

USO DE CACHAZA Y BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR EN LA REMOCIÓN DE HIDROCARBUROS EN SUELO CONTAMINADO

Reyna GARCÍA-TORRES¹, Elvira RIOS-LEAL², Ángeles MARTÍNEZ-TOLEDO³, Fernando Rafael RAMOS-MORALES⁴, Jesús Samuel CRUZ-SANCHEZ⁵ y María del Carmen CUEVAS-DÍAZ¹

¹ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Veracruzana, Avenida Universidad km, 7.5 Coatzacoalcos, Veracruz, México, ccuevas@uv.mx

² Centro de Investigación y Estudios Avanzados-Instituto Politécnico Nacional, DF, México

³ Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México

⁴ Unidad de Servicios de Apoyo en Resolución Analítica, Universidad Veracruzana, Xalapa, Ver., México

⁵ Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana, Xalapa, Ver. México

(Recibido marzo 2010, aceptado octubre 2010)

Palabras clave: biorremediación, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), hidrocarburos totales del petróleo (HTP)

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar la eficiencia de remoción de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) de un suelo contaminado con petróleo crudo, utilizando dos tipos de residuos agroindustriales, la cachaza y el bagazo de caña de azúcar como enmiendas y texturizante. Para ello, se realizaron pruebas en microcosmos de cultivos sólidos para la biorremediación de un suelo contaminado con 14 300 mg kg⁻¹ de HTP y 23.14 mg kg⁻¹ de HAP. Las relaciones suelo:residuo utilizadas en las pruebas fueron las siguientes (%): 100:0, 98:2, 96:4 y 94:6, y la adición de macronutrientes con base en la relación carbono/nitrógeno/fósforo (%/%) de 100:10:1. El análisis estadístico indicó que hay diferencias significativas entre algunos de los tratamientos de remoción al utilizar cachaza y el bagazo de caña ($p < 0.0001$). La remoción de HTP fue de 60.1 % para bagazo y de 51.4 % para cachaza. Con cachaza en una relación 96:4 se logró una remoción de 43 % de HAP, mientras que el bagazo en una relación 98:2 removió 41 %. La cachaza resulta ser una alternativa para ser utilizada en los procesos biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos.

Key words: bioremediation, filter cake mud, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), total petroleum hydrocarbons (TPH)

ABSTRACT

The objective of this work was to determine the removal efficiency of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and total petroleum hydrocarbons (TPH) from soil contaminated with hydrocarbons using two different types of agricultural residues, filter cake mud and the sugarcane bagasse pith, as amendment and bulking agents. To test these approaches, a microcosms test was applied to soil contaminated with 14 300 mg kg⁻¹ of TPH and 23.14 mg kg⁻¹ of PAH. The soil treatments consisted of the following ratios of soil to residue (%/%) : 100:0, 98:2, 98:4 and 98:6, and macronutrient addition

was based on a carbon/nitrogen/phosphorus ratio (C:N:P, %/ % / %) of 100:10:1. Statistical analysis indicated that there were significant differences between the filter cake mud and the sugarcane bagasse pith treatments, in which the TPH removal efficiency was 60.1% using sugarcane bagasse pith and 51.4% with filter cake mud. A filter cake mud ratio of 96:4 produced the highest observed removal efficiency of PAH (43%), and a sugarcane bagasse pith ratio of 98:2 resulted in a PAH removal efficiency of 41%. Filter cake mud treatment could be an alternative for use in the bioremediation process of soils polluted with hydrocarbons.

INTRODUCCIÓN

En México existen suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo como consecuencia de fugas y derrames, así como por el manejo y disposición inadecuados de los residuos derivados de los procesos de extracción y procesamiento del petróleo crudo. En el 2006 se reportaron 3433 toneladas de hidrocarburos (petróleo crudo, diesel y gasolina) que fueron derramados en su mayoría en suelos (PEMEX 2006).

Debido a esto y para recuperar el suelo contaminado se han utilizado diferentes tecnologías siendo una de estas el composteo, que se basa en la adición de texturizantes (naranja, bagazo de caña, paja, aserrín y corteza de picea) que han permitido la degradación de HTP y HAP del suelo (Jorgensen *et al.* 1999, Chávez *et al.* 2003, Dzul-Puc *et al.* 2005, Roldán-Martín *et al.* 2006). La aplicación de texturizantes mejora la aireación, la porosidad y disminuyen los niveles de humedad (Guerin 2001, Scelza *et al.* 2007).

La combinación de texturizantes y enmiendas con los macronutrientes nitrógeno y fósforo, activan la flora microbiana autóctona en los suelos (Eweis *et al.* 1999, Semple *et al.* 2001). En relación a la cachaza y el bagazo de caña de azúcar, que son subproductos de la industria azucarera, con 30 y 300 kg por tonelada de materia prima procesada respectivamente (Zérega 1993), el bagazo de caña de azúcar es parcialmente utilizado en calderas o para la extracción de subproductos como alcohol, mientras que la cachaza es utilizada para el mejoramiento de las propiedades físicas y químicas del suelo (Serratia *et al.* 1990, Benedicto-Valdés *et al.* 2005). Sin embargo, el aprovechamiento de ambos residuos no es del todo eficiente por lo que se han considerado como fuentes de contaminación ambiental (Gutiérrez-Barba y Herrera-Colmenero 2002, Oswald y Oswald-Spring 2003).

