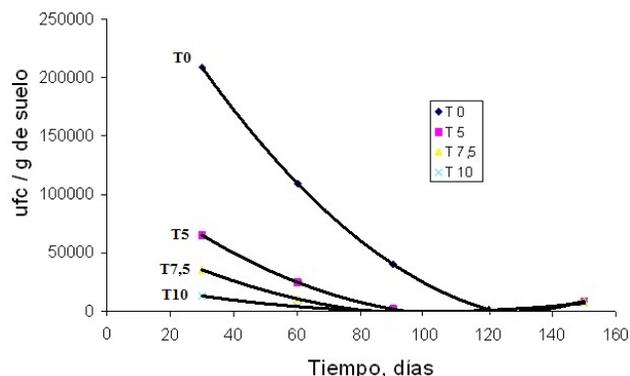


Figura 1. Población de bacterias totales vs. Dosis de lodo y tiempo

2), disminuyendo su número a partir de los 30 días a niveles de menos de 400 UFC\* $g^{-1}$  para la dosis de 5 L\*m $^{-2}$  y menos de 200 UFC\* $g^{-1}$  para las dosis de 7,5 y 10 L\*m $^{-2}$ .

El género *Pseudomonas*, ha sido identificado históricamente como degradador de gran cantidad de sustratos como el n-hexadecano, mineralización de compuestos alifáticos en condiciones anaeróbicas y degradador de hidrocarburos aromáticos y poli aromáticos, así como del pireno en estudios *in vitro* (Fan *et al.*, 2000, Braker *et al.*, 1998). De acuerdo con los resultados de la Figura 2, las *Pseudomonas* representan un género susceptible a la acidez del sustrato y a la toxicidad debida a la presencia de compuestos recalcitrantes como hidrocarburos aromáticos y saturados contenidos en el lodo.

Comportamiento opuesto mostró el género *Alcaligenes* cuya población, aunque no muy numerosa, registró un incremento a partir de los 60 días de iniciado el ensayo, en los tratamientos de 5, 7,5 y 10 L\*m $^{-2}$ , no siendo así para el testigo o tratamiento 0 (Figura 3).

Según la Figura 3 a partir de los 120 días la población de *Alcaligenes* registra un comportamiento exponencial, lo que hace pensar que manteniendo los niveles de sustrato rico en carbono en el suelo, se alcanzaría en cualquier momento una población elevada lo cual garantizaría la degradación de los componentes orgánicos dispuestos en el suelo. Resultados similares obtuvieron Díaz Borrego *et al.*, (2005) quienes trabajaron con *Pseudomonas* y *Alcaligenes* en sustratos formados por Antraceno y Naftaleno, sin suelo.

*Alcaligenes* han mostrado capacidad para degradar hidrocarburos de petróleo (TPH), lo que los

hace candidatos para el tratamiento de terrenos contaminados con estos productos. Sin embargo, su poca abundancia se convierte en una desventaja para su aplicación (Nannipieri *et al.*, 2001). Este es un factor limitante y explica su baja población en condiciones naturales del suelo (< 50 UFC\* $g^{-1}$ ).

Al analizar los resultados de poblaciones bacterianas, totales, *Pseudomonas* y *Alcaligenes*, la sumatoria de estos últimos géneros debería ser bastante aproximada a la población total, en este caso, la población total es cientos de veces mayor que dicha sumatoria. La explicación a este fenómeno radica en que cuando se determina la población total de bacterias se incluyen géneros menos importantes en la degradación de hidrocarburos que no son identificados o tomados en cuenta tales como: *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Rhodococcus*, *Agrobacterium*, *Flavobacterium*, *Micobacterium*, etc.

La disminución drástica de la población bacteriana a partir de los 60 días de iniciado el ensayo se debe, además de los aspectos mencionados anteriormente a la baja fertilidad del suelo y al agotamiento de los pocos nutrimentos existentes en el mismo.

