Contaminación de suelos por hidrocarburos en América Latina: contribuciones al conocimiento, diagnóstico y alternativas de solución



Tomás Eduardo Chávez Miyauchi
Alejandro Islas García
(Coordinadores)

De La Salle ediciones

I+D+i
Investigación, Desarrollo e innovación

I+D+i

Investigación, Desarrollo e innovación

Contaminación de suelos por hidrocarburos en América Latina: contribuciones al conocimiento, diagnóstico y alternativas de solución

De La Salle ediciones

Contaminación de suelos por hidrocarburos en América Latina: contribuciones al conocimiento, diagnóstico y alternativas de solución

Primera edición digital, septiembre de 2024

© Editorial Parmenia
bajo el sello de De La Salle ediciones
Carlos B. Zetina 30, Colonia Condesa
06170, Cuauhtémoc, Ciudad de México
55 52 78 95 04
editorialparmenia@lasalle.mx
www.editorialparmenia.com.mx

Alejandro Islas García
Tomás Eduardo Chávez Miyauchi
(Coordinadores)

Dirección editorial: Irma Rodríguez Vega
Corrección de estilo: David Sánchez López
Formación, forros y gráficos: Marina Mejía Vázquez
Cuidado de la edición: Sandra García Valdez y Carolina Mojica Reyes
Producción y distribución: Arturo Massón Perdomo



ISBN 978-607-749-205-4



Contaminación de suelos por hidrocarburos en América Latina: contribuciones al conocimiento, diagnóstico y alternativas de solución por Universidad La Salle México se distribuye bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional.

Hecho en México



www.editorialparmenia.com.mx

Comprometida con la generación y difusión del conocimiento humanista, científico y tecnológico, editorial Parmenia, de la Universidad La Salle, Ciudad de México, presenta su serie I+D+i, que tiene por objetivo publicar los últimos avances en diferentes áreas de conocimiento, con una visión transdisciplinaria, humanista, incluyente y con impacto social.

En esta serie son publicados libros científicos que priorizan problemáticas de relevancia nacional, apegados a los estándares éticos y a las normas que los comités internacionales establecen para la investigación. Todas las publicaciones son estrictamente sometidas a un proceso de arbitraje riguroso por pares académicos y un proceso de detección de plagio para garantizar la calidad de todo contenido de la serie.

Índice

Introducción 7

Estado de la contaminación de suelos por hidrocarburos en América Latina y el Caribe
Rosalina González Forero 9

Caracterización integral de suelos contaminados con hidrocarburos: más allá de la legislación vigente
Paulina Gómez Flores, Viridiana Velázquez Vázquez, Nancy Velasco Álvarez, Víctor Sánchez Vázquez, Adriana Gómez Santos, Tania Volke Sepúlveda, Ignacio González Martínez, Mercedes Oropeza Guzmán 26

Variaciones de los hidrocarburos presentes en suelos contaminados
Carlos M. Morales-Bautista, Sonia A. Torres-Sánchez, Iliana M. de la Garza-Rodríguez, Sugey López-Martínez, Marcia E. Ojeda-Morales, Irma Sánchez-Lombardo, José de los S. López-Lázaro, Miguel A. Hernández-Rivera 52

Efecto de la contaminación producida por fosas petroleras sobre la riqueza florística, las características fisicoquímicas del suelo y la actividad microbiana en sabanas de Venezuela
Alejandra Carolina Zamora Figueroa, Ismael Enrique Hernández Valencia, Nora Felipa Malaver Quijada, Oriana Cristina Santos Goncalves, María del Pino Rodríguez 73

Actividades enzimáticas como herramientas para el monitoreo de la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos
Victoria Eugenia Vallejo Quintero 93

Biodegradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en el suelo
Erick López Vázquez 112

Técnicas ambientales de recuperación de entornos afectados por hidrocarburos en Colombia. Revisión
Johana Andrea Velásquez Arias 126

Perspectivas de remediación de suelos contaminados por hidrocarburos en México y algunas alternativas de tratamiento
Alejandro Islas García, Adriana Benítez Rico, Tomás Eduardo Chávez Miyauchi, Arely Vergara Castañeda, Laura Martino Roaro 146

Retos y oportunidades del desarrollo del tratamiento electrocinético del suelo contaminado con hidrocarburos en México, de acuerdo con la experiencia internacional
Erika Bustos Bustos 171

Aplicación de modelos matemáticos en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos
Mario Andrés Noriega Valencia, Valentina Méndez Jiménez 187

Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos con aplicación de microorganismos autóctonos de la Patagonia argentina
Marina Rega Babek, Claudio Valverde, Adrián Acuña, Mariana Garbi, Enrique Rodríguez Cáceres 205

Potencial de poáceas y hongos DSE para la fitorremediación de suelos contaminados con derivados de petróleo
Fernando J. Ureta Suelgaray, Dafne Micaela Aguilar Beltramo, Raúl Silvio Lavado, Viviana Mónica Chiocchio 226

Biorremediación por biopilas y ecotoxicología de un suelo contaminado con hidrocarburos en el sur de Veracruz
María del Carmen Cuevas Díaz, Ángeles Martínez Toledo, María del Rocío Cruz Colín, Oswaldo Guzmán López, Gabriela Alamina Neyra 243

Introducción

En la actualidad, los hidrocarburos son la fuente energética que mueve la maquinaria económica e industrial de nuestro mundo. Por este motivo, la exploración de nuevos yacimientos, así como la refinación y procesamiento de hidrocarburos continuará siendo una de las prioridades de las potencias petroleras. Desafortunadamente, un manejo inadecuado de los hidrocarburos y sus derivados después de su extracción y refinación, es decir, durante su transporte y almacenamiento, puede provocar la contaminación del suelo. Es así, pues estos compuestos orgánicos tienen como características químicas una baja solubilidad, hidrofobicidad y alta adherencia a las partículas del suelo, que los hace persistentes en esta matriz ambiental. Sus efectos adversos se manifiestan en los procesos intrínsecos del suelo, en la salud de los seres vivos y hasta en los servicios de importancia ambiental y económica.

La caracterización y el monitoreo de sitios contaminados, así como conocer los efectos negativos, los procesos de movilidad, de dispersión y el metabolismo de la degradación del contaminante son algunos de los primeros pasos para desarrollar metodologías específicas que procuren la restauración de los sitios contaminados, sin afectarlos de forma secundaria, y se establezcan lineamientos para su mantenimiento. Para este fin, también es necesario el aporte de distintas disciplinas y de la perspectiva de las comunidades técnicas y científicas de diversas latitudes para lograr el objetivo común de desarrollar una sociedad sostenible y ambientalmente responsable.

En este libro se compilan diferentes trabajos de investigación bibliográfica y práctica inédita referentes a la contaminación del suelo por hidrocarburos, tras la invitación a especialistas de distintas áreas y países en Latinoamérica para intercambiar conocimiento y experiencias en esta temática. Sin duda, este intercambio enriquecerá la visión de la problemática y el planteamiento de alternativas para la mitigación de la contaminación con estos compuestos orgánicos.

Los capítulos que lo conforman se han agrupado en distintas áreas específicas. Se inicia por una perspectiva general de la contaminación por hidrocarburos en América Latina y su legislación; posteriormente, los capítulos se enfocan en la caracterización del suelo y los contaminantes, el estado de la contaminación en diferentes sitios mediante monitoreo, transporte, modelado y comportamiento de hidrocarburos; y, finalmente, encontramos diversos trabajos relacionados con procesos de remediación, tanto fisicoquímicos como electroquímicos y biológi-

cos. En cuanto a la biorremediación, en diferentes capítulos se profundiza sobre los procesos metabólicos involucrados en la degradación biológica del contaminante. Estos trabajos fueron desarrollados tanto en el laboratorio como en pruebas de campo.

Aunque en diferentes publicaciones se menciona que en menos de 50 años el abastecimiento mermará, es un hecho que cada año de descubren diferentes yacimientos en el mundo, que postergarán el agotamiento de este producto geológico. Pero, independiente de este periodo, es necesario restaurar el suelo de los sitios contaminados y disminuir el impacto producido por su utilización. A pesar de que la contaminación del suelo por hidrocarburos es minimizada por las grandes catástrofes de derrames marinos, los pasivos y las emergencias ambientales por derrames accidentales o provocados son más frecuentes, más persistentes y muchas veces ignorados.

El ser humano es el único ser consciente del daño que genera a su entorno y el único que puede permanecer indiferente ante ello. Los suelos, ríos, mantos freáticos y mares contaminados por hidrocarburos son marcas en nuestro planeta que quizá nunca se puedan desvanecer. Por ello, restaurar nuestro entorno y disminuir nuestra huella es una acción responsable, sostenible y una forma de agradecer al planeta y perpetuar nuestro entorno.

Alejandro Islas García
Tomás Eduardo Chávez Miyauchi

Coordinadores
Vicerrectoría de Investigación
Universidad La Salle México

Estado de la contaminación de suelos por hidrocarburos en América Latina y el Caribe

Rosalina González Forero*

Resumen

El estudio de la contaminación del suelo hoy en día es una necesidad innegable. Desafortunadamente las naciones tardaron en darse cuenta del papel fundamental que este recurso cumple en la naturaleza y es así como en algunos contextos se habla de la necesidad de su cuidado para evitar la extinción humana. Debido a lo anterior, se llevó a cabo un estudio, donde se analizaron las tendencias regionales de la contaminación del suelo a través de una gran encuesta a autoridades nacionales y laboratorios de referencia en materia de suelos de los países miembros de la Organización de las Naciones Unidas, del Caribe, de América Central y Sudamérica, por medio de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés). Los resultados mostraron que la agricultura, la extracción y el procesamiento de combustibles fósiles, así como los vertederos legales e ilegales son las principales fuentes de contaminación del suelo.

Adicionalmente, se observó que, según el área que ocupan, y sus efectos en relación con el riesgo para la salud humana y el medioambiente, las sustancias orgánicas ocupan el primer lugar de impacto en la salud del suelo, con los pesticidas y los hidrocarburos como los principales contaminantes en la zona. De estos grupos de sustancias, Brasil, Chile, Colombia, México, Ecuador y Trinidad y Tobago catalogaron a los hidrocarburos provenientes de la extracción y el procesamiento de combustibles (petróleo y gas) como la mayor fuente de contaminación. Los demás países los identificaron como causantes de una contaminación moderada.

También se determinó que la contaminación del suelo es una de las áreas menos estudiadas de la región. Brasil, Colombia y México tienen el 81 % de la producción en investigación, que corresponde a 20 artículos de

* Departamento de Ingeniería Ambiental y Sanitaria, Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia. rogonzalez@unisalle.edu.co

un total de 25 en 20 años (una cifra bastante baja). Además, se concluyó que las políticas y los proyectos para combatir el problema de contaminación por hidrocarburos son débiles, hay una falta de incentivos para la remediación, y los gobiernos, en su mayoría, no tienen presupuestos destinados para ello.

Palabras clave

Contaminación de suelos, América Latina y el Caribe, hidrocarburos, orgánicos.

Introducción

El estudio y la acción sobre la contaminación del suelo son relativamente jóvenes en el mundo y no en todos los países de América Latina se les tiene como una prioridad. Tanto es así que apenas el 57 % de estos tienen una normatividad específica asociada que evalúa, controla o penaliza acciones en contra de la degradación de este recurso. Lo anterior se suma a que, en la opinión pública, al suelo se le considera como algo sin vida, al que no le pasa nada y, en algunos casos, como algo sucio, por lo que no se insta a protegerlo como el agua o el aire. Hay mucho desconocimiento al respecto y es importante clarificar algunos conceptos asociados. En este sentido, la FAO (2015) define de esta manera el suelo:

> Cuerpo natural que consiste en capas de suelo (horizontes del suelo) compuestas de materiales de minerales meteorizados, materia orgánica, aire y agua. El suelo es el producto final de la influencia del tiempo y combinado con el clima, topografía, organismos (flora, fauna y ser humano), de materiales parentales (rocas y minerales originarios) (p. 1).

Rodríguez-Eugenio et al. (2018) definen, por otra parte, el concepto de *contaminación del suelo* en los siguientes términos que es sustancial recordar:

> La "contaminación del suelo" se refiere a la presencia de un producto químico o sustancia fuera de lugar y/o presente en una concentración superior a la normal que tenga efectos adversos sobre cualquier organismo no objetivo (FAO & ITPS, 2015). Aunque la mayoría de los contaminantes tienen orígenes antropogénicos, algunos contaminantes pueden ocurrir naturalmente en los suelos como componentes de minerales y pueden ser tóxicos a altas concentraciones. La contaminación del suelo a menudo no se puede evaluar directamente o percibir visualmente, lo que lo convierte en un peligro oculto (p. 1).

La definición anterior hace énfasis en las sustancias o los productos químicos fuera de lugar que ponen en riesgo a los seres vivos o al ecosistema en su país. Para analizar las tendencias de contaminación de suelos en la región, es necesario determinar aquellas actividades que las direccionan. El Espacio Europeo de Investigación (ERA, por sus siglas en inglés) indica que hay factores directos e indirectos que ocasionan degradación a corto, mediano y largo plazos. Entre otros, los factores antropogénicos son los más importantes. Los sectores económicos como la industria, el transporte, la gestión de residuos y la agricultura ocupan los primeros lugares en la degradación del suelo (Stolte et al., 2016).

Metodología

Con el fin de determinar el estado de la degradación de suelos por contaminación y analizar las diferencias entre los diferentes países miembros de la FAO, se realizó un estudio denominado *Questionnaire. Assessment of the global status and regional trends of soil pollution study* (Evaluación del estado global de las tendencias regionales de la contaminación del suelo) (FAO, 2019).[1] La oficina de la Alianza Mundial por el Suelo de la Asamblea de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, a través de un trabajo participativo en cada una de sus regiones (África, Asia, Europa, América Latina y el Caribe, Pacífico, Oriente Medio y África del Norte, y Norteamérica), generó un instrumento que sirvió para recopilar información y comprender el problema en escala global. Dicho instrumento se aplicó de manera voluntaria a las diferentes entidades de los países miembros relacionadas con el suelo, en especial ministerios de ambiente, laboratorios de referencia nacionales, laboratorios de ensayo y universidades con temas afines. En América Latina y el Caribe, representantes de Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Cuba, Ecuador, El Salvador, Perú, Panamá y Trinidad y Tobago contestaron las preguntas del estudio, en especial, miembros de la academia, formuladores de políticas públicas y personal técnico de laboratorios. Las preguntas realizadas se aprecian en la figura 1 y los niveles de respuesta fueron "No presente", "Fuente menor de contaminación del suelo", "Fuente moderada de contaminación del suelo" y "Fuente mayor de contaminación del suelo". La figura contiene solo las secciones del documento original que se consideran pertinentes para la temática del presente escrito.

[1] Las traducciones al español son de la autora.

Figura 1. Preguntas realizadas en el instrumento para determinar el estado global de la contaminación del suelo

Dirección de correo electrónico

0.1 Información general. Nombre/apellido

0.2 Posición

0.3 Afiliación

0.4 País

0.5 Región

0.6 Grupo de partes interesadas

0.7 ¿Está de acuerdo en responder a este cuestionario con el mayor detalle posible?

1. Normatividad

1.1 ¿Qué niveles administrativos de la institución pública tienen competencia sobre la contaminación del suelo?

1.1.b ¿Tiene su país una ley nacional de contaminación del suelo?

1.2.b Ley de contaminación del suelo (o ley relacionada): proporcione el título, la fecha de aplicación y el enlace en línea si está disponible.

1.3.b ¿Tiene su país una legislación sobre protección/conservación del suelo?

1.4.b Legislación sobre protección/conservación del suelo: proporcione el título, la fecha de aplicación y el enlace en línea si está disponible.

1.5.b ¿Tiene su país alguna otra legislación que incluya o pueda afectar la prevención y el control de la contaminación del suelo? (Por ejemplo, acto medioambiental, responsabilidad medioambiental, acto de residuos, acto de agua...).

1.6.b ¿Ha adoptado y aplicado su país los convenios internacionales sobre productos químicos?

1.7.b ¿La legislación antes mencionada incluye valores de referencia para diferentes contaminantes en el medioambiente (cuerpos de agua, alimentos, suelos)?

1.1.c ¿Tiene su país/región/condado una ley de contaminación del suelo?

1.2.c Leyes o reglamentos sobre contaminación del suelo: proporcione los títulos, el nivel administrativo que los creó, las fechas de aplicación y los enlaces en línea si están disponibles.

1.3.c ¿Tiene su país/región/condado una legislación sobre protección/conservación del suelo?

1.4.c Legislación sobre protección/conservación del suelo: proporcione los títulos, el nivel administrativo que los creó, las fechas de solicitud y los enlaces en línea si están disponibles

1.5.c ¿Tiene su país/región/condado alguna otra legislación que incluya o pueda afectar la prevención y el control de la contaminación del suelo? (Por ejemplo, acto medioambiental, responsabilidad medioambiental, acto de residuos, acto de agua...).

(*Continúa*)

1.6.c ¿Su país/región/condado ha adoptado e implementado los convenios internacionales sobre productos químicos?

1.7.c ¿La legislación antes mencionada incluye valores de referencia para diferentes contaminantes en el medioambiente (cuerpos de agua, alimentos, suelos)?

2. Contaminantes

2.1 ¿Qué contaminantes están incluidos en la legislación antes mencionada?

2.2 ¿Varían los valores de referencia incluidos en la legislación antes mencionada?

3. Fuentes de contaminación del suelo

3.1 ¿Existe una definición/lista oficial de actividades potencialmente contaminantes en su país?

3.2 Para cada una de las siguientes actividades, califique su potencial como una importante actividad contaminante en su país, de acuerdo con los siguientes niveles de calificación: No presente, Fuente menor de contaminación del suelo, Fuente moderada de contaminación del suelo y Fuente mayor de contaminación del suelo:

- Actividades industriales.
- Actividades de minería y canteras, incluida la acumulación de desechos, el procesamiento de minerales y metales, y otras actividades relacionadas con el ciclo de vida de los minerales y los metales.
- Agricultura (uso excesivo de plaguicidas, fertilizantes, aguas residuales no tratadas para riego, uso de lodos de depuradora como enmiendas).
- Producción ganadera (uso de antibióticos para la prevención, uso de hormonas para acelerar el crecimiento).
- Extracción y procesamiento de combustibles fósiles (petróleo y gas).
- Uso de combustibles con plomo.
- Sitios militares (pruebas de tiro, áreas de pruebas de armas).
- Áreas de guerra (minas terrestres personales, áreas bombardeadas).
- Infraestructura de transporte y emisiones de transporte.
- Vertederos (legales o ilegales) y plantas de tratamiento de desechos.
- Plantas nucleares.
- Otras actividades.

3.3 Si seleccionó "otras actividades" en la pregunta anterior, indique a qué actividad se refiere y qué importancia tiene como fuente de contaminación del suelo en su país.

3.4 ¿Cuáles son los principales grupos de contaminantes orgánicos que causan la contaminación del suelo en su país?

- Plaguicidas (aldrin, clordano, DDT, dieldrin, endrina, heptacloro, hexaclorobenceno, mirex, toxafeno, clordecon, alfa hexaclorociclohexano, beta hexaclorociclohexano, lindano, pentaclorobenceno).

(*Continúa*)

- Productos químicos industriales (hexaclorobenceno, bifenilos policlorados [PCB]; hexabromobifenil, hexabromodifenil éter y heptabromodifenil éter, pentaclorobenceno, ácido perfluorooctanosulfónico, sales, perfluorooctano sulfonil fluoruro de pentabromodifenil eter).
- Subproductos (hexaclorobenceno; dibenzo-p-dioxinas policloradas y dibenzofuranos policlorados [PCDD / PCDF], PCB, alfa hexaclorociclohexano, beta hexaclorociclohexano y pentaclorobenceno).
- Hidrocarburos.
- Compuestos orgánicos volátiles (COV).
- Aromáticos monocíclicos no halogenados.
- Alifáticos halogenados.
- HAP.
- PCB.
- Dioxinas + furanos.
- PFAS.
- Ftalatos.
- PBDE.
- Fenoles y clorofenoles.
- Clorobencenos.
- Productos farmacéuticos, medicamentos y de cuidado personal.
- Plásticos y polímeros sintéticos (AC).
- Otro.

Fuente: elaboración propia a partir de la información de FAO (2019).

Debido a la importancia de los hidrocarburos en la región, se hizo un estudio profundo de su potencial contaminante en los suelos de la zona. Según el Gobierno de México (2020), los hidrocarburos son compuestos orgánicos formados principalmente por hidrógeno y carbono, que se encuentran en estado sólido, líquido y gaseoso, principalmente como productos de la actividad en la industria petroquímica. Esta considera desde la extracción del petróleo hasta su transformación y uso en infinidad de productos de uso cotidiano e industrial.

Además de lo anterior, se realizó una indagación acerca de la normatividad existente sobre la contaminación del suelo en cada uno de los países estudiados, a través de las páginas web oficiales. Por último, se consultaron las publicaciones científicas realizadas a través de la base de datos Web of Science, con el fin de identificar el estado del arte sobre el tema en la región. Los parámetros de búsqueda empleados fueron los siguientes:

- Contaminación del suelo en América Latina.
- Contaminación de suelos en EUA.

- Remediación de suelos contaminados por hidrocarburos.
- Remediación de suelos contaminados por hidrocarburos en América Latina.

Resultados y análisis

Como se mencionó previamente, solo diez países de la región respondieron la encuesta: El Salvador y Panamá por Centroamérica; Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Ecuador y Perú por Suramérica; y Cuba y Trinidad y Tobago por el Caribe. Se aprecia una baja participación de Centroamérica y el Caribe; adicionalmente, se observa cómo países tan importantes y con alto grado de desarrollo en el tema como México tampoco aparecen.

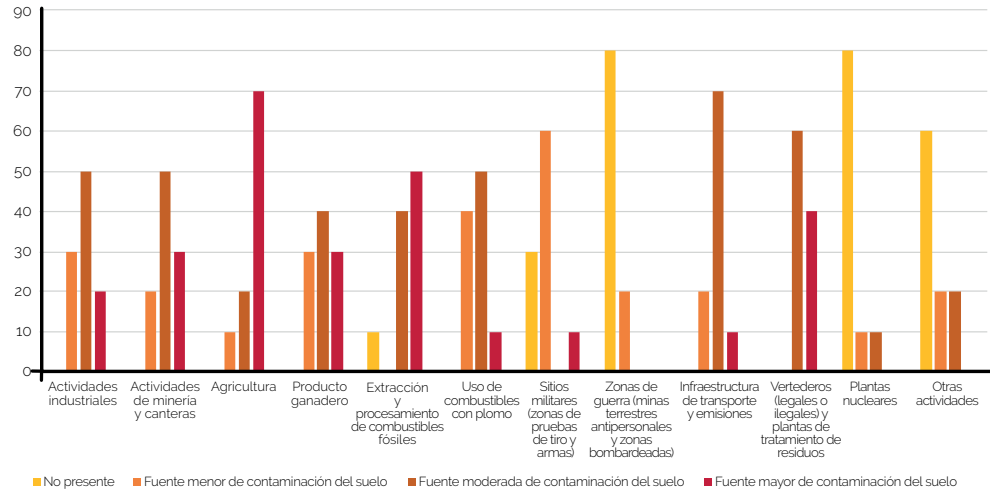
Para realizar el análisis correspondiente, las respuestas de los países anteriormente mencionados se agruparon de acuerdo con los niveles de respuesta indicados en la metodología y se determinó el porcentaje de estos para graficar y establecer las respuestas con mayor frecuencia.

Actividades más contaminantes del suelo de América Latina y el Caribe

La figura 2 presenta un diagrama de barras comparativas entre los distintos niveles de respuesta para cada una de las actividades indicadas como potenciales fuentes de contaminación del suelo.

- Fuente mayor de contaminación del suelo. Para este nivel de respuesta, el estudio concluyó que las actividades más contaminantes del suelo en la región son la agricultura, así como la extracción y el procesamiento de combustibles fósiles (petróleo y gas) en un 70 % y un 50 %, respectivamente. Los vertederos (legales o ilegales) y las plantas de tratamiento de desechos siguieron como una fuente importante de contaminación del suelo con un 40 %.
- Fuente moderada de contaminación del suelo. En este nivel, se encontraron la construcción de infraestructura como vías, puentes y similares; y las emisiones del transporte con un 70 %, así como botaderos (legales o ilegales) y plantas de tratamiento de residuos con 60 %. Las actividades industriales y de extracción, el procesamiento de minerales y metales, además de otras actividades relacionadas con el ciclo de vida de minerales y metales, se clasificaron en un 50 %.
- Fuente menor de contaminación del suelo. Como una fuente menor de contaminación del suelo se encontraron los sitios militares (pruebas de tiro, áreas de pruebas de armas) y uso de combustibles con plomo.
- No presencia de contaminación del suelo. Para el nivel de contaminación no presente en la región se incluyen las plantas nucleares y las zonas de guerra, ya que estas no se presentan como en otras regiones del planeta.

Figura 2. Actividades más contaminantes del suelo en América Latina y el Caribe



Fuente: elaboración propia a partir de la información de FAO (2019).

Estos hallazgos se encuentran en consonancia con Pla Sentís (2006), quien en el X Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo indicó que la degradación del suelo en América Latina se encontraba asociada principalmente a la intensificación agrícola, la cual estaba aumentando, y que la combinación de múltiples actividades incrementaba el proceso de degradación. La FAO (2015), en la Asamblea General de las Naciones Unidas, a través de la Oficina Regional para América Latina y el Caribe, señaló que las principales causas de degradación incluían la erosión hídrica, la intensa aplicación de agroquímicos y la extracción de combustibles fósiles. Todo lo anterior concuerda con los hallazgos de la figura 2.

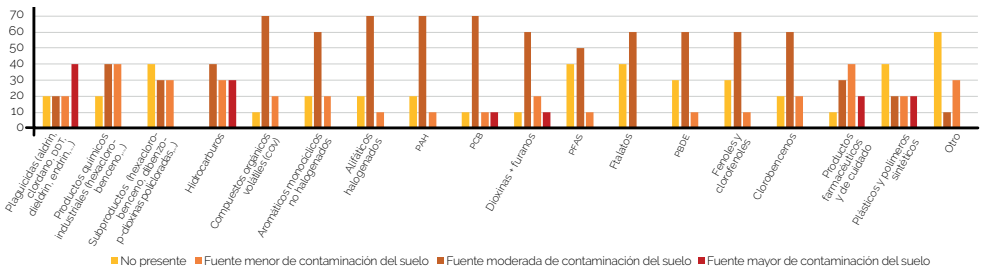
Principales contaminantes del suelo en la región

Para establecer los principales contaminantes del suelo, se realizó la figura 3, que presenta un diagrama de barras comparativas entre los distintos niveles de respuesta para cada una de las sustancias químicas indicadas como potenciales contaminantes del suelo.

- Fuente mayor de contaminación del suelo. Este nivel de respuesta indica que los plaguicidas y los hidrocarburos son los más importantes, con 40 y 30 %, respectivamente; están seguidos de productos farmacéuticos y de cuidado personal, así como plásticos y polímeros sintéticos.
- Fuente moderada de contaminación del suelo. Como contaminantes moderados del suelo, los países señalaron los productos químicos industriales y farmacéuticos en un 4 %, mientras que los medicamentos y los productos de cuidado personal fueron señalados un 40 %.

- Fuente menor de contaminación del suelo. En esta categoría se destacan diversos productos químicos, tales como compuestos alifáticos halogenados, hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH, por sus siglas en inglés), compuestos orgánicos volátiles y bifenilos policlorados (PCB, en inglés).
- No presencia de contaminación del suelo. Se aprecian en esta categoría subproductos químicos de procesos industriales, copolímeros de perfluoroalcoxi (PFA), ftalatos y plásticos, y polímeros sintéticos.

Figura 3. Principales contaminantes del suelo en América Latina y el Caribe



Fuente: elaboración propia a partir de la información de la FAO (2019).

Los resultados anteriores concuerdan con lo observado en la figura 2, donde las actividades más contaminantes del suelo en la región son la agricultura, así como la extracción y transporte de hidrocarburos.

Hidrocarburos como fuente de contaminación del suelo en América Latina y el Caribe

Al observar los resultados obtenidos, se aprecia que los hidrocarburos ocupan el segundo lugar de importancia entre los principales contaminantes del suelo en la región. Lo anterior se debe al hecho de que la zona se caracteriza por poseer importantes reservas comprobadas de petróleo y es así como Index Mundi (2020), en su mapa de información, lo evidencia. En la tabla 1 se aprecian estos datos para los principales países. Lo anteriormente dicho es soporte adicional de lo presentado en la figura 2, ya que en estos países se fortalecen la extracción, el transporte y, en algunos casos, el procesamiento del crudo, lo que genera situaciones de impacto por contaminación al suelo.

Tabla 1. Reservas de petróleo comprobadas en el mundo

País	Reservas comprobadas (millones de barriles)
México	6630
Colombia	1664
Ecuador	8272
Brasil	12629
Argentina	2161

Fuente: Index Mundi (2020).

Debido a lo anterior, y muy particularmente en la región, la extracción y el transporte de petróleo y sus derivados han ocasionado que ciertos fenómenos con impacto en el suelo crezcan y sean un dolor de cabeza para los gobiernos. Es así como México, Venezuela, Brasil, Colombia y Ecuador, entre otros, sufren del hurto de petróleo y del contrabando de la gasolina. Los hidrocarburos se extraen mediante válvulas improvisadas y sin control, lo que termina en derrames no regulados y piscinas que se forman por largos periodos; así el recurso se deteriora y alcanza otros recursos como el hídrico superficial y el subterráneo. La figura 4 muestra el impacto generado por acción del hidrocarburo.

Figura 4. Impacto generado por acción ilegal del hurto de hidrocarburos



Sumado al hurto, en algunos países de la región, hay grupos que, al margen de la ley y como modo de presión al Estado para obtener alguna dádiva, vuelan oleoductos y ocasionan impactos tremendos a los ecosistemas, particularmente al recurso suelo, uno de los más afectados. Solamente en Colombia, en 2019, se presentaron 23 atentados, según Semana (2019), con pérdidas inimaginables. La figura 5 da cuenta de la magnitud de la contaminación del suelo cuando se presentan es-

tos hechos. También es importante mencionar que una situación similar se presenta en casos de accidente en los diferentes países que transportan el crudo.

Figura 5. Imágenes de la contaminación del suelo por hidrocarburos, ocasionada por voladuras y accidentes de la actividad ilícita



Estas situaciones han llevado a los gobiernos a generar normas que controlen el delito. Es así como, por ejemplo, México tuvo que promulgar la Ley Federal para Prevenir y Sancionar los Delitos Cometidos en Materia de Hidrocarburos; por otra parte, Colombia modificó su Código Penal para incluir como delito el apoderamiento de hidrocarburos, sus derivados, biocombustibles o mezclas que los contengan. Sin embargo, cabe destacar que, aunque en materia penal ha habido grandes avances, en materia ambiental han sido muy pocos los esfuerzos. Es de destacar que no se espera que estas afectaciones mengüen, ya que las demandas de hidrocarburos continúan su tendencia creciente y es así como un reporte de la International Association of Oil & Gas Producers (IOGP, 2018) indicó que en América Central y América del Sur la demanda ha crecido cuatro veces desde 1970, al pasar de 2 000 millones de barriles por día (MBPD) a cerca de 8 000 en 2016.

Las estaciones de servicio o expendios de gasolina para automotores, los talleres de mecánica y los cambios de aceite automotor al por menor son otra fuente de contaminación del suelo, cuyos daños aún no son cuantificables. Muchas veces se trata de locales pequeños, sin las medidas adecuadas de protección al suelo y sin un control por parte de las autoridades ambientales. El problema más grande es el número de este tipo de establecimientos, que supera la posibilidad de control. Si esto se aúna a la falta de normatividad al respecto en varios países de la zona, termina fortaleciéndose la contaminación del suelo. Los impactos se generan por derrames incontrolados, limpieza de piezas con solventes y disposición en el suelo. Al respecto, el argentino Santiago Berisso titula muy bien su artículo: "Ojos que no ven, suelo que pasa factura: el pasivo ambiental en las estaciones de servicio". En él indica que estos lugares presentan filtraciones al suelo y

destaca un caso de estudio, en el que se encontró una filtración de hidrocarburos con un nivel de toxicidad diez veces mayor al normal (Berisso, 2020).

Normatividad asociada a contaminación del suelo por hidrocarburos en América Latina

Dentro del estudio realizado por la FAO (2019), se indagó también por la normatividad existente sobre la contaminación del suelo. Se encontró que existen diferentes tipos de políticas ambientales en ellos, generalmente de tipo nacional por orden presidencial o de los ministerios de medioambiente y recursos naturales. Dichas políticas se componen de leyes ambientales de protección nacionales, estrategias ambientales nacionales y planes maestros de manejo de recursos naturales, muestreo e incluso regulación del control fitosanitario. Solo en unos pocos países de la región existen regulaciones específicas sobre la contaminación del suelo y más aún en materia de hidrocarburos.

En relación con lo anterior, México cuenta muy puntualmente con la norma NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012, de la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat), que indica sus límites más altos permisibles de hidrocarburos en suelos y los lineamientos para el muestreo en la caracterización y delimitaciones para la remediación. Costa Rica cuenta con la Ley 7779 de Uso, Manejo y Conservación de Suelos y el Decreto 37.757/S, que es un reglamento sobre valores guía en suelos para la descontaminación de sitios afectados por emergencias ambientales y derrames. Panamá tiene el Decreto Ejecutivo No. 2 de 2009, con el cual se establece la Norma Ambiental de Calidad de Suelos para diversos usos. Brasil cuenta con la Resolución 420/2009, que presenta criterios y valores para guiar la calidad del suelo y detectar la presencia de productos químicos. Perú tiene el Decreto Supremo N°011-2017-MINAM del Ministerio de Ambiente, en el que se aprueban estándares de calidad ambiental (ECA) para el suelo; además, Ecuador y Chile tienen algunas regulaciones específicas sobre contaminación del suelo. Este último cuenta con un listado concreto de actividades potencialmente contaminantes en suelos y una guía de manejo de suelos con posible presencia de contaminantes; se enumeran 104 actividades y se detallan las acciones para la identificación, confirmación y el control de sitios contaminados (Ministerio del Medio Ambiente, 2012). Como puede observarse, específicamente en materia de hidrocarburos, México está a la vanguardia en la región.

Investigación y remediación de suelos contaminados por hidrocarburos en América Latina

El último aspecto analizado fue la investigación y la remediación de suelos contaminados por hidrocarburos en América Latina. En este sentido se destaca que, al revisar la base de datos Web of Science, se insertaron como parámetros de búsqueda:

- Contaminación del suelo en América Latina
- Contaminación de suelos en EUA
- Remediación de suelos contaminados por hidrocarburos
- Remediación de suelos contaminados por hidrocarburos en América Latina

Los resultados se observan gráficamente en la figura 4, donde en el periodo de 1985 a la fecha apenas se han registrado 25 resultados para estudios en América Latina; en comparación con investigaciones similares en Estados Unidos, esto representa tan solo el 5 % de la producción de ese país. Es importante mencionar que esta base de datos es muy consultada y prestigiosa en el ámbito científico, por lo que un número tan bajo indica un descuido por parte de la comunidad científica, en la región, en torno al fomento de publicaciones de este tipo. No se descarta, sin embargo, que no haya muchas más investigaciones; el asunto es que no se visibilizan internacionalmente. Apenas figuran seis países en los 20 años de producción; tres de ellos solo lo hacen con una publicación. El que más publicaciones tiene es Brasil, con seis.

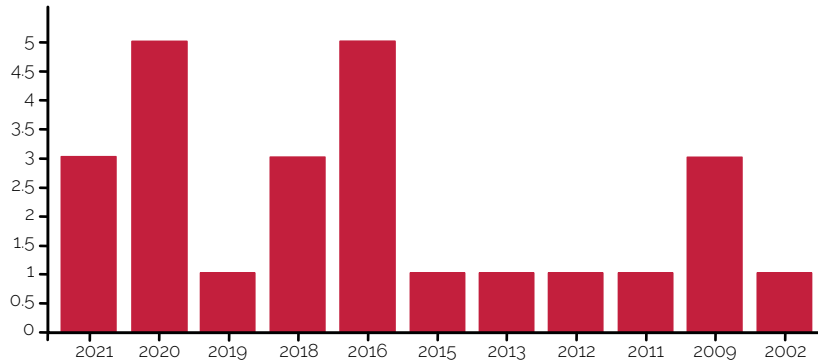
Por otro lado, al utilizar motores de búsqueda se percibe que hay estudios con reportes oficiales en la mayoría de países, dirigidos por la autoridad ambiental gubernamental y que aparecen, por tanto, como reportes técnicos y no como estudios científicos. México se desataca por este tipo de producciones. Lo anterior muestra que deben fortalecerse las alianzas gobierno-academia en este tema en particular para que la información circule y se conozca fácilmente.

También se destaca que, al buscar el tema de remediación de suelos contaminados por hidrocarburos, aparecen 4 130 investigaciones. En ellas se describen técnicas como manejo de tierras, biorremediación, fitorremediación, oxidación química y métodos térmicos. Al buscar "remediación de suelos contaminados por hidrocarburos en América Latina" no aparece ningún resultado; asimismo, como se ha mencionado inicialmente, en la región hay muy pocas investigaciones y la mayoría corresponde a informes técnicos oficiales o documentos no catalogados como publicaciones científicas indexadas. En este orden de ideas, Schmidt (s.f.) indica que la contaminación de suelos en América Latina por hidrocarburos se genera debido a que muchos países de la región son productores de petróleo, y a que su remediación y la prevención de la contaminación, hasta hace poco tiempo, se empezó a tomar en serio, debido a los altos costos que esta genera. El autor indica que la biorremediación se ha utilizado exitosamente en Ecuador, donde, en un caso de estudio, se han llegado a recuperar totalmente 140 000 toneladas de suelo en 30 días. Asimismo, Alba (2011) e Islas-García et al. (2016) han indicado que la efectividad de este tipo de técnicas se encuentra en el orden del 40 al 90 %. Además de lo anterior, se observa, según las respuestas del estudio de la FAO (2019), que hay poco incentivo estatal para investigaciones asociadas, y que la in-

vestigación en general se encuentra dispersa y focalizada principalmente en las universidades.

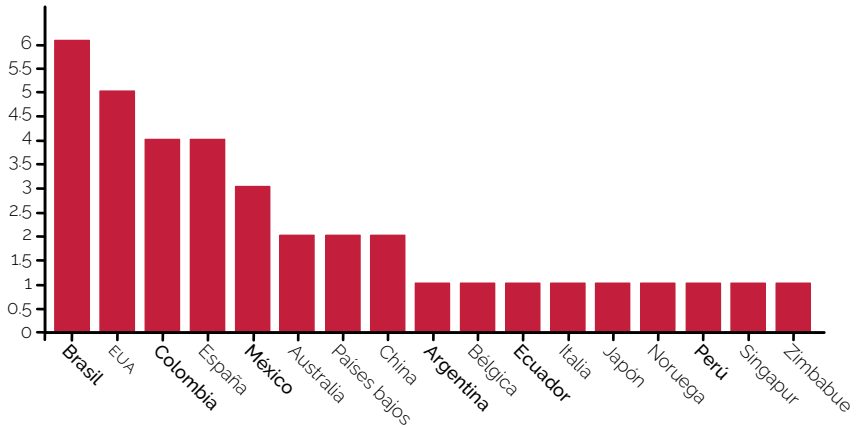
Figura 4. Análisis estadístico de investigaciones relacionadas en Web of Science para contaminación de suelos en América Latina

Parámetro de búsqueda: contaminación del suelo en América Latina



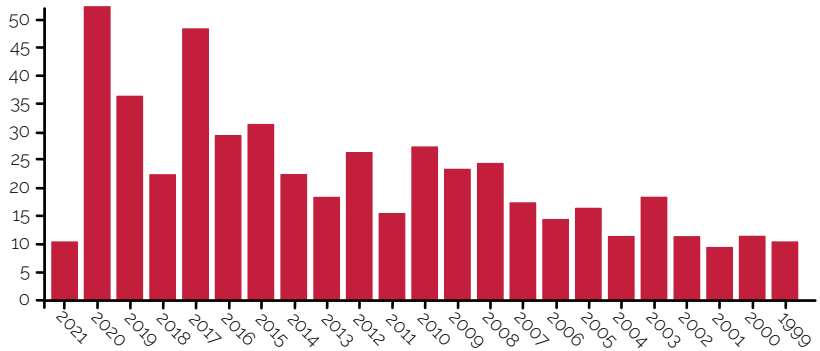
25 resultados en 20 años.

Parámetro de búsqueda: contaminación del suelo en América Latina



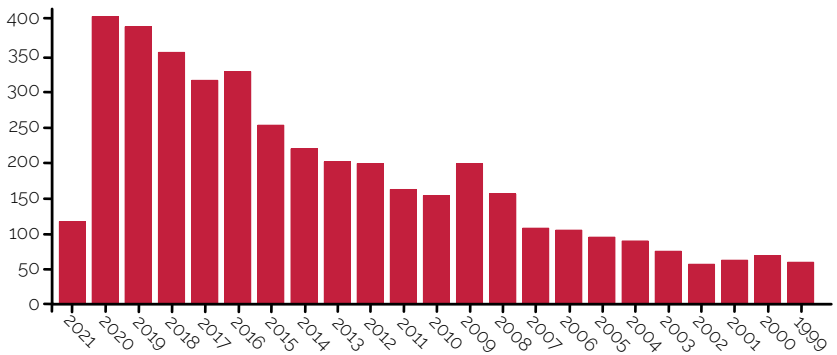
Solo 6 países de la región registran publicaciones; Brasil, con apenas 6 publicaciones en 20 años, es el número uno.

Parámetro de búsqueda: contaminación de suelos EUA



500 resultados en 22 años.

Parámetro de búsqueda: remediación de suelos contaminados por hidrocarburos



4130 resultados en 22 años.

Parámetro de búsqueda: remediación de suelos contaminados por hidrocarburos en América Latina

Ningún resultado

Nota: los resultados proceden de una búsqueda en Web of Science (2021).

Conclusión

La investigación realizada concluye que América Latina tiene un problema de suelos contaminados por hidrocarburos, debido, principalmente, a la extracción y el transporte de petróleo, ya que la zona es catalogada como reserva mundial de este material. Dicha actividad de extracción y transporte de petróleo se ve afectada por

otras como el hurto, los accidentes y las voladuras que han generado procesos de degradación del suelo. Además, otras actividades económicas asociadas, llevadas a cabo en estaciones de servicio, talleres mecánicos y similares, contribuyen a que dicha contaminación aumente debido a la masificación de los establecimientos y al poco control estatal sobre ellos. Se aprecia también que la normatividad en los países acerca del tema es general y prácticamente México es el único país que tiene una norma específica para suelos contaminados por hidrocarburos. Algunos países cuentan con normas para suelos contaminados en general y otros no tienen ningún tipo de norma asociada. Por último, se observa que hay muy poca investigación en torno al tema, y que muy pocos países, entre los que se destaca Brasil, publican en bases de datos tipo Web of Science. Sobresale la biorremediación como técnica en la zona para remediar suelos contaminados, pero hace falta mucha investigación e incentivos para profundizar en este conocimiento.

Agradecimientos

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, proyecto: *Assessment of the global status and regional trends of soil pollution study.*

Referencias

Alba López, G. I. (2011). *Estudio comparativo de tres diferentes métodos de remediación de suelo tipo gleysol contaminado con hidrocarburo.* [Tesis de Maestría, Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica]. Repositorio Cideteq https://cideteq.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1021/221/1/Comparación de la Electrorremediación de Suelo Tipo Gleysol Contaminado con Hidrocarburo con el método de lavado con Tritón X-114 y la Biorremediación con Cultivo Sólido_reees.pdf

Berisso, S. (2020, 9 de diciembre). Ojos que no ven, suelo que pasa factura: el pasivo ambiental en las estaciones de servicio. *Energía Online*. https://www.energiaonline.com.ar/ojos-que-no-ven-suelo-que-pasa-factura-el-pasivo-ambiental-en-las-estaciones-de-servicio/

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2015). Funciones del suelo. http://www.fao.org/3/a-ax374s.pdf

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2019). *Questionnaire. Assessment of the global status and regional trends of soil pollution study*. https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/GSP/docs/Questionnaire_pollution.pdf

Gobierno de México. (2020). ¿Qué son los hidrocarburos? https://www.gob.mx/sener/articulos/que-son-los-hidrocarburos

Index Mundi. (2020). Petróleo - Reservas comprobadas - Mundo. https://www.indexmundi.com/map/?v=97&r=xx&l=es

International Association of Oil & Gas Producers. (2018). *Producción de petróleo y gas en América Central y del Sur*. http://www.iogp.org/bookstore/wp-content/uploads/sites/2/2018/03/GEB-Central-South-America-ESP.pdf

Islas-García, A., Peralta-Rodríguez, M., Vega-Loyo, L., López-Aguilar, R. y Rodríguez Vázquez, R. (2016). Biorremediación por bioestimulación y bioaumentación con microorganismos nativos de un suelo agrícola contaminado con hidrocarburos. *Biotecnología y Sustentabilidad*, *1*(1), 82-85. https://doi.org/10.57737/biotecnologiaysust.v1i1.175

Ministerio del Medio Ambiente. (2012). *Guía metodológica para la gestión de suelos con potencial presencia de contaminantes*. https://sqi.mma.gob.cl/wp-content/uploads/2018/07/g4-Guia-Metodologica-Evaluacion-y-Gestion-de-Riesgo-SPPC.pdf

Pla Sentís, I. (2006, 15-17 de noviembre). *Problemas de degradación de suelos en América Latina: evaluación de causas y efectos* [Ponencia]. X Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo. https://studylib.es/doc/3431366/problema-de-degradaci%C3%B3n-de-suelos-am%C3%Agrica-latina

Rodríguez-Eugenio, N., McLaughlin, M. y Pennock, D. (2018). *Soil pollution: a hidden reality*. Food and Agriculture Organization.

Schmidt, W. (s. f.). *Suelos contaminados con hidrocarburos: la biorremediación como una solución ecológicamente compatible*. http://www.ingenieroambiental.com/3021/Bioremed_Mex2.pdf

Semana. (2019). Voladuras: una cruda arma de guerra. *Semana*. http://especiales.sostenibilidad.semana.com/voladuras-de-oleoductos-en-colombia/index.html

Stolte, J., Tesfai, M., Øygarden, L., Kværnø, S., Keizer, J., Verheijen, F., Panagos, P., Ballabio, Cr. y Hessel, R. (Eds.). (2016). *Soil threats in Europe*. Institute for Environment and Sustainability (Joint Research Centre). https://esdac.jrc.ec.europa.eu/public_path/shared_folder/doc_pub/EUR27607.pdf

Normas jurídicas

Decreto Ejecutivo No. 2 de 2009 por el cual se establece la Norma Ambiental de Calidad de Suelos para diversos usos (Panamá).

Decreto Supremo N°011-2017-MINAM (Perú).

Decreto 37.757/S, Reglamento sobre valores guía en suelos para la descontaminación de sitios afectados por emergencias ambientales y derrames (Costa Rica).

Ley Federal para Prevenir y Sancionar los Delitos Cometidos en Materia de Hidrocarburos (México).

Ley 7779 de Uso, Manejo y Conservación de Suelos (Costa Rica).

NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 (México).

Resolución 420/2009 (Brasil).

Caracterización integral de suelos contaminados con hidrocarburos: más allá de la legislación vigente

Paulina Gómez Flores[*]
Viridiana Velázquez Vázquez[**]
Nancy Velasco Álvarez[*]
Víctor Sánchez Vázquez[***]
Adriana Gómez Santos[*]
Tania Volke Sepúlveda[*]
Ignacio González Martínez[****]
Mercedes Oropeza Guzmán[*****]

Resumen

Abordar la contaminación de suelos por hidrocarburos, desde una perspectiva combinada entre la biotecnología y la biogeoquímica, es una alternativa oportuna para fundamentar y mejorar los procesos de remediación. Un grupo multidisciplinario de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa ha dedicado su trabajo de investigación de los últimos 20 años al estudio de las características clave por considerar para la remediación de un sitio contaminado por hidrocarburos. Sus principales aportaciones se centran en el mejoramiento continuo de las estrategias de caracterización de sitios contaminados, especialmente los pasivos ambientales, que han complementado con técnicas adicionales a las establecidas por la legislación ambiental en México. Lo anterior es resultado de la necesidad de conocer acerca del destino ambiental de los hidrocarburos que contaminan suelos de diferentes tipos. Entre las técnicas antes mencionadas destacan la cuantificación de microorganismos hidrocarbonoclastas, la determinación de la textura y composición del suelo, así como la modelación del transporte de los contaminantes.

[*] Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México. apgf@xanum.uam.mx; viridiana.velazquez@ujat.mx

[**] División Académica de Ingeniería y Arquitectura. Academia de Ingeniería Química, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México.

[***] Departamento de Ingeniería de Procesos e Hidráulica, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México.

[****] Departamento de Química, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México.

[*****] Posgrado en Ciencias de la Ingeniería. Tecnológico Nacional de México / Instituto Tecnológico de Tijuana, Unidad Otay, México.

El diseño de una estrategia integral de caracterización es clave para la selección de tratamientos de remediación adecuados para cada sitio y para cada tipo de contaminante. Con este propósito, es importante la evaluación biogeoquímica del suelo, así como del impacto y destino ambiental de los contaminantes. Mientras el alcance del efecto ambiental se centra en el grado de modificación de un suelo y su entorno, el destino ambiental refleja los resultados que pueden esperarse de un trabajo de remediación, con base en las características de los contaminantes y del suelo. Ambas consideraciones permiten proponer tanto el destino como el uso que podrá tener el suelo remediado. En este capítulo, se presenta el estado del arte de la normatividad mexicana en materia de suelos contaminados, y se hace una descripción de análisis complementarios a la caracterización que no están considerados en la legislación vigente. Además, se propone una estrategia integral de caracterización basada en las experiencias del grupo de investigación y en el estudio de diversos sitios contaminados; en ella se aplican técnicas que complementan a las establecidas por la legislación mexicana vigente y se lleva a cabo una prospectiva de la remediación de suelos.

Palabras clave

Caracterización de suelo, interacciones suelo-hidrocarburo, sitios contaminados, biogeoquímica, legislación ambiental, estrategias de remediación.

Estado del arte de la legislación mexicana referente a suelos contaminados con hidrocarburos

La historia del continente americano está completamente ligada a la explotación de yacimientos de petróleo que, si bien, es la principal fuente de riqueza para los países, también es el origen de la degradación ambiental ocasionada por la contaminación de suelos con hidrocarburos. En cuanto al marco normativo que regula esta problemática, México ha evolucionado lentamente. En 1971, por primera vez, se tomaron en cuenta aspectos ambientales en la legislación federal con la promulgación de la Ley Federal para Prevenir y Controlar la Contaminación (LFPCC), haciendo referencia específica a descargas de contaminantes en suelos. En 1982 se realizaron reformas a la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos para sentar las bases de una política de protección ambiental mediante la promulgación de la Ley Federal de Protección al Ambiente (LFPA). A finales de los años 80, se publicó la Ley General de Equilibrio Ecológico y la Protección

al Ambiente (LGEEPA), la cual establecía que los responsables de realizar obras o actividades que afectaran el medioambiente estaban obligados a minimizar y reparar los daños ocasionados mediante las acciones necesarias para reestablecer las condiciones de los sitios contaminados.

La LGEEPA dio paso a la reforma de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos en 1999, con la adición al artículo 4.º, en el que se declara:

> Toda persona tiene derecho a un medioambiente sano para su desarrollo y bienestar. El Estado garantizará el respeto a este derecho. El daño y deterioro ambiental generará responsabilidad para quien lo provoque en términos de lo dispuesto por la ley.

La promulgación de este artículo tuvo dos consecuencias importantes: (i) la firma del Convenio de Estocolmo en 2001, con la que México se unió a la comunidad internacional en un esfuerzo por proteger la salud humana y el medioambiente frente a los contaminantes orgánicos persistentes (COP); y (ii) la publicación de la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos (LGPGIR) y de su reglamento, en 2004 y 2006, respectivamente, donde se fundamentaron las bases para la gestión de sitios contaminados. En estos documentos se especifican las obligaciones de los responsables y los propietarios de sitios sobre la contaminación y la categorización de estos, así como su remediación, y la coordinación con otras dependencias.

Prácticamente de manera paralela con el Convenio de Estocolmo, surgió en 2002 la NOM-EM-138-ECOL-2002, Norma Oficial Mexicana de Emergencia, que Establece los Límites Máximos Permisibles de Contaminación en Suelos Afectados por Hidrocarburos, la Caracterización del Sitio y Procedimientos para la Restauración. Dicha norma tuvo como marco la LGEEPA y su reglamento en materia de residuos peligrosos. En 2005, la norma dejó de ser de emergencia, para dar paso a la NOM-138-SEMARNAT/SS-2003, cuya denominación cambió a "Límites Máximos Permisibles de Hidrocarburos en Suelo y las Especificaciones para su Caracterización y Remediación". Es importante destacar que en esta norma los métodos analíticos para la determinación de hidrocarburos en el suelo ya se incluyeron en un anexo.

Actualmente, las normas vigentes son la NOM-021-SEMARNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, y la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012, Límites Máximos Permisibles de Hidrocarburos en Suelos y Lineamientos para el Muestreo en la Caracterización y Especificaciones para la Remediación, que remite a cinco normas mexicanas para la extracción y determinación de los distintos tipos de hidrocarburos, así como para la clasificación de suelos.[1]

[1] Dichas normas son las siguientes: NMX-AA-134-SCFI-2006. Suelos – Hidrocarburos fracción pesada por extracción y gravimetría – Método de prueba; NMX-AA-141-SCFI-2007. Suelos – Benceno, tolueno, etilbenceno y xi-

El 11 de agosto de 2014, en el *Diario Oficial de la Federación*, se publicó la Ley de la Agencia Nacional de Seguridad Industrial y de Protección al Medio Ambiente del Sector Hidrocarburos. Es una ley de orden público y de interés general aplicable tanto en todo el territorio nacional como en zonas en las que la nación ejerce soberanía o jurisdicción, y tiene como objetivo crear la Agencia Nacional de Seguridad Industrial y de Protección al Medio Ambiente del Sector Hidrocarburos, como un órgano administrativo desconcentrado de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat), con autonomía técnica y de gestión.

Finalmente, el documento más reciente referente a legislación mexicana en el tema de suelos y tratamientos de remediación es de la Agencia de Seguridad, Energía y Ambiente (ASEA), que regula y supervisa la seguridad industrial, seguridad operativa y protección al ambiente respecto de las actividades del sector hidrocarburos. La ASEA nació el 2 de marzo de 2015 y tiene como finalidad la protección de las personas, del medioambiente y de las instalaciones del sector hidrocarburos por medio de la regulación y la supervisión de i) la seguridad industrial y la seguridad operativa; ii) las actividades de desmantelamiento y abandono de instalaciones, y iii) el control integral de los residuos y las emisiones contaminantes.

Considerando lo arriba descrito, en la siguiente sección se presentan dos denominaciones importantes en lo que respecta a suelos contaminados con hidrocarburos, así como la caracterización que recomienda la legislación ambiental en México.

La importancia de una caracterización confiable y apegada a la normatividad vigente

Para realizar la caracterización de un sitio, antes que nada, debe considerarse si se trata de una emergencia ambiental o de un pasivo ambiental. La diferencia radica en el tiempo que transcurre entre el suceso que provoca la contaminación y la atención del problema. Así, una emergencia es un derrame súbito accidental en la que sí se llevan a cabo medidas de atención inmediata (atención a la emergencia ambiental); mientras que un pasivo ambiental puede ser un derrame súbito accidental, o bien un derrame, fuga o mal manejo de materiales y residuos peligrosos a lo largo del tiempo, ninguno de los cuales ha recibido medidas de aten-

lenos (BTEX) por cromatografía de gases con detectores de espectrometría de masas y fotoionización – Método de prueba; NMX-AA-105-SCFI-2008. Suelos – Hidrocarburos fracción ligera por cromatografía de gases con detectores de ionización de flama o espectrometría de masas; NMX-AA-145-SCFI-2008. Suelos – Hidrocarburos fracción media por cromatografía de gases con detector de ionización de flama – Método de prueba; y NMX-AA-146-SCFI-2008. Suelos – Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) por cromatografía de gases/espectrometría de masas (cg/em) o cromatografía de líquidos de alta resolución con detectores de fluorescencia y ultravioleta visible (UV-VIS) – Método de prueba.

ción inmediata. A partir de estas denominaciones, a continuación, se presentan los procedimientos recomendados para una adecuada caracterización del sitio, dependiendo del tipo de situación.

