

Rocio Medina<sup>1,2</sup>, Janina A Rosso<sup>2</sup>, Maria T Del Panno<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI) UNLP CONICET. <sup>2</sup> Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA) UNLP CONICET.

## INTRODUCCION

La recuperación de suelos contaminados con PAHs utilizando técnicas de compostaje, mediante el agregado de materia orgánica o de compost maduro ha demostrado ser una estrategia efectiva en la degradación del contaminante a escala de laboratorio y a campo.

El suelo crónicamente contaminado fue recolectado de un área petroquímica. La actividad biológica del material original fue muy baja, probablemente debido al contenido de hidrocarburos (4000 ppm de alifáticos y 300 ppm de PAH). Sin embargo, la diversidad de la comunidad microbiana fue similar a la determinada en el suelo próximo al área de estudio.

## OBJETIVO

*Evaluar el efecto de la aplicación de técnicas de compostado en la recuperación biológica del suelo crónicamente contaminado con hidrocarburos.*

## TRATAMIENTOS

Suelo crónicamente contaminado (4000 ppm HA y 300 ppm PAH)

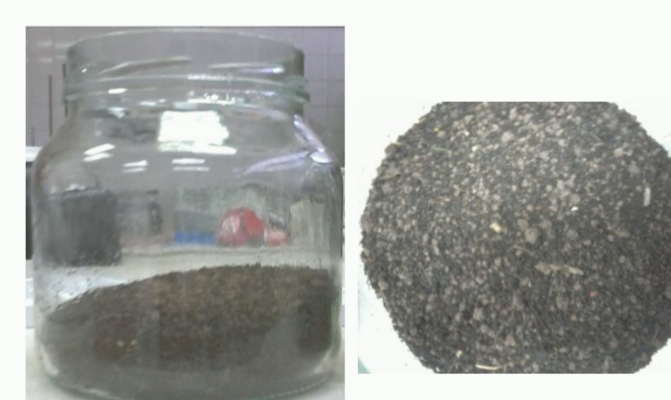
**Biorremediación**  
Microcosmos de 0,5L  
4 meses a 25°C  
H: 23% mediante riego

**Estimulación con Compost maduro**  
Tierra / compost: 7/3  
Microcosmos de 0,5L  
45 días a 25°C  
H: 45% mediante riego

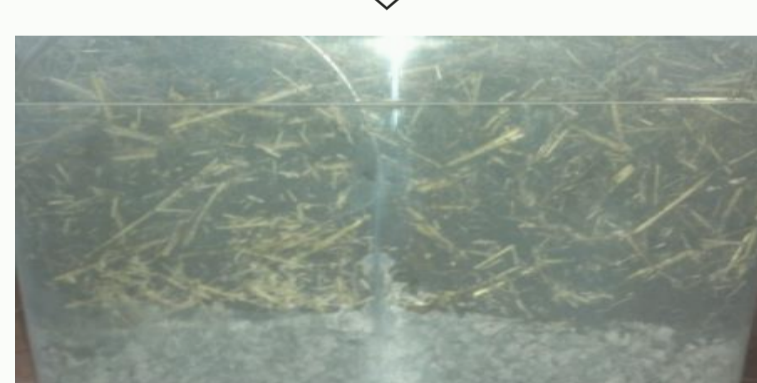
**Compostaje**  
Tierra/enmienda orgánica: 7/3  
Agente de volumen: rastrojo de avena  
Microcosmos de 34L, con aislamiento térmico, 12 meses  
Volteo semanal  
H: 45% mediante riego



Suelo.



Suelo + Compost maduro, día 0.



Mezcla a compostar, día 0.



