

## ESTUDIO COMPARATIVO DEL AGREGADO DE ENMIENDAS ORGÁNICAS E INORGÁNICAS EN PROCESOS DE BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS NORPATAGÓNICOS CONTAMINADOS CON PETRÓLEO

Cecilia E. Silvana Alvaro<sup>\*a</sup>, Miguel A. Martínez<sup>b</sup>, Lucas A. Arocena<sup>a</sup>

### RESUMEN

Las tecnologías de remediación de suelos contaminados con hidrocarburos se basan en tratamientos fisicoquímicos, térmicos y biológicos. Dentro de estos últimos, la biorremediación demostró ser una tecnología eficiente y sustentable, comúnmente realizada mediante el aporte de fertilizantes sintéticos (F) y control de las condiciones ambientales del proceso. El presente trabajo, realizado a escala de laboratorio, analiza la eficacia del agregado de biosólidos (B) y compost de biosólidos (CB) en comparación a los métodos convencionales de biorremediación en suelos norpatagónicos contaminados con petróleo. Estudiamos la velocidad de degradación de los hidrocarburos mediante la aplicación de B y CB vs tratamientos usuales de biorremediación: aporte de F y laboreo, aireación y humectación (LH). Los resultados obtenidos muestran diferencias estadísticamente significativas en las velocidades de degradación, siendo B>CB>F>LH. Los hidrocarburos de fracción pesada (HFP), considerados resistentes a la biodegradación, mostraron las mayores reducciones siendo el tratamiento con B el más efectivo. Los hidrocarburos aromáticos de menor peso molecular, usualmente llamados BTEX, fueron eliminados rápidamente debido a procesos de volatilización y degradación biológica. El agregado de enmiendas orgánicas optimiza la actividad microbiana produciendo mayor degradación del petróleo respecto a los tratamientos convencionales de biorremediación en este tipo de suelos.

**Palabras clave:** biorremediación, degradación del petróleo, enmiendas orgánicas, biosólidos.

## COMPARATIVE STUDY OF ORGANIC AND INORGANIC AMENDMENTS AGREGATE ON BIOREMEDIATION PROCESSES OF OIL CONTAMINATED NORTH PATAGONIAN SOILS

### ABSTRACT

Remediation technologies of oil contaminated soils are based on physicochemical, thermal and biological treatments. Within the latter, bioremediation proved to be an efficient and sustainable technology, commonly performed by adding synthetic fertilizers (F) and control of the environmental conditions process. This work, carry out at laboratory-scale, study the efficacy of adding biosolids (B) and composted biosolids (CB) compared to bioremediation conventional methods in north Patagonian soils contaminated with oil. We study the

---

<sup>a</sup> Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional del Comahue, Buenos Aires 1400, (8300) Neuquén, Argentina. [silvana\\_alvaro@hotmail.com](mailto:silvana_alvaro@hotmail.com)/[silvanitaces@gmail.com](mailto:silvanitaces@gmail.com)

<sup>b</sup> Facultad de Tecnología y Ciencia de los Alimentos, Universidad Nacional del Comahue, Río Negro, Argentina.

petroleum hydrocarbons degradation rate by applying B and CB vs conventional treatments: F addition and landfarming method, aeration, tillage and wetting (LH). The obtained results shows a statistically significant difference in the degradation kinetics, where  $B > CB > F > LH$ . The heavy hydrocarbon fraction (HFP), considered resistant to biodegradation showed significant reductions, being B the most effective treatment. Volatile aromatic hydrocarbons, usually named BTEX, were eliminated rapidly, due to processes of volatilization and biodegradation. Organic amendments optimize microbial activity producing significant improvement over conventional bioremediation treatments in this type of soils.

**Key words:** bioremediation, oil degradation, organic amendments, biosolids.

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años la República Argentina ha incrementado su producción de petróleo, con lo cual varias provincias dependen en gran medida de los ingresos percibidos por la actividad. La provincia de Neuquén, con el descubrimiento y explotación intensiva de los yacimientos Puesto Hernández, Loma de la Lata y del yacimiento de hidrocarburos y gas no convencionales Vaca Muerta, se consolida como provincia energética, contribuyendo en la actualidad con aproximadamente el 23,5 % de la producción de petróleo y el 47,9 % del gas natural producido en el país<sup>1</sup>.