Desafortunadamente, el uso de este tipo de residuos de la industria de la caña de azúcar en la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos

del petróleo, ha sido utilizado con poca frecuencia, en particular la cachaza. De ahí que el objetivo del presente trabajo refiere al aprovechamiento de la cachaza y del bagazo de caña de azúcar para la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Suelo contaminado y materiales orgánicos

Se utilizó suelo contaminado con hidrocarburos en concentraciones que rebasan la NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 (SEMARNAT 2003) colectado en Nanchital, Veracruz, México. El sitio de la colecta del suelo se encuentra a 10 m snm, en latitud norte 18° 04', longitud oeste 94° 25', con clima cálido, temperatura promedio de 27 °C y precipitación pluvial media anual de 1800 mm (INEGI 2005). Además, el suelo del área presenta una permeabilidad de 4.78×10^{-3} y 6.39×10^{-3} cm/s que indica buen drenaje (Juárez y Rico 2005).

Las muestras fueron obtenidas de forma aleatoria simple (Mason 1992) y extraídas a 0.3 y 1.0 metros de profundidad (Ford *et al.* 1984). Es importante indicar que el muestreo se efectuó dos años después de que el sitio fue tratado y no se contó con mayores especificaciones del tratamiento del mismo. La obtención de muestra se realizó conforme a la NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 (SEMARNAT 2003).

Para su estudio el suelo fue secado a temperatura ambiente en el laboratorio, homogenizado, tamizado a través de malla de 2 mm y almacenado a 4 °C para su posterior análisis y caracterización de las propiedades físicas y químicas mediante técnicas indicadas en la NOM-021-SEMARNAT-2000 (SEMARNAT 2000).

La cachaza y el bagazo de caña de azúcar fueron obtenidos de la zafra 2007 en el ingenio azucarero Cuatotolapan de Juan Díaz Covarrubias en el estado de Veracruz. A cada material orgánico se le determinó el contenido de materia orgánica (método AS-07 de Walkley y Black), nitrógeno total (método de Kjeld-

dahl), fósforo disponible (método de Bray y Kurtz), pH y humedad según NOM-021-SEMARNAT-2000 (SEMARNAT 2000).

Experimento en sistema de microcosmos

Se utilizaron como unidades experimentales botellas serológicas estériles de 250 mL, a las que se les colocaron 20 g de suelo y su respectivo residuo. Se emplearon las siguientes proporciones de suelo:residuo (%): 100:0, 98:2, 96:4, 94:6. Las muestras para cada tratamiento fueron por duplicado (ver método estadístico más adelante) y se realizó el ajuste único de nutrimentos a la relación de C:N:P (%/%/%) de 100:10:1 utilizando como fuente de nitrógeno NH_4NO_3 y de fósforo KH_2PO_4 (**Cuadro I**).

Las unidades experimentales se colocaron a 80 % de humedad de su capacidad de campo empleando el método gravimétrico de porcentaje de saturación (Ortiz y Ortiz 1990, Rodríguez y Rodríguez 2002). Las muestras fueron incubadas a 28 °C durante 15 días, con aireación a un flujo de 150 mL min^{-1} cada tercer día durante 20 minutos.

CUADRO I. CANTIDAD DE NUTRIMENTOS ADICIONADOS EN LAS SEIS COMBINACIONES DE LOS TRATAMIENTOS DE SUELO:BAGAZO Y SUELO:CACHAZA

Relación de suelo/residuo		NH_4NO_3 (g)	KH_2PO_4 (g)
suelo:bagazo	98:2	0.079	0.012
	96:4	0.128	0.024
	94:6	0.203	0.036
suelo:cachaza	98:2	0.698	0.003
	96:4	0.122	0.005
	94:6	0.175	0.009

Se utilizó como grupo control muestras de suelo estéril, cuyo proceso de esterilización consistió en someter el suelo a tres períodos de esterilización húmeda en autoclave a 1.5 kg cm^{-2} de presión durante 30 minutos, cada tercer día en una semana (Mendoza-Cantú *et al.* 2000, Gautam *et al.* 2003, Akhmetov *et al.* 2008).

La esterilidad del suelo fue comprobada mediante el método de cuenta de microorganismos en placa como unidades formadoras de colonias (UFC). Para lo cual, se pesó 1 g de suelo diluyendo con 9 mL de solución salina estéril (NaCl 0.85 % peso/volumen), de la cual se hicieron diluciones de 10^{-2} a 10^{-7} con solución salina, se tomaron alícuotas de 100 μL de las diluciones 10^{-4} a 10^{-7} para bacterias y 10^{-2} a 10^{-5} para hongos. Se inocularon cajas con agar nutritivo (marca Bioxon) para bacterias incubando a 37 °C y

para hongos en agar dextrosa papa (marca Bioxon) con rosa de bengala y como inhibidor bacteriano estreptomycin, incubando a 28 °C durante cinco días (Parkinson 1971, Lorch *et al.* 1998).

