



Semiárido: un desafío para la Ciencia del Suelo

13 al 16 de mayo de 2008

Potrero de los Funes (SL), Argentina



AACCS
ASOCIACION ARGENTINA
CIENCIA DEL SUELO

CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA DEL BIOSÓLIDO

Torri S. ¹, C. Alberti ², M. L. Castelli ², M. Della Vecchia ², R. Rossi ²

¹Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. Av. San Martín 4453, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 1417 DSE Argentina, torri@agro.uba.ar

²INTI-Química. Cromatografía gaseosa y Espectrometría de Masas. Avenida Gral Paz 5445, San Martín, Buenos Aires, B1650 WAB Argentina.

RESUMEN:

El uso de biosólidos como fuente de materia orgánica mejora las propiedades físicas y químicas de los suelos agrícolas, reflejándose en un incremento en el rendimiento de los cultivos. La bibliografía internacional señala que entre las sustancias orgánicas potencialmente peligrosas presentes en los biosólidos se encuentran los hidrocarburos aromáticos policíclicos. Debido a que la caracterización de los compuestos orgánicos presentes en el biosólido no se ha abordado aún en nuestro país, el objetivo de este trabajo fue seleccionar un extractante adecuado para dicha caracterización. Las muestras de biosólido se sonicaron durante 6hs con cada extractante y analizaron por GC-MS. La capacidad extractante varió en función del solvente utilizado, siendo la mejor combinación hexano: acetona (3:2). Se observó que la materia orgánica del biosólido está constituida por ácidos grasos de origen vegetal y animal, n-alcanos derivados del petróleo y esteroides de origen humano. Los resultados obtenidos en este trabajo permiten concluir que no existe riesgo de contaminación de suelos con hidrocarburos aromáticos policíclicos o bifenilos policlorados debido al uso agrícola de biosólidos. Sin embargo, se ha detectado la presencia de 1,2- bencendicarboxil dioctyl ester. Sería necesario cuantificar la concentración de este elemento para poder evaluar las dosis máximas de aplicación de biosólidos a los suelos agrícolas.

Palabras Clave: biosólidos – materia orgánica - extracción

INTRODUCCIÓN

El crecimiento poblacional origina un incremento en la producción de residuos sólidos, entre los que se encuentran los biosólidos generados en las plantas de tratamiento de los efluentes domiciliarios. La aplicación agrícola de biosólidos es una de las prácticas más aceptables de disposición de estos residuos a nivel internacional, debido a su elevado porcentaje de materia orgánica, macro y micro nutrientes (Montgomery et al, 2005). Numerosos estudios han indicado que el uso de biosólidos como fuente de materia orgánica mejora las propiedades físicas y químicas de los suelos agrícolas, disminuyendo la densidad aparente, incrementando el tamaño de poros, la formación y estabilidad de macroagregados y la capacidad de retención hídrica (Tejada y Gonzalez, 2007), reflejándose en un incremento en el rendimiento de los cultivos (Lavado 2006).

A nivel local, se ha observado un incremento en los contenidos de materia orgánica de tres suelos representativos de la región pampeana (Hapludol Típico, Natracuol Típico y Argiudol Típico) luego de la aplicación de esta enmienda. La existencia en el biosólido de una fracción orgánica resistente originó que, al cabo de un año, entre un 30-50% del carbono incorporado permaneciera en los suelos (Torri et al, 2003).

Entre las sustancias orgánicas presentes en los biosólidos se encuentran la urea, albúmina, proteínas, bases jabonosas, almidones, aceites de origen animal, vegetal y mineral, plaguicidas, disolventes industriales, colorantes, plastificantes, agentes tensoactivos y otras moléculas orgánicas complejas poco solubles en agua y con elevada capacidad de adsorción, como los hidrocarburos alifáticos y los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) (Dignac et al, 2000). Estos últimos compuestos presentan una elevada persistencia en el medioambiente, una baja biodegradabilidad y

una alta lipofiliidad, siendo alguno de ellos altamente tóxicos. Particularmente, los PAHs constituyen un serio problema ambiental no solo debido a su persistencia en los suelos sino también a su potencial efecto cancerígeno y mutagénico. Los PAHs son considerados contaminantes prioritarios por la EPA, OMS y la CE. En los suelos, estas sustancias pueden migrar por procesos de erosión o lixiviación hasta llegar a los cursos de agua. Los compuestos de mayor persistencia pueden acumularse en las plantas, siendo absorbidos a través de las raíces, ingresando de esta manera a la cadena trófica (Duarte-Davidson y Jones, 1996)

