

## BIOCORRECCIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON ISÓMEROS DE HEXACLOROCICLOHEXANO MEDIANTE TÉCNICAS DE LANDFARMING Y BIOPILAS

Rubinos, D.; Villasuso, R.; Barral, M.T. y Díaz-Fierros, F.

Depto. Edafología e Química Agrícola. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago.

**RESUMEN:** En este estudio un suelo fuertemente contaminado (>5000 mg/kg) con isómeros hexaclorociclohexano (HCH) procedente de una antigua fábrica de lindano (O Porriño, Pontevedra, España) fue tratado mediante *landfarming* y formación de biopilas. El *landfarming* es una técnica de biocorrección en la cual se adicionan al suelo contaminado nutrientes y enmiendas, y se somete a laboreo periódico para su aireación. Durante el periodo de tratamiento (~1 año) se observó una disminución rápida y significativa de la concentración de isómeros  $\alpha$ -HCH (89%) y  $\gamma$ -HCH (82%), causada por la destrucción de los agregados de HCH junto con la degradación biológica del HCH, favorecida por la mejora de las condiciones físicas y químicas del suelo. Por el contrario, el isómero  $\beta$ -, más persistente, no se vio afectado por el tratamiento. Se ensayó también la eficacia del sistema de biopilas, una técnica de biocorrección *ex situ* consistente en la adición de nutrientes, materia orgánica y otras enmiendas al suelo contaminado, que se dispone en montones alargados (pilas), estimulándose la actividad microbiana aerobia mediante aireación y mantenimiento de una humedad adecuada, a fin de intensificar la biodegradación del contaminante. En este estudio se comparó la eficacia de tres sistemas constituidos por suelo contaminado con HCH y diversos materiales orgánicos (estiércol, compost, tojo y corteza de pino). A lo largo del experimento, cuya duración fue de tres meses, se observó una disminución progresiva de la concentración de isómeros de HCH, alcanzándose reducciones, para los isómeros más abundantes, que variaron entre 25-73% para  $\alpha$ -HCH y 32-56% para  $\beta$ -HCH. Los mayores porcentajes de degradación se observaron en la biopila en la que el suelo contaminado se mezcló con estiércol, corteza y tojo, en proporción (70:15:7,5:7,5). En esta biopila se consiguió también la mayor reducción de los isómeros  $\gamma$ - y  $\delta$ -HCH (68% y 28% respectivamente).

**Palabras clave:** Lindano, biodegradación, biolabranza, compostaje, saneamiento

### 1. INTRODUCCIÓN

El hexaclorociclohexano (HCH) se cuenta entre los insecticidas más usados en agricultura, silvicultura y como conservante de madera en las décadas de 1960 y 1970. Con este nombre se denominan de manera conjunta a los ocho isómeros del 1, 2, 3, 4, 5 y 6- hexaclorociclohexano, que se designan utilizando los caracteres griegos como  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -,  $\epsilon$ -,  $\eta$ -, y  $\theta$ - HCH, dependiendo de la configuración espacial de los átomos de Cl alrededor del anillo de hexano (Willet et al., 1998). Entre ellos, el isómero  $\gamma$ - (denominado *lindano*) es el isómero con la mayor actividad

insecticida. Actualmente, la contaminación de los suelos por HCH es causada principalmente por antiguas fábricas de lindano ( $\gamma$ -HCH), cuyos residuos frecuentemente eran vertidos en escombreras o directamente en el suelo. Como consecuencia de estas prácticas se han identificado un gran número de casos de contaminación severa de suelos por HCH en diferentes partes del mundo. Además, las aguas subterráneas y superficiales pueden ser afectadas de manera grave debido a la posible migración del HCH.

La necesidad de sanear suelos contaminados por isómeros de HCH se justifica por su toxicidad, que depende del

isómero considerado. La U.S. Environmental Protection Agency ha clasificado el isómero  $\alpha$ -HCH y el HCH – mezcla técnica como carcinógenos de clase B2 (probable carcinógeno para humanos), el  $\beta$ -HCH como C (posible carcinógeno para humanos), el  $\gamma$ -HCH como B2/C y el  $\delta$ -HCH como D (no clasificado). Además, se han descrito efectos estrogénicos del isómero  $\beta$ - en células de mamíferos, mamíferos de laboratorio y peces (Willet et al., 1998).

Entre las diferentes técnicas propuestas para el saneamiento de suelos contaminados con residuos químicos peligrosos, la biocorrección es considerada como una tecnología efectiva, de bajo coste y ambientalmente segura. La técnica de biocorrección utilizada puede suponer la adición de un inoculo microbiano al suelo contaminado (*bioaumentación*) o bien consistir en la estimulación de la población bacteriana autóctona del suelo mediante la corrección de las propiedades del suelo, adición de nutrientes y/o manipulación mecánica del suelo (*bioestimulación*) (Haimi, 2000). Debido a los problemas inherentes asociados a la bioaumentación, como baja supervivencia de las cepas alóctonas, la bioestimulación es la técnica recomendada en sitios contaminados con bacterias autóctonas adaptadas con capacidad degradadora del contaminante (Maila & Cloete, 2004).

Las técnicas de biocorrección pueden actuar sobre el suelo contaminado sin que sea trasladado del sitio, las cuales se denominan “técnicas *in situ*”. En ellas se utilizarían las aguas freáticas para recircular los líquidos de lixiviado que habitualmente se emplean para el lavado del suelo y precisarían, como condición imprescindible, un buen conocimiento y control de este tipo de aguas. Las técnicas que trasladan el suelo para su tratamiento, conocidas también como “*ex situ*”, pueden actuar en fase líquida o semilíquida, o en fase sólida. Las

técnicas que actúan en fase líquida tienen, en general, un carácter más intensivo y utilizan habitualmente reactores para desarrollar el proceso, por lo que emplean tecnologías y se apoyan en principios más afines con la ingeniería industrial o química. El segundo tipo de técnicas, que se desarrollan en fase sólida, exigen, en cambio, tecnologías más próximas a las de la agronomía, figurando entre ellas el laboreo del suelo o *landfarming*, la formación de compost y las biopilas. Éstas son técnicas de carácter menos intensivo que las que emplean las fases líquidas o semilíquidas, y también de mucho menor coste, aun cuando la necesidad de espacio que requieren sea mucho mayor.

Las condiciones que se desarrollan en el suelo como consecuencia de los procesos agrícolas normales (fertilización, arado y riego) provocan la estimulación de procesos biodegradativos, los cuales influyen favorablemente en la eliminación de contaminantes del suelo. Por consiguiente, esos procesos han sido propuestos como técnicas de descontaminación de suelos, englobados bajo la denominación de *landfarming*, término acuñado por vez primera en 1979 (Dibble & Bartha, 1979). El *landfarming* ha demostrado ser una técnica efectiva para el saneamiento de suelos contaminados con HAPs (Picado et al., 2001), conservantes de madera, disolventes varios y, sobre todo, hidrocarburos (Kelly et al., 1998). Una revisión completa de la aplicación del *landfarming* para el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos, con énfasis en las ventajas y desventajas de la técnica, puede encontrarse en Maila & Cloete (2004). Las ventajas de esta técnica residen en su bajo coste, la capacidad para tratar un gran volumen de suelo, su aceptación social y, en general, en su capacidad para eliminar grandes cantidades de contaminante. La U.S. Federal Remediation Technology Roundtable (FRTR) Agency (2009) describe la técnica como una

tecnología de saneamiento a gran escala, que requiere la excavación y reubicación de los sólidos contaminados -suelos, sedimentos o lodos- y que incorpora barreras u otros medios dirigidos a controlar la lixiviación de los contaminantes. El suelo contaminado se aplica en capas y se somete a remoción o arado periódico para su aireación. Las condiciones del suelo se controlan para optimizar la degradación del contaminante. Entre las condiciones que se controlan normalmente se incluyen la humedad, la aireación, el pH (ajustado a valores próximos a la neutralidad mediante encalado) y, frecuentemente, se incorporan al suelo enmiendas, nutrientes y agentes estructurantes.