Análisis de HTP y HAP

Se determinaron los contenidos inicial y final de los HTP y HAP en cada unidad experimental. Los extractos de estos compuestos se realizaron mediante la técnica de microsoxhlet (USEPA 2002), que consistió en pesar 1 g de suelo seco, se adicionaron 2 g de sulfato de sodio anhidro, mezclando ambos y depositándolos en un cartucho de papel filtro. Se utilizaron 15 mL de diclorometano grado HPLC (marca Fermont) como disolvente de extracción. El proceso de extracción se mantuvo a reflujo constante durante 4 h. La concentración de HTP se determinó mediante la técnica gravimétrica NMX-AA-134-SCFI-2006 (SEMARNAT 2006).

Los HAP se fraccionaron después de la extracción, por adición al extracto seco de una mezcla de acetonitrilo-metanol (1:1), la mezcla se depositó en una columna C18 eluyendo con 4 mL de agua desionizada y desechando. La columna se secó al vacío durante 20 minutos. Se realizó la elución con una mezcla de acetonitrilo-diclorometano-hexano (3:50:47 v/v/v). El eluato se depositó en un frasco ámbar para su concentración con corriente de nitrógeno o rotavapor (Chen *et al.* 1996).

La cuantificación de HAP, se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución con detector UV con arreglo de diodos Varian 9065, bomba Varian 9012, inyector con automuestreador Varian 9300 y una columna Vydac 201TP54 C-18 de 150 \times 4.5 mm, sílice C_{18} de tamaño de partícula de 5 μm . Como fase móvil se utilizó una mezcla acetonitrilo:agua bajo gradiente de concentración. La elución del tiempo cero al primer minuto fue de 0.80 mL min^{-1} con 29 % de agua y 71 % de acetonitrilo; del minuto 1 al 10 el flujo fue de 1 mL min^{-1} con 12 % de agua y 88 % de acetonitrilo, y al minuto 25 se mantuvo el flujo de 1 mL min^{-1} con 27 % de agua y 73 % de acetonitrilo.

Los estándares utilizados fueron una mezcla de 12 HAP individuales marca Aldrich (naftaleno, acenafeno, acenaftileno, fluoreno, fenantreno, antraceno, pireno, fluoranteno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno y benzo(a)pireno) en concentración de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de cada uno de ellos. A partir de esta mezcla se prepararon diluciones en concentraciones de 10, 8, 5, 3, 0.5, 0.2 $\mu\text{g mL}^{-1}$ en acetona.

Se determinó la relación lineal, desviación estándar relativa y mínima cantidad detectable. Donde la asociación entre variables fue de 2.0 - 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, con

coeficiente de correlación (r^2) de 0.98, desviación estándar relativa de 7.2 % y la mínima cantidad detectable fue de $0.2 \mu\text{g mL}^{-1}$. El estándar se cuantificó al inicio de una corrida y cada 10 muestras.

Diseño experimental y análisis estadístico

Con el diseño experimental con los dos residuos: cachaza y bagazo, con distintas relaciones suelo:residuo se realizó una caracterización del suelo, cachaza y bagazo de caña. Las variables de respuesta de los tratamientos fueron analizadas empleando modelos lineales generalizados para un diseño de ANOVA de una vía con ajuste de distribución de error gamma para la variable concentración de HTP y tipo Poisson para el caso de los porcentajes de remoción de HTP y HAP. Esto debido a que las variables de respuesta no cumplieron con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas; el ajuste de distribución gamma se utilizó para reducir el efecto de sobre dispersión en los datos. El diseño experimental con las dos repeticiones por tratamiento asignadas de forma aleatoria fue suficiente para poder realizar la comparación mínima entre grupos y probar así las hipótesis estadísticas. El paquete estadístico empleado fue JMP 6 (SAS Institute).

RESULTADOS

Caracterización de suelo y residuos agrícolas orgánicos

La concentración de HTP en el suelo cumple con lo establecido para el tratamiento por biorremediación, ya que la concentración es $< 50000 \text{ mg kg}^{-1}$, que es uno de los criterios enumerados para aplicar este tipo de tecnología, debido a que concentraciones

altas pueden ser tóxicas para los microorganismos (Alexander 1999, Eweis *et al.* 1999, Velasco y Volke 2003).

El suelo presentó pH ácido al igual que el bagazo de caña de azúcar, pero la cachaza es básica, por lo que la mezcla de estos residuos con el suelo en las diferentes relaciones contribuye a un cambio en esta propiedad y en otros elementos cuantificados en los tres tipos de sustratos que indican variación en los valores registrados (**Cuadro II**).

Remoción de hidrocarburos del petróleo por la aplicación de texturizantes

La concentración de HTP difirió significativamente entre los tratamientos aplicados a los suelos ($\chi^2= 60$, $P<0.0001$). De esta forma se registró que el suelo estéril presentó la mayor concentración de HTP, junto con el tratamiento de suelos sin tratamiento y cachaza en relación 94:6 (%/%) aunque estos difirieron significativamente. En contraste, el grupo en relación 96:4 para bagazo presentó un valor de HTP intermedio y siendo distinto respecto al bagazo en 94:6, cachaza al 98:2 y 96:4. Estos tres últimos grupos fueron semejantes en su concentración promedio, lo cual difiere de la respuesta obtenida al tratamiento de bagazo en relación 98:2, ya que este presentó el menor valor promedio (**Fig. 1**). La escasa remoción para el suelo sin residuos indica que tanto el bagazo como la cachaza contribuyen a la remoción de hidrocarburos del suelo contaminado.