Con base en los artículos 135.º y 138.º del Reglamento de la LGPGIR se realiza la planeación del estudio de caracterización, seguida de la planeación del muestreo según el área contaminada y el contaminante. Con este documento se ejecuta el muestreo y se envían las muestras para análisis químicos a un laboratorio acreditado en normas mexicanas de procedimiento (NMX). Con la recopilación de todos los datos se realiza el informe final de la caracterización que contiene los elementos representados en la figura 1.

Con base en los artículos 136.º, 138.º y 139.º del Reglamento de la LGPGIR, se realizan las mismas actividades que para el caso de las emergencias ambientales; así mismo incluye seis aspectos adicionales (figura 1). Estos aspectos tienen por objeto tomar en cuenta el historial del sitio y sus implicaciones en las características del suelo. Al contar con los antecedentes mencionados, la propuesta de remediación intenta ser más certera y enfocada en las condiciones reales del sitio.

En algunos casos, debido al tipo de contaminante, su alta concentración, su tiempo de residencia en el sitio, así como a las características fisicoquímicas del suelo y del sitio, no es posible cumplir con los límites permisibles establecidos en la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012, por lo que es necesario llevar a cabo la evaluación de riesgo ambiental (ERA), según lo dictan los artículos 136.º, 140.º, 141.º y 142.º del Reglamento de la LGPGIR (figura 1).

Como se muestra, la legislación mexicana ha evolucionado; sin embargo, aún quedan aspectos por considerar que pueden cambiar radicalmente los resultados esperados en un tratamiento de remediación. Es aquí donde la experiencia del grupo de investigación de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, dedicado al estudio de sitios contaminados, inició sus aportaciones para un mejor diagnóstico de la contaminación y un plan de remediación que considera el destino ambiental de los contaminantes después del tratamiento de remediación.

Caracterización complementaria no considerada en la legislación vigente

En el artículo 138.º del Reglamento de la LGPGIR, se establece que los estudios de caracterización de un sitio contaminado deben contener, entre otros, "los resultados de las determinaciones analíticas de los contaminantes en las muestras de suelos y, en su caso, los de los análisis y pruebas químicas, así como los de las pruebas físicas, biológicas y mecánicas practicadas a las mismas". Sin embargo,

Figura 1. Descripción de las actividades involucradas en la caracterización de un sitio en función de su origen y tiempo de la contaminación

Emergencia ambiental	Pasivo ambiental
Derrame súbito atendido inmediatamente	Derrame accidental, fuga o mal manejo de materiales y residuos peligrosos a lo largo del tiempo, sin medidas de atención inmediatas
Arts. 135.º y 138.º del Reglamento de la LGPGIR	Arts. 136.º 138.º y 139.º del Reglamento de la LGPGIR
1. Planeación del muestreo 2. Muestreo 3. Envío de muestras a un laboratorio certificado 4. Informe final a) Ubicación, descripción y uso actual del sitio contaminado. Planos b) Tipo de contaminante, cantidad aproximada de derrame c) Área y volumen del suelo dañado d) Plan de muestreo e) Resultados fisicoquímicos, mecánicos y biológicos f) Memoria fotográfica g) Propuesta de remediación	1. Antecedentes 2. Descripción de la metodología de campo y de laboratorio 3. Descripción de las condiciones geológicas, geohidrológicas e hidrológicas obtenidas en el muestreo 4. Descripción de las condiciones climáticas y físicas que afecten el comportamiento de los contaminantes 5. Determinación de la distribución y el comportamiento de los contaminantes en el suelo, el subsuelo y en los acuíferos con base en los resultados obtenidos 6. Propuesta de remediación

En algunos casos, debido a
- altas concentraciones y tipo de contaminantes,
- características fisicoquímicas del suelo,
- tiempo de residencia del contaminante en el sitio y las características del sitio.

No es posible cumplir con los límites permisibles de la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012, por lo que es necesario llevar a cabo la evaluación de riesgo ambiental (ERA).

Estudios de evaluación de riesgo ambiental
Definen si la contaminación existente en un sitio representa un riesgo tanto para el medioambiente como para la salud humana

1. Definición del problema
2. Determinación de contaminantes críticos
3. Determinación de exposición y dispersión de los contaminantes
4. Determinación de la movilidad de los contaminantes
5. Puntos de exposición
6. Rutas y vías de exposición, presentes y futuras, completas e incompletas
7. Categoría de las rutas
8. Componentes del ecosistema
9. Toxicidad y exposición de los contaminantes
10. Evaluación de la información para la determinación del riesgo
11. Representación gráfica
12. Propuesta de remediación

además de la cuantificación de hidrocarburos, no se especifica qué otros análisis deben incluirse en la caracterización. Así, con el fin de proponer alternativas adecuadas para cada sitio particular, se fueron incorporando nuevos estudios para la caracterización de sitios contaminados que, hasta ese momento, no se incluían en la legislación ambiental. Es así como complementar el diagnóstico con estudios adicionales permite proponer métodos de remediación adecuados para cada sitio, considerando el comportamiento de los hidrocarburos en el tiempo. Es decir, existe una serie de propiedades intrínsecas e interrelacionadas entre sí que puede identificarse al estudiar el comportamiento biofisicoquímico de los hidrocarburos en un suelo, además de su transporte a través de diferentes interfases, el cual da origen a los cambios dinámicos de concentración. A continuación, se presenta una breve descripción de algunos de los estudios complementarios recomendados para la caracterización integral de un sitio contaminado.

Levantamiento topográfico

Estos estudios son útiles para evaluar las características físicas y geográficas del terreno, así como sus variaciones y alteraciones, y para delimitar la extensión de las áreas afectadas. Adicionalmente, permiten demarcar escurrimientos, puntos de concentración de derrames, colindancia con embalses, lagunas y vasos artificiales. Entre los resultados generados, se obtienen las dimensiones y características tridimensionales de la zona afectada, a través de mediciones de distancia, dirección y elevación por el método de radiación topográfica. Estas mediciones son útiles para estimar el área-volumen de la zona dañada y otros parámetros para la preparación de mapas y diagramas; estos incluyen instalaciones involucradas, señalamientos, accesos, colindancias, elevaciones y desniveles, puntos de referencia, pozos de muestreo y plumas contaminantes.

Caracterización geofísica

Es otro elemento importante para considerar, sobre todo antes de la perforación de pozos de muestreo. Con este procedimiento puede detectarse la presencia de hidrocarburos e instalaciones subterráneas como ductos, tuberías, drenaje, tendido eléctrico y cuerpos de agua. Para este estudio, comúnmente se usa el método geofísico-eléctrico mediante dos técnicas complementarias: (1) radar de penetración terrestre (RPT) y (2) tomografía de resistividad eléctrica (TRE). El método de RPT consiste en la emisión de pulsos electromagnéticos de baja frecuencia (10 MHz–2.5 GHz) que se realiza hacia el subsuelo a partir de ondas de radar, las cuales se pueden propagar a través de medios poco conductivos y son reflejadas hacia la superficie por discontinuidades en el material. Dichas ondas son detectadas por una antena receptora y, dependiendo del tiempo y de la intensidad, pueden de-

terminarse las características del terreno. El resultado es una imagen del subsuelo en alta resolución que permite tanto identificar elementos singulares como caracterizar el entorno. A partir de este método pueden determinarse con claridad la profundidad, la estratigrafía del suelo y de la roca, la presencia de fracturas y cavidades, así como el nivel de mantos freáticos y la ubicación de servicios enterrados. Por otro lado, la TRE consiste en determinar la resistividad del suelo al aplicar una corriente eléctrica (Castro et al., 2003). Los hidrocarburos son naturalmente resistentes a dicha corriente, por lo que, si el suelo se encuentra impregnado con estos contaminantes se crearán contrastes de resistividad, lo cual permite detectar las zonas limpias de aquellas que están afectadas (Sauck, 2000). La resistividad es sensible a diferentes factores del derrame, entre los más importantes, a su antigüedad (Castro et al., 2003).

La presencia de contaminantes, particularmente hidrocarburos, altera la resistividad eléctrica y se produce un contraste de resistividades entre las zonas limpias y las contaminadas (Sauck, 2000). Esta diferencia depende, entre otros factores, de la antigüedad del derrame. Por ello, lo anterior es el resultado de la pérdida de compuestos volátiles con el tiempo. Permanecen los más difíciles de biodegradar debido a su estabilidad. Los suelos recientemente contaminados presentan valores altos de resistividad, al contrario de los sitios contaminados por largos periodos (Atekwana et al., 2000). A partir de los resultados de ambas técnicas geofísicas, se puede detectar la presencia de hidrocarburos en el suelo, por lo que puede determinarse su ubicación, edad y la extensión de la pluma de contaminación. Estas técnicas son aplicables en la mayoría de las situaciones, debido a que brindan gran cantidad de información, son métodos no invasivos y permiten su caracterización en tiempo real.

Determinación de compuestos orgánicos volátiles (COV)

La determinación de COV es una medida útil, dado que muchos compuestos del petróleo y sus derivados son altamente volátiles y no permanecen mucho tiempo en el suelo. Este análisis permite detectar, de forma indirecta, la presencia de hidrocarburos en el subsuelo. El análisis puede realizarse en campo mediante detectores de fotoionización (PID, por sus siglas en inglés) portátiles. Los PID detectan un amplio intervalo de concentraciones de COV tan pequeñas como 0.1 ppm, de hidrocarburos clorados, aromáticos (benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos) y lineales (saturados e insaturados), además de cetonas, aldehídos, aminas, amidas, compuestos azufrados, alcoholes y algunos compuestos inorgánicos. La presencia de COV en el subsuelo se analiza en profundidades de 0.15 a 1.0 m, tomando lecturas directas en los pozos perforados (gasometría); estos resultados respaldan la ubicación de dichos pozos para la toma de muestras durante la caracterización.

Simulación del transporte de contaminantes en el suelo

Durante el desarrollo de métodos y técnicas para realizar caracterizaciones más completas, se han utilizado paquetes computacionales como Bioplume III, que resuelve en 2D las ecuaciones de transporte en un medio saturado. Aunque este programa ha proporcionado resultados precisos en tiempo y espacio, no es una opción que se ajuste a la física de un suelo contaminado (considerado como un sistema multifásico, no saturado). Una opción versátil es el uso de programas basados en paquetes multifísicos, por ejemplo, Ansys Fluent o Comsol Multiphysics, dos paquetes que resuelven modelos tridimensionales capaces de importar los datos topográficos desde algún sistema de información geográfica (GIS, por sus siglas en inglés) para tener un elemento de volumen aproximado a la realidad, con el que se resuelvan las ecuaciones de variación. La mayor ventaja de usar estos paquetes multifísicos son los métodos de solución de ecuaciones diferenciales parciales. Estos resuelven por el método de elemento finito y dejan abierto el acceso al usuario para que disgregue los modelos y aplique funciones espaciotemporales para cada variable involucrada en los fenómenos por modelar; tal es el caso de las propiedades geológicas y geohidrológicas. Por otro lado, las condiciones de frontera pueden establecerse relacionando fenómenos multifísicos (transporte, sorción y degradación de contaminantes, con cualquier tipo de cinética basada en los mecanismos de degradación); así, aumentan los alcances y la precisión del modelado. Todo lo anterior se ancla a un modelo hidrodinámico basado en un medio poroso no saturado, por ejemplo, el modelo de Richards (1931).

Los fenómenos que se consideran para predecir el movimiento de los contaminantes en el subsuelo a lo largo del tiempo incluyen el transporte convectivo, la dispersión hidrodinámica, la dilución de fluidos, además de la advección, dispersión y sorción en zonas saturadas y no saturadas. A pesar de que en la solución de los modelos se idealizan las condiciones de operación, las predicciones son suficientemente valiosas y precisas para apoyar la toma de decisiones en cuanto a una propuesta de remediación.

Por tanto, la integración de los métodos anteriores, junto con la determinación de las propiedades del suelo (descritas a través de datos experimentales) —que incluyen propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y mineralógicas específicas (Burt, 2011)— permiten predecir el comportamiento de los contaminantes en un sitio. Es decir, esta serie de estudios, en conjunto, deben ser una pauta para replantear algunas estrategias relacionadas con el análisis de los hidrocarburos y con las propuestas de remediación de los sitios contaminados.

Caracterización ambiental y biogeoquímica como base para proponer un tratamiento de remediación de sitios contaminados con hidrocarburos

¿Es conveniente aplicar un tratamiento de remediación?, ¿qué tratamiento de remediación es más recomendable?, ¿qué estrategia es la más adecuada?, ¿cómo definir los objetivos de remediación? Estas son algunas de las preguntas que surgen cuando se quiere remediar un sitio contaminado con hidrocarburos. En este sentido, y como se mencionó, los estudios de caracterización y las predicciones acerca de la distribución de los hidrocarburos contaminantes brindan información general sobre la situación del sitio. Adicionalmente, complementar la caracterización con información sobre el estado actual y futuro de los contaminantes en el suelo representa un paso adelante, si se considera que los procesos biogeoquímicos ambientales son los que determinan su destino. Esta descripción del estado de los contaminantes se denomina *destino ambiental*, y conocerlo facilitaría la toma de decisiones a corto y largo plazo.

Los estudios vigentes de caracterización (Flores et al., 2006) ofrecen información cuantitativa sobre el suelo contaminado y sobre los contaminantes presentes en el sitio. Utilizar estos datos facilitaría inferir el destino ambiental de los hidrocarburos, ya que este depende de las características biogeoquímicas del sitio y de su historial de contaminación. Una primera aproximación para incluir el destino ambiental de hidrocarburos en suelos sería considerarlos como biodisponibles o secuestrados. Los hidrocarburos biodisponibles forman interacciones débiles con el suelo, lo que facilita su contacto con receptores biológicos, y ocasiona efectos tóxicos y su aprovechamiento como fuente de energía (Reid et al., 2000). De manera contraria, los hidrocarburos secuestrados forman interacciones fuertes con los componentes del suelo que dependen de los mismos parámetros, lo que ocasiona que sean inaccesibles para los organismos y que no puedan extraerse (Pan et al., 2008; Schäffer et al., 2018).

Con base en lo anterior, se propone como una herramienta de caracterización el uso de una estrategia integral que incluya la determinación del destino ambiental para facilitar la toma de decisiones sobre estrategias de remediación en sitios contaminados con hidrocarburos.

Estrategia integral de caracterización

La estrategia integral de caracterización incluye una matriz de decisiones con criterios ponderados y un diagrama de decisión que, en conjunto, permiten generar un diagnóstico de contaminación más sólido y un mejor plan de remediación. El diseño y el uso de ambas herramientas se describen a continuación.

Matriz de decisiones

La matriz pretende servir como una herramienta predictiva que facilitará la selección de un tratamiento de remediación, dependiendo del destino ambiental de los contaminantes. Algunos de los criterios seleccionados para integrar la matriz de decisiones provienen de los estudios de caracterización, sugeridos en la legislación vigente, entre los cuales se encuentran el contenido total de materia orgánica y la clase textural del suelo, así como el grado de intemperización del sitio. Además, se propone hacer uso de criterios más específicos, como el tipo de arcillas y el grado de humificación del suelo, que no están integrados en las técnicas de caracterización tradicionales, pero que aportan información importante sobre el destino de los contaminantes.

I. Criterios

El conjunto de los criterios ponderados que integran esta propuesta funciona como una herramienta predictiva para el destino ambiental de los contaminantes. Mediante ella, se puede inferir qué tan biodisponibles o secuestrados se encontrarán durante los estudios previos a la propuesta de remediación de un sitio contaminado. A continuación, se detalla la influencia de cada uno de los criterios seleccionados para conformar la matriz de decisión sobre el destino ambiental de los contaminantes.

a) Materia orgánica

Los contaminantes orgánicos de baja polaridad como los hidrocarburos presentan gran afinidad por la materia orgánica del suelo. Dicha afinidad está mediada, principalmente, tanto por mecanismos de partición —en los que la materia orgánica actúa como un "solvente" donde los hidrocarburos se "disuelven"— como por mecanismos de adsorción —en los que los hidrocarburos forman uniones fuertes con la superficie de la materia orgánica adentro o afuera de los poros del suelo— (Ehlers y Loibner, 2006). El impacto de estos mecanismos sobre el destino ambiental de los hidrocarburos depende del contenido total de carbono orgánico en el suelo y de su naturaleza. Los suelos con altos contenidos de materia orgánica forman ambientes hidrofóbicos que funcionan como sumideros de hidrocarburos; a su vez, la composición de la materia orgánica controla la magnitud de las interacciones que se desarrollan en estos sumideros (Ukalska-Jaruga y Smreczak, 2020). La materia orgánica se compone de una mezcla muy variada de macromoléculas y compuestos en distintos estados de descomposición que dan lugar a las sustancias húmicas (ácidos fúlvicos, húmicos y huminas) (Huang et al., 2003). Estas sustancias húmicas están formadas, principalmente, de cadenas alifáticas y anillos aromáticos, que difieren en peso molecular, grado de polimerización y cantidad de grupos funcionales, lo que les proporciona características reactivas individuales (Keiluweit y Kleber, 2009).

De acuerdo con lo anterior, la materia orgánica del suelo funciona como un adsorbente que modifica el destino ambiental de los hidrocarburos al controlar su biodisponibilidad y secuestro por medio de mecanismos dependientes de la cantidad total de materia orgánica y sus características químicas.

b) Textura

La clase textural de un suelo depende de las partículas que lo componen. De manera general, los suelos están compuestos por partículas muy pequeñas (< 2 µm), con las propiedades coloidales de las arcillas, y por partículas de arena con tamaños relativamente mayores (> 50 µm). De acuerdo con su textura, los suelos presentan propiedades físicas y químicas independientes, entre las que destacan la permeabilidad, la capacidad de intercambio catiónico y el área superficial. Las arcillas son las partículas sólidas que ejercen mayor influencia sobre estas propiedades, ya que algunas de ellas tienen una arquitectura laminar, y debido a que, cuando se mojan, presentan una superficie con exceso de carga eléctrica (Berkowitz et al., 2014). El exceso de carga superficial de las arcillas húmedas favorece la formación de uniones con los hidrocarburos mediante fuerzas de Van der Waals. Por otra parte, la estructura laminar de las arcillas favorece la conformación de una estructura en red donde el transporte difusivo de los hidrocarburos se modifica (Schoonheydt y Johnston, 2018). Estas características químicas hacen de las arcillas materiales altamente reactivos y dinámicos, con la capacidad de intercambiar materiales orgánicos e inorgánicos en su ambiente (McAllister y Semple, 2010). Algunas arcillas, como el grupo de las esmectitas, tienen la capacidad de expandir sus espacios interlaminares dependiendo de las condiciones ambientales, lo que les permite almacenar una gran cantidad de sustancias con diferentes características químicas (Lambert, 2018).

De acuerdo con lo anterior, la clase textural tiene gran influencia en el destino ambiental de hidrocarburos en suelos. Las arcillas son los materiales minerales que controlan la biodisponibilidad y el secuestro de estos contaminantes en suelos, ya que incrementan el área superficial e interactúan superficialmente con los hidrocarburos. La influencia de las arcillas es consecuencia de su contenido total, sus propiedades fisicoquímicas y sus propiedades estructurales.

c) Tipo de contaminante

Los hidrocarburos son un grupo muy variado de moléculas formadas por átomos de carbono e hidrógeno. Una manera para clasificarlos es por medio de los átomos de carbono que los conforman. Los hidrocarburos totales del petróleo (HTP) tienen una fracción pesada (C28 a C40), una fracción media (C10 a C28) y una fracción ligera (C5 a C10). Además, dentro de los hidrocarburos del petróleo, podemos encontrar COV e hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), ya sea como componentes o productos (ver tabla 1).

Cuando ocurre un evento de contaminación, los hidrocarburos invaden el aire, el agua y el suelo, por lo que su dispersión está ligada a las características químicas del contaminante y la magnitud del evento de contaminación. Una vez en el medioambiente, algunos COV se volatilizan, mientras que los compuestos con pesos moleculares mayores forman una fase líquida no acuosa que se mueve a través del suelo por gravedad y capilaridad, hasta alcanzar el agua subterránea.

Tabla 1. Ejemplos de hidrocarburos de acuerdo con su clasificación

Fracción pesada	Fracción media	HAP	Fracción ligera	COV
Mezclas	Gasóleo	Naftaleno	Gas avión	Benceno
Petróleo crudo	Diésel	Fenantreno	Gas solvente	Tolueno
Combustóleo	Turbosina	Pireno	Gasolinas	Etilbenceno
Petrolatos	Queroseno	Benzo(b)fluoranteno	Gas nafta	Xileno
Aceites	Creosota	Benzo(g,h,i)perileno		

Entonces, la dispersión de los hidrocarburos en el medioambiente y su destino ambiental están íntimamente ligados con sus características químicas. Mientras que los hidrocarburos volátiles tienden a liberarse en forma de vapores, los contaminantes más pesados formarán interacciones de distintas magnitudes con los componentes del suelo, que se verán reflejadas en distintos niveles de secuestro y biodisponibilidad.

d) Intemperización

La intemperización es un proceso dependiente del tiempo, en el que gradualmente se modifican las interacciones entre un suelo y los contaminantes a los que esté expuesto. Este proceso es inevitable, comienza desde los primeros momentos del evento de contaminación y puede extenderse en el tiempo mientras el sitio contaminado no sea atendido (Hatzinger y Alexander, 1995). La consecuencia más importante de la intemperización es la modificación del destino ambiental de los hidrocarburos por la disminución de su biodisponibilidad y un incremento en su secuestro (Alexander, 2000). La magnitud del secuestro tiene una dependencia sinérgica entre el tiempo de contacto; las características del suelo; las características y la concentración inicial de los contaminantes; así como las condiciones y los eventos ambientales.

II. Ponderación

Considerando las relaciones sinérgicas entre los criterios cuantitativos y cualitativos previamente descritos, se presenta una matriz de decisión con criterios ponderados para inferir sobre el destino ambiental de los hidrocarburos en un suelo contaminado.

La matriz de decisión está conformada por un grupo de siete criterios, a cada uno de los cuales se asoció un intervalo de referencia (tabla 2). Este intervalo se dividió en niveles de acuerdo con clasificaciones establecidas en normas oficiales mexicanas o en la literatura. A cada nivel de referencia se le asignó un valor de ponderación entre 1 y 10: con 1 se indica una menor influencia sobre la retención de hidrocarburos en suelos, mientras que 10 es la ponderación que indica una mayor influencia sobre la retención de hidrocarburos en suelos.

Una vez que se lleva a cabo la caracterización de un sitio contaminado, la información obtenida se utilizará para asignar una calificación al suelo. Dicha calificación corresponderá a la suma de los puntos obtenidos para cada criterio, dependiendo del nivel en el que se encuentren dentro de los intervalos de referencia y la ponderación de cada uno. La calificación representa el destino ambiental de los hidrocarburos: calificaciones menores o iguales a 35 representan escenarios donde los hidrocarburos podrían encontrarse biodisponibles; calificaciones mayores a 35 representan escenarios donde los hidrocarburos podrían encontrarse secuestrados.

Aunque en esta propuesta no se contempla la cuantificación ni la extracción de hidrocarburos secuestrados, se considera conveniente incluirlos en la normatividad.

Tabla 2. Matriz de decisión con criterios ponderados para definir la capacidad de secuestro de hidrocarburos de un suelo contaminado

Referencia	Criterio	Intervalo de referencia	Ponderación	Calificación
NOM-021-RECNAT-2000.	Contenido de MO (%)	0 - 1.5	1	La calificación representa la sumatoria de las ponderaciones asignadas con base en los resultados cuantitativos de la caracterización.
		1.6 - 3.5	5	
		> 3.6	10	
Dell'Abate et al. (1998); Ohno et al. (2007); Putra et al. (2016).	Grado de humificación (HA/FA)	< 1	1	
		1	5	
		> 1	10	
USDA (2017); Umeh et al (2018).	Clase textural	< 20 % de arcillas	1	
		20 - 35 % de arcillas	5	
		> 35 % de arcillas	10	

(*Continúa*)

Lambert (2018); Schoonheydt y Johnston (2018); Reid et al. (2000).	Tipo de arcilla	No expandible	1	La calificación representa la sumatoria de las ponderaciones asignadas con base en los resultados cuantitativos de la caracterización.
		Expandible	10	
NOM-021-RECNAT-2000.	CIC (cmol(+)/kg)	< 15	1	
		15 - 25	5	
		> 25	10	
Reglamento de la LGPGIR.	Intemperización	Emergencia ambiental	1	
		Pasivo ambiental	10	
NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012.	Contaminante	BTEX	1	
		Fracción ligera HTP	3	
		HAP	7	
		Fracción media HTP	5	
		Fracción pesada HTP	10	

La justificación para incluir a los hidrocarburos secuestrados es que, aun en la actualidad, no se sabe con certeza si estos hidrocarburos están atrapados irreversiblemente en el suelo o si, dependiendo de las condiciones que los rodean, pueden ser liberados al ambiente. En este sentido, la matriz de decisiones propuesta funciona como una herramienta para estimar la capacidad de un suelo para secuestrar hidrocarburos.

Diagrama de decisiones

A partir de la matriz de decisiones descrita en la tabla 2, se puede inferir sobre la capacidad de un suelo para modificar el destino ambiental de hidrocarburos. Esta información puede integrarse en un diagrama de decisiones que permita definir planes de acción sobre sitios contaminados considerando el destino ambiental de los contaminantes (figura 2).

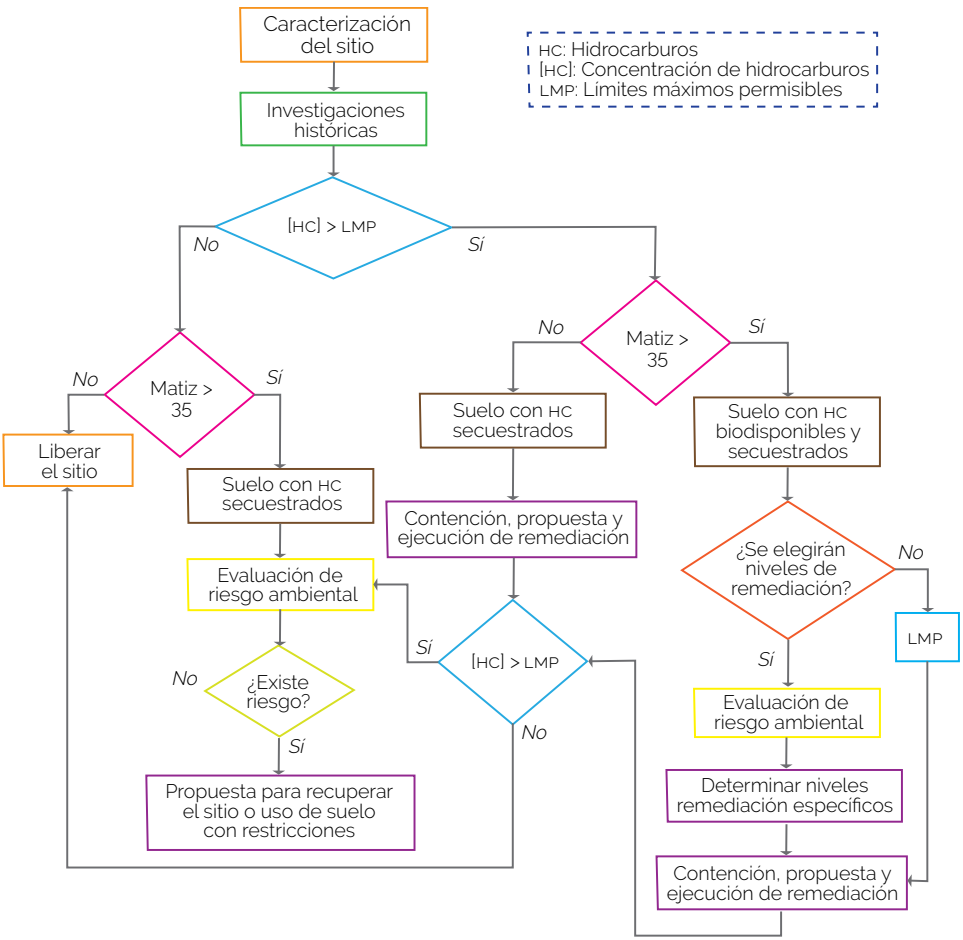
La estrategia integral de caracterización contempla los conceptos de biodisponibilidad y secuestro como una primera aproximación del destino ambiental, lo que fortalece el diagnóstico de contaminación y favorece la propuesta de mejores planes de remediación.

Los planes de remediación constituyen un conjunto de medidas que tienen como fin eliminar o disminuir la cantidad de los contaminantes hasta un nivel se-

guro para la salud y el ambiente, así como prevenir su dispersión. La selección del tratamiento de remediación que se aplique depende del tipo de contaminante, del tipo y uso de suelo, así como de su localización y la aplicabilidad de los tratamientos adentro y afuera del sitio. Aunada a estas clasificaciones, se propone anexar una más con base en el destino ambiental de los hidrocarburos: biodisponibles, secuestrados o ambos.

Al utilizar la estrategia integral de caracterización, la propuesta de tratamiento de remediación que se aplique en un sitio contaminado dependerá del destino ambiental de los hidrocarburos.

Figura 2. Diagrama de decisiones para definir un plan de remediación considerando el destino ambiental de los hidrocarburos en un suelo



Ejemplo del uso de la estrategia integral de caracterización

Para ejemplificar el uso de la estrategia integral de caracterización, se describirán tres casos de contaminación en distintos lugares de México. Estos sitios contaminados tienen diferentes características (tabla 3) que permitirán a la persona lectora conocer y analizar situaciones contrastantes donde las características del sitio influyen de manera distinta sobre el destino ambiental de los contaminantes.

Tabla 3. Características fisicoquímicas y tipo de contaminante de tres sitios contaminados con hidrocarburos

Característica	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
Contenido de MO (%)	1.21	0.87	2.69
Grado de humificación (HA/FA)	1.65	0.02	0.8
Clase textural	Arcilloso (49.8 % de arcillas)	Franco arenoso (10 % de arcillas)	Franco arcilloso (34.8 % de arcillas)
Tipo de arcilla	Montmorillonita	Caolinita	Illita
CIC (cmol(+)/kg)	29.8	13.7	24.6
Historial de contaminación	Evento de contaminación reciente	Evento de contaminación reciente y recurrente	Sitio intemperizado con contaminación recurrente
Contaminante	Turbosina	Gasolina	Combustóleo

Para contextualizar, además de las características cuantitativas de los sitios, se presenta una breve descripción cualitativa sobre su uso e historial de contaminación.

Sitio 1. Se localiza en la llanura del Golfo de México, en el límite entre los estados de Veracruz y Tabasco. El lugar se encuentra rodeado de vegetación y está destinado para pastoreo. Es un área verde que se encuentra al costado de un camino, donde pasan ductos de manera transversal, siguiendo las líneas de tendido eléctrico. La caracterización del sitio se llevó a cabo debido a una toma clandestina. Esta provocó una fuga de hidrocarburo que contaminó un área aproximada de 300 m^2, lo que provocó concentraciones de contaminantes arriba de los límites máximos permisibles (LMP).

Sitio 2. Se localiza en la Sierra de la Costa de Jalisco y Colima. En la zona se practica agricultura estacional y crianza de ganado caprino. El lugar tiene bajo potencial forestal y la vegetación se destina a consumo doméstico. El sitio tiene un historial de contaminación recurrente generado por la fractura de un ducto. En distintas ocasiones, algunas empresas privadas caracterizaron y remediaron el si-

tio, con lo que se consiguió llegar a concentraciones de hidrocarburos por debajo de los LMP; desafortunadamente, se siguieron presentando eventos de contaminación. En la última caracterización, se estimó que el área afectada era de 640 m², con concentraciones de HTP por encima de los LMP.

Sitio 3. Se localiza en la llanura del Golfo México, en los límites de los estados de Veracruz y Tabasco. El lugar se encuentra rodeado de vegetación nativa. En esta zona se realizan actividades de pastoreo. El sitio presenta un historial recurrente de contaminación debido a tomas clandestinas que han ocasionado derrames, con lo que se afectó un área total de 475 m². Pese a estos eventos, las concentraciones de hidrocarburos se encuentran por debajo de los LMP.

Tomando en cuenta los datos de los sitios contaminados (tabla 3) y las ponderaciones asignadas, dependiendo de los intervalos de referencia (tabla 2), se construyó la matriz de decisiones para conocer el destino ambiental de los hidrocarburos (tabla 4).

Tabla 4. Matriz de decisión con criterios ponderados para los tres sitios contaminados

Criterio	Calificaciones		
	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
Contenido de MO (%)	1	1	5
Grado de humificación (HA/FA)	10	1	1
Clase textural	10	1	5
Tipo de arcilla	10	1	1
CIC (cmol(+)/kg)	10	1	5
Intemperización	1	1	10
Contaminante	5	3	10
Destino ambiental	47	9	37

De acuerdo con la tabla 4, se infiere que el sitio 1 tiene un alto potencial para secuestrar hidrocarburos, debido a su alto contenido de arcillas expandibles y su alto grado de humificación, aunque se trate de un evento de contaminación reciente. El sitio 2 tendría un bajo potencial para secuestrar hidrocarburos, ya que el suelo tiene poca materia orgánica, bajo grado de humificación y bajo contenido de arcillas no expandibles, por lo que la mayoría de estos se encontrarán biodisponibles. Finalmente, puede inferirse que, en el sitio 3, aunque las arcillas del sue-

lo no son expansivas ni la materia orgánica está humificada, lo más probable es que los hidrocarburos presentes se encuentren secuestrados en vista de que se trata de un suelo intemperizado con HTP.

Así, la matriz de decisiones permite inferir el destino ambiental de los hidrocarburos; sin embargo, para definir qué decisiones se tomarán respecto al sitio contaminado, es necesario considerar la concentración de los contaminantes. Este parámetro se incluye en el análisis cuando se utiliza el diagrama de decisiones.

De acuerdo con lo anterior, al cuantificar los hidrocarburos en el suelo, se podrán encontrar dos escenarios: el primero, donde la concentración supera los LMP establecidos en la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012; y el segundo, donde la concentración está por debajo de estos LMP. Es importante considerar que en ambos casos los hidrocarburos pueden encontrarse secuestrados o biodisponibles, lo que llevaría a planes de remediación diferentes.

A continuación, se analizarán los casos de contaminación en los tres sitios para ejemplificar la toma de decisiones usando el diagrama de decisiones.

De acuerdo con el resultado de la matriz de decisiones para el sitio 1 (calificación > 35), este tiene un alto potencial para secuestrar hidrocarburos. La concentración de hidrocarburos en este sitio se encuentra por encima de los LMP, lo que sugiere que el suelo se encuentra saturado y existe una alta probabilidad de que se encuentren hidrocarburos biodisponibles. La identificación de esta condición se logra cuando se conjuntan la información del historial de contaminación y la matriz de decisiones. Bajo estas condiciones, es necesario tomar acciones sobre el sitio, y el primer paso sería definir los niveles de remediación mediante una evaluación de riesgo ambiental, o bien la definición de uso de suelo con base en los LMP. Sin importar cuál sea la decisión, ambos casos llevan a la propuesta y ejecución de un plan de remediación. Después de que el plan se haya ejecutado, y que se hayan eliminado los hidrocarburos biodisponibles, lo más probable es que el sitio contenga hidrocarburos secuestrados, lo que podría representar un riesgo ambiental o modificar las características fisicoquímicas del suelo (por ejemplo, la disminución de fertilidad). En este caso, lo más recomendable sería restringir su uso o implementar una estrategia de recuperación.

En el caso del sitio 2 (tabla 4), la concentración de hidrocarburos supera los LMP. Además, la calificación obtenida de la matriz es menor a 35, lo que indica que el suelo tiene poca capacidad de secuestro y, por tanto, los hidrocarburos podrían encontrarse biodisponibles. Ante este escenario, se esperaría alta movilidad y lixiviación de los contaminantes. Los tratamientos de remediación más utilizados para este tipo de escenarios son los biológicos, y la selección de un tratamiento específico dependerá, además de las características particulares del sitio y los contaminantes, de las propiedades microbiológicas. Una vez ejecutado el plan de remediación, lo más probable es que se alcancen niveles por debajo de los LMP

con pocos o nulos hidrocarburos secuestrados y, por tanto, se sugiere que el sitio sea liberado sin restricciones de uso.

Al analizar los datos del sitio 3 (tabla 4), se observa que corresponde a un sitio intemperizado capaz de secuestrar hidrocarburos (calificación de matriz de decisiones > 35). En este caso, sería conveniente realizar una evaluación de riesgo ambiental y complementar la caracterización con análisis microbiológicos para conocer el estado de "salud" del suelo. Finalmente, lo más recomendable sería restringir el uso del suelo o implementar una estrategia de remediación.

Complementar las técnicas de caracterización vigentes con el concepto de *destino ambiental* permite obtener una evaluación del sitio contaminado más sólida, que contempla no solo los hidrocarburos biodisponibles, sino también los secuestrados. El reconocimiento del secuestro y de la biodisponibilidad como destinos ambientales dependientes de las condiciones, de las características y del historial de los sitios contaminados permite identificar diferentes escenarios para mejorar las propuestas de remediación, tal y como se ha mostrado en los tres casos de estudio analizados y evaluados, mediante la matriz y el diagrama de decisiones descritos en este capítulo. Para que la evaluación integral propuesta pueda ser aplicada, debe llevarse a cabo un proceso para que sea considerada en la legislación, ya que su uso llevaría a conclusiones diferentes respecto al tratamiento de remediación más adecuado.

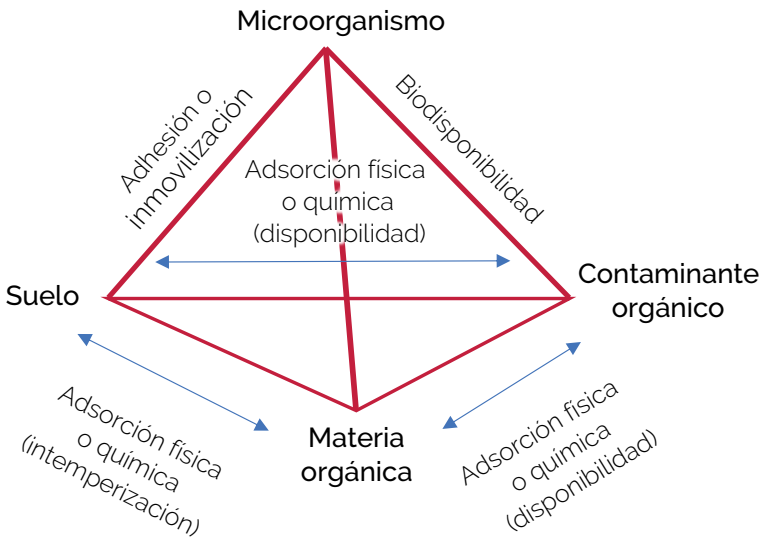
Perspectivas de la caracterización de suelos contaminados con hidrocarburos y su futuro en la investigación multidisciplinaria

Estudiar el suelo contaminado con hidrocarburos como un complejo hidrocarburo-materia orgánica-materia mineral es un reto. Como ya se comentó en este capítulo, los hidrocarburos tienen diversas posibilidades de interaccionar con los componentes propios de un suelo y su destino ambiental puede indicar fenómenos de adsorción física, química o biológica, dejándolos menos disponibles para ser extraídos o removidos (Reichenberg y Mayer, 2006; Ortega-Calvo et al., 2015). En la figura 3 se presentan las posibles interacciones en una matriz de suelo real. De tal forma que, para encontrar el tratamiento de remediación más adecuado, lo más probable es que haya que combinar diversos procesos y, de esta manera, dilucidar la secuencia más conveniente.

La fracción biodisponible de hidrocarburos en un suelo contaminado es el resultado de diversos fenómenos fisicoquímicos, que incluyen cambios en la hidropatía superficial de las partículas sólidas —que modifican la permeabilidad por la formación de fases inmiscibles— y cambios asociados al grado de humificación de la materia orgánica del suelo —que modifican la absorción de nutrientes— (Harms et al., 2010). Los fenómenos mencionados están asociados con la tensión

interfacial entre las distintas fases (sólida, acuosa, orgánica hidrofóbica y gas). Si la tensión interfacial es abatida, entonces la disponibilidad y biodisponibilidad de los contaminantes podrían aumentar (Bordoloi y Konwar, 2009).

Figura 3. Posibles interacciones entre partículas de suelo, materia orgánica, contaminantes y microorganismos remediadores



Una manera de caracterizar un suelo contaminado, haciendo énfasis en las propiedades y fenómenos superficiales, es mediante el uso de técnicas espectroscópicas (Raman y UV-Vis); asimismo, mediante técnicas de fisisorción de N_2 e intrusión de Hg, es posible realizar una caracterización de la textura y la porosidad de las partículas de suelo. Por otro lado, un análisis del estado eléctrico (electrocapilaridad y potencial zeta) del suelo permitirá determinar su reactividad y capacidad de sorción de compuestos orgánicos de distinta naturaleza química (Qin et al., 2015). Los parámetros propuestos para evaluar y las técnicas utilizadas, así como la información obtenida a partir de cada una de estas técnicas se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Resumen de técnicas para la caracterización de un suelo natural

Parámetro	Técnica	Información obtenida
Fraccionamiento de la materia orgánica	Método de Schnitzer	Extracción de la materia orgánica unida a los minerales y las arcillas del suelo, para su posterior fraccionamiento en ácidos fúlvicos y húmicos.

(*Continúa*)

Estructura de la materia orgánica	FTIR, UV-VIS	Caracterización de las fracciones húmicas y fúlvicas de la materia orgánica del suelo posterior a su extracción. Establecimiento de la aromaticidad-alifaticidad de las sustancias que conforman la materia orgánica del suelo. Comportamiento de absorción de los contaminantes orgánicos en las fracciones de la materia orgánica del suelo.
Mineralogía	DRX	Determinación de las fases cristalinas del suelo, correspondientes a los minerales que lo forman.
Grupos funcionales superficiales	XPS	Determinación de los minerales que conforman el suelo. Determinación de grupos funcionales en la superficie de las partículas del suelo para la predicción de posibles sitios de unión de los contaminantes orgánicos.
Arreglo de cargas superficiales y afinidad con moléculas de agua de partículas de suelo	Potencial Z	Determinación de excesos de carga superficial y posibles interacciones electrostáticas que dominan los fenómenos adsortivos de la interfase suelo/contaminante/solución de suelo.
Área superficial intra e interparticular	Fisisorción de N_2 e intrusión de Hg	Cuantificación del área superficial del suelo y distribución de tamaños de poro.

Con la información obtenida de las técnicas de caracterización, es posible diseñar modelos experimentales para realizar isotermas de adsorción de compuestos orgánicos e inferir sobre la fracción secuestrada y biodisponible. Con lo anterior, pueden realizarse bioensayos para determinar las cantidades biodisponibles, además de concluir sobre la toxicidad y fertilidad de un suelo contaminado o un suelo remediado (Chen et al., 2019).

Conclusiones

La contaminación de suelos por hidrocarburos es una realidad que requiere atención, tanto por parte de las autoridades ambientales —para dictar normas y establecer criterios de cuantificación— como por los grupos de científicos multidisciplinarios dedicados a estudiar sistemas ambientales. Entender la interrelación de los contaminantes y de un medio fluido en contacto con el suelo permite predecir el destino ambiental y entender los procesos que contaminan. Con la experiencia adquirida en trabajos de diagnóstico de contaminación de suelos con hidrocarburos, se propone una estrategia integral de caracterización, cuyo corazón es la matriz y el diagrama de decisión que conducen a recomendar un trata-

miento de remediación mejor fundamentado. Para que esta estrategia pueda ser aplicada, debe llevarse a cabo un proceso para su consideración en la legislación, ya que su uso llevaría a conclusiones diferentes en términos de tratamientos de remediación más adecuados. Considerar el destino ambiental de los hidrocarburos en un suelo como parámetro de decisión contribuye a cumplir con el derecho constitucional de las personas a un ambiente sano. Asimismo, el futuro de la investigación ambiental debe contemplar la integración de equipos multidisciplinarios y sus herramientas de análisis con el fin de superar la certidumbre para revertir los daños causados por la contaminación de suelos con hidrocarburos.

Referencias

Alexander, M. (2000). Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. *Environmental Science & Technology, 34*(20), 4259-4265. https://doi.org/10.1021/es001069+

Atekwana, E. A., Sauck, W. A. y Werkema, D. D., Jr. (2000). Investigations of geoelectrical signatures at a hydrocarbon contaminated site. *Journal of Applied Geophysics*, *44*(2-3), 167-180. https://doi.org/10.1016/S0926-9851(98)00033-0

Berkowitz, B., Dror, I. y Yaron, B. (2014). Organic compounds. En *Contaminant geochemistry* (pp. 79-98). Springer.

Bordoloi, N. K. y Konwar, B. K. (2009). Bacterial biosurfactant in enhancing solubility and metabolism of petroleum hydrocarbons. *Journal of Hazardous Materials*, *170*(1), 495-505. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.04.136

Burt, R. (Ed.). (2011). *Soil survey laboratory information manual. Soil survey investigations, Report No. 45. Version 2.0*. United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service. https://www.nrcs.usda.gov/sites/default/files/2022-10/SSIR45.pdf

Castro, A., Acevedo-Berruecos, D., Urbieta, J., Iturbe, R. y Delgado-Rodríguez, O. (2013). Caracterización geoquímica y geoeléctrica de un sitio contaminado por hidrocarburos en el estado de Puebla, México. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, *65*(2), 405-418. http://dx.doi.org/10.18268/BSGM2013v65n2a20

Chen, C. H., Liu, P. G. y Whang, L. M. (2019). Effects of natural organic matters on bioavailability of petroleum hydrocarbons in soil-water environments. *Chemosphere*, *233*, 843-852.

Dell'Abate, M. T., Canali, S., Trinchera, A., Benedetti, A. y Segui, P. (1998). Thermal analysis in the evaluation of compost stability: a comparison with humification parameters. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, *51*(3), 217-224.

Ehlers, G. A. C. y Loibner, A. P. (2006). Linking organic pollutant (bio)availability with geosorbent properties and biomimetic methodology: A review of geosorbent characterisation and (bio)availability prediction. *Environmental Pollution*, *141*(3), 494-512. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.08.063

Flores, D., Zegarra, H. G., Arce, J. M., Fernández, L. C., Ramírez, M. E., Rojas, N. G., Uribe, R., Reyes, R. J. y Roldán, T. G. (2006). *Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados*. Instituto Mexicano del Petróleo; Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales; Instituto Nacional de Ecología. https://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/Libros2011/CG008215.pdf

Harms, H., Smith, K. E. C. y Wick, L. Y. (2010). Introduction: problems of hydrophobicity/bioavailability. En K. N. Timmis (Ed.), *Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology* (pp. 1440-1450). Springer; Verlag Berlin Heidelberg.

Hatzinger, P. B. y Alexander, M. (1995). Effect of aging of chemicals in soil on their biodegradability and extractability. *Environmental Science & Technology*, *29*(2), 537-545. https://doi.org/10.1021/es00002a033

Huang, W., Peng, P., Yu, Z. y Fu, J. (2003). Effects of organic matter heterogeneity on sorption and desorption of organic contaminants by soils and sediments. *Applied Geochemistry*, *18*(7), 955-972. https://doi.org/10.1016/S0883-2927(02)00205-6

Keiluweit, M. y Kleber, M. (2009). Molecular-level interactions in soils and sediments: the role of aromatic π-systems. *Environmental Science & Technology*, *43*(10), 3421-3429. https://doi.org/10.1021/es8033044

Lambert, J. F. (2018). Chapter 7. Organic pollutants adsorption on clay minerals. En F. Bergaya y G. y Lagaly, G. (Eds.), *Handbook of clay science* (pp. 195-253). Elsevier.

McAllister, L. E. y Semple K. T. (2010). Role of clay and organic matter in the biodegradation of organics in soil. En L. Barton, M. Mandl y A. Loy (Eds.). *Geomicrobiology: molecular and environmental perspective* (pp. 367-384). Springer.

Ohno, T., Chorover, J., Omoike, A. y Hunt, J. (2007). Molecular weight and humification index as predictors of adsorption for plant and manurederived dissolved organic matter to goethite. *European Journal of Soil Science*, *58*(1), 125-132. https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2006.00817.x

Ortega-Calvo, J.J., Harmsen, J., Parsons, J. R., Semple, K. T., Aitken, M. D., Ajao, C., Eadsforth, C., Galay-Burgos, M., Naidu, R., Oliver, R., Peijnenburg, W. J. G. M., Römbke, J., Streck, G., Versonnen, B. (2015). From bioavailability science to regulation of organic chemicals. *Environmental Science & Technology*, *49*(17), 10255-10264. https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02412

Pan, B., Ning, P. y Xing, B. (2008). Part IV—sorption of hydrophobic organic contaminants. *Environmental Science and Pollution Research*, 15, 554-564.

Putra, M., Soemarno, S., Suntari, R. (2016). Humification degree and its relationship with some soil physical characteristics on robusta coffee (*Coffea canephora*) plantation. *Journal of Degraded and Mining Lands Management*, *3*(4), 649-658. https://doi.org/10.15243/jdmlm.2016.034.649

Qin, J., Moustafa, A., Harms, H., El-Din, M.G. y Wick, L.Y. (2015). The power of power: Electrokinetic control of PAH interactions with exfoliated graphite. *Journal of Hazardous Materials*, *288*, 25-33.

Reichenberg F. y Mayer P. (2006). Two complementary sides of bioavailability: accessibility and chemical activity of organic contaminants in sediments and soils. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *25*(5), 1239-1245. https://doi.org/10.1897/05-458R.1

Reid, B. J., Jones, K. C. y Semple, K. T. (2000). Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments—a perspective on mechanisms, consequences, and assessment. *Environmental Pollution*, *108*(1), 103-112. https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00206-7

Richards, L. A. (1931). Capillary conduction of liquids through porous mediums. *Journal of Applied Physics*, *1*(5), 318-333. https://doi.org/10.1063/1.1745010

Sauck, W. A. (2000). A model for the resistivity structure of LNAPL plumes and their environs in sandy sediments. *Journal of Applied Geophysics*, *44*(2-3), 151-165. https://doi.org/10.1016/S0926-9851(99)00021-X

Schäffer, A., Kästner, M. y Trapp, S. (2018). A unified approach for including nonextractable residues (NER) of chemicals and pesticides in the assessment of persistence. *Environmental Sciences Europe*, *30*(1), 51. https://doi.org/10.1186/s12302-018-0181-x

Schoonheydt, R. y Johnston, C. (2018). Chapter 5 - Surface and interface chemistry of clay minerals. En F. Bergaya, y G. Lagaly (Eds.), *Handbook of clay science* (pp. 87-114). Elsevier.

Umeh, A. C., Duan, L., Naidu, R. y Semple, K. T. (2018). Time-dependent remobilization of nonextractable benzo[a]pyrene residues in contrasting soils: Effects of aging, spiked concentration, and soil properties. *Environmental Science & Technology*, *52*(21), 12295-12305. https://doi.org/10.1021/acs.est.8b03008

United States Department of Agriculture. (2017). *Soil Survey Manual*. United States Department of Agriculture. Handbook No. 18. https://www.nrcs.usda.gov/sites/default/files/2022-09/The-Soil-Survey-Manual.pdf

Ukalska-Jaruga, A. y Smreczak, B. (2020). The impact of organic matter on polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) availability and persistence in soils. *Molecules*, *25*(11), 2470. https://doi.org/10.3390/molecules25112470

Normas jurídicas mexicanas

Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos.

Ley de la Agencia Nacional de Seguridad Industrial y de Protección al Medio Ambiente del Sector Hidrocarburos.

Ley Federal de Protección al Ambiente (LFPA).

Ley Federal para Prevenir y Controlar la Contaminación (LFPCC).

Ley General de Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente (LGEEPA).
Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos (LGPGIR).
NMX-AA-105-SCFI-2008. Suelos – Hidrocarburos fracción ligera por cromatografía de gases con detectores de ionización de flama o espectrometría de masas – Método de prueba.
NMX-AA-134-SCFI-2006. Suelos – Hidrocarburos fracción pesada por extracción y gravimetría – Método de prueba.
NMX-AA-141-SCFI-2007. Suelos – Benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos (BTEX) por cromatografía de gases con detectores de espectrometría de masas y fotoionización – Método de prueba.
NMX-AA-145-SCFI-2008. Suelos – Hidrocarburos fracción media por cromatografía de gases con detector de ionización de flama – Método de prueba.
NMX-AA-146-SCFI-2008. Suelos – Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) por cromatografía de gases/espectrometría de masas (cg/em) o cromatografía de líquidos de alta resolución con detectores de fluorescencia y ultravioleta visible (UV-VIS) – Método de prueba.
NOM-021-RECNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis.
NOM-021-SEMARNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis.
NOM-138-SEMARNAT/SS-2003, Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación.
NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012, Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y lineamientos para el muestreo en la caracterización y especificaciones para la remediación.
NOM-EM-138-ECOL-2002, Norma Oficial Mexicana de Emergencia, que Establece los Límites máximos permisibles de contaminación en suelos afectados por hidrocarburos, la caracterización del sitio y procedimientos para la restauración.
Reglamento de la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos (LGPGIR).

Variaciones de los hidrocarburos presentes en suelos contaminados

Carlos M. Morales-Bautista[*]
Sonia A. Torres-Sánchez[**]
Iliana M. de la Garza-Rodríguez[***]
Sugey López-Martínez[****]
Marcia E. Ojeda-Morales[*****]
Irma Sánchez-Lombardo[*]
José de los S. López-Lázaro[*****]
Miguel A. Hernández-Rivera[*****]

Resumen

En la última década, México se ha enfrentado a grandes cambios en materia ambiental. Uno de ellos es la actualización de los reglamentos para llevar a cabo diagnósticos ambientales en sitios petroleros, especialmente, mediante herramientas adecuadas que permitan estimar impactos preexistentes y acumulativos. En este tema, las líneas base ambientales son lineamientos obligatorios que deben cumplir las empresas para que las nuevas instalaciones petroleras o reactivadas después de la reforma energética puedan entrar en operaciones. Uno de los problemas encontrados en ellas es que algunas se basan en normativas de la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat), las cuales han reportado algunas incertidumbres en temas edafológicos y en las determinaciones analíticas. Con el fin de demostrar la importancia de inclusión de estos temas en los actuales reglamentos, en el presente trabajo se evaluaron, a corto y mediano plazos, los cambios en las propiedades de tres suelos contaminados experimentalmente con petróleo crudo. Entre los resultados, se observó que algunas propiedades como pH, arcillas, materia orgánica y capacidad de campo son

[*] División Académica de Ciencias Básicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Tabasco, México. carlos.morales@ujat.mx
[**] Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.
[***] Facultad de Química, Universidad Autónoma de Coahuila, Coahuila, México.
[****] División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Tabasco, México.
[*****] División Académica de Ingeniería y Arquitectura, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Tabasco, México.

afectadas y no se recuperaron durante el periodo evaluado. También se encontró que estos daños podrían relacionarse con los cambios en las fracciones de hidrocarburos; además, se observó que el porcentaje de afectación y la persistencia de estos efectos podrían estar en función de las propiedades edafológicas, las cuales no están consideradas en la actual normatividad mexicana.