La explotación petrolera ocasiona cambios adversos en el ambiente produciendo riesgos potenciales en la salud de la población y las actividades agrícolas de la región. Los derrames de petróleo en el suelo constituyen uno de los principales impactos ambientales causados por la actividad, mas aún, si se tienen en cuenta antiguas prácticas realizadas sin una adecuada prevención de la contaminación del ambiente. Si bien el ambiente puede subsanar los daños ambientales debidos al derrame de hidrocarburos, se requiere mucho tiempo para conseguir el Valor Guía de 10.000 ppm (1%) de hidrocarburos totales del petróleo<sup>2a</sup> (HTP) mediante atenuación natural.

La remediación de suelos contaminados con petróleo crudo y lodos de perforación derivados de la explotación, es un tema de intensa investigación actualmente<sup>3-6</sup>. La materia orgánica (MO), y los minerales del suelo son adsorbentes efectivos de los compuestos orgánicos del petróleo; la capacidad de adsorción de los mismos depende de la naturaleza y cantidad de MO, de la composición mineral y del contenido de humedad del suelo<sup>3</sup>. Los suelos patagónicos poseen escasa cantidad de MO, muy baja humedad y contenido de arcilla variable. Debido a estas características, solo algunos de los procesos conocidos de transferencia entre suelo, aire y agua ocurren; por lo tanto el modelo de adsorción usual no se aplica<sup>7</sup>.

La biorremediación es una tecnología emergente que acelera la biodegradación natural de los contaminantes, bajo condiciones óptimas de parámetros críticos. Es un proceso eficiente debido a su relación costo-beneficio que utiliza organismos vivos (algas, hongos y bacterias) para absorber, degradar o transformar contaminantes orgánicos e inorgánicos y retirarlos, inactivarlos o atenuar su efecto en suelo, agua y aire. Puede realizarse por dos metodologías: bioaugmentación y bioestimulación, siendo esta última la más utilizada. La bioestimulación con fertilizantes orgánicos e inorgánicos aporta nutrientes adicionales aumentando la población microbiana indígena para acelerar el proceso degradativo de los contaminantes<sup>5</sup>.

Con el objetivo de proponer estrategias adecuadas para minimizar el impacto negativo causado por la actividad hidrocarburiífera, en el presente trabajo comparamos, a escala de laboratorio, la eficacia de la incorporación de biosólidos (B) y compost de biosólidos (CB) frente a los métodos convencionales de biorremediación: agregado de fertilizantes sintéticos (F), aireación, laboreo y humectación a un suelo típico de la región norpatagónica contaminado con 10% de petróleo.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Suelo y enmiendas utilizadas

Para la experiencia se seleccionó un suelo del sector de bardas, ubicadas hacia el noroeste de la Provincia de Neuquén de características geomorfológicas típicas de la meseta patagónica, con vegetación predominantemente arbustiva, rala y de poca altura. Predominan los suelos moderadamente profundos a someros, de texturas franco-arenosas, arenosos y arcillosos, comúnmente con carbonato de calcio, muy escasa MO, un fuerte déficit hídrico anual y pH ligeramente alcalino<sup>6</sup>. El sitio fue escogido considerando que no se encuentran locaciones de explotación hidrocarburífera en el área circundante.

Las muestras de suelo se tomaron entre los 0 y 30 centímetros de profundidad, despreciando la cubierta vegetal. El material se almacenó temporariamente en bolsas de polietileno para su traslado hasta el laboratorio y luego se secó a temperatura ambiente, sobre bandejas metálicas, durante 48 horas. Se eliminó elementos indeseables tales como piedras y restos vegetales, se homogeneizó con ayuda de mortero y tamizó mediante malla metálica de 2 mm.

Los biosólidos (B) utilizados se obtuvieron de las eras de secado de la planta de tratamiento de efluentes cloacales de la ciudad de Neuquén capital, a dosis de 40 g/kg suelo (base seca). El compost de biosólidos (CB) se obtuvo de la planta de Compostaje de Biosólidos de la ciudad de Bariloche y se utilizó a una dosis de 20 g/kg suelo (base seca). Los fertilizantes sintéticos empleados fueron: Triple 15 (fertilizante químico comercial), grado equivalente N:P:K = 15:15:15 (N: 15%, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: 15 % y K<sub>2</sub>O: 15 %) y urea (N: 46%). La relación utilizada para la incorporación fue C:N:P = 100:1:0.1. Considerando que el hidrocarburo aporta aproximadamente un 78 % de carbono biodegradable, se incorporó 0,6 g de Triple 15 y 0,65 g de urea por cada kg de suelo seco<sup>4</sup>.