Los procesos estimulados en el suelo por el *landfarming* pueden ser físicos (como la desagregación y la volatilización), químicos (oxidación, reducción, hidrólisis, precipitación, polimerización y fotodegradación) y/o microbiológicos (biodegradación o mineralización), debido a la acción de varios tipos de bacterias, hongos y otros organismos que se encuentran en los suelos.

Por otra parte, el sistema de biopilas es otra técnica de biocorrección *ex situ* consistente en la adición de nutrientes, materia orgánica y otras enmiendas al suelo contaminado, que se dispone en montones alargados (pilas), estimulándose la actividad microbiana aerobia mediante aireación y mantenimiento de una humedad adecuada, a fin de intensificar la biodegradación del contaminante. Este procedimiento se conoce también con los nombres de bioceldas, biomontículos o pilas de compostaje. Se trata de un sistema sencillo, similar al empleado en el compostaje de residuos orgánicos, que suele requerir un corto período de tratamiento y que no necesita de una superficie extensa. Los sistemas más tecnificados emplean aireación forzada (Li et al, 2004) o utilizan recubrimientos sintéticos para el control de la temperatura (Schoefs et al, 1998). También

pueden efectuarse procesos previos de separación y homogenización, y adición de flora microbiana seleccionada.

Las biopilas se asemejan al *landfarming* en que son sistemas de biocorrección que estimulan la actividad microbiana mediante la adición de nutrientes y el control de la aireación y humedad, produciéndose la degradación de los contaminantes orgánicos por acción de la microflora. La diferencia estriba en que en el *landfarming* la aireación se consigue mediante laboreo, mientras que en las biopilas se introduce oxígeno por aireación forzada o por volteo, requiriendo menos espacio para su instalación. Esta técnica ha sido usada con éxito en la biocorrección de suelos contaminados con distintos tipos de hidrocarburos del petróleo (Jørgensen et al., 2000; Tofoletto et al., 2005; EPA, 2009) e hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) (Iturbe et al., 2004). El tiempo necesario para el tratamiento suele ser de entre 3 y 6 meses, pero incluso en 30 días se ha conseguido una reducción del 60% de las concentraciones de hidrocarburos totales de petróleo, que permitió alcanzar las concentraciones de intervención para este tipo de contaminantes (Van Zyl, 1999).

Los estudios realizados sobre biodegradación de HCH muestran en general que los isómeros  $\alpha$ - y  $\gamma$ - son relativamente fáciles de degradar en condiciones ambientales, mientras que el isómero  $\beta$ - es mucho más recalcitrante, probablemente debido a que todos los átomos de cloro de la molécula se disponen en posición ecuatorial, lo cual confiere a este isómero una gran estabilidad física y metabólica (Willet et al., 1998). De igual manera, solo se ha descrito una degradación limitada del isómero  $\delta$ -HCH (Sahu et al., 1993). Estos estudios sugieren que la aceleración de la degradación de estos dos isómeros solo es posible en condiciones anaerobias, generadas por encharcamiento o por adición de sustancias reductoras, si

bien, recientemente Philips et al. (2005) han observado eliminación de  $\beta$ -HCH tanto en condiciones aerobias como anaerobias. En cualquier caso, la mayor parte de los estudios realizados hasta la fecha sobre biodegradación de isómeros de HCH han sido realizados a escala de laboratorio, empleando sistemas de tipo *slurry* y/o medios de cultivo, pero existe poca información sobre la biodegradación de HCH a escala de campo. Es más, la mayoría de los estudios se refieren a la biodegradación de concentraciones de HCH en el suelo relativamente bajas, y la información disponible sobre los efectos de la adición de nutrientes inorgánicos, fuentes de carbón orgánico u otras enmiendas es difusa y poco concluyente (Philips et al., 2005).

El objetivo de este estudio es realizar una evaluación a escala de campo de la eficiencia de las técnicas de *landfarming* y biopilas para el saneamiento de suelos fuertemente contaminados con HCH (>5000 mg HCH/kg suelo) en una zona correspondiente a un vertedero de una antigua fábrica de lindano.

## 2. DESCRIPCIÓN DEL SITIO CONTAMINADO

La zona con los suelos contaminados se localiza en O Porriño (Pontevedra, España), y corresponde a un depósito de residuos de una fábrica de lindano que estuvo operativa hasta la década de 1970. El suelo, un Cambisol húmico, con signos de gleificación a profundidades de entre 150 y 200 cm, deriva de materiales aluviales del Río Louro. El nivel freático se encuentra a una profundidad de entre 2 y 3 m, y se ha visto afectado por contaminación con HCH (con concentraciones de HCH en disolución comprendidas entre 1 y 3 mg/l). El suelo estudiado se encuentra contaminado con concentraciones muy elevadas de HCH, comprendidas entre 3,64 y 6,50 g HCH/kg suelo seco, siendo incluso visibles agregados de HCH de diferente tamaño, de

un característico color blanquecino. Los principales contaminantes encontrados son los isómeros  $\alpha$ -HCH (con concentraciones comprendidas entre 1,80 y 3,60 g/kg suelo seco) y  $\beta$ -HCH (con concentraciones comprendidas entre 1,80 y 2,81 g/kg suelo seco). También fueron detectados otros dos isómeros ( $\gamma$ - y  $\delta$ -HCH) pero a concentraciones mucho más bajas (concentraciones comprendidas entre 17 y 75 mg/kg y entre 13 y 36 mg/kg, respectivamente).

## 3. EXPERIMENTAL

### 3. 1. Experimento de *landfarming*

#### Diseño y ejecución

Para evaluar la eficacia del *landfarming* en el saneamiento del suelo contaminado con HCH se seleccionaron dos parcelas experimentales adyacentes en el sitio contaminado, con unas dimensiones de 2 × 10 m cada una, y una pendiente del 2%. El suelo de estas parcelas fue excavado a una profundidad de aproximadamente 50 cm, impermeabilizando la base con una barrera geosintética. Sobre ésta se situó una capa de arena y un tubo de drenaje para la recogida de lixiviados, que eran conducidos a un depósito adyacente. El suelo excavado fue homogeneizado mediante mezcla mecánica y depositado de nuevo sobre la barrera geosintética (Figuras 1 a y b). Las principales propiedades de los suelos de las dos parcelas experimentales (A y B), determinadas sobre una muestra compleja obtenida por mezcla de cinco submuestras aleatorias de cada una de las parcelas, se muestran en la Tabla 1.

El suelo en las dos parcelas se sometió a los siguientes tratamientos:

- (a) Corrección de la acidez por adición de  $\text{CaCO}_3$ , aplicado en tres dosis consecutivas de 2,5 t/ha cada 15 días, con la finalidad de elevar el pH del suelo a un valor próximo a la



neutralidad.

- (b) Adición de fertilizante nitrogenado (en forma de urea en una dosis equivalente a 100 kg N/Ha) y fosfato (Superfosfato en una dosis de 100 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/Ha), aplicados ambos durante el primer y el tercer mes del experimento.
- (c) Riego mediante goteo durante los meses de verano, con la finalidad de mantener la humedad del suelo por encima del 50% de la capacidad de campo.
- (d) Remoción mediante arado a una profundidad de ~30 cm, utilizando un tractor, con una frecuencia semanal durante el primer mes de tratamiento, quincenal durante los dos meses siguientes y mensual el resto del período de tratamiento, cuya duración total fue de aproximadamente un año (Figura 2).

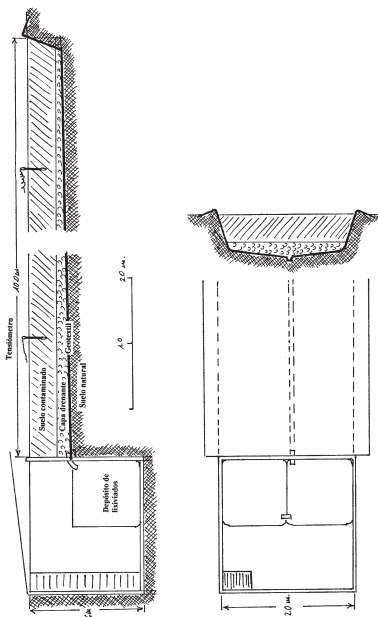


Figura 1a. Esquema del diseño de las parcelas experimentales para el tratamiento del suelo mediante *landfarming*.