Según la figura 3 a partir de los 120 días la población de *Alcaligenes* registra un comportamiento exponencial, lo que hace pensar que manteniendo los niveles de sustrato rico en carbono en el suelo, se alcanzaría en cualquier momento una población elevada lo cual garantizaría la degradación de los componentes orgánicos dispuestos en el suelo. Resultados similares obtuvieron Díaz Borrego *et al.*, (2005) quienes trabajaron con *Pseudomonas* y *Alcaligenes* en sustratos formados por Antraceno y Naftaleno, sin suelo.

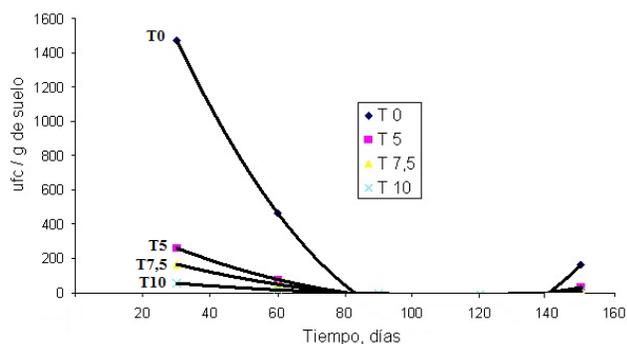


Figura 2. Población de *Pseudomonas* vs. Dosis de lodo y tiempo.

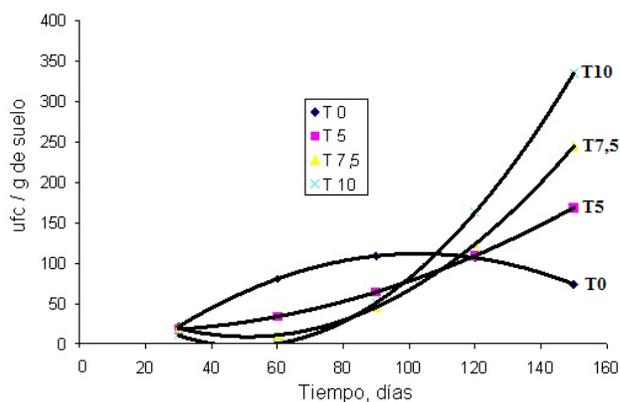


Figura 3. Población de *Alcaligenes* vs. Dosis de lodo y tiempo.

### Remoción de hidrocarburos aromáticos

En el cuadro 3 se observa que los hidrocarburos aromáticos alcanzan el máximo de remoción o degradación (100%) al cabo de 300 días con excepción del tratamiento 10 L\*m<sup>-2</sup> cuyo porcentaje de remoción o degradación, a pesar de ser elevado, no alcanzó el 100%, lo cual hace pensar que se logrará en un tiempo mayor, cercano a los 300 días. No se muestran las concentraciones obtenidas por cromatografía y espectrofotometría debido a la prohibición expresa de la empresa PEQUIVEN, por lo que sólo se expresan en porcentajes de remoción.

En el cuadro 3, se puede apreciar que el tratamiento con 5 L lodo\*m<sup>-2</sup> tuvo un comportamiento irregular considerando que la diferencia de remoción entre los 30 y 120 días no fue muy marcada si se compara con el resto de los tratamientos.

Esto pudo deberse a múltiples factores, entre ellos: efecto de una baja actividad microbiana durante ese período para dicho tratamiento, efecto bordura, etc.

Orientados en el mismo objetivo, Bracho *et al.*, (2004), aislaron 37 cepas bacterianas capaces de degradar hidrocarburos aromáticos, entre ellas bacterias del género *Pseudomonas* y *Alcaligenes*, y lograron la degradación total de hidrocarburos aromáticos policíclicos como el naftaleno y el antraceno y en un 78,57% se degradó el fenantreno.

Por otro lado, Xiaojun *et al.*, (2008), trabajaron sobre degradación de hidrocarburos policíclicos aromáticos en un suelo limoso (63% de limo), empleando combinaciones de hongos y bacterias y poblaciones aisladas de bacterias, obteniendo mayor degradación con el uso de bacterias, registrando un mayor % de degradación el benceno y el antraceno (64,5% y 84,5%

respectivamente).

Chang *et al.*, (2002) trabajaron en condiciones anaeróbicas en un suelo franco y estudiaron la degradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos y lograron la degradación total del antraceno a los 35 días y a los 95 días se degradaron totalmente los compuestos fenantreno, pireno y acenafteno.