De igual forma, la comparación de los porcentajes de remoción HTP mostró diferencias por efecto de los tratamientos ($\chi^2= 129$, $P<0.0001$). En donde se pudo registrar que el bagazo de caña en la relación 98:2 tiene mayor remoción comparado con la cachaza de caña en el tratamiento 96:4. Asimismo,

CUADRO II. CARACTERIZACIÓN DEL SUELO, CACHAZA Y BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR

Parámetros	Suelo	Cachaza	Bagazo
pH	4.7	8.2	5.8
Clase textural	Migajón arenosa		
Humedad a capacidad de campo (%)	30		
Densidad aparente (g cm^{-3})	1.17		
Materia orgánica (%)	1.36	93.43	97.4
Carbono (%)	0.79	54.32	56.68
Fósforo (mg kg^{-1})	0.71	44.9	5.22
Nitrógeno total (%)	0.05	0.79	0.23
HTP (mg kg^{-1} suelo seco)	14300 \pm 28.5	ND	ND
HAP (mg kg^{-1} suelo seco)	23.14 \pm 0.25	ND	ND

ND = no determinado, \pm = desviación estándar. Para el caso de HTP y HAP se indica el valor promedio.

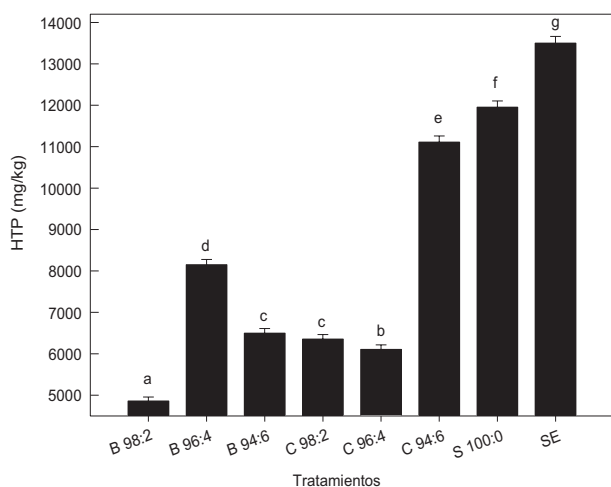


Fig. 1. Concentración promedio (\pm I.C. al 95) de los HTP residuales en los suelos tratados en distintas relaciones 98:2, 96:4, 94:6 (%/%) en bagazo de caña (B) y cachaza (C) vs. suelo sin tratamiento (S) y suelo estéril (SE). Los tratamientos con dos réplicas se incubaron a 28 °C durante 15 días. Letras iguales indican que no hay diferencias significativas

la menor remoción se registró en la cachaza cuando el tratamiento fue de 94:6 y la respuesta en el suelo sin residuos fue escasa. Por lo que, en general tanto el bagazo como la cachaza tienen un efecto de remoción de hidrocarburos acumulados en el suelo (**Fig. 2**).

El porcentaje de remoción de HAP, también difirió significativamente entre tratamientos ($\chi^2=131$, $P<0.001$) ya que para los tres tratamientos con el

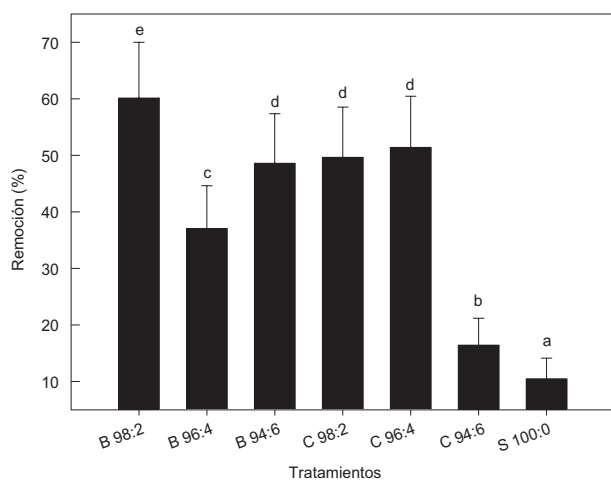


Fig. 2. Porcentaje promedio de remoción (\pm I.C. al 95) de HTP en las diferentes relaciones porcentuales de suelo:residuo a partir de bagazo de caña (B) y cachaza (C) vs. suelo sin tratamiento (S). Incubación a 28 °C durante 15 días, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas

bagazo de caña en sus distintas relaciones con suelo fueron en los que se presentó un mayor porcentaje de remoción, similar respuesta se registró en el tratamiento de bagazo en la relación 96:4, lo cual contrastó con el resultado obtenido con bagazo 98:2 y 94:6, respuestas que difirieron al comparar con la condición de suelo no tratado (**Fig.3**).