Figura 1b. Construcción de las parcelas experimentales para el tratamiento del suelo mediante *landfarming*. Fase de impermeabilización e instalación del tubo de drenaje para recogida de lixiviados.



Figura 2. Remoción de las parcelas experimentales sometidas a *landfarming*, mediante laboreo con tractor.

Tabla 1. Propiedades iniciales del suelo de las parcelas experimentales (A y B).

Parámetro	Parcela A	Parcela B
<sup>1</sup> pH	4,6	4,7
<sup>2</sup> MO (%)	11,9	10,0
<sup>3</sup> N <sub>TOT</sub> (%)	0,47	0,42
<sup>4</sup> P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mg kg <sup>-1</sup> )	60	54
<sup>5</sup> HCH <sub>TOT</sub> (mg kg <sup>-1</sup> )	5140	4580
<sup>6</sup> Ca <sub>camb</sub> (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	0,56	0,49
<sup>6</sup> Mg <sub>camb</sub> (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	0,56	0,40
<sup>6</sup> Na <sub>camb</sub> (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	0,67	0,78
<sup>6</sup> K <sub>camb</sub> (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	0,39	0,41
<sup>7</sup> Al <sub>camb</sub> (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	1,2	1,2
<sup>8</sup> Arena (%)	61	58
<sup>8</sup> Limo (%)	21	24
<sup>8</sup> Arcilla (%)	18	18

<sup>1</sup>pH (H<sub>2</sub>O) 1:2.5

<sup>2</sup>MO es materia orgánica determinada por el método de oxidación en húmedo.

<sup>3</sup>Método Kjeldahl.

<sup>4</sup>Fósfor asimilable (Olsen).

<sup>5</sup>Hexaclorociclohexano total (suma de isómeros  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - y  $\delta$ -).

<sup>6</sup>Na, K, Mg y Ca cambiables (1M NH<sub>4</sub>Cl).

<sup>7</sup>Al cambiable (1M KCl).

<sup>8</sup>Determinado por tamizado en húmedo y método de la pipeta.

Por último, con la finalidad de estudiar la influencia de condiciones anóxicas (saturación) sobre la disminución en la concentración de los isómeros de HCH, una de las parcelas (Parcela B), tras el período de landfarming convencional, fue inundada

permanentemente durante un período de 3 meses. En la mitad de este período (1,5 meses) se añadió a dicha parcela sulfuro de sodio (2 kg, en forma sólida) con la finalidad de inducir condiciones reductoras.

#### Muestreo de suelo y métodos analíticos

Durante el período de tratamiento fueron tomadas periódicamente muestras de suelo y lixiviados para el análisis. El suelo fue muestreado con periodicidad mensual utilizando el siguiente protocolo de muestreo: la evolución de la concentración de los isómeros de HCH fue evaluada por análisis de cuatro muestras complejas de suelo por parcela, que fueron recogidas mensualmente utilizando una sonda de acero de 3 cm de diámetro y 25 cm de longitud, constituidas cada una de ellas, a su vez, por cinco submuestras de suelo tomadas a lo largo de transectos transversales con una separación de 2 m. Las muestras así obtenidas fueron homogeneizadas, tamizadas (<4 mm), liofilizadas y pulverizadas, tras lo cual se analizó la concentración de isómeros de HCH y de metabolitos intermediarios. Otros parámetros analizados fueron la respiración endógena del suelo (como indicador de la actividad microbiana global), temperatura, humedad, pH, C total, N total y P asimilable (Olsen).

La concentración de isómeros de HCH en las muestras de suelo fue determinada por extracción (agitación rotatoria, 24 h, relación sólido : líquido 1:50) con una disolución 1:1 (v/v) de hexano : acetona de muestras de suelo liofilizado y molido y analizada en los extractos filtrados (filtros de microfibras de vidrio Whatman GF/C) por cromatografía de gases GC-ECD (Perkin – Elmer Autosystem XL GC). La identificación de los metabolitos intermediarios fue realizada mediante cromatografía de gases GC-MS (Termo Finnigan Polaris-Q). La concentración de isómeros en los lixiviados de las parcelas

experimentales fue analizado mediante el método descrito con detalle en Concha et al. (2001), consistente en la extracción de los isómeros de HCH del lixiviado con discos Bakerbond Speedisk C18 (J.T. Baker), elución de estos isómeros del disco y análisis mediante GC-ECD (Perkin-Elmer Autosystem XL GC).

La respiración endógena del suelo fue determinada a partir de la producción de CO<sub>2</sub> utilizando muestras de suelo complejas de las parcelas A o B, que se incubaron a una temperatura de 25 °C durante 10 días, en recipientes herméticos con dos viales conteniendo 10 ml de 1M NaOH, para atrapar el CO<sub>2</sub>, que fue valorado periódicamente con 0,1M HCl, y 50 ml de agua destilada estéril, para mantener la humedad. La respiración fue expresada como valores acumulados de C-CO<sub>2</sub>/100 g de suelo. El Eh en el *landfarming* en condiciones de inundación fue medido mediante un dispositivo portátil medidor de pH-Eh Hanna HI 9025 (Hanna Instruments, USA), y las lecturas de Eh fueron referidas al electrodo normal de H<sub>2</sub> (Patrick et al., 1996). La temperatura del suelo fue medida a una profundidad de ~10 cm mediante un termómetro digital portátil Crison 637 (Crison Instruments, Barcelona, España).

### 3.2. Experimento de biopilas.

Diseño, construcción y mantenimiento de las biopilas

Para la construcción de las biopilas el suelo fue excavado hasta una profundidad de 0.5 m, se homogeneizó y se mezcló con las enmiendas: tojo triturado, estiércol de caballo o compost, como fuentes de carbono, nutrientes y microorganismos, y corteza de pino como agente estructurante para favorecer la aireación (Tabla 2) y se dispuso en hileras de sección trapezoidal y 2000 L de volumen, colocando en la base y en la cubierta de cada una de ellas una capa de retama

(*Sarothamnus scoparius*) (Figura 3). Los materiales orgánicos que se mezclaron con el suelo fueron seleccionados por su bajo coste y por obtenerse fácilmente en la zona, con excepción del compost que era un producto comercial. El experimento duró tres meses, coincidentes con la estación de verano. Las operaciones de mantenimiento consistieron en volteos con pala mecánica (inicialmente cada dos días, luego semanalmente y finalmente cada quince días) (Figura 4), control de la humedad mediante riego y medición cada 6 horas de la temperatura del interior de la pila mediante una sonda acoplada a un procesador HOBO de almacenamiento de datos.

Tabla 2. Composición de las biopilas (volumen de componentes en litros).

Componente	Pila 1	Pila 2	Pila 3
Suelo	1400	1400	1400
Corteza pino	300	300	300
Estiércol caballo	150	70	-
Compost	-	-	300
Tojo ( <i>U. europaeus</i> )	150	230	



Figura 3. Tratamiento del suelo contaminado mediante formación de biopilas.





Figura 4. Operación de volteo de las biopilas mediante pala mecánica.