Aunque en numerosos países el uso agrícola de biosólidos constituye una importante vía de ingreso de PAHs a los suelos (Oleszczuk, Baran 2005), la caracterización de los compuestos orgánicos presentes en el biosólido no se ha abordado aún en nuestro país. Si bien los biosólidos son aplicados a nuestros suelos en forma puntual es esperable que, como en el resto del mundo, esta práctica se adopte en forma extensiva en un futuro cercano. Para ello, es necesario conocer la naturaleza de los componentes orgánicos presentes en el biosólido, para evaluar los riesgos potenciales originados por su aplicación agrícola (Berset y Holzer, 1995).

La caracterización de los compuestos orgánicos se realiza a través de técnicas de extracción. Entre los métodos tradicionales se encuentra el equipo Soxhlet, utilizado para la extracción de compuestos de naturaleza lipídica contenidos en un material sólido utilizando un solvente adecuado. Comparado con la técnica Soxhlet, los métodos de extracción más modernos mejoran la eficiencia de la extracción por acción física sobre el medio. En la extracción asistida por ultrasonido se utilizan sonidos de alta frecuencia, que al reducir el tamaño de las partículas incrementa el transporte de masa de los constituyentes solubles por difusión y procesos osmóticos desde la fase sólida al solvente (Vinatoru, 2001). Para esta técnica, suelen utilizarse como extractantes disolventes orgánicos de polaridad media o mezclas de disolventes polares y apolares. Esto ha originado un elevado número de métodos extractivos. El objetivo de este trabajo fue seleccionar un extractante adecuado para la caracterización de la materia orgánica presente en el biosólido utilizando la extracción asistida por ultrasonido.

MATERIALES Y MÉTODOS

El biosólido provino de la planta depuradora de San Fernando, provincia de Buenos Aires. El biosólido se secó primero al aire, y luego en estufa con circulación de aire a 60° C hasta constancia de peso. Posteriormente se molió y tamizó (<2 mm).

Se utilizaron los siguientes extractantes:

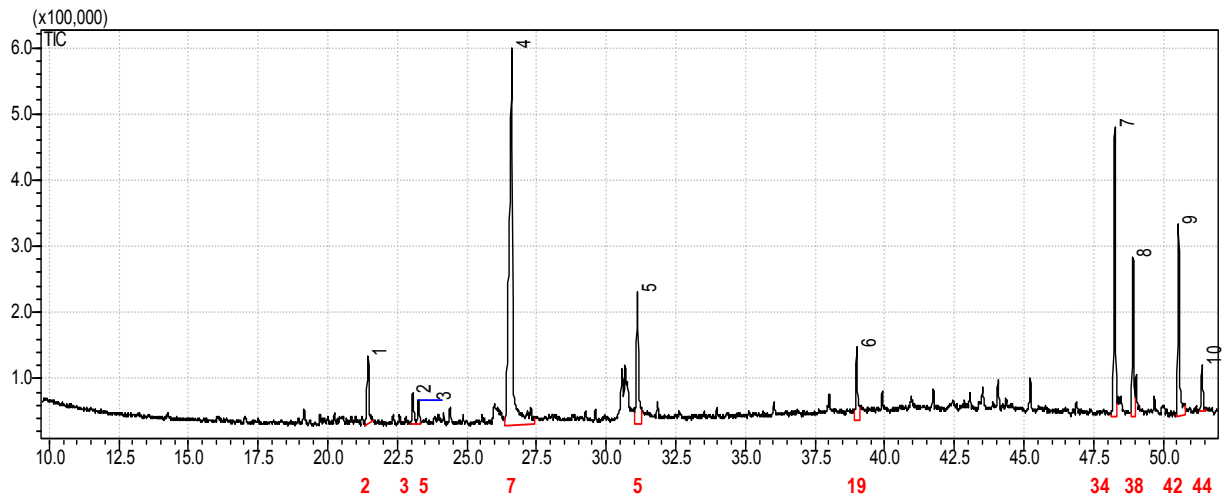
Tipo de extracción	extractante o mezcla de extractantes	Referencia
	Tolueno	Miege et al, 2003
ultrasonido	n - Hexano	Mangas et al, 1998
	Tolueno : Metanol (10:1)	EPA Method 3540 C
	Hexano : Acetona (3:2)	Tomaniova et al, 1998

Las muestras de biosólido se sonicaron con cada extractante durante 6hs. Posteriormente se filtraron con papel de filtro banda blanca. El filtrado se evaporó en rotavap y el extracto se analizó por GC-MS en las siguientes condiciones cromatográficas: temperatura del horno: 100°C - 300°C; temperatura de inyección: 250°C; temperatura de la fuente de iones: 250°C; flujo en la columna: 0.89 ml/min.