Día 50



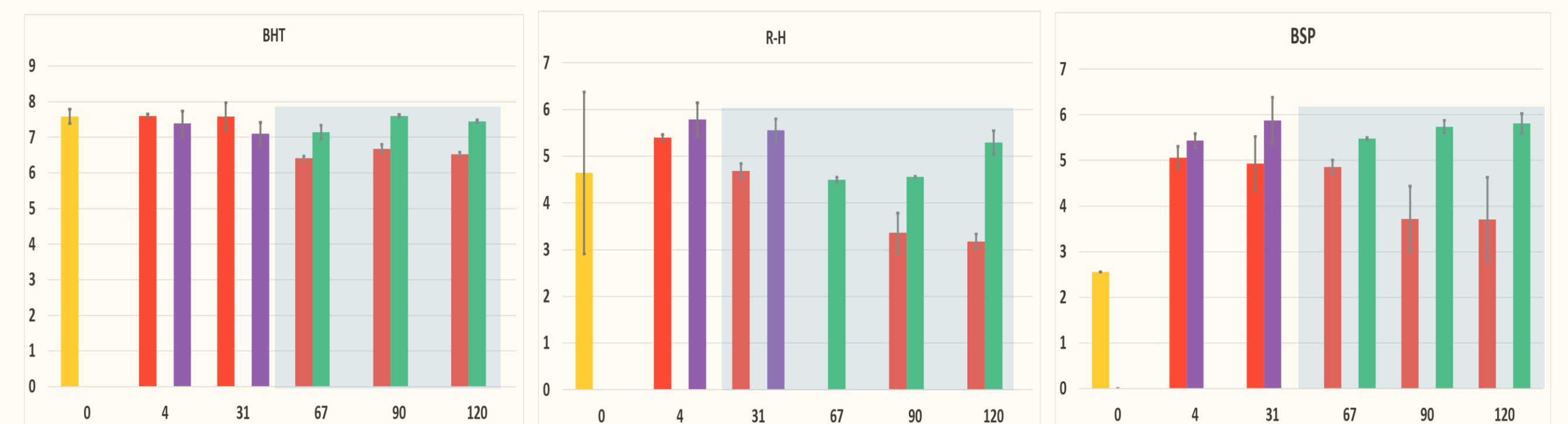
Día 120

## RESULTADOS

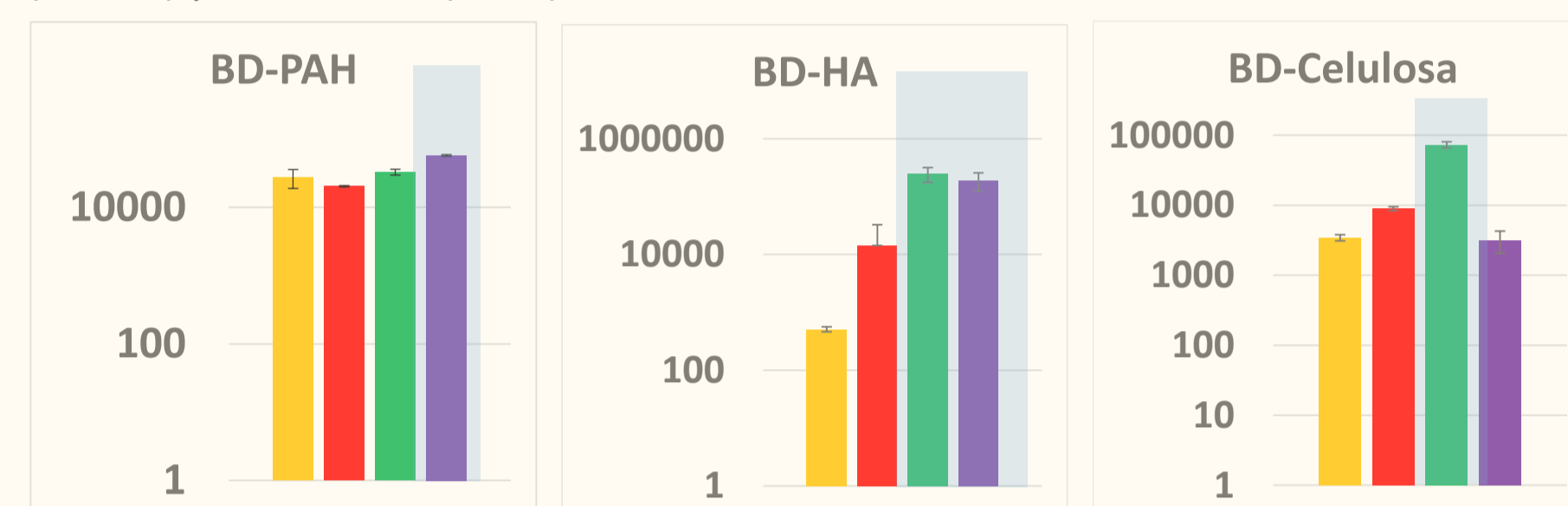
■ Suelo inicial ■ Biorremediación ■ Estimulación ■ Compostaje

### Análisis microbiológico

1) Log UFC/g seco vs t (días). Recuento de bacterias heterótrofas (BHT), recuento de hongos (RH) y recuento de bacterias solubilizadoras de P (BSP).