### Muestreo y métodos analíticos

Periódicamente se tomaron muestras complejas, obtenidas por mezcla de submuestras procedentes de distintos puntos de las biopilas, analizándose las concentraciones de C, N y P, respiración endógena y concentración de isómeros de HCH, por los procedimientos descritos anteriormente.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 4.1. Landfarming

#### *Evolución de la concentración de isómeros de HCH en el suelo*

La evolución de la concentración de los diferentes isómeros de HCH en las dos parcelas durante el experimento de *landfarming* aerobio se muestra en las figuras 5 a, b, c y d, para  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - y  $\delta$ -HCH, respectivamente. El porcentaje de disminución observado durante el período de tratamiento fue diferente para los diferentes isómeros del HCH. Para el isómero  $\alpha$ -HCH, cuya concentración es la más alta de los isómeros presentes (56 y 52% del HCH total para las parcelas

A y B, respectivamente), se observó una disminución importante y significativa ( $P < 0,01$ ) en su concentración en el suelo, desde un valor de  $2868 \pm 577$  a  $328 \pm 85$  mg/kg para la Parcela A y desde  $2358 \pm 502$  a  $509 \pm 208$  mg/kg para la Parcela B, lo cual representa porcentajes de disminución del  $88,6 \pm 3,8$  y  $78,4 \pm 10,7$  %, respectivamente. En el caso del isómero  $\beta$ - (el cual representa el 43 y el 45% de la concentración total de HCH en las Parcelas A y B, respectivamente) se observó una reducción importante del  $70,4 \pm 9,6$  ( $P < 0,05$ ) y del  $41,5 \pm 12,8$ % ( $P < 0,10$ ) para las Parcelas A y B, respectivamente, tras el período completo de *landfarming*, si bien las grandes fluctuaciones observadas en la concentración de este isómero durante el período experimental no permiten asegurar la efectividad del *landfarming* aerobio para eliminar este isómero de suelos contaminados. En relación a los isómeros  $\gamma$ - y  $\delta$ -HCH, cuyas concentraciones en el suelo estudiado son mucho menores ( $< 50$  mg/kg, representando solo el 0,6 – 0,9 y el 0,4 – 0,5% del HCH total, respectivamente), se observó un comportamiento diferente. La concentración de isómero  $\gamma$ - experimentó una reducción significativa ( $P < 0,01$ ) desde una concentración inicial de  $45 \pm 8$  mg/kg a una concentración final de  $8 \pm 2$  (lo que representa un porcentaje de disminución del 82%) solo en el caso de la Parcela A. El isómero  $\delta$ - mostró un comportamiento similar al del isómero  $\beta$ , pues aunque se observó una disminución en su concentración de  $\sim 87$ % tras 321 días de tratamiento en el caso de la Parcela A, las grandes fluctuaciones observadas en la concentración de este isómero (especialmente en el caso de la Parcela B) no nos permiten concluir que este isómero experimentó degradación significativa durante el período experimental.



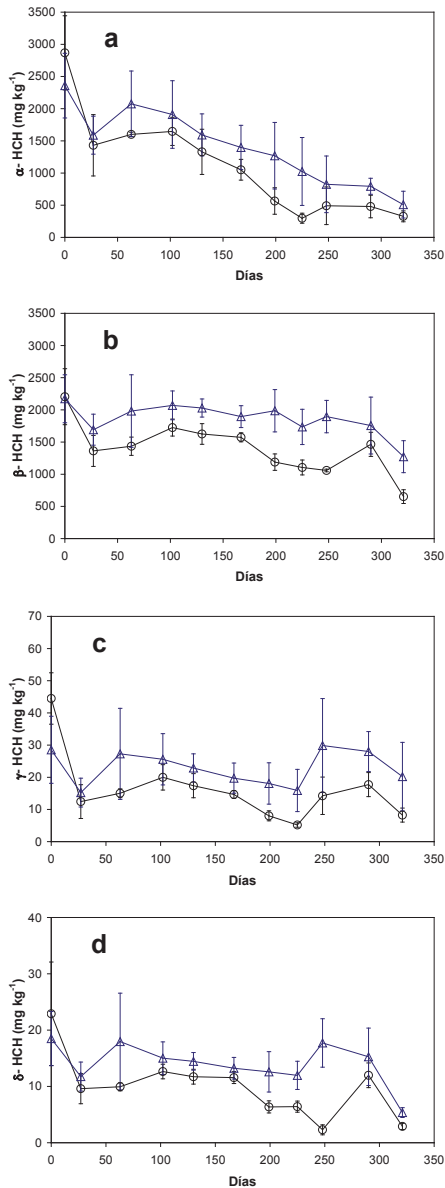


Figura 5. Evolución de la concentración de isómeros  $\alpha$ - (a),  $\beta$ - (b),  $\gamma$ - (c) y  $\delta$ -HCH (d) en el suelo de las parcelas experimentales A (círculos) y B (triángulos) en función del tiempo de tratamiento de *landfarming*. Las barras de error indican la desviación estándar de la media de cuatro réplicas.

Diversos trabajos de investigación han mostrado que los isómeros  $\alpha$ - y  $\gamma$ -HCH son biodegradables en condiciones aerobias (Bachmann et al., 1988 a, b; Sahu et al., 1990, 1993), mientras que se ha observado que el isómero  $\beta$ - es extremadamente persistente en esas condiciones (Bachmann et al., 1988; Sahu et al., 1993). Esas observaciones concuerdan con los resultados obtenidos en el presente estudio y con la secuencia de persistencia en el suelo para los diferentes isómeros de HCH:  $\beta$ ->>  $\delta$ ->  $\gamma$ ->  $\alpha$ - observada por Chessells et al. (1988).

En relación a la cinética de degradación para los isómeros  $\alpha$ - y  $\gamma$ -, ambos isómeros fueron degradados rápidamente al inicio del tratamiento y luego más lentamente. La máxima velocidad de degradación se observó durante el primer mes de *landfarming* para ambos isómeros (53,2 y 28,5 mg  $\alpha$ -HCH/kg día y 1,2 y 0,5 mg  $\gamma$ -HCH/kg día, para las parcelas A y B, respectivamente), a pesar de que los valores de temperatura no fueron favorables para la actividad microbiana durante este período. Esta observación concuerda con el comportamiento observado por Doelman et al. (1988) para la degradación del isómero  $\alpha$ -HCH en suelos aireados húmedos y suspensiones de suelo, y sugiere que la disponibilidad del  $\alpha$ -HCH puede ser el factor limitante de la degradación. En un estudio posterior, los mismos autores observaron un aumento en el número de microorganismos degradadores de  $\alpha$ -HCH durante las etapas iniciales de un tratamiento de tipo *landfarming*, seguidas de una estabilización de la población microbiana del suelo (Doelman et al., 1990). Por tanto, la velocidad de degradación relativamente alta observada inicialmente para el  $\alpha$ -HCH puede ser consecuencia de las favorables condiciones del suelo creadas por el *landfarming*: humedad y contenido en nutrientes adecuados, pH próximo a la

neutralidad y, principalmente, reducción en el tamaño de los gránulos de HCH debido a la remoción intensa del suelo, que además aumenta la aireación del mismo y la velocidad de desorción y disolución del  $\alpha$ -HCH, aumentando por ello su biodisponibilidad (Bachmann et al., 1988).

Tras el activo período inicial, la velocidad de degradación del  $\alpha$ -HCH en la parcela A disminuyó, o incluso se detuvo, coincidiendo con las bajas temperaturas de los meses de Diciembre a Febrero, lo que sugiere influencia de este parámetro, al menos parcialmente, sobre los procesos de degradación. Tras una reactivación de la degradación durante el período primaveral, disminuyó de nuevo durante el verano, probablemente como consecuencia de la sequedad del suelo provocada por una avería en el sistema de riego. En el caso de la Parcela B no se observaron diferencias significativas a lo largo del tiempo, probablemente debido a la distribución más heterogénea de los agregados de HCH en esta parcela. En este sentido, se ha demostrado que la agregación del HCH limita en gran medida su biodegradación en suelos (Bachmann et al., 1988).

Aunque se observó una disminución importante en la concentración de HCH en el suelo durante los 11 meses de *landfarming* aerobio, los valores finales remanentes fueron muy superiores a los niveles críticos de riesgo establecidos (2 mg HCH/kg suelo) para el saneamiento de suelos contaminados con HCH (Theelen, 1999). Así, tras el período de *landfarming*, el suelo todavía contenía una concentración de  $996 \pm 154$  mg HCH/kg en la Parcela A y de  $1807 \pm 465$  mg HCH/kg en la Parcela B, de los cuales el 65 – 70% como isómero  $\beta$ -. Con la finalidad de estimar el tiempo necesario para alcanzar los valores de HCH requeridos para el saneamiento del suelo utilizando el tratamiento de *landfarming* se tuvo en cuenta que la biodegradación de pesticidas en suelos generalmente sigue

una cinética de primer orden y depende de la concentración (Phillips et al., 2005). En nuestro estudio, únicamente la degradación del  $\alpha$ -HCH se pudo describir adecuadamente mediante una ecuación de primer orden ( $R^2 = 0,800$  y  $R^2 = 0,850$ , para las parcelas A y B, respectivamente). Basándose en ello, el tiempo estimado requerido para alcanzar la concentración umbral de este isómero (<2 mg/kg) oscila entre ~3,2 y 4,6 años, para las parcelas A y B, respectivamente.