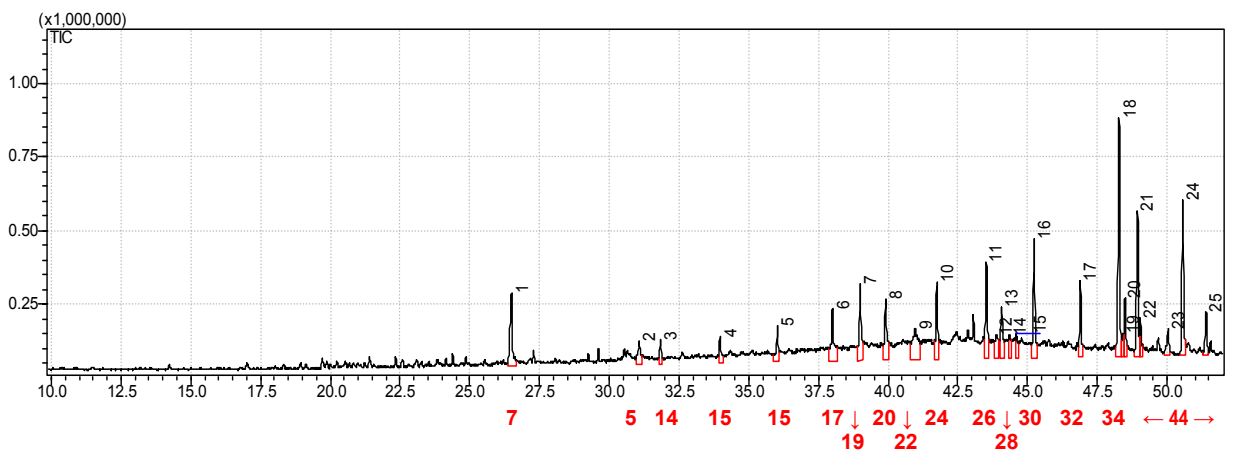
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El biosólido presentó las siguientes características analíticas: carbono total: 251 mg g⁻¹; nitrógeno total: 19,3 mg g⁻¹; fósforo total: 7,2 mg g⁻¹; pH: 5,82; CE: 0,90dS m⁻¹.

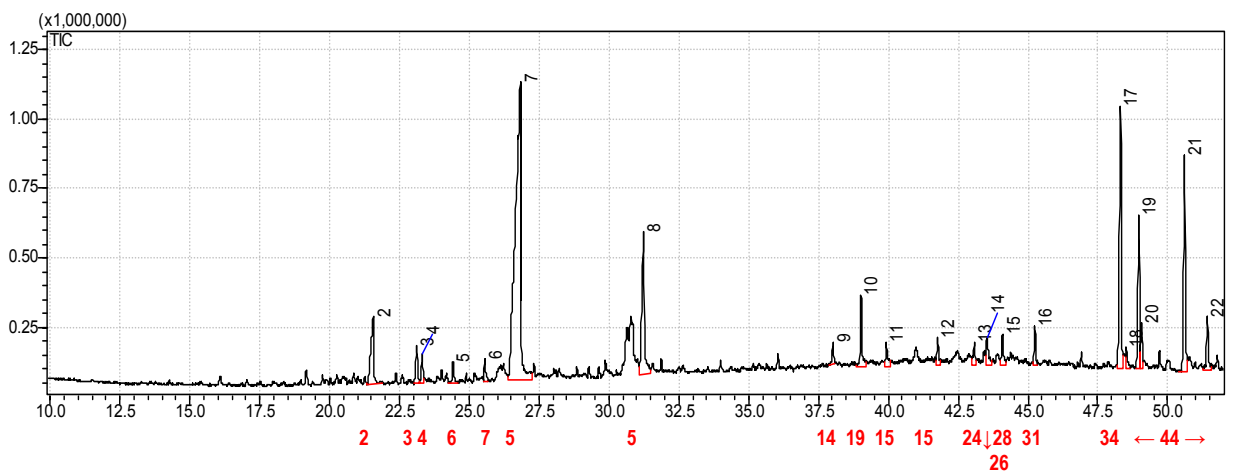
Los cromatogramas obtenidos con cada uno de los extractantes se presentan en la Figura 1. Todos los compuestos fueron identificados por sus espectros de masa, y la identificación de cada componente correspondiente a los números en rojo se indica en la Tabla 1.