Palabras clave

Petróleo, edafología, fertilidad, intemperización, legislación.

Introducción

La industria petrolera es uno de los principales pilares de la economía mexicana, pero también es una de las mayores fuentes de contaminación. En materia ambiental, este fenómeno resulta ser importante, ya que este país cuenta con gran variedad de ecosistemas, zonas agrícolas y recursos hídricos, los cuales han sido afectados durante décadas por derrames de hidrocarburos. En algunas áreas contaminadas, una de las principales problemáticas es la dificultad de establecer claramente los efectos que estos compuestos tienen sobre los suelos, especialmente, porque se ha observado que el nivel de impacto podría depender de las propiedades edafológicas e hidrometereológicas, que son muy diversas en todo el país (Johnston et al., 2019).

Debido a que las características de los suelos están relacionadas con el desarrollo de las plantas y la bioacumulación de contaminantes, es necesario implementar acciones para recuperar las propiedades que lleven a garantizar la producción de alimentos y la reducción de riesgos a la salud. Particularmente, es necesario evaluar los impactos acumulativos en sitios considerados como pasivos ambientales (Hernández Ibarzábal, 2017; Checa-Artasu y Hernández, 2018). Debido a la variedad de factores asociados a este tipo de derrames, diversos estudios destacan la importancia de incluir un mayor número de perspectivas en los diagnósticos de impacto ambiental, ya que, si bien la mayoría de las áreas afectadas han sido restauradas y se les ha devuelto su vocación de uso, en la mayoría de los trabajos se les ha dado poco valor a factores regionales (Eklund et al., 2019; Ferguson et al., 2020).

Por ejemplo, en varias zonas petroleras existen huertos familiares (principalmente de plantas endémicas y siembra por temporal) que son fuente de ingreso y alimentación para la población que habita estos sitios. Los estudios apuntan

a que esta actividad, combinada con otros factores socioeconómicos, religiosos, ideológicos y climatológicos, representa una identidad cultural. En algunas de estas regiones, se ha observado que los constantes derrames de contaminantes han provocado que los suelos de estos sitios pierdan afinidad hacia este tipo de plantíos. Aunque las causas son muchas, la mayoría de los estudios ha encontrado una relación entre la reducción en el potencial hídrico, la baja disponibilidad de nutrientes en los suelos y el bajo desarrollo de las plantas (Hernández-Valencia et al., 2017; Pérez et al., 2019).

Respecto a este tema, existen estudios que mencionan que los efectos a largo plazo sobre la baja producción de este tipo de hortalizas podrían afectar el desarrollo económico local y el acceso a la alimentación, en especial de aquellos que representan una identidad cultural y que contribuyen en la preservación de otras especies endémicas. Además, algunos reportes señalan que existen otros efectos pocos estudiados, tales como la migración y la aceleración de la transición demográfica, en los que los grupos vulnerables son los más afectados, pero, sobre todo, que esta podría ser una de las principales causas de las conductas antisociales como el robo de combustible (Mendoza e Ize, 2017; Ordaz-Celedón y Martínez-Mendoza, 2020; Peschard et al., 2021).

La evaluación de sitios contaminados por hidrocarburos en México no es un tema nuevo, pero la mayoría de la información que se ha generado está enfocada en derrames de hidrocarburos. Son escasos los estudios sobre otros contaminantes destacados del sector, tales como las aguas de producción petrolera (aguas congénitas) y fosas de residuos o de confinamiento (Gómez-Mellado et al., 2020; Méndez-Moreno et al., 2021). Además, el nivel de complejidad de las evaluaciones en estos sitios aumenta si las zonas no han operado en varios años, ya que por tal circunstancia se desconoce el número exacto de los derrames y los impactos que estos han causado, principalmente, porque los componentes están en función de la fuente de generación y de las condiciones ambientales a las que han estado expuestos (Chen et al., 2019).

En materia legal, hasta hace algunos años la Semarnat era la encargada de regular las actividades, las medidas de prevención y el saneamiento de los sitios contaminados por derrames de hidrocarburos, pero después de la reforma energética (RE) del 2013, entraron en vigor los reglamentos de la Agencia de Seguridad, Energía y Ambiente (ASEA) (Vietor y Sheldahl-Thomason, 2017). Cabe señalar que, aunque este organismo retomó algunas normativas de la Semarnat, agregó algunos indicadores importantes tales como la declaración de daños preexistentes, especialmente en sitios que ya contaban con infraestructura o actividades industriales; este instrumento legal lleva por nombre línea base ambiental (LBA) (Mendoza e Ize, 2017; Brooks et al., 2020).

La evaluación de daños preexistentes desde perspectivas multidisciplinares es un tema que ha cobrado vital importancia en México, sobre todo porque sus políticas públicas están enfocadas en la prevención de la contaminación, los servicios de salud, el acceso a la alimentación, el cambio climático, la soberanía energética y el desarrollo sustentable. En consecuencia, algunas zonas altamente contaminadas han sido clasificadas como regiones de emergencia ambiental (REA). Aunque no se han encontrado estudios que relacionen las LBA con las REA, resulta interesante que en ambas se estipulan riesgos para la salud y el medioambiente, que son resultado de la combinación de diversas actividades antropogénicas. Por tal motivo, las LBA podrían servir como fuente de información para las declaratorias de sitios que representen una REA; asimismo, para determinar los daños preexistentes en sitios donde se desarrollarán nuevos proyectos petroleros, principalmente, porque los planes de desarrollo están enfocados en los sectores primario, de servicios y energético; en algunas zonas del país, estas actividades se combinan (Semarnat, 2019; Barcena Hinojal, 2020).

En este contexto, un aspecto relacionado con las LBA son los impactos en suelos derivados de las actividades petroleras. Para evaluarlos, se emplean los métodos referidos en la NOM-138-SEMARNAT-SSA1-2012. Algunos reportes mencionan que este instrumento legal necesita actualizarse (Méndez-Moreno et al., 2021). Por ejemplo, en México, los suelos son muy variables. Su composición está delimitada por la geología, la hidrografía, y el clima de un sitio es específico; como resultado, sus propiedades suelen también ser muy variables en toda la geografía del país (Palma-López et al., 2017).

Algunos estudios mencionan que propiedades de los suelos como el tipo y la cantidad de arcillas; la materia orgánica (que depende del ecosistema); la cantidad de iones intercambiables y el pH podrían delimitar el comportamiento de los contaminantes (Rodríguez Cuervo, 2019; Álvarez-Coronel et al., 2020). También existen estudios que mencionan que, si los suelos entran en contacto con los hidrocarburos, a la larga presentan cambios en su composición, pero ya que son muy variables las propiedades edafológicas y las condiciones ambientales a las que son expuestos, los efectos pueden ser diferentes entre un sitio y otro (Morales-Bautista et al., 2016).

Otro punto importante es que el solvente citado en esta norma no es compatible con las fracciones residuales presentes en derrames añejos. Al no ser cuantificados, se añaden incertidumbres a los diagnósticos de impacto ambiental (Morales-Bautista et al., 2020). Además, la norma solo cita las fracciones en función del petróleo crudo (ligera, mediana y pesada). No obstante, Lu (2016) y Guzmán-Osorio et al. (2021) identificaron estas fracciones mediante técnicas espectrofotométricas y observaron que la absortividad a lo largo de todo el espectro puede variar conforme a la abundancia relativa de las especies presentes, relacionadas

con la densidad del petróleo y las familias de hidrocarburos o fracciones de saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos (SARA). Otros trabajos que han evaluado los efectos de los hidrocarburos mencionan que las fracciones SARA brindan información sobre los mecanismos de degradación y disposición de contaminantes, y los relacionan con los organismos y propiedades de los suelos, pero estas fracciones tampoco son requeridas por el reglamento mencionado (Stout y Wang, 2016; Kuppusamy et al., 2020).

En este contexto, Gómez-Mellado et al. (2020) y Domínguez-Rodríguez et al. (2020) observaron que la disposición y la biotransformación del contaminante son muy variables a través del tiempo de añejamiento. Mencionan que, por estas razones, algunos efectos son permanentes y otros no. Además, observaron que durante este tiempo algunos contaminantes pueden estar disponibles y otros no. Rodríguez Cuervo (2019) y Álvarez-Coronel et al. (2021) encontraron que estas variaciones pueden limitar algunas funciones de los suelos, ya que la capacidad de campo (% CC), el contenido de arcillas (% R) y la capacidad de intercambio catiónico (CIC) disminuían conforme aumentaba la cantidad residual del hidrocarburo. McIntosh et al. (2017) y Kiani et al. (2021) también observaron estas reducciones y señalan que pueden estar relacionadas con el bajo desarrollo de algunos cultivos en suelos con concentraciones de hidrocarburos relativamente bajas.

Aunque se ha advertido sobre los posibles efectos de los hidrocarburos residuales, siguen siendo escasos los estudios que hablen sobre los cambios que estos presentan durante cierto periodo en el que están sometidos a la intemperie. De manera general, se sabe que los hidrocarburos se degradan al intemperizarse, pero se ha observado que las tasas de degradación y los productos resultantes pueden variar. Cabe destacar que algunos de estos productos han sido considerados como de gran preocupación, ya que pueden presentar toxicidad y bioacumulación (Megharaj y Naidu, 2017; Rodríguez Cuervo, 2019).

Por ejemplo, Bidja et al. (2019) reportan que la combinación de factores biogeoquímicos favorece la degradación de hidrocarburos, pero existen variaciones en los porcentajes de fracciones de hidrocarburos según la especie vegetal presente y el tipo de suelo. Gautam et al. (2020) demostraron que estas fracciones son el resultado de las interacciones entre los hidrocarburos y los suelos. También destacan que existe una gran diversidad de mecanismos de absorción-desorción y que posiblemente estos pueden definir su disposición y los efectos de estas fracciones de hidrocarburos.

Lu (2016) y Marín-García et al. (2016) delimitaron los efectos negativos sobre algunos suelos según las fracciones SARA de diversos petróleos crudos y encontraron que la fracción compuesta por resinas + asfaltenos causaba efectos sobre el potencial hídrico de los suelos. Adams et al. (2008) y Morales-Bautista et al. (2016)

añaden que estas fracciones también favorecen el aumento de las densidades, la reducción de la porosidad y la capacidad de intercambio catiónico de suelos aluviales; en todos los casos, los efectos fueron medibles en el desarrollo o supervivencia de las plantas. No obstante, Islam Khan et al. (2018) y Hook (2020) observaron que, con estas consideraciones, también puede existir bioacumulación de la fracción aromática y de algunos metales pesados, especialmente en especies tolerantes.

Por otra parte, una zona petrolera inmersa en derrames muy frecuentes es la aledaña al Golfo de México. Históricamente, en estas regiones, se ha suscitado la contaminación de agua y suelos, cuyos impactos en los sectores agropecuario y social son muy diversos (Rabelo et al., 2021; Pérez et al., 2019). Recientemente, esta región ha recobrado importancia por el descubrimiento de nuevos pozos petroleros y la reactivación de otros; también por la reingeniería y la construcción de petroquímicas.

No obstante, en estos sitios paralelamente se están desarrollando otros proyectos agroecológicos y turísticos, tales como Sembrando Vida, la recuperación del puerto de Dos Bocas y algunas estaciones del Tren Maya. Por estas razones, existe la necesidad de crear información que contribuya a la evaluación de derrames añejos sometidos a las condiciones ambientales de esta zona, de tal modo que, por un lado, contribuyan en realizar LBA adecuadas y, por otro lado, existan bases para las declaratorias de REA en estas regiones.

Por lo anterior, en el presente trabajo se evalúan los cambios de las propiedades edafológicas y las fracciones de hidrocarburos presentes en tres suelos de la región tabasqueña que fueron contaminados experimentalmente con petróleo crudo. Asimismo, fueron sometidos a intemperizado a largo plazo. Es importante señalar que las zonas evaluadas están inmersas en sitios donde se desarrollan actividades petroleras y agrícolas, y pertenecen a zonas rurales de alta marginación que poseen huertos familiares (Mendoza-Carranza et al., 2016; Rabelo et al., 2021).

Materiales y métodos

Se estudiaron tres zonas del estado de Tabasco. La primera fue Huimanguillo; la segunda, Cunduacán, y la tercera, Paraíso. En cada una se realizó un muestreo dirigido donde se tomaron tres estratos geológicos, desde el primer horizonte hasta el manto freático. Posteriormente, las muestras se homogenizaron sobre una membrana plástica y se realizó un cuarteo para construir una muestra compuesta de aproximadamente 20 kg. Esta se resguardó en bolsas negras (Palma-López et al., 2017). Asimismo, se muestreó petróleo crudo por condensación en el pozo

petrolero Iride 128; la muestra se dejó atenuando por 2 h y luego se resguardó en un recipiente ámbar de 4.5 L (Morales-Bautista et al., 2016).

En el laboratorio, las muestras de suelos se secaron a 60 °C por 48 h en una estufa eléctrica. Posteriormente, se les retiraron raíces y rocas mayores. Luego fueron molidas (con un molino de mano) y tamizadas (con una malla #10). A cada muestra obtenida, se le realizó la determinación de parámetros físicos y químicos mediante los métodos especificados en la NOM-021-RECNAT-2000: pH, conductividad eléctrica (CE), densidad aparente y real (DA y DR), porosidad (% Po), capacidad de campo (% CC), contenido de materia orgánica (% MO) y texturas (arenas [% A], limo [% L] y arcilla [% R]); a estas muestras se les nombró *suelos testigo*.

Por otro lado, el petróleo crudo se homogenizó mediante agitación mecánica durante 30 minutos. Posteriormente se transfirió a un embudo de separación donde se dejó reposar por 24 h para separar las fases. Pasado este tiempo, se recuperó la fase orgánica por decantación; a esta se le determinó °API por el método del densímetro ASTMD287 con las modificaciones de Morales-Bautista et al. (2013). Posteriormente, se tomó una alícuota de 5 g y, mediante una extracción por selectividad de solventes (columna de sílica empacada), se determinaron las fracciones saturadas (% S), aromáticas (% Ar), resinas (% Re) y asfaltenos (% As) o fracciones SARA, según lo especificado por Marín-García et al. (2016).

Cada suelo testigo (3 kg) fue contaminado experimentalmente con el petróleo crudo (60 g de hidrocarburo por cada kg de suelo o 60 000 mg de hc/kg suelo). Luego, las muestras se homogenizaron con una batidora eléctrica. Se realizó un cuarteo para tomar una muestra compuesta de 1 kg (n = 3) de cada suelo. A estas muestras se les nombró *contaminados frescos* e, igual que a las testigos, se les determinaron parámetros físicos y químicos especificados en la NOM-021-RECNAT-2000.

El resto de la muestra de suelos contaminados frescos se homogenizó en una charola de acero. Se realizó un cuarteo y se separaron en 2 lotes de 1 kg por cada suelo (n = 3). Estos se dispusieron en recipientes de plástico y fueron colocados al azar en un sitio al aire libre y se dejaron intemperizar de febrero del 2018 a febrero del 2019 (condiciones tropicales, precipitaciones ~60-600 mm y temperaturas ~26.6-34.7 °C) (Conagua, 2019). A los 6 meses se realizó un muestreo en el que se tomó 1 kg de cada suelo; el otro kilogramo se dejó durante 12 meses. A estas muestras se les identificó como "suelos contaminados intemperizados a 6 y 12 meses", respectivamente; todo lo anterior se realizó con el fin de simular derrames añejos. En la tabla 1, se presentan la ubicación de la toma de muestras y el sitio de intemperización.

Tabla 1. Ubicación de muestras de suelo

Muestra	UTM 15 Q (X m Este; Y m Norte)			Observaciones
	Punto 1	Punto 2	Punto 3	
Huimanguillo	435044.38; 1980433.83	435085.39; 1980377.81	435302.60; 1980729.73	Uso agrícola (caña de azúcar y maíz) y de aprovechamiento forestal (tecas, cedros, maculís y caoba), cercano al pozo Quesqui del Activo Integral Cinco Presidentes.
	23 m s. n. m.,* profundidad alcanzada: 160 cm			
Cunduacán	488651.48; 1996430.07	489206.44; 1996932.69	488748.04; 1996844.61	Uso agrícola (maíz, plátano y frijol), aledaño a batería de separación del Activo Integral Samaria-Luna.
	11 m s. n. m., profundidad alcanzada: 80 cm			
Paraíso	474438.66; 2037894.58	474600.25; 2037801.77	474444.76; 2037696.67	7 m s. n. m., uso agrícola y ganadero (cocotal y pastizal), aledaño a batería Puerto Ceiba del Activo Integral Bellota-Jujo.
	7 m s. n. m., profundidad alcanzada: 50 cm			
Petróleo crudo	493981.66; 1991569.36			Uso industrial, junto a pozos petroleros Iride 1126, 1128, 2146; y Samaria 1107 y 3129. Activo Integral Samaria-Luna.
	9 m s. n. m.			
Sitio de intemperizado	482294.21; 1998516.20 13 m s. n. m.			Uso residencial. División Académica de Ciencias Básicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

Nota: m s. n. m. = metros sobre el nivel del mar.

Pasado el tiempo de intemperizado (6 y 12 meses), las muestras fueron recuperadas y llevadas al laboratorio, donde se secaron a 60 °C por 48 h. Luego se retiraron raíces, se molieron y tamizaron. Para tener una comparativa de los cambios en las propiedades de los suelos, a todas se les determinaron parámetros físicos y químicos especificados en la NOM-021-RECNAT-2000.

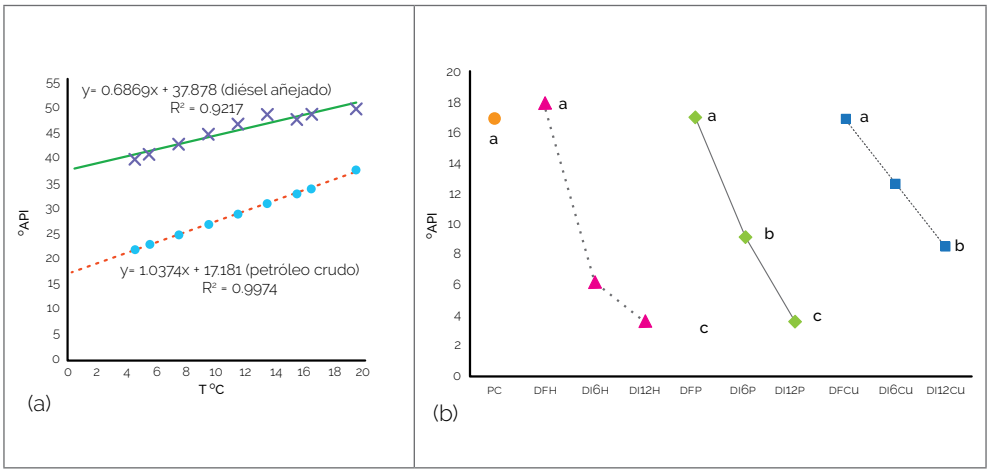
Además, de cada suelo (testigos, contaminados frescos e intemperizados de 6 y 12 meses) se tomó una alícuota de 50 g y se determinó el grado de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) mediante una extracción continua en Soxhlet (70 °C, diclorometano, 24 h de tratamiento y gravimetría) según las especificaciones de la NOM-138-SEMARNAT-SSA1-2012 y las recomendaciones de Morales-Bautista et al. (2020). Asimismo, a los extractos obtenidos del Soxhlet se les determinó °API y fracciones SARA por los mismos métodos aplicados al petróleo crudo (Morales-Bautista et al., 2013; Marín-García et al., 2016).

Todas las pruebas se realizaron por triplicado. Con el fin de comparar diferencias, se realizaron pruebas de ANOVA y Tukey (nivel de significancia de 0.05 y contraste de medias según la diferencia honestamente significativa o HSD) empleando el programa R-Project 4.0.5 (Lüdecke et al., 2020).

Resultados y discusiones

En la parte a de la figura 1 se presentan los °API del petróleo crudo muestreado en el pozo Iride y el diésel empleado en el método indirecto para calcular °API; asimismo, en la parte b de la figura 1, se exhiben los °API de las muestras según el tiempo de intemperización.

Figura 1. °API de petróleo crudo y de extracto de hidrocarburos presentes en suelos contaminados



Nota: PC es petróleo crudo. D denota derrame. F, I6 e I12 denotan el tiempo de intemperizado (0, 6 y 12 meses). H, P y Cu refieren a Huimanguillo, Paraíso y Cunduacán, respectivamente.

Algunos estudios como el de Guzmán-Osorio et al. (2021) han relacionado los impactos de los hidrocarburos sobre los suelos a partir de los °API de estos, ya que lo relacionan con las fracciones SARA. En este sentido, en la figura 1a, se observa que el petróleo crudo tiene ~17.18 °API (ordenada al origen), cifra calculada por el método de dilución (en diésel añejado ~37.88 °API) extrapolando las masas al 100 %. Según la escala API, este sería un crudo pesado (Morales-Bautista et al., 2013). En términos de impactos ambientales, Adams et al. (2015) reportan que este tipo de petróleo afecta el desarrollo de las plantas debido al bajo potencial hídrico en los suelos, pero Marín-García et al. (2016) mencionan que esto depende de la concentración del hidrocarburo y el tipo de suelo.

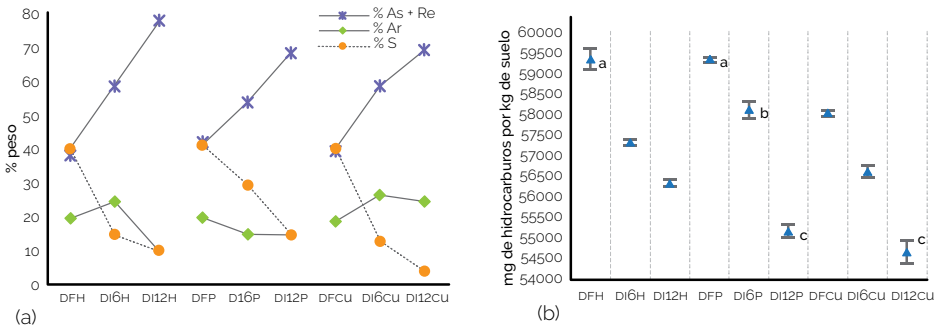
Asimismo, en la figura 1b se observa que los °API de los extractos de HTP para muestras de derrame fresco DFH, DFP y DFCu, así como del PC, no presentan diferencias entre sí (0.25 > HSD), por lo que planteamos la hipótesis de que el hidrocarburo no cambia su densidad en un derrame fresco y el tipo de suelo podría no influir. No obstante, al comparar los derrames después de 6 meses, todas las muestras presentan diferencias significativas entre sí (0.25 < HSD); además, en el caso de las muestras de 12 meses, no se observaron diferencias entre DI12H y DI12P (0.25 > HSD; ~3 °API), pero ambas muestras son diferentes al DI12Cu (~8 °API).

En este sentido, Adams et al. (2008) y Morales-Bautista et al. (2016) mencionan que los efectos de los hidrocarburos sobre los diversos tipos de suelos podrían estar en función de los °API. Estos autores mencionan que mientras más pesado sea el hidrocarburo, mayores serán sus efectos de repelencia al agua, lo que se relaciona con baja capacidad de campo y altas densidades; esta última también fue reportada por Domínguez-Rodríguez et al. (2020) en sitios restaurados y con muy bajas concentraciones de hidrocarburos. Aunque estos resultados son preliminares, debido a que en el presente trabajo se contaminaron suelos con el mismo hidrocarburo y fueron intemperizados bajo las mismas condiciones ambientales, las variaciones de los °API permiten establecer la hipótesis de que el hidrocarburo se degrada de manera diferente dependiendo del tipo de suelo.

En este sentido Hook (2020) y Álvarez-Coronel et al. (2021) relacionan degradación o transformación con las texturas del suelo. Los más arcillosos disponen menos degradación, lo que coincide con el presente estudio y algunos reportes locales, ya que los suelos de Cunduacán también fueron estudiados por Gutiérrez y Zavala (2002) y Gómez-Mellado et al. (2020), quienes encontraron que suelos como el vertisol y el gleysol (arcillosos) tienden a almacenar con mayor facilidad los hidrocarburos, en comparación con suelos de textura gruesa (Paraíso, reportado por Palma-López et al., 2017). Tomando en cuenta estas observaciones, estos efectos estarían mayormente marcados en las muestras a 12 meses de Huimanguillo y Paraíso, comparadas con las de Cunduacán, que posen una mayor densidad que las anteriores; no obstante, a 6 meses, los efectos podrían ser mayormente visibles en el extracto de Huimanguillo, ya que las muestras de Paraíso y Cunduacán poseen densidades API mayores.

Por otro lado, en la parte a de la figura 2 se expresan las fracciones SARA de los extractos de las muestras de HTP. Del mismo modo, en la parte b de la figura 2 se expresan los resultados de los HTP presentes en las muestras de suelos contaminados e intemperizadas a 6 y 12 meses.

Figura 2. Contenido de hidrocarburos en suelos contaminados



Nota: D denota derrame. F, I6 e I12 denotan el tiempo de intemperizado (0, 6 y 12 meses). H, P y Cu refieren a Huimanguillo, Paraíso y Cunduacán, respectivamente.

Como se aprecia en la figura 2a, las fracciones SARA de los hidrocarburos son similares para las muestras de derrame fresco (% As HSD < 098, % R HSD < 3.99, % Ar HSD < 2.82 y % S HSD < 4.04), pero son diferentes entre sí para los intemperizados a 6 y 12 meses (% As HSD > 098, % R HSD > 3.99, % Ar HSD > 2.82 y % S HSD > 4.04).

Marín-García et al. (2016) y Lu et al. (2018) atribuyen estas diferencias a los °API de las muestras, ya que observaron que mientras más pesado sea el hidrocarburo (figura 1b), tendrá menores fracciones ligeras y mayores fracciones pesadas; también se puede apreciar que este comportamiento evidente es el mismo en los tres suelos, ya que se observa una tendencia decreciente del % S conforme avanza el tiempo de intemperizado, lo que hace evidente la degradación de estas fracciones. Por el contrario, se observa un aumento de las fracciones % As+Re conforme aumenta el tiempo de intemperizado. Ambas fracciones son parte de la fracción residual de degradación o transformación del hidrocarburo y son relacionadas por Adams et al. (2008) y Morales-Bautista et al. (2016) con posibles efectos sobre el desarrollo de las plantas debido a la repelencia al agua; es decir, conforme se intemperiza el hidrocarburo, las fracciones residuales podrían ocasionar efectos en la capacidad hídrica de los suelos.

No obstante, aunque según estos resultados el suelo mayormente afectado sería Cunduacán (arcilloso), algunos trabajos como los de Marín-García et al. (2016) y Gómez-Mellado et al. (2020) mencionan que las condiciones de inundación a las que son expuestos permiten que parte del agua sea retenida en los poros macroscópicos debido al nivel freático elevado. Pérez-Hernández et al. (2017) observaron que estas condiciones podrían favorecer que algún tipo de planta se desarrolle en el largo plazo.

Es importante destacar que no existe una tendencia para % Ar para los suelos de Cunduacán y Huimanguillo, ya que a 6 meses las concentraciones son mayores

que en fresco (lo que hace evidente una transformación). McIntosh et al. (2017) y Álvarez-Coronel et al. (2020) asocian este comportamiento con el contenido en arcillas con los organismos presentes en la materia orgánica y con los posibles cambios a los que los suelos son sometidos durante todo el año (inundación y estiaje). Los reportes de Palma-López et al. (2017) podrían demostrar esta hipótesis, ya que según su estudio ambos suelos poseen mayor % R con respecto de los suelos de Paraíso, que suelen tener mayor % A. Diversos estudios han destacado sobre la importancia de evaluar la fracción % Ar, ya que están relacionadas con efectos tóxicos mediante su posible biomagnificación en sembradíos, por lo que es importante identificar el tipo de compuestos aromáticos presentes en las muestras, en este sentido (Islam Khan et al., 2018; Bidja et al., 2019).

Según lo observado en la figura 2b, no existen diferencias significativas entre DFH y DFP (775 > HSD), pero ambas muestras son diferentes en DFCu (775 < HSD). Si se considera que estas muestras representan las extracciones en derrames frescos, las muestras DFH y DFP (~98 %) presentan mayores extracciones que DFCu (~97 %). Morales-Bautista et al. (2020) y Kuppusamy et al. (2020) atribuyen este comportamiento al contenido de arcilla en el suelo, lo cual coincide con los reportes locales de Gutiérrez y Zavala (2002) y de Palma-López et al. (2017).

Los suelos de Cunduacán son aluviales y con alto contenido de arcillas que pueden retener hidrocarburos. Sin embargo, este comportamiento no se mantiene al intemperizar la muestra, ya que al comparar las muestras DI12P y DI12Cu no se observaron diferencias significativas entre ellas (775 > HSD). Destaca que la cantidad de hidrocarburo encontrada en las muestras podría variar en función del tipo de suelo y el tiempo de intemperizado, lo cual coincide con lo expuesto por Pons-Jiménez et al. (2011).

Por otro lado, en la tabla 2, se ilustran los resultados de las propiedades físicas y químicas de los suelos testigos y contaminados.

Tabla 2. Propiedades de suelos testigos y contaminados

Muestra	pH	CE (dS/m)	DA (g/cm^3)	% Po	% CC	% MO	% A	% R
TH	5.61 ± 0.10	0.012 ± 0.0002	1.09 ± 0.022	38 ± 0.56	66 ± 1.32	1.15 ±0.023	50 ± 1	34 ± 0.68
DFH	6.01 ± 0.13	0.166 ± 0.003	1.41 ± 0.023	40 ±0.67	37 ± 0.74	1.13 ± 0.022	98 ± 1	2 ± 0.01
DI6H	6.21 ± 0.12	0.166 ± 0.002	1.45 ± 0.029	41 ± 0.81	24 ± 0.48	0.5 ± 0.01	99 ± 1	1 ± 0.02
DI12H	6.43 ± 0.11	0.141 ±0.001	1.44 ± 0.028	41 ± 0.79	21 ± 0.42	0.3 ± 0.006	99 ± 1	1 ± 0.02
HSD	0.29	0.006	0.16	1.96	2.01	0.042	2.81	0.83
TP	7.17 ± 0.14	2.11 ± 0.042	1.14 ±0.021	21 ± 0.41	18 ± 0.36	1.01 ± 0.01	85 ± 1	5 ±1
DFP	6.83 ± 0.16	2.37 ± 0.043	1.65 ± 0.033	20 ± 0.21	11 ± 0.22	1 ± 0.02	98 ± 1	0
DI6P	6.85 ± 0.11	2.36 ± 0.033	1.67 ± 0.011	21 ± 0.37	11 ± 0.12	0.3 ± 0.001	99 ± 1	0

(*Continúa*)

DI12P	6.88 ±0.13	2.41 ± 0.034	1.71 ± 0.013	19 ± 0.23	8 ± 0.16	0.1 ± 0.001	99 ±1	0
HSD	0.33	0.105	0.076	0.996	0.61	0.0356	4.6	N/A
TCu	7.50 ± 0.15	0.013 ± 0.002	1.01 ± 0.022	40 ± 0.45	47 ± 0.94	3.12 ± 0.61	34 ± 1	51 ± 1
DFCu	6.79 ± 0.12	0.123 ± 0.001	1.23 ± 0.016	38 ± 0.56	46 ± 0.11	3.15 ± 0.48	68 ± 2	9 ±1
DI6Cu	7.11 ± 0.11	0.124 ± 0.001	1.33 ± 0.026	38 ± 0.76	44 ± 0.88	2.5 ± 0.12	66 ± 1	15 ± 1
DI12Cu	7.01 ± 0.10	0.023 ± 0.003	1.32 ± 0.011	37 ± 0.51	44 ± 0.46	2 ±0.11	62 ± 2	15 ± 1
HSD	0.34	0.005	0.06	1.87	1.59	0.13	2.1	1.38

Nota: TH refiere a los suelos testigos de Huimanguillo; TP, a los suelos testigos de Paraíso; y TCu a los suelos testigos de Cunduacán.

En la tabla 2, se aprecia que, después de contaminar los suelos, algunos de los parámetros presentan cambios. Tales cambios son permanentes, ya que después de un periodo de intemperizado no presentan diferencias con respecto de su valor al momento de haberse contaminado (diferencias de medias < HSD calculadas para cada parámetro). No obstante, los parámetros afectados varían según el tipo de suelo, por ejemplo, se observan mayores reducciones de % MO, % R, % CC y DA en el suelo de Paraíso con respecto de los otros dos suelos, pero entre las muestras de Huimanguillo y Cunduacán los porcentajes de afectación varían; este último es el que menores variaciones presenta en estas propiedades. Los resultados anteriores coinciden con los reportes de Chen et al. (2019) y Domínguez-Rodríguez et al. (2020), quienes mencionan que, en términos del nivel de impacto, este varía dependiendo del tipo de suelo, pero algunas de las propiedades no se recuperan, por lo que posiblemente se afecten sus funciones principales.

Por ejemplo, el pH en todas las muestras contaminadas es menor y diferente con respecto de sus testigos (diferencias de medias > HSD calculado). Este mismo comportamiento se observa para % A y % R, en este caso, las muestras contaminadas no son diferentes entre sí, pero todas ellas son diferentes a su testigo (diferencias de medias > HSD calculado). Sin embargo, en términos de clasificación del suelo, solo la muestra de Cunduacán pasó de ligeramente alcalino a neutro, en cambio las muestras de Paraíso y de Huimanguillo conservaron su clasificación en neutro y moderadamente ácido, respectivamente. Algunos reportes mencionan que el cambio en el pH se debe a que se agregan fracciones de hidrocarburos con este carácter, pero al irse degradando, este parámetro puede variar (Partovinia y Rasekh, 2018; Johnston et al., 2019).

Algunas propiedades del suelo, como el pH, resultan vitales para el desarrollo de las plantas. El pH regula la disposición de nutrientes, lo cual podría delimitar el desarrollo de algunas especies; no obstante, algunos reportes mencionan que este comportamiento también puede estar en función de la materia orgánica, la capacidad de campo y las arcillas en el suelo, así como del potencial hídrico. Además, se ha observado que la materia orgánica provee los nutrientes y las ar-

cillas con cationes y microporos que permiten la retención de agua reflejadas en % CC (Adams et al., 2015).

Por ejemplo, Pérez-Hernández et al. (2017) observaron que las especies disminuyen su crecimiento significativamente a medida que aumentaba la concentración, pero la supervivencia de las plantas no se vio afectada. Además, Hernández Rodríguez et al. (2019) encontraron que solo se inhibía el crecimiento de algunas variedades y de otras no. Ambos trabajos plantean que el contaminante inhibe la actividad biológica como consecuencia de los cambios en las propiedades de los suelos y relacionaron esta afectación con las variaciones de pH, bajo contenido de % MO, % R y % CC, parámetros que resultan ser importantes para los organismos endémicos, ya que algunos son poco tolerantes a estos cambios (Hernández-Valencia et al., 2017; Pérez et al., 2019).

Es importarte mencionar que algunos trabajos han resaltado la importancia de la mineralogía de los suelos y de las condiciones a las que estos son expuestos. Por un lado, se ha observado que, cuando el hidrocarburo se deposita sobre el suelo, forma aglomerados (Xu et al., 2020). En toda una cuenca hidrológica, los cambios suelen depender de varios factores (Shin et al., 2019), pero algunos reportes de sedimentos han observado un incremento de % A en suelo con presencia de hidrocarburos residuales (Wang et al., 2013; Brooks et al., 2020). Otros estudios como los de Álvarez-Coronel et al. (2020) y Salimnezhad et al. (2021) mencionan que el tipo de arcilla podría también influir en la disposición y las transformaciones de hidrocarburos. En este contexto, Palma-López et al. (2017) señala que los suelos de Cunduacán poseen mayormente arcillas expandibles con asociaciones de vertisoles y gleysoles que son expuestos a saturados; en cambio, el suelo de Huimanguillo no, ya que es de una zona alta, con algunas pendientes no prolongadas, por lo que los primeros pudieran tener menores afectaciones con respecto de los segundos (Méndez-Moreno et al., 2021).

Otros parámetros importantes son DA, % Po y % CC, que disminuyen en paralelo con el tiempo de intemperizado. En términos de porcentajes, el suelo de Paraíso es el más afectado, ya que DA aumenta más del 40 % y posee alto porcentaje de % A, por lo que podría existir compactación (Adams et al., 2015). Además, aunque la porosidad no se ve del todo afectada, algunos estudios mencionan que la reducción del contenido en % R, % MO y % CC pueden relacionarse con microporosidad (Morales-Bautista et al., 2016). A lo anterior, habría que sumar que los altos porcentajes de % As aumentan la repelencia al agua (Marín-García et al., 2016). Por ser estas propiedades importantes, el suelo de Cunduacán es el menos afectado, ya que posee menores reducciones en todos ellos; no obstante, las figuras 1 y 2 muestran que existe una fracción residual que no es extraída del suelo y que existen muchas variaciones en la fracción de aromáticos, por lo que en estos suelos existe el riesgo de biomagnificación (Ololade et al., 2021).

Conclusiones

Se concluye que los hidrocarburos pueden variar sus propiedades cuando son sometidos a la intemperie, pero dependen del tiempo de intemperizado y del tipo de suelo. También se encontró que los efectos de los hidrocarburos sobre las propiedades de los suelos son diferentes, ya que algunos tienden a almacenarlos y otros no. Este fenómeno permite que la degradación de las diversas fracciones también sea diferente. En consecuencia, algunos presentan mayores fracciones residuales que otros, por lo que pueden tener mayores problemas de repelencia y de establecimiento de las plantas.

Debido a que el tipo de suelo aún no es considerado dentro de las evaluaciones de LBA, es importante que se agregue a los reglamentos. Además, algunas propiedades de los suelos, tales como MO, CIC y CC, presentan efectos permanentes, por lo que hay que establecer estudios a largo plazo de cómo estos cambios pueden influir en el desarrollo de plantas endémicas que representan un valor cultural, con el fin de determinar los efectos socioambientales y sus estrategias de prevención.

Se concluye que las fracciones SARA están relacionadas con los efectos sobre los suelos. Es necesario que se evalúe la tendencia de degradación antes de establecer estrategias de remediación, principalmente porque las fracciones saturadas disminuyen y aumentan las fracciones pesadas, pero esto depende del tipo de suelo. Además, no existe una tendencia de aumento o disminución de fracciones aromáticas, por lo que hay que evaluar estas fracciones en términos de disponibilidad para determinar el tipo de plantío por inducir y así evitar biomagnificación.

Referencias

Adams, R. H., Álvarez-Ovando, A. L. y Castañón, G. (2015). Effect of hydrocarbon concentration of pasture production (*Brachiaria humidicola*) in Texistepec, Veracruz. *Phyton, International Journal of Experimental Botany, 84*(1), 222-232. https://doi.org/10.32604/phyton.2015.84.222

Adams, R. H., Zavala-Cruz, J. y Morales-García, F. (2008). Concentración residual de hidrocarburos en suelo del trópico. II: afectación a la fertilidad y su recuperación. *Interciencia, 33*(7), 483-489. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442008000700005

Álvarez-Coronel, G., Domínguez-Rodríguez, V. I., Adams, R. H., Palma-López, D. J. y Zavala-Cruz, J. (2020). The role of soil clays in mitigating or exacerbating impacts to fertility in crude oil-contaminated sites. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, *43*(2), 119-139.

Álvarez-Coronel, G., Domínguez-Rodríguez, V. I., Ovando-García, N. y Adams, R. H. (2021). Stabilization and solidification technology for treating heavy oil-contaminated sediments. *International Journal of Environmental Science and Technology*, *19*, 1437-1446. https://doi.org/10.1007/s13762-021-03200-w

Barcena Hinojal, I. (2020). Entrevista a Víctor Manuel Toledo Manzur. *Ecología Política*, *60*, 128-132. https://www.jstor.org/stable/27041591

Bidja Abena, M. T., Li, T., Shah, M. N. y Zhong, W. (2019). Biodegradation of total petroleum hydrocarbons (TPH) in highly contaminated soils by natural attenuation and bioaugmentation. *Chemosphere*, *234*, 864-874. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.111

Brooks, G. R., Larson, R. A., Schwing, P. T., Diercks, A. R., Armenteros, M., Diaz-Asencio, M., Martínez-Suárez, A., Sanchez-Cabeza, J. A., Ruiz-Fernandez, A. C., Herguera, J. C., Pérez-Bernal, L. H. y Hollander, D. J. (2020). Gulf of Mexico (GoM) bottom sediments and depositional processes: a baseline for future oil spills. En A. Steven, C. Murawski, H. Ainsworth, G. Sherryl, D. J. Hollander, C. B. Paris, M. Schlüter, D. L. Wetzel (Eds.), *Scenarios and responses to future deep oil spills* (pp. 75-95). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-12963-7_5

Checa-Artasu, M. y Hernández, R. (Eds.). (2018). *El petróleo en México y sus impactos sobre el territorio*. Instituto Mora.

Chen, J., Zhang, W., Wan, Z., Li, S., Huang, T. y Fei, Y. (2019). Oil spills from global tankers: Status review and future governance. *Journal of Cleaner Production*, *227*, 20-32. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.04.020

Comisión Nacional del Agua. (2019). *Resúmenes mensuales de temperaturas y lluvia*. Recuperado el 1 de abril de 2020. https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/temperaturas-y-lluvias/resumenes-mensuales-de-temperaturas-y-lluvias

Domínguez-Rodríguez, V. I., Adams, R. H., Vargas-Almeida, M., Zavala-Cruz, J. y Romero-Frasca, E. (2020). Fertility deterioration in a remediated petroleum-contaminated soil. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *17*(2), 382. https://doi.org/10.3390/ijerph17020382

Eklund, R. L., Knapp, L. C., Sandifer, P. A. y Colwell, R. C. (2019). Oil spills and human health: contributions of the Gulf of Mexico Research Initiative. *GeoHealth*, *3*(12), 391-406. https://doi.org/10.1029/2019GH000217

Ferguson, A., Solo-Gabriele, H. y Mena, K. (2020). Assessment for oil spill chemicals: current knowledge, data gaps, and uncertainties addressing human physical health risk. *Marine Pollution Bulletin*, *150*, 11-14. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110746

Gautam, P., Bajagain, R., y Jeong, S. W. (2020). Combined effects of soil particle size with washing time and soil-to-water ratio on removal of total petroleum hy-

drocarbon from fuel contaminated soil. *Chemosphere*, *250*, 126206. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126206

Gómez-Mellado, A. Y., Morales-Bautista, C. M., De la Garza-Rodríguez, I. M., Torres-Sánchez, S. A. y Sánchez-Lombardo, I. (2020). Evaluation of two remediation techniques applied to a site impacted by petroleum production waters *Terra Latinoamericana*, *38*(1), 77-89. https://doi.org/10.28940/terra.v38i1.564

Gutiérrez, M. y Zavala, J. (2002). Rasgos hidromórficos de suelos tropicales contaminados con hidrocarburos. *Terra Latinoamericana, 20*(2), 101-111. https://www.redalyc.org/pdf/573/57320202.pdf

Guzmán-Osorio, F. J., Domínguez-Rodríguez, V. I., Adams, R. H., Lobato-García, C. E., Guerrero-Peña, A. y Barajas-Hernández, J. R. (2021). Classification of petroleum origin and integrity by FTIR. *Egyptian Journal of Petroleum, 30*(2), 63-67. https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2021.03.003

Hernández Ibarzábal, J. A. (2017). Gas security in the land of insecurity: governance challenges of shale gas development in Mexico. *Journal of Energy & Natural Resources Law, 35*(4), 363-376. https://doi.org/10.1080/02646811.2017.1358001

Hernández Rodríguez, C., Ojeda Quintana, L. J., Arteaga Rodríguez, O. y Sánchez Cordero, L. (2019). Emergencia y desarrollo del maíz (*Zea mays L.*) en un suelo contaminado con Hidrocarburos Totales del Petróleo en fase inicial y a 340 días de biorremediación en biopilas. *Revista Científica Agroecosistemas*, *7*(2), 94-102. https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes/article/view/297

Hernández-Valencia, I., Lárez, L. M. y García, J. V. (2017). Evaluación de la toxicidad de un suelo contaminado con diferentes tipos de crudos sobre la germinación de dos pastos tropicales. *Bioagro*, *29*(2), 73-82. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612017000200001

Hook, S. E. (2020). Beyond thresholds: a holistic approach to impact assessment is needed to enable accurate predictions of environmental risk from oil spills. *Integrated Environmental Assessment and Management*, *16*(6), 813-830. https://doi.org/10.1002/ieam.4321

Johnston, J. E., Lim, E. y Roh, H. (2019). Impact of upstream oil extraction and environmental public health: a review of the evidence. *Science of the Total Environment*, *657*, 187-199. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.483

Islam Khan, M. A., Biswas, B., Smith, E., Mahmud, S. A., Hasan, N. A., Khan, M. A. W., Naidu, R. y Megharaj, M. (2018). Microbial diversity changes with rhizosphere and hydrocarbons in contrasting soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *156*, 434-442. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.006

Kiani, M., Raave, H., Simojoki, A., Tammeorg, O. y Tammeorg, P. (2021). Recycling lake sediment to agriculture: effects on plant growth, nutrient availability, and leaching. *Science of the Total Environment*, *753*, 141984. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141984

Kuppusamy, S., Maddela, N. R., Megharaj, M. y Venkateswarlu, K. (2020). Approaches for remediation of sites contaminated with total petroleum hydrocarbons. En K. Sarany (Ed.). *Total petroleum hydrocarbons* (pp. 167-205). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-24035-6_7

Lu, J. (2016). Use of chemical fingerprint data to enhance remedial site investigations at petroleum impacted sites. *Environmental Forensics*, *17*(1), 19-26. https://doi.org/10.1080/15275922.2015.1133736

Lu, Y., Yuan, J., Lu, X., Su, C., Zhang, Y., Wang, C., Cao, X., Li, Q., Su, J., Ittekkot, V., Garbutt, R. A., Bush, S. R., Fletcher, S., Wagey, T., Kachur, A. y Sweijd, N. (2018). Major threats of pollution and climate change to global coastal ecosystems and enhanced management for sustainability. *Environmental Pollution*, *239*, 670-680. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.04.016

Lüdecke, D., Ben-Shachar, M. S., Patil, I. y Makowski, D. (2020). Extracting, computing and exploring the parameters of statistical models using R. *The Journal of Open Source Software*, *5*(53), 2445. https://doi.org/10.21105/joss.02445

Marín-García, D. C., Adams, R. H. y Hernández-Barajas, R. (2016). Effect of crude petroleum on water repellency in a clayey alluvial soil. *International Journal of Environmental Science and Technology*, *13*, 55-64. https://doi.org/10.1007/s13762-015-0838-6

McIntosh, P., Schulthess, C. P., Kuzovkina, Y. A. y Guillard, K. (2017). Bioremediation and phytoremediation of total petroleum hydrocarbons (TPH) under various conditions. *International Journal of Phytoremediation*, *19*(8), 755-764. https://doi.org/10.1080/15226514.2017.1284753

Megharaj, M., y Naidu, R. (2017). Soil and brownfield bioremediation. *Microbial Biotechnology*, *10*(5), 1244-1249. https://doi.org/10.1111/1751-7915.12840

Méndez-Moreno, J. C., Garza-Rodríguez, I. de la, Torres-Sánchez, S. A., Jiménez-Pérez, N. C., Sánchez-Lombardo, I., López-Martínez, S., Lobato-García, C. E. y Morales-Bautista, C. M. (2021). Changes in restored soils subject to weathering and their implication in Mexican environmental regulations. *Terra Latinoamericana*, *39,* 1-21. https://doi.org/10.28940/terra.v39i0.798

Mendoza Cantú, A. e Ize Lema, I. A. R. (2017). Las sustancias químicas en México. Perspectivas para un manejo adecuado. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, *33*(4), 719-745. https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.04.15

Mendoza-Carranza, M., Sepúlveda-Lozada, A., Dias-Ferreira, C. y Geissen, V. (2016). Distribution and bioconcentration of heavy metals in a tropical aquatic food web: a case study of a tropical estuarine lagoon in SE Mexico. *Environmental Pollution*, *210*, 155-165. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.12.014

Morales-Bautista, C. M., Adams, R. H., Guzmán-Osorio, F. y Marín-García, D. (2013). Dilution-extrapolation hydrometer method for easy determination of API gravi-

ty of heavily weathered hydrocarbons in petroleum contaminated soil. *Energy and Environment Research*, *3*(1), 115-124. https://doi.org/10.5539/eer.v3n1p115

Morales-Bautista, C. M., Adams, R. H., Hernández-Barajas, J. R., Lobato-García, C. E. y Torres-Torres, J. G. (2016). Characterization of fresh and weathered petroleum for potential impacts to soil fertility. *International Journal of Environmental Science and Technology*, *13*(11), 2689-2696. https://doi.org/10.1007/s13762-016-1097-x

Morales-Bautista, C. M., Méndez-Olán, C., López-Martínez, S., y Ojeda-Morales, M. E. (2020). Design of experiments to optimize soxhlet-HTP method to establish environmental diagnostics of polluted soil: optimization of the soxhlet-HTP method by DOE. En Eugenia Carrillo-Cedillo (Ed.). *Design of experiments for Chemical, pharmaceutical, food, and industrial applications* (pp. 33-52). IGI Global. https://www.igi-global.com/viewtitlesample.aspx?id=245585&ptid=233159&t=Design%20of%20Experiments%20to%20Optimize%20Soxhlet-HTP%20Method%20to%20Establish%20Environmental%20Diagnostics%20of%20Polluted%20Soil:%20Optimization%20of%20the%20Soxhlet-HTP%20Method%20by%20DOE&isxn=9781799815181

Ololade, I. A., Oladoja, N. A., Ololade, O. O., Saliu, T. D., Alabi, A. B., Obadawo, S. B. y Anifowose, M. M. (2021). Bioaccumulation and toxic potencies of polycyclic aromatic hydrocarbons in freshwater biota from the Ogbese River, Nigeria. *Environmental Monitoring and Assessment*, *193*(1), 1-15. https://doi.org/10.1007/s10661-020-08759-4

Ordaz-Celedón, M. A. y Martínez-Mendoza, M. L. (2020). Análisis de la problemática del lavado de dinero obtenido a través del huachicol con base a la Ley Federal de Hidrocarburos. *VinculaTégica EFAN,* (1), 766-779 http://www.web.facpya.uanl.mx/Vinculategica/Vinculategica6_1/60%20ORDAZ_MARTINEZ.pdf

Palma-López, D. J., Jiménez-Ramírez, R., Zavala-Cruz, J., Bautista-Zúñiga, F., Gavi-Reyes, F. y Palma-Cancino, D. Y. (2017). Actualización de la clasificación de suelos de Tabasco, México. *Agro Productividad*, *10*(12), 29-35. https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/33

Partovinia, A. y Rasekh, B. (2018). Review of the immobilized microbial cell systems for bioremediation of petroleum hydrocarbons polluted environments. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, *48*(1), 1-38. https://doi.org/10.1080/10643389.2018.1439652

Pérez-Hernández, I., Ochoa-Gaona, S., Adams, R. H., Rivera-Cruz, M. C., Pérez-Hernández, V., Jarquín-Sánchez, A., Geissen, V. y Martínez-Zurimendi, P. (2017). Growth of four tropical tree species in petroleum-contaminated soil and effects of crude oil contamination. *Environmental Science and Pollution Research, 24*(2), 1769-1783. https://doi.org/10.1007/s11356-016-7877-5

Pérez Muñoz, Y., López Martínez, S., Rodríguez Luna, A. R. y Ramos Arcos, S. (2019). Evaluación de impacto socioambiental, por derrame de petróleo de un ducto en Comalcalco, Tabasco. *Journal of Basic Sciences*, *5*(15), 134-152. https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000129

Peschard Mariscal, J., Salazar Rebolledo, M. G. y Olea Gómez, O. A. (2021). ¿Qué sabemos del robo de combustible en México? Claroscuros de un delito que no cede. *Revista Mexicana de Ciencias Políticas y Sociales*, *66*(241), 245-280. https://doi.org/10.22201/fcpys.2448492xe.2020.241.75273

Pons-Jiménez, M., Guerrero-Peña, A., Zavala-Cruz, J. y Alarcón, A. (2011). Extracción de hidrocarburos y compuestos derivados del petróleo en suelos con características físicas y químicas diferentes. *Universidad y Ciencia*, *27*(1), 1-15. http://www.scielo.org.mx/pdf/uc/v27n1/v27n1a1.pdf

Rabelo Avalos, Á. V., Ramos Muñoz, D. E., Díaz Perera, M. Á., y Mesa Jurado, M. A. (2021). El petróleo en Tabasco: Propuesta para una periodización. *Revista Mexicana de Sociología, 83*(1), 129-155. https://doi.org/10.22201/iis.01882503p.2021.1.60025

Rodríguez Cuervo, L. S. (2019). Index properties, mineralogy composition and strength of clay soil with the presence of diesel. *SN Applied Sciences*, *1*(1), 83. https://doi.org/10.1007/s42452-018-0092-x

Salimnezhad, A., Soltani-Jigheh, H., y Soorki, A. A. (2021). Effects of oil contamination and bioremediation on geotechnical properties of highly plastic clayey soil. *Journal of Rock Mechanics and Geotechnical Engineering, 13*(3), 653-670. https://doi.org/10.1016/j.jrmge.2020.11.011

Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (2019, 11 de diciembre). Trabajará Semarnat con afectados de seis regiones del país con altos impactos ambientales y de salud. https://www.gob.mx/semarnat/prensa/trabajara-semarnat-con-afectados-de-seis-regiones-del-pais-con-altos-impactos-ambientales-y-de-salud

Shin, B., Bociu, I., Kolton, M., Huettel, M. y Kostka, J. E. (2019). Succession of microbial populations and nitrogen-fixation associated with the biodegradation of sediment-oil-agglomerates buried in a Florida sandy beach. *Scientific Reports*, *9*(1), 1-11. https://doi.org/10.1038/s41598-019-55625-6

Stout, S. A. y Wang, Z. (2016). Chemical fingerprinting methods and factors affecting petroleum fingerprints in the environment. En S. A. Stout y Z. Wang (Eds.), *Standard handbook oil spill environmental forensics* (pp. 61-129). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803832-1.00003-9

Vietor, R. H. y Sheldahl-Thomason, H. (2017). *Mexico's energy reform*. Harvard Business School Case. https://www.hbs.edu/faculty/Pages/item.aspx?num=52187

Wang, Y., Feng, J., Lin, Q., Lyu, X., Wang, X. y Wang, G. (2013). Effects of crude oil contamination on soil physical and chemical properties in Momoge wetland of

China. *Chinese Geographical Science*, *23*(6), 708-715. https://doi.org/10.1007/s11769-013-0641-6

Xu, H., Wang, Q., Wang, X., Feng, W. y Zhu, F. (2020). Diffusion of polycyclic aromatic hydrocarbons between water and sediment and their ecological risks in Wuhu city, Yangtze River Delta urban agglomerations, China. *Applied Geochemistry, 119*, 104627. https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2020.104627

Normas jurídicas

NOM-021-RECNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis.

NOM-138-SEMARNAT-SSA1-2012. Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y lineamientos para el muestreo en la caracterización y especificaciones para la remediación.