#### *Landfarming en condiciones de saturación*

Algunos estudios han puesto de manifiesto que las condiciones anaerobias promueven la biodegradación del isómero  $\beta$ -HCH, más persistente (Middeldorp et al., 1996; Van Eekert et al., 1998). Otros autores (Langenhoff et al., 2002) proponen que la alternancia de fases aerobias y anaerobias en el suelo proporcionan las condiciones más adecuadas para la biodegradación de los isómeros de HCH, incluyendo el isómero  $\beta$ -HCH. Por tanto, la última fase del experimento se diseñó siguiendo esta recomendación, para lo cual la Parcela B fue inundada durante aproximadamente tres meses. Esto provocó una disminución progresiva del Eh hasta valores de ~45 mV al final del período de inundación. La adición de  $\text{Na}_2\text{S}$  tras 40 días de experimento provocó una disminución brusca del Eh desde 115 mV a -55 mV, pero este efecto fue breve (~7 días). En cuanto a la concentración de HCH, no se observó una disminución adicional de la concentración de ninguno de los isómeros de HCH. Esto pudo deberse a que los valores de Eh alcanzados no fueron lo suficientemente bajos para promover la degradación del isómero  $\beta$ -, ya que Siddaramappa y Sethunathan (1975) observaron que para producirse la degradación de este isómero en suelos sumergidos el Eh debe ser inferior a -40 mV. Además, durante este período las condiciones meteorológicas de la parcela experimental

fueron desfavorables (con temperaturas muy bajas que incluso causaron eventos de congelación), lo cual pudo contribuir a que no se produjera biodegradación de HCH. La persistencia extrema del isómero  $\beta$ - en el suelo contaminado fue observada también en experimentos de incubación del suelo contaminado en laboratorio, en los cuales ni la adición de sulfuro ni de lactato (como donante de electrones) se tradujeron en un aumento en la liberación de cloruro ni en la disminución de la concentración de HCH en suelo incubado en condiciones anaerobias a 30 °C (datos no mostrados).

#### *Lixiviados*

La concentración de HCH en los lixiviados fue variable, encontrándose valores <1  $\mu\text{g/l}$  y >68 mg/l. Las concentraciones de isómeros de HCH fueron más altas para la Parcela B que para la Parcela A, lo cual puede atribuirse a un efecto de dilución debido al mayor volumen de lixiviado recolectado en esta última y probablemente también al descenso más pronunciado en la concentración de HCH en esta parcela. En cualquier caso, la cantidad de HCH lixiviada de ambas parcelas (0,25 y 1,5 g para las parcelas A y B, respectivamente) fue muy baja en comparación con la cantidad total de HCH presente en el suelo contaminado, lo que sugiere una escasa contribución de este proceso a la disminución observada en la concentración de HCH en el suelo sometido a *landfarming*. No obstante, las concentraciones de isómeros de HCH en los lixiviados fueron muy superiores a la concentración máxima permitida para agua de bebida (<0,1  $\mu\text{g/l}$ ) establecida por las autoridades europeas, por lo que es necesaria la recolección y el tratamiento de los lixiviados de los suelos tratados por *landfarming*.

*Influencia de las propiedades del suelo y de las condiciones ambientales en la degradación de HCH*

Puesto que el *landfarming* actúa

mediante procesos de estimulación de la actividad de la microflora autóctona del suelo, incluyendo los microorganismos degradadores de HCH, es importante tener en cuenta el efecto de diversas variables ambientales durante el período de tratamiento. Phillips et al. (2005) han propuesto que los principales factores que influyen en la degradación de HCH en suelos son: la temperatura, la humedad, la textura y el contenido en materia orgánica, a las que hay que añadir otras variables como la concentración de sustrato, la presencia de fuentes auxiliares de carbono y la heterogeneidad del suelo (Bachmann et al., 1988).

Es sabido que la degradación de HCH en suelos ocurre preferiblemente a temperatura moderada, a pH próximo a la neutralidad y en condiciones húmedas (Doelman et al., 1990). La tabla 3 muestra la evolución de las propiedades del suelo durante el experimento de *landfarming*, incluyendo la respiración del suelo, que es un buen indicador del desarrollo de poblaciones microbianas en respuesta a cambios en las condiciones ambientales y en la fertilidad del suelo.

En relación a la evolución de las condiciones de fertilidad, el pH del suelo experimentó un aumento progresivo como consecuencia del encalado, alcanzándose valores próximos a la neutralidad tras ~4 meses de *landfarming*. Las concentraciones de  $\text{P}_2\text{O}_5$  asimilable durante el período experimental fueron de 34 – 60 mg/kg y de 56 – 109 mg/kg para las parcelas A y B, respectivamente, valores que pueden ser considerados como óptimos (Russell, 1988). Los contenidos de C y N total no experimentaron variación importante durante el período de *landfarming*.

En cuanto a la temperatura del suelo, inicialmente se registró un período de bajas temperaturas, desde noviembre hasta finales de marzo (temperaturas medias mensuales <10 °C y máximas <20 °C), para luego aumentar durante los meses de primavera

y verano (temperaturas medias mensuales ~20 °C y máximos absolutos >30 °C) y de nuevo disminuir en el otoño e invierno, con temperaturas mínimas próximas a 0 °C. En cualquier caso, el período durante el cual la temperatura fue inferior a 5 °C (mínimo biológico) fue muy breve, y la temperatura fue siempre superior a este valor a partir del tercer mes de tratamiento. Según diversos autores, las temperaturas en el intervalo 20 – 30 °C son las más favorables para la biodegradación de HCH, mientras que por debajo de 10 °C y por encima de 40 °C la biodegradación es inhibida completamente (Bachmann et al., 1988; Manonmani et al., 2000; Siddique et al., 2002), si bien se ha descrito la degradación aerobia de HCH en suelo incluso a una temperatura de 9 °C (Doelman et al., 1988). En relación a este aspecto, Rubinos et al. (2007) realizaron incubaciones de laboratorio con el mismo suelo que el estudiado en el presente trabajo para evaluar el efecto de la temperatura, observando que la actividad de dechloración y la producción de CO<sub>2</sub> fueron mucho mayores a 30 °C que a 10 y 40 °C. Durante el tratamiento de *landfarming* las temperaturas óptimas (20 – 30 °C) se alcanzaron solo ocasionalmente; sin embargo la mayor disminución en las concentraciones de  $\alpha$ - y  $\gamma$ -HCH (y también las velocidades de degradación máximas) ocurrió durante el primer mes de tratamiento, durante el cual se registraron temperaturas inferiores a 10 °C, lo que coincide con los resultados obtenidos por Doelman et al. (1988) en suelos húmedos en condiciones aerobias, quienes observaron una degradación máxima de  $\alpha$ -HCH durante el primer mes de tratamiento (40%) y que un aumento progresivo de la temperatura no ejercía siempre un efecto positivo sobre la velocidad de degradación, siendo la disponibilidad del HCH un factor muy importante. Por tanto, se puede concluir que si bien las temperaturas moderadas favorecen la degradación de HCH mediante *landfarming*,

las bajas temperaturas (<10 °C) no suprimen la actividad degradadora, siempre y cuando haya suficiente agua disponible para los microorganismos.