### Análisis físico-químicos y bacteriológicos

Se determinó las propiedades químicas y físico-químicas del suelo por triplicado utilizando métodos estándar<sup>8</sup>. Los parámetros fisicoquímicos determinados fueron: pH (método potenciométrico de pasta saturada)<sup>8</sup>, conductividad eléctrica (CE), (puente de Whiston en extracto saturado de suelo)<sup>8</sup>, carbono orgánico (CO) y materia orgánica (MO)<sup>9</sup>, nitrógeno total, (Kjeldahl)<sup>8</sup>, capacidad de intercambio catiónico (CIC) y cationes totales (CT) (método de saturación en acetato de amonio)<sup>8</sup>, fósforo<sup>10</sup>, calcio + magnesio (complejometría)<sup>8</sup>, retención hídrica a capacidad de campo (RH) a 0,3 atm y 15 atm (membrana de Richards)<sup>8</sup>. La caracterización de los componentes aromáticos del petróleo se realizó mediante cromatografía gaseosa y detección con masa, CG/MS, método ASTM D-5739/00<sup>11a</sup>, los hidrocarburos totales del petróleo (HTP) se cuantificaron por el método EPA 418.1<sup>12</sup> y las fracciones de hidrocarburos mediante la Norma del Estado de Texas, método TNRCC (Texas natural resource conservation commission) 1005<sup>11b</sup>. La tasa de degradación del petróleo se evaluó hasta los 180 días mediante extracciones con *n*-hexano y posterior determinación gravimétrica, Norma NMX-AA-134-SCFI/06<sup>13</sup>. Se determinó sustancias extraíbles con *n*-hexano (HEM) e hidrocarburos de fracción pesada (HFP).

La cuantificación del recuento de microorganismos heterótrofos aerobios totales (HAT) y degradadores de hidrocarburos (DH) presentes en el suelo, se realizó mediante la técnica del Número más Probable (NMP)<sup>14</sup>. Los medios de cultivo fueron caldo nutritivo para HAT y solución salina de micronutrientes inorgánicos y queroseno como única fuente de carbono para DH.

### **Diseño experimental**

Los ensayos de laboratorio se realizaron en microcosmos que involucraron cuatro tratamientos de remediación por triplicado para cada muestra. Los microcosmos se armaron en recipientes de vidrio con seis kilogramos de suelo cada uno. Una semana antes de dar inicio a cada tratamiento, se contaminó el suelo con petróleo crudo al 10 % (p/p) proveniente de una línea de conducción local. La homogenización del suelo con el hidrocarburo se realizó mediante agitación y mezcla lenta de todo el material a fin de minimizar la volatilización de hidrocarburos. En el suelo contaminado se formó agregados y se produjo una notable variación en el color. Para la obtención de muestras, se utilizó un muestreo tipo estrella, que consiste en tomar una muestra de cada extremo y una del centro de cada recipiente, descartando los primeros dos centímetros de suelo. Estas muestras se homogeneizaron y la conservación de las mismas se realizó según lo indicado en la norma NMX-AA-134-SFCI-2006. Durante los tratamientos de biorremediación se estudió cuatro muestras de suelo identificadas como: SLH (el suelo sólo recibió aireación, laboreo y humectación), SB (suelo + B), SCB (suelo + CB), SF (suelo + fertilizantes sintéticos).

### **Condiciones de la experiencia**

Durante el período en el que se desarrolló el trabajo, se mantuvo las siguientes condiciones ambientales para todos los tratamientos:

Control de humedad: el aporte de agua se realizó dos veces por semana, incorporando el volumen de agua necesario para alcanzar el 80 % de la capacidad de campo del suelo.

Temperatura ambiente:  $20 \pm 4^\circ\text{C}$ .