Efecto de la contaminación producida por fosas petroleras sobre la riqueza florística, las características fisicoquímicas del suelo y la actividad microbiana en sabanas de Venezuela

Alejandra Carolina Zamora Figueroa*
Ismael Enrique Hernández Valencia*
Nora Felipa Malaver Quijada*
Oriana Cristina Santos Goncalves*
María del Pino Rodríguez*

Resumen

Las fosas petroleras son depósitos de hidrocarburos, cortes de perforación, agua y otros desechos de la actividad petrolera. En Venezuela, constituyen pasivos ambientales, particularmente, en ecosistemas de sabanas, donde se desarrolla la mayor parte de la explotación petrolera. El impacto de la contaminación del suelo producida por las fosas ha sido poco estudiado, pero es necesario abordarlo para diseñar estrategias de rehabilitación de suelos afectados. El propósito de este trabajo fue evaluar el efecto de la contaminación de suelos adyacentes a fosas petroleras sobre las características fisicoquímicas del suelo, la vegetación y la comunidad microbiana cultivable (bacterias y hongos), así como su capacidad para ser utilizada en tecnologías de remediación para el saneamiento de estas áreas afectadas. Para ello, se recolectaron muestras de vegetación y suelo superficial en los bordes de cuatro fosas petroleras, con evidencias visibles de contaminación con hidrocarburos, y en áreas adyacentes no contaminadas. Se determinaron la riqueza florística, las características fisicoquímicas del suelo y la actividad microbiana a través de la cuantificación, el aislamiento y la caracterización bioquímica de bacterias y hongos. También se determinó la capacidad de cepas aisladas de las zonas contaminadas para degradar hidrocarburos y producir biosurfactantes. Los resultados mostra-

* Centro de Ecología Aplicada. Instituto de Zoología y Ecología Tropical. Universidad Central de Venezuela. alejandra.zamora@gmail.com

ron mayor concentración de aceites y grasas en las áreas contaminadas, así como una disminución significativa tanto de la densidad de microorganismos como de la riqueza florística en presencia del hidrocarburo. Los perfiles fisiológicos sugieren cambios en la estructura funcional de las comunidades microbianas en las zonas contaminadas, asociados a una alta frecuencia de microorganismos con capacidad hidrocarburoclástica y producción de biosurfactantes. Las plantas que se establecen en las áreas contaminadas junto con los microorganismos asociados tienen potencial para degradar hidrocarburos a través de la producción de biosurfactantes, lo cual revela la importancia de plantas y microorganismos tolerantes en la rehabilitación de áreas degradadas por la contaminación de hidrocarburos.

Palabras clave

Contaminación del suelo, fosas petroleras, comunidades microbianas, degradación de hidrocarburos, Venezuela.

Introducción

Los hidrocarburos de petróleo son mezclas complejas de compuestos orgánicos, tales como alcanos, cicloalcanos e hidrocarburos aromáticos, asociados con elementos como el nitrógeno, el azufre, el oxígeno y numerosos cationes (Ozyurek y Bilkay, 2020). Constituyen la materia prima y la fuente de energía más importante de la industria; sin embargo, durante la perforación de pozos, la producción, el transporte y la refinación del petróleo se generan grandes cantidades de desechos contaminantes que representan un alto riesgo operacional, ambiental y humano.

En el pasado, los desechos generados durante la perforación y la producción de petróleo y gas eran dispuestos en fosas ubicadas cerca del sitio del pozo (U. S. Department of the Interior, Minerals Management Service, 1996). Por tanto, las fosas podían contener una variedad de desechos, como lodos de perforación, aguas de producción y material impregnado con hidrocarburos. En Venezuela, esta práctica también solía ser común, y para 2005 se contabilizaron alrededor de 12 mil fosas que llegaron a representar el mayor pasivo ambiental de la industria petrolera venezolana (PDVSA, 2015). Esta situación llevó a un cambio en las prácticas de disposición de desechos petroleros y se promovió el inicio de labores de saneamiento de fosas, principalmente con el uso de métodos biológicos por ser más económicos y con menor impacto sobre el suelo (Infante et al., 2010).

Un aspecto relevante de la construcción de fosas petroleras es que la mayoría de estas carecen de revestimiento, el cual es obligatorio de acuerdo con la normativa ambiental vigente en Venezuela (Decreto núm. 2635. Normas para el control de la recuperación de materiales peligrosos y el manejo de los desechos peligrosos). Sin embargo, la mayoría de estas fosas fueron construidas antes de la promulgación de esta normativa, por lo que aún en desuso, muchas de las fosas existentes en la actualidad representan un riesgo ambiental, ya que son fuentes de contaminación difusa de suelos y aguas. Los hidrocarburos contienen elementos químicos que resultan tóxicos para todos los seres vivos. Particularmente en el suelo, son capaces de obstaculizar la actividad enzimática (Alrumman et al., 2015); en el caso de las plantas, afecta procesos como la germinación de semillas y el brote de meristemos, la elongación radicular y la fotosíntesis (Sangeetha y Thangadurai, 2014; Hernández-Valencia et al., 2017a). Los hidrocarburos también afectan los microorganismos del suelo, que representan parte importante del ecosistema y son clave en los procesos biogeoquímicos (Zamora et al., 2017).

Desde el punto de vista microbiano, la contaminación por hidrocarburos en el suelo induce la selectividad de especies, lo que disminuye la diversidad de microorganismos, ya que el estrés que genera la presencia de los hidrocarburos permite que algunos microorganismos desarrollen y utilicen respuestas enzimáticas y fisiológicas especializadas (Atlas, 1991; Zamora et al., 2012). Esta es la base sobre la que se han desarrollado las tecnologías de biorremediación, que permiten disminuir la concentración de hidrocarburos en el suelo hasta cumplir determinados criterios de limpieza (López e Infante, 2021).

Con base en lo antes expuesto, este trabajo tuvo como objetivo determinar el impacto de la contaminación con hidrocarburos de suelos adyacentes a fosas petroleras sobre las características fisicoquímicas del suelo, la vegetación y la estructura funcional de la comunidad microbiana cultivable (bacterias y hongos). De igual modo, este trabajo se propuso determinar la capacidad de tal comunidad microbiana para ser utilizada en tecnologías de remediación para el saneamiento de estas áreas impactadas.

Metodología

Área de estudio

El área de estudio seleccionada se encuentra ubicada al sur del estado Anzoátegui, distrito San Tomé, en las áreas operacionales Dación (municipio Pedro María Freites) y Socororo (municipio Francisco de Miranda) (figura 1), dentro de la faja petrolífera del Orinoco. Geológicamente, el área de estudio está emplazada en la

mesa de Guanipa, formación mesa de los llanos orientales de Venezuela (Coplanarh, 1974), con suelos altamente meteorizados y poco fértiles (Casanova, 2005), donde la vegetación predominante es de sabanas, con elementos arbóreos dispersos. El área presenta un clima tropical lluvioso de sabana con dos estaciones: entre noviembre y abril, la temporada de sequía; y entre mayo y septiembre, el periodo de lluvia. La precipitación anual es de 1000-2000 mm y la temperatura media anual oscila entre 26 y 28 °C.

Se escogió esta área para el estudio debido a que en los llanos orientales de Venezuela se encuentra un gran número de fosas petroleras, pues la faja petrolífera del Orinoco es el principal yacimiento petrolero del país. Se seleccionaron cuatro fosas: tres ubicadas en el Área Operacional Dación y una en el Área Operacional Socororo (figura 1), identificadas tal como indica la tabla 1.

Figura 1. Ubicación geográfica de las áreas de estudio



Fuente: modificado de Pimentel (2006).

Tabla 1. Características generales de las fosas evaluadas

Fosa	Dimensión	Tipo de crudo	Tiempo de operación	Ubicación
LG276	70 x 43 m	Mediano/ liviano	30 años	8°55´7.3˝ N 63°48´9.4˝ W
DEFO2	85 x 75 m	Mediano/ liviano	10 años	8°56´16.5˝ N 63°53´54.7˝ W
DED3	90 x 75 m	Mediano/ liviano	50 años	8°55´16.7˝ N 63°49´47˝ W
ES402	6 x 9 m	Liviano	Desconocido	8°46´42˝ N 64°35´25.4˝ W

Muestreo

El diseño muestral consistió en demarcar tres transectas, desde el borde de la fosa hacia el exterior no afectado. En cada transecta, se delimitaron dos parcelas de 10 x 5 m, una justo al borde de la fosa, donde había evidencia visual de contaminación con hidrocarburo (C) y la otra en la zona no contaminada (NC), con separación variable entre las parcelas, según las características particulares de cada fosa. En general, se delimitaron seis parcelas de 50 m^2 en cada fosa, para un total de 24 parcelas en las cuatro fosas seleccionadas. En cada parcela, se colectaron muestras botánicas de las plantas más abundantes y se tomaron muestras de suelo (0-10 cm de profundidad) con lo que se conformaron tres muestras compuestas por parcela.

Identificación de plantas

El material botánico fue procesado e identificado, y los duplicados se enviaron al Herbario del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC).

Caracterización del suelo

La caracterización de suelo del área de estudio se realizó previamente a través de la metodología establecida por Anderson e Ingram (1982) y el detalle puede encontrarse en Hernández-Valencia et al. (2017b). Los parámetros evaluados son textura, conductividad, pH, fósforo disponible (Pdisp), nitrógeno total (% N), calcio (Ca), magnesio (Mg), sodio (Na), potasio (K) y aluminio (Al). Además, para determinar el contenido de hidrocarburos, se siguió el método EPA 3540 utilizando diclorometano para la extracción (U. S. EPA, 1996).

Caracterización microbiológica

Se tomaron 5 g de cada muestra de suelo y se agregaron en matraces con 25 mL de una solución al 0.85 % de NaCl; luego se agitaron durante 8 h. De cada matraz se tomó una alícuota de 1 mL, se realizaron diluciones seriadas y se sembraron por triplicado en placas de Petri con agar plate count para bacterias y agar Sabouraud para hongos. Luego del tiempo de incubación, se cuantificaron las unidades formadoras de colonia (UFC) por gramo de suelo, y se aislaron todos los diferentes morfotipos.

El perfil fisiológico se caracterizó mediante pruebas bioquímicas en las cuales cada cepa se enfrentó con diversos sustratos y fuentes de carbono de interés que indican una potencial degradación de polímeros orgánicos complejos. Para determinar la capacidad de utilizar celulosas y hemicelulosas se utilizaron agar celulosa y agar pectina, y para la capacidad de degradar polisacáridos

estructurales complejos se empleó agar lignina (Parkinson et al., 1971). La actividad lipolítica en las cepas aisladas se determinó con agar Tween, medio elaborado a base de Tween 80 en el que se detecta la producción de lipasas para degradación de compuestos orgánicos grasos (Vanavil et al., 2013). La capacidad para producir ureasas y proteasas se determinó con el medio urea y gelatina (McFaddin, 2004). Para la capacidad de utilizar hidrocarburos como única fuente de carbono (capacidad hidrocarburoclástica), se empleó medio mínimo mineral suplementado con hidrocarburo al 1 % (Prakash e Irfan, 2011). El porcentaje de uso de sustrato se determinó como "frecuencia de utilización", el cual corresponde al número de respuestas positivas con respecto al total de cepas aisladas.

Producción de biosurfactantes

Se seleccionaron aquellas cepas bacterianas que presentaron actividad lipolítica e hidrocarburoclástica, y se realizaron pruebas adicionales con el fin de determinar su capacidad de producir biosurfactantes o bioemulsificantes: a) prueba de actividad hemolítica en agar sangre suplementado con sangre desfibrilada de conejo a razón de 50g/L (Anandaraj y Thivakaran, 2010) y b) detección de compuestos tensoactivos de naturaleza iónica en agar azul, agar de medio mínimo salino suplementado con glucosa al 2 %, 0.005 g/L de azul de metileno y, respectivamente, 0.5 g/L de bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) para surfactantes aniónicos o 0.5 g/L dodecilsulfato sódico (SDS) para surfactantes catiónicos (Saranya et al., 2015).

Análisis de datos

Se realizó un análisis multivariante permutacional de varianza de una vía (permanova, por sus siglas en inglés; Anderson et al., 2008) para señalar diferencias estadísticamente significativas de las variables fisicoquímicas del suelo y microbiológicas, entre sitios contaminados y no contaminados adyacentes a las fosas petroleras. Cada prueba se realizó utilizando 999 permutaciones bajo la suma de cuadrados (SS) de tipo III, y un modelo reducido para generar un estadístico F permutado y un valor de p. Para el análisis, se usó el software Primer 6 y Permanova+ versión 6.1.16. Además se realizó un análisis de componentes principales basado en una matriz de correlación de las frecuencias de utilización de sustratos, con el fin de determinar cambios en los patrones fisiológicos de las comunidades microbianas en los sitios contaminados y no contaminados en cada fosa estudiada; para ello se usó el software Canoco 4.5 (Braak y Smilauer, 2002).

Resultados

Análisis de suelos y vegetación

En la tabla 2, pueden apreciarse los parámetros evaluados de los suelos estudiados. Todos ellos refieren una baja disponibilidad de compuestos. La fosa ES402 cuenta con la menor cantidad de calcio y magnesio intercambiable, lo que ocasiona que el suelo sea más ácido que los demás. La fosa DED3 presenta el contenido más alto en aceites y grasas, seguida de las fosas LG276 y DEFO2. El suelo adyacente a la fosa ES402 cuenta con la menor cantidad de aceites y grasas.

Tabla 2. Características físicas y químicas de los suelos contaminados (C) y no contaminados (NC) adyacentes a las fosas

Característica	Fosa							
	LG276		DEFO2		DED3		ES402	
	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C
pH	5.3	5.3	5.6	5.2	5.7	5.7	4.4	4.4
N total (%)	0.02	0.04	0.03	0.03	0.04	0.02	0.04	0.07
P disponible (ppm)	4.2	3.9	3.8	3.1	3.5	2.7	4.9	4.7
Calcio (cmol kg^{-1})*	1.41	1.43	1.93	2.01	2.00	1.97	0.38	0.57
Magnesio (cmol kg^{-1})*	1.43	1.39	1.80	1.15	1.26	1.29	0.18	0.09
Potasio (cmol kg^{-1})*	0.09	0.11	0.06	0.09	0.09	0.11	0.08	0.05
Sodio (cmol kg^{-1})*	0.04	0.06	0.04	0.04	0.04	0.03	0.08	0.10
Aluminio (cmol kg^{-1})*	0.06	0.04	0.08	0.02	0.05	0.03	0.05	0.04
Aceites y grasas (%)	0.15	6.63	0.14	6.06	0.04	8.62	0.03	1.53

Nota: los valores (*) corresponden a la fracción intercambiable de estos elementos. Se presenta la media aritmética (n = 3). Modificado de Hernández-Valencia et al. (2017b).

Se determinaron diferencias estadísticamente significativas ($P_{perm} < 0.05$) al comparar las variables fisicoquímicas de los suelos contaminados y no contaminados en las fosas petroleras estudiadas (tabla 3). Estas mostraron que los suelos de los bordes de las fosas (contaminados) presentan condiciones fisicoquímicas diferentes a los suelos no contaminados adyacentes a estas.

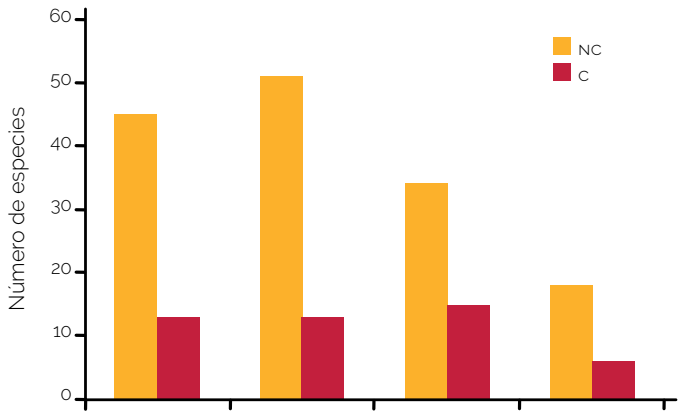
Tabla 3. Análisis permanova de variables fisicoquímicas del suelo

Variable	g. l.	sc	PseudoF	P_{perm}	% cv
Condición del suelo (C, NC)	2	304.32	5.8641	0.002	36.48
Residual	29	752.49			63.52
Total	31	1056.8			

Nota: g. l. equivale a grados de libertad; sc, a suma de cuadrados; PseudoF, a estadístico F-permutado; P_{perm}, a P-value permutado; % cv, a coeficiente de variación; NC, a suelo no contaminado; y C, a suelo contaminado.

La riqueza de especies de plantas es mayor en los suelos no contaminados de las fosas LG276 y DEFO2, con 45 y 51 especies, respectivamente; mientras que la riqueza de especies en las fosas DED3 y ES402 fue de 34 y 18 especies, respectivamente. Esta riqueza disminuye en los suelos contaminados a 13 especies en las fosas LG276 y DEFO2; a 15 especies en DED3; y 6 especies en ES402 (figura 2).

Figura 2. Riqueza de plantas en zonas contaminadas y no contaminadas asociadas a fosas petroleras



Nota: NC equivale a suelo no contaminado y C, a suelo contaminado.

En las áreas contaminadas se identificaron un total de 40 especies de plantas, distribuidas en 18 familias y 33 géneros. De ellas, 31 especies se encuentran presentes solamente en una de las fosas. La especie *Hyptis suaveolens* se encontró en las cuatro fosas, mientras que *Aristida setifolia*, *Cyperus aggregatus* y *Calotropis procera* se localizaron en tres de ellas; y *Chromolaena odorata*, *Passiflora foetida*, *Pavonia cancellata*, *Borreria repens* y *Waltheria indica*, en dos. Esta primera observación es un indicativo de una composición florística muy diversa entre las cuatro fosas, inclusive entre las tres que se encuentran adyacentes entre sí.

Actividad microbiana

Se determinó la abundancia microbiana cultivable en suelos contaminados y no contaminados por hidrocarburos para evaluar si dicha abundancia cambia significativamente de una condición a otra. Los resultados indicados en la tabla 4 muestran que la presencia del contaminante disminuyó la abundancia de bacterias en tres o cuatro órdenes de magnitud respecto a la abundancia determinada en las zonas no contaminadas. De igual manera, la abundancia fúngica fue menor en las áreas contaminadas respecto de la zona no contaminada.

Tabla 4. Densidad bacteriana en las muestras de suelo (UFC/g suelo)

	Bacterias		Hongos	
	NC (x 10^{11})	C (x 10^{8})	NC (x 10^{5})	C (x 10^{3})
LG276	62.3	8	5.2	7.9
DEFO2	240	2.39	3.43	10
DED3	4	3.79	3.5	8.4
ES402	4.8	1.5	2.44	7

Nota: se presenta la media aritmética (n = 3).

El perfil fisiológico de la comunidad microbiana se caracterizó al usar pruebas bioquímicas vinculadas a la descomposición de materia orgánica y degradación de hidrocarburos. Se observaron similitudes en la respuesta en los suelos de las fosas estudiadas (tabla 5). Al comparar los perfiles bioquímicos de las comunidades microbianas de suelos contaminados y no contaminados (tabla 6), se encontró que hay diferencias significativas en los patrones de uso de sustratos en ambas condiciones ($P_{perm} < 0.05$).

Tabla 5. Frecuencia de uso de sustratos de la comunidad microbiana (bacterias y hongos) de la zona contaminada y no contaminada

FOSA	Prueba bioquímica													
	Urea		Proteasas		Pectina		Celulosa		Lignina		Lipasas		HC	
	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C
LG276	0.01	0.12	0.69	0.65	0.86	0.75	0.93	0.92	0.92	0.79	0.82	0.71	0.45	0.82
DEFO2	0.06	0.17	0.65	0.82	0.86	0.85	0.92	0.90	0.90	0.84	0.77	0.51	0.50	0.81
DED3	0.02	0.21	0.87	0.65	0.92	0.88	0.96	0.93	0.94	0.87	0.66	0.76	0.48	0.66
ES402	0.21	0.07	0.58	0.44	0.90	0.65	0.49	0.45	0.70	0.68	0.47	0.58	0.48	0.79

Nota: se presenta la media aritmética (n = 3).

Tabla 6. Análisis permanova de variables microbiológicas del suelo

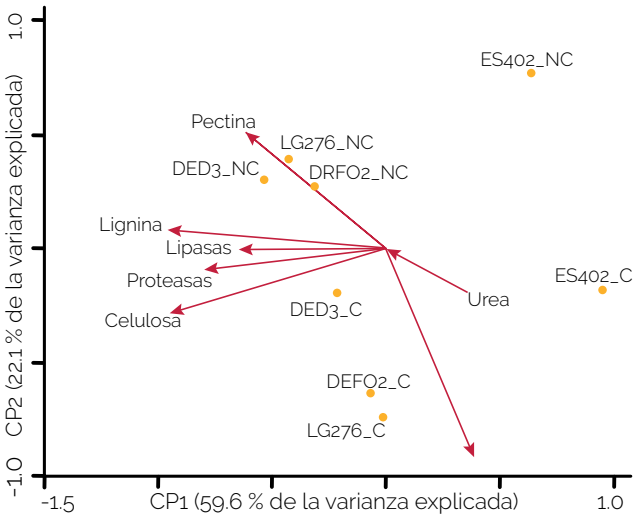
Variable	g. l.	sc	PseudoF	P_{perm}	% cv
Condición del suelo (C, NC)	1	465.98	4.166	0.004	20.87
Residual	22	2460.9			79.13
Total	23	2926.9			

Nota: g. l. equivale a grados de libertad; sc, a suma de cuadrados; PseudoF, a estadístico F-permutado; P_{perm}, a P-value permutado; % cv, a coeficiente de variación; NC, a suelo no contaminado; y C, a suelo contaminado.

Dichas diferencias se muestran en la figura 3, donde el análisis realizado de componentes principales, que explica el 81.7 % de la varianza de los datos, indica que la estructura funcional de las comunidades microbianas asociadas a las fosas LG276, DEFO2 y DED3, ubicadas en el campo Dación, fue similar; mientras que el perfil fisiológico de las comunidades microbianas de los suelos asociados a la fosa ES402, ubicada en Campo Socororo, fue diferente.

La figura 3 también muestra que los perfiles fisiológicos de las comunidades microbianas asociadas a los suelos no contaminados fueron diferentes a los suelos contaminados. Se observa que estas diferencias están correlacionadas principalmente a la frecuencia de degradación de celulosa, a la producción de ureasas y a la degradación de hidrocarburo, respuestas que fueron más frecuentes en suelos contaminados.

Figura 3. Análisis de componentes principales de los perfiles fisiológicos de las comunidades microbianas (bacterias y hongos) aislados de suelos contaminados y no contaminados adyacentes a fosas petroleras



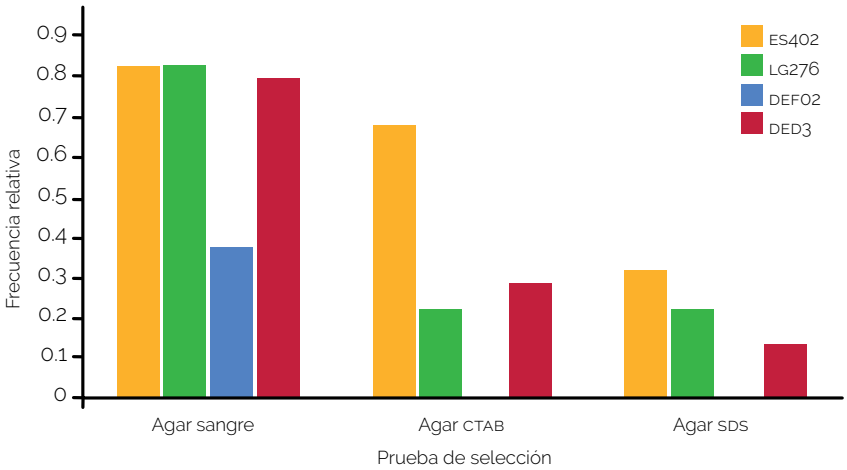
Nota: NC equivale a suelo no contaminado, y C a suelo contaminado.

Degradación de hidrocarburos y producción de surfactantes

Aquellas bacterias aisladas de suelos contaminados de cada fosa, que presentaron actividad lipolítica y capacidad hidrocarburoclástica, se sometieron a pruebas de selección de potencial producción de biosurfactantes. Los resultados se muestran en la figura 4. Se observa que la mayor frecuencia de bacterias con potencial de producción de biosurfactantes se encuentra en los suelos asociados a las fosas ES402 y LG276.

Se determinó un elevado porcentaje de cepas con capacidad hemolítica (agar sangre) en las fosas ES402 (82 %), LG276 (83 %), DED3 (79 %) y DEFO2 (37 %). La respuesta disminuye con las pruebas confirmatorias para detección de biosurfactantes por su naturaleza iónica, pues se encontró que el 67 % de bacterias aisladas del suelo de la fosa ES402 producen surfactantes aniónicos (prueba de CTAB) y un 31 % de estas bacterias produce biosurfactantes catiónicos (prueba de SDS). De igual manera, el 22 % de las bacterias aisladas de la fosa LG276 produce biosurfactantes aniónicos y otro 22 % produce surfactantes catiónicos; el 28 % de bacterias de la fosa DED3 produce biosurfactantes aniónicos y 13 % produce biosurfactantes catiónicos; mientras que de la fosa DEFO2 no se detectó producción de surfactantes iónicos.

Figura 4. Frecuencia de bacterias con potencial de producción de biosurfactantes aisladas de suelos de fosas petroleras



Discusión

La contaminación por hidrocarburos causa severos daños ecológicos en el suelo. Es por ello por lo que la remediación de los sitios contaminados es materia prioritaria de investigación en la actualidad. Los suelos estudiados cuentan con las características propias de suelos bien drenados de las sabanas (López-Hernández y Hernández-Valencia, 2008), los cuales se caracterizan por contar con una baja concentración de nutrientes y acidez moderada. Se evidenciaron cambios significativos de las condiciones edáficas por la contaminación con hidrocarburos (tabla 3). Este cambio se atribuye a la concentración de aceites y grasas en el suelo contaminado, pues los hidrocarburos interfieren con el intercambio de cationes (Osuji y Opiah, 2007; Zamora et al., 2012).

El suelo contaminado adyacente a la fosa DED3 presenta la mayor concentración de aceites y grasas (8.62 %), seguido por el suelo adyacente a las fosas LG276 (6.63 %) y DEFO2 (6.06 %) y, finalmente, está la fosa ES402 (1.53 %). La concentración de aceites y grasas es de 10 a 40 veces mayor que en los suelos no contaminados (0.20 %); sin embargo, dichos aceites y grasas corresponden principalmente a hidrocarburos de petróleo (Infante y Morales, 2012), ya que, aunque la técnica utilizada no discrimina entre fuentes minerales y biológicas, es bien sabido que estos suelos cuentan con muy baja cantidad de materia orgánica, por lo que las únicas fuentes de aceites y grasas son externas.

Cabe mencionar que todas las muestras de suelos estudiados presentan una concentración de aceites y grasas mayor a la permisible de acuerdo con el Decreto núm. 2635, el cual establece que el porcentaje máximo de este tipo de contaminantes en suelo es de 3 % para desechos confinados y 1 % para desechos esparcidos. En este caso, todos los suelos sobrepasan el límite para desechos esparcidos y tres de ellos (DED3, DEFO2 y LG276) sobrepasan el límite de desechos confinados.

Con respecto a la vegetación, los resultados mostraron que la riqueza de especies en las zonas contaminadas es menor que en las zonas no contaminadas. Esto indica que la presencia del contaminante afecta el establecimiento de algunas especies de plantas, una consecuencia que ha sido reportada ampliamente en la literatura (Dos Santos y Maranho, 2018). Un aspecto importante de mencionar, es que la composición florística entre las fosas DED3, DEFO2 y LG276 es muy diferente entre sí, tomando en cuenta que se encuentran geográficamente cerca una de la otra. La variedad de especies depende principalmente de los efectos ocasionados por la contaminación y la intervención humana, esto se evidencia ya que predominan especies vegetales propias de sitios intervenidos. Por tanto, la diferencia florística entre las fosas depende de su antigüedad, de la característica de los desechos, así como de la homogeneidad de la contaminación alrededor de la fosa y la frecuencia con la cual se conforman los depósitos de residuos en el sitio. En total, se encontraron 27 especies características de sitios intervenidos, entre las cuales destacan *Calotropis procera*, *Calotropis gigantea*, *Ricinus communis* y *Andropogom gayanus* (Duno de Stefano et al., 2006; Hernández Valencia et al., 2017b), las cuales han sido introducidas ampliamente en el país.

La presencia de vegetación en las áreas contaminadas con hidrocarburos representa una ventaja en la aplicación de tecnologías biológicas para la rehabilitación de estas áreas, pues la tolerancia de las plantas al contaminante y a la microbiota asociada podría facilitar la fitodegradación del hidrocarburo (Wiszniewska et al., 2016), además de procurar un mejor aspecto paisajístico.

Los perfiles fisiológicos de las comunidades microbianas de los suelos estudiados también mostraron diferencias significativas entre contaminado y no contaminado (tabla 6). Estos cambios, de acuerdo con los valores mostrados en la tabla 5, se relacionan con la frecuencia de microorganismos con capacidad para degradar hidrocarburos. Este resultado demuestra que la presencia del contaminante induce selectividad de grupos capaces de tolerar la presencia de hidrocarburos (Ruiz et al., 2021).

Los patrones de uso de sustratos de las comunidades microbianas asociadas a los suelos contaminados difieren de los del suelo no contaminado en la producción de exoenzimas, como proteasas y ureasas (figura 3). Las enzimas son consideradas importantes indicadores debido a que catalizan las reacciones me-

tabólicas en diversos procesos, como la descomposición. En el caso de los compuestos orgánicos resistentes a la biodegradación, las deshidrogenasas, ureasas y lipasas se han utilizado para indicar el proceso de biodegradación de hidrocarburos de petróleo, pues estas enzimas disminuyen su actividad cuando el proceso de biodegradación declina (Wang et al., 2010). Por su parte, el incremento de la actividad de hidrólisis proteica ocasionado por proteasas puede deberse a su movilización y a la degradación de microorganismos muertos a causa de la toxicidad de los contaminantes. Aunque, de acuerdo con Fontúrbel (2004), estas enzimas pueden presentar mayor actividad, ya que son fundamentales en la cinética de los procesos de degradación.

Así, para que los hidrocarburos puedan ser degradados por los microorganismos, deben cumplirse determinadas condiciones; entre ellas, la biodisponibilidad de las moléculas del hidrocarburo que para el ataque microbiano es crucial (Varjani y Upasani, 2017). La biodisponibilidad de los contaminantes depende de sus propiedades químicas, tales como hidrofobicidad y volatilidad, propiedades del suelo, condiciones ambientales y actividad biológica. La hidrofobicidad y la baja solubilidad de las moléculas de hidrocarburo hacen que estas sean adsorbidas más fuertemente por los componentes del suelo, con lo que disminuye su disponibilidad para el ataque microbiano.

Los biosurfactantes son moléculas anfipáticas que las bacterias producen como metabolitos secundarios en la fase estacionaria del crecimiento (Yan et al., 2012) y que facilitan la disolución o la desorción, solubilización o incluso emulsificación de las moléculas de hidrocarburos. Esta estrategia de ataque microbiano al contaminante ha sido ampliamente estudiada para facilitar las labores de biorremediación.

Los resultados de la figura 4 indican que un elevado porcentaje de bacterias aisladas de las zonas contaminadas, y que presentaron capacidad de utilizar el hidrocarburo como fuente de carbono y energía, tiene potencial de producir biosurfactantes. Se utilizó la prueba de agar sangre según fuentes bibliográficas que señalan cómo la ruptura de las células de sangre (lisis hemolítica) podría deberse a la presencia de moléculas activas de biosurfactantes (Cameotra y Makkar, 1998; Satpute et al., 2008). Se encontró que las mayores respuestas positivas se obtuvieron de las fosas ES402, LG276 y DED3. Las pruebas de agar azul (CTAB, SDS) son las denominadas *pruebas de comportamiento específico*, que se basan en las observaciones en medios de cultivo y el comportamiento de los biosurfactantes sobre estos, lo que facilita la detección de microorganismos productores de biosurfactantes (Mnif y Ghribi, 2015). Estas pruebas confirmaron que las bacterias de la fosa DEFO2 no presentaron la capacidad de producir biosurfactactantes con carga iónica; estos son del mayor interés en la biorremediación por ser los más eficientes (Shukla y Tyagi, 2006).

Al comparar los resultados de las pruebas de CTAB y SDS de las tres fosas con respuesta positiva a las pruebas, llama la atención que en el caso de la fosa ES402, el porcentaje de cepas productoras de biosurfactantes con carga aniónica es mucho mayor que el de aquellas que producen biosurfactantes de carga catiónica, mientras que para las fosas LG276 y DED3, la tendencia fue una mayor frecuencia de producción de biosurfactantes catiónicos respecto de los aniónicos (figura 4).

Este resultado pone en evidencia las condiciones distintas en la fosa ES402 respecto a las demás. Esta fosa se encuentra alejada de las demás fosas de estudio. Además, las condiciones nutricionales del suelo, la acidez y el tipo de crudo de la fosa estudiada es diferente, lo que podría contribuir en las diferencias encontradas, pues el tipo de surfactante producido depende de factores fisiológicos determinados por las necesidades de los microorganismos (Walter et al., 2010). Los biosurfactantes con carga iónica son los de mayor interés para la biorremediación de sitios contaminados con hidrocarburos; destacan por su eficiencia para reducir la tensión interfacial, la capacidad de dispersión y emulsificación (Shukla y Tyagi, 2006).

Por sus capacidades metabólicas, los microorganismos autóctonos aislados de las fosas petroleras tienen potencial para ser utilizados en tecnologías de remediación de sitios impactados por hidrocarburos. En ese sentido, diversos trabajos experimentales han demostrado que la combinación de fitorremediación y biorremediación es altamente eficiente. Un ejemplo de ello es el caso de Fatima et al. (2016), en el que se determinó la degradación de crudo usando *Brachiaria mutica* y *Leptochloa fusca* inoculadas con un consorcio de dos bacterias endofíticas degradadoras de petróleo, *Acinetobacter* sp. y *Pseudomonas aeruginosa*. Los autores reportaron degradación del 78 % comparado con un 40 % al usar solo fitorremediación. Asimismo, Almansoory et al. (2015) reportan un 93.5 % de degradación de hidrocarburos totales de petróleo, debido a un proceso combinado de fitorremediación con *Ludwigia octovalvis* inoculada con *Serratia marcescens*, productora de biosurfactantes.

De acuerdo con lo anterior y con los resultados encontrados en este estudio, la presencia de plantas tolerantes autóctonas, asociadas a una microbiota nativa con capacidad de degradar hidrocarburos y producir compuestos tensoactivos, constituye una ventaja para el diseño y la implementación de tecnologías de biorremediación altamente eficientes, orientadas a rehabilitar áreas impactadas por la actividad petrolera.

Conclusiones

Los suelos adyacentes a las fosas petroleras presentan condiciones edáficas diferentes a las de aquellos menos impactados. Estas diferencias están determina-

das por la concentración de aceites y grasas en los bordes de las fosas. La riqueza florística y la densidad microbiana son menores en las adyacencias de la fosa, lo cual evidencia el efecto negativo del hidrocarburo sobre el ecosistema suelo. A pesar de ello, se determinó una alta frecuencia de bacterias con capacidad de degradar hidrocarburos y producir biosurfactantes iónicos, por lo que el uso de plantas y microorganismos autóctonos en tecnologías de remediación podría ser muy prometedor.

En tal sentido, el uso de plantas y microorganismos autóctonos de las zonas impactadas por la actividad petrolera representa una ventaja en la aplicación de alternativas biotecnológicas para la rehabilitación de estos suelos contaminados. A largo plazo, podrían ser aprovechados sustentablemente en actividades agropecuarias o de reforestación en estos ecosistemas de sabana.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (Fonacit), proyectos 2007001401 y 2011-001218.

Referencias

Almansoory, A. F., Hasan, H. A., Idris, M., Abdullah, S. R. S. y Anuar, N. (2015). Potential application of a biosurfactant in phytoremediation technology for treatment of gasoline-contaminated soil. *Ecological Engineering*, *84*, 113-120. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.08.001

Alrumman, S., Standing, B. D. y Paton, I. G. (2015). Effects of hydrocarbon contamination on soil microbial community and enzyme activity. *Journal of King Saud University - Science, 27*(1), 31-41. https://doi.org/10.1016/j.jksus.2014.10.001

Anandaraj, B. y Thivakaran, P. (2010) Isolation and production of biosurfactant producing organism from oil spilled soil. *Journal of Bioscience and Technology, 1*(3), 120-126.

Anderson, J., e Ingram, J. (1982). Tropical soil biology and fertility: A handbook of methods. CAB International.

Anderson, M. J., Gorley, R. N. y Clarke, K. R. (2008). PERMANOVA + for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods. Primer-E.

Atlas, R. M. (1991). Microbial hydrocarbon degradation-bioremediation of oil spill. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 52*(2), 149-156. http://dx.doi.org/10.1002/jctb.280520202

Braak, C. J., Smilauer, P. (2002). Canoco for Windows version 4.51. Biometris - Plant Research International. Biometrics, Wageningen University and Research Center; Wageningen The Netherlands. https://edepot.wur.nl/405659

Cameotra, S. S., y Makkar, R. S. (1998). Synthesis of biosurfactants in extreme conditions. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *50*(5), 520-529. https://doi.org/10.1007/s002530051329

Casanova, E. (2005). *Introducción a la ciencia del suelo*. Universidad Central de Venezuela; Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico.

Comisión de Plan Nacional de Aprovechamiento de los Recursos Hidráulicos. (1974). *Estudio geomorfológico de los Llanos Orientales*. Publicación 38. Ministerio de Agricultura y Cría de la República de Venezuela.

Dos Santos, J. J. y Maranho, L. T. (2018). Rhizospheric microorganisms as a solution for the recovery of soils contaminated by petroleum: a review. *Journal of Environmental Management*, *210*, 104-113. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.01.015

Duno de Stefano, R., Aymard, G. y Huber, O. (Eds.) (2006). Catálogo anotado e ilustrado de la flora vascular de los llanos de Venezuela. Fundación de los Derechos Humanos y la Naturaleza; Fundación Polar; FIBV. https://bibliofep.fundacionempresaspolar.org/publicaciones/libros/flora-vascular-de-los-llanos-de-venezuela/

Fatima, K., Imran, A., Amin, I., Khan, Q. M. y Afzal, M. (2016). Plant species affect colonization patterns and metabolic activity of associated endophytes during phytoremediation of crude oil-contaminated soil. *Environmental Science Pollution Research International*, *23*(7), 6188- 6196.

Fontúrbel, F. (2004). Uso de algunos parámetros indicadores microbiológicos y bioquímicos para la evaluación de la contaminación por hidrocarburos y la biodegradación de los mismos, en la zona del lago Titikaka (San Pedro de Tiquina, Bolivia). *Ecología Aplicada*, *3*(1-2), 172-179.

Hernández-Valencia, I., Lárez, L. M. y García, J. V. (2017a). Evaluación de la toxicidad de un suelo contaminado con diferentes tipos de crudos sobre la germinación de dos pastos tropicales. *Bioagro, 29*(2), 73-82.

Hernández-Valencia, I., Malaver, N., Zamora, A. y González, V. (2017b). Plantas asociadas a suelos contaminados adyacentes a fosas petroleras ubicadas en los llanos orientales venezolanos. *Acta Botánica Venezuélica*, *40*(1), 31-51.

Infante, C. y Morales, F. (2012). Evaluación de la toxicidad en desechos y suelos petrolizados empleando semillas de *Lactuca sativa* L. *Interciencia*, *37*(10), 782-788. https://www.redalyc.org/pdf/339/33925472011.pdf

Infante, C., Morales, F., Ehrmann, E.U., Hernández-Valencia, I. y León, N. (2010). Hydrocarbons bioremediation and phytoremediation in tropicals soils: Venezuelan study case. En G. Plaza (Ed.). *Trends in bioremediation and phytoremediation* (pp. 429-451). Research Signpost.

López, L. e Infante, C. (2021). Cambios en los biomarcadores de la fracción de hidrocarburos saturados en un ensayo de biorremediación con un crudo extrapesado. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, *37*, 119-131.

López-Hernández, D. y Hernández-Valencia, I. (2008). Nutritional aspects in *Trachypogon* savannas as related to nitrogen and phosphorus cycling. En K. Claro, del, P. S. Oliveira y V. Rico Gray (Eds.). *Encyclopedia of life support systems. Tropical biology and conservation management. Volume X: Savanna ecosystems* (pp. 1-28). United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization; EOLSS Publishers.

McFaddin, J. (2004). *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica* (3a ed.). Panamericana.

Mnif, I. y Ghribi, D. (2015). Microbial derived surface active compounds: properties and screening concept. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *31*(7), 1001-1020. https://doi.org/10.1007/s11274-015-1866-6

Osuji, L. C. y Opiah, U. C. (2007). Hydrocarbon contamination of a terrestrial ecosystem: the case of Oshire-2 oil spill in Niger Delta, Nigeria. *Environmentalist*, *27,* 337-340. https://doi.org/10.1007/s10669-007-9034-7

Ozyurek, S. B. y Bilkay, I. S. (2020). Comparison of petroleum biodegradation efficiencies of three different bacterial consortia determined in petroleum-contaminated waste mud pit. *SN Applied Sciences*, 2, 272. https://doi.org/10.1007/s42452-020-2044-5

Parkinson, D., Gray, T. R. G. y Williams, S. T. (1971). Methods for studying the ecology of soil micro-organisms. Blackwell Scientific Publications.

Petróleos de Venezuela. (2015). *Balance de la gestión ambiental 2015*. http://www.pdvsa.com/images/balance_social_ambiental/2015/Balance_de_Gestion_de_Social_y_Ambiental_de_PDVSA_2015.pdf

Pimentel, L. C. (2006). *Prueba de interferencia entre los Pozos LM-402 y LM-229, Arena L4 del Yacimiento LM-226, en el Campo Levas, Convenio Operativo Dación* [Trabajo especial de grado de especialización, Universidad Central de Venezuela]. Saber UCV. http://saber.ucv.ve/bitstream/10872/16557/1/TRABAJO%20DE%20GRADO.pdf

Prakash, B. e Irfan, M. (2011). *Pseudomonas aeruginosa* is present in crude oil contaminated sites of Barmer region (India). *Journal of Bioremediation and Biodegradation*, *2*(5), 129. https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000129

Ruiz, O. N., Brown, L. M., Radwan, O., Bowen, L. L., Gunasekera, T. S., Mueller, S. S., West, Z. J. y Striebich, R. C. (2021). Metagenomic characterization reveals complex association of soil hydrocarbon-degrading bacteria. *International Biodeterioration and Biodegradation*, *157*, Artículo 105161. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2020.105161

Sangeetha, J. y Thangadurai, D. (2014). Effect of biologically treated petroleum sludge on seed germination and seedling growth of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (Fabaceae). *Brazilian* Archives *of Biology* and *Technology*, *57*(3), 427-433. https://doi.org/10.1590/S1516-89132014005000011

Saranya, P., Bhavani, P., Swarnalatha, S. y Sekaran, G. (2015). Biosequestration of chromium (III) in an aqueous solution using cationic and anionic biosurfactants produced from two different *Bacillus* sp. - a comparative study. *RSC Advances*, *5*(98), 80596-80611. https://doi.org/10.1039/C5RA07999C

Satpute, S. K., Bhawsar, B. D., Dhakephalkar, P. K. y Chopade, B. A. (2008). Assessment of different screening methods for selecting biosurfactant producing marine bacteria. *Indian Journal of Marine Sciences*, *37*(3), 243-250. https://nopr.niscpr.res.in/bitstream/123456789/2045/1/IJMS%2037%283%29%20243-250.pdf

Shukla, D. y Tyagi, V. K. (2006). Cationic gemini surfactants: a review. *Journal of Oleo Science*, *55*(8), 381-390. https://doi.org/10.5650/jos.55.381

U. S. Department of the Interior Minerals Management Service. (1996). Outer Continental Shelf Oil & Gas Leasing Program: 1997-2002. Final environmental impact statement (Vol. 2). U. S. Department of the Interior, Minerals Management Service. https://babel.hathitrust.org/cgi/pt?id=uva.35007002332249&view=1up&seq=5

U. S. Environmental Protection Agency. (1996). Soxhlet extraction. (v. I-B). Method 3540C. https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-12/documents/3540c.pdf

Vanavil, B., Perumalsamy, M. y Seshagiri, A. (2013). Biosurfactant production from Novel Air Isolate NITT6L: Screening, characterization and optimization of media. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, *23*(9), 1229-1243. https://doi.org/10.4014/jmb.1212.12031

Varjani, S. J. y Upasani, V. N. (2017). A new look on factors affecting microbial degradation of petroleum hydrocarbon pollutants. *International Biodeterioration and Biodegradation*, *120*, 71-83. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.02.006

Walter, V., Syldatk, C. y Hausmann, R. (2010). Screening concepts for the isolation of biosurfactant producing microorganisms. En R. Sen (Ed.), *Biosurfactants. Advances in Experimental Medicine and Biology*. *Vol. 672*, (pp. 1-13). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5979-9_1

Wang, J., Zhan, X., Zhou, L. y Lin, Y. (2010). Biological indicators capable of assessing thermal treatment efficiency of hydrocarbon mixture contaminated soil. *Chemosphere*, *80*(8), 837-844. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.06.009

Wiszniewska, A., Hanus-Fajerska, W., Muszyńska, W. y Ciarkowska, K. (2016). Natural organic amendments for improved phytoremediation of polluted soils: a review of recent progress. *Pedosphere*, *26*(1), 1-12.

Yan, P., Lu, M., Yang, Q., Zhang, H., Zhang, Z. y Chen, R. (2012). Oil recovery from refinery oily sludge using a rhamnolipid biosurfactant-producing *Pseudomonas*. *Bioresource Technology*, *116*, 24-28. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.04.024

Zamora, A. C., Ramos, J. Arias, M. y Hernández-Valencia, I. (2017). Respuesta de la comunidad microbiana al biotratamiento de un suelo contaminado con un crudo mediano. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, *33*(4), 629-639. https://doi.org/10.20937/rica.2017.33.04.07

Zamora, A., Ramos, J. y Arias, M. (2012). Efecto de la contaminación por hidrocarburos sobre algunas propiedades químicas y microbiológicas de un suelo de sabana. *Bioagro*, *24*(1), 5-12. https://www.redalyc.org/pdf/857/85723518002.pdf

Normas jurídicas

Decreto núm. 2635. Normas para el control de la recuperación de materiales peligrosos y el manejo de los desechos peligrosos. *Gaceta Oficial de la República de Venezuela*. Núm. 5245 Extraordinaria del 3-8-1998. Venezuela.

Actividades enzimáticas como herramientas para el monitoreo de la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos

Victoria Eugenia Vallejo Quintero*

Resumen

En la actualidad, la contaminación de suelos por hidrocarburos (HC) es considerada uno de los problemas ambientales más importantes a escala mundial, que representa una grave amenaza para la salud de los organismos vivos, la calidad del suelo y el mantenimiento de los ecosistemas. La biorremediación se ha convertido en una tecnología atractiva, eficiente y prometedora en comparación con los métodos fisicoquímicos empleados en la recuperación y la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos totales de petróleo (HTP) e hidrocarburos aromáticos policíclicos (HPA). No obstante, es bien sabido que la efectividad y el éxito de cualquier tecnología de biorremediación depende considerablemente de la selección y medición periódica de indicadores durante las etapas de diagnóstico y monitoreo. Por tal motivo, el empleo de parámetros bioquímicos del suelo y particularmente de las actividades enzimáticas (AE) en estudios de biorremediación ha incrementado considerablemente en los últimos años. Las AE juegan un rol fundamental en el metabolismo microbiano y el funcionamiento del suelo, por lo cual, son consideradas como bioindicadores altamente sensibles que suministran información temprana sobre la contaminación edáfica y sobre las estrategias de biorremediación implementadas. De la misma forma, se resalta su papel como mediadoras en el ciclaje de los nutrientes y en las transformaciones de diversos contaminantes para integrar información sobre el estado y la actividad de las comunidades microbianas, así como las condiciones fisicoquímicas edáficas. El presente capítulo pretende realizar una revisión sistemática de la aplicabilidad y la importancia de las AE como parte de la evaluación y monitoreo de la biorre-

* Facultad de Ingeniería y Ciencias Básicas, Universidad Central, Colombia. evallejoq@ucentral.edu.co

mediación de suelos contaminados con HC; para ello, se identificarán, por una parte, las actividades más utilizadas y sus respuestas ante la contaminación; por otra, se revisarán los métodos que más se emplean para su determinación, y se destacarán casos relevantes en el ámbito mundial.

Palabras clave

Parámetros bioquímicos, biomonitoreo, tecnologías biológicas, suelos contaminados, indicadores microbianos.

Introducción

La contaminación de suelos por hidrocarburos (HC) debido a derrames de productos derivados del petróleo se considera un problema ambiental de alto impacto a escala global que afecta la salud humana, de plantas y animales, y los ecosistemas naturales, por ello constituye una de las principales fuentes antropogénicas de contaminación edáfica en el mundo (Cai et al., 2020; Okoh et al., 2020; Quintella et al., 2019). La contaminación del suelo es un fenómeno de degradación química que provoca un detrimento en la productividad del suelo, y ocasiona graves afectaciones en la calidad edáfica. La contaminación puede resultar de actividades planeadas o involuntarias, ocurre como consecuencia de un almacenamiento de sustancias tóxicas contaminantes en concentraciones que exceden el poder de amortiguación natural del suelo, y altera negativamente sus propiedades físicas, químicas y biológicas (Rodríguez-Eugenio et al., 2019). Es así como la recuperación y saneamiento de los suelos contaminados representa una necesidad prioritaria a escala global, que a su vez ha conducido a incrementar la investigación sobre la evaluación y remediación de suelos contaminados (Okoh et al., 2020; Rodríguez-Eugenio et al., 2019; Vallejo-Quintero et al., 2016).

La contaminación puede ser atenuada a través del empleo de tratamientos biológicos como la biorremediación, un proceso en que los organismos vivos (plantas, hongos, bacterias, etc.) o sus productos se utilizan de forma natural o artificial para remediar o reducir contaminantes en el medioambiente (Martínez-Sepúlveda et al., 2019; Quintella et al., 2019). El proceso de biorremediación se basa principalmente en la capacidad de diferentes enzimas o complejos de enzimas que actúan sobre varios sustratos (Chae et al., 2017; Guauque-Torres y Bustos, 2019). Particularmente, los microorganismos son capaces de degradar o convertir diversos tipos de contaminantes que son utilizados como fuente de energía y, de esta forma, producir mayoritariamente compuestos menos tóxicos para reducir su concentración en un tiempo razonable si las condiciones ambientales son óp-

timas (Vallejo-Quintero et al., 2016; Dos Santos y Maranho, 2018). Comparada con otros tratamientos (físicos, químicos y térmicos), la biorremediación presenta diversas ventajas, tales como ser considerada económicamente viable, ser eficiente, requerir menos energía que otros tratamientos y estar catalogada como una tecnología ambientalmente amigable (Okoh et al., 2020). Es así, como investigaciones previas en el mundo han demostrado el éxito de distintas estrategias de biorremediación, como la bioaumentación, la bioestimulación y la fitoremediación para recuperar suelos afectados por derrames de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) e hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA) (Chen et al., 2019; Gospodarek et al., 2021; Vallejo-Quintero et al., 2016). Los microorganismos nativos se caracterizan por estar adaptados a las condiciones del sito contaminado y poseer una amplia diversidad metabólica que les permite degradar distintos contaminantes presentes en el ambiente (Vallejo-Quintero et al., 2016; Wu et al., 2019). No obstante, cuando la abundancia, la actividad y la biodiversidad de los microorganismos degradadores es baja, se pueden implementar estrategias como la bioaumentación, que consiste en la adición de cepas o consorcios de microorganismos autóctonos, alóctonos o, incluso, modificados genéticamente para disminuir o eliminar los contaminantes presentes (Wu et al., 2019). Para el caso de la bioestimulación, se realiza la adición de nutrientes, particularmente nitrógeno y fósforo, con el fin de estimular la actividad metabólica de los microorganismos nativos o autóctonos, y acelerar las tasas de degradación de los contaminantes (Martínez-Sepúlveda et al., 2019).

Cuando se diseña e implementa un proceso de biorremediación, debe demostrarse su eficacia a través del monitoreo de un conjunto de indicadores químicos, biológicos y microbiológicos, evaluados periódicamente (Lee et al., 2020; Vallejo-Quintero et al., 2016). A su vez, el grado de éxito y efectividad de la biorremediación depende de una serie de factores medioambientales y propiedades fisicoquímicas que influyen considerablemente en la tasa de degradación de los HTP, los cuales generalmente forman parte de ese conjunto de indicadores, tales como la textura del suelo, el pH, el contenido y relación de nutrientes (C, N y P), la temperatura, la humedad, la porosidad, la salinidad, la disponibilidad de aceptores finales de electrones (principalmente oxígeno), y la concentración y el tipo de contaminantes (Martínez-Sepúlveda et al., 2019). Sin embargo, teniendo en consideración que la biorremediación es un proceso biológico y depende de los microorganismos edáficos, es indispensable incluir en la fase de monitoreo indicadores que evalúen la dinámica y respuesta de la diversidad y actividad de los microorganismos degradadores frente a la estrategia implementada y el contaminante presente en el suelo (Cuevas-Díaz et al., 2017; Kaushal et al., 2018; Lee et al., 2020). Por ello, una determinación y una comprensión de los parámetros bioquímicos, particularmente de las actividades enzimáticas (AE), así como de las

relaciones entre estas y las variables edáficas, han tomado gran fuerza en los últimos años (Cai et al., 2020; Dos Santos y Maranho, 2018; Paneque et al., 2020).

La medición de la AE durante la biorremediación muestra el metabolismo microbiano, y esto representa el potencial del suelo para apoyar los procesos bioquímicos ecosistémicos (Margesin et al., 2007). De la misma forma, la presencia y actividad de dichas enzimas se considera como un indicador del tipo y nivel de la contaminación, así como de la calidad y la salud del suelo (Datt y Singh, 2019; Sharma et al., 2019). Se ha evidenciado que la respuesta de las AE frente a diversos factores es más evidente y temprana que en el caso de otras propiedades del suelo (físicas, químicas u otras biológicas), por tanto, se han propuesto por diversos autores como indicadores útiles en el monitoreo de la contaminación con metales pesados, pesticidas e HC (Chen et al., 2019; Margesin et al., 2007; Maurya et al., 2020; Shen et al., 2016).

Estudios previos muestran que la actividad metabólica del suelo se ve considerablemente afectada por la presencia de contaminantes, lo que genera un aumento, disminución o incluso inhibición de las AE (por ejemplo lipasas, lacasas, B-glucosidasas, deshidrogenasas, catalasas, entre otras), como respuesta de la presencia y actividad de poblaciones microbianas degradadoras nativas debido a la contaminación por HC (Chen et al., 2019; Ortiz-Maya et al., 2017; Polyak et al., 2018). El efecto sobre las AE depende fundamentalmente del tipo y de la concentración del contaminante. Por tanto, responde de acuerdo con su toxicidad y biodegradabilidad, así como con el estado fisiológico de los microorganismos (Gospodarek et al., 2021; Shen et al., 2016). Es importante resaltar que los efectos creados por los contaminantes sobre las actividades bioquímicas generan un deterioro en la salud, la calidad y, por ello, las funciones del suelo, que a su vez disminuye la productividad y ocasiona efectos irreversibles en el ecosistema (Lee et al., 2020).

Teniendo en cuenta lo anterior, en el presente capítulo se realizará una revisión sistemática acerca de la importancia y la aplicabilidad de las actividades enzimáticas como parte de la evaluación y el monitoreo de la biorremediación de suelos contaminados con HC, para lo cual, se identificarán las AE más utilizadas y sus respuestas frente a la contaminación. Además, se revisarán las metodologías más empleadas para su determinación, especificando casos destacables a escala mundial, y las nuevas perspectivas en investigación en el campo.

Generalidades sobre las actividades enzimáticas del suelo

La importancia de la medida de los parámetros bioquímicos del suelo ha incrementado considerablemente en los últimos años, puesto que intervienen en la mayoría de los procesos del suelo y son esenciales para que pueda realizar sus funciones

adecuadamente (Kaushal et al., 2018; Maurya et al., 2020). Por ejemplo, son responsables de la formación de moléculas orgánicas que participan activamente en el ciclaje de nutrientes (nitrógeno, fósforo y carbono); asimismo, cumplen un papel fundamental en procesos como la descomposición y la mineralización de materia orgánica, la inmovilización de nutrientes, la fijación de nitrógeno y la degradación de contaminantes y xenobióticos. Las actividades biológicas del suelo son sensibles a diversas condiciones de estrés ambiental, que resulta en cambios en la composición de especies y la tasa metabólica de la comunidad microbiana del suelo (Karigar y Rao, 2011; Martínez-Sepúlveda et al., 2019; Quintella et al., 2019).