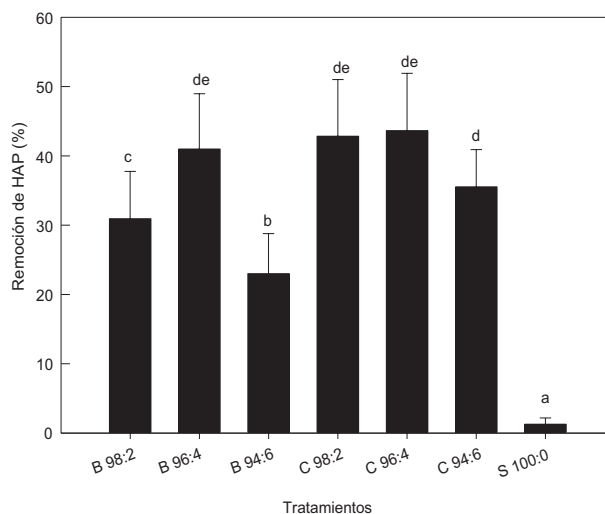


Fig. 3. Porcentaje promedio de remoción (\pm I.C. al 95) de HAP en las diferentes relaciones porcentuales de suelo:residuo a partir de bagazo de caña (B) y cachaza (C) vs. suelo sin tratamiento (S). Incubación a 28 °C durante 15 días, las letras iguales indican que no hay diferencias significativas

La concentración inicial total de HAP en suelo fue 23.14 mg kg⁻¹, las fracciones fueron naftaleno 0.6, fluoreno 17.35, fenantreno 2.35, fluoranteno 0.40, pireno 0.91, benzo(b)fluoranteno 1.01 y benzo(a)pireno 0.52 mg kg⁻¹ (**Cuadro III**).

De los macronutrientes adicionados ajustados conforme a la relación C:N:P (%/%) de 100:10:1, el fósforo disminuyó en todos los tratamientos obteniéndose relaciones C:P de 100<1 en relación al ajuste inicial de 100:1. El nitrógeno se consumió en forma variable de acuerdo a las relaciones porcentuales de cachaza y bagazo de caña de azúcar con suelo: 98:2, 96:4 y 94:6, encontrándose las siguientes relaciones finales C:N para bagazo de caña: 100:5.7, 100:7.1, 100:7.6 respectivamente y para la cachaza de 100:9.5, 100:8.9 y 100:9.9. Cabe destacar que la cachaza fue el residuo que aportó más nitrógeno y fósforo al suelo, sin aplicar ningún método estadístico para estos resultados.

Cuantificación de bacterias y de hongos

Con relación a los microorganismos heterotrófi-

CUADRO III. VALORES PROMEDIO (\pm DE) DE CONCENTRACIÓN POR TIPO DE HAP EN LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS

Tipo de HAP (mgkg ⁻¹)	Relación suelo:residuo agroindustrial						
	Suelo:bagazo			Suelo:cachaza			Suelo
	98:2	96:4	94:6	98:2	96:4	94:6	100:0
Naftaleno	0.4 \pm 0.26	0.5 \pm 0.02	0.5 \pm 0.05	0.3 \pm 0.04	0.4 \pm 0.03	0.6 \pm 0.02	0.5 \pm 0.05
Fluoreno	12.4 \pm 0.83	10.5 \pm 0.26	14.3 \pm 0.64	10.5 \pm 0.13	9.6 \pm 0.53	11.6 \pm 0.75	16.9 \pm 0.46
Fenantreno	1.0 \pm 0.13	0.5 \pm 0.02	1.0 \pm 0.41	0.8 \pm 0.07	0.4 \pm 0.04	0.8 \pm 0.03	2.5 \pm 0.37
Fluoranteno	0.4 \pm 0.01	0.5 \pm 0.01	0.5 \pm 0.07	0.4 \pm 0.07	0.4 \pm 0.06	0.4 \pm 0.04	0.4 \pm 0.06
Pireno	0.8 \pm 0.32	0.8 \pm 0.07	0.9 \pm 0.2	0.4 \pm 0.04	0.7 \pm 0.29	0.7 \pm 0.22	0.8 \pm 0.36
Benzo(b)fluoranteno	0.9 \pm 0.10	0.9 \pm 0.01	0.7 \pm 0.13	0.8 \pm 0.05	0.8 \pm 0.16	0.8 \pm 0.21	1.0 \pm 0.15
Benzo(a)pireno	0.4 \pm 0.10	NC	NC	NC	NC	NC	0.5 \pm 0.15

NC = no cuantificable, \pm = desviación estándar

cos (hongos y bacterias) del suelo se observó que la cantidad de UFC de bacterias totales aumentó para los dos tratamientos con base en su contenido inicial en suelo (**Cuadro IV**). El crecimiento de hongos se favoreció con la cachaza de caña (96:4 %/%) y el bagazo de caña (98:2 %/%)

DISCUSIÓN

La remoción de HTP del suelo estéril sin residuo agroindustrial puede atribuirse al efecto de la volatilización de hidrocarburos y se puede inferir que los contaminantes presentes en el suelo son poco volátiles y de estructura química de difícil modificación. De hecho, se ha observado una remoción hasta del 35 % de contaminantes por efectos de volatilización en suelo testigo contaminado con hidrocarburos (Rhykerd *et al.* 1999).