Aireación y mezcla: con el uso de una pala de jardín, se realizó el volteo y mezcla del suelo contenido en cada microcosmo, a fin de asegurar la incorporación de oxígeno al proceso y una completa homogeneización. El proceso se realizó dos veces por semana y el tiempo de mezcla para cada recipiente se estandarizó a un minuto, intentando mantener constante la velocidad de movimiento. Con la finalidad de evitar la contaminación cruzada entre los tratamientos, los microcosmos se separaron de los demás durante el proceso de mezcla.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Características del suelo y las enmiendas utilizadas**

Los resultados fisicoquímicos del suelo mostrados en la tabla 1 son promedio de tres determinaciones obtenidas a tiempo cero. De acuerdo a los mismos, el suelo estudiado posee muy bajo contenido de materia orgánica (MO <1%) y nitrógeno y altos porcentajes de arena, lo que conduce a escasa cantidad de cationes totales (CT) y porcentaje de sodio intercambiable (PSI), baja capacidad de intercambio de catiónico (CIC) y de retención hídrica (RH); el pH es moderadamente alcalino, lo cual se atribuye a la presencia de  $\text{CaCO}_3$ , característico de las zonas áridas<sup>3</sup>. Considerando su conductividad eléctrica (CE), PSI y porcentaje de sodio intercambiable, el suelo se clasifica como normal y dentro de los rangos frecuentes para la región<sup>6</sup>, no presentando problemas de sodificación y dispersión de arcilla. Estos resultados son de especial interés en nuestro estudio ya que permiten descartar la influencia del  $\text{Na}^+$  y otras sales en la estimación de factores que alteran los procesos de descomposición y disponibilidad de nutrientes<sup>3</sup>, favoreciendo la actividad metabólica de los microorganismos indígenas presentes en el suelo.

**Tabla 1.** Caracterización fisicoquímica del suelo.

<b>Determinaciones</b>	<b>Suelo</b>
pH pasta	8,5 ± 0,14
CE (mS/cm <sup>3</sup> )	0,5 ± 0,02
M.O. (%)	0,18 ± 0,05
C.O. (%)	0,11 ± 0,03
CIC (meq/100 g)	10,2 ± 0,5
CT (meq/100 g)	1,50 ± 0,2
PSI (meq/100 g)	5,6
Na <sup>+</sup> (meq/100 g)	0,57 ± 0,06
K <sup>+</sup> (meq/100 g)	0,26 ± 0,01
Ca <sup>++</sup> (meq/l)	9,37 ± 0,4
Mg <sup>++</sup> (meq/l)	9,37 ± 0,4
Na <sup>+</sup> (meq/l)	0,57 ± 0,02
K <sup>+</sup> (meq/l)	0,26 ± 0,03
RH 0.3 atm (%)	3,3
RH 15 atm (%)	2,52
% Agua útil	0,78
Textura	Af
% arcilla	9,7 ± 0,1
% limo	9,7 ± 0,1
% arena	80,6 ± 0,3

Las propiedades de las enmiendas empleadas se presentan en la tabla 2 y fueron obtenidas por promedio de tres determinaciones. Las principales diferencias entre B y CB se observan en las concentraciones totales de CO y N- NO<sub>2</sub><sup>-</sup> + NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, las restantes características son similares en ambos productos. Por otra parte, las fracciones de carbono orgánico oxidable determinadas en las enmiendas presentaron marcadas diferencias siendo la fracción menos lábil f3, muy alta en B (31%) respecto a CB (12 %); las fracciones mas lábiles f2 + f1 fueron 7,1 % y 6,3 % para B y 2 % y 15 % para CB, respectivamente<sup>15</sup>.

La determinación de metales tóxicos y bifenilos policlorados (PCB) indicó que ambas enmiendas cumplen con las normas nacionales<sup>2b</sup> e internacionales<sup>2c</sup> para ser utilizados con la finalidad propuesta.