Las enzimas catalizan y transforman los contaminantes orgánicos y, por tanto, actúan como potenciales bioindicadores de la remoción de los HC; esto permite diagnosticar y monitorear problemáticas de contaminación, y hacer seguimiento de procesos de recuperación y biorremediación (Chikere et al., 2011; Lee et al., 2020; Shen et al., 2016). Las AE se relacionan estrechamente con la biología del suelo, debido a que su cantidad y actividad depende de una liberación permanente por parte de los organismos vivos, además se relacionan con funciones ecológicas como la producción de biomasa, la remediación de contaminantes, y el mantenimiento y la conservación de ecosistemas (Sharma et al., 2019).

Las enzimas son moléculas de naturaleza proteínica que catalizan reacciones bioquímicas sin sufrir ninguna alteración permanente. Están compuestas de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos, en cadenas, llamadas polipéptidos (Karigar y Rao, 2011; Maila y Cloete, 2005). Las enzimas son catalizadores específicos que intervienen sobre sustratos a los que transforman en productos necesarios para los ciclos biológicos. Así determinan en gran medida las transformaciones químicas edáficas, y suministran valiosa información sobre aspectos claves asociados con la calidad del recurso suelo (Burns et al., 2013; Karigar y Rao, 2011; Datt y Singh, 2019). Factores tales como las propiedades físicas del ambiente, la composición química y el estado fisiológico de los microorganismos influye en las AE (Maila y Cloete, 2005).

Las principales fuentes de las enzimas del suelo son las raíces de las plantas, así como animales y microorganismos; dichas enzimas se clasifican en intracelulares, que forman parte de la biomasa microbiana; y en extracelulares, aquellas secretadas o liberadas al exterior durante el metabolismo y la muerte celular, aunque, por lo regular, su vida media como enzimas libres es muy corta (Burns et al., 2013; Maila y Cloete, 2005; Piotrowska-Długosz, 2017). Por último, existen las enzimas inmovilizadas o estabilizadas que corresponden a aquellas que mantienen un nivel constante y estable de AE en el suelo, independiente del crecimiento microbiano y de las formas usuales de regulación de la síntesis y secreción de enzimas (Burns et al., 2013). Este tipo de enzimas que ya no están asociadas con

células viables puede permanecer unidas u absorbidas a coloides minerales, como la arcilla, o también a coloides orgánicos, como las sustancias húmicas, que son altamente resistentes a procesos de desnaturalización (Cuevas-Díaz et al., 2017; Datt y Singh, 2019; Gianfreda y Ruggiero, 2006).

Las enzimas encontradas en el suelo corresponden a cuatro clases: hidrolasas, oxidorreductasas, liasas y transferasas (Burns et al., 2013; Piotrowska-Długosz, 2017). No obstante, la mayoría de los trabajos relacionados con la AE en suelos se ha centrado en el estudio de las oxidoreductasas por el papel en la oxidación de la materia orgánica; estas enzimas juegan un papel fundamental en la humificación de diferentes substancias fenólicas que son producidas por la descomposición de la lignina en el suelo (Maila y Cloete, 2005). Además, detoxifican xenobióticos, tales como compuestos fenólicos a través de polimerización, copolimerización con otros substratos o unión a sustancias húmicas. Por ejemplo, las reacciones enzimáticas más relevantes durante la degradación aeróbica de contaminantes orgánicos como los HC aromáticos generalmente abarcan oxidaciones catalizadas por las oxigenasas y las peroxidasas. Las primeras corresponden a oxidoreductasas que oxidan los sustratos adicionando uno (monooxigenasas) o dos átomos de oxígeno (dioxigenasas) a partir del oxígeno molecular (Carrillo-Campos, 2019). Las oxigenasas contienen un centro Rieske [2Fe-2S] con hierro (tipo no hemo) y favorecen la incorporación de dos átomos de oxígeno en el anillo aromático para formar areno cis-diol, seguido por una reacción de dehidrogenación catalizada por una cis-dihidrodiol dehidrogenasa para obtener catecol o catecol con sustituyentes, sustratos que facilitan el rompimiento del anillo aromático por otras oxigenasas (Carrillo-Campos, 2019; Gibson y Parales, 2000).

Por su parte, las hidrolasas también ejercen una importante función en procesos de descomposición y formación de compuestos orgánicos y en el ciclaje de nutrientes (Burns et al., 2013; Piotrowska-Długosz, 2017). En general, ambos grupos están involucrados en la degradación de contaminantes orgánicos, y son útiles en etapas de monitoreo durante la implementación de estrategias de biorremediación de suelos (tabla 1).

Tabla 1. Tipos de enzimas más frecuentes (oxidoreductasas e hidrolasas) empleadas en el estudio de suelos contaminados y su función

Clasificación	Nombre	Función en el suelo/Utilidad	Referencia
Oxidoreductasas	Catalasas (CAT)	Participan en la descomposición del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en oxígeno y agua/Indicadoras de la degradación de HC. Monitoreo de procesos de biorremediación de compuestos orgánicos.	Cuevas-Díaz et al. (2017); Kaushal et al. (2018); Lin et al. (2009); Polyak et al. (2018); Wolińska et al. (2016).

(*Continúa*)

Oxidoreductasas	Lacasas (LA)	Son enzimas que catalizan la oxidación de una gran diversidad de compuestos fenólicos y aromáticos (*p*-difenoles)/ Detoxificación de contaminantes y biorremediación de HPA.	Okino-Delgado et al. (2019); Strong y Claus (2011).
	Peroxidasas (PER)	Catalizan la oxidación de substratos orgánicos e inorgánicos, oxidación de lignina y otros compuestos fenólicos/Implicadas en la detoxificación de contaminantes y biorremediación de HC y fenoles.	Okino-Delgado et al. (2019).
	Deshidrogenasa (DH)	Enzima que participa en los procesos de oxidación biológica de compuestos orgánicos a través de deshidrogenación/Indicadora potencial de la actividad biológica del suelo, de la contaminación edáfica por metales pesados, pesticidas e HC. Útil en el monitoreo de procesos de biorremediación.	Chen et al. (2019); Gospodarek et al. (2021); Maurya et al. (2020); Paneque et al. (2020); Polyak et al. (2018); Wolińska et al. (2016).
Hidrolasas	Fosfatasa ácida y alcalina (FA y FAL, respectivamente)	Las fosfatasas catalizan la hidrólisis de ésteres y anhídridos del ácido ortofosfórico (H_3PO_4), al participar en la mineralización del fósforo orgánico del suelo y de la liberación del fósforo inorgánico necesario para los microorganismos y las plantas/ Útiles en el monitoreo de procesos de biorremediación, indicadores de contaminación con metales pesados, HC, fertilizantes y pesticidas.	Cuevas-Díaz et al. (2017); Chae et al. (2017); Gospodarek et al. (2021); Košnář et al. (2019); Maurya et al. (2020).
	ß-glucosidasa (GLUC)	Enzima involucrada en la sacarificación de la celulosa, cataliza la hidrólisis de ß-D-glucósidos, cuyo producto final es la glucosa, que representa una fuente importante de energía para los microorganismos del suelo/Detecta perturbaciones asociadas con la contaminación por metales pesados e HC, salinidad, cambios drásticos del pH, contenido de nutrientes, carbono orgánico y otras propiedades edáficas.	Chae et al. (2017); Lee et al. (2020); Maurya et al. (2020).

(*Continúa*)

Hidrolasas	Lipasas (LIP)	Enzimas que actúan sobre el enlace éster de las moléculas de triacilglicerol presentes en las grasas o en los aceites/Útiles en el monitoreo de contaminantes orgánicos y en procesos de biorremediación de HC.	Kumar et al. (2020); Lin et al. (2009); Okino-Delgado et al. (2019); Margesin et al. (2007); Shen et al. (2016); Sharma et al. (2019).
	Proteasas (PROT)	Enzimas que actúan en las reacciones de hidrólisis de proteínas y péptidos, y de oligopéptidos de los aminoácidos de amonio lo que las lleva a participar en el ciclo del nitrógeno/ Indicadoras de la actividad microbiana.	Chae et al. (2017); Okino-Delgado et al. (2019); Sharma et al. (2019).
	Ureasas (UR)	Catalizan la hidrólisis de urea a dióxido de carbono y amoniaco/ Indicadoras de la contaminación con hidrocarburos, pesticidas, metales pesados y fertilizantes (orgánicos e inorgánicos)/ Útiles en el seguimiento de la biorremediación.	Gospodarek et al. (2021); Polyak et al. (2018); Shen et al. (2016).
	Arilsulfatasas (ARIL)	Enzimas que catalizan la hidrólisis del éster-sulfato de la materia orgánica del suelo liberando azufre, elemento esencial, como ion sulfato (SO_4^{-2})/Útiles en procesos de seguimiento de la biorremediación.	Chae et al. (2017); Košnář et al. (2019); Lee et al. (2020).

Actividades enzimáticas empleadas en el monitoreo de la biorremediación de suelos contaminados con HC. Casos de estudio en el mundo

La contaminación por petróleo ha sido un tema de preocupación global, ya que genera deterioros en la calidad del suelo y del agua. De manera general, los derrames de petróleo en la tierra afectan los ecosistemas al alterar la vegetación natural, la vida silvestre, los procesos microbianos, las características y la salud global del suelo (Rodríguez-Eugenio et al., 2019). El impacto ecológico del petróleo en el funcionamiento de los suelos se ve con mayor claridad a través del cambio en la actividad de los microorganismos y enzimas del suelo (Martínez Sepúlveda et al., 2019; Polyak et al., 2018).

El monitoreo ambiental es una etapa fundamental en la evaluación del desempeño y la eficiencia de la remediación, cuyo proceso se basa en el seguimiento

de los cambios asociados con distintas propiedades o indicadores, y se convierte en un componente crítico para cumplir con los requisitos reglamentarios y de seguridad (Lee et al., 2020). Durante el monitoreo ambiental, y de acuerdo con los objetivos propuestos, generalmente se evalúan los contaminantes y sus metabolitos; se determina el destino y el transporte de contaminantes, y se analizan propiedades relacionadas con importantes funciones y procesos en el suelo. Al tener en cuenta lo anterior, es importante resaltar que el objetivo final de un proceso de biorremediación de suelos contaminados no solo se enfoca en eliminar el contaminante o, en su defecto, reducir su concentración hasta límites acordes con las legislaciones respectivas, sino también en recuperar la calidad y la salud del suelo (Martínez-Sepúlveda et al., 2019). Consecuentemente, es indispensable disponer de indicadores sensibles y relevantes que permitan evaluar dicha calidad, por lo que es de gran relevancia analizar la estructura y la dinámica de población microbiana degradadora y de sus AE en procesos de recuperación de suelos para conocer tanto el grado de su restauración como el de la tecnología implementada con el fin de garantizar su eficiencia y éxito.

En general, existen dos formas de ejecutar esquemas de monitoreo de la biodegradación de los contaminantes: directos, a través de la cuantificación periódica de su reducción en concentración mediante técnicas cromatográficas, espectrofotométricas, gravimétricas, entre otras (Margesin et al., 2007); e indirectos, en donde se evalúa la conversión o la transformación de los contaminantes por el metabolismo de los microorganismos; algunos de ellos incluyen mediciones en el nivel de la biomasa microbiana, recuentos de microorganismos degradadores, respirometría, actividad enzimática, entre otras (Margesin et al., 2007).

Uno de los aspectos clave por los cuales las AE se han empleado durante el monitoreo de suelos contaminados y como parte de los procesos de seguimiento en suelos sometidos a tecnologías de recuperación, ha sido la facilidad en la ejecución de los ensayos enzimáticos, los cuales involucran procedimientos sencillos, cortos y que usualmente se llevan a cabo bajo condiciones controladas en laboratorio, para poder prevenir o mitigar los cambios que pudiesen ocurrir en la composición de la biota del suelo.

Lo anterior facilita la comparación y el análisis de datos de suelos de distinta procedencia (Gianfreda y Ruggiero, 2006). Sin embargo, el desarrollo de metodologías confiables y precisas es requerido para comprender la relación causa-efecto entre un parámetro observado y la modificación de la enzima. Actualmente, se ha propuesto monitorear más de un parámetro enzimático, ya que una sola actividad no es suficiente para conocer el impacto sobre la calidad y la salud del suelo, por lo que se sugiere integrarlas a través de conjuntos mínimos de datos (CMD) que representen el estado funcional del suelo y reflejen holísticamente el impacto generado por la contaminación.

Las AE han sido utilizadas alrededor del mundo para determinar la influencia de derivados de HC sobre la calidad del componente microbiano del suelo, así como para determinar el efecto de la implementación de estrategias de biorremediación (por ejemplo fitorremediación, bioaumentación y bioestimulación) en suelos contaminados, y hacer su respectivo monitoreo (Polyak et al., 2018). De acuerdo con los estudios desarrollados, se ha evidenciado que algunas AE son inhibidas por algunas clases de HC, lo que afecta negativamente la calidad y la salud del suelo. Dicha inhibición es dependiente de la estructura y la química del suelo, así como de la naturaleza y concentración del contaminante, lo que varía considerablemente de una enzima a otra.

Por ejemplo, estudios desarrollados por Polyak et al. (2018) evaluaron el efecto de la contaminación con petróleo y de diferentes estrategias de remediación (atenuación natural, bioestimulación y bioaumentación) sobre parámetros fisicoquímicos y biológicos (AE: DH, las CAT y las UR) en suelos podzólicos. Los resultados muestran que la DH fue el indicador biológico más sensible en el estudio, al evidenciar valores significativamente mayores de dicha actividad en suelos no contaminados, en comparación con los suelos contaminados, para las tres estrategias de remediación. Los bajos valores de dicha actividad en suelos contaminados reflejan la toxicidad de los HC sobre los procesos de deshidrogenación de la materia orgánica. Similar comportamiento fue evidenciado con la CAT que fue inhibida por altas concentraciones de HC. Contrariamente, la biorremediación incrementó la actividad de UR, más evidente en la estrategia de bioaumentación y bioestimulación. De acuerdo con Paneque et al. (2020) la aplicación de aceites de motor de carro en suelos por un periodo de 89 días generó un efecto negativo sobre la DH (disminución del 63 % de la actividad) durante todo el experimento, asociado a la toxicidad ejercida de HPA (2-6 anillos aromáticos) a los microorganismos edáficos. Por su parte, la aplicación de bioestimulación en los suelos no contaminados causó un incremento en la actividad de DH, que se atribuyó a la acumulación de proteínas de alto peso molecular, las cuales son más complejas y difíciles de degradar por parte de los microorganismos del suelo, y requieren de más tiempo para lograr una completa remoción.

Estudios planteados por Chen et al. (2019) evaluaron el efecto de residuos sólidos de vertederos municipales sobre la biodegradación de TPH en reactores de fase sólida (30 semanas). Los autores proponen a la actividad de DH como un parámetro fundamental para el monitoreo de procesos de biorremediación, después de evidenciar una mayor actividad enzimática, altos recuentos de microorganismos y una abundancia superior de degradadores de HTP en los tratamientos con adición (20 % w/w) de estos residuos. El comportamiento de esta actividad fue atribuida a un incremento en la concentración del substrato y mineralización debido a la estimulación de nutrientes, así como a una mayor densidad y actividad microbiana. La disminución en la actividad de DH concuerda con la disminución en la tasa de remoción de los HTP y la presencia de intermediarios tóxicos. De mane-

ra general, los estudios anteriormente planteados concluyen que la actividad de DH es un parámetro bioquímico muy útil para evaluar distintos tipos de estrategias de biorremediación y para estudiar los factores que afectan la biorremediación de HC. La DH es una enzima clave en la comprensión del metabolismo y de los procesos microbianos y, por tanto, de la actividad biológica.

Por su parte, Lin et al. (2009) evaluaron los cambios de la población microbiana y de AE (CAT, polifenol oxidasas-PPO y LIP) por un periodo de 2 años en suelos contaminados con aceites durante la biorremediación en un experimento en campo. Las actividades de CAT y PPO en suelos contaminados decrecieron significativamente al incrementar la concentración de los HC; contrariamente, la actividad de LIP aumentó al añadir la concentración de HTP. Los cambios en dicho parámetro indicaron que los aceites en el suelo favorecieron el crecimiento de los microorganismos y mejoraron el metabolismo de los HTP. En general, la actividad de CAT fue más sensible a los hidrocarburos frente a las otras dos enzimas evaluadas, por lo que se vuelve una alternativa para el monitoreo de procesos de biorremediación.

Contrario a los estudios anteriores, Cuevas-Díaz et al. (2017) evidenciaron una mayor sensibilidad y rápida respuesta de la FAL en procesos de biorremediación de suelos contaminados con HTP; dicha actividad a su vez presentó una fuerte correlación con el crecimiento microbiano y la remoción de HTP. Es importante resaltar que los autores en su estudio evaluaron tres tipos de AE (FA, FAL y CAT) en suelos que recibieron adiciones de productos agroindustriales y macronutrientes durante la remediación de suelos contaminados con HTP. De forma similar, investigaciones llevadas a cabo por Gospodarek et al. (2021) muestran que la DH fue un buen indicador de la contaminación con diésel. Por su parte, la contaminación con aceites disminuyó la actividad de la FAL, mientras que la FA mostró una reducción para todos los tipos de HC evaluados. El efecto generado sobre las AE mostró una alta correlación y dependencia entre la naturaleza de los contaminantes petrolíferos, el tipo de enzima y el tiempo transcurrido desde la contaminación. En la tabla 2 se presenta una selección de algunos de estos y otros estudios sobre biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, así como los métodos analíticos que han empleado para cuantificar la actividad enzimática.

Tabla 2. Métodos analíticos empleados para la cuantificación de las actividades enzimáticas

Objetivo del estudio	Parámetros bioquímicos monitoreados	Método empleado para el monitoreo ambiental/Referencia	Resultados relevantes	Autores
Evaluar y comparar la remoción de HPA en suelos agrícolas después de la implementación	DH. AE ligninolíticas (lacasas y manganeso peroxidasa) y AE	DH: determinación colorimétrica del producto liberado 2,3,5-trifenilformazan (TFF) (485 nm)	Los resultados muestran que el tratamiento de microrremediación asistida	Košnář et al. (2019).

(*Continúa*)

de estrategias de atenuación natural, fitoremediación, microrremediación y microrremediación asistida con respecto a distintas AE.	hidrolíticas (B-D-glucosidasa, fosfatasas, lipasas y arilsulfatasas).	tras la incubación con cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio/ AE ligninolíticas e hidrolíticas. Método fluorométricos con sus respectivos sustratos. *4-methylumbelliferyl -D-glucopyranoside, 4-methylumbelliferyl phosphate, 4-methylumbelliferyl sulphate potasium salt y 4-methylumbelliferyl-caprylate.*	incrementó significativamente la biomasa microbiana y la actividad manganeso peroxidasa en el suelo, cuya correlación se dio fuertemente con la remoción de HPA.	
Evaluar cambios en la comunidad microbiana y las AE durante la biorremediación de suelos contaminados con diferentes concentraciones de HC por un periodo de 2 años.	CAT, Polifenol oxidasa (PPO) y LIP.	CAT: método de titulación con permanganato de potasio/Guan, 1986. PPO: Método de colorimetría. LIP: Método de titulación KOH-Etanol.	Las actividades de CAT y PPO en los suelos contaminados disminuyeron significativamente al incrementar la concentración del HC; mientras que la actividad de LIP aumentó. Las AE de CAT y PPO mejoraron después de la biorremediación, contrario a la LIP. La CAT fue la enzima más sensible a la contaminación con HC, lo que representa una alternativa para el monitoreo de procesos de biorremediación.	Lin et al. (2009).
Evaluar la respuesta de la comunidad microbiana nativa y parámetros biológicos en suelos contaminados con combustibles de automóvil y aceites de motor.	DH CAT	DH: determinación colorimétrica del producto liberado 2,3,5-trifenilformazan (TFF) (485 nm) tras la incubación a 37 °C por 24 h de muestras de suelo con cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio.	La adición de sustancias de petróleo al suelo conllevó tanto a efectos estimulantes como inhibitorios de las AE, dependiendo de la concentración	Wolińska et al. (2016).

(*Continúa*)

		CAT: determinación reversa de H_2O_2 residual por titulación con permanganato de potasio.	y tipo de contaminante (aceite nuevo, residuos de petróleo, gasolina y diésel); de estos, la gasolina fue el compuesto que generó más efectos negativos sobre las AE.	
Evaluar el efecto de distintos derivados del petróleo (gasolina, aceite de motor usado y diésel) sobre 4 AE durante los procesos de biorremediación en suelos por un periodo de 4 años.	FA FAL DH UR	FA y FAL: método de determinación espectrofotométrica (400 nm) del p-nitrofenol (p-NP) liberado. DH: método de extracción con acetona del Triphenylformazan (TPF), el cual es producto de la reacción catalizada por la dh *(546 nm)*. UR: ensayo colorimétrico de determinación del amonio liberado después de hidrolizar la urea (630 nm).	Los resultados muestran que aun después de 5 años hay efectos nocivos de los derivados de HC sobre las AE. Lo anterior fue dependiente de la enzima, tipo de contaminante y edad de la contaminación. La DH fue la enzima más sensible a la contaminación particularmente con diésel; esto la hace un bioindicador adecuado para el monitoreo de suelos contaminados.	Gospodarek et al. (2021).
Evaluar el efecto de la estrategia de bioestimulación con biocarbonos en la biorremediación de suelos contaminados con HC.	DH. Hidrólisis del diacetato de fluoresceína.	DH: método de extracción con acetona del Triphenylformazan (TPF), el cual es producto de la reacción catalizada por la dh (546 nm).	La adición de biocarbonos al suelo incrementó significativamente las AE y con ello la capacidad para degradar los HC. Al final del estudio disminuyeron las AE, asociadas a una descomposición incompleta de los biocarbonos y la presencia de HC residual que inhibe las AE.	Saeed et al. (2021).

(*Continúa*)

Evaluar el efecto de adiciones de bioproductos agroindustriales y macronutrientes sobre las AE durante la remediación de suelos contaminados con TPH.	CAT, FA y FAL	CAT: determinación reversa de H_2O_2 residual por titulación con permanganato de potasio). FA-FAL: método de determinación espectrofotométrica (400 nm) del p-nitrofenol liberado.	Las AE incrementaron significativamente después de la bioestimulación en los suelos, lo que sugiere que estas actúan adecuadamente como un indicador indirecto de la remoción de la contaminación con TPH. La FAL fue la actividad más representativa. Presentó una correlación significativa con el crecimiento microbiano y la remoción de TPH.	Cuevas-Díaz et al. (2017).
Evaluar y monitorear la ecotoxicidad de suelos contaminados con HC y seleccionar bioindicadores que puedan ser más adecuados e indicativos durante el seguimiento de la biorremediación de suelos contaminados con HC.	UR LIP DHCAT	UR. LIP. Método colorimétrico. Se usó p-nitrophenyl (pNP) butyrate como substrato. DH. Método de extracción con acetona del trifenilformazan. CAT. Método de titulación con permanganato de potasio.	De las AE analizadas, la UR, DH y CAT fueron las más sensibles en evaluar la efectividad de los procesos de biorremediación, así como para monitorear la ecotoxicidad en suelos contaminados por HC.	Shen et al. (2016).
Evaluar la influencia de tres factores (la concentración de TPH, la bioestimulación y el tiempo de incubación) sobre la remoción de HC, la AE y la estructura de la comunidad microbiana edáfica durante la biorremediación.	LIP	LIP. Método colorimétrico. Se usó p-nitrophenyl (pNP) butyrate como substrato.	Los tres factores evaluados tuvieron un efecto sobre la LIP. La bioestimulación estimuló la LIP, lo que se asocia con una pérdida de TPH, que evidencia el desarrollo de una población microbiana activa con el tiempo. La inducción	Margesin et al. (2007).

(*Continúa*)

			es debida a la formación de productos liberados de la biodegradación de HC, que representan su sustrato.	
Evaluar el efecto de dos tratamientos biológicos sobre la degradación de HC y las AE.	DH LIP GLUC	DH. Método colorimétrico con 2,3,5 TTF y posterior extracción con metanol (488 nm). LIP. Método colorimétrico. Se empleó p-nitrofenil butirato como sustrato. GLUC. Método colorimétrico. Se empleo ó *4*-Nitrophenyl B-D-glucopyranoside como sustrato.	El mejor parámetro bioquímico para la evaluación de la degradación de TPH fue la LIP, que la convierte en un excelente indicador para el monitoreo de la descontaminación con HC y los procesos de biorremediación.	Riffaldi et al. (2006).

Conclusiones y perspectivas futuras en el uso de las actividades enzimáticas

La evaluación de las AE del suelo representa una herramienta práctica, integradora, de fácil medición y de rápida respuesta frente a diversos fenómenos de degradación del suelo y estrés ambiental, entre ellos la contaminación, incluso, mucho antes de que se detecten cambios en otro tipo de indicadores de la calidad del suelo. Además, diversos estudios alrededor del mundo han corroborado su utilidad durante las fases de monitoreo y evaluación de distintos procesos de biorremediación de suelos contaminados con HC. Sin embargo, es importante destacar que la respuesta de las AE es influenciada por aspectos como la profundidad y el tipo de suelo, la temperatura, la humedad, el pH, la calidad y la cantidad de sustrato disponible, el tipo y la concentración del contaminante, así como la estructura y la composición de la comunidad microbiana del suelo; por tanto, se recomienda incluir un seguimiento de este tipo de parámetros con el objetivo de correlacionarlos con los valores obtenidos de las AE evaluadas.

Mientras algunas AE son apropiadas para monitorear la fase más activa de la biodegradación de contaminantes, otras son indicadores de bajas concentraciones de HC. Por otra parte, todavía se necesita contar con más información que permita comprender la ecología de las enzimas extracelulares en los suelos debido a

la complejidad del entorno físico y químico del suelo, así como a la diversidad de las comunidades microbianas que responden frente a la contaminación y participan en los procesos de biorremediación.

Si bien muchos de los estudios han considerado una o dos AE en sus fases de monitoreo de suelos contaminados y en procesos de biorremediación —entre las cuales son más empleadas las DH, CAT y LIP—, se sugiere seleccionar y evaluar al mismo tiempo un conjunto de AE, dado que cada una de ellas muestra diferente comportamiento frente a la condición evaluada. Esto podría facilitar la comprensión e interpretación de las AE y las implicaciones de sus mediciones en el funcionamiento del suelo, lo que a su vez permitiría evaluar la calidad del suelo de una manera efectiva y holística, y representar la tasa general de los procesos metabólicos.

Referencias

Burns, R. G., De Forest, J. L., Marxsen, J., Sinsabaugh, R. L., Stromberger, M. E., Wallenstein, M. D., Weintraub, M. N. y Zoppini, A. M. (2013). Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions. *Soil Biology and Biochemistry*, *58*, 216-234. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.11.009

Cai, P., Ning, Z., Liu, Y., He, Z., Shi, J. y Niu, M. (2020). Diagnosing bioremediation of crude oil-contaminated soil and related geochemical processes at the field scale through microbial community and functional genes. *Annals of Microbiology*, *70*, 1-15. https://doi.org/10.1186/s13213-020-01580-x

Carrillo-Campos, J. (2019). Estructura y función de las oxigenasas tipo Rieske/mononuclear. *TIP. Revista Especializada en Ciencias Químico-biológicas*, *22*. https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2019.0.196

Chae, Y., Cui, R., Woong K. S., An, G., Jeong, S. W. y An, Y. J. (2017). Exoenzyme activity in contaminated soils before and after soil washing: ß-glucosidase activity as a biological indicator of soil health. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *135*, 368-374. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.10.007

Chen, F., Li, X., Zhu, Q., Ma, J., Hou, H. y Zhang, S. (2019). Bioremediation of petroleum-contaminated soil enhanced by aged refuse. *Chemosphere*, *222*, 98-105. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.122

Chikere, C. B., Okpokwasili, G. C. y Chikere, B. O. (2011). Monitoring of microbial hydrocarbon remediation in the soil. *3 Biotech*, *1*(3), 117-138. https://doi.org/10.1007/s13205-011-0014-8

Cuevas-Díaz, D. C., Martínez-Toledo, A., Guzmán-López, O., Torres-López, C. P., Ortega-Martínez, A. C. y Hermida-Mendoza, L. J. (2017). Catalase and phosphatase activities during hydrocarbon removal from oil-contaminated soil amended with agro-industrial by-products and macronutrients. *Water, Air, & Soil Pollution*, 228, 159. https://doi.org/10.1007/s11270-017-3336-2

Datt, N. y Singh, D. (2019). Enzymes in relation to soil biological properties and sustainability. En R. Meena, S. Kumar, J. Bohra y M. Jat (Eds.), *Sustainable management of soil and environment* (pp. 383-406), Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8832-3_11

Dos Santos, J. J. y Maranho, L. T. (2018). Rhizospheric microorganisms as a solution for the recovery of soils contaminated by petroleum: A review. *Journal of Environmental Management*, *210*, 104-113. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.01.015

Gianfreda, L. y Ruggiero, P. (2006). Enzyme activities in soil. En P. Nannipieri y K. Smalla (Eds.), *Nucleic acids and proteins in soil. Soil Biology, vol 8*. Springer. https://doi.org/10.1007/3-540-29449-X_12

Gibson, D. T. y Parales, R. E. (2000). Aromatic hydrocarbon dioxygenases in environmental biotechnology. *Current Opinion Biotechnology*, 11, 236-243.

Gospodarek, J., Rusin, M., Barczyk, G. y Nadgórska-Socha, A. (2021). The effect of petroleum-derived substances and their bioremediation on soil enzymatic activity and soil invertebrates. *Agronomy*, *11*(1), 80. https://doi.org/10.3390/agronomy11010080

Guauque-Torres, M. P. y Bustos, A. Y. (2019). Laccases for soil bioremediation. En A. Kumar y S. Sharma (Eds.), *Microbes and enzymes in soil health and bioremediation. Microorganisms for Sustainability, vol. 16* (165-209). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-13-9117-0_8

Karigar, C. y Rao, S. (2011). Role of microbial enzymes in the bioremediation of pollutants: a review, *Enzyme Research*, *2011*, 805187. https://doi.org/10.4061/ 2011/805187

Kaushal, J., Mehandia, S., Singh, G., Raina, A. y Kumar-Arya, S. (2018). Catalase enzyme: Application in bioremediation and food industry. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 16, 192-199. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.07.035

Košnář, Z., Částková, T., Wiesnerová, L., Praus, L., Jablonský, I., Koudela, M., y Tlustoš, P. (2019). Comparing the removal of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil after different bioremediation approaches in relation to the extracellular enzyme activities. *Journal of Environmental Sciences*, 76, 249-258. https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.05.007

Kumar, A., Gudiukaite, R., Gricajeva, A., Sadauskas, M., Malunavicius, V., Kamyab, H., Sharma, S., Sharma, T. y Pant, D. (2020). Microbial lipolytic enzymes-promising energy-efficient biocatalysts in bioremediation. *Energy*, *192*, 116674, https://doi.org/10.1016/j.energy.2019.116674

Lee, S. H., Kim, M. S., Kim, J. G. y Kim, S. O. (2020). Use of soil enzymes as indicators for contaminated soil monitoring and sustainable management. *Sustainability (Switzerland)*, *12*. 8209. https://doi.org/10.3390/su12198209

Lin, X., Li, X., Sun, T., Li, P., Zhou, Q., Sun, L. y Hu, X. (2009). Changes in microbial populations and enzyme activities during the bioremediation of oil-contaminated soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *83*, 542–547. https://doi.org/10.1007/s00128-009-9838-x

Maila, M. P. y Cloete, T. E. (2005). The use of biological activities to monitor the removal of fuel contaminants Perspective for monitoring hydrocarbon contamination: A review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 55, 1-8. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2004.10.003

Margesin, R., Hämmerle, M. y Tscherko, D. (2007). Microbial activity and community composition during bioremediation of diesel-oil-contaminated soil: effects of hydrocarbon concentration, fertilizers, and incubation time. Microbial Ecology, 53(2), 259-69. https://doi.org/10.1007/s00248-006-9136-7

Maurya, S., Abraham, J. S., Somasundaram, S., Toteja, R., Gupta, R. y Makhija, S. (2020). Indicators for assessment of soil quality: a mini-review. *Environmental Monitoring Assessment*, *192*(9), 604. https://doi.org/10.1007/s10661-020-08556-z

Martínez-Sepúlveda, J. A., Sanchez-Yañez, J. M., Volke Sepúlveda, T., Vallejo-Quintero, V. E., Pérez-Junco, L. M., Duarte-Bautista, P. A., Umbacia, M., Márquez-Benavides, L., Camacho-Villaseñor, J., Castañeda García, L. F. y Reinaldo Casallas, M. (2019). *Remediación de suelos contaminados: fundamentos y casos de estudio*. Universidad Escuela de Administración de Negocios.

Okino-Delgado, C. H., Zanutto-Elgui, M. R., Do Prado, D. Z., Pereira, M. S. y Fleuri, L. F. (2019). Enzymatic bioremediation: current status, challenges of obtaining process, and applications. En P. Arora (Ed.), *Microbial metabolism of xenobiotic compounds. Microorganisms for Sustainability, vol 10* (pp. 79-101). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-13-7462-3_4

Okoh, E. Yelebe, Z. R., Oruabena, B., Nelson E. S. y Indiamaowei, O. P. (2020). Clean-up of crude oil-contaminated soils: bioremediation option. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 17, 1185-1198. https://doi.org/10.1007/s13762-019-02605-y

Ortiz-Maya, J., Escalante-Espinosa, E., Fócil-Monterrubio, R., Ramírez-Saad, H. y Díaz Ramírez, I. (2017). Dinámica de poblaciones bacterianas y actividad deshidrogenasa durante la biorremediación de suelo recién contaminado e intemperizado con hidrocarburos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental, 33*(2), 237-246. https://dx.doi.org/10.20937/RICA.2017.33.02.05

Paneque, P., Caballero, P., Parrado, J., Gómez, I. y Tejada, M. (2020). Use of a biostimulant obtained from okara in the bioremediation of a soil polluted by used motor car oil. *Journal of Hazardous Materials*, 389, 1-7. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121820

Piotrowska-Długosz, A. (2017). The use of enzymes in bioremediation of soil xenobiotics. En M. Hashmi, V. Kumar y A. Varma A. (Eds.). *Xenobiotics in the soil environment. Soil Biology, vol 49*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-47744-2_17

Polyak, Y. M., Bakina, L. P., Chugunova, M. V., Mayachkina, N. V., Gerasimov, A. O. y Bure, V. M. (2018). Effect of remediation strategies on biological activity of oil-

contaminated soil-A field study. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 126, 57-68, https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.10.004

Quintella, C. M., Mata, A. M. T. y Lima, L. C. P. (2019). Overview of bioremediation with technology assessment and emphasis on fungal bioremediation of oil contaminated soils. *Journal Environmental Management*, *241*, 156-166. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.04.019

Riffaldi, R., Levi-Minzi, R., Cardelli, R., Palumbo, S. y Saviozzi, A. (2006). Soil biological activities in monitoring the bioremediation of diesel oil-contaminated. *Soil. Water, Air, & Soil Pollution*, *170*, 3-15. https://doi.org/10.1007/s11270-006-6328-1

Rodríguez-Eugenio, N., McLaughlin, M. y Pennock, D. (2019). *La contaminación del suelo: una realidad oculta*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

Saeed, M., Ilyas, N., Jayachandran, K., Gaffar, S., Arshad, M., Sheeraz, M., Bibi, F., Jeddi, K. y Hessini, K. (2021). Biostimulation potential of biochar for remediating the crude oil contaminated soil and plant growth. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *28*, 2667-2676. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.03.044

Sharma, A., Sharma, T., Sharma, T., Sharma, S. y Kanwar, S. S. (2019). Role of microbial hydrolases in bioremediation. En A. Kumar y S. Sharma (Eds.), *Microbes and enzymes in soil health and bioremediation. Microorganisms for sustainability, vol 16*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-13-9117-0_7

Shen, W., Zhu, N., Cui, J., Wang, H., Dang, Z., Wu, P., Luo. y Shi, C. (2016). Ecotoxicity monitoring and bioindicator screening of oil-contaminated soil during bioremediation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *124*, 120-128. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.10.005

Strong, P. J. y Claus, H. (2011). Laccase: a review of its past and its future in bioremediation. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, *41*(4), 373-434, https://doi.org/10.1080/10643380902945706

Vallejo Quintero, V. E., Sandoval Cobo, J. J., Garagoa Barahona, S. C. y Bastos Arenas, J. (2016). Evaluación del efecto de la bioestimulación sobre la biorremediación de hidrocarburos en suelos contaminados con alquitrán en Soacha, Cundinamarca-Colombia. *Acta Agronómica*, *65*(4), 354-361. https://doi.org/10.15446/acag.v65n4.51013

Wolińska, A., Kuźniar, A., Szafranek-Nakonieczna, A., Jastrzębska, N., Roguska, E. y Stępniewska, Z. (2016). Biological activity of autochthonic bacterial community in oil-contaminated soil. *Water, air, & soil pollution*, *227*, 130. https://doi.org/10.1007/s11270-016-2825-z

Wu, M., Wu, J., Zhang, X. y Ye, X. (2019). Effect of bioaugmentation and biostimulation on hydrocarbon degradation and microbial community composition in petroleum-contaminated loessal soil. *Chemosphere*, *237*. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124456

Biodegradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en el suelo

Erick López Vázquez*

Resumen

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) son una familia de compuestos orgánicos provenientes de la combustión incompleta de materiales como combustibles fósiles y residuos sólidos urbanos, así como de la incineración de madera y la quema de pastizales. Su estructura química consiste en dos o más anillos bencénicos fusionados que presentan escasa solubilidad en agua, alta estabilidad química y resistencia a la degradación, que les permite acumularse en el suelo. Aquellos suelos forestales o agrícolas que exceden los 0.2 mg/kg de HAP se consideran contaminados, situación que origina la posible migración de estas moléculas hacia cultivos y ganado y, por tanto, hacia el ser humano a través de la cadena alimenticia. Esto podría ocasionar serios daños de salud debido al carácter tóxico, carcinogénico y mutagénico.

Entre las alternativas que hay para la descontaminación de los suelos, mediante el enfrentamiento de la alta estabilidad química de estas moléculas, se han estudiado diversas técnicas. Entre ellas destacan métodos fisicoquímicos como la desorción térmica *in situ* y la extracción por lavado con solventes, aunque tienen como inconveniente el uso de agentes químicos nocivos para los organismos que habitan en el suelo. Además, se han estudiado técnicas biológicas como la degradación microbiana, pero con poco éxito debido a la falta de adaptación de las cepas bacterianas biodegradadoras de HAP. Recientemente se ha explorado el uso de residuos de sustratos para hongos de la pudrición blanca con mayor efectividad, debido a la presencia de lacasas obtenidas de especies como *Agaricus bisporus, Pleurotus eryngii, Pleurotus ostreatus* y *Coprinus commatus,* que ha dado como resultado una alta efectividad en la degradación de HAP, principalmente antraceno y benzo(a)pireno.

* Ingeniería Mecánica Automotriz, Universidad Politécnica de Pachuca, Pachuca, Hidalgo, México. erick_lopez@upp.edu.mx

A pesar de que en la actualidad no se tiene total claridad en los roles de participación, mecanismos de degradación e interacciones que puedan existir entre comunidades microbianas y hongos, su uso ha comprobado ser una técnica prometedora.

Palabras clave

Biodegradación, hidrocarburos aromáticos policíclicos.

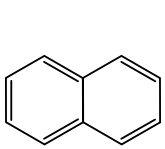
Hidrocarburos aromáticos policíclicos

La combustión incompleta de material orgánico como maderas y residuos produce compuestos hidrocarbonados policíclicos aromáticos, mejor conocidos por sus siglas HAP o en inglés *polycyclic aromatic hydrocarbons* (PAH), que consisten en moléculas orgánicas de cuando menos 16 átomos de carbono; de acuerdo con su ligereza, son más dispersos aquellos de bajo peso molecular (de dos a tres anillos aromáticos), mientras que los de alto peso molecular (de cuatro a seis anillos aromáticos) poseen mayor afinidad por cenizas y materia orgánica del suelo (Ortiz-Salinas et al., 2012).

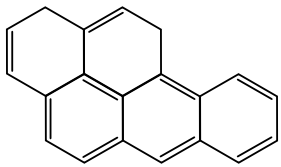
Los HAP son estructuras químicas planas por la fusión de dos o más anillos aromáticos, de los cuales, el naftaleno es el de menor tamaño, en tanto que el benzo(a) pireno es uno de los de mayor peso molecular (figura 1). Debido a la conjugación de enlaces pi y la formación de estructuras químicas de resonancia, estas moléculas son altamente estables, sólidas a temperatura ambiente y solubles en disolventes orgánicos.

A pesar de tener una alta estabilidad, muchos HAP pueden sufrir fotoxidación mediante la luz ultravioleta y producir especies radicalarias como endoperóxidos, los cuales pueden convertirse en quinonas. Lo anterior constituye un serio problema para los ecosistemas debido a que los HAP son xenobióticos cuya estabilidad no permite su biodegradación, por lo cual pasan a consumidores primarios y secundarios que generan bioacumulación, y esto produce importantes daños a la salud, incluso la del ser humano (Harmsen y Rietra, 2018).

Figura 1. Estructuras químicas de naftaleno y benzo(a)pireno



Naftaleno



Benzo(a)pireno

Origen de los hidrocarburos aromáticos policíclicos

Los HAP son compuestos orgánicos cíclicos hidrocarbonados, señalados principalmente como provenientes de la combustión incompleta de maderas, combustibles fósiles y pirólisis de materia orgánica que, a elevadas temperaturas, produce fragmentos radicalarios de cadenas hidrocarbonadas. Estas tienden a reaccionar entre sí para dar origen a compuestos cíclicos aromáticos y, a su vez, policiclos, dependiendo de las temperaturas y las mezclas gaseosas que se forman. Algunos de bajo peso molecular son livianos y se distribuyen principalmente en la atmósfera, en tanto que existen otros de elevado peso molecular que prefieren dispersarse, ya sea en el aire a través de aerosoles, o en el agua y el suelo en partículas de hollín (Mastandrea et al., 2005).

Sin embargo, el origen de los HAP no siempre se remonta a la combustión. A veces, este se encuentra en factores antropogénicos, así como biológicos. También han sido clasificados de acuerdo con su origen biogénico, petrogénico y pirogénico. Los primeros se refieren a residuos de descomposición de materia orgánica en condiciones aerobias y anaerobias que generan moléculas de 4, 5 y 6 anillos, así como a productos del metabolismo creados a partir de organismos micro y macroscópicos, entre ellos plantas y termitas, que permiten destacar la presencia de naftaleno y perileno en suelos.

Los HAP petrogénicos tienen su origen en los derrames líquidos y las emanaciones gaseosas de petróleo. Son compuestos ligeros de hasta cuatro anillos aromáticos fusionados y pueden encontrarse alquilados o no alquilados, entre ellos se encuentran: naftalenos, fluorenos, fenantrenos, dibenzotiofenos y crisenos.

Por su parte, los HAP pirogénicos, como los define Amador-Muñoz et al. (2001), provienen de la combustión incompleta tanto de hidrocarburos como de carbón mineral y entre estos compuestos se encuentran antracenos, benzo(a)pirenos, fenentranos, pirenos, benzo(a)antracenos, crisenos y benzo(b+k)fluorantrenos.

Algunos ejemplos de fuentes de combustión incompleta de material orgánico que da origen a los HAP son los procesos de combustión en "barcos, automóviles, aviones, termoeléctricas, incineradoras, calefacciones, incendios forestales, volcanes, humo del tabaco, alimentos ahumados tales como barbacoa o parrilladas" (Martínez et al., 2014, p. 74). La cantidad de HAP generados estará en función de las condiciones en la que se esté llevando a cabo la combustión, pues, por ejemplo, al haber un humo más negro, la cantidad de HAP aumenta considerablemente (Vives et al. 2001, como se cita en Martínez et al., 2014, p. 74).

No obstante, exponer una clasificación en cuanto al origen de los HAP es complicado, debido a que puede existir una mezcla de las fuentes ya descritas. La cantidad y el tipo de HAP dependerán de las condiciones de ignición, así como del material orgánico incinerado y de los tipos de transformación química que es-

tos compuestos sufren, ya sea de orden metabólico —al ingresar en organismos productores o consumidores (primarios o secundarios)— o de acuerdo con las diversas transformaciones que pueden llevarse a cabo, mediante procesos biogeoquímicos. Debido a su alta estabilidad, se ha reportado que más del 90 % de los HAP emitidos a la atmósfera son retenidos en el suelo, donde tienen un tiempo de residencia de más de 20 años (Ortiz-Salinas et al., 2012).

Riesgos a la salud humana por los HAP

Los HAP han sido estudiados por sus múltiples efectos adversos a la salud humana, que van desde intoxicaciones agudas por contacto, a través de la vía cutánea —como la dermatitis aguda y crónica con síntomas de picor, edema y pigmentación en zonas de la piel expuesta— hasta problemas carcinogénicos como cáncer broncogénico en vías respiratorias y cáncer de vejiga en el sistema hematopoyético. Los HAP son responsables del linfoma y de la leucemia, por ser disruptores endócrinos en el sistema inmune. El benzo(a)pireno es un HAP altamente carcinogénico y mutagénico, cuyo tiempo de vida media es de 162 días (Amador-Muñoz et al., 2001; Mastandrea et al., 2005).

De acuerdo con la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, por sus siglas en inglés) se han identificado principalmente 16 HAP, mientras que la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) ha categorizado 7 isómeros como contaminantes mutagénicos y carcinogénicos, entre los que se encuentran naftaleno (Nap), acenaftileno (Acy), acenafteno (Ace), fluoreno (Fl), fenantreno (Phe), antraceno (Ant), fluoranteno (Flu), pireno (Pyr), benzo [g,h,i] perileno (BP), benzo(a)antraceno (BaA), criseno (Cry), benzo(b)fluoranteno (BbF), benzo(a)pireno (BaP), indeno(1,2,3-cd)pireno (InP) y dibenzo(a,h)antraceno (DBA) (Xu et al., 2021).

La forma molecular plana de las estructuras químicas de estas especies policíclicas aromáticas, aunada a su alta hidrofobicidad, las hace perfectamente solubles en lípidos. Esta característica les permite atravesar con relativa facilidad membranas celulares y llegar hasta el ADN en la célula, con el cual pueden formar fácilmente aductos y, con ello, severas anomalías en la información genética que traerá consigo mutaciones en genes críticos, por ejemplo, el gen p53, represor de tumores y, como consecuencia, la sucesión de mutaciones en otros genes. En el individuo, además del riesgo exponencial ante los HAP, su condición física, sexo, edad, estado de salud, nutrición y polimorfismo genético, así como los aductos HAP-ADN estarán en mayor concentración en la medida que la exposición haya sido más prolongada, ya sea por contacto con materiales de combustión, alquitrán, combustibles o suelos contaminados (Mastandrea et al., 2005).

Tecnologías químicas y físicas de degradación de HAP

Una amplia variedad de técnicas físicas y químicas: incineración, decloración catalizada con bases, oxidación UV, fijación, extracción con solventes, etcétera, ha sido empleada como método de tratamiento. Sin embargo, estas técnicas, además de resultar costosas y complicadas por las regulaciones oficiales, en la mayoría de los casos no destruyen los contaminantes por completo; solamente los transfieren de un ambiente a otro, motivo por el que prácticamente han sido descontinuadas y reemplazadas por otras de biorremediación, a través de las cuales se logra su biodegradación hacia compuestos de menor toxicidad, que no requieren emplear sustancias químicas nocivas para el ecosistema, además de contar con una mayor eficiencia en la descomposición de HAP en los suelos (Ghosal et al., 2016).

Tecnologías de biodegradación de HAP

La alta estabilidad del sistema aromático policíclico hidrocarbonado, aunada a su lipofilicidad y su alta bioacumulación, tanto en organismos primarios y consumidores como en suelo, agua y aire, constituye un reto para la biodegradación en materiales de menor toxicidad para el ecosistema.

La biorremediación ha sido una técnica explorada durante las últimas dos décadas. La degradación biológica es un mecanismo primario para la disipación de contaminantes en suelos; sin embargo, la actividad de los microorganismos biodegradadores puede verse afectada por la baja biodisponibilidad de los contaminantes, la toxicidad, la distribución espacial no uniforme, el retraso en la difusión del sustrato por la matriz del suelo, el metabolismo de los microorganismos, entre otros factores. De ahí que sea necesaria la conjunción de diferentes técnicas, tanto biológicas (bioestimulación, adaptación microbiana, quimiotaxis bacteriana), químicas (tratamientos químicos antes de la biodegradación) como físicas para lograr una mejor biodegradación de contaminantes en el suelo, particularmente de los HAP (Mohan et al., 2006).

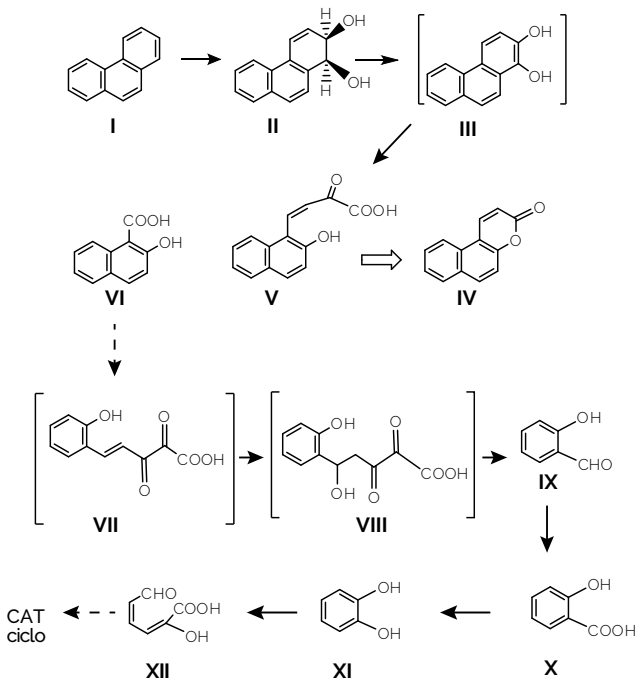
Biodegradación bacteriana de suelos de agricultura

Esta técnica consiste en la preparación del suelo a través de tecnologías de fase sólida con la ventaja de estimular la microflora nativa del suelo. Es empleada para biorremediar contaminación por petróleo crudo en suelos, a través de la biodegradación mediante bacterias, aunque también se acompaña por procesos de volatilización, abióticos y fúngicos. Involucra la distribución de los suelos contaminados en una delgada capa de tierra superficial de un sitio de tratamiento y la estimulación de actividad bacteriana, con lo que se aceleran los procesos de biodegradación (Brown et al., 2017; Mohan et al., 2006).

El costo es accesible y permite reducir los niveles de contaminantes de HAP e hidrocarburos del petróleo, ya que los sedimentos se deshidratan, se vuelven aeróbicos y son transformados en material para el suelo. Esta transformación permite a los organismos aerobios degradar los HAP con alta eficiencia. Entre dichos organismos biodegradadores se encuentran *Ochrobactrum* sp., *Acinetobacter* sp., *Monilinia* sp., en conjunto con factores como un adecuado ajuste de la concentración del oxígeno, el pH, temperatura y la disponibilidad de nutrientes. De este modo, la biodegradación ocurrirá de manera rápida durante el primer año, disminuirá su velocidad en los próximos seis años y se atenuará hasta llegar a ser mínima con el paso del tiempo (Ghosal et al., 2016; Harmsen y Rietra, 2018; Wu et al., 2008).

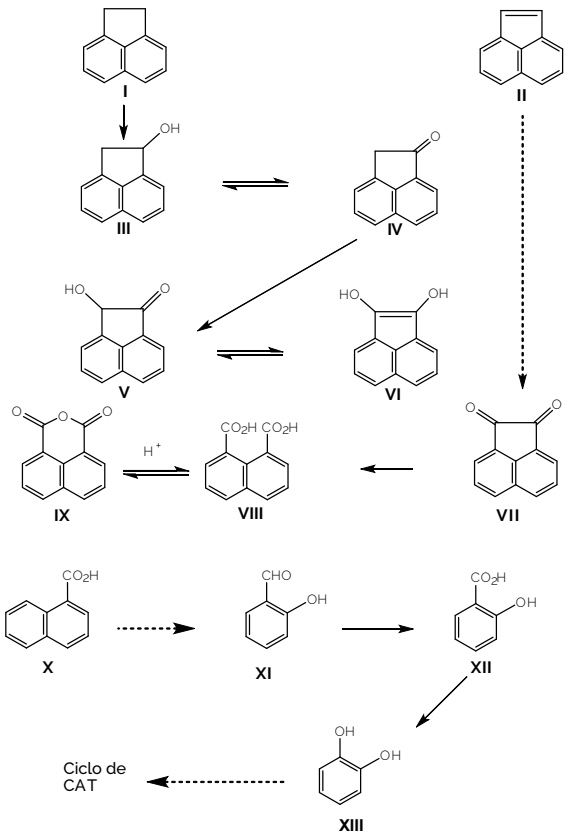
El mecanismo propuesto para la biodegradación por *Ochrobactrum* sp. *y Acinetobacter* sp. se muestra en las figuras 2 y 3.

Figura 2. Mecanismo propuesto para la degradación del fenantreno por *Ochrobactrum* sp.



Nota: I) fenantreno, II) cis-1,2-fenantreno dihidrodiol; III) 1,2-dihidroxifenantreno; IV) 5,6-benzocumarina; V) ácido cis-2-oxo-4-(20-hidroxinaftil) buten-3-oico; VI) ácido 2-hidroxi-1-naftoico; VII) ácido trans-2,3-dioxo-5-(20-hidroxifenil)-penten-4-oico; VIII) ácido 2,3-dioxo-5-hidroxi-(20-hidroxifenil)-pentanoico; IX) salicilaldehído; X) ácido salicílico; XI) catecol; XII) ácido 2-hidroximuconaldehídico; CAT = ciclo de ácidos tricarboxílicos. Fuente: Ghosal et al. (2016).

Figura 3. Mecanismo propuesto para la degradación del acenafteno por *Acinetobacter* sp.



Nota: I) acenafteno; II) acenaftileno; III) 1-acenaftenol; IV) 1-acenaftenona; V) 1-hidroxi-2-cetoacenafteno; VI) 1,2-dihidroxiacenaftileno; VII) acenaftenoquinona;VII) ácido 1,8-naftálico VIII; IX) anhídrido 1,8-naftálico; X) ácido 1-naftoico; XI) salicilaldehído; XII) ácido salicílico; XIII) catecol CAT = ciclo de ácidos tricarboxílicos. Fuente: Ghosal et al. (2016).

Composteo

Esta tecnología involucra la adición de agentes orgánicos a la mezcla de composta que pueda facilitar la porosidad y conduzca a una ventilación suficiente para permitir que la biomasa asimile fácilmente la fuente de carbón proveniente de los HAP, así como su crecimiento. La energía que se libera durante la degradación orgánica permite un incremento de temperatura, lo que facilita el paso del sistema por cuatro fases (mesofílica, termofílica, enfriamiento y maduración). La etapa mesofílica normalmente tiene la más alta diversidad microbiana, mientras que la etapa termofílica se caracteriza por la formación de esporas bacterianas y hongos termófilos. La recolonización microbiana durante la fase de enfriamiento se caracteriza por la aparición de hongos mesofílicos cuyas esporas soportan las al-

tas temperaturas de la etapa termofílica. En la etapa final, durante la maduración, la mayor parte de la materia orgánica es consumida por la población bacteriana y compostada. Esta técnica, además de ser efectiva, eficiente y barata, ha permitido biodegradar utilizando 5 % de material de desecho en la producción de hongos para la biorremediación de naftaleno, fenantreno, benzo(a)pireno, benzo(g,h,i) perileno en un lapso de 48 h a 80 °C (Mohan et al., 2006).