En relación a este parámetro, la humedad del suelo ha sido identificada como un factor limitante de la degradación de HCH en suelos aeróbicos. Valores de humedad del suelos inferiores al 50% de la capacidad de campo son desfavorables para los procesos biodegradativos (Doelman et al., 1990; Zimmermann et al., 1999). Las incubaciones en laboratorio con el mismo suelo con diferentes contenidos en agua (60 y 70% de la capacidad de campo, y condiciones de saturación) realizadas por Rubinos et al. (2007) mostraron que la cantidad de cloruro liberada del suelo es mucho mayor en condiciones de no saturación que en condiciones de encharcamiento (para las cuales no se observaron diferencias con los controles estériles), mientras que las diferencias entre el suelo incubado con una humedad del 60% y del 70% de la capacidad de campo no fueron significativas.

Las fluctuaciones observadas en la actividad global de la microflora (evaluada mediante respiración de muestras de suelo) durante el *landfarming* sugieren efectivamente una influencia importante del contenido en agua sobre la efectividad del *landfarming*. Esto se hace especialmente evidente durante el período de sequía (a los 225 días de *landfarming*), cuando la humedad del suelo disminuyó a valores del 34 – 38% de la capacidad de campo, coincidente con una disminución importante de la velocidad de degradación de los isómeros  $\alpha$ - y  $\gamma$ -HCH (Tabla 3). Estas observaciones concuerdan con Doelman et al. (1990), quienes observaron que la humedad del suelo influye en gran medida en la respiración del mismo y que la desecación del suelo inhibe completamente la degradación de  $\alpha$ - y  $\gamma$ -HCH.



Tabla 3. Evolución de las propiedades del suelo con el tiempo en las parcelas A y B (en paréntesis) tratadas mediante landfarming.

Parámetro	Tiempo (días)										
	0	27	63	102	130	167	199	225	248	290	321
T (°C)	8,6 (9,0)	3,3 (1,2)	10,5 (10,4)	13,0 (12,9)	15,7 (15,9)	16,0 (16,0)	16,8 (16,9)	24,3 (24,0)	23,0 (23,0)	18,0 (17,5)	14,3 (13,0)
H (%) <sup>a</sup>	56 (55)	58 (50)	73 (81)	79 (87)	55 (59)	63 (63)	78 (83)	38 (34)	69 (69)	79 (63)	73 (70)
pH	4,6 (4,7)	5,9 (5,4)	5,6 (6,1)	6,3 (6,2)	6,9 (6,5)	6,6 (6,1)	6,7 (6,5)	6,6 (6,6)	6,8 (5,7)	6,7 (6,3)	6,4 (6,1)
C (%)	6,9 (5,8)	5,7 (4,7)	6,2 (4,4)	4,8 (6,5)	5,9 (5,1)	5,3 (5,6)	6,6 (5,3)	5,3 (7,2)	5,7 (7,1)	6,4 (5,0)	6,0 (5,7)
N (%)	0,47 (0,42)	0,47 (0,35)	0,42 (0,35)	0,34 (0,44)	0,41 (0,35)	0,35 (0,39)	0,44 (0,36)	0,36 (0,48)	0,38 (0,44)	0,40 (0,33)	0,40 (0,34)
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (Olsen)	60 (54)	47 (109)	40 (60)	-	45 (64)	-	-	-	-	-	33 (56)
CO <sub>2</sub> <sup>b</sup>	32 (35)	49 (57)	70 (44)	247 (208)	86 (92)	122 (79)	102 (94)	40 (25)	65 (53)	100 (70)	79 (114)

<sup>a</sup>Porcentaje de la capacidad de campo.

<sup>b</sup>Expresado como mg C-CO<sub>2</sub> 100 g<sup>-1</sup> suelo seco.

### Mecanismos

Considerados en conjunto, los resultados obtenidos sugieren que la biodisponibilidad del HCH ejerce una influencia decisiva sobre la efectividad del *landfarming* y sobre la cinética del proceso. Es sabido que la agregación de HCH en el suelo afecta de manera importante a su biodegradación (Bachmann et al., 1988). Como se ha explicado anteriormente, los residuos de HCH se encuentran en el suelo estudiado como agregados de tamaño diverso (2 – 5 mm), por consiguiente, la proporción y la dimensión de los agregados de HCH residual podría ser un factor de control del proceso importante. Por tanto, el proceso de eliminación del HCH mediante *landfarming* consistiría en un proceso preliminar de desintegración física de los agregados de HCH, producido por el arado del suelo, seguido de un proceso de biodegradación, cuya eficiencia vendría

condicionada en gran medida por el primer proceso. Simultáneamente, el arado aumenta la actividad microbiana mediante la mejora de la aireación y la liberación de sustancias orgánicas (Zimmermann et al., 1999). La disolución y los procesos de adsorción – desorción del HCH también ejercen una influencia importante en la biodegradación de este contaminante (Bachmann et al., 1988). Por tanto, si las condiciones de humedad son adecuadas, el *landfarming* aumenta la disponibilidad del HCH al promover la disolución de los gránulos de HCH, aumentando la transferencia de masa (Rijnaarts et al., 1990). Otros mecanismos, como la volatilización y la lixiviación, podrían encontrarse implicados en el proceso de eliminación. No obstante, Rubinos et al. (2007) observaron que las pérdidas por volatilización en incubaciones de laboratorio representaban menos del 1% del contenido

de HCH total del suelo, mientras que las cantidades de HCH eliminadas por lavado en ambas parcelas durante el período de *landfarming* fueron muy bajas (<0,1%).

Los metabolitos identificados en muestras del suelo tratado mediante *landfarming* parecen confirmar la intervención de procesos biodegradativos de tipo aerobio en la disminución observada en la concentración de  $\alpha$ - y  $\gamma$ -HCH en el suelo contaminado. Diversos estudios sugieren que  $\alpha$ - y  $\gamma$ -HCH son biodegradados en condiciones aerobias mediante dehidrocloración en primer lugar a pentaclorociclohexeno (PCCH) (Bachmann et al., 1988; Sahu et al., 1990). Otros metabolitos descritos son tetraclorociclohexeno (TCCH), pentaclorobenceno, tetraclorobencenos y triclorobencenos (Tu, 1976). En el presente trabajo se identificó PCCH en muestras del suelo tratado mediante *landfarming* aerobio. También se detectaron bajas concentraciones de TCCH, que aunque ha sido asociado a biodegradación en condiciones anaerobias, recientemente ha sido identificado como metabolito de la biodegradación aerobia del isómero  $\beta$ -HCH (Quintero et al., 2005).

### **Biopilas**

Durante los tres meses de operación, la temperatura de las biopilas se mantuvo en el intervalo 20-30°C (rango mesófilo), condiciones para las que se observó previamente, mediante incubaciones de laboratorio, la mayor degradación de HCH, y la humedad estuvo comprendida entre 30 y el 75% (en peso húmedo), alcanzándose los valores considerados óptimos para el compostaje (50 – 60%) tras 30 días de tratamiento. Si bien la temperatura media diaria de las pilas superó entre 3 y 10 °C la temperatura media diaria de la estación meteorológica más próxima, al compararla

con la temperatura instantánea registrada en la parcela al tiempo que se medía en la biopila se observó que más que un efecto termogénico, ésta ejerce un efecto de amortiguación, reduciendo la temperatura hasta en 5 °C en los días más cálidos, al inicio del tratamiento, e incrementándola hasta en 8 °C en días fríos hacia el final del experimento.

Las propiedades químicas de las biopilas evolucionaron a lo largo del experimento según se muestra en la Tabla 4. El pH aumentó paulatinamente desde un valor inicial próximo a 4 hasta valores cercanos a la neutralidad al finalizar el tratamiento. El contenido de C aumentó ligeramente durante los primeros 40-60 días, lo que se atribuyó a la incorporación progresiva del material orgánico de las enmiendas que se mezcla con el suelo, disminuyendo luego en las pilas 1 y 3, probablemente debido a la mineralización de la materia orgánica, que compensa el efecto anterior. En todas las biopilas el contenido de N experimentó un ligero incremento en el curso del tratamiento, manteniéndose la relación C/N en valores en el intervalo 16-19 para las pilas 1 y 2 conteniendo estiércol y tojo, y entre 14-15 para la pila que incorporaba compost. El fósforo asimilable aumentó rápidamente en la pila con compost, donde este nutriente debe encontrarse en formas más disponibles, y de forma más lenta en las pilas conteniendo materiales más biodegradables, en las que este elemento se libera de forma progresiva al avanzar la mineralización de la materia orgánica. La actividad biológica estimada a partir del C-CO<sub>2</sub> liberado en la respiración mostró un incremento progresivo de la actividad bacteriana aeróbica durante los primeros 45 días del experimento y descendió luego progresivamente (Figura 6), lo que fue atribuido al agotamiento de la materia orgánica fácilmente degradable.