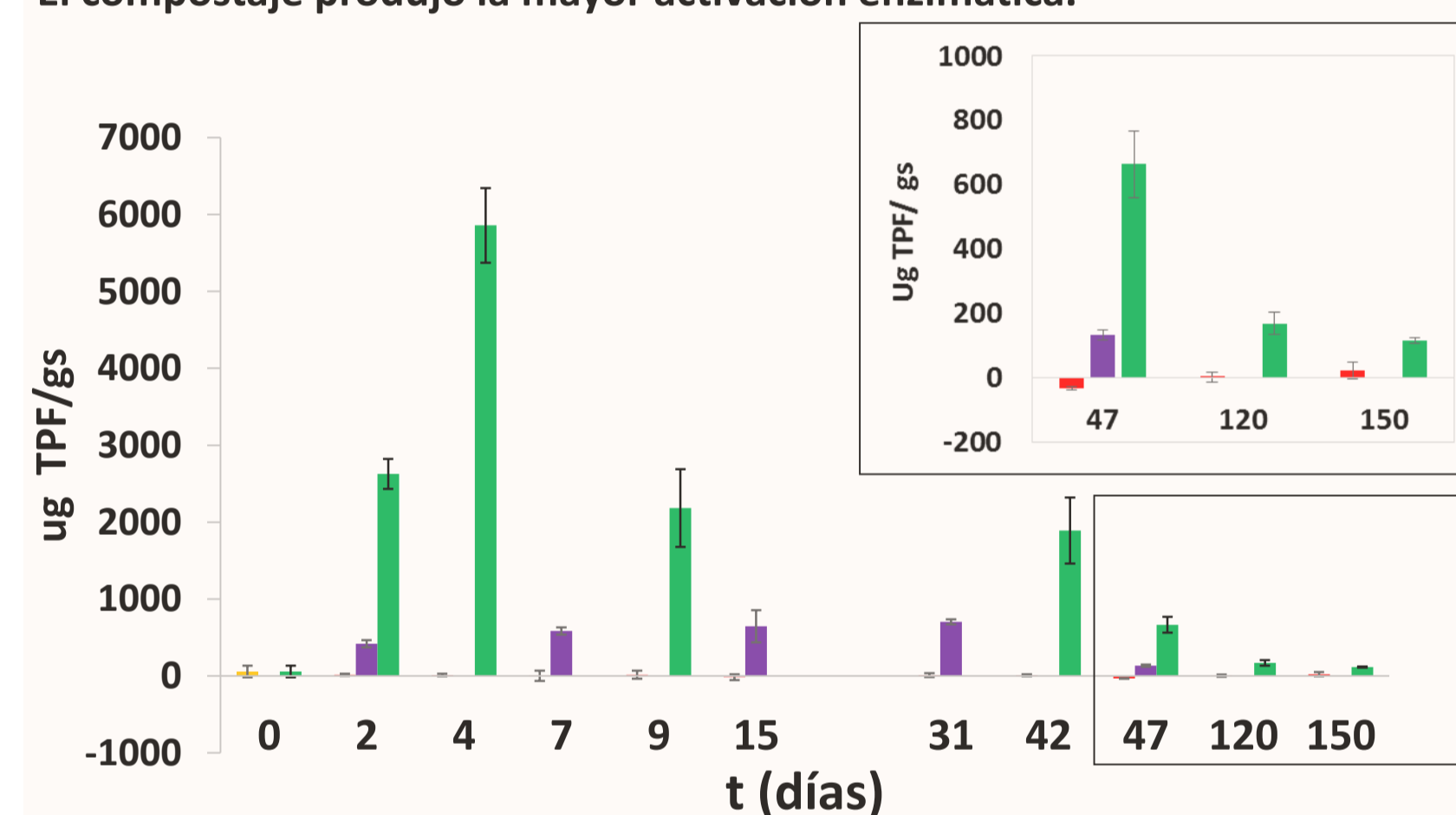
2) NMP/g seco. Recuento de bacterias degradadoras de PAHs (BD-PAHs), de HA (BD-HA) y de celulosa (BD-C), al finalizar los tratamientos.