Fitorremediación

Esta técnica tiene diferentes ventajas como su bajo costo, además de que no se generan contaminantes secundarios y se puede aplicar en áreas grandes, por lo que es reconocida como una tecnología de costos accesibles para degradar contaminantes orgánicos en áreas contaminadas (Dai et al., 2020)

La fitorremediación se basa en el potencial catabólico de los microorganismos asociados a las raíces, los cuales adquieren como nutrientes los sustratos orgánicos, mientras que las excreciones que generan son favorables para el microambiente en la rizosfera. La ventaja del uso de la fotorremediación se da en función de estos aspectos: 1) simultáneamente, promover la degradación de fracciones disponibles por la estimulación de la actividad microbiana, 2) incrementar el número de sitios disponibles para los HAP en la matriz orgánica disponible para su absorción y eventual unión con las raíces que contribuyen a la materia orgánica en el suelo, 3) compuestos de exudación que incrementan la biodisponibilidad de los contaminantes (carbohidratos, ácidos orgánicos, aminoácidos). De manera que la fitorremediación resulta conveniente por su alta mejora en la degradación de compuestos orgánicos en la rizosfera, como consecuencia de las altas densidades microbianas, así como de sus elevadas actividades en el suelo. Las raíces de las plantas pueden liberar enzimas como oxigenasas, deshidrogenasas, fosfatasas y enzimas lignolíticas que desempeñan un rol crucial en la degradación de HAP (Mohan et al., 2006; Wolf et al., 2020).

Biorreactores

La tecnología del uso de biorreactores implica básicamente el empleo de un tanque séptico y un área de absorción del suelo. El primero produce sólidos sedimentables, aceites y grasas como parte de la materia orgánica, la cual es sometida a través de una digestión anaeróbica en el primer tratamiento. El segundo tratamiento ocurre mediante procesos fisicoquímicos y biogeoquímicos, tales como la degradación bacteriana, la absorción, la filtración y la infiltración en el suelo (Pishgar et al., 2021). Esta tecnología es altamente eficiente, y en una curva de biodegradación de HAP presenta una elevada pendiente (Harmsen y Rietra, 2018).

En la literatura existen diversos reportes que varían condiciones aeróbicas-anaeróbicas en la biorremediación de fase de lodos de suelos contaminados con

HAP; sin embargo, las mejores eficiencias son logradas en condiciones aeróbicas, en las que bacterias llevan a cabo oxidaciones sulfuradas donde se biodegradan HAP de 2, 3, 4 y hasta 5 anillos (Lei et al., 2006) en contraste con el uso de bacterias nitrificantes, en las que no se observa biodegradación.

El uso de la biorremediación a través de biorreactores no siempre es una labor sencilla, debido a que el suelo es un sistema multicomponente complejo. Dificultan también la labor las características de hidrofobicidad en los HAP, la heterogeneidad de los microorgamismos nativos del suelo, así como la adaptación de aquellos adicionados para la biorremediación, la biodisponibilidad de los sustratos, las interacciones fisicoquímicas entre los HAP con el suelo y los factores ambientales (Mohan et al., 2006).

Biodegradación de HAP mediante el empleo de consorcios hongo-bacteria

Se ha demostrado que la biodegradación bacteriana de HAP, al emplearla como fuente de carbono, se ve afectada en cuanto a sus pesos moleculares, por lo que es posible biodegradar HAP de máximo 4 anillos (Kim et al., 2007). Por otra parte, el empleo de hongos ha demostrado efectividad en la biodegradación de HAP de hasta 7 anillos mediante rutas cometabólicas; no obstante, hasta el momento no se conocen hongos que empleen HAP como sustratos de carbono (Peng et al., 2008). No existe con certeza un mecanismo para la biodegradación de HAP en hongos; solamente se sabe que estos son almacenados en vesículas lipídicas, aunque recientemente se ha reconocido la importancia de las enzimas lignolíticas en hongos, como potenciales degradadoras de HAP, y se ha propuesto que actúen como oxidantes. Los hongos poseedores de estas enzimas por lo regular pertenecen a ambientes silvestres, y los factores ecológicos como la competición microbiana, los elementos físicos y químicos, así como el estrés nutricional desalientan el empleo de hongos como tal en la biodegradación de HAP (Thion et al., 2012).

Ante la situación expuesta de biodegradación de HAP con bacterias así como con hongos, se han explorado consorcios hongo-bacteria para adaptar bacterias a través de un medio enriquecido y empleando los HAP como única fuente de carbono. No obstante, existen diferencias notables entre la aplicación de consorcios preparados en el laboratorio con respecto a aquellos que se generan de manera nativa en el suelo. A pesar de que los consorcios preparados en el laboratorio pueden mostrar eficientes cinéticas de biodegradación, intentar implementarlos directamente en el suelo implica una pérdida de su eficiencia al enfrentarse a organismos competidores nativos, así como a necesidades de adaptación. El uso de consorcios nativos para remediar suelos contaminados con HAP muestra un gran potencial en la biorremediación al emplearlos como única fuente de carbono. No obstante, aún hace falta explorar la aplicación directa de los consorcios en un sue-

lo contaminado con petróleo, dado que todavía se desconoce la preferencia de biodegradación de fracciones correspondiente a hidrocarburos ligeros o bien a fracciones que contengan HAP (Tirado-Torres et al., 2015).

Hongos como biomonitores de suelos contaminados

Los hongos son organismos ampliamente diversificados y extendidos a lo largo de diferentes ecosistemas, principalmente en el terrestre. Se estima que existen alrededor de un millón y medio de especies fúngicas, de las cuales hasta el momento solo se han descrito 72 mil. El reino fungi comprende una gran biodiversidad tanto en hongos microscópicos como en macroscópicos. Son distinguibles por sus cuerpos de fructificación, también llamados *esporomas*, de atractivas formas, colores, texturas y, en ciertos casos, aromas específicos. Sin embargo, fuera del alcance de la vista del hombre, existe una red de hifas enterradas que llevan a cabo extraordinarias funciones ecológicas de intercomunicación entre las raíces de los árboles, las plantas y otros hongos. Estas redes pueden extenderse a lo largo de cientos de metros.

Dado que los hongos reúnen características tanto de plantas como de bacterias y de animales, poseen su reino por separado, aun cuando son organismos heterótrofos más cercanos a los animales que a las plantas. Poseen una pared celular de quitina y se reproducen mediante la dispersión de esporas en el aire, el suelo y el agua. Básicamente, poseen dentro de los ecosistemas tres roles ecológicos: descomposición, simbiosis mutualista y parasitismo; de entre estos, la descomposición de la materia orgánica constituye uno de los roles más importantes, ya que contribuye de manera primordial en el ciclaje de nutrientes (Marín, 2018).

Sin embargo, los hongos no solamente fungen como organismos descomponedores de materia orgánica, sino que ejercen importantes funciones en la bioacumulación de especies tóxicas para las plantas. Este es el caso de metales pesados, en una asociación de simbiosis mutualista. Dado que los hongos no producen su alimento, pueden almacenar importantes cantidades de metales pesados, con lo que las plantas evitan la intoxicación por metales y en cambio los hongos reciben por parte de ellas carbohidratos y nutrientes que les permiten alimentarse (Drewnowska y Falandysz, 2015; Gadd, 2007; Kalač, 2010).

Los hongos pueden absorber metales provenientes de áreas contaminadas, cercanas a minas y volcanes, así como a industrias cuyos residuos sean los metales. El micelio de los hongos es capaz de atraparlos y retenerlos del suelo; por ello, un parámetro importante para emplear los hongos como biomonitores del grado de contaminación del suelo en una zona determinada es a través del factor de bioacumulación. Dicho factor permite conocer el grado de captación de metales de una zona contaminada. Se calcula mediante el cociente de la concentración de metal

hallada en el carpóforo del hongo entre la concentración de metal encontrada en el suelo donde el hongo ha sido colectado. El obtener valores mayores a 1 nos indica hongos hiperacumuladores, y valores por debajo de la unidad se relaciona con hongos hipoacumuladores. Aún se desconoce el mecanismo por el cual los hongos pueden retener metales, pues algunos de ellos funcionan como cofactores en la activación de enzimas lignolíticas, como el caso del manganeso, y otras enzimas como las manganesoperoxidasas (MnP) en hongos como *Agaricus bisporus, Pleurotus eryngii, Pleurotus ostreatus* y *Coprinus commatus*. Sin embargo, existe aún un amplio campo de estudio inexplorado respecto a sus mecanismos (Gadd, 2007; López-Vázquez y Prieto-García, 2016).

Para el caso de los HAP compuestos de hasta 7 anillos, pueden ser removidos por hongos; pero hasta el momento no existe evidencia que asegure que los hongos puedan utilizar los HAP como sustrato para su crecimiento, así como tampoco existe claridad en los mecanismos involucrados en la biodegradación que los hongos ejercen sobre estos sustratos. No obstante, el interés se ha enfocado en las enzimas lignolíticas de los hongos, como potenciales degradadoras de los HAP, que pudieran estar involucradas en su oxidación, pérdida de la aromaticidad y, por tanto, en la generación de especies químicas más vulnerables a la biodegradación. Sin embargo, la complejidad de estudiar la biodegradación de HAP por parte de los hongos surge al considerarlos en un ecosistema en el que conviven con microorganismos, plantas y otros organismos, donde no es claro si el hongo ejerce un efecto biodegradador, se adapta, o bien es el conjunto de factores bióticos y abióticos, los que conllevan a la biodegradación (Baldrian, 2008; Rabinovich et al., 2004; Thion et al., 2012; Verdin et al., 2005).

Los hongos son especies fascinantes y, sin duda, existe un amplio campo de investigación en torno a su uso como biomonitores, así como en la biodegradación de HAP.

Referencias

Amador-Muñoz, O., Delgado-Rodríguez, A., Villalobos-Pietrini, R., Munive-Colín, Z., Ortiz-Marttelo, R., Díaz-González, G., Bravo-Cabrera, J. L. y Gómez-Arroyo, S. (2001). Partículas suspendidas, hidrocarburos aromáticos policíclicos y mutagenicidad en el suroeste de la ciudad de México. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, *17*(4), 193-204. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37017404

Baldrian, P. (2008). Wood-inhabiting ligninolytic basidiomycetes in soils: ecology and constraints for applicability in bioremediation. *Fungal Ecology*, *1*(1), 4-12. https://doi.org/10.1016/j.funeco.2008.02.001

Brown, D. M., Okoro, S., Van Gils, J., Van Spanning, R., Bonte, M., Hutchings, T.,

Linden, O., Egbuche, U., Bruun, K. B. y Smith, J. W. N. (2017). Comparison of landfarming amendments to improve bioremediation of petroleum hydrocarbons in Niger Delta soils. *Science of the Total Environment*, *596-597*, 284–292. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.072

Dai, Y., Liu, R., Zhou, Y., Li, N., Hou, L., Ma, Q. y Gao, B. (2020). Fire Phoenix facilitates phytoremediation of PAH-Cd co-contaminated soil through promotion of beneficial rhizosphere bacterial communities. *Environment International*, *136*. https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105421

Drewnowska, M. y Falandysz, J. (2015). Investigation on mineral composition and accumulation by popular edible mushroom common chanterelle (*Cantharellus cibarius*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. *113*. 9-17. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.11.028

Gadd, G. M. (2007). Geomycology: biogeochemical transformations of rocks, minerals, metals and radionuclides by fungi, bioweathering and bioremediation. *Mycological Research*, *111*(1), 3-49. https://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.12.001

Ghosal, D., Ghosh, S., Dutta, T. K. y Ahn, Y. (2016). Current state of knowledge in microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. *Frontiers in Microbiology*, 7. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01369

Harmsen, J. y Rietra, R. P. J. J. (2018). 25 years monitoring of PAHs and petroleum hydrocarbons biodegradation in soil. *Chemosphere*, *207*, 229-238. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.05.043

Kalač, P. (2010). Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms: a review for the period 2000-2009. *Food Chemistry*, *122*(1), 2-15. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.045

Kim, S. J., Kweon, O., Jones, R. C., Freeman, J. P., Edmondson, R. D. y Cerniglia, C. E. (2007). Complete and integrated pyrene degradation pathway in mycobacterium vanbaalenii PYR-1 based on systems biology. *Journal of Bacteriology*, *189*(2), 464–472. https://doi.org/10.1128/JB.01310-06

Lei, L., Bagchi, R., Khodadoust, A. P., Suidan, M. T. y Tabak, H. H. (2006). Bioavailability prediction of polycyclic aromatic hydrocarbons in field-contaminated sediment by mild extractions. *Journal of Environmental Engineering*, *132*(3), 384-391. https://doi.org/10.1061/(asce)0733-9372(2006)132:3(384)

López-Vázquez, E., y Prieto-García, F. (2016). Minerals and toxic elements in wild mushrooms species from regions of Hidalgo State in Mexico. *Asian Journal of Chemistry*, *28*(12), 2725-2730. https://doi.org/10.14233/ajchem.2016.20098

Marín, C. (2018). Conceptos fundamentales en ecología de hongos del suelo: una propuesta pedagógica y de divulgación. *Boletín Micológico*, *33*(1), 32-56. https://doi.org/10.22370/bolmicol.2018.33.1.1168

Martínez, I., Soto, M. Á., Orona, A. F., Espino, F. P. y Fierro, I. (2014). Hidrocarburos

aromáticos policíclicos: una revisión. *Vidsupra*, *6*(2) 73-76. https://www.ciidir-durango.ipn.mx/assets/files/ciidirdurango/docs/VIDSUPRA/REVISTAS/VS-V6N2.pdf

Mastandrea, C., Chichizola, C., Ludueña, B., Sánchez, H., Álvarez, H. y Gutiérrez, A. (2005). Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgos para la salud y marcadores biológicos. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, *39*(1), 27-36. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-2957200500010 0006

Mohan, S. V., Kisa, T., Ohkuma, T., Kanaly, R. A. y Shimizu, Y. (2006). Bioremediation technologies for treatment of PAH-contaminated soil and strategies to enhance process efficiency. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, *5*(4), 347–374. https://doi.org/10.1007/s11157-006-0004-1

Ortiz-Salinas, R., Cram, S., y Sommer, I. (2012). Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en suelos de la llanura aluvial baja del estado de Tabasco, México. *Universidad y Ciencia*, *28*(2), 131-144. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=15424357003

Peng, R. H., Xiong, A. S., Xue, Y., Fu, X. Y., Gao, F., Zhao, W., Tian, Y. S. y Yao, Q. H. (2008). Microbial biodegradation of polyaromatic hydrocarbons. *FEMS Microbiology Reviews*, *32*(6), 927-955. https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00127.x

Pishgar, R., Morin, D., Young, S. J., Schwartz, J. y Chu, A. (2021). Characterization of domestic wastewater released from 'green' households and field study of the performance of onsite septic tanks retrofitted into aerobic bioreactors in cold climate. *Science of the Total Environment*, *755*, 142446. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142446

Rabinovich, M. L., Bolobova, A. V. y Vasil'chenko, L. G. (2004). Fungal decomposition of natural aromatic structures and xenobiotics: a review. *Applied Biochemistry and Microbiology*, *40*(1), 1-17. https://link.springer.com/article/10.1023/B:ABIM.0000010343.73266.08

Thion, C., Cébron, A., Beguiristain, T. y Leyval, C. (2012). PAH biotransformation and sorption by fusarium solani and arthrobacter oxydans isolated from a polluted soil in axenic cultures and mixed co-cultures. *International Biodeterioration and Biodegradation*, *68*, 28-35. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.10.012

Tirado-Torres, D., Acevedo-Sandoval, O., Romo-Gómez, C., Marmolejo-Santilán, Y. y Gayosso-Canales, M. (2015) Participación de consorcios microbianos en la biodegradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos. Revista Iberoamericana de Ciencias. *2*(3). 77-86. http://www.reibci.org/publicados/2015/mayo/1000101.pdf

Verdin, A., Lounès-Hadj Sahraoui, A., Newsam, R., Robinson, G. y Durand, R. (2005). Polycyclic aromatic hydrocarbons storage by fusarium solani in intracellular lipid vesicles. *Environmental Pollution*, *133*(2), 283–291. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.05.040

Wolf, D. C., Cryder, Z., Khoury, R., Carlan, C. y Gan, J. (2020). Bioremediation of PAH-contaminated shooting range soil using integrated approaches. *Science of the Total Environment*, *726*, 138440-138451. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138440

Wu, Y., Luo, Y., Zou, D., Ni, J., Liu, W., Teng, Y. y Li, Z. (2008). Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil with *Monilinia* sp.: degradation and microbial community analysis. *Biodegradation*, *19*(2), 247-257. https://doi.org/10.1007/s10532-007-9131-9

Xu, Z., Wang, C., Li, H., Xu, S., Du, J., Chen, Y., Ma, C. y Tang, J. (2021). Concentration, distribution, source apportionment, and risk assessment of surrounding soil PAHs in industrial and rural areas: A comparative study. *Ecological Indicators*, *125*, 107513. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.107513

Técnicas ambientales de recuperación de entornos afectados por hidrocarburos en Colombia. Revisión

Johana Andrea Velásquez Arias[*]

Resumen

La recuperación de sitios contaminados por hidrocarburos es un desafío debido a su complejidad y persistencia en el medioambiente. Sin embargo, gracias a la investigación de los últimos años, hoy es posible mitigar dichos daños por medio de técnicas como la biorremediación y la fitorremediación. La naturaleza tiene la posibilidad de regenerarse y recuperarse luego de un impacto ambiental; no obstante, es indispensable conocer cómo se llevan a cabo esas estrategias, qué tipo de organismos intervienen en ellas y cómo es posible acelerar su proceso. Esta revisión tiene como propósito evaluar la biorremediación como una estrategia tecnológica ambiental de recuperación de entornos contaminados por hidrocarburos. Con este fin, se ejecutó una recopilación bibliográfica en fuentes científicas como *Scopus, Ebsco, ScienceDirect, Nature* y *Scielo*. Teniendo en cuenta los componentes adquiridos, se efectuó una selección cualitativa de la información bajo el parámetro de actualidad y la problemática tratada. Así se puede concluir que existe una amplia variedad de técnicas ambientales de recuperación que permiten lograr procesos de descontaminación de ambientes contaminados con hidrocarburos. En efecto, la capacidad bacteriana y diferentes tipos de plantas tienen la habilidad de crecer en presencia de hidrocarburos y lograr su mineralización, que convierte a estos compuestos en productos inocuos como H_2O, CO_2, NH_4, NO_3. Usualmente, para agilizar y fomentar la mineralización de suelos se requiere la implementación de nitrógeno, fósforo y, dependiendo del caso, humedad. Todo esto con la finalidad de incrementar la capacidad de los microorganismos nativos, y así propiciar la mineralización, siempre y cuando se tenga un previo conocimiento sobre las características del sitio por tratar.

[*] Grupo Cazao (Centro de Investigación Agropecuaria de la Zona Amazonía y Orinoquía), Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Yopal Casanare, Colombia. javelasqueza@uqvirtual.edu.co

Palabras clave

Mineralización, derrames de petróleo, contaminación de suelos, fitorremediación, biorremediación.

Introducción

Las técnicas ambientales para recuperar entornos afectados por hidrocarburos son un desafío que pretende enfocar, cada vez más, investigaciones en el área de las ciencias. Es posible hoy en día mitigar los daños causados al medioambiente a través de técnicas como la biorremediación y la fitorremediación. La Tierra es el único planeta que alberga vida como se conoce, por ello, es indispensable disminuir los impactos ambientales que enfrenta. Por ejemplo, actualmente se estima que 16.8 millones de galones de petróleo crudo son filtrados en el medioambiente (Arellano et al., 2017), sin tener en cuenta los accidentes que ocurren a diario por filtraciones "no mayores" de diésel, gasolina y aceites, que contaminan tanto suelos como aguas, afectan de forma directa e indirecta los ecosistemas, y con ello los servicios que estos proporcionan.

De acuerdo con Meléndez-Pertuz et al. (2017), el 56 % de producción energética en el ámbito global se realiza a partir de la combustión de hidrocarburos. Por tanto, su manufactura desencadena una serie de daños ambientales, cuyas acciones como la exploración y el transporte de sustancias aportan a la polución (Idrovo et al., 2018; Rivera-Ortiz et al., 2018; Velásquez-Arias, 2017; Baztan et al., 2015; Delgadillo-Ordoñez et al., 2017; Gerhardt et al., 2017). En el caso de Colombia, Estévez-Bretón (2011) reporta que los descubrimientos más comunes son comparativamente "diminutos" (inferiores a 10 millones de barriles); sin embargo, para ser considerados "pequeños" son de igual forma una cifra alta si se toman en cuenta los accidentes voluntarios e involuntarios que ocurren con frecuencia en el país.

Los daños causados por contaminantes orgánicos como los hidrocarburos son un problema global y sus efectos son muy amplios, puesto que pueden llegar a cambiar desde las cualidades biológicas, físicas y químicas de las superficies terrestres e, incluso, suscitar detrimento en la vegetación, los animales y la vida de los seres humanos (González et al., 2018; Viesser et al., 2020). Debido a esta problemática, la ciencia se ha enfocado en la búsqueda de tecnologías de biorremediación, que sean amigables con el medioambiente, rápidas, efectivas, prácticas y económicas. La tecnología ambiental a través de la biorremediación desempeña una función clave en la remoción de desechos; su principio consiste en disponer de la materia prima que genera la naturaleza para reducir el daño o modificar los desechos en compuestos inocuos (Cota-Ruiz et al., 2019; Wei et al., 2020).

La presente revisión tiene como objetivo evaluar la biorremediación como técnica ambiental de recuperación para entornos contaminados por hidrocarburos como una estrategia que permita mitigar los impactos ambientales. Para ello, se realizó una búsqueda bibliográfica reciente en fuentes científicas como *Scopus, Ebsco, ScienceDirect, Nature* y *Scielo*. Teniendo en cuenta las referencias recopiladas, se efectuó una selección cualitativa de la información bajo parámetros de actualidad, así como de la problemática tratada.

Situación actual: contaminación por hidrocarburos

Desde el primer momento, la extracción de hidrocarburos ha causado polución del ambiente natural debido a incalculables vertimientos: la quema de gas (Chenaut, 2017; Baoune et al., 2019), la manufactura y los confinamientos inadecuados como la gasolina, el diésel y los aceites lubricantes. Estas situaciones generan contaminación en el suelo y afectan tanto los cultivos como, presuntamente, la salud de los seres vivos. Una vez en el suelo, los contaminantes orgánicos inhiben los ciclos biogeoquímicos, ya que impiden que se genere un intercambio gaseoso con la atmósfera. Así, se genera una mayor toxicidad en los sitios afectados (Benavides et al., 2006). Los compuestos de hidrocarburos se acumulan, por este motivo, van formando capas hidrofóbicas, lo que conduce a la alteración de las poblaciones que habitan en los suelos y las aguas. Adicionalmente, obstaculizan el crecimiento de la cobertura vegetal y modifican todo un ecosistema (Díaz-Martínez et al., 2013).

Tenemos el caso del llamado *pulmón del mundo*, la Amazonia, que ha sido explotada aproximadamente desde 1967. Geológicamente es una base sedimentaria que contiene reservas de petróleo bajo el suelo, de las cuales grandes cantidades de aceite y gases han sido extraídas (Arellano et al., 2017). En consecuencia, es esencial la generación de estrategias de protección, cuidado y recuperación del ecosistema afectado ya que cantidades variables de hidrocarburos son derramadas en el suelo debido a los procesos de exploración, explotación y transporte de hidrocarburos.

Una práctica común en la industria del petróleo es reinyectar agua en su formación geológica original. Durante este proceso, accidental o deliberadamente, ocurren derrames, se liberan cantidades variables de petróleo crudo al medioambiente, se afecta al ecosistema y, en consecuencia, se generan daños incalculables en los seres vivos.

En el medioambiente, los compuestos de hidrocarburos comúnmente son removidos, ya sea de las superficies terrestres o acuáticas por procesos de biodegradación, volatilización, percolación y drenaje superficial (Trujillo-Toro y Ramírez-Quirama, 2012). No obstante, dichos procesos dependen de la cantidad de contaminantes en el medio, ya que su eliminación de forma natural puede tar-

dar centenares de años. En 2017, se calcula que los vertimientos de petróleo fueron mayores a 120 millones de galones, lo cual, en perspectiva, es 11 veces mayor al siniestro del buque petrolero Exxon-Valdez que ocurrió en 1998, en el que se derramaron más de 11 millones de galones de petróleo en el mar, y es considerado uno de los mayores incidentes de contaminación de petróleo en la historia. También es mayor al ocurrido en la plataforma Deepwater Horizon en el golfo de México, donde se esparcieron más de 13 millones de galones de petróleo (Velásquez-Arias, 2017). De esta forma, se examina cómo la contaminación generada por el derramamiento de petróleo en Colombia es una situación que debería preocuparnos a todos.

En Colombia, se usan los oleoductos y los carrotanques como medio de transporte para mover el petróleo. Sin embargo, desde 1986 estos han sufrido constantes ataques por grupos armados al margen de la ley, como lo reporta Gómez-Paternina (2018): entre 1986 y 1998 se estima que se vertieron al suelo alrededor de 2 millones de barriles de petróleo, esto ocasionado por siniestros asociados a grupos al margen de la ley. Se estima que fueron afectadas 6 000 hectáreas de terreno agrícola y pecuario, 2 600 kilómetros de ríos y quebradas, así como 1 600 hectáreas de ciénegas y humedales. No obstante, no todo es negativo: una ventaja es la variedad de empresas existentes actualmente en el país, que tienen la capacidad, la destreza y las licencias ambientales para tratar residuos contaminados con hidrocarburos de diversas fuentes de forma exitosa. Todo esto gracias a la diversidad de estrategias tecnológicas conocidas hoy en día, no solo químicas y físicas, sino también técnicas amigables con el medioambiente como la biorremediación o la fitorremediación. Estas han sido diseñadas con el fin de recuperar ambientes contaminados. Pese a ello, es indispensable resaltar que hace falta más exigencia y control por parte de las entidades gubernamentales encargadas de vigilar prácticas que atenten de forma directa e indirecta contra el medio natural.

El logro de la mineralización

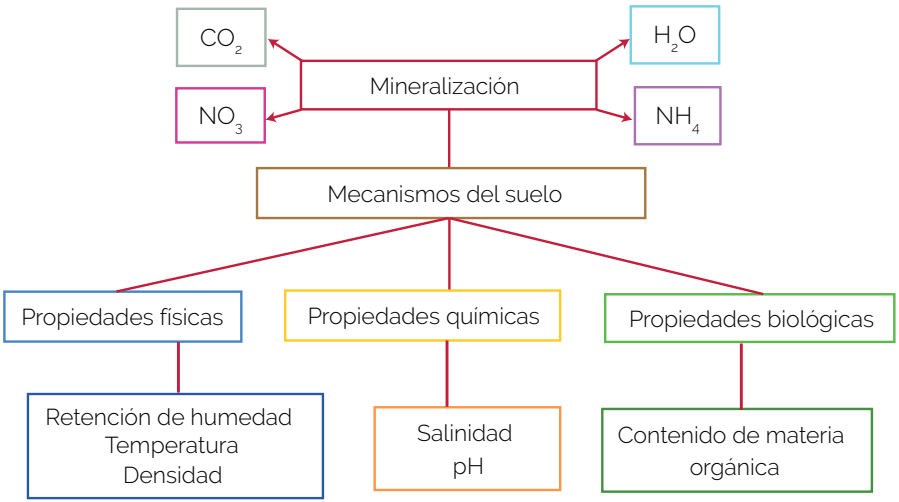
La mineralización es un proceso por el que los microorganismos utilizan contaminantes orgánicos como sustrato de crecimiento y los transforman en productos inocuos como H_2O, CO_2, NH_4, NO_3. Usualmente, para agilizar y fomentar dicho proceso de suelos se requiere la implementación de nitrógeno, fósforo y, según el caso, humedad. Todo esto con la finalidad de incrementar la capacidad de los microorganismos nativos para propiciar la mineralización (véase figura 1) (Rivera-Ortiz et al., 2018; Monsalve, et al., 2017).

Idrovo et al. (2018) reportan que para lograr una mayor estimulación del desempeño de los microorganismos degradadores es importante llevar a cabo estrategias

como el agregado de estiércol de bovinos en suelos contaminados por hidrocarburos de petróleo. A esto, Baztan et al., (2015) agregan que con una humedad de entre un 10 % a 20 % es factible incrementar la mineralización de los hidrocarburos.

Empero, la biodegradación de hidrocarburos de petróleo en suelos puede ser bloqueada por la presencia de elevadas concentraciones de metales en este; por ejemplo, Co, Ni, Cu, Zn, Pb; estos pueden inhibir la actividad degradadora de las bacterias (Camenzuli et al., 2017).

Figura 1. Propiedades del suelo para lograr la mineralización.



Técnicas ambientales que usan sistemas biológicos

Biorremediación

La tecnología se ha encargado de usar los variados sistemas biológicos como las plantas, las algas, las bacterias y los hongos con el fin de promover la recuperación de sistemas contaminados por hidrocarburos. Algunos microorganismos tienen la capacidad de transformar compuestos contaminantes en otros menos tóxicos como CO_2 y H_2O (Wilson et al., 2015; García-Rivero et al., 2008). Esta degradación es factible debido a la capacidad bacteriana de fijar nitrógeno a partir de contaminantes orgánicos como los hidrocarburos.

Así pues, la biorremediación tiene por objetivo potenciar microorganismos con la intención de eliminar, o dado el caso, transformar contaminantes orgánicos. Durante dicho proceso, las enzimas microbianas están encargadas directamente de la degradación o la transformación (Cota-Ruiz et al., 2019). Sin embargo, la capacidad

de la biorremediación no solo se somete a la existencia de microorganismos en las superficies terrestres, sino que son indispensables los atributos tanto físicos como químicos del suelo, fundamentalmente los nutricionales, ya que estos posibilitan el incremento y el sostenimiento de los microorganismos, que no pueden llevar a cabo la biodegradación ante la falta de cantidades adecuadas de nitrógeno y fósforo (Zamora-Figueroa et al., 2017). En la tabla 1 se analizan algunas de las pertinencias y los impedimentos de la biorremediación como técnica ambiental de recuperación.

A pesar de sonar confuso, es posible determinar que las superficies contaminadas con hidrocarburos, ya sean terrestres o acuáticas, poseen una cantidad mayor de microorganismos que aquellas sin ningún tipo de contaminación; no obstante, la diversidad de estas especies es menor. Recientemente, se ha investigado con mayor frecuencia la habilidad de las microalgas y las cianobacterias, con el propósito de obtener estrategias alternativas para degradar y transformar todo tipo de contaminantes, especialmente plaguicidas e hidrocarburos. Ferrera-Cerrato (2006) reporta cómo dichos microorganismos suministran tanto carbono reducido como nitrógeno a los microorganismos ya existentes en ambientes acuáticos, y de esta forma aumentan la facultad de eliminación y degradación de agentes contaminantes.

Tabla 1. Pertinencia e impedimento
de la biorremediación como técnica ambiental

Pertinencia	Impedimento	Referencias
Efectivos en cuanto a costos.	Mayor inversión de tiempo.	Ibañez et al. (2016).
Genera menos residuos secundarios.	Su uso depende del tipo de suelo, ya que, si este no tiene las condiciones necesarias, no se propiciaría el crecimiento de organismos.	Gómez-Paternina (2018); Thakur et al. (2016); Fawzy et al. (2012).
Se requiere un mínimo o ningún tratamiento posterior.	Capacidad para monitorear los procesos.	Gómez-Paternina (2018); Cota-Ruiz et al. (2019).
Tecnología amigable con el medioambiente.	Toxicidad, limitante en áreas fuertemente contaminadas.	Gómez-Paternina (2018); De la Garza et al. (2014).
La limpieza de superficies terrestres y acuáticas previamente contaminadas puede ser llevada a cabo por especies vegetales usadas como "bombas extractoras".	El método presenta limitaciones: en este caso, depende de la profundidad de inserción de las raíces o de superficies acuáticas poco profundas.	Shen et al. (2013); Zhou et al. (2015).

Capacidad bacteriana

Los microorganismos adaptan o desarrollan su metabolismo en función de los parámetros fisicoquímicos como pH, humedad y temperatura. Diversos géneros de bacterias disponen de especies con la habilidad de desarrollarse con el uso de los hidrocarburos como única fuente de energía. No obstante, los hidrocarburos aromáticos policíclicos son el grupo que presenta menor velocidad de biodegradación (Baztan et al. 2015), debido a que estos compuestos químicos contienen 20 o más anillos bencénicos fusionados que generan alta toxicidad y permanencia. Estos se originan mientras se lleva a cabo el proceso de combustión de fósiles y la quema de residuos, como subproductos al producir gas o refinar el petróleo. Se sabe que microorganismos como las bacterias son los grupos multifuncionales más característicos en el proceso de biodegradación de hidrocarburos. El 96 % de bacterias, identificadas en ríos y lagunas, cuenta con la facultad de emulsionar y crecer en presencia de hidrocarburos (Riojas-González, et al., 2010).

Las principales bacterias degradadoras de hidrocarburos forman parte del grupo de las gramnegativas (Grey, 2017). De acuerdo con Pérez-Silva et al. (2008), las bacterias del género *Bacillus* y *Pseudomonas*, aisladas de efluentes en refinerías de petróleo, mostraron gran actividad en la degradación de compuestos derivados de fenol. Cabe destacar que estas bacterias se encuentran muy frecuentemente en sitios contaminados con hidrocarburos aromáticos policíclicos.

Delgadillo-Ordoñez et al. (2017) reportan a *Rhodococcus* gracias a que presenta idoneidad en lo que se refiere al metabolismo, pues puede modificar, biodegradar y, dado el caso, usar como fuente de carbono y energía compuestos hidrófobos. *R. erythropolis* dispone de una gama de rumbos metabólicos que le permite llevar a cabo la transformación y la degradación de compuestos aromáticos. Esto la convierte en objeto de estudio por su capacidad de biodegradar gasoil, hidrocarburos n-alcanos y poliaromáticos.

Pseudomonas aeruginosa se caracteriza por ser degradadora de hidrocarburos aromáticos, poliaromáticos y n-hexadecano. Este género (*Pseudomonas*) se establece más a menudo en entornos contaminados con hidrocarburos, y su habilidad para crecer sobre contaminantes como gasolina, benceno, naftaleno, tolueno, kerosene y diésel es conocida (Grey, 2017). En este mismo sentido, *Achromobacter xylosoxidans denitrificans* dispone de la facultad de aprovechar hidrocarburos como fuente de energía y carbono, además de hidrocarburos poliaromáticos como el fenantreno.

Torri et al. (2018) evaluaron la incidencia de algunos microorganismos edáficos nativos en superficies terrestres contaminadas de forma artificial con fenantreno. Esto dio como resultado que la tasa de degradación del fenantreno fuera considerablemente más alta que el antraceno, debido a que el primero presenta una mayor solubilidad, lo cual facilita los procesos de degradación. Zamora-Figueroa

et al., (2017) estudiaron las variaciones de un suelo contaminado con 9 % (n/m) de crudo de 24.3 °, pasados 120 días. Así se demostró que los microorganismos que habitan dicho suelo facilitaron el 37 % de la reducción de grasas y aceites en suelos fertilizados, y un 32 % en los suelos sin fertilizar. De igual forma, Viesser et al., (2020) identifican a las cepas de *Bacillus thurigiensis, Basillus pumilus* y *Rhodococcus hoagii* como potenciales biodegradadoras aisladas de la planta *Panicum aqusticum Poir,* caracterizada por crecer en suelos contaminados con hidrocarburos. Dichas bacterias presentaron la habilidad de usar los hidrocarburos como fuente de carbono durante los ensayos de degradación *in vitro*.

La fitorremediación

La fitorremediación es un método facultado para detoxificar, metabolizar o degradar contaminantes, todo ello a través de tratamientos *in situ (*Moreira y Falcao, 2013; Mahar et al., 2016). Es considerada, además, una potencial degradadora debido a "la capacidad de fijación del nitrógeno de algunas plantas y a la generación de exudados radicales, que estimulan a los microorganismos autóctonos del suelo para consumir el hidrocarburo como fuente de carbono" (De la Garza et al., 2014; Taheri y Javadzarrin, 2018). De igual forma, las especies vegetales evitan que el viento y la lluvia extiendan la contaminación hacia otros lugares. El principal mecanismo de la fitorremediación es la rizodegradación (por medio de los microorganismos de la rizosfera), al usar procesos metabólicos que convierten hidrocarburos en biomasa microbial, bioenergía, CO_2 y H_2O (Gerhardt et al., 2017).

La notoriedad de esta tecnología ambiental enlaza una adecuada elección de plantas y su habilidad para sobrevivir bajo condiciones climáticas específicas en una determinada región. Entre las principales características que se deben tener en cuenta están la tolerancia a elevadas concentraciones de contaminantes, la habilidad para desarrollarse en suelos carentes de nutrientes, el rápido crecimiento y la alta producción de biomasa, así como la profundidad y la densidad de la raíz (Wirth, 2018; Song et al., 2020). Las plantas cuentan con la facilidad para recuperar tanto suelos como aguas contaminadas con cualquier tipo de agente impuro que perturbe el normal desarrollo del ecosistema. No obstante, es necesario establecer que dichos procesos pueden durar desde unos cuantos años hasta centenares, dependiendo del daño causado.

Existen diversos tipos de métodos fitorremediadores, entre los que se encuentra la fitoextracción, en la que las especies vegetales son cosechadas para después ser incineradas, pues, al estar cargadas de contaminantes, su uso podría ser riesgoso. Este procedimiento incorpora contaminantes inorgánicos y orgánicos que no tienen la habilidad de mineralización (Arias et al., 2010; Salamanca et al., 2013). Mientras las especies vegetales crecen, estas van absorbiendo agua y otros nutrientes, que tienen la capacidad de moverse a través de las raíces, el tallo

y hasta las hojas, donde pueden llegar a evaporarse o volatilizarse en la atmósfera. Este proceso es conocido como *fitovolatización* (Harvey et al., 2002).

La siguiente es la fitodegradación, que se encarga de modificar contaminantes orgánicos en otros menos perjudiciales para el medio natural (Salamanca et al., 2013; Arias et al., 2010; Wiszniewska et al., 2016). Luego, está la fitoinmovilización, que provoca la fijación y disminución de la biodisponibilidad de contaminantes por medio de la elaboración de compuestos químicos (Bernal, 2007; Delgadillo-López et al., 2011). Finalmente, está la fitoestabilización, en la que se detienen los contaminantes a través de la adsorción, la precipitación y la acumulación de sustancias en las raíces de las especies vegetales. Del mismo modo, disminuye el traslado y la migración de contaminantes (Delgadillo-López et al., 2011; Mahar et al., 2016).

Como se mencionó anteriormente, son diversos los procesos que se pueden desarrollar al usar la fitorremediación como técnica biorremediadora de ambientes contaminados, en este caso específico con hidrocarburos. Cabe reiterar que las plantas utilizan su propio metabolismo, incluida la interacción con microorganismos, para reparar su entorno. De igual forma, diversos autores reportan las ventajas que presentan las especies nativas para llevar a cabo trabajos de fitorremediación, puesto que con ellas se eliminan los riesgos ecológicos asociados a la introducción de especies en un ecosistema (Marrugo-Negrete et al., 2016; Wei et al., 2020). Adicionalmente, las especies de flora nativa se encuentran adaptadas a condiciones geográficas específicas como temperatura, altitud, niveles de precipitación y diversidad de microorganismos del suelo, y con ello una presunta tasa fotosintética. Por eso, la importancia de conocer las características de cada especie y sitio por recuperar.

Surfactantes

Los surfactantes son conocidos como agentes activos de superficie encargados de movilizar contaminantes que se encuentren fuertemente adheridos al suelo. Es así, debido a que, entre otras cosas, tienen la capacidad de disminuir la tensión superficial al aumentar la solubilidad y la dispersión. De igual forma, los surfactantes son eficaces al aminorar la interfase de los hidrocarburos y tienen la habilidad de disminuir la viscosidad de los aceites.

El resultado más destacado de los surfactantes en la biorremediación se presenta cuando los contaminantes adsorbidos tienen la facultad de transportarse a través del suelo. De esta forma, el aminoramiento de la tensión interfacial y de la superficie siempre serán los parámetros adecuados al elegir surfactantes para la remediación en suelos (Liu et al., 2004).

González et al. (2018) señalan que los surfactantes mejoran la desorción del contaminante en la fase acuosa y promueven el aumento de la biodisponibilidad para los microorganismos, que tienen así un mayor acceso al sustrato. Por ejem-

plo, el surfactante Triton X-100 ha tenido un 87 % de eliminación al usarse en la remoción de petróleo crudo (Li et al., 2016). También son usados ampliamente el Tween®80 surfactante no iónico, el $NPE0_{9.3}$, el POE 20 y el DOSL. De hecho, los surfactantes no iónicos como el Tween®80 son los más recomendados cuando se inicia un proceso de remediación, debido a que tienen una menor toxicidad y mayor biodegradabilidad, que proporciona mejores resultados al optimizar la eficiencia de remoción. Torres et al. (2006) reportaron surfactantes como Tween®80 y Surfacpol por ser altamente biodegradables; el primero en un 45 % en 168 horas, mientras que el segundo en un 96 % en el mismo tiempo. Riojas-González et al. (2010) sugieren que el efecto más importante del surfactante es el impulso del transporte de masa del contaminante, que va desde el suelo hasta la fase acuosa, lugar donde surge la biodisponibilidad. Esta es afectada por los intercambios entre surfactante-células y células-contaminantes.

El caso de Colombia

Para llevar a cabo un proceso de remediación se recomienda inicialmente ejecutar verificaciones microbiológicas con el propósito de cuantificar poblaciones de microorganismos, para posteriormente precisar las dimensiones con respecto a los microorganismos heterótrofos endémicos del sitio por remediar (Martínez y Casallas, 2018).

En el caso de Colombia, investigadores de todo el país han ejecutado estudios de biorremediación con el fin de contribuir a la descontaminación de ambientes afectados por compuestos tanto orgánicos como inorgánicos. No obstante, en lo referente a los hidrocarburos, las publicaciones son escasas.

En primer lugar, en lo que respecta a la contaminación del agua, es necesario recalcar que en pleno siglo XXI los vertimientos se realizan de forma directa a los ecosistemas, sin previo tratamiento. Montoya et al. (2010) investigaron en Medellín, Colombia, la eliminación de materia orgánica con agua residual sintética en lo que respecta a la demanda química y biológica de oxígeno. Además, hicieron mediciones *in situ* de temperatura, oxígeno y pH en sistemas de humedales construidos de flujo subsuperficial horizontal y sembrados con tres diferentes macrófitas: *Canna limbata*, *Heliconia psittacorum* y *Phragmites* sp. Esto demostró remociones por encima del 94 % con las tres especies de plantas. En un caso de estudio similar con aguas residuales, Ramos et al. (2016), en Boyacá, Colombia, implementaron un humedal artificial de flujo subsuperficial utilizando *Schoenoplectus californicus* y *Cyperus papyrus* con el fin de gestionar aguas residuales domésticas. Gracias a la fitorremediación se disminuyeron coliformes fecales y totales con porcentajes de entre 88 % y 98.5 %.

De igual forma, Domínguez et al. (2016), en Medellín, Colombia, evaluaron el rendimiento de la especie *Eichhornia crassipes,* conocida como *buchón de agua*.

Este trabajo se desarrolló en un humedal de flujo subsuperficial con la intención de fitorremediar efluentes contaminados con mercurio. Finalmente, el buchón de agua se adaptó satisfactoriamente al sustrato. La concentración inicial de metal fue de 0.325 mg/L. En este punto es necesario hacer énfasis en que la normativa colombiana tiene un límite máximo tolerable de (0.002 mg/L) en lo que se refiere a la descarga de aguas de la industria minera a cuerpos superficiales como ríos o quebradas. Por un lado, las especies elegidas eliminaron un 71 % del elemento contaminante en el agua. Pero, por el otro, en lo que se refiere al agua potable, el mercurio no pudo ser reducido a niveles óptimos.

Adicionalmente, Pérez-Vargas et al. (2014) examinaron la facultad acaparadora del mercurio por parte de la planta de ají *Capsicum annuum* en superficies terrestres contaminadas en el sur de Bolívar, Colombia. Para ello, recolectaron evidencias de tejidos de las raíces, los tallos y las hojas de las plantas de *Capsicum annuum* previamente plantadas en dos suelos contaminados con mercurio. Como resultado encontraron concentraciones más elevadas de este metal en las raíces con respecto a los tallos y las hojas, mientras que, en las partes aéreas de la planta, las concentraciones fueron bajas. Empero, es necesario mencionar que el mercurio tiene la capacidad de acumularse y generar graves efectos futuros, por ello la importancia de tener cuidado al consumir alimentos que son sembrados en sectores cercanos a minerías.

Por su parte, Marrugo-Negrete et al. (2016) evaluaron la especie *Jatropha curcas* también como especie fitorremediadora de suelos contaminados por mercurio. Para ello, realizaron la determinación del contenido total de mercurio absorbido por la planta en sus raíces, tallos y hojas durante el transcurso de cuatro meses. Se observó que la mayor absorción acumulada se dio entre el segundo y tercer mes de exposición al metal y con mayor concentración en raíces, seguida por las hojas y los tallos. A partir de este estudio, se evaluaron factores de crecimiento, acumulación, traslocación y bioconcentración de mercurio en la planta.

Asimismo, Briñez et al. (2019), en Ibagué, Colombia, elaboraron una investigación descriptiva retrospectiva en la que se recopilaron 12 litros de aguas de eliminación de obturaciones de amalgama en dientes artificiales. Para llevar a cabo dicho estudio, inicialmente, el agua sin fitorremediar fue analizada y, posteriormente, se usaron dos especies vegetales acuáticas, reconocidas en estudios previos por su capacidad fitorremediadora: *Eichhornia crassipes* (buchón de agua) *y Pistia stratiotes* (lechuga de agua). El resultado fue un porcentaje de remoción de componentes de amalgama superior al 50 %. Las especies herbáceas y subarbustos son los grupos de plantas más comunes para la fitorremediación debido a su rápido crecimiento y alta acumulación de Hg, que da la posibilidad de eliminar la parte aérea de la planta. Marrugo-Madrid et al. (2020) realizaron un estudio piloto de fitorremediación con *Jatropha curcas* en un suelo altamente degradado por

la minería y contaminado con Hg. Las concentraciones de este metal en el suelo mostraron una clara tendencia a disminuir después de 16 meses de seguimiento. Por tanto, después de 1 año y 4 meses, estos valores son significativamente más bajos que las concentraciones iniciales, lo que representa una reducción de Hg en suelo del 50 % y 65 %. Entonces, se puede observar que los estudios de fitorremediación en Colombia se han realizado principalmente en suelos contaminados con mercurio, debido a la alta cantidad de actividad minera tanto legal como ilegal que se presenta en todo el país.

En estos estudios se demuestra la efectividad de la fitorremediación como técnica recuperadora de ambientes contaminados con diversos compuestos tóxicos. En efecto, Cubillos et al. (2014) establece que las especies vegetales tienen la facultad de inmovilizar o metabolizar hidrocarburos mediante procesos como la oxidación metabólica o la coxidación, de acuerdo con los niveles de concentración de los hidrocarburos.

Por otra parte, Vallejo et al. (2016), en Soacha, Colombia, evaluaron la eficiencia de la bioestimulación en la remoción de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) derivados del proceso en la producción de carbón. Para ello, tuvieron en cuenta realizar seguimientos con variables fisicoquímicas y microbiológicas con el fin de estimar la degradación de alquitrán. El mayor porcentaje de eliminación de HTP lo obtuvieron con el método de fertilizante inorgánico compuesto, con 28 % de remoción, seguido del tratamiento con urea, con un 24 % de remoción. Con esto demostraron que al adicionar nutrientes es posible estimular la densidad de los microorganismos degradadores, todo ello con la idea de optimizar los procesos de biodegradación de superficies contaminadas.

Una forma de optimizar la degradación es el uso de consorcios. En específico, el consorcio microalga-bacteria, que se ha estudiado como una opción eficaz para la degradación de contaminantes orgánicos e inorgánicos. En su trabajo, Mora-Salguero et al. (2019) reportan el uso del consorcio entre la microalga *Chamydomonas reinhardtii* y tres cepas bacterianas osmotolerantes, aisladas de la bahía de Cartagena, Colombia, para la degradación de fenol. Las cepas *Stenotrophomonas maltophilia*, *Microbacterterium paraoxydans* y *Paenibacillus lactic* se evaluaron de forma individual, así como en consorcio con la microalga. En presencia de la microalga, las bacterias mostraron un aumento en el nivel de crecimiento y una disminución en la fase de latencia, en comparación con las cepas solas. Además, se observó mayor actividad degradadora de fenol en los consorcios que con las bacterias individuales, al ser la combinación *Microbacterium paraoxydans-Chlamydomonas reinhardtii* la más efectiva y lograr la remoción del 49.89 % de fenol de la muestra. Este estudio, además, señala la ventaja de usar cepas bacterianas nativas de Colombia para llevar a cabo procesos de degradación.

Bertel-Sevilla et al. (2019) midieron el potencial de biodegradación del biodiésel comercialmente disponible utilizando cepas bacterianas aisladas de suelos de un bosque tropical en el Caribe colombiano. Según la secuenciación de nucleótidos del gen que codifica el ARNr 16S, las cepas pertenecen a miembros del género *Cellulosimicrobium*. Esta investigación indica que los alcanos de aceite de biodiésel se degradaron en un promedio de 81.5 % con una densidad óptica que alcanzó 0.2-0.3 en un medio de sal mínima a 37 °C durante 5 días. Las cepas degradaron alcanos individuales de diésel-aceite a tasas entre 64.9 % y 100 %. En efecto, el aumento de la biomasa bacteriana confirmó el uso de los sustratos por parte de los microorganismos, lo que sugiere que estos hidrocarburos son una fuente de carbono.

Conclusiones

Las técnicas ambientales para recuperar entornos naturales contaminados con hidrocarburos como la biorremediación y la fitorremediación son una excelente estrategia que permite recobrar ecosistemas completos usando como materia prima la propia naturaleza. La fitorremediación, además de ser una herramienta amigable con el medioambiente, es económica, embellecedora y brinda beneficios al lugar en el que se desarrolla, ya que los árboles cumplen funciones ecosistémicas que benefician tanto a la naturaleza como a los seres humanos directa e indirectamente. Asimismo, existe una variedad de estrategias dentro de la biorremediación y la fitorremediación que permiten lograr procesos de descontaminación de lugares que fueron alterados por hidrocarburos. Algunas bacterias, algas y plantas identificadas tienen la habilidad de crecer en presencia de hidrocarburos, lograr su mineralización y convertir estos compuestos en productos inocuos como H_2O, CO_2, NH_4, NO_3.

Las especies vegetales tienen la habilidad de inmovilizar o metabolizar los hidrocarburos mediante varios métodos que incluyen la coxidación o la oxidación metabólica, de acuerdo con el porcentaje de hidrocarburos. Del mismo modo, para agilizar y fomentar la mineralización de suelos es recomendable tener en cuenta la adición previa de nutrientes como el fósforo y el nitrógeno, así como de humedad, con la intención de impulsar la actividad de los microorganismos, previamente establecidos, y promover la mineralización siempre y cuando se tenga un conocimiento anterior sobre las características del sitio por tratar.

Finalmente, el uso de especies nativas es clave para llevar a cabo procesos de recuperación de ambientes contaminados. Es importante resaltar la necesidad de fomentar y apoyar futuras investigaciones en lo referente a las técnicas ambientales como la fitorremediación para recuperar sitios contaminados con hidrocarburos, ya que, como se pudo observar, este tipo de estudios es muy escaso en Colombia.

Referencias

Arias, S., Betancur, M., Gómez, G., Salazar, J. P. y Hernández, M. L. (2010). Fitorremediación con humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales porcinas. *Informador técnico (Colombia)*, (74) 12-22. http://www.ciap.org.ar/Sitio/Archivos/Fitorremediacion%20con%20humedales%20artificiales%20para%20el%20tratamiento%20de%20aguas%20residuales%20porcinas.pdf

Arrellano, P., Tansey, K., Balzter, H. y Tellkamp, M. (2017). Plant family specific impacts of petroleum pollution on biodiversity and leaf chlorophyll content in the Amazon rainforest of Ecuador. *PloS ONE*, *12*(1), 1-18. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169867

Baoune, H., Aparicio, J., Acuña, A., Oul, A., Polti, M. y Álvarez, A. (2019). Effectiveness of the Zea mays-Streptomyces association for the phytoremediation of petroleum hydrocarbons impacted soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, (184), 1222-1246. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109591

Baztan, M. S., Pucci, H. y Pucci, G. N. (2015). Electrobiorremediación de un suelo con una contaminación antigua de hidrocarburo. *Acta Biológica Colombiana*, *20*(2), 145-152. http://dx.doi.org/10.15446/abc.v20n2.45257

Benavides, L., Quintero, G., Guevara, A. L., Jaimes, A., Gutiérrez, S. M. y García, J. (2006). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. *NOVA Publicación Científica 4*(5), 81-90. https://www.redalyc.org/pdf/411/41140509.pdf

Bernal, M. P., Clemente, R., Vazquez, S. y Walker, D. J. (2007). Aplicación de la fitorremediación a los suelos contaminados por metales pesados en Aznalcóllar. *Ecosistemas*, (16), 67-76. https://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/131

Bertel-Sevilla, A., Cervantes-Ceballos, L., Tirado-Ballestas, I., Maldonado-Rojas, W., Alzate-Restrepo, J. y Olivero-Verbel, J. (2019). Biodegradation of biodiesel-oil by *Cellulosimicrobium* sp. Isolated from Colombian Caribbean soils. *Environmental Technology*, *41*(18), 2337-2349. https://doi.org/10.1080/09593330.2018.1564798

Briñez, G. N., Solano, C. E., Sandoval, J. D., Rojas, A. L. y Agudelo, G. (2019). Fitorremediación de aguas contaminadas con componentes de amalgama de preclínica odontológica de la Universidad Antonio Nariño, Ibagué Colombia. *Acta Odontología*, *9*(2), 59-70. https://doi.org/10.15446/aoc.v9n2.79359

Camenzuli, D., Wise, L. E., Strokes, A. J., Core, y D. B. (2017). Treatment of soil co-contaminated with inorganics and petroleum hydrocarbons using silica: implications for remediation in cold regions. *Science and Technology*, *135*, 8-15. https://doi.org/10.1016/j.coldregions.2016.10.008

Chenaut, V. (2017). Impactos sociales y ambientales de la explotación de hidrocarburos en el municipio de Papantla, Veracruz (México). *E-cadernos CES*, 28, 94-117. https://doi.org/10.4000/eces.2433

Cota-Ruiz, K., Nuñez-Gastelúm, J. A., Delgado-Ríos, M. y Martínez-Martínez, A. (2019). Biorremediación. Actualidad de conceptos y aplicaciones. *Biotecnia. XXI*(1), 37-44. http://www.colech.edu.mx/cont/descargables/biotecnia.pdf

Cubillos, J., Pulgarín, P., Gutiérrez, J. y Paredes, D. (2014). Fitorremediación en aguas y suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo. *Ingeniería y Competitividad*, *16*(1), 131-146. http://www.scielo.org.co/pdf/inco/v16n1/v16n1a12.pdf

Delgadillo-López, A., González-Ramírez, C., Prieto-García, F., Villagómez-Ibarra, J. R. y Acevedo-Sandoval, O. (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, *14*(2). 697-612. https://www.redalyc.org/pdf/939/93918231023.pdf

Delgadillo-Ordoñez, N. C., Posada-Suárez, L. R., Marcelo, E., Cepeda-Hernández, M. L. y Nieves, S. J. (2017). Aislamiento e identificación de levaduras degradadoras de hidrocarburos aromáticos, presentes en tanques de gasolina de vehículos urbanos. *Revista Colombiana de Biotecnología*. XIX, 123-133. https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v19n2.70278

De la Garza, R. R., Maldonado, T. A., Rivera, O. P. y Briones, E. F. (2014). Efecto planta biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. XX Congreso Latinoamericano y XV Congreso Peruano de la Ciencia del Suelo. Cusco-Perú, del 9 al 15 de noviembre de 2014. https://www.researchgate.net/publication/321224376_Efecto_planta_en_la_biorre mediacion_de_suelos_contaminados_con_hidrocarburos

Díaz-Martínez, E., Alarcón, A., Ferrera-Cerrato, R., Almaraz-Suarez, J. J. y Barradas, O. (2013). Crecimiento de *Casuarina equisetifolia (Casuarinaceae)* en suelo con diésel, y aplicación de bioestimulación y bioaumentación. *Revista de Biología Tropical*, *61*(3), 1039-1052. https://www.scielo.sa.cr/pdf/rbt/v61n3/a05v61n3.pdf

Domínguez, M., Gómez, S. y Ardila, A. (2016). Fitorremediación de mercurio presente en aguas residuales provenientes de la industria minera. *UGCiencia*, *22*(1), 227-237. https://revistas.ugca.edu.co/index.php/ugciencia/article/view/705/1075

Estévez-Bretón, J. B. (2011). Innovación de hidrocarburos en Colombia. *Revista de Ingeniería*. Edición especial, (34), 83-85. http://www.scielo.org.co/pdf/ring/nspe34/nspe34a13.pdf

Fawzy, M., Badr, N., El-Khatib., A. y El-Kassem, A. (2012). Heavy metal biomonitoring and phytoremediation potentialities of aquatic macrophytes in River Nile. *Environmental Monitor Assessment*, (184), 1753-1771. https://doi.org/10.1007/s10661-011-2076-9

Ferrera-Cerrato, R., Rojas-Avelizapa, N., Poggi-Varaldo, H. M., Alarcón, A. y Cañizares- Villanueva, R. O. (2006). Procesos de biorremediación de suelo y agua contaminados por hidrocarburos del petróleo y otros compuestos orgánicos. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, *48*(2), 179-187. https://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2006/mi062s.pdf

García-Rivero, M. y Peralta-Pérez, M. R. (2008). Cometabolismo en la biodegradación de hidrocarburos. *Revista Mexicana de Ingeniería y Química*, *7*(1), 1-12. https://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v7n1/v7n1a1.pdf

Gerhardt, K. E., Gerwing, P. D. y Greenberg, B. M. (2017). Opinion: taking phytoremediation from proven technology to accepted practice. *Plant Science*, 256, 170-185. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.11.016

Gómez-Paternina (Ed.). (2018). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos en cultivo de tomate. *UniAgraria*. Fundación Universitaria Agraria de Colombia.