En este trabajo se observó que para los distintos tratamientos los hidrocarburos aromáticos con 2, 3 y 4 anillos disminuyeron en concentración y que las concentraciones del benzo(a)pireno disminuyeron por debajo de los límites de detección del equipo. La mayoría de los estudios coinciden en que los hidrocarburos aromáticos con menor cantidad de anillos pueden ser modificados por las bacterias y los hongos del suelo (Kästner y Mahro 1996, Cajtha-

ml *et al.* 2002, Bayoumi 2009), a diferencia de los que tienen mayor cantidad de anillos que son más recalcitrantes. Sin embargo, se ha demostrado que algunas bacterias pueden utilizar pireno como fuente de carbono y energía cometabolizando pequeñas cantidades de benzo(a)pireno y benzo(a)antraceno (Schneider *et al.* 1996, Boonchan *et al.* 2000) por lo que es factible que este proceso se presente en el sistema de este trabajo.

Las condiciones del sistema de cultivo para el suelo contaminado permitieron disminuir la concentración de los HTP y HAP a 60.1 y 43 %, respectivamente, con el uso de la cachaza (96:4) en un tiempo de 15 días. Resultados similares fueron observados en los trabajos de Pérez-Armendáriz *et al.* (2004), quienes utilizaron como texturizante el bagazo de caña de azúcar en una relación 49:1 (peso/peso) y con un ajuste de nutrimentos de 100:10:1 (C:N:P) y humedad del 60 %, por lo que estos autores encontraron que la remoción de los HTP fue del orden de 54 % en 16 días. En contraste Amezcua-Allieri *et al.* (2003), reportaron una remoción del 74 % de fenantreno de un suelo inoculado con un hongo aislado del bagazo de caña de azúcar, en un tiempo de 29 días. En estos estudios la humedad parece jugar un papel importante porque favorece el crecimiento de microorganismos que mejoran la remoción de contaminantes (von Fahnstock *et al.* 1998).

CUADRO IV. CONTEO DE COLONIAS DE MICROORGANISMOS EN TRES TRATAMIENTOS Y COMBINACIONES DE SUELO: BAGAZO Y SUELO: CACHAZA

Parámetro (UFCg ⁻¹)	Suelo inicial	Suelo:bagazo	
		98:2	96:4
Cuenta total de bacterias	3 \times 10 ⁵	22 \times 10 ⁷	2 \times 10 ⁶
Cuenta total de hongos	4 \times 10 ⁴	2 \times 10 ⁵	6 \times 10 ⁵

Bento *et al.* (2005) reportaron menor biodegradación en fracciones pesadas de suelos contaminados con diesel, al igual que los resultados obtenidos en este estudio, lo cual podría deberse a las fracciones recalcitrantes.

El éxito del presente trabajo radica en se han logrado alcanzar resultados similares en 15 días, sin necesidad de bioaumentar los suelos, con la alternativa de utilizar la cachaza de caña de azúcar en lugar de bagazo y con menor cantidad en la proporción de suelo:residuo agroindustrial. En contraste con lo que registraron Chávez *et al.* (2003), quienes obtuvieron una remoción del 20 % de fenantreno durante una prueba de 18 días, con cuatro tipos de bacterias, en tanto que Marín *et al.* (2006), redujeron los HTP en 60 % con viruta de madera en 3 meses utilizando una relación 1:3 (suelo:viruta peso/peso).

La incorporación tanto del bagazo como de la cachaza presentaron efecto similar en la degradación del petróleo, siendo el residuo orgánico seleccionado (cachaza) el idóneo para su aplicación en la remediación del suelo debido a su disponibilidad de 2.5 toneladas por 100 toneladas de caña. Lo que en el estado de Veracruz se traduce en 470 000 toneladas de cachaza con base a la producción de caña en el año 2006 de 18 941 266 toneladas (SIAP 2007), con costo de producción cero por ser un residuo no ocupado por la industria azucarera.

El aumento en el número de colonias de microorganismos indicó una reactivación de la flora autóctona y un posible aporte de microorganismos al suelo por parte de los residuos utilizados. Esto fue consistente con el consumo de fósforo y la disminución de nitrógeno. El fósforo es utilizado por los microorganismos en la síntesis de ácidos nucleicos, ATP, y el nitrógeno en síntesis proteica (Atlas 1981). Varios estudios han demostrado que la adición de fósforo puede estimular la biodegradación de los hidrocarburos del petróleo (Dibble y Bartha 1979, Mills y Frankenberger 1994, Margesin *et al.* 2007), por su disponibilidad (Liegbeg y Cutright 1999).

Los resultados de las poblaciones de microorganismos heterotróficos iniciales del presente estudio son congruentes con los de Rivera-Cruz *et al.* (2002), quienes observaron en un suelo contaminado con petróleo, en concentraciones de HTP de 115 000 mgKg⁻¹, una población bacteriana de 1480 x 10³ UFC g⁻¹ y 197 x 10² UFC g⁻¹ de hongos. Finalmente, al igual que en los resultados de Pérez-Armendáriz *et al.* (2004), se observó un aumento en el crecimiento de las poblaciones de hongos y bacterias totales en suelos contaminados y tratados con bagazo de caña de azúcar.

CONCLUSIONES

La cachaza resultó ser una alternativa para ser utilizada en los procesos de remoción de contaminantes como los HTP y HAP de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo, con resultados semejantes a los alcanzados con el bagazo de caña de azúcar. La cachaza además de funcionar como enmienda, presenta la ventaja de aportar microorganismos al suelo con la capacidad de biotransformar los tóxicos, y de nutrientes en mayor concentración que los encontrados en bagazo de caña de azúcar, en especial del fósforo.