- La Estimulación y el Compostaje incrementaron las poblaciones fúngicas y degradadoras de HA.
- El Compostaje incrementó las poblaciones de bacterias heterótrofas, celulolíticas y solubilizadoras de P.
- La Estimulación incremento la población degradadora de PAHs.

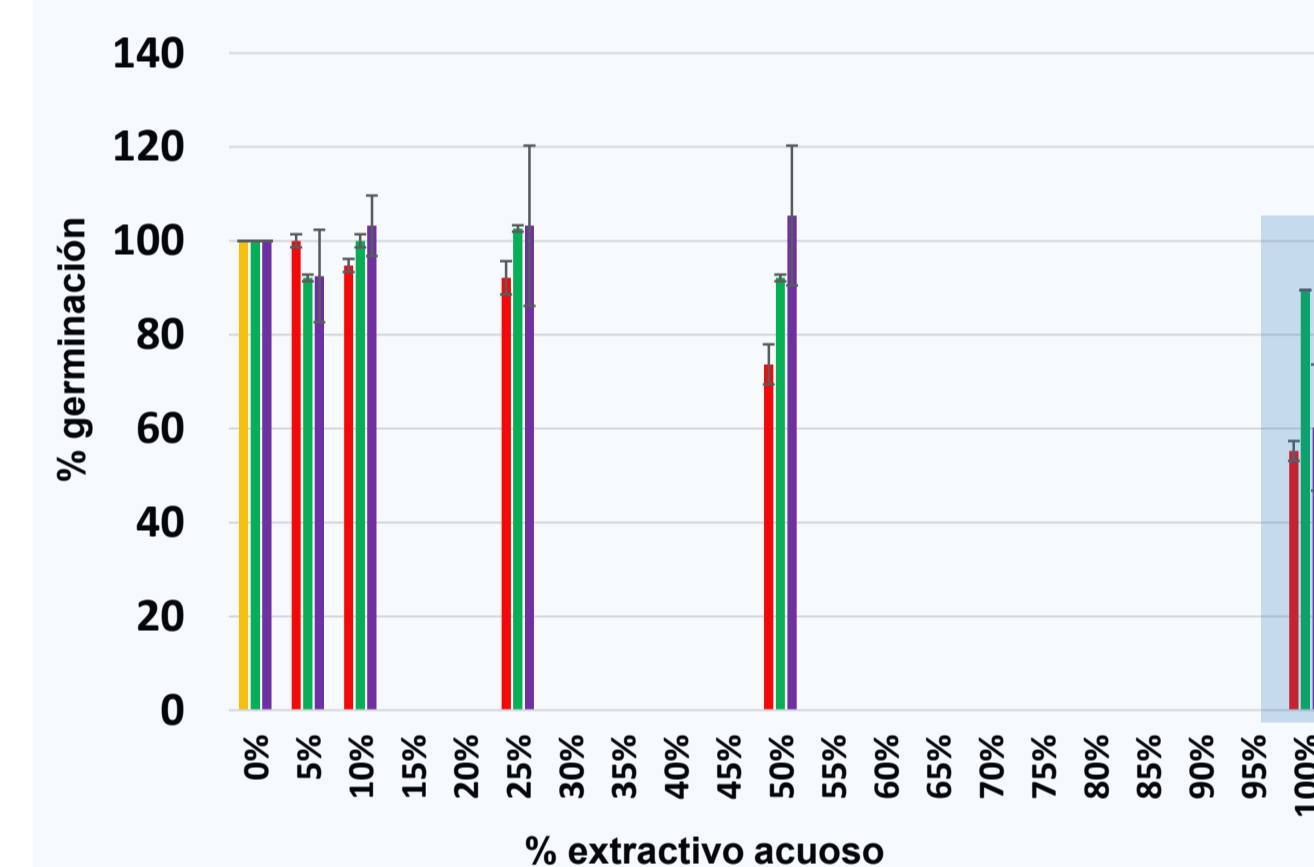
### Análisis enzimático

Se monitoreo el progreso de los microcosmos mediante la actividad deshidrogenasa (ug TPF/g seco). El compostaje y la estimulación produjeron un incremento significativo de la actividad deshidrogenasa, respecto del biorremediado. El compostaje produjo la mayor activación enzimática.