**Tabla 2:** Características de las enmiendas orgánicas empleadas.

<b>Determinaciones</b>	<b>Compost de biosólidos (CB)</b>	<b>Biosólidos (B)</b>
pH (1:10)	4.7 ± 0.12	5.5 ± 0.11
CE mS/cm <sup>3</sup>	1.3 ± 0.1	1.8 ± 0.1
CO (%)	24.3 ± 0.4	36.3 ± 0.4
N (%)	1.7 ± 0.2	4.6 ± 0.2
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/kg)	214 ± 4	723 ± 4
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/kg)	178 ± 2	180 ± 2
Ca (%)	0.78 ± 0.1	1.33 ± 0.1
Mg (%)	0.37 ± 0.02	0.27 ± 0.01
K (%)	0.13 ± 0.01	0.11 ± 0.01
P (%)	0.57 ± 0.1	0.60 ± 0.1
P Olsen (mg/kg)	680 ± 6	440 ± 6
Arsénico (mg/kg)	<10,0	<10,0
Zinc (mg/kg)	144	118
Cromo total (mg/kg)	10,2	6,3
Plomo (mg/kg)	27,7	24,2
Mercurio (mg/kg)	< 0,8	< 0,8
Níquel (mg/kg)	< 5,0	< 5,0
PCB (mg/kg)	< 0,5	< 0,5

### Caracterización del petróleo

El petróleo utilizado para la contaminación de los microcosmos, se obtuvo de una línea de conducción ubicada en el Área Centenario de la provincia de Neuquén.

La concentración de HTP a tiempo cero expresada en mg HTP kg<sup>-1</sup> de suelo seco correspondiente a cada tratamiento de remediación se indica a continuación:

$$SLH = 3288 \pm 34 \text{ mg HTP kg}^{-1}$$

$$SB = 3424 \pm 46 \text{ mg HTP kg}^{-1}$$

$$SCB = 3430 \pm 46 \text{ mg HTP kg}^{-1}$$

$$SF = 3200 \pm 46 \text{ mg HTP kg}^{-1}$$

La composición de hidrocarburos contenidos en el petróleo se muestra en la tabla 3.

**Tabla 3:** Composición de hidrocarburos del petróleo utilizado en la experiencia.

<b>Composición</b>	<b>% Peso</b>
Total parafínicos	32,0 ± 0.4
Total nafténicos	28,7 ± 0.2
Total aromáticos	5,40 ± 0.3
Total isoparafínicos	33,9 ± 0.2

La determinación de los hidrocarburos monoaromáticos (BTEX) expresada % en peso de suelo seco arrojó los siguientes resultados: Benceno = 0,98; tolueno = 1,84; *m*- y *p*- xilenos = 1,96; *o*- xileno = 0,57.

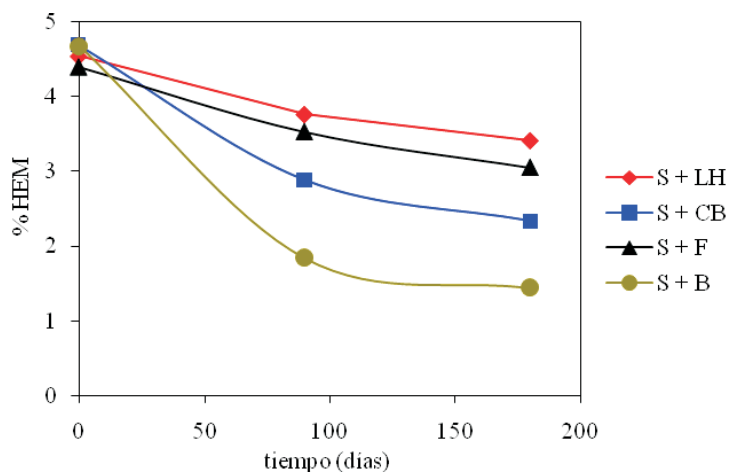
El petróleo utilizado contenía 38 Grados API y se clasifica como petróleo ligero. Se determinó una gran proporción de hidrocarburos de bajo peso molecular, hasta C9 (dato no mostrado).