AGRADECIMIENTOS

Al proyecto FOMIX-CONACyT-VER 2006. A PEMEX-Refinación ductos por las facilidades otorgadas para el muestreo de suelo. Al Ingenio Cuatotolapan por el suministro de cachaza y bagazo de caña de azúcar.

REFERENCIAS

- Akhmetov L. I., Filonov, A. E., Puntus, I. F., Kosheleva, I. A., Nechaeva, I. A., Yonge, D. R., Petersen, J. N. y Boronin, A. M. (2008). Horizontal transfer of catabolic plasmids in the process of naphthalene biodegradation in model soil Systems. *Microbiol.* 77, 23-32.
- Alexander M. (1999). *Biodegradation and Bioremediation*. Academic Press. New York. 453 pp.
- Amezcuca-Allieri M. A., Lead J. R., Meléndez-Estrada J. y Rodríguez-Vázquez R. (2003). Phenanthrene removal in a selected Mexican soil by the fungus *Penicillium frequentans*: role of C:N ratio and water content. *Soil. Sediment. Contam.* 12, 387-399.
- Atlas R. M. (1981). Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Microbiol. Rev.* 45, 180-209.
- Bayoumi R. A. (2009). Bacterial bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons in heavy oil contaminated soil. *J. Appl. Sci. Res.* 5, 197-211.
- Benedicto-Valdés G. S., Hidalgo-Moreno C., Ordaz-Chaparro V., Sánchez-Hernández R. y López-David J. P. (2005). Cambios en las propiedades físicas de un suelo arcilloso por aportes de lombricompost de cachaza y estiércol. *Interciencia.* 30(12), 775-779.
- Bento F. M., Camargo F. A. O., Okeke B. C. y Frankenberger W. T. (2005). Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. *Bioresource Technol.* 96, 1049-1055.

- Boonchan S., Britz M. L. y Stanley G. A. (2000). Degradation and mineralization of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by defined fungal-bacterial cocultures. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 1007-1019.
- Cajthaml T., Batt M., Sasek V. y Mateju V. (2002) Bioremediation of PAH-contaminated soil by composting: A case of study. *Folia Microbiol.* 47, 696-700.
- Chávez G. B., Quintero R., Esparza F., Mesta H. A. M., Zavala F.J., Hernández C. H., Guillén T., Poggi V. H. M., Barrera C. J. y Rodríguez V. R. (2003). Removal of phenanthrene from soil by co-cultures of bacteria and fungi pregrown and sugar cane bagasse pith. *Bio-resource Technol.* 89, 177-183.
- Chen S. C., Suresh C. R. y Lee, S. L. (1996) Evaluation of extraction and detection methods for determining polynuclear aromatic hydrocarbons from coal tar contaminated soils. *Chemosphere.* 32, 1123-1132.
- Dibble J. T. y Bartha R. (1979). Effect of environmental parameters on biodegradation of oil sludge. *Appl. Environ. Microb.* 37, 729-739.
- Dzul-Puc J. D., Esparza-García F., Barajas-Aceves M. y Rodríguez-Vázquez R. (2005). Benzo(a)pyrene removal from soil by *Phanerochaete chrysosporium* grown on sugarcane bagasse and pine sawdust. *Chemosphere.* 58, 1-7.
- Eweis J. B., Ergas S. J., Chang D. P. y Shroeder E. D. (1999). *Principios de Biorrecuperación*. McGraw Hill. Madrid, 327 pp.
- Ford P. J., Turina P. J. y Seely D. E. (1984). *Characterization of hazardous waste sites. A Methods Manual: Volume II. Available sampling methods. Second edition.* EPA-600/4-84-076.300.
- Gautam K. S., Sharma R., Ahmad A. H. y Thakkur, S. I. (2003). Evaluation of pentachlorophenol-degrading potentiality of *Pseudomonas* sp in a soil microcosm. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 19, 73-78.
- Guerin T.F. (2001). Co-composting of pharmaceutical wastes in soil. *Lett. Appl. Microbiol.* 33, 256-263
- Gutiérrez-Barba B. E. y Herrera-Colmenero N. I. (2002). *La ingeniería ambiental en México*. Limusa. ISBN: 9681861337. México, 27-29 pp.
- INEGI (2005). Anuario estadístico, gobierno del estado de Veracruz. Tomos I y II. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.
- Jorgensen K. S., Puustinen J. y Suortti A. M. (1999). Bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil by composting biopiles. *Environ. Pollut.* 107, 245-254.
- Juárez B. E. y Rico R. A. (2005). *Mecánica de suelos*. Tomo I. Limusa. México. 197 pp.
- Kästner M. y Mahro B. (1996). Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil affected by the organic matrix of compost. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 44, 668-675.
- Liegbeg E. W. y Cutright T. J. (1999). The investigation of enhanced bioremediation through the addition of macro and micro nutrients in PAH contaminated soil. *Int. Biodeter. Biodegr.* 44, 55-64.
- Lorch H. J., Benckieser G. y Ottow J. C. G. (1998). Basic methods for counting microorganisms in soil and water. In *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. K. Alef y P. Nannipieri (Eds). Academic Press. London. 146-161 pp.
- Margesin R., Hämmerle M. y Tschërko D. (2007). Microbial activity and community composition during bioremediation of diesel-oil contaminated soil: effects of hydrocarbon concentration, fertilizers an incubation time. *Microb. Ecol.* 53, 259-269.
- Marin J.A., Moreno J.L., Hernández T., García C. (2006). Bioremediation by composting of heavy oil refinery sludge in semiarid conditions. *Biodegradation.* 17, 251-261.
- Mason B. (1992). Preparation of soil sampling protocols: sampling techniques and strategies. USEPA, EPA/600/R-921/128.69.
- Mendoza-Cantú A., Albores A, Fernández-Linares L. y Rodríguez-Vázquez R. (2000). Pentachlorophenol biodegradation and detoxification by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Environ. Toxicol.* 15, 107-113.
- Mills S. A. y Frankenberger W. T. (1994). Evaluation of phosphorus sources promoting bioremediation of diesel fuel in soil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 53, 280-284.
- Ortiz V. B. y Ortiz S. C. A. (1990). *Edafología*. UACH. Depto. de Suelos. México, 394 pp.
- Oswald U. y Oswald-Spring U. (2003). *El recurso agua en el alto balsas*. UNAM, México, 148 pp.
- PEMEX (2006). Informe Desarrollo Sustentable 2006. Desempeño Ambiental: Derrames y Fugas. México.
- Parkinson D., Gray T.R.G. y Williams S.T. (1971). Methods for studying the ecology of soil microorganism. I.B.P Handbook No. 19. Blackwell, Oxford.
- Pérez-Armendariz A. B., Loera C. O., Fernandez-Linares L., Esparza-García G. F. y Rodríguez-Vázquez R. (2004). Biostimulation of micro-organisms from sugarcane bagasse pith for the removal of wheathered hydrocarbon from soil. *Lett. Appl. Microbiol.* 38, 373-377.
- Rhykerd R. L., Crews B., McInnes K. J. y Weaber R. W. (1999). Impact of bulking agent forced aeration and tillage on remediation of oil contaminated-soil. *Bio-resource Technol.* 67, 279-285.
- Rivera-Cruz M. C., Ferrera-Cerrato R., Volke-Haller E., Fernández-Linares L. y Rodríguez-Vázquez R. (2002). Poblaciones microbianas de perfiles de suelos