Otro trabajo similar fue realizado por Rahman *et al.*, (2002), basado en la biorremediación de un oxisol de la India contaminado por gasolina y emplearon restos de cosecha como abono a fin de estimular a microflora autóctona, sobre todo el género *Pseudomonas* con tiempo de duración de 90 días en el que lograron hasta 80 % de degradación de los componentes aromáticos en el suelo.

### Remoción de hidrocarburos saturados

Estos compuestos por ser de cadenas abiertas no cíclicas son generalmente más fáciles de degradadas que los aromáticos (cíclicas). Sin embargo, el cuadro 4 muestra que al final del experimento se alcanzó una degradación que varió entre 70 y 78 %.

A diferencia de los aromáticos, los hidrocarburos saturados, en este caso no fueron degradados totalmente debido a que ellos no tienen la propiedad de ser volátiles, característica de los aromáticos que se ve acentuada y elevada en condiciones de altas temperaturas, siendo este aspecto lo que explica el hecho de que los aromáticos fueron degradados totalmente y los saturados no.

Díaz Borrego *et al.*, (2005), estudiaron en condiciones de laboratorio, usando bacterias del género *Pseudomonas*, *Bacillus*, etc, la degradación de hidrocarburos saturados del petróleo, en medios y sustratos minerales y obtuvieron que los hidrocarburos alifáticos o saturados fueron

Cuadro 3. Degradación de hidrocarburos aromáticos, expresados en porcentaje de remoción.

Tratamiento (L lodo*m <sup>-2</sup> )	Tiempo (días)		
	30	120	300
0,0	44	81	100
5,0	19	33	100
7,5	19	50	100
10,0	13	52	94

Cuadro 4. Degradación de hidrocarburos saturados o alifáticos, expresados en porcentaje de remoción.

Tratamiento (L lodo*m <sup>-2</sup> )	Tiempo (días)		
	30	120	300
0,0	22	43	73
5,0	12	27	78
7,5	21	29	72
10,0	22	26	70

degradados totalmente y los aromáticos apenas alcanzó un 12,5% de degradación y los hidrocarburos totales un 40,5% de degradación.

En cuanto a la presencia de hidrocarburos tanto aromáticos (Cuadro 3) y saturados o alifáticos (Cuadro 4) en el tratamiento 0 L lodo\*m<sup>-2</sup>, esto se debe al efecto de la volatilización y/o infiltración en el caso de los aromáticos y a la infiltración en el caso de los saturados.

### CONCLUSIONES

- La microflora autóctona del suelo poseen la capacidad de biodegradación de los compuestos hidrocarbonados contenidos en los desechos de origen petroquímico.
- El efecto de los compuestos aromáticos y alifáticos sobre la población de bacterias, se relaciona con el nivel de fertilidad y/o disponibilidad de nutrimentos en suelo, además del pH, factor que limita tanto la disponibilidad como la solubilidad de nutrimentos y la actividad sobre todo de las bacterias, cuyo rango de pH para su adaptación es reducido.
- La población total de bacterias se ve afectada drásticamente a partir de los 60 días de iniciado el ensayo y es más marcado cuanto mayor es la dosis de lodo petroquímico adicionado, el género *Pseudomonas* se mostró muy sensible a la presencia de compuestos orgánicos de origen petroquímico, siendo más afectado cuanto mayor fue la dosis de lodo adicionado, el género *Alcaligenes* por el contrario tuvo un comportamiento inverso a *Pseudomonas* y se adaptaron mejor ante la presencia de contaminantes orgánicos y cuando disminuyó la población de *Pseudomonas*, la de *Alcaligenes* tendieron a incrementarse.
- A partir de los 90 días, el aumento de la población de *Alcaligenes* fue directamente proporcional a la dosis de lodo petroquímico, al contrario a lo observado en la población total de bacterias y en el género *Pseudomonas*.
- La degradación de hidrocarburos aromáticos se logró totalmente a los 300 días de iniciado el experimento, esta degradación en parte se debió a las pérdidas de los mismos en forma volátil, dadas las condiciones de alta temperatura registradas en

la zona donde se realizó el experimento, a pesar de ser más fáciles de degradar los hidrocarburos saturados o alifáticos que los aromáticos, con los alifáticos no se logró la degradación total, debido a la característica de volatilidad de los aromáticos.