#### **Evolución del proceso de biorremediación**

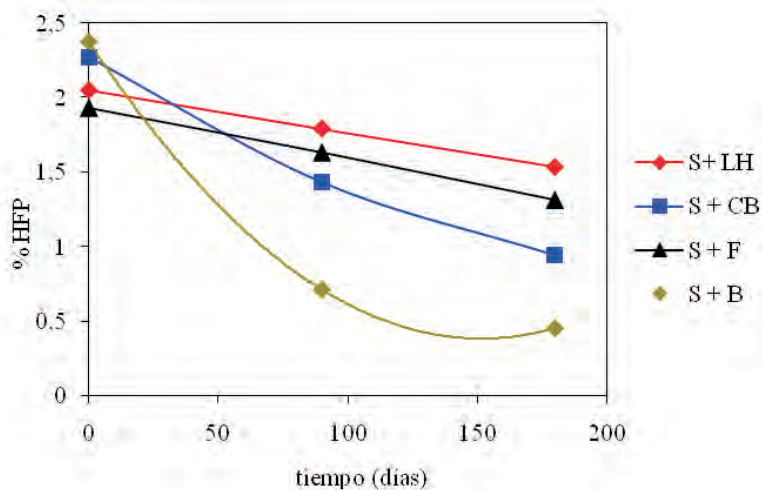
El seguimiento del proceso de remediación se realizó mediante la cuantificación de BTEX, material extraíble en *n*-hexano (HEM), hidrocarburos de fracción pesada (HFP) y del recuento de microorganismos degradadores de hidrocarburo (DH) y de heterótrofos aerobios totales (HAT).

La determinación de BTEX se realizó solamente hasta los catorce días de la experiencia debido a su rápida disminución registrada durante ese periodo. Los valores obtenidos para benceno y tolueno a los catorce días fueron < 0,05 µg/g peso seco, límite de detección del método y para xilenos 8,4 µg/g peso seco. Este resultado puede deberse a la volatilización producida durante el proceso de homogeneización del suelo con el petróleo y a la rápida acción del metabolismo microbiano sobre dichos componentes. Estos resultados están en concordancia con otros estudios informados<sup>16</sup>, que coinciden en que gran parte de los hidrocarburos monoaromáticos se volatilizan durante los procesos de aireación del suelo.

Los HEM y HFP se determinaron a los 0, 90 y 180 días. Es importante recalcar que los HEM están constituidos por hidrocarburos no volátiles, aceites vegetales, grasas animales, ceras, jabones, grasas y materia relacionada (norma NMX-AA-134-SCFI-2006), por lo que el parámetro apropiado para realizar el seguimiento del proceso degradativo de hidrocarburos son los HFP. Los resultados de ambos ensayos se muestran en las figuras 1 y 2. Los mismos son el promedio de los triplicados, para cada tratamiento, expresados en porcentaje.



**Figura 1.** Evolución de las sustancias extraíbles con *n*-hexano (HEM) después de la aplicación de las enmiendas. Símbolos: S = suelo, LH = laboreo y humec-tación, B = biosólido, CB = compost de biosólido, F = fertilizantes sinté-ticos.



**Figura 2.** Evolución de los hidrocarburos de fracción pesada (HFP) después de la aplicación de las enmiendas orgánicas. Símbolos como en figura 1.



Se puede observar en las figuras 1 y 2, que la reducción final de HEM, en comparación con la HFP, es menor. Ello puede deberse a la relación entre la degradación de hidrocarburos y el consiguiente aumento de material soluble en *n*-hexano, generado principalmente por productos del metabolismo microbiano y por biomasa microbiana muerta<sup>5,17</sup>.

Al finalizar la experiencia los HEM mostraron una marcada reducción con las enmiendas B y CB, (63 y 49 %), respectivamente, siendo sustancialmente menor la reducción de HEM en el tratamiento con aporte de F (22 %) y en el cual solo se realizó aireación, laboreo y humectación, LH, (15 %). El tratamiento con F muestra concentraciones de HEM levemente inferiores al tratamiento LH, tendencia que se acentúa hasta finalizar el proceso, superándolo en apenas un 7% en el total del porcentaje de reducción.

La misma tendencia se observa en la degradación de los HFP al finalizar la experiencia 83 y 65 % para los tratamientos con B y CB, respectivamente, 35 % para el tratamiento F y 25 % para LH. En los tratamientos con aporte de materia orgánica, la degradación de HEM y HFP se produjo principalmente durante los primeros noventa días de iniciada la biorremediación.

Para evaluar cuál de los procesos de biorremediación analizados produjo la mayor velocidad de degradación de HFP, se realizó un Test de Tukey HSD<sup>18</sup> con un nivel de significación del 5 %. Los resultados del análisis estadístico indican que existen diferencias entre las velocidades de degradación de los tratamientos, siendo B>CB>F>LH y permiten concluir que el tratamiento con aporte de B fue significativamente superior a los demás tratamientos. A su vez, el tratamiento con incorporación de F demostró una mejora estadísticamente significativa con respecto al tratamiento que sólo recibió aireación y humectación.