González, M., Rivera, M. y Rojas, H. (2018). Los surfactantes: una alternativa para la descontaminación de suelos con hidrocarburos. Una revisión. *Investigación y Posgrado*, *6*(23) 23-32. https://www.researchgate.net/publication/322628112_Los_surfactantes_una_alternativa_para_la_descontaminacion_de_suelos_con_hidrocarburos_Una_revision

Grey, A. (2017). Biodegradación de hidrocarburos en sedimento de la bahía de Manzanillo. KnE Engineering Science and Technology, 2018, 80-87. https://doi.org/10.18502/keg.v3i1.1415

Harvey, P., Campanella, B. F., Castro, P., Harms, H., Lichttfouse, E., Schäffner, A., Smrcek, S. y Weck-Reichhart, D. W. (2002). Phytoremediation of polyaromatic hydrocarbons, anilines and phenols. *Environmental Science and Pollutant Restoration*, 9, 29-47. https://doi.org/10.1007/BF02987315

Ibañez, S., Talano, M., Ontan, O., Suman, J., Medina, M, Macek, T. y Agostini, E. (2016). Transgenic plants and hairy roots: exploiting the potential of plant species to remediate contaminants. *New Biotechnology*, *33*(5), 625-633. https://doi.org/10.1016/j.nbt.2015.11.008

Idrovo-Novillo, J., Gavilanes-Terán, I., Veloz-Mayorga, N., Erazo-Arrieta, R., Jara-Erazo, S., Bravo-Basantes, V. y Paredes, C. (2018). Efectos del tipo de enmienda orgánica y del inóculo microbiano en la biorremediación de suelos contaminados por petróleo. En R. Albiach Vila, R. Canet Castelló, T. Montoya Martínez, A. Pérez Piqueres, A. Quiñones Oliver y P. Rojo Jarabo (Eds.), 6.as Jornadas Red Española de Compostaje 2018 (pp. 371-375). Red Española de Compostaje. Lí, G., Guo, S. y Hu, J. (2016). The influence of clay minerals and surfactants on hydrocarbon removal during the washing of petroleum-contaminated soil. *Chemical Engineering Journal*, 286, 191-197. https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.10.006

Li, G., Guo, S. y Hu, J. (2016). The influence of clay minerals and surfactants on hydrocarbon removal during the washing of petroleum-contaminated soil. *Chemical Engineering Journal*, 286, 191-197. https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.10.006

Liu, Q., Dong, M., Zhoua, W., Ayub, M., Zhang, y P., Huang, S. (2004). Improved oil recovery by adsorption-desorption in chemical flooding. Journal of Petroleum Science Engineer. 43(1-2), 75-86. https://doi.org/10.1016/j.petrol.2003.12.017

Mahar, A., Wang, P., Ali, A., Awathi, M. K., Lahori, A., Wang, Q., Li, R. y Zhang, Z. (2016). Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. (126) 111-121. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.12.023

Marrugo-Madrid, S., Turull, M., Enamorado-Montes, G., Viña, M., Marrugo-Negrete., J. L. y Díaz, S. (2020). Chapter 7- Phytorremediation of mercury in soils impacted by gold mining: a case study of Colombia. En *Bioremediation for environmental sustainability* (pp. 145-160). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820524-2.00007-9

Marrugo-Negrete, J. L., Marrugo-Madrid, S., Pinero-Hernández, J., Durango-Hernández, J. y Díez, S. (2016). Screening of native plants species for phytoremediation potential at a Hg-Contaminated mining site. *Science of the Total Environment*, (542[part A]) 809-816. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.117

Martínez, J. A. y Casallas, M. R. (2018). *Contaminación y remediación de suelos en Colombia. Aplicación a la minería de oro*. EAN. https://editorial.universidadean.edu.co/media/acceso-abierto/contaminacion-y-remediacion-de-suelos-en-colombia.pdf

Meléndez-Pertuz, F., Gonzalez, J., Comas-Gonzalez, Z., Nuñez-Pérez, B. y Viloria, P. (2017). Integridad estructural de tuberías de transporte de hidrocarburos: panorama actual. *Revista Espacios*, *38*(17) 1-12. https://repositorio.cuc.edu.co/bitstream/handle/11323/4599/Integridad%20estructural%20de%20tuberías%20de%20transporte%20de%20hidrocarburos.%20Panorama%20actual.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Monsalve, O. I., Gutiérrez, J. S., y Cardona, W. A. (2017). Factores que intervienen en el proceso de mineralización cuando son aplicadas enmiendas orgánicas al suelo. Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, *11*(1), 200-209. https://doi.org/10.17584/rcch.2017v11i1.5663

Montoya, J. I., Ceballos, L. Casas, J. C. y Morató, J. (2010). Estudio comparativo de la remoción de materia orgánica en humedales construidos de flujo horizontal subsuperficial usando tres especies de macrófitas. *Revista EIA*, (14), 75-84. https://www.redalyc.org/pdf/1492/149218986006.pdf

Mora-Salguero, D. A., Vives-Flórez, J., Husserl-Orjuela, J., Fernández-Niño, M. y González-Barrios, F. (2019). Evaluation of the phenol degradation capacity of microalgae-bacteria consortia from the bay of Cartagena, Colombia. *TecnoLógicas*, *22*(44), 149-158. https://doi.org/10.22430/22565337.1179

Moreira, I. T. y Falcao, B. A. (2013). Phytoremediation in mangrove sediments impacted by persistent total petroleum hydrocarbons (TPHs) using Avicennia schaueriana. *Marine Pollution Bulletin*. *67*(1-2), 130-136. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.11.024

Pérez-Silva, R. M., Camacho-Pozo, M. I., Gómez-Montes. J. M., Ábalos-Rodríguez, A., Viñas, M. y Cantero-Moreno, D. (2008). Aislamiento y selección de una cepa bacteriana degradadora de hidrocarburos a partir de suelos contaminados con petróleo. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, *39*(1), 44-51. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181214889004

Pérez-Vargas, H. M., Vidal-Durango, J. V. y Marrugo-Negrete. J. L. (2014). Evaluación de la capacidad acumuladora de mercurio del ají *Capsicum annuum*. *Revista Salud Pública*, *16*(6), 897-909. https://www.researchgate.net/publication/279458985_Evaluacion_de_la_capacida d_acumuladora_de_mercurio_del_aji_Capsicum_annuum

Ramos, A., Prieto, J. M., Cárdenas, D. M. y Bernal, M. S. (2016). Implementación de su sistema de fitorremediación en zona aledaña a reserva forestal protectora El Mambo, Boyacá, Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, *7*(1), 93-103. https://www.researchgate.net/publication/315844437_Implementacion_de_un_sist ema_de_fitorremediacion_en_zona_aledana_a_reserva_forestal_protectora_El_Malmo_Boyaca_Colombia

Riojas-González, H. H., Torres-Bustillos, L., Mondaca, I., Balderas, J. y Moroyoqui, P. (2010). Efectos de los surfactantes en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. *Revista Química Viva*, *9*(3), 120-145. https://www.redalyc.org/pdf/863/86315692003.pdf

Rivera-Ortiz, P., Rivera-Lárraga, J. E., Andrade-Limas, E., Heyer-Rodríguez, L., De la Garza-Requeña, F. R. y Castro-Mesa, B. I. (2018). Bioestimulación y biorremediación de recortes de perforación contaminados con hidrocarburos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, *34*(2), 249-262.

Salamanca, E., Madera- Parra, C., Sánchez, J. M. y Medina-Vásquez, J. (2013). Bioprospección de plantas nativas para su uso en procesos de biorremediación: caso Helicona psittacorum (Heliconiacea). *Revista Académica de Colombia Ciencia*. *37*(145). http://www.scielo.org.co/pdf/eia/n14/n14a07.pdf

Shen, Mi., Liu, L., Li, D-W., Zhou, W., Zhou, Z-P., Zhang, C., Luo, Y. y Li, H. (2013). The effect of endophytic Peyronellaea from heavy metal-contaminated and uncontaminated sites on maize growth, heavy metal absorption and accumulation. *Fungal Ecology*, *6*(6), 539-545. https://doi.org/10.1016/j.funeco.2013.08.001

Song, L., Niu, X., Tian, Y. Xiao, Y. (2020). Assessment of PAH degradation potential of native species from a coking plant through identifying of the beneficial community within the rhizosphere soil. *Chemosphere*, *264*(2), 128-135. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128513

Taheri, M. y Javadzarrin, I. (2018). Phytoremediation modeling in soil contaminated by oil- hydrocarbon by eucaliptus (a comparative study). *Computers and Electronics in Agriculture*, 150, 162-169. https://doi.org/10.1016/j.compag.2018.04.016

Thakur, S., Singh, L., Wahid, Z., Siddiqui, M., Atnaw, S. y Din, M. (2016). Plant-driven removal of heavy metals from soil: uptake, translocation, tolerance mechanism, challenges, and future perspectives. *Environmental Monitor Assessment*, *188*(4), 206. https://doi.org/10.1007/s10661-016-5211-9

Torres, L. G., Orantes, J. L. e Iturbe, R. (2006). Biodegradacion of two nonionic surfactants used for in situ flushing of oil contaminated soils. *Tenside Surfactant Detergents*. *43*(5), 251-255. https://doi.org/10.3139/113.100313

Torri, S., Cabrera, M. y Alberti, C. (2018). Respiración potencial durante la bioestimulación de un suelo contaminado con hidrocarburos aromáticos policíclicos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, *34*(1). 127-136. https://doi.org/10.20937/rica.2018.34.01.11

Trujillo-Toro, M. A. y Ramírez-Quirama, J. F. (2012). Biorremediación en suelos con hidrocarburos en Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, *3*(2), 37-62. https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/952/946

Vallejo, V. E., Sandoval, J. J., Garagoa, S. C. y Bastos, J. (2016). Evaluación del efecto de la bioestimulación sobre la biorremediación de hidrocarburos en suelos contaminados con alquitrán en Soacha, Cundinamarca-Colombia. *Acta Agronómica*, *65*(4) 354-361. http://dx.doi.org/10.15446/acag.v65n4.51013

Velásquez-Arias, J. (2017). Contaminación de suelos y aguas por hidrocarburos en Colombia. Fitorremediación como estrategia biotecnológica de recuperación. *Revista RIAA*, *8*(1), 151-167. https://doi.org/10.22490/21456453.1846

Viesser, J. A., Sugai-Guerios, M. H., Malucelli, L. C., Pincerati, M. R., Karp, S. G., y Maranho, L. T. (2020). Petroleum-tolerant rhizosphere bacteria: isolation, characterization and bioremediation potential. *Scientific Reports*, *10*(1), 1-11. https://doi.org/10.1038/s41598-020-59029-9

Wei, Z., Van, Le., Peng, W., Yang, H., Gu, H., Lam, S. S. y Sonne, C. (2020). A review on phytoremediation of contaminants in air, water and soil. *Journal of Hazardous Materials*, *403*, 304-314. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123658

Wilson, B. A., Addo-Mensah, A. K. y Mendez, M. (2015). In situ impacts of a flooding event on contaminant deposition and fate in a riparian ecosystem. *Journal of Sediment*, 15, 2244-2256. https://doi.org/10.1007/s11368-015-1145-z

Wirth, E. (2018). La maldición de los recursos naturales y los hidrocarburos: una revisión de literatura. *Papeles de Europa*, *31*(1), 19-39. http://dx.doi.org/10.5209/PADE.61487

Wiszniewska, A., Hanus-Fajerska, W., Muszynska, W. y Ciarkowska, K. (2016). Natural organic amendments for improved phytoremediation of polluted soils: a review of recent progress. *Pedosphere*, *26*(1), 1-12. https://doi.org/10.1016/S1002-0160(15)60017-0

Zamora-Figueroa, A. C., Ramos-Oropeza, J. R., Arias, M. y Hernández-Valencia, I. (2017). Respuesta de la comunidad microbiana al biotratamiento de un suelo

contaminado con crudo mediano. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, *33*(4), 629-639. https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.04.07

Zhou, L., Li, Z., Liu, W., Liu, S., Zhang, L., Zhong, L., Luo, X. y Liang, H. (2015). Restoration of rare earth mine areas: organic amendments and phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Restoration*, *22*, 17151-17160. https://doi.org/10.1007/s11356-015-4875-y

Perspectivas de remediación de suelos contaminados por hidrocarburos en México y algunas alternativas de tratamiento

Alejandro Islas García[*]
Adriana Benítez Rico[**]
Tomás Eduardo Chávez Miyauchi[**]
Arely Vergara Castañeda[***]
Laura Martino Roaro[****]

Resumen

La contaminación de suelos por hidrocarburos es un problema de atención en México. En este capítulo se muestra un panorama de los sitios contaminados por hidrocarburos en el país, así como de la situación actual de su remediación. Además de esto, se describen alternativas tecnológicas novedosas de remediación de suelo reportadas internacionalmente, entre las cuales destacan los procesos de inundación o el lavado de suelos con soluciones de biosurfactantes, la inyección de espumas, la nanorremediación y la biorremediación. La remediación de cada sitio es única debido a la composición del suelo, el tipo de hidrocarburo presente y las condiciones ambientales, las cuales delimitarán la zona de mayor concentración y los componentes predominantes de dicho suelo, además de los factores de riesgo, tales como arrastre de contaminantes, y contaminación cruzada y secundaria. El objetivo principal de este trabajo es ubicar los campos de oportunidad en materia de remediación de suelos en México y brindar información sobre las posibles alternativas tecnológicas más promisorias y de posible aplicación en sitios nacionales.

[*] GIDI Ciencia y Tecnología Ambiental Aplicada. Vicerrectoría de Investigación, Universidad La Salle México. Ciudad de México, México. alejandro.islas@lasalle.mx

[**] GIDI Ingeniería de Procesos y Nuevos Materiales. Vicerrectoría de Investigación, Universidad La Salle México. Ciudad de México, México.

[***] GIDI Ciencias Básicas y Clínicas de la Salud. Vicerrectoría de Investigación, Universidad La Salle México. Ciudad de México, México.

[****] Centro Universitario Incarnate Word, Ciudad de México, México.

Palabras clave

Hidrocarburos, biosurfactantes, espumas, nanorremediación, biorremediación.

Panorama de la contaminación y remediación ambiental de hidrocarburos

En México, los sitios contaminados no solo se encuentran en las zonas de explotación de recursos naturales, sino también en áreas industriales, todas ellas contaminadas principalmente con hidrocarburos o derivados de petróleo, metales pesados e hidrocarburos halogenados (Semarnat, 2010).

De acuerdo con reportes de la Secretaría de Marina y Recursos Naturales (Semarnat, 2014), entre 2008 y 2013 se identificaron 627 sitios contaminados, de los cuales, Petróleos Mexicanos (Pemex) fue responsable en el 20.3 % de los casos, con 127. En el mismo periodo, se reportaron 446 casos de emergencias ambientales en suelo por derrame de hidrocarburos (gasolina, diésel, combustóleo y turbosina) correspondientes al 71.1 % del total de emergencias nacionales. Pero en el caso de los pasivos ambientales (áreas con una contaminación más longeva), durante el periodo de 2010 a 2017, se identificó un total de 497 sitios contaminados con hidrocarburos, actualmente en proceso de remediación (Semarnat, 2018). En la tabla 1 se puede observar que los estados con más pasivos ambientales son Veracruz y Tamaulipas, con 189 y 116, respectivamente, seguidos de San Luis Potosí, Tabasco y Ciudad de México.

Por ello, en México se creó el Programa Nacional de Remediación de Sitios Contaminados, con el objetivo de reducir el número de sitios con polución, para prevenir y reducir los riesgos a la salud y al ambiente, así como para evitar su generación (Semarnat, 2010). Todo ello se hace bajo la norma oficial mexicana NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012, que establece los límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos, y las especificaciones para su caracterización y remediación.

En México las tecnologías de remediación de suelos más utilizadas son la biorremediación con biopilas a un lado del sitio, bioventeo o extracción de vapores del suelo y estabilización en el sitio (Semarnat, 2010), aunque también se utilizan otras metodologías fisicoquímicas como lavado, separación física, desorción térmica y centrifugación (Semarnat, 2007). Actualmente, existen otras tecnologías como la electrorremediación, la nanorremediación, reactores de suelos activados, la fitorremediación y el composteo, que son utilizadas en sitios contaminados con hidrocarburos y otros contaminantes orgánicos. Como tal, no existe una tecnología universal que posea la capacidad de efectuar la limpieza del suelo con alta eficiencia en todos los casos. Como mencionan Volke y Velasco (2002), cada sitio es único y para poder seleccionar una tecnología adecuada para la remediación se

requiere conocer toda su información, la del contaminante por tratar y la historia del accidente, debido a que permitirá pronosticar y conocer el movimiento de los compuestos en el subsuelo.

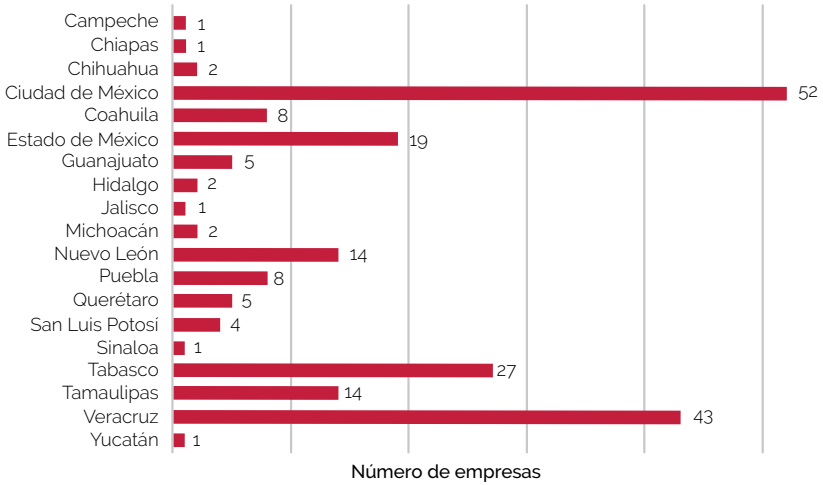
Tabla 1. Pasivos ambientales contaminados con hidrocarburos de fracción ligera (HFL), fracción media (HFM) y fracción pesada (HFP)

Entidad federativa	Sitios identificados	Fracción de hidrocarburos	Tipo de contaminante
Aguascalientes	1	HFM	Diésel
Baja California	1	HFL	Gasavión
Baja California Sur	2	HFM	Diésel
Campeche	4	HFM	Diésel, turbosina
Coahuila	22	HFM, HFP	Diésel, petróleo
Chiapas	2	HFM	Diésel
Chihuahua	3	HFM, HFP	Diésel, aceites
Ciudad de México	26	HFL, HFM	Gasolina, diésel, turbosina
Durango	3	HFP	Petróleo
Guanajuato	4	HFP	Aceites
Guerrero	1	HFL, HFM, HFP	Mezcla
Hidalgo	2	HFM	Diésel
Jalisco	3	HFL, HFP	Gasavión, aceites
Estado de México	20	HFL, HFM	Gasolina, diésel
Nuevo León	4	HFL, HFM, HFP	Mezcla
Oaxaca	4	HFL, HFM, HFP	Mezcla
Puebla	3	HFM	Diésel
Querétaro	6	HFP	Aceites
Quintana Roo	2	HFP	Aceites
San Luis Potosí	36	HFM, HFP	Diésel, petróleo
Sinaloa	6	HFL, HFM	Gasavión, gasolina, diésel
Tabasco	34	HFM, HFP	Diésel, petróleo
Tamaulipas	116	HFL, HFM, HFP	Gasavión, diésel, petróleo
Tlaxcala	2	HFM	Diésel
Veracruz	189	HFM, HFP	Diésel, petróleo, combustóleo
Zacatecas	1	HFL, HFM, HFP	Mezcla
Total	497		

Fuente: elaboración propia a partir de Semarnat (2018).

Al respecto, en México existen 210 empresas autorizadas por la Semarnat para servicios de remediación de suelos contaminados, ubicadas principalmente en Ciudad de México, Veracruz y Tabasco (figura 1). Estas empresas utilizan los tratamientos biológicos (biopilas, bioventeo y *landfarming*), químicos (oxidación química y neutralización) y físicos (estabilización-solidificación, lavado, extracción de vapores y desorción térmica).

Figura 1. Empresas autorizadas para remediación de suelos

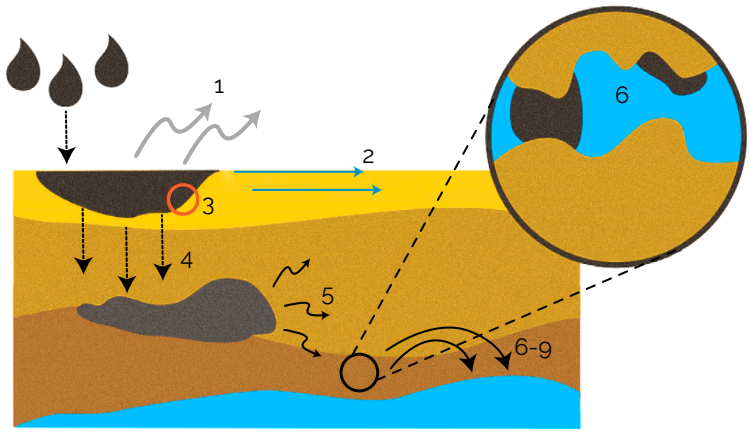


Fuente: elaboración propia a partir de Semarnat (2018).

Destino de los hidrocarburos en el ambiente

El desplazamiento de los hidrocarburos durante un derrame puede ser muy complejo; sin embargo, de acuerdo con Kostecki et al. (2005), puede explicarse en los pasos mostrados en la figura 2.

Figura 2. Diagrama del desplazamiento de hidrocarburos durante un derrame



Fuente: elaboración propia a partir de Kostecki et al. (2005).

1. Volatilización de componentes ligeros a la atmósfera.
2. Desplazamiento de los hidrocarburos sobre la superficie debido a la gravedad o arrastre por efluentes de agua.
3. Adherencia de componentes pesados a la superficie del suelo, que provoca obstrucción e hidrofobización del suelo.
4. Infiltración al suelo.
5. Flujo vertical y lateral de hidrocarburos en la zona "insaturada".
6. Retención de hidrocarburos en zonas texturales específicas como arcillas, en poros, y adhesión sobre granos de suelo y materia orgánica.
7. Disolución o emulsificación de algunos componentes con el agua autóctona del subsuelo.
8. Degradación biológica o no biológica.
9. Drenaje hacia cuerpos de agua subterráneos.

La alta permanencia de los hidrocarburos en el suelo se determina por su estructura química, toxicidad y grupos funcionales; es decir, mientras más larga sea la cadena de carbonos o más estructuras aromáticas contenga, mayor será la persistencia. Además, las propiedades del suelo afectado, la concentración del hidrocarburo, la diversidad de microorganismos residentes y las condiciones climáticas del sitio contaminado impactarán en el periodo que estos contaminantes estarán en el suelo. Por tanto, una vez que el suelo esté dañado, es prioritario realizar las acciones de restauración para evitar cualquier efecto adverso.

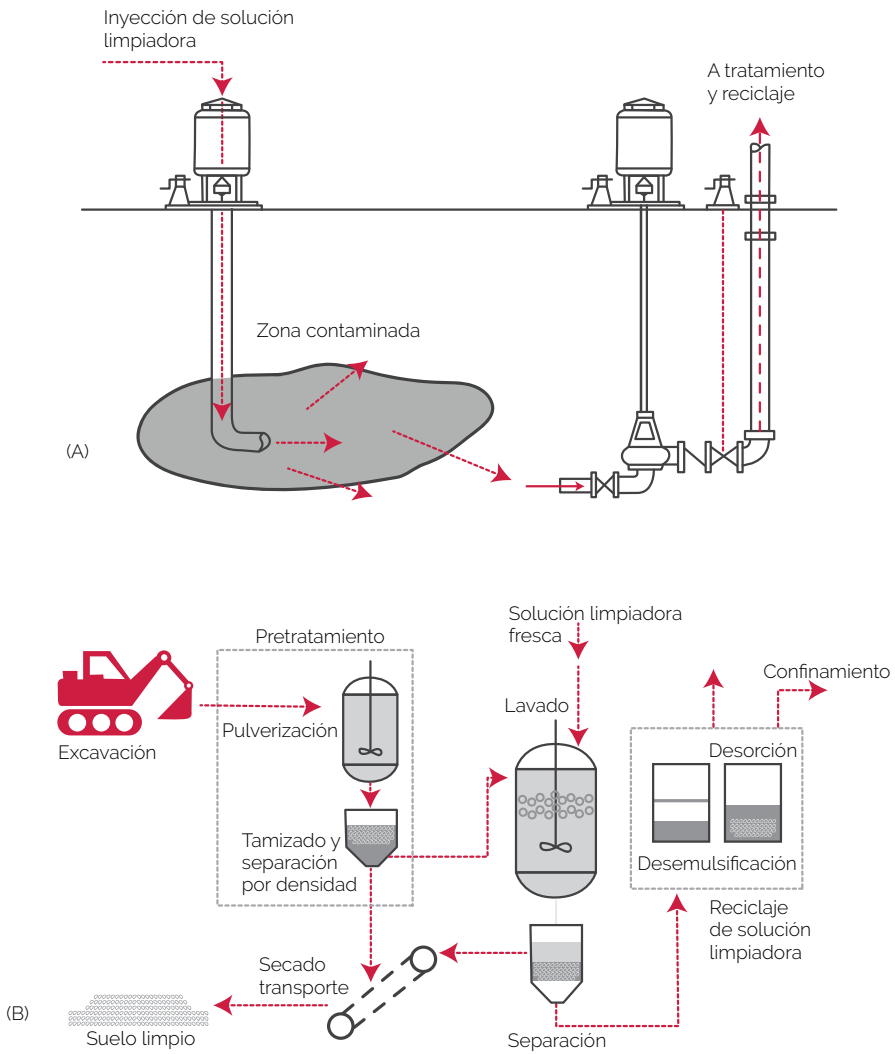
Tecnologías de inundación o lavado de suelo

Una de las tecnologías más socorridas por su sencillez para la remediación rápida de suelos es la inundación, o bien el lavado de suelos, ya que consiste en el arrastre de los contaminantes libres por medio de un solvente (generalmente agua). El objetivo es aumentar la concentración de contaminantes en la solución de arrastre para posteriormente realizar una separación o tratamiento que deje el sitio con niveles adecuados para su uso, o bien con concentración óptima de contaminantes para sistemas de biorremediación.

Como puede observarse en la figura 3, el proceso de inundación es un método *in situ*, mientras que el proceso de lavado de suelos es un método *ex situ.* Ambos son relativamente económicos, pero pueden incrementarse los costos debido a la recuperación de los contaminantes de los efluentes a través de tratamientos específicos.

Si bien la mayor eficiencia de los procesos de inundación y lavado de suelos implica el desplazamiento de hidrocarburo libre o retenido en los poros del suelo, el reto estriba en la remoción de los componentes pesados adheridos en los minerales del suelo. Para incrementar la eficiencia de remoción, el suelo puede ser inundado con soluciones de tensoactivos.

Figura 3. Tecnologías de inundación (A) y lavado de suelo (B)



Fuente: elaboración propia a partir de Mao et al. (2015).

Tensoactivos

Los tensoactivos son compuestos químicos "anfifílicos" o "anfipáticos", debido a que poseen una sección polar o afín al agua (hidrofílica), comúnmente conocida como "cabeza", y una sección alifática no afín al agua (hidrofóbica), la cual es conocida como "cola". Esta característica brinda a las moléculas la capacidad

de adsorberse en interfaces gracias a su dualidad y a la vez provocar diferentes fenómenos.

De acuerdo con la naturaleza de la "cabeza", los tensoactivos pueden ser iónicos (aniónicos, catiónicos o zwitteriónicos), o bien aniónicos. La ionización de la cabeza o los grupos funcionales que posea son determinantes para que las moléculas de tensoactivo interaccionen con otras moléculas o con superficies. Esto se da a través de las llamadas "interacciones débiles", entre las cuales destacan fuerzas de Van der Waals, ion-ion, ion-dipolo, puentes de hidrógeno, interacciones π–π. Dependiendo de su concentración, los tensoactivos pueden actuar de diferentes maneras.

A baja concentración, tienen preferencia por adsorberse sobre las superficies minerales, de ese modo pueden desplazar el hidrocarburo adherido al generar una monocapa de compuesto sobre la superficie mineral. A medida que la concentración de tensoactivo aumenta, la superficie comienza a saturarse de esta, lo que provoca la generación de estructuras esféricas u ovoides denominadas *micelas*. Estas son microestructuras capaces de contener en su interior al hidrocarburo y dispersarse en la fase acuosa. En este sentido, los tensoactivos catiónicos son más propensos a adsorberse sobre los minerales y modificar la mojabilidad de la roca, mientras que los tensoactivos no iónicos son más propensos a generar microestructuras y arrastrar los contaminantes formando soluciones coloidales (emulsiones).

El uso de los tensoactivos es muy promisorio, sin embargo, existen dos riesgos: el primero es que haya un arrastre de contaminantes a zonas no deseadas o permeación del mismo tensoactivo a los mantos freáticos; el segundo, que el suelo sea saturado de tensoactivo y esto modifique las propiedades de la superficie.

Algunos reportes del uso de tensoactivos para remediación de suelos contaminados con hidrocarburos se enlistan en la tabla 2.

Tabla 2. Ejemplos de uso de tensoactivos comerciales para inundación o lavado de suelo

Referencia	Tensoactivo	Tipo de suelo	Hidrocarburo objetivo	Eficiencia de remoción
Ranjan et al. (2006)	CTAB (1.5 %v/v) gradiente hidráulico 2.8	Suelo arcilloso	Benceno, naftaleno, fenantreno, diésel	58.8-98.9 %
Khalladia et al. (2009)	SDS (8 mm) 32 ml/min por 48 h	94 % limo 2.4 % arena 2.6 % arcilla	Diésel	97 %
Shiau et al. (2003)	AOT/Calfax 16L-35	Arena, limo	Diésel, gasolina y NAPL de diésel	65-99 %
Svab et al. (2009)	Spolapon AOS 146	80 % arena 17 % limo 3 % arcilla	PCB	56 %

(*Continúa*)

Strbak (2000)	Dowfax (5 % m/m) dihexil sulfosuccinato de sodio (2 % m/m)	Arena y arcilla	DNAPL	95 %
Strbak (2000)	Isalchem 123 (2 % m/m)	Toba volcánica	LNAPL	87.5 %
Rosas et al. (2011)	Tween 80 (2.5 mg/L)	Suelo arenoso	p-cresol	70 %
Lee et al. (2005)	Monooleato de sorbitano (2 %)	Suelo de relleno sanitario, limo y arcilla	Diésel, aceite de carbón, aceite lubricante	88 %

Fuente: elaboración propia a partir de Mao et al. (2015).

Por otro lado, una gran ventaja del uso de tensoactivos es el que debido a su naturaleza química pueden ser utilizados para realizar una remoción selectiva de contaminantes; por ejemplo, Guo et al. (2009) reportan el estudio del uso de una mezcla de un tensoactivo aniónico (dodecil vencen-sulfonato de sodio SDBS) y un no iónico (Tween 80) para la remoción de p-nitroclorobenceno (pNCB) de suelos contaminados. Los autores observaron que la remoción de pNCB es mayor con SDBS que con Tween 80, sin embargo, al colocar ambos tensoactivos juntos en una relación másica 1:1 de SDBS-Tween 80, se obtenía la máxima eficiencia de desorción de pNCB. En esa misma línea, Urum et al. (2006) reportan que un tensoactivo aniónico (dodecilsulfato de sodio, SDS) es más propenso a remover hidrocarburos alifáticos, mientras que un tensoactivo no iónico tiene mayor preferencia en remover componentes aromáticos.

Si bien el uso de tensoactivos puede ser programado para lograr la separación de componentes del sitio contaminado, los riesgos asociados a su uso, como se mencionó anteriormente, así como su biocompatibilidad, suelen ser un inconveniente para su selección como una tecnología adecuada, es por ello que la industria ha optado por el uso de los biosurfactantes.

Biosurfactantes

Los biosurfactantes son compuestos sintetizados por microorganismos o provenientes de compuestos naturales (carbohidratos, proteínas, etc.) que poseen las mismas propiedades de los tensoactivos sintéticos, con la ventaja de proceder de fuentes naturales y poseer alta biodisponibilidad. De acuerdo con Pacwa-Plocinickzak et al. (2011), los biosurfactantes derivados de microorganismos se encuentran clasificados como se aprecia en la tabla 3.

Tabla 3. Clasificación de biosurfactantes

Grupo	Clase	Microorganismo	Sustrato de aplicación
Glicolípidos	Rhamnolípidos	*Pseudomonas aeruginosa*, *Peudomonas* sp.	Hidrocarburos/ metales
	Trehalolípidos	*Mycobacterium tuberculosis*, *Rhodococcus erythropolis*, *Arthrobacter* sp., *Nocardia* sp., *Corynebacterium* sp.	Hidrocarburos
	Sophorolípidos	*Torulopsis bombicola*, *Torulopsis petrophilum*, *Torulopsis apícola*	Hidrocarburos
Ácidos grasos, fosfolípidos y lípidos neutros	Ácido corinomicólico	*Corynebacterium lepus*	Hidrocarburos (asfalto)
	Ácido espiculispórico	*Penicilium spiculisporum*	Metales
	Fosfatidiletanolamina	*Acinetobacter* sp., *Rhodococcus erythropolis*	Metales
Lipopéptidos	Surfactina	*Bacillus subtilis*	Hidrocarburos/ plaguicidas
	Lichenisina	*Bacillus licheniformis*	Hidrocarburos
Biosurfactantes poliméricos	Emulsan	*Acinetobacter calcoaceticus RAG-1*	Hidrocarburos
	Alasan	*Acinetobacter radioresistens KA-53*	Hidrocarburos
	Biodispersan	*Acinetobacter calcoaceticus A2*	Cal
	Liposan	*Candida lipolytica*	Hidrocarburos
	Mannoproteína	*Saccharomyces cerevisiae*	Hidrocarburos

Fuente: elaboración propia a partir de Pacwa-Plocinickzak et al. (2011).

A la par, podemos encontrar gomas (goma guar), carbohidratos (ciclodextrina), glucósidos esteroideos (saponina), etcétera. La compatibilidad biológica de estos compuestos elimina la posibilidad de contaminación secundaria y favorece la biodegradación de los contaminantes; además, puede estimular a los microorganismos para la descomposición de los contaminantes y, al poseer estructuras moleculares mucho más grandes que los tensoactivos tradicionales, tienen una superficie activa mayor, que reduce la cantidad de compuesto para lograr la misma eficiencia que los tensoactivos tradicionales. Algunos resultados reportados con el uso de biosurfactantes se pueden observar en la tabla 4.

Tabla 4. Ejemplos de uso de biosurfactantes para inundación o lavado de suelo

Referencia	Biosurfactante	Hidrocarburo objetivo	Eficiencia de remoción
Song et al. (2008)	Saponina (3750 mg/L)	Fenantreno	76.2 %
Bordas et al. (2005)	Rhamnolípidos (5 g/L)	Pireno	70 %
Jorfi et al. (2014)	Rhamnolípidos (250 mg/L)	Pireno	84.6 %
Zhou et al. (2013)	Saponina (30 g/L)	Fenantreno	78.1 %
Scheibenbogen et al. (1994)	Rhamnolípidos (0.08 %) + 0.1 % pirofosfato	Hidrocarburos	Alifáticos 58 % Aromáticos 73 %
Lai et al. (2009)	Rhamnolípidos (0.2 %) Surfactina (0.2 %)	Hidrocarburos totales	63 % 62 %

Comparativos de eficiencia de remoción de contaminantes biosurfactantes contras tensoactivos

Los biosurfactantes suelen tener similar o mejor comportamiento que los tensoactivos sintéticos, e igual que estos, hacen que su estructura sea responsable del efecto en el sistema. Por ejemplo, de acuerdo con el reporte de Brusseau et al. (1995), la presencia mayoritaria del dirhamnolípido metil ester en comparación con su derivado monolipidítico ayuda mayormente a la emulsificación de hidrocarburos en agua. En el mismo trabajo se observa que una solución 1 mM (500 ppm) de ácido monorhamnolípico removió 22 % de hexadecano adsorbido en arenas después de haber inyectado 120 volúmenes de poro. Dicho resultado es sobresaliente al comparar con el desempeño de soluciones de tensoactivos: dodecilsulfato de sodio (SDS): 0 % y Tween 20: 5 % de remoción de hexadecano. Lai et al. (2009) compararon el efecto de rhamnolipidos y surfactinas contra Tween 80 y Tritón X a la misma concentración (0.2 %); los autores observaron que tanto los rhamnolípidos como la surfactina removieron de 20 a 30 % más que los tensoactivos.

Inyección de tensoactivos mediante espumas

Una alternativa que podría dar solución a la problemática de contaminación secundaria y arrastre de componentes es el uso de espumas en lugar de soluciones líquidas. Una espuma es una mezcla coloidal formada por una fase gaseosa dispersa en una matriz de líquido. Las estructuras líquidas que conforman las espu-

mas son paredes delgadas conocidas como *lamelas*. Las espumas tienen como característica principal una densidad muy baja, pero una alta viscosidad; aunado a esto, por efecto de la naturaleza de la fase líquida, las espumas pueden acarrear una gran cantidad de gas con muy poca fase acuosa, por tanto, las concentraciones de componentes en el sistema disminuirían drásticamente.

Las espumas se pueden caracterizar de acuerdo con su "calidad", que relaciona el volumen atrapado en el volumen total de espuma. Así, las espumas de alta calidad son más deseadas por sus propiedades mecánicas y baja cantidad de compuestos en las lamelas. Existen estudios de tensoactivos y biosurfactantes inyectados a suelos contaminados en forma de espuma, con diversos resultados. En la tabla 5 se observan algunos de ellos.

Tabla 5. Ejemplos de uso de inyección de espumas para inundación o lavado de suelo

Referencia	Tensoactivo / biosurfactante	Hidrocarburo objetivo	Eficiencia de remoción
Hirazaki et al. (1997)	Dihexil-sulfosuccinato de sodio	DNLAP	99 %
Huang y Chang (2000)	Triton	n-pentadecano	74 %
Kilbane II et al. (1997)	Biosurfactantes + 50 % etanol	PAH	99 %
Mulligan y Eftekhari (2003)	Triton X-100 (1 %), JBR 425	PCP	84 %
Rothmel et al. (1998)	Steol CS-330	DNLAP	75 %

Fuente: elaboración propia a partir de Wang y Mulligan (2004).

El uso de espumas muestra tener una alta eficiencia en la remoción de contaminantes; sin embargo, puede ser que los costos de operación se incrementen dependiendo del sitio y del tipo de contaminantes por remover. Es importante considerar la estabilidad de las espumas para implementar un sistema de limpieza, ya que, al ser un sistema coloidal, puede perder estabilidad debido a factores como presión, temperatura y presencia de sales.

Las técnicas de inundación y lavado de suelos pueden ser optimizadas en cuanto a la composición y la naturaleza de la solución de limpieza. Además, debe considerarse la biocompatibilidad, de tal forma que pueda aplicarse como medida primaria de remediación seguida por un proceso de biorremediación para regenerar el sitio contaminado en su totalidad.

Remediación de hidrocarburos mediante nanotecnología (nanorremediación)

En general, la nanotecnología se encarga del estudio de fenómenos cuyos materiales se encuentran en escala nanométrica; ha cobrado vital importancia en las últimas décadas en el área ambiental, así como en el desarrollo agrícola (Carrillo y González, 2009).

El tratamiento de contaminantes presentes en el ambiente apoyado con materiales que tienen un tamaño de partícula entre 1–100 nm se conoce como *nanorremediación*, e implica necesariamente la utilización de un material reactivo en la transformación o la desintoxicación de contaminantes. La nanorremediación se puede aplicar en diferentes etapas como la prevención, el tratamiento o la limpieza. Para potencializar su uso, es indispensable la caracterización completa del suelo con el fin de determinar el tipo de nanopartícula que debe interactuar.

Cuando un material se prepara en forma de nanoestructuras, las propiedades físicas y químicas pueden ser completamente diferentes a las que presenta el material en escala macroscópica; además, la disminución del tamaño de grano provoca que el área y el volumen superficial aumenten considerablemente y maximicen las interacciones en procesos que ayudan a la degradación de contaminantes. De esta manera, es posible combinar las ventajas que ofrecen los métodos cotidianos con la nanotecnología para construir alternativas más prometedoras.

Los nanomateriales han dado respuesta a problemas ambientales y tecnológicos que los materiales en su escala normal no pudieron realizar o no lo hacen de manera eficiente; por ejemplo, pueden incrementar la especificidad de una reacción química para degradación de hidrocarburos utilizando nanopartículas de hierro para un tratamiento *in situ* o aumentar la eficiencia de un herbicida amigable con el medioambiente (Karn et al., 2009).

La nanotecnología aplicada a remediación ambiental de suelos ofrece ventajas como la disminución de los costos de operación y de los tiempos de tratamiento en comparación con los sistemas tradicionales; se favorecen, además, los tratamientos *in situ* a gran escala, ya que, por el tamaño de las partículas se introducen rápidamente en los suelos y se distribuyen ampliamente a mayores profundidades. Por último, la disminución de los contaminantes es mayor comparada con otros métodos por la especificidad de los nanomateriales, ya que se diseñan de tal manera que presentan propiedades físico-químicas que favorecen procesos químicos o catalíticos (Karn et al., 2009). Entre los materiales que se han utilizado para la nanorremediación en suelos contaminados por hidrocarburos se encuentran zeolitas, óxidos metálicos, nanoestructuras de carbono (nanotubos, nanofibras) y sistemas metálicos.

De todos los sistemas probados para nanorremediación, las nanopartículas de hierro cerovalentes (nZVI, por sus siglas en inglés: *nanoscale zerovalent iron)* son las más utilizadas, ya que son más eficaces en los tratamientos de sustancias orgánicas vertidas en los suelos. Las nZVI tienen la cualidad de transformar, disminuir la toxicidad y generar compuestos inocuos de diferentes contaminantes del suelo como los hidrocarburos alifáticos clorados, aromáticos clorados, solventes organoclorados, pesticidas, bifenilos policlorados (PCB) y algunos metales pesados (Liu et al., 2005). En la tabla 6 se resume el tipo de contaminantes de suelo que pueden ser transformados utilizando nZVI.

Tabla 6. Tipo de contaminantes sobre los que actúa el sistema nZVI

Compuestos alifáticos clorados	Bencenos clorados
Tretacloruro de carbono Cloroformo Diclorometano Tetracloroeteno Tricloroeteno Cloruro de vinilo Diclorobromometano	Clorobenceno Diclorobenceno Triclorobenceno Tetraclorobenceno Pentacloro benceno Hexaclorobenceno
Otros hidrocarburos policlorados	**Pesticidas**
Dioxinas Bifenilos policlorados (PCB) Pentaclorofenol	DDT Lindano
Metales pesados	**Colorantes orgánicos**
Mercurio Níquel Plata Cadmio	Anaranjado II Crisodina Tropaeolin O

Fuente: datos tomados y adaptados de Zhang (2003).

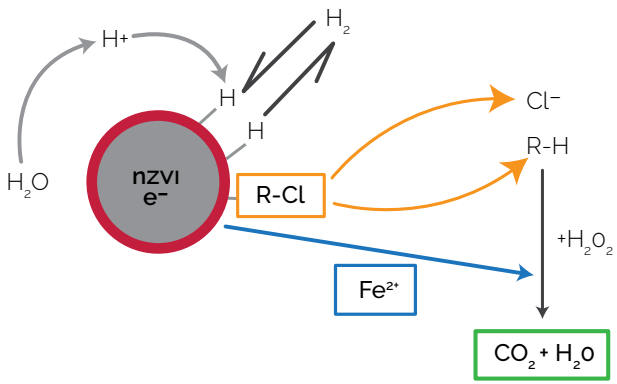
Los materiales formados por nZVI actúan sobre hidrocarburos clorados en procesos químicos de reducción. El hierro (Fe^0) es un reductor moderado que puede reaccionar con la humedad presente en el suelo o con oxígeno disponible por ventilación; estas reacciones son bien conocidas porque representan los procesos de corrosión propios de ese elemento. Algunos estudios han demostrado que la utilización de este material logra la decloración de hidrocarburos hasta en un 80 % (Liu et al., 2005).

Al incorporar nanopartículas de hierro en suelos contaminados con hidrocarburos clorados se llevan a cabo procesos de óxido-reducción en los que se libera el ion cloruro al suelo (Zhang, 2003) para incorporarse a los procesos de mineralización. La reacción de tretacloroeteno con nZVI ejemplifica este tipo de reacciones:

$$C_2Cl_4 + 4Fe^0 + 4H^+ \rightarrow C_2H_4 + 4Fe^{2+} + 4Cl^-$$

Las nZVI se utilizan en sistemas de infiltración reductora (tratamiento *in situ*); aquí, se lleva a cabo la oxidación de hierro a la especie Fe^{2+}, que es cuando se realiza la decloración y, como paso final, se infiltra peróxido de hidrógeno que provoca que los hidrocarburos saturados se degraden hasta formar las especies gaseosas CO_2 y H_2O. En la figura 4 se esquematiza la versatilidad de las nZVI para tratamiento de suelos contaminados.

Figura 4. Versatilidad de nZVI en el tratamiento de hidrocarburos



Fuente: imagen modificada de Lu et al. (2017).

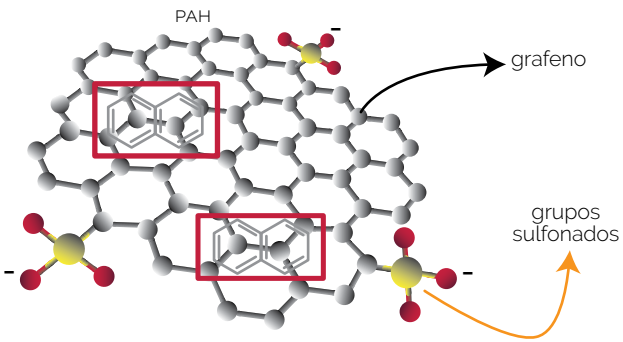
Para potencializar el efecto de nZVI en el tratamiento de suelos, se han sintetizado como nanopartículas bimetálicas (BNP, por sus siglas en inglés) para catalizar los tratamientos con hidrocarburos. Los principales elementos usados para potencializar los efectos de dichos materiales son el paladio, el níquel y el cobre (Karn et al., 2009).

Entre los hidrocarburos más complicados de tratar en suelos se encuentran los aromáticos policíclicos (PAH, por sus siglas en inglés), ya que presentan alta hidrofobicidad y estabilidad térmica, son difíciles de degradar por procesos químicos, se acumulan en el suelo y son carcinógenos para el ser humano. Entre estos compuestos se encuentran aquellos de dos o más anillos bencénicos fusionados como el naftaleno, el antraceno, el pireno, el fluoreno, etcétera. Recientemente, los tratamientos por nanorremediación de PAH desarrollan técnicas para lavados *ex situ* de suelos contaminados apoyados en materiales avanzados. Un modelo para el lavado de PAH se ha hecho a partir de estudios con grafeno-sulfonado nanoestructurado con el que se logra una remoción del 80 % de este tipo de compuestos (Gan et al., 2017).

El grafeno es un material bidimensional completamente hidrófobo formado de capas de carbono de espesor atómico, que ha llamado la atención en varias áreas tanto de desarrollo científico como tecnológico por sus excelentes propiedades

físicas; presenta gran área superficial y puede funcionalizarse con grupo hidroxilo, carboxilo, carbonilo, epoxi, entre otros, para hacer más versátiles sus aplicaciones. En el área de remediación ambiental, la adición de grupos sulfonados permite que el grafeno pueda formar dispersiones estables en agua y actúa como un excelente adsorbente de PAH (Gan et al., 2017). En la figura 5 se puede apreciar la interacción entre el grafeno y los PAH.

Figura 5. Interacción entre PAH y grafeno-sulfonado



Fuente: imagen modificada de Gan et al. (2017).

En la tabla 7 se resumen algunos materiales nanoestructurados que se han probado para el tratamiento de hidrocarburos en suelo.

Tabla 7. Materiales nanoestructurados aplicados en remediación de hidrocarburos

Nanomaterial	Tipo de contaminante	Referencia(s)
nZVI	Hidrocarburos alifáticos, aromáticos clorados y no clorados	Zhang (2003); Liu et al. (2005); Karn et al. (2009).
BNP	Hidrocarburos alifáticos, aromáticos clorados y no clorados	Avinash et al. (2014); Carrillo et al. (2009).
CNT (nanotubos de carbono)	p-nitrofenoles, benceno, tolueno, dimetilbenceno	Avinash et al. (2014); Masciangioli y Zhang (2003).
ACF (fibras de carbono)	Benceno, tolueno, xileno, etilbenceno	Theron et al. (2008).
Nanozeolitas	Oxidación selectiva de tolueno	Zhang (2003).
Grafeno sulfonado	Hidrocarburos poliaromáticos	Gan et al. (2017).

La nanorremediación es un área de las ciencias ambientales que ha cobrado vital importancia en la última década para el tratamiento de suelo contaminado por la eficiencia de recuperación o conversión de las sustancias contaminantes.

Sin embargo, presenta como desventaja que el análisis sobre el efecto que las nanopartículas pueden causar en el medioambiente se desconoce, y los estudios que existen son muy limitados. Una de las propuestas es soportar los nanomateriales en sólidos porosos para que se retiren una vez terminado el tren de tratamiento.

Métodos de biorremediación microbiológica en suelo

Principales técnicas de biorremediación

La biorremediación ambiental es una de las tecnologías verdes más utilizadas para mitigar el impacto de contaminantes orgánicos e inorgánicos. Esta tecnología utiliza microorganismos para reducir, eliminar, contener o transformar los contaminantes nocivos presentes en el suelo (Godleads et al., 2015). Debido a las características fisicoquímicas de los hidrocarburos y la existencia de microorganismos que los degradan, la biorremediación es una opción muy eficiente.

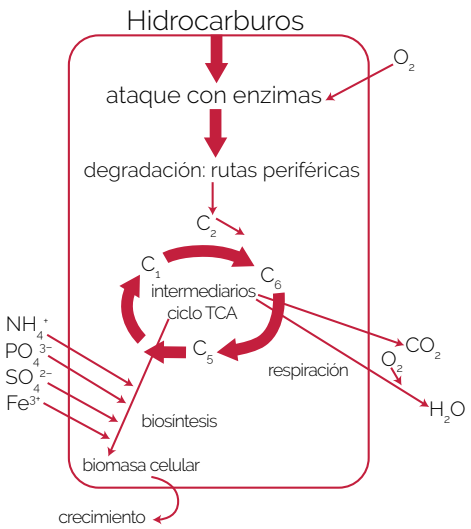
Los principales bioprocesos de remediación utilizados son la bioestimulación y la bioaumentación, que pueden emplearse de manera individual o conjunta. La primera consiste en añadir nutrientes, fertilizantes orgánicos o inorgánicos, para activar el metabolismo y crecimiento de los microorganismos nativos biodegradadores de compuestos tóxicos (Juwarkar et al., 2010). La segunda consiste en inocular microorganismos de forma individual o en grupo, ya sean aislados o no pertenecientes al mismo sitio, en los que se aplicarán bioaumentación endógena o exógena, respectivamente, con el objetivo de eliminar la contaminación de la matriz ambiental impactada (Fantroussi y Agathos, 2005). Se ha observado que con la bioestimulación del sistema se favorece el crecimiento de microorganismos nativos, y así se incide en altas eficiencias de degradación de hidrocarburos (Nikolopoulou et al., 2013; Pérez-Armendáriz et al., 2004). Por otra parte, en algunas investigaciones se ha determinado que la bioaumentación con microorganismos favorece la remediación de hidrocarburos (Amechi y Chukwudi, 2017; Poulomi et al., 2017).

En la biorremediación, la adición de residuos orgánicos o agroindustriales es conocida como *composteo*. Al añadir estos residuos al suelo se generan diversos cambios en sus propiedades que beneficiarán la disposición de macronutrientes, como el nitrógeno y el fosforo, el intercambio de oxígeno y el flujo de agua, todos importantes para el aumento de biomasa de los microorganismos biodegradadores de contaminantes (Roldán-Martín et al., 2007). En biorremediación de hidrocarburos se reporta el uso de residuos agroindustriales: bagazo de caña, grano de café y paja de trigo (Roldán-Martín et al., 2007; Zhang et al., 2008; Shahsavari et al., 2013). Asimismo, se han utilizado residuos orgánicos como lodos activados, cáscara de arroz, ceniza de cáscara de palma, compost de hongos, y estiércol de vaca y pollo (Ofoegbu et al., 2015; Okerentugba et al., 2015; Adams et al., 2017).

Metabolismo y degradación de hidrocarburos

Las reacciones bioquímicas de la remediación biológica se efectúan en las rutas metabólicas pertenecientes a la cadena de transporte de electrones, donde, mediante una serie de reacciones de óxido-reducción, se produce energía y crecimiento de biomasa. La primera reacción dentro de la célula para degradar el hidrocarburo es un proceso de oxidorreducción catalizado por enzimas oxigenasas y peroxidasas (figura 6). Las rutas periféricas de degradación convierten a los hidrocarburos en compuestos intermediarios que serán utilizados en el metabolismo central, principalmente, para el ciclo de ácido tricarboxílico (TCA). En la biosíntesis celular se generan los productos metabólicos precursores, tales como la acetil-CoA, succinato y piruvato. La glucosa indispensable para la biosíntesis y la generación de biomasa se obtiene mediante el proceso de gluconeogénesis (Das y Chandran, 2010).