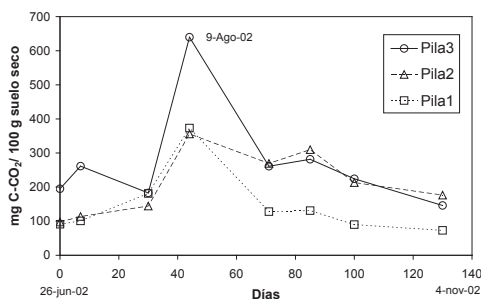


Figura 6. Evolución de la respiración (como CO<sub>2</sub> producido) del suelo tratado mediante la técnica de biopilas en función del tiempo de tratamiento.

En cuanto al efecto biocorrector del tratamiento en biopilas, se observó (Figura 7) que la concentración de HCH disminuyó en un 73%, 56%, 68% y 28%, para los isómeros  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - y  $\delta$ -HCH, respectivamente, en la pila 1, que incorporaba la dosis más alta de estiércol de caballo. En la pila 2, con menor proporción de este material orgánico, se observaron porcentajes de degradación de 25 y 32% para los isómeros  $\alpha$ - y  $\beta$ -, respectivamente, pero no se observó degradación de los isómeros  $\gamma$ - y  $\delta$ -HCH. Finalmente, en la pila 3, a la que se había incorporado compost, en sustitución del estiércol y el tojo triturado, la concentración de isómeros de HCH disminuyó en un 47%, 51% y 50%, para  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ -HCH, respectivamente, no observándose degradación del isómero  $\delta$ -HCH.

Es de destacar que en la biopila conteniendo compost se produjo una rápida disminución inicial de la concentración de HCH, que se puede relacionar con el rápido incremento de actividad respiratoria, indicativa de una intensa actividad biológica favorecida por la incorporación de los materiales orgánicos. Sin embargo, en las mezclas que incorporaban estiércol de caballo se observó un tiempo

de latencia de unos 40 días, antes de que la concentración de HCH empezase a decrecer. Estas biopilas también mostraron una menor actividad respiratoria que la que contenía compost, correspondiendo la menor tasa de respiración acumulada a la pila 1, que no obstante mostró las mayores reducciones en la concentración de HCH. Este comportamiento indica que solo una parte de la actividad biodegradativa asociada con la producción de CO<sub>2</sub> tiene relación con la descontaminación de los isómeros de HCH.

Dada la magnitud de la disminución de la concentración de HCH, ésta no puede ser atribuida a un efecto de dilución por la incorporación de los materiales orgánicos empleados para realizar el tratamiento, sino a una reducción en términos absolutos atribuible a biodegradación. Los porcentajes de degradación obtenidos fueron inferiores a los obtenidos empleando *landfarming*, aunque la degradación de HCH fue más rápida en el suelo tratado mediante formación de biopilas. Así, las velocidades de reacción para los isómeros  $\alpha$  y  $\beta$  (calculadas en las pilas 1 y 2 con los datos posteriores al período de latencia) indican que serían necesarios 125 días y 145 días para alcanzar el límite legal de 2 mg/kg establecido por el Real Decreto 263-1999 para el isómero  $\alpha$  y  $\beta$ , respectivamente (Tabla 5).

Tabla 5. Velocidad media de degradación de los isómeros  $\alpha$ - y  $\beta$ -HCH (mg HCH/kg día) para el tratamiento del suelo mediante formación de biopilas.

Isómero	Biopila 1	Biopila 2	Biopila 3
$\alpha$ -HCH	43,8	10,8	4,3
$\beta$ -HCH	26,8	8,8	8,5

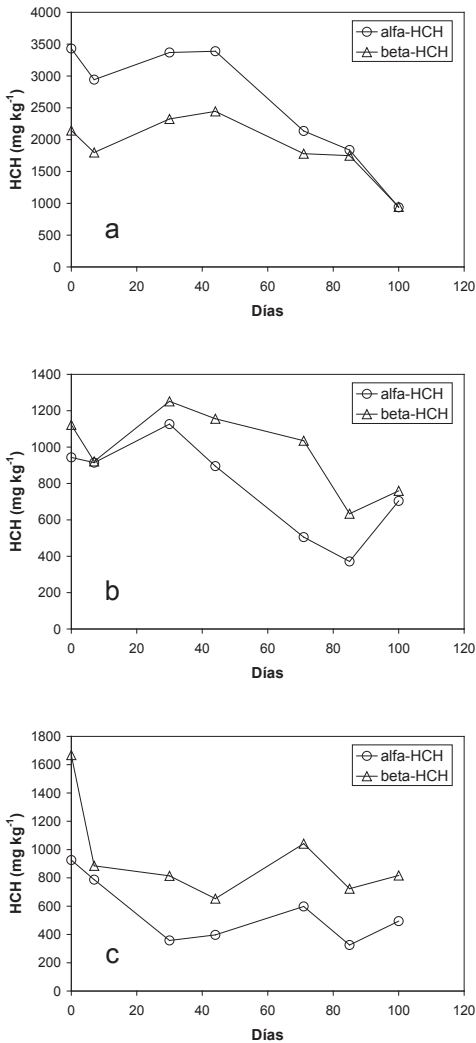


Figura 7. Evolución de la concentración de isómeros  $\alpha$ - y  $\beta$ -HCH en las biopilas 1 (a), 2 (b) y 3 (c) en función del tiempo de tratamiento.

## 5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en estudio permiten concluir que el *landfarming* es una técnica alternativa y de bajo coste, eficaz para la descontaminación de suelos fuertemente contaminados con  $\alpha$ - y  $\gamma$ -HCH. La microflora

autóctona del suelo contaminado degradó grandes cantidades de ambos isómeros (hasta el 89 y el 82% e la concentración inicial, respectivamente). Los principales metabolitos intermediarios detectados fueron PCCH y TCCH. Sin embargo, no se puede concluir que los isómeros  $\beta$ - y  $\delta$ -HCH sean degradados mediante la aplicación de *landfarming* al suelo contaminado. Los parámetros importantes del tratamiento son: presencia de agua en cantidad suficiente, temperaturas moderadas ( $>10$  °C y  $<40$  °C) y laboreo periódico para distribuir homogéneamente el contaminante y mejorar las propiedades del suelo. En cuanto a la formación de biopilas, los resultados obtenidos indican que esta técnica es una tecnología útil en el tratamiento de suelos contaminados con HCH, siendo también los isómeros  $\alpha$ - y  $\gamma$ -HCH más fácilmente degradados que los isómeros  $\beta$ - y  $\delta$ -HCH. Por su necesidad de equipamiento relativamente simple y por el grado de eficacia mostrada por este sistema puede ser igualmente una técnica prometedora para la recuperación de suelos contaminados con HCH.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Bachmann A., Walet, P., Wijnen, P., de Bruin, W., Huntjens, J.L.M., Roelofsen, W. & Zehnder, A.J.B (1988a). Biodegradation of alpha- and beta-hexachlorocyclohexane in a soil slurry under different redox conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(1), 143 – 149.
- Bachmann A., Wijnen, P., de Bruin, W., Jumelet, J.C., Rijnarts, H.H.N. & Zehnder, A.J.B (1988b). Aerobic biomineralization of alpha-hexachlorocyclohexane in contaminated soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(2), 548 – 554.
- Chessells, M.J., Hawker, D.W., Connell, D.W. & Papajcsik, I.A. (1988). Factors influencing the distribution of lindane