#### Análisis microbiológico

Se realizó el recuento de microorganismos heterótrofos aerobios totales (HAT) y degradadores de hidrocarburos (DH) para el suelo sin contaminar (S) y las enmiendas B y CB, a tiempo cero y al finalizar los tratamientos mediante la técnica del número más probable (NMP).

Los resultados se presentan en las tablas 4 y 5.

**Tabla 4:** Recuento de microorganismos heterótrofos aerobios totales para los distintos tratamientos de biorremediación. Técnica del Número Más Probable.

Día	Microorganismos HAT (NMP/g suelo)						
	S	B	CB	S + B	S + CB	S + F	S + LH
0	1,2 x 10 <sup>2</sup>	5,5 x 10 <sup>5</sup>	2,7 x 10 <sup>4</sup>	-----	-----	-----	-----
180	-----	-----	-----	3 x 10 <sup>7</sup>	2,1 x 10 <sup>6</sup>	6,5 x 10 <sup>5</sup>	1,0 x 10 <sup>4</sup>

**Tabla 5:** Recuento de microorganismos degradadores de hidrocarburos para los distintos tratamientos de biorremediación. Técnica del Número Más Probable.

Día	Microorganismos DH (NMP/g suelo)						
	S	B	CB	S + B	S + CB	S + F	S + LH
0	16	10	2,71 x 10 <sup>2</sup>	-----	-----	-----	-----
180	-----	-----	-----	12 x 10 <sup>6</sup>	8,4 x 10 <sup>4</sup>	2,6 x 10 <sup>3</sup>	5,3 x 10 <sup>2</sup>

Las enmiendas presentaron un mayor número de microorganismos/g que el suelo sin contaminar; sin embargo, teniendo en cuenta que la dosis añadida al suelo fue de sólo 20 g por kg de suelo contaminado se deduce el aporte de microorganismos no es importante.

El recuento de microorganismos **HAT** y **DH** realizado durante el proceso de biorremediación indicó diferencias significativas respecto al suelo sin contaminar (ver tablas 4 y 5). Al finalizar los ensayos, los recuentos de microorganismos mostraron que el contenido natural de los suelos se incrementó con la contaminación de hidrocarburos y fue marcadamente superior en los casos del agregado de enmiendas, siendo el aporte de **B** > **CB**. Estos resultados pueden deberse a que ambas enmiendas orgánicas tienen mayor concentración de nutrientes que los fertilizantes utilizados; poseen una liberación rápida de nutrientes (**N** y **P**) y mayor disponibilidad de carbono orgánico para los microorganismos, reduciendo el tiempo requerido para la biorremediación<sup>5,17</sup>.

### CONCLUSIONES

El recuento de microorganismos degradadores de hidrocarburos a tiempo cero fue bajo, tanto en suelo como en las enmiendas orgánicas; sin embargo, la aplicación de biosólidos y compost de biosólidos al suelo contaminado produjo un rápido aumento de la población microbiana optimizando su actividad, lo que produjo una mejora estadísticamente significativa en la tasa de degradación de hidrocarburos respecto a los tratamientos convencionales de biorremediación (laboreo, humectación y agregado de fertilizantes sintéticos).

Los hidrocarburos de fracción pesada, considerados resistentes a la biodegradación debido a su complejidad estructural, baja volatilidad y escasa lixiviación fuera del sistema mostraron reducciones significativas, siendo el tratamiento con biosólidos el más efectivo. Este resultado indicaría que la madurez de las enmiendas orgánicas influyó en la tasa de remoción de hidrocarburos, siendo la enmienda menos estabilizada la que produjo mayor tasa de degradación. Se considera que el metabolismo microbiano se estimuló debido a la adición de los nutrientes presentes en las enmiendas orgánicas, demostrándose el éxito del proceso de remediación.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Nacional del Comahue, Proyecto I183, el apoyo financiero otorgado; a la Planta de Tratamiento de Efluentes Cloacales de la ciudad de Neuquén y a la Dra. Francisca Laos por el asesoramiento y aporte del Compost de Biosólidos proveniente de la planta de Compostaje de la ciudad de Bariloche, Río Negro, utilizados en el presente trabajo.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Instituto Argentino del Petróleo y del Gas, IAPG. Producción de petróleo por provincia, **2011**; disponible en [www.iapg.org.ar](http://www.iapg.org.ar)
2. a) Secretaría de Medio Ambiente de la Provincia de Neuquén, Decreto N° 000759/09, Política Nacional de Medio Ambiente de Argentina, Ley 25675.  
b) Ministerio de Desarrollo Social y Medio Ambiente de Argentina, Resolución 97/01, **2001**.  
c) United States Environmental Protection Agency, USEPA, 40 CFR, 1999.
3. Nudelman NS, Ríos SM, Katusich O, Application of some physical organic chemistry models to the study of oil spills residues in Patagonian soils, *J. Phys Org. Chem.*, **2008**; **21**: 324-337.