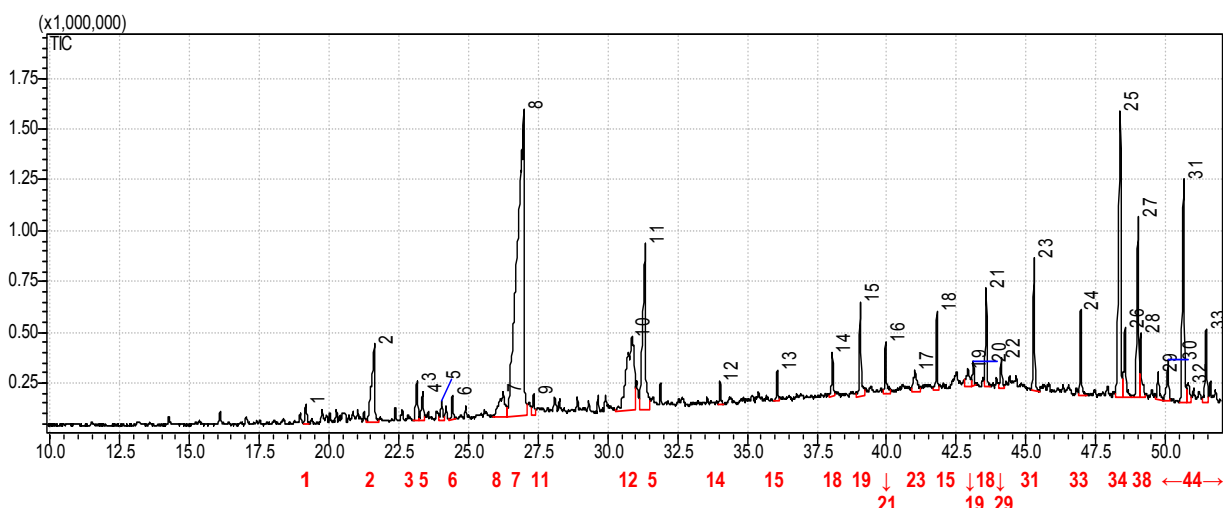
A: Biosólido extraído con Tolueno



B: Biosólido extraído con n-Hexano



C: Biosólido extraído con Tolueno: Metanol (10:1)



D: Biosólido extraído con Hexano: Acetona (3:2)

Figura 1: Cromatogramas obtenidos luego de extraer biosólido con distintos extractantes. Las referencias correspondientes a los números en rojo figuran en la Tabla 1.

Comparación de los extractantes

En la Figura 1 se observa que la capacidad extractante varió en función del solvente utilizado. Si bien es difícil comparar la polaridad de los solventes, pueden utilizarse los valores de la constante dieléctrica como una aproximación. Dichos valores son: n-hexano ($\epsilon=1.88$), acetona ($\epsilon=20.7$), metanol ($\epsilon=32.7$), tolueno ($\epsilon=2.38$), quedando en orden de constante dieléctrica creciente: n-hexano, tolueno, tolueno: metanol, n-hexano: acetona. Se observa que a mayor constante dieléctrica del extractante, mayor es la afinidad por los ácidos grasos. El tolueno fue el solvente menos extractante, mientras que la combinación hexano: acetona (3:2) presentó la mayor afinidad por los analitos. Esta combinación de solventes parecería ser, en principio, adecuada para una caracterización cualitativa de la materia orgánica presente en los biosólidos.

Composición del biosólido

Todos los cromatogramas muestran básicamente la presencia de dos familias de compuestos polares: ácidos grasos y esteroides.