### LITERATURA CITADA

- Atlas, R. M. 1981. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Microbiol. Rev.* 45: 180-209.
- Atlas, R. M. y R. Bartha. 2002. Ecología microbiana y microbiología ambiental. Ed. Addison Wesley. Madrid. 561 p.
- Benavides, L. J.; G. Quintero, V. A. Guevara, C. D. Jaimes, R. S. Gutiérrez y G. J. Miranda. 2006. Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados de petróleo. *Nova* 4 (5): 82-90.
- Bracho, M.; D. Laugeny y S. Luz. 2004. Degradación de hidrocarburos aromáticos por bacterias aisladas de suelos contaminados con petróleo en el estado Zulia, Venezuela. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas* 38 (3): 15-22.
- Braker, G.; A. Fesefeldt and K. P. Witzel. 1998. Development of PCR primer systems for amplification of nitrite reductase genes (*nirK* and *nirS*) to detect denitrifying bacteria in environmental samples. *Applied and Environmental Microbiology* 64 (10): 3769-3775.
- Bremner, J. M. 1996. Nitrogen-Total. p. 1085-1121. In Sparks, D.L. (ed.). *Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods.* Soil Science Society of America Book Series 5. Amer. Soc. of Agron, Madison, Wisconsin.
- Chang, B.; L. Shiung and S. Yuan. 2002. Anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon in soil. *Chemosphere* 48: 717-724.
- Daniels, S. L. 1972. The adsorption of microorganisms on surfaces: a review. *Dev. Ind. Microbiol.* 13: 211-253.
- Díaz Borrego, L.; J. Dupont, L. Atencio, X. Montiel y L. M. Soto Díaz. 2005. Crecimiento de *Pseudomonas alcaligenes* en antraceno y naftaleno por recuento en placas y microscopía de

- epifluorescencia. Boletín Centro de Investigaciones Biológicas 3 9(1): 1-12.
- Fan, C.; X. Qing and J. Kuang. 2003. Aerobic denitrification of *Pseudomonas aeruginosa* monitored by online NAD(P)H Fluorescence. Applied and Environmental Microbiology 69 (11): 6715-6722.
- Houba, V. J. G.; J. J. Van der Lee and I. Novozamsky. 1995. Soil analysis procedures. Other procedures (Soil and Plant Análisis, part 5B). 6<sup>th</sup> edition. Series Syllabi. Department of Soil Science and Plant Nutrition, Wageningen Agricultural University 45 p.
- Nannipieri, P.; J. Ascher, M. Ceccherini, L. Landi, M. Pietramellara and G. Resella. 2001. Microbial diversity and soil functions. European Journal Soil Science 54 (4): 655-670.
- Overcash, M. and D. Pal. 1979. Design of land treatment systems for industrial wastes. Theory and practice. Ann Arbor. Sci. Pub. Inc., p. 684.
- Rahman, K.; I. Banat and J. Thahira. 2002. Bioremediation of gasoline contaminated soil by a bacterial consortium amended with poultry litter, coir pith and rhamnolipid biosurfactant. Bioresource Technology 81: 25-32.
- Rudolph, A.; C. Franco, J. Becerra, A. Barros y R. Ahumada. 2002. Análisis de materia orgánica e hidrocarburos aromáticos policíclicos en sedimentos de Bahía Concepción, Chile. Boletín de la Sociedad Chilena de Química 47 (4): 403-410.
- Siqueira, J. 1988. Biotecnología do Solo. Editorial Ceres. Brasil. 231 p.
- Vecchioli, G.; M. T. Del Panno and M. T. Paineira 1990. Use of selected autochthonous soil bacteria to enhance degradation of hydrocarbons in soil. Environmental Pollution 67: 249-258.
- Xiaojun, L.; L. Peijun and L. Xin. 2008. Biodegradation of aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by microbial consortia in soil and slurry phases. Journal of Hazardous Materials 150: 21-26.