### Análisis Toxicológico

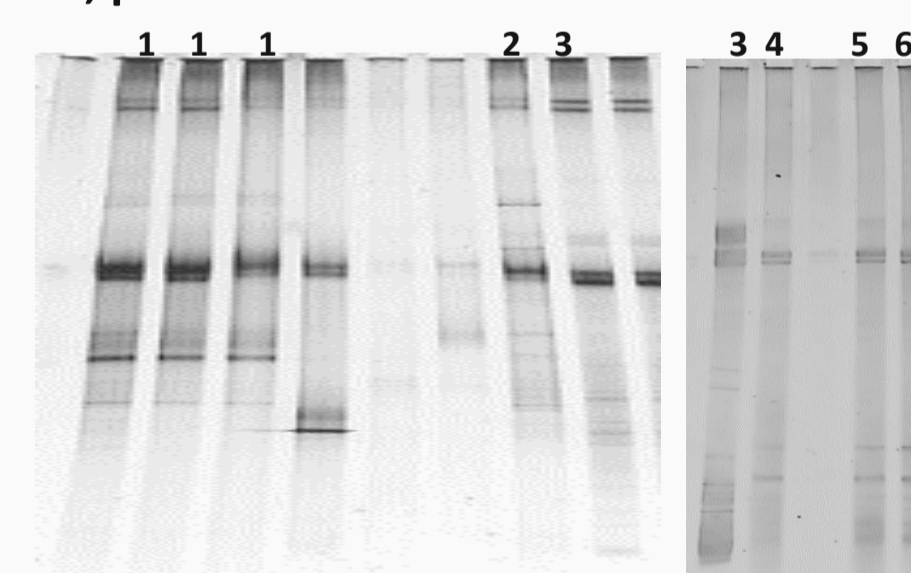
Se determinó el porcentaje de germinación en semillas de *L. sativa* en los tiempos presentados. El compostaje mostró un descenso significativo de la toxicidad.



### Análisis Molecular

A partir del ADN de los distintos tratamientos se amplificó la región 16S rRNA con los primers 341F-GC y 907 R. El producto de amplificación se sembró en un gel de poliacrilamida, con gradiente desnaturante 40-65%.

La Estimulación y el Compostaje produjeron un cambio en la estructura de las comunidades, por PCR-DGGE.

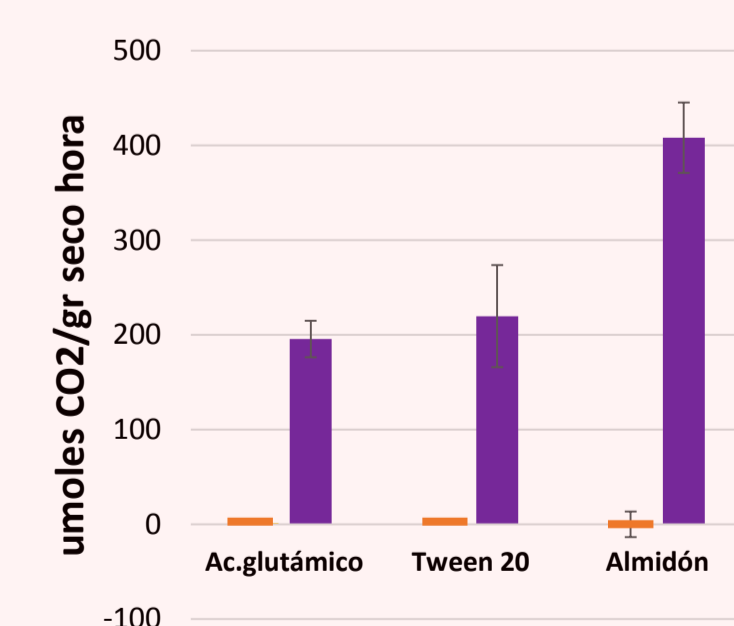


1: Microcosmos Estimulados  
2: Compost maduro  
3: Suelo  
4: Microcosmo compostado, día 60  
5: Microcosmo compostado, día 90  
6: Microcosmo compostado, día 120