Los ácidos grasos presentan un menor tiempo de retención (5 a 31 minutos), predominando los que presentan número par de átomos de C, entre C_{10} y C_{18} . Estos ácidos grasos se originan a partir de efluentes domiciliarios de origen gastronómico y cloacal. Entre las grasas de origen vegetal y animal predominan el ácido palmítico (ácido hexadecanoico, 16:0), el ácido esteárico (ácido octadecanoico, 18:0) y el ácido oleico (ácido (9Z)-octadec-9-enoico, $C_{18:1w9}$), en concordancia con los resultados de Jardé et al. (2005). Esta fracción representa el 54% de la materia orgánica extraída con hexano: acetona (3:2).

Los esteroides presentan el mayor tiempo de retención, son compuestos resistentes a la degradación microbiana, con tiempos de vida media superiores a otros compuestos orgánicos, lo cual permite su empleo como marcadores biológicos en suelos y aguas. Los colestanos (C_{27}) constituyen un grupo de esteroides, entre los que se encuentra el colesterol, característico de las lipoproteínas del plasma sanguíneo y las membranas celulares de los animales superiores. El coprostanol (5 β -coleston-3 β -ol) presente en todos los cromatogramas, es el producto de la hidrogenación microbiana anaeróbica del colesterol, sintetizado en el tracto digestivo del ser humano. Esta fracción representa el 18% de la materia orgánica extraída con hexano: acetona (3:2).

Entre los compuestos no polares se encuentran los n-alcenos, de cadenas carbonadas entre C_{12} – C_{40} . Esta fracción representa aproximadamente el 16% de la materia orgánica presente en el

biosólido. No se observa predominio de cadenas pares o impares de C. Los n-alcenos entre C₁₁-C₄₀ derivan de fuentes de combustible fósil y pueden constituir entre el 15-20% de crudos no degradados.

Tabla 1: Nomenclatura de los compuestos presentes en el biosólido

	Nombre del compuesto	Fórmula
1	Tetradecanal	C ₁₄ H ₂₈ O
2	Acido Tetradecanoico	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH
3	Acido Pentadecanoico	CH ₃ (CH ₂) ₁₃ COOH
4	Acido Hexadecanoico	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH
5	Acido Octadecanoico	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH
6	Tetradecanol	CH ₃ (CH ₂) ₁₃ OH
7	Acido Hexadecanoico	
8	Cyclododecano	C ₁₂ H ₂₄
11	Nonadecano	C ₁₉ H ₄₀
12	Acido (9Z)-Octadec-9-enoico	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH
14	Nonacosano	C ₂₉ H ₆₀
15	Hentriacontano	C ₃₁ H ₆₄
17	Docosane	C ₂₂ H ₄₆
18	Triacontane	C ₃₀ H ₆₂
19	1,2-Bencendicarboxil dioctyl ester	C ₂₄ H ₃₈ O ₄
20	Tetracontano	C ₄₀ H ₈₂
21	Hexacosano	C ₂₆ H ₅₄
22	Hexatriacontano	C ₃₆ H ₇₄
23	Pentacosano	C ₂₅ H ₅₂
24	Octacosano	C ₂₈ H ₅₈
26	Untriacontano	C ₃₁ H ₆₄
28	Hidrocarburo lineal no identificado	
30	Eicosano	C ₂₀ H ₄₂
31	Hidrocarburo lineal no identificado	
32	Hidrocarburo lineal no identificado	
34	5β-cholestan-3β-ol (coprostanol)	C ₂₇ H ₄₈ O
38	Cholestan, 3,4-epoxy-(3.alpha.,4.alpha.,5.alpha)	C ₂₇ H ₄₆ O
42	3β-cloro-5-colestano	C ₂₇ H ₄₅ Cl
44	Familia del colestano	

Los alcanos de C₂₅ - C₃₃ pueden también provenir de las ceras cuticulares vegetales, presentando predominio de cadenas impares.

En ningún cromatograma se observa la presencia de PAHs ni de bifenilos policlorados (PCBs). Estos resultados indican la ausencia de estos compuestos en los biosólidos correspondientes a la ciudad de Buenos Aires, o una concentración por debajo del límite de detección del equipo. Sin embargo, se observa la presencia de 1,2- bencendicarboxil dioctyl ester (19), también denominado ftalato de di-n-octilo. Los ésteres del ácido ftálico (PAEs) se utilizan para modificar las propiedades mecánicas de plásticos y caucho, y existen sospechas que son neurotóxicos y cancerígenos. Estos compuestos figura en la Lista de Sustancias Peligrosas de la EPA. Debido a que estos plastificantes no son polimerizados dentro de la matriz plástica, pueden desprenderse con el tiempo y el uso y emigrar al ambiente. La presencia de PAEs en biosólidos ha sido reportada en numerosos estudios. Debido a su baja solubilidad, estas sustancias se concentran en el biosólido, reportándose concentraciones entre 12 a 1250 mg kg⁻¹ (Staples et al., 1997). La presencia de estos compuestos