- and isomers in soil of an agricultural environment. *Chemosphere*, 17(9), 1741 – 1749.
- Concha, E., Turnes, M.I., Muniategui, S., López, P., Fernández, E. & Prada, D. (2001). Troubleshooting in trace analysis of organochlorine pesticides in water samples. *Chromatographia*, 54, 501 – 506.
- Dibble, J.T. & Bartha, R. (1979). Effect of environmental parameters on the biodegradation of soil sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, 37, 729 – 739.
- Doelman, P., Haanstra, L. & Vos, A. (1988). Microbial sanitation of soil with alpha and beta HCH under aerobic glasshouse conditions. *Chemosphere*, 17, 489 – 492.
- Doelman, P., Haanstra, L., Loonen, H. & Vos, A. (1990). Decomposition of  $\alpha$ - and  $\beta$ - hexachlorocyclohexane in soil under field conditions in a temperate climate. *Soil Biology & Biochemistry*. 5, 629 – 634.
- EPA (U. S. Environmental Protection Agency) 2009. Biopiles (<http://www.epa.gov/swrust1/cat/biopiles.htm>, activo en 10 de Febrero de 2009).
- Federal Remediation Technology Roundtable (2009). Landfarming. [http://www.frtr.gov/matrix2/health\\_safety/chapter\\_12.html](http://www.frtr.gov/matrix2/health_safety/chapter_12.html), activo en 10 de Febrero de 2009).
- Haimi, J.: 2000, 'Decomposer animals and bioremediation of soils', *Environmental Pollution* 107, 233 – 238.
- Iturbe, R., Flores, C., Chavez, C., Bautista, G., & Torres, L. G. (2004). Remediation of contaminated soil using soil washing and biopile methodologies at a field level. *Journal of Soils and Sediments*, 4(2), 115-122
- Jørgensen, K. S., Puustinen, J., & Suortti, A. -. (2000). Bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil by composting in biopiles. *Environmental Pollution*, 107(2), 245-254.
- Kelly, R.L., Liu, B. & Srivastava, V. (1998). Land farming: A practical guide. (In S.K. Sikdar & R.L. Irvine (Eds.), *Bioremediation: Principles and Practice-Bioremediation Technologies*, vol. 3 (pp. 223 – 243). Lancaster, USA: Technomic Publishing Co. Inc.).
- Langenhoff, A.A.M., Staps, J.J.M., Pijls, C., Alphenaar, A., Zwiep, G. & Rijnaarts, H.H.M. (2002). Intrinsic and stimulated in situ biodegradation of hexachlorocyclohexane. *Water, Air and Soil Pollution*, 2(3), 171 – 181.
- Li, L., Cunningham, C. J., Pas, V., Philp, J. C., Barry, D. A., & Anderson, P. (2004). Field trial of a new aeration system for enhancing biodegradation in a biopile. *Waste Management*, 24(2), 127-137
- Maila, M.P. & Cloete, T.E. (2004). Bioremediation of petroleum hydrocarbons through landfarming: Are simplicity and cost-effectiveness the only advantages?. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 3, 349 – 360.
- Manonmani, H.K., Chandrashekariah, D.H., Sreedhar Reddy, N., Elcey, C.D. & Kunhi, A.A. (2000). Isolation and acclimatation of a microbial consortium for improved aerobic degradation of alpha-hexachlorocyclohexane. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9), 4341 – 4351.
- Middeldorp, P.J.M., Jaspers, M.; Zehnder, A.J.B. & Schraa, G. (1996). Bio-transformation of  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, and  $\delta$ -hexachlorocyclohexane under methanogenic conditions. *Environmental Science and Technology*, 30, 2345 – 2349.
- Patrick, H., Gambrell, R.P. & Faulkner, S.P. (1996). Redox measurements of soils.

- (In D.L. Sparks (Eds). *Methods of soil analysis. Part 3: Chemical methods.* (pp. 1255 – 1273). Wisconsin: Soil science Society of America, Inc. & American Society of Agronomy, Inc.).
- Phillips, T.M., Seech, A.G., Lee, H., & Trevors, J.T. (2005). Biodegradation of hexachlorocyclohexane (HCH) by microorganisms. *Biodegradation*, 16, 363 – 392.
- Picado, A., Nogueira, A., Baeta-Hall, L., Mendonça, E., de Fátima Rodrigues, M., do Céu Sáagua, M., Martins, A. & Anselmo, A.M. (2001). Landfarming in a PAH-contaminated soil. *Journal of Environmental Science and Health*, A36(9), 1579 – 1588.
- Quintero, J.C., Moreira, M.T., Feijoo, G. & Lema, J.M. (2005). Anaerobic degradation of hexachlorocyclohexane isomers in liquid and soil slurry systems. *Chemosphere*, 61, 528 – 536.
- Russell, E.J. (1988). *Russell's soil conditions and plant growth.* (Harlow, England).
- Rubinos, D.A., Villasuso, R.; Muniategui, S., Barral, M.T., Díaz-Fierros, F. (2007). Using the landfarming technique to remediate soils contaminated with hexachlorocyclohexane isomers, *Water, Air and Soil Pollution*, 181, 385 – 399.
- Sahu, S.K., Patnaik, K.K., Sharmila, M. & Sethunathan, N. (1990). Degradation of alpha-, beta-, and gamma-hexachlorocyclohexane by a soil bacterium under aerobic conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(11), 3620 – 3622.
- Sahu, S.K., Patnaik, K.K., Bhuyan, S. & Sethunathan, N. (1993). Degradation of soil-applied hexachlorocyclohexane by a *Pseudomonas sp.* *Soil Biology and Biochemistry*, 25(3), 387 – 391.
- Schoefs, O., Deschênes, L., & Samson, R. (1998). Efficiency of a new covering system for the environmental control of biopiles used for the treatment of contaminated soils. *Soil and Sediment Contamination*, 7(6), 753-771.
- Siddaramappa, R. & Sethunathan, N. (1975). Persistence of gamma-BHC and beta-BHC in Indian rice soils under flooded conditions. *Pesticide Science*, 6, 395 – 403.
- Siddique, T., Okeke, B.C., Arshad, M. & Frankenberger, W.T. (2002). Temperature and pH effects on biodegradation of hexachlorocyclohexane isomers in water and a soil slurry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(18), 5070 – 5076.
- Theelen, R.M.C. (1999). Risk assessment for the evaluation of a soil contamination in agricultural area. In: *Forum Book of the 5<sup>th</sup> International HCH and Pesticides Forum: Soil treatment Technologies I: Biological methods* (pp. 121 – 124). Vitoria: IHOBE.
- Toffoletto, L., Deschênes, L., & Samson, R. (2005). LCA of ex-situ bioremediation of diesel-contaminated soil. *International Journal of Life Cycle Assessment*, 10(6), 406-416.
- Tu, C.M. (1976). Utilization and degradation of lindane by soil microorganisms. *Archives of Microbiology*, 108(3), 259 – 263.
- Van Eekert, M.H., Van Ras, N.J., Mentink, G.J., Rijnaarts, H.H., Stams, A.J.M., Field, J.A. & Schraa, G. (1998). Anaerobic transformation of β-hexachlorocyclohexane by methanogenic granular sludge and soil microflora. *Environmental Science and Technology*, 32, 3299 – 3304.
- Van Zyl, H.D. 1999. Bioremediation of diesel contaminated soil using pilot scale biopilas. Batelle Memorial Institute International In Situ and On-Site Bioreclamation Symposium Proceedings, 5, pp 5/-.

- Willet, K.L., Ulrich, E.M. and Hites, R.A.:  
1998, 'Differential toxicity and environmental fates of hexachlorocyclohexane isomers', *Environmental Science and Technology*, 32, 2197 – 2207.
- Zimmermann, D., Marquard, R., Schmidt, T.  
& Platen, H. (1999). Elimination of beta- HCH in agricultural used soil. In: *Forum Book of the 5<sup>th</sup> International HCH and Pesticides Forum: Soil treatment Technologies I: Biological methods*, (pp. 115 – 120). Vitoria: IHOBE.