- afectados por hidrocarburos del petróleo en el estado de Tabasco, México. *Agrociencia*. 36,149-160.
- Rodríguez F. H. y Rodríguez A. J. (2002). *Métodos de análisis de suelos y plantas: criterios de interpretación*. Trillas. México, 196 pp.
- Roldán M. A., Esparza G. F., Calva C. G. y Rodríguez V. R. (2006). Effects of mixing low amounts of orange peel (*Citrus reticulata*) with hydrocarbon contaminated soil in solid culture to promote remediation. *J. Environ. Sci. Heal. A*. 41, 2373-2385.
- Scelza R., Rao M. A. y Gianfreda L. (2007). Effect of compost and of bacterial cell on the decontamination and the chemical and biological properties of an agricultural soil artificially contaminated with phenanthrene. *Soil Biol. Biochem.* 39, 1303-1317.
- Schneider J., Grosser R., Jayasimhulu K., Xue W. y Warshawsky D. (1996). Degradation of pyrene, benz(a)anthracene, and benzo(a)pyrene by *Mycobacterium* sp. Strain RJGII-135, isolated from a former coal gasification site. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 13-19.
- SEMARNAT (2006). Norma Mexicana NMX-AA-134-SCFI-2006. Suelos. Hidrocarburos Fracción Pesada por Extracción y Gravimetría. Método de Prueba. Diario Oficial de la Federación. 12 de Octubre de 2006.
- SEMARNAT (2000). Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT (2000). Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. 31 de Diciembre de 2002.
- SEMARNAT (2003). Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelo y las especificaciones para su caracterización y remediación. Diario Oficial de la Federación 29 de Marzo de 2005.
- Serratia P., Solano A. y Preston T. R. (1990). Utilización de jugo de caña y cachaza panelera en la alimentación de cerdos. *Livestock Research for Rural Development* [en línea] <http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd2/2/sarria.htm>. 26/08/07
- Semple K.T., Reid B.J. y Fermor T.R. (2001). Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. *Environ. Pollut.* 12: 269-283.
- SIAP (2007). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [en línea] <http://www.siapsagarpa.gob.mx>. 02/08/07
- USEPA Environmental Protection Agency (2002). SW 846 Method 3570. Microscale solvent extraction (MSE) [en línea] <http://www.epa.gov/SW-846/pdfs/3570.pdf>. 28/02/07.
- Velasco J. A. y Volke S. T. L. (2003). El composteo: una alternativa tecnológica para la biorremediación de suelos en México. *Gaceta Ecológica*. 66, 42-53.
- von Fahnstock F. M., Wickramanayake G. B., Kratzke R.J. y Major W.R. (1998). *Biopile design, operation and maintenance handbook for treating hydrocarbons-contaminated soils*. Batelle Press. Columbus, Ohio. 123 pp.
- Zérega M. L. (1993). Manejo y uso agronómico de la cachaza en suelos cañameleros. *Caña de azúcar*. 11, 71-92.