podría regular las dosis máximas de biosólidos utilizados con fines agrícolas, de acuerdo con la legislación Nacional (Decreto 831/93. Ley 24.051).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo indican que la materia orgánica del biosólido está constituida por ácidos grasos, n-alcanos y esteroides. La fracción orgánica resistente observada en trabajos anteriores posiblemente se deba a la lenta degradación de los esteroides, n-alcanos y ácidos grasos de elevado peso molecular por los microorganismos edáficos, aunque es necesario realizar más ensayos para confirmar esta suposición. Los resultados obtenidos en este trabajo permiten concluir que no existe riesgo de contaminación de suelos con hidrocarburos aromáticos policíclicos o bifenilos policlorados debido al uso agrícola de biosólidos. Sin embargo, se ha detectado la presencia de 1,2- bencendicarboxil dioctyl ester. Sería necesario cuantificar la concentración de este elemento en el biosólido para poder evaluar las máximas dosis a aplicar en los suelos para uso agrícola.

BIBLIOGRAFÍA

- Berset J.D. and Holzer R., 1995. Organic micropollutants in Swiss agriculture: distribution of polynuclear aromatic hydrocarbons (PAH) and polychlorinated biphenyls (PCB) in soil, liquid manure, sewage sludge and compost samples; a comparative study, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 59: 145–165.
- Dignac M.F., P. Ginestet, D. Rybacki, A. Bruchet, V. Urbain and P. Scribe. 2000. Fate of wastewater organic pollution during activated sludge treatment: nature of residual organic matter. *Water Res.* 34: 4185-4194
- Duarte-Davidson R. and K.C. Jones, 1996. Screening the environmental fate of organic contaminants in sewage sludge applied to agricultural soils: 2. The potential for transfers to plants and grazing animals, *Sci. Total Environ.* 185: 59–70.
- Jardé E, L Mansuy and P Faure. 2005. Organic markers in the lipidic fraction of sewage sludges . *Water Research*, 39: 1215-1232
- Lavado, R.S. 2006. Effects of sewage-sludge application on soils and sunflower yield: Quality and toxic element accumulation. *Journal of Plant Nutrition* 29: 975-984
- Mangas, E.; Vaquero, M. T.; Comellas, L. y Broto-Puig, F. 1998. Analysis and fate of aliphatic hydrocarbons, linear alkylbenzenes, polychlorinated biphenyls and polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge-amended soils. *Chemosphere*, 36: 61-72
- Miege,C.; Dugay, J. y Hennion, M. 2003.; Optimization, validation and comparison of various extraction techniques for the trace determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge by liquid chromatography coupled to diode-array and fluorescence detection. *J. Chrom. A*, 995: 87-97.
- Montgomery, M.B., Ohno, T., Griffin, T.S., Honeycutt, C.W. & Fernandez, I.J. 2005 Phosphorus mineralization and availability in soil amended with biosolids and animal manures. *Biological Agriculture and Horticulture* 22, 321-334
- Oleszczuk P, S Baran. 2004. Application of solid-phase extraction to determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge extracts. *Journal of Hazardous Materials*, 113: 237-245.
- Staples, C.A. D.R. Peterson, T.F. Parkerton y W.J. Adams, 1997. The environmental fate of phthalate esters: a literature review, *Chemosphere* 35: 667–749.
- Tejada, M., Gonzalez, J.L. 2007. Application of different organic wastes on soil properties and wheat yield. *Agronomy Journal* 99: 1597-1606
- Tomaniova, M.; Hajslova, J.; Pavelkajr, J.; Kocourek, V.; Holadova, K. y Klimova, I. 1998, Microwave-assisted solvent extraction - a new method for isolation of Polynuclear aromatic hydrocarbons from plants. *J. Chrom. A* 827: 21-29
- Torri S, Alvarez R, Lavado R. 2003. Mineralization of Carbon from Sewage sludge in three soils of the Argentine pampas. *Commun Soil Sci and Plant Anal* 34: 2035-2043.
- Vinatoru, M. 2001. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*. N.º 8: 303-313.