4. Alvaro CES, Laos F, Arocena LA, Olave AJ, Garrido ND, Nudelman NS. Biorremediación de suelos afectados por la producción hidrocarburífera en la región del Comahue. *Revista Petroquímica, Petróleo, Gas & Química*. CONICET, **2012**; 278: 236-239.
5. Lladó S, Solanas AM, Lapuente J, Borrás M, Viñas M. A diversified approach to evaluate biostimulation and bioaugmentation strategies for heavy-oil contaminated soil, *Sci. of the Total Environ.*, **2012**; 435-436: 262-269.
6. Alvaro CES, Olave AJ, Schmid PM, Nudelman NS. Microbial remediation performance of environmental liabilities from oil spills in Patagonian soils: A laboratory-scale. *Int. J. Res. Chem. Environ.*, **2014**; 4 (3): 119-126.
7. Nudelman NS, Ríos SM, Interaction of Oil Residues in Patagonian Soil, in *Interfacial Applications in Environmental Engineering*. M.A. Keane, (ed.), Vol 108, University of Kentucky Lexington, Kentucky. Marcel Dekker Inc., New York, U.S.A., Ch.10, **2003**.
8. Sparks D.L., Environmental Soil Chemistry, (Hardcover) 2nd ed., San Diego, California USA, Elsevier Science, **2003**.
9. Walkley A, Black I.A, An examination of the Degtjareff method for determining organic carbon in soils: Effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents, *Soil Sci.*, **1934**; 63: 251-263.
10. Olsen S, Cole C, Watanabe F, Dean L, Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate, USDA Circular Nr 939, US Gov. Print. Office, Washington, D.C, **1954**.
11. a) American Society for Testing and Materials. Standard Practice for Oil Spill Identification by Gas Chromatography and Positive Ion Electron Impact Mass Spectrometry, W. Conshohocken PA, **2000**.  
b) American Society for Testing and Materials. Standard Test Method for Screening Fuel aromatic compounds in Soils. ASTM International, 100 Barr Harbor Drive, PO Box C700, West Conshohocken, PA 19428-2959, United States, **2009**.
12. United States Environmental Protection Agency, USEPA, Total Petroleum Hydrocarbons in Analytical Methods and Laboratories. *Petrochemicals-Oils*, Washington DC, **1983**.
13. Norma NMX-AA-134-SCFI. Suelos, Hidrocarburos de Fracción Pesada por Extracción y Gravimetría. Secretaría de Economía. Programa Nacional de Medio Ambiente y Recursos Naturales 2001-2006, México, **2006**, 27 pp.
14. Wooster P.L., Most Probable Number Counts. SSSA Book Series, **1994**; 5: 59-79.
15. Alvaro CES, Laos F, Arocena LA, Garrido ND, Torre AM. *Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo en Norpatagonia*. *Industria y Química*, **2011**; 363: 9-12.
16. Margesin R, Walder G, Chinner SF. Bioremediation Assessment of a BTEX-Contaminated Soil. *Acta Biotechnol.*, **2003**; 23 (1): 29-36.
17. Trimbake PD, Ambawade MS, Mane AV. Isolation of Phenol Degrading Microorganisms from Sewage and Degradation under Optimized Conditions. *Int. J. Res. Chem. Environ.* **2014**; 4 (2): 18-30).
18. Montgomery, DC, Diseño y Análisis de Experimentos. Ed. Limusa Wiley, México, **2003**.