### Análisis de resiliencia

La resiliencia biológica, es un parámetro de la calidad del suelo. El CO<sub>2</sub> generado por los sistemas, es una respuesta inducida por el agregado de sustratos (SIR), se cuantificó mediante GC-TCD. Los sustratos utilizados fueron:

- ac. Glutámico (10 mM)
- Tween 20 (100 mM)
- almidón (100 mM).



La Estimulación logró incrementar la diversidad catabólica.

### Análisis Químico

1) Se determinó C y N total de los sistemas, como parámetro del estado de los mismos al finalizar los tratamientos.

	Suelo	Estimulación	Compostaje
C	2,20	9,33	10,66
N	0,20	0,658	0,895
C/N	11	14,17	11,91

2) La concentración PAHs y de HA se determinó mediante GC-FID, al inicio y al final de los tratamientos.

No se encontraron diferencias significativas en las fracciones alifáticas analizadas (de C9 a C35).

No se encontraron diferencias significativas de PAHs totales. El tratamiento de Estimulación redujo significativamente la concentración de fenantreno, eliminando un 41.4%.

PAHs	Suelo		Bioestimulado		Compostado	
	ppm	std	ppm	std	ppm	std
Naftaleno	ND	-	ND	-	ND	-
Acenafiteno	31,29	13,15	28,06	2,17	42,44	7,84
Acenafreno	1,94	0,27	1,26	0,19	2,06	0,67
Fluoreno	2,46	2,93	0,17	0,24	0,79	0,26
Fenantreno	32,68	3,22	17,06	1,48	31,03	6,36
Antraceno	16,15	5,05	13,23	1,06	19,88	4,30
Carbazole	ND	-	ND	-	ND	-
Fluoranteno	25,54	4,24	19,87	1,39	30,33	4,76
Pireno	57,41	12,19	47,52	1,47	68,38	11,27
Benzo Antraceno	20,96	5,85	19,33	0,64	26,11	4,72
Criseno	20,48	6,69	18,36	0,26	28,31	7,12
Benzo Benzo Fluoranteno	19,29	7,27	16,80	1,52	23,61	4,45
Benzo Pireno	16,74	6,73	13,79	0,05	19,35	3,43
Indeno Pireno	5,58	1,67	6,12	0,09	9,08	1,39
Dibenz Antraceno	1,29	0,39	1,66	0,20	2,46	0,27
Benzo Perileno	5,55	2,09	6,42	1,29	11,15	1,88
PHA Totales	257,77	60,36	209,59	3,12	314,99	57,71

ND: No detectado

## CONCLUSIONES

- El microcosmos del suelo compostado manifestó cambios macroscópicos evidentes y compatibles con una activa degradación de la materia orgánica.
- El Compostaje y la Estimulación modificaron la estructura de la comunidad bacteriana del suelo contaminado e incrementaron significativamente las poblaciones cultivables, siendo el Compostaje el tratamiento que estimulo el mayor numero de poblaciones estudiadas.
- El Compostaje y la Estimulación estimularon significativamente la actividad deshidrogenasa inicialmente inhibida en el suelo contaminado.
- El Compostaje desarrollo una actividad deshidrogenasa siempre superior al tratamiento de Estimulación durante los primeros 4 meses.
- El incremento de la diversidad catabólica del suelo contaminado producido por la Estimulación nos anima a esperar un incremento similar en tratamiento de Compostaje (en curso).
- El Compostaje redujo significativamente la toxicidad del suelo tratado en 4 meses.
- Aunque el Compostaje no redujo significativamente la concentración de hidrocarburos, mejoró significativamente los parámetros microbiológicos y toxicológico estudiados, en el tiempo del experimento.