Figura 6. Degradación aeróbica de hidrocarburos por microorganismos



Fuente: modificado de Das y Chandran (2010).

En un proceso aerobio, los microorganismos emplearán al oxígeno como principal aceptor de electrones debido a la obtención de mayor energía en forma de ATP. Mientras que, en un proceso anaerobio, los nitratos, el hierro (III), los sulfatos y el dióxido de carbono funcionarán como aceptores de electrones, aunque son menos eficientes para la obtención de energía. Para que un proceso de degradación sea exitoso, no debe existir limitación de elementos como Nitrógeno (N), Fósforo (P), Azufre (S) y Hierro (Fe) para no disminuir la actividad metabólica microbiana, por lo cual su concentración continua es primordial en los procesos de remediación biológica.

Hay aproximadamente 70 géneros de microorganismos incluidos bacterias, hongos y levaduras que degradan petróleo y sus derivados, por mencionar algunos: *Bacillus*, *Pseudomonas, Allescheria, Candida, Debayomyces, Pleurotus, Mucor, Penicillium* y *Aspergillus*. La biodegradación de hidrocarburos por microorganismos en condiciones aeróbicas (más frecuentes y rápidas) está catalizada por las enzimas oxidorreductasas. Las especies bacterianas emplean enzimas monoxigenasas, dioxygenasas e hidrolasas, entre otras, para degradar hidrocarburos de 1 a 30 carbonos (Das y Chandran, 2010). Los hongos utilizan monoxigenasas, celulalas, xilanasas, manganeso peroxidasas y catalasas para biodegradar contaminantes (Al-Hawash et al., 2018; Govarthanan et al., 2017; Leitão, 2009).

Debido a que cada sitio contaminado tendrá suelos con diferentes características, la eficiencia del proceso de biorremediación estará condicionado por parámetros propios del suelo como biodisponibilidad y concentración del contaminante, pH, oxígeno, humedad, textura, concentración de los nutrientes esenciales N, P, Fe y poblaciones microbianas (Sylvia et al., 1999). Por tanto, es importante conocer las características fisicoquímicas del sitio, la concentración de contaminante y la población de microorganismos hidrocarburoclastas, capaces de utilizar al contaminante como fuente de carbono (Acuña et al., 2012; Islas-García et al., 2015).

Conclusiones

Las prácticas inadecuadas y los accidentes han dejado sitios impactados por hidrocarburos en diversas regiones de México; esto genera, a su vez, pasivos que significarán situaciones de riesgo ambiental a corto y largo plazo. Aunque no todos los sitios han sido identificados en el ámbito nacional, es importante mantener el Sistema Informático de Sitios Contaminados (Sisco) actualizado para poder establecer idóneamente acciones correctivas en las áreas impactadas por hidrocarburos y otros contaminantes. Asimismo, es importante implementar mejores acciones legales con los responsables de la contaminación para que el número de sitios remediados sea igual a los sitios con emergencias y pasivos ambientales.

El uso de tensoactivos permite la remoción selectiva de contaminantes; sin embargo, existe el riesgo de que pueda haber un transporte no deseado de componentes, o bien contaminación secundaria por parte de los mismos tensoactivos. La alternativa es el uso de soluciones de biosurfactantes, que poseen alta biodisponibilidad y similar eficacia que los tensoactivos comerciales. El uso de espumas en lugar de soluciones líquidas es una tecnología promisoria que permitiría mejorar el arrastre de componentes, debido a la viscosidad de la mezcla coloidal, así como por la baja concentración de productos químicos, para reducir así el riesgo de contaminación secundaria y el arrastre de contaminantes a zonas no deseadas.

La remediación de suelo mediante el uso de nanotecnología es un área de desarrollo científico y tecnológico con potencial aplicación en las ciencias ambientales; esto se debe a que se pueden diseñar materiales apropiados para diferentes tipos de contaminantes. La nanorremediación apoyada en técnicas tradicionales podrá ayudar a sanear, con menores costos y tiempos, y mayor especificidad, muchos de los derrames y de las zonas contaminadas. Actualmente los sistemas de estudio se encuentran en desarrollo y se presumen prometedores, no obstante, es indispensable que se hagan los estudios de impacto en el ecosistema y en los seres humanos.

Por otro lado, la biorremediación es una tecnología ampliamente utilizada debido a que minimiza su impacto en el ambiente por incorporar los contaminantes a los procesos bioquímicos de los organismos y metabolizarlos generalmente a compuestos menos peligrosos para el entorno y los seres vivos. Para que esta tecnología de biorremediación de suelo sea óptima en diferentes sitios contaminados es primordial caracterizar las propiedades fisicoquímicas y biológicas del suelo.

En México existen muchas instituciones públicas y privadas con el conocimiento adecuado para implementar diversas tecnologías de remediación amigables con el ambiente, para que posteriormente se puedan restaurar y liberar exitosamente estos sitios contaminados a partir de un seguimiento apropiado de las autoridades.

Referencias

Acuña, A. J., Pucci, O. H. y Pucci, G. N. (2012). Effect of nitrogen deficiency in the biodegradation of aliphatic and aromatic hydrocarbons in patagonian contaminated soil. *International Journal of Recent Research and Applied Studies*, *11*(3), 470-476. https://www.arpapress.com/Volumes/Vol11Issue3/IJRRAS_11_3_12.pdf

Adams, F. V., Niyomugabo, A. y Syvester, P. O. (2017). Bioremediation of crude oil contaminated soil using agricultural wastes. *Procedia Manufacturing*, *7*, 459-464. https://doi.org/10.1016/j.promfg.2016.12.037

Al-Hawash, A. B., Dragh, M. A., Li, S., Alhujaily, A., Abbood, H. A., Zhang, X. y Ma, F. (2018). Principles of microbial degradation of petroleum hydrocarbons in the environment. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, *44*(2), 71-76. https://doi.org/10.1016/j.ejar.2018.06.001

Amechi, S. N. y Chukwudi O. (2017). Bioremediation of gasoline contaminated agricultural soil by bioaugmentation. *Environmental Technology & Innovation*, *7*, 1-11. https://doi.org/10.1016/j.eti.2016.11.003

Avinash, P. I., Amedea, B. S., Nelson, D. y Mahendra, R. (2014). Nanoremediation: a new and emerging technology for the removal of toxic contaminant from environment. En Surajit Das (Eds.), *Microbial Biodegradation and Bioremediation* (pp. 233-250), Elsevier. https://doi.org/10.1016/C2013-0-13533-7

Bordas, F., Lafrance, P. y Villemur, R. (2005). Conditions for effective removal of pyrene from an artificially contaminated soil using *Pseudomonas aeruginosa* 57SJ rhamnolipids. *Environmental Pollution*, *138*(1), 69-76. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.02.017

Brusseau, M. L., Miller, R. M., Zhang, Y., Wang, X. y Bai, G. Y. (1995). Biosurfactant and cosolvent-enhanced remediation of contaminated media. En *ACS Symposium Series ebooks 594* (pp. 82-93). https://doi.org/10.1021/bk-1995-0594.ch007

Carrillo, R. y González M. (2009). La nanotecnología en la agricultura y rehabilitación de suelos contaminados. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria de Nanociencias y Nanotecnologías*, *2*(2), 50-63. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-56912009000200050

Das, N. y Chandran, P. (2010). Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. *Biotechnology Research International*, 2011, 1-13. https://doi.org/10.4061/2011/941810

Fantroussi, S. E. l. y Agathos, S. N. (2005). Is bioaugmentation a feasible strategy for pollutant removal and site remediation? *Current Opinion in Microbiology*, *8*(3), 268-275. https://doi.org/10.1016/j.mib.2005.04.011

Gan, X., Teng, Y., Ren, W., Ma, J., Christie, P. y Lou, Y. (2017). Optimization of ex-situ washing removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from a contaminated soil using nano-sulfonated graphene. *Pedosphere, 27*(3), 527-536. https://doi.org/10.1016/S1002-0160(17)60348-5

Godleads, A., Prekeyi, F., Samson, O. y Igelenyah, E. (2015). Bioremediation, biostimulation and bioaugmention: a review. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, *3*(1), 28-39. https://doi.org/10.12691/ijebb-3-1-5

Govarthanan, M., Fuzisawa, S., Hosogai, T. y Chang, Y. C. (2017). Biodegradation of aliphatic and aromatic hydrocarbons using the filamentous fungus *Penicillium* sp. CHY-2 and characterization of its manganese peroxidase activity. *RSC Advances*, (34), 20716-20723. https://doi.org/10.1039/C6RA28687A

Guo, H., Liu, Z., Yang, S. y Sun, C. (2009). The feasibility of enhanced soil washing of *p*-nitrochlorobenzene (pNCB) with SDBS/Tween 80 mixed surfactants. *Journal of Hazardous Materials, 170*, 1236-1241. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.05.101

Hirazaki, G. J., Miller, C. A., Szafranski, R., Tanzil, D., Lawson, J. B., Meinardus, H. W., Jin, M., Londergan, J., Jackson, R. E., Pope, G. A. y Wade, W. H. (1997). Field demonstration of the surfactant/foam process for aquifer remediation. *Paper EPE 39292 presented at the 1997 SPE Annual Technical Conference and Exhibition, San Antonio, TX, SPE,* 1-16. https://doi.org/10.2118/39292-MS

Huang, C. W., y Chang, C. H. (2000). A laboratory study on foam enhanced surfactant solution flooding in removing n-pentadecane from contaminated co-

lumns. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects*, *173*(1-3), 171-179. https://doi.org/10.1016/S0927-7757(00)00604-X

Islas-García, A., Vega-Loyo, L., Aguilar-López, R., Xoconostle-Cázares, B. y Rodríguez-Vázquez, R. (2015). Evaluation of hydrocarbons and organochlorine pesticides and their tolerant microorganisms from an agricultural soil to define its bioremediation feasibility. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, *50*(2), 99-108. https://doi.org/10.1080/03601234.2015.975605

Jorfi, S., Rezaee, A., Jaafarzadeh, N. A., Esrafili, A., Akbari, H. y Ali, G. A. M. (2014). Bioremediation of pyrene-contaminated soils using biosurfactant. *Jentashapir Journal of Health Research, 5*(5), 1-7. https://doi.org/10.17795/jjhr-23228

Juwarkar, A., Singh, S. y Mudhoo, A. (2010). A comprehensive overview of elements in bioremediation. *Reviews in Environmental Science Biotechnology*, *9*, 215-288. https://doi.org/10.1007/s11157-010-9215-6

Karn, B., Kuiken T. y Otto, M., (2009). Nanotechnology and *in situ* remediation: a review of the benefits and potential risks. *Environmental Health Perspectives, 117(12), 1813-31.* https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2799454/

Khalladia, R., Benhabilesa, O., Bentahara, F. y Moulai-Mostefa, N. (2009). Surfactant remediation of diesel fuel polluted soil. *Journal of Hazardous Materials*, *164*(2-3), 1179-1184. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.09.024

Kilbane II, J. J., Chowdiah, P., Kayser, K. J., Misra, B., Jackowski, K. A., Srivastava, V. J., Sethu, G. N., Nikolov, A. D., Wasan, D. T. y Hayes, T. D. (1997). Remediation of contaminated soils using foams. *Land Contamination and Reclamation*, *5*, 41-54. https://www.researchgate.net/publication/228078533

Kostecki, P., Morrison, R. y Dragun, J. (2005). Hydrocarbons. En D. Hillel, C. Rosenzweig, D. Powlson, K. Scow, M. Singer y D. Sparks (Eds.), *Encyclopedia of soils in the environment, vol 2.* (pp. 217-226). https://handoutset.com/wp-content/uploads/2022/03/Encyclopedia-of-Soils-in-the-Environment-by-Daniel-Hillel-Jerry-L.-Hatfield.pdf

Lai, C. C., Huang, Y. C., Wei, Y. H. y Chang, J. S. (2009). Biosurfactant-enhanced removal of total petroleum hydrocarbons from contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, 167(1-3), 609-614. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.01.017

Lee, M., Kang, H. y Do, W. (2005). Application of nonionic surfactant-enhanced in situ flushing to a diesel contaminated site. *Water Research, 39(1),* 139-146. https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.09.012

Leitão, A. L. (2009). Potential of penicillium species in the bioremediation field. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *6*(4), 1393-1417. https://doi.org/10.3390/ijerph6041393

Liu, Y., Majetich, S. A., Tilton R. D., Sholl, D. S. y Lowry, G. B. (2005). TCE dechlorination rates, pathways, and efficiency of nanoscale iron particles with different properties. *Environmental Science & Technology*, *39*(5), 1338-1345. https://doi.org/10.1021/es049195r

Lu, H., Wang, J., Hao, H. y Wang, T. (2017). Magnetically separable MoS_2/Fe_3O_4/nZVI nanocomposites for the treatment of wastewater containing Cr(VI) and 4-chlorophenol. *Nanomaterials*, *7*(10), 303. https://doi.org/10.3390/nano7100303

Mao, X., Jiang, R, Xiao, W. y Yu, J. (2015). Use of surfactants for the remediation of contaminated soils: a review. *Journal of Hazardous Materials*, *285*, 419-435. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.12.009

Masciangioli, T. y Zhang, W. X. (2003). Environmental technologies at the nanoscale. *Environmental Science & Technology*, *1*(A), 102-108. https://doi.org/10.1021/es0323998

Mulligan, C. N. y Eftekhari, F. (2003). Remediation with surfactant foam of PCP contaminated soil. *Engineering Geology*, *70*(3-4), 269-279. https://doi.org/10.1016/S0013-7952(03)00095-4

Nikolopoulou, M., Pasadakis, N. y Kalogerakis, N. (2013). Evaluation of autochthonous bioaugmentation and biostimulation during microcosmsimulated oil spills. *Marine Pollution Bulletin*, *72*, 165-173. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.04.007

Ofoegbu, R. U., Momoh, Y. O. y Nwaogazie, I. L. (2015). Bioremediation of crude oil contaminated soil using organic and Inorganic fertilizers. *Journal of Petroleum and Environmental Biotechnology*, *6*(1), 198. https://doi.org/10.4172/2157-7463.1000198

Okerentugba, P. O., Orji, F. A., Ibiene, A. A. y Elemo, G. N. (2015). Spent mushroom compost for bioremediation of petroleum hydrocarbon polluted soil: a review. *Global Advanced Research Journal of Environmental Science and Toxicology*, *4*(1), 1-7. https://www.researchgate.net/publication/281976176

Pacwa-Plocinickzak, M., Plaza, G. A., Piotrowska-Seget, Z. y Cameotra, S. S. (2011). Environmental applications of biosurfactants: recent advances. *International Journal of Molecular Science*, *12*(1), 633-654. https://doi.org/10.3390/ijms12010633

Pérez-Armendáriz, B., Loera-Corral, O., Fernández-Linares, L., Esparza-García, F. y Rodríguez-Vázquez, R. (2004). Biostimulation of microorganisms from sugarcane bagasse pith for the removal of weathered hydrocarbon from soil. *Letters in Applied Microbiology*, *38*, 373-377. https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01502.x

Poulomi, S., Ajoy, R., Siddhartha, P., Balaram, M., Sufia, K., Mrinal, K. y Pinaki, S. (2017). Enrichment and characterization of hydrocarbon-degrading bacteria from petroleum refinery waste as potent bioaugmentation agent for in situ

bioremediation. *Bioresource Technology*, 242, 15-27. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.010

Ranjan, R. S., Qian, Y. y Krishnapillali, M. (2006). Effects of electrokinetics and cationic surfactant cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) on the hydrocarbon removal and retention from contaminated soils. *Environmental Technology*, 27, 767-776. https://doi.org/10.1080/09593332708618686

Roldán-Martín, A., Calva-Calva, G., Rojas-Avelizapa, N., Díaz-Cervantes, D. y Rodríguez-Vázquez, R. (2007). Solid culture amended with small amounts of raw coffee beans for the removal of petroleum hydrocarbon from weathered contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *60*(1), 35-39. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2006.10.008

Rosas, J. M., Vicente, F., Santos, A. y Romero, A. (2011). Enhancing *p*-cresol extraction from soil. *Chemosphere, 84*(2), 260-264. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.03.071

Rothmel, R. K., Peters, R. W., Martin, E. S. y Deflaun, M. F. (1998). Surfactant foam/bioaugmentation technology for *in situ* treatment of TCE-DNLAPs. *Environmental Science and Technology*, *32*(11), 1667-1675. https://doi.org/10.1021/es970980w

Scheibenbogen, K., Zytner, R. G., Lee, H. y Trevors, J. T. (1994). Enhanced removal of selected hydrocarbons from soil by Pseudomonas aeruginosa *UG2* biosurfactants and some chemical surfactants. *Journal Chemical Technology Biotechnology, 59*(1): 53-59. https://doi.org/10.1002/jctb.280590109

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2007). Tecnologías de remediación utilizadas en México. http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/372/tecnomexico.html

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2010). Programa Nacional de Remediación de Sitios Contaminados. http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/Libros2011/CD000953.pdf

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2014). Sitios contaminados por emergencias nacionales 2013-2014. http://apps1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_resumen14/07_residuos/7_4_1.html

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2018). Sitios contaminados considerados pasivos ambientales identificados en programas de remediación. http://dgeiawf.semarnat.gob.mx:8080/ibi_apps/WFServlet?IBIF_ex=D3_SITIOS03_02&IBIC_user=dgeia_mce&IBIC_pass=dgeia_mce&NOMBREENTIDAD=*&NOMBREANIO=*

Shahsavari, E., Adetutu, E. M., Anderson, P. A. y Ball, A. S. (2013). Plant residues: a low cost, effective bioremediation treatment for petrogenic hydrocarbon-contaminated soil. *Science Total Environmental*, *443*, 766-774. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.11.029

Shiau, B. J. B., Brammer, J. M., Sabatini, D. A., Harwell, J. H., y Knox, R. C. (2003). *Recent development of low concentration surfactantflushing for NAPL-impacted site remediation and pollution prevention.* Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Ground Water; Prevention, Assessment, and Remediation Twentieth Annual Conference and Exposition, Costa Mesa, CA. https://www.researchgate.net/publication/267974647

Song, S., Zhu, L. y Zhou, W. (2008). Simultaneous removal of phenanthrene and cadmium from contaminated soils by saponin, a plant-derived biosurfactant. *Environmental Pollution*, *156*(3), 1368-1370. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.06.018

Strbak, L. (2000). *In situ flushing with surfactants and cosolvents*. US Environmental Protection. Agency. https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=30cdaeed65b5feb4333d69165b230fdad950bf16

Svab, M., Kubal, M., Mullerova, M. y Raschman, R. (2009). Soil flushing by surfactant solution: pilot scale demonstration of complete technology. *Journal of Hazardous Materials*, *163*(1), 410-417. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.06.116

Sylvia, D., Fuhrmann, J., Hartel, P. y Zuberer, D. (Eds.) (1999). *Principles and Applications of Soil Microbiology*. Prentice Hall.

Theron, J., Walker, J. A. y Cloete, T. E., (2008). Nanotechnology and water treatment: applications and emerging opportunities. *Critical Reviews in Microbiology*, 34, 43-69. https://doi.org/10.1080/10408410701710442

Urum, K., Grigson, S., Pekdemir, T. y McMenamy, S. (2006). A comparison of the efficiency of different surfactants for removal of crude oil from contaminated soils. *Chemosphere*, *62*(9), 1403-1410. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.05.016

Volke, S. T. y Velasco, T. J. (2002). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados.* INE-SEMARNAT. https://www.google.com.mx/books/edition/Tecnolog%C3%ADas_de_remediaci%C3%B3n_para_suelosmj9rVEScHCcC?hl=es&gbpv=0

Wang, S. y Mulligan, C. N. (2004). An evaluation of surfactant foam technology in remediation of contaminated soil. *Chemosphere*, *57*(9), 1079-1089. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.08.019

Zhang, K., Hua, X. F., Han, H. L. y Liu, Z. (2008). Enhanced bioaugmentation of petroleum-and salt-contaminated soil using wheat straw. *Chemosphere*, *73*(9), 1387-1392. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.08.040

Zhang W. (2003). Nanoscale iron particles for environmental remediation: an overview. *Journal of Nanoparticle Research*, *5*(3-4) 323-332. https://doi.org/10.1023/A:1025520116015

Zhou, W., Wang, X., Chen, C. y Zhu, L. (2013). Enhanced soil washing of phenanthrene by a plantderived natural biosurfactant, *Sapindus saponin. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 425, 122-128. https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.02.055

Normas jurídicas

NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012. Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación.

Retos y oportunidades del desarrollo del tratamiento electrocinético del suelo contaminado con hidrocarburos en México, de acuerdo con la experiencia internacional

Erika Bustos Bustos[*]

Resumen

El territorio mexicano posee una gran diversidad de suelos gracias a su compleja topografía, ubicación geográfica, climas y diferentes ecosistemas. Estos suelos pueden ser contaminados al introducirles sustancias ajenas que generan efectos tóxicos en las especies nativas, debido a que dichas sustancias no pueden ser metabolizadas rápidamente por los organismos.

Por otra parte, en México se han presentado diversas emergencias ambientales relacionadas con residuos peligrosos entre los que destacan el petróleo y sus subproductos. Las repercusiones ambientales y de salud que pueden generar estos residuos en el suelo han generado investigaciones en diferentes sectores nacionales, públicos y privados, con el fin de desarrollar diferentes metodologías para la restauración de sitios contaminados, como el tratamiento electrocinético de suelo contaminado con hidrocarburos.

Así, en este capítulo, se presentarán los antecedentes del tratamiento electrocinético de suelo contaminado con hidrocarburos, con el propósito de entender las propiedades edafológicas y microbiológicas involucradas para rehabilitar los suelos después de aplicar un campo eléctrico y acoplarlo a procesos biológicos como la fitorremediación. Todo lo anterior desde una perspectiva nacional, con miras a establecer los retos y las oportunidades del desarrollo de este tratamiento de acuerdo con la experiencia internacional.

[*] Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica S. C., Querétaro, México. ebustos@cideteq.mx

Palabras clave

Suelo contaminado, hidrocarburos, tratamiento electrocinético, electrodo modificado, fitorremediación.

Introducción

Las actividades antropogénicas en el mundo ofrecen satisfactores para el ser humano; sin embargo, también suelen producir impactos ambientales negativos, de los cuales México no está exento. Estas actividades generan emisiones a la atmósfera, al agua y al suelo; en particular este último puede ser receptor de todas las emisiones anteriores, por ello, es importante su estudio, cuidado y una propuesta de rehabilitación.

En años recientes, en México, se han encontrado sitios contaminados con metales pesados (cadmio, cobre, cromo, níquel, zinc, etc.), metaloides (mercurio, arsénico y selenio), así como con algunos compuestos orgánicos (pesticidas, solventes, petróleo, entre otros), que sobrepasan los límites máximos permisibles de acuerdo con la legislación mexicana, como la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 y NOM-138-SEMARNAT/SS-2003, respectivamente.

El Reglamento de la Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente (RLGEEPA) de México refiere que un suelo contaminado se genera a partir de una emergencia ambiental (situación indeseada o inesperada) o un pasivo ambiental (sitio que tiene varios años sin ser remediado), por lo que, de acuerdo con las características fisicoquímicas y biológicas del suelo, el contaminante se puede dispersar, difundir, volatilizar, complejar o sorber (adsorción o absorción).

Por ello, existen diferentes tecnologías para la remediación o la rehabilitación de suelos contaminados *in situ* (se efectúa directamente al sitio contaminado), *on site* (se desarrolla al lado del sitio contaminado) o *ex situ* (ocurre fuera del sitio contaminado), como las biológicas, las térmicas y las fisicoquímicas, que incluyen el tratamiento electrocinético o electrorremediación. Estas tecnologías pueden aplicarse de manera independiente, pero en varios reportes nacionales e internacionales se ha demostrado que, al usar primero un tratamiento fisicoquímico seguido de uno biológico se aumentan la eficacia y la eficiencia de la rehabilitación.

Consideraciones generales del suelo en México

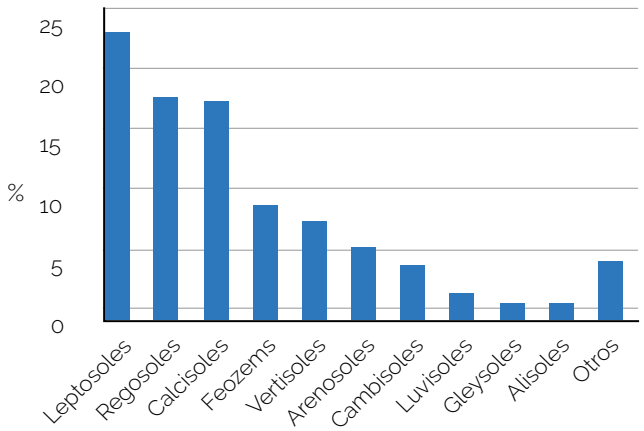
El suelo se forma con el paso del tiempo (1 centímetro puede tardar cientos de años en crearse) a partir del lecho rocoso, que se va desintegrando ante el cambio de las condiciones ambientales del sitio en estudio (meteorización), donde ocurren diferentes reacciones fisicoquímicas y biológicas que favorecen la for-

mación de materia orgánica y la liberación de minerales (NOM-138-SEMARNAT/SS-2003; IUSS, 2006).

De esta manera, el suelo se crea con horizontes o capas de espesor variable, que se caracterizan por tener diferentes propiedades, como color, textura (arcilla, limo, grava o franco), estructura, espesor, consistencia, reacción y composición (materia orgánica; sales de NO_3^{2-}, PO_4^{2}, SO_4^{2-} y Cl^-; óxidos e hidróxidos de hierro, caliza o carbonato cálcico).

La organización de estos horizontes en cada suelo se conoce como *perfil edáfico* o *perfil de suelo*, el cual es característico de cada lugar, y permite su clasificación en todo el mundo (Volke y Velasco, 2002; IUSS, 2006). En la figura 1 se muestran los principales suelos en México.

Figura 1. Suelos predominantes en México de acuerdo con la superficie ocupada



Fuente: elaboración propia a partir de Volke y Velasco (2002).

Para la definición del perfil de suelo en el lugar de estudio, es importante caracterizar el pedón, es decir, definir todas sus características físicas, químicas y biológicas en al menos 1 m^2, y verificar su variabilidad en profundidad. Cuando se desarrolla esta caracterización en campo, se pueden reconocer el perfil y los horizontes con la siguiente determinación (Solís et al., 2012; USDA, 1999):

- Visual de la pedregosidad, estructura, presencia de raíces;
- Color con la tabla Musell empleando el suelo húmedo y seco;
- Consistencia, plasticidad, adhesividad y textura por tacto.
- Humedad con tensiómetro;
- Permeabilidad con filtración de agua;
- pH con potenciómetro;
- Carbonatos por efervescencia con H_2O_2.

Por otro lado, factores como el clima, la fisiografía, el relieve, la roca y la biota se pueden definir previamente a la visita del lugar con mapas cartográficos del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (Inegi). Asimismo, se considera tomar el tipo y la cantidad de muestra de suelo en extensión y profundidad para su caracterización fisicoquímica en el laboratorio de acuerdo con la NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 y la NOM-021-RECNAT-2000. Dicha caracterización considera los siguientes factores:

- Clase textural, mediante el empleo de la proporción de arena, limo, arcilla y franco con probeta e hidrómetro de Bouyoucos;
- Densidad aparente, densidad real y porosidad por volumetría y peso;
- pH con un potenciómetro en presencia de agua, KCl o $CaCl_2$;
- Conductividad eléctrica con un conductímetro y un extracto de saturación.
- Capacidad de intercambio catiónico con la determinación de los miliequivalentes de cationes intercambiables como Ca^{+2}, Mg^{+2}, Na^{+} y K^{+};
- Materia orgánica con el método de Walkley y Black;
- Nitrógeno inorgánico con el método de Micro-Kjeldahl;
- Fósforo con el método de Olsen o Bray;
- Micronutrientes como Fe^{2+}, Mn^{2+}, Zn^{2+} y Cu^{2+} con complejantes como ácido del dietilen-triamino-pentaacético (DTPA) o ácido del etilendiaminotetraacético (EDTA);
- Boro con solución extractante de $CaCl_2$ y cuantificación con azometina-h;
- Azufre extraído con KCl y determinación con turbimetría (Solís et al., 2012; Rodríguez y Rodríguez, 2002; USDA, 1999).

Además, se pueden desarrollar otras determinaciones fisicoquímicas en el laboratorio, que son importantes para la interpretación de resultados en los trabajos de remediación de suelos contaminados con hidrocarburos, como los siguientes:

- Potencial redox con un potenciómetro y un extracto de saturación (Pansu y Gautheyrou, 2006);
- Potencial zeta y tamaño de partícula (Iyer, 2001);
- Humedad por gravimetría y volumetría, determinando el grado de saturación, capacidad de campo, punto de marchitamiento permanente y humedad aprovechable.

También, se puede caracterizar biológicamente con la siguiente determinación (Oszust et al., 2013):

- Cantidad de colonia de bacterias y hongos con número de cuentas de colonias;
- Tipo de bacterias y hongos con tinción de Gram (+) o Gram (-);
- Actividad biológica con la determinación de deshidrogenasa;
- Respiración basal de microorganismos con la determinación de CO_2;
- Carbono total procedente de aminoácidos, ácidos carboxílicos, carbohidratos, polímeros, entre otros.

Por otra parte, si se quiere caracterizar el tipo de hidrocarburo, se toma la cantidad y el modo de conservar la muestra de acuerdo con la norma técnica NMX-AA-141-SCFI-2007 para análisis de benceno, tolueno, etil-benceno y xileno (BTEX), el PROY-NMX-AA-105-SCFI-2007 para hidrocarburos fracción ligera (C_5 – C_{10}) con cromatografía de gases y detectores de ionización de flama o espectrometría de masas, y la NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 para hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) con cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG/EM) o cromatografía de líquidos de alta resolución y detectores de fluorescencia y ultravioleta visible (UV-Vis) (PROY-NMX-AA-146-SCFI-2008), así como hidrocarburos fracción media (C_{10} - C_{28}) con cromatografía de gases y detector de ionización de flama (NMX-AA-145-SCFI-2008), e hidrocarburos fracción pesada (C_{28} - C_{40}) por extracción y gravimetría (NMX-AA-134-SCFI-2006).

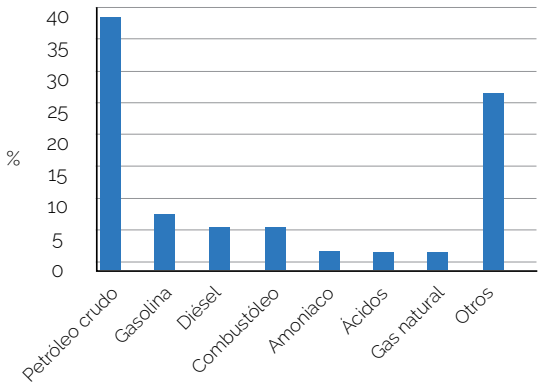
En el sitio estudiado se puede considerar la toma de muestras tanto superficiales como a diferentes profundidades según determine el experto o el laboratorio certificado a cargo, al mismo tiempo que se verifica la legislación ambiental mexicana. Todo este proceso puede ser así (Volke y Velasco, 2002; Torri et al., 2006; Carretero et al., 2016): aleatorio simple, aleatorio estratificado, circular, diagonal, de estación simple junta, de estación simple individual, de estación estratificada junta, de estación estratificada individual, grilla o grid de puntos, grilla o grid de celdas, sistemática rejilla rectangular, sistemática rejilla polar y en zigzag.

Suelo contaminado con hidrocarburos en México

El suelo se considera contaminado cuando incrementa la concentración de algún compuesto orgánico, inorgánico o biológico más allá de los límites máximos permisibles indicados en la legislación mexicana, o bien cuando se incorpora este a una especie química o biológica que no existía anteriormente, y se determine al caracterizar el suelo.

Por tal motivo, la contaminación del suelo en general se puede clasificar en natural (por los diferentes ciclos biogeoquímicos y por la naturaleza, como erupciones volcánicas, incendios forestales, entre otros) o antropogénica (por las emisiones liberadas al aire, al agua o al suelo por actividades industriales, como desechos tóxicos, plaguicidas, derrame de petróleo, entre otros). En la figura 2 se muestra que el principal contaminante de suelo en México es el petróleo crudo (Volke y Velasco, 2002), debido a que la industria de extracción, transformación y refinación de hidrocarburos es una de las principales en el país, sobre todo en Tamaulipas, Veracruz, Oaxaca, Guanajuato e Hidalgo.

Figura 2. Porcentaje de suelos contaminados en México por tipo de contaminantes



Fuente: elaboración propia a partir de Volke y Velasco (2002).

Las principales causas de contaminación de suelo con hidrocarburos son los derrames o las fugas en operaciones de transporte de carga y descarga; accidentes en las instalaciones de extracción, transformación y refinación; almacenamiento de infraestructura; residuos en las instalaciones de extracción, transformación y refinación, entre otras.

Es así como los hidrocarburos cambian de manera temporal o permanente las propiedades fisicoquímicas de los suelos al estar en contacto con ellos, y esto afecta tanto al ecosistema como al ser humano. Además, por las propiedades fisicoquímicas de los propios hidrocarburos, estos se pueden volatilizar, disolver, difundir o adsorber en el suelo, incluso llegar hasta el manto freático, lo cual incrementa su toxicidad en el ambiente al alterar los ciclos biogeoquímicos.

Tecnologías de remediación de suelos contaminados con hidrocarburos en México

La magnitud y el impacto ambiental de la contaminación del suelo por hidrocarburos llevó al gobierno federal a considerar su remediación en el Plan Nacional de Desarrollo (PND) 2007-2012 con una estrategia que aún es referente de las acciones realizadas por Petróleos Mexicanos (Pemex) en sus áreas contaminadas: "Para la remediación de los sitios contaminados será necesario desarrollar el inventario nacional de sitios contaminados y realizar acciones para su remediación, para así prevenir y reducir los riesgos a la salud y al ambiente utilizando las mejores tecnologías disponibles" (Bustos, 2009, p. 10).

De esta manera, cuando se tiene suelo contaminado por una emergencia ambiental o pasivo ambiental en México (Reglamento de la Ley General de Prevención y Gestión Integral de los Residuos, 2006), los responsables tienen la obli-

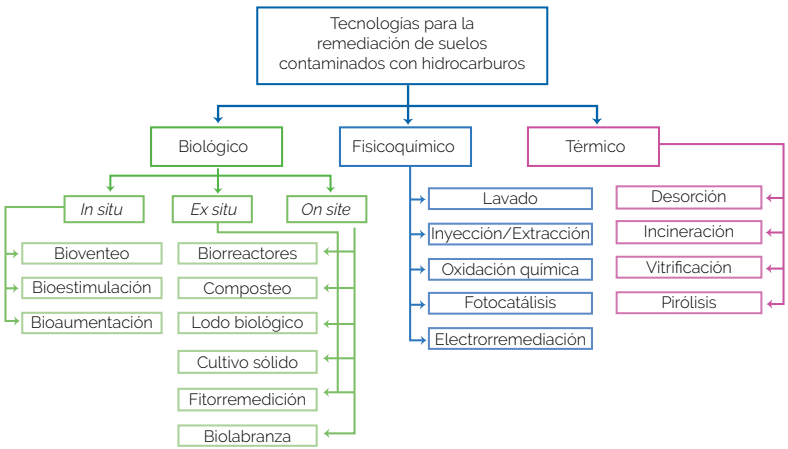
gación de remediar el sitio, por lo que, cuando se reconoce el lugar contaminado, de inmediato se debe contener su dispersión. Además, en el caso de una emergencia ambiental, se debe caracterizar dicho sitio para proponer la tecnología de remediación con su correspondiente estudio costo-beneficio. Por otra parte, cuando se tiene un pasivo ambiental, se debe realizar una investigación histórica del sitio, su caracterización correspondiente, y una evaluación de riesgo ambiental para proponer la tecnología de remediación pertinente en extensión y profundidad (Profepa, 2012; Semarnat, 2021).

En el caso de los suelos contaminados con hidrocarburos en México, la Agencia de Seguridad, Energía y Ambiente (ASEA) es la instancia que autoriza el tratamiento o remediación de los suelos. De esta manera, una vez que se define el área por remediar, se desarrolla el comparativo de las diferentes tecnologías propuestas y pertinentes con el fin de seleccionar la mejor técnica y la más económica. La Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (Profepa, 2012) recomienda evitar los siguientes casos:

- Efectuar un lavado del suelo sin control, almacenamiento y tratamiento de la solución contaminante generada.
- Mezclar suelos limpios con suelos contaminados para diluir el contaminante.
- Promover el movimiento de suelo con la consecuente emisión de partículas suspendidas en el aire y la dispersión de contaminantes.
- Adicionar compuestos químicos oxidantes que afecten las propiedades fisicoquímicas en el sitio.

En la figura 3 se muestran las tecnologías que se emplean en el mundo para el tratamiento de suelo contaminado con hidrocarburos.

Figura 3. Tecnologías empleadas en la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos



Estas tecnologías tienen ventajas y desventajas técnicas en su implementación, como las que se muestran en la tabla 1.

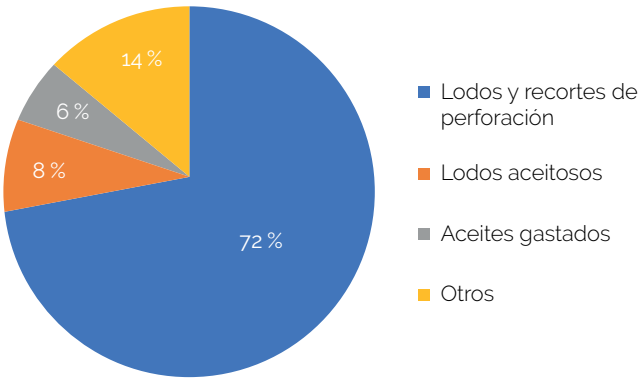
Tabla 1. Ventajas y desventajas técnicas de las tecnologías biológicas, fisicoquímicas y térmicas

Tecnología	Ventajas	Desventajas
Biológica	• Permiten mejorar las condiciones del medioambiente. • Los contaminantes son destruidos y transformados. • Requieren un tratamiento mínimo posterior. • Económicos.	• Mayores tiempos de tratamiento que los fisicoquímicos y los térmicos. • Presentan menor toxicidad por intermediarios o productos que otros tratamientos. • No se emplean en suelos que no favorecen el crecimiento de microorganismos.
Fisicoquímica	• Se realiza en un periodo corto comparado con el tratamiento biológico. • Emplea equipos más sencillos y con menor consumo de energía que otros tratamientos. • Son efectivos en cuanto a costos respecto a otras tecnologías.	• Los residuos generados por separación deben tratarse después del tratamiento realizado (aumenta el costo). • Los fluidos extraídos aumentan la dispersión de los contaminantes. • Necesita sistemas de captación de contaminantes móviles.
Térmica	• Tiempos rápidos de limpieza comparados con otros tratamientos.	• Mano de obra intensiva. • Tratamiento más costoso (empleo de energía y equipo) que otros tratamientos. • Desnaturaliza el suelo y lo convierte en cenizas sin materia orgánica.

Fuente: elaboración propia a partir de Bustos (2012), Bustos et al. (2014) y Cázares (2021).

En México, las empresas que ofrecen el servicio de remediar un suelo contaminado con petróleo y sus derivados deben tener una autorización y una certificación de sus tecnologías, otorgada mediante la licencia ambiental única (LAU). De esta manera, se ha logrado un adecuado registro estadístico de las empresas remediadoras de suelos contaminados principalmente con residuos de hidrocarburos generados por las empresas petroleras en México (Cideteq, 2017), como se representa en la figura 4.

Figura 4. Porcentaje de los residuos con hidrocarburos generados en las empresas petroleras en México



Fuente: elaboración propia a partir de Cideteq (2017).

De acuerdo con Volke y Velasco (2002), de las empresas autorizadas para tratar diferentes contaminantes en suelo, el 87.5 % realiza la remediación *in situ* y el resto *ex situ*. Además, la mayoría de las empresas efectúa la biorremediación como bioventeo, compostaje y biolabranza. En cuanto a las tecnologías fisicoquímicas que se emplean, están el lavado, el tratamiento químico, la separación física, la extracción de vapores y la desorción térmica, que constituyen parte importante de las tecnologías más empleadas en México (Volke y Velasco, 2002).

En cuanto a los costos promedio de estas tecnologías para suelos contaminados en México, la biorremediación por crecimiento de microorganismos endémicos se encuentra en aproximadamente 50 USD/m^3 considerando un volumen de suelo de 7 000 m^3 en un periodo de tratamiento de 150 días; en el lavado de suelos empleando Tritón X-114, el costo es de aproximadamente 65 USD/m^3 para 4 200 m^3 en un periodo de 5 meses, y para el cultivo sólido con residuos agroindustriales de caña es de aproximadamente 20 USD/m^3 para más de 20 000 ton de suelo en 5 meses de tratamiento. Todos estos tratamientos son más costosos, con una mayor inversión de tiempo que el obtenido para la electrorremediación, que tiene un costo aproximado de 470 USD/m^3 en solo 8 horas, por lo que este último resulta más eficaz y eficiente comparado con los otros tratamientos biológicos y fisicoquímicos (Alba et al., 2013; Cázares, 2021; Pérez Corona, 2013b). Es importante considerar que los precios están en función del tipo de suelo, concentración del contaminante y adaptación de las diferentes tecnologías en el campo.

Tratamiento electrocinético de suelo contaminado con hidrocarburos en México

La electrorremediación es una técnica basada en la aplicación de un campo eléctrico que emplea al menos un par de electrodos (ánodo y cátodo), definida con un arreglo 1D, o bien una serie de electrodos conectados en serie o paralelo, definida como un arreglo 2D. Esta aplicación del campo eléctrico en el suelo con electrodos debe hacerse en presencia de un electrolito para incrementar la conductividad iónica, generalmente una sal, pues no produce reacciones con el suelo ni en el contaminante. Así, se logra la migración dirigida de los hidrocarburos con ayuda de los cationes y los aniones presentes en el suelo hacia uno de los electrodos según su carga eléctrica, donde pueden ser degradados o transformados, mientras que los hidrocarburos a los que no les pasa nada, así como los productos de reacción, son disueltos y llevados del suelo a una solución, con el fin de extraerlos mecánicamente por bombeo y, de ese modo, tratarlos (Bustos, 2009; Bustos, 2012; Bustos et al., 2014).

Durante la aplicación de este campo eléctrico en el suelo suceden diferentes fenómenos de transporte, como se enlista a continuación (Bustos, 2009; Bustos, 2012; Bustos et al., 2014):

- Electromigración: movimiento de iones (aniones o cationes) hacia alguno de los electrodos.
- Electroósmosis: movimiento de compuestos orgánicos sin carga, como los hidrocarburos hacia alguno de los electrodos.
- Electroforésis: movimiento de bacterias, hongos y surfactantes como los ácidos húmicos y fúlvicos hacia algunos de los electrodos.
- Además, dependiendo del potencial y de la corriente eléctrica generada al aplicar el campo eléctrico al suelo contaminado, se pueden desarrollar estos procesos (Bustos, 2009; Bustos, 2012; Bustos et al., 2014):
- Electrólisis del agua: descomposición del agua en la interfase de los electrodos, lo que genera oxígeno (O_2) y un perfil ácido por la mayor generación de protones (H^+) en la interfase del ánodo, así como la generación de hidrógeno y un perfil básico por la mayor generación de iones hidroxilo (^-OH) en la interfase del cátodo.
- Efecto Joule: incremento de la temperatura en el suelo al aplicar el campo eléctrico y promover la electrólisis del agua.

Por lo antes mencionado, en el 2006 la Agencia de Protección Ambiental en Estados Unidos divulgó un reporte sobre las diferentes tecnologías basadas en la aplicación de un campo eléctrico, e incluyó agentes oxidantes como el O_3, H_2O_2, CaO_2, $KMnO_4$, $NaMnO_4$, $Na_2S_2O_8$ y reactivo de Fenton, los cuales pueden ser combinados para desarrollar tecnologías para la remediación de suelos *in situ* y *on*

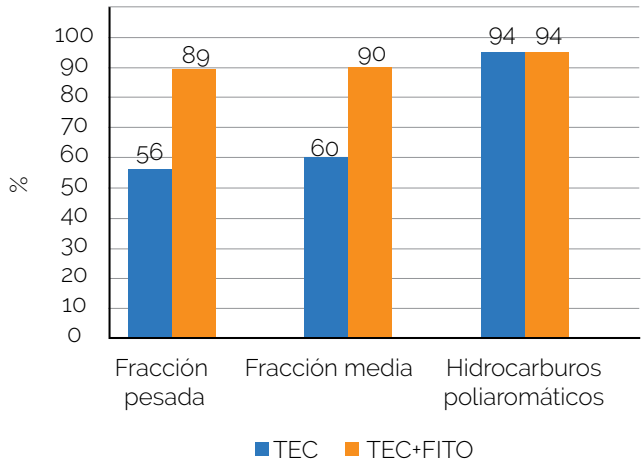
site, como las barreras permeables reactivas, electrocinética acoplada a la oxidación química, electrofenton, electrobiorremediación y electrofitorremediación (EPA, 2006; Gomes y Bustos, 2021).

Además, con el fin de que el tratamiento electrocinético individual o combinado sea eficaz y eficiente respecto a otras tecnologías, es importante tener en cuenta las condiciones experimentales adecuadas, como el tipo, la forma y el arreglo de electrodos (Pérez-Corona et al., 2013a), pues en algunos reportes de experiencias en el mundo se registra un 90 % de remoción de hidrocarburos utilizando electrodos metálicos como IrO_2|Ti, SON_2|Ti, IrO_2-Ta_2O_5|Ti, entre otros, con menores tiempos de tratamiento que van desde 4 h a 15 días (dependiendo de la concentración del contaminante y de la cantidad de suelo contaminado), y posibilidad de reúso. En cambio, los electrodos de carbón como el grafito, fieltro de grafito, carbón vítreo reticulado o carbón activado requieren mayores tiempos de tratamiento, que van desde 9 h hasta 18 días; además, en la mayoría de las ocasiones, los electrodos de carbón adsorben los hidrocarburos y al final deben limpiarse, disponerse o valorizarse como residuos (Méndez et al., 2012). Es así como en México se ha comparado el tratamiento electrocinético empleando un Gleysol y un arreglo de electrodos 1D con cátodo de Ti y ánodo de IrO_2-Ta_2O_5|Ti en NaOH, así como lavado con el surfactante Tritón X-114, y la biorremediación con cultivo sólido a base de residuos agroindustriales de la caña, en el que el tratamiento electrocinético fue el más eficaz y eficiente (81.9 % en 3.5 h), seguido de la biorremediación (44.4 % en 15 días) y finalmente el lavado (11.9 % en 5 h) (Alba et al., 2013).

Por tal motivo, al desarrollar este tratamiento electrocinético en fase piloto *ex situ* (Ochoa et al., 2016) e *in situ* (Pérez-Corona et al., 2013b) con un arreglo de electrodos 2D circular con seis ánodos cilíndricos de IrO_2-Ta_2O_5|Ti y un cátodo central cilíndrico de Ti se obtuvo nuevamente una eficiencia mayor al 80 %, sobre todo entre los ánodos y cátodos en tres semanas de tratamiento de 1 m^3 de Vertisol pélico, con un mejoramiento en la distribución de nutrientes, y la promoción en el crecimiento del número de bacterias y hongos (Oszust et al., 2013). De esta manera, el hidrocarburo que no se transformó entre los electrodos pasó del suelo a la solución con NaOH que fue acumulada alrededor del cátodo y, posteriormente, fue bombeada a un reactor Fenton portátil, con el cual se generó agua para uso industrial (Ochoa et al., 2016; Bustos et al. 2019). Finalmente, al desarrollar el tratamiento electrocinético piloto *ex situ* (Ochoa et al., 2016) e *in situ* (Pérez-Corona et al., 2013b) anteriormente explicado, se procedió al tratamiento electrocinético *in situ* de cerca de 1 hec de vertisol pélico con el arreglo de electrodos 2D acomodados en forma de panal, que logró 56 % de remoción de fracción pesada (C_{28}-C_{40}, NMX-AA-134-SCFI-2006), 60 % de fracción media (C_{10}-C_{28}, NMX-AA-145-SCFI-2008), y 94 % de hidrocarburos poliaromáticos (PROY-NMX-AA-146-SCFI-2008), como se muestra en la figura 5. Posteriormente, al incorpo-

rar semillas de maíz para desarrollar fitorremediación, crecieron más de 50 cm después de un mes, y lograron incrementar las eficiencias de remoción observadas con el tratamiento electrocinético, sobre todo en los hidrocarburos fracción pesada (89 %) y fracción media (90 %). Después de 2 meses, las plantas de maíz crecieron en más de 1 m de altura en promedio y mejoraron la calidad del suelo, sobre todo en la capacidad de intercambio catiónico y materia orgánica. Por tanto, con estos resultados, se comprobó la eficiencia y la eficacia de esta tecnología para rehabilitar los suelos contaminados con hidrocarburo en condiciones reales (Acosta-Santoyo et al., 2019; Bustos y Cárdenas, 2018).

Figura 5. Porcentaje de la fracción pesada y media de hidrocarburos, así como de hidrocarburos poliaromáticos después del tratamiento electrocinético (TEC) y fitorremediación (FIT)



Fuente: elaboración propia a partir de Pérez-Corona et al. (2013b); Acosta-Santoyo et al. (2019); y Bustos y Cárdenas (2018).

Conclusiones

De acuerdo con la información mostrada, es factible desarrollar el tratamiento electrocinético en laboratorio empleando arreglos de electrodo 1D y 2D, en presencia de ánodos de IrO_2-Ta_2O_5|Ti y cátodos de Ti, para lograr su portabilidad y adaptabilidad a las condiciones del lugar en estudio. Así, se compite técnica y económicamente con las tecnologías biológicas, térmicas y las demás fisicoquímicas, ya que al finalizar el tratamiento electrocinético se puede desarrollar fitorremediación con semillas de la canasta básica nacional, como el maíz, lo que incrementa la remoción de hidrocarburos fracción pesada y media, así como la mejora de las propiedades edafológicas como capacidad de intercambio catiónico y materia orgánica. Todo ello demuestra la eficacia y la eficiencia en fase piloto y en campo en todo el país.

Perspectivas

Como se mostró en este documento, el tratamiento electrocinético de suelo contaminado con hidrocarburos se puede llevar a cabo en fases de laboratorio, piloto y en campo. Esto ha permitido recientemente la protección intelectual en México del equipo y del proceso de tratamiento electrocinético *on site* en flujo de suelo contaminado con hidrocarburos (MX/E/2019/087092), equipo y proceso de tratamiento electrocinético con un arreglo de electrodos circular para la rehabilitación biológica de suelo contaminado con compuestos orgánicos *in situ* y *on site* (MX/2019/087096) y método de fabricación de recubrimientos para electrodos de titanio a partir de óxidos de iridio y tantalio (MX/E/2020/067699). La perspectiva es lograr la transferencia tecnológica de estos equipos, procesos y métodos a alguna empresa interesada en su empleo.

Agradecimientos

Agradezco a las alumnas y los alumnos que han apoyado las diferentes actividades teóricas y experimentales necesarias para lograr los resultados que se plasmaron en este capítulo, así como a las colaboradoras y los colaboradores nacionales y del extranjero que también han contribuido al desarrollo del tratamiento electrocinético en México, a través de proyectos comercializados o patrocinados.

Referencias

Acosta-Santoyo, G., Solís, S., Hernández-Silva, G., Cárdenas, J., Plank, Z. y Bustos, E. (2019). Analysis of the biological recovery of soils contaminated with hydrocarbons using an electrokinetic treatment. *Journal of Hazardous Materials,* (371), 625-633. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.03.015

Alba, G. I., Cuevas, M. C. y Bustos, E. (2013). Comparing the electroremediation of gleysol soil contaminated with hydrocarbon with triton X-114, washing and bioremediation with solid cultures employing agroindustrial residues. *International Journal of Electrochemical Science*, (8), 4735-4746. https://doi.org/10.1016/S1452-3981(23)14636-0

Bustos, E. (2009). El remedio electroquímico contra la contaminación del suelo. *Serendipia*, (7), 9-11.

Bustos, E. (2012). Remediación electro-cinética de suelos contaminados con hidrocarburo. En L. G. Torres, E. R. Bandala y W. R. Villatoro (Eds.). *Remediación de suelos y acuíferos contaminados en México: bases teóricas y experiencias reales* (pp. 81-97). Fundación Universitaria de Derecho, Administración y Política.

Bustos, E. y Cárdenas, J. (2018). *Equipo y proceso de tratamiento para rehabilitación de suelo contaminado con compuestos orgánicos* (MX/a/2017/004185). Instituto Mexicano de la Propiedad Intelectual (IMPI).

Bustos, E., Corona, L., López, J. y Pérez, G. (2014). Técnicas fisicoquímicas de remediación de suelos. En R. Iturbe (Ed.). *Suelos y acuíferos contaminados: evaluación y limpieza* (pp. 151-172). Trillas.

Bustos E., Pérez, M., Ochoa, B. y Cárdenas, J. (2019). Equipo y proceso de tratamiento electrocinético con un arreglo de electrodos circular para la rehabilitación biológica de suelo contaminado con compuestos orgánicos *in situ* y *on site* (MX/2019/087096). Instituto Mexicano de la Propiedad Intelectual (IMPI).

Carretero, R., Marasas, P. A., Souza, E. y Rocha, A. (2016). *Conceptos de utilidad para lograr un correcto muestreo de suelos*. International Plant Nutrition Institute. http://lacs.ipni.net/article/LACS-1256

Cázares, K. P. (2021). *Estudio comparativo de diferentes alternativas tecnológicas para la rehabilitación de suelos contaminados con compuestos orgánicos e inorgánicos*. [Memoria de residencia profesional]. Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica, S. C. Universidad Tecnológica del Valle de Toluca.

Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica. (2017). *Estudio de mercado: remediación de suelos por método electroquímico*. Alianza para el Desarrollo Tecnológico.

Environmental Protection Agency. (2006). In situ *treatment technologies for contaminated soil*. https://www.epa.gov/remedytech/situ-treatment-technologies-contaminated-soil-engineering-forum-issue-paper

Gomes, H. I. y Bustos, E. (2021). Combined use of remediation technologies with electrokinetices. En A. B. Ribeiro y M. N. Vara (Eds.). *Electrokinetic remediation for environmental security and sustainability* (pp. 61-83). John Wiley. https://doi.org/10.1002/9781119670186.ch3

International Union of Soil Sciences. (2006). Base referencial mundial del recurso suelo. Un marco conceptual para clasificación, correlación y comunicación internacional (2.ª ed.). International Union of Soil Sciences; International Soil Reference and Information Centre; Food and Agriculture Organization. https://www.fao.org/docrep/pdf/011/a0510s/a0510s00.pdf

Iyer, R. (2001) Electrokinetic remediation particulate. *Science and Technology*, 192001, 219-228.

Méndez, E., Bustos, E., Feria, R., García, G. y Teutli, M. (2012). Electrode materials a key factor to improve soil electroremediation. En Y. Shaou (Ed.). *Electrochemical cells new advances in fundamental researches and applications* (pp. 219-240). InTech.

Ochoa, B., Ramos, L., Garibay, A., Pérez-Corona, M., Cuevas, M. C., Cárdenas, J., Teutli, M. y Bustos, E. (2016). Electrokinetic treatment of polluted soil at pilot level coupled to an advanced oxidation process of its wastewater. *Physics and Chemistry of the Earth,* (91), 68-76. https://doi.org/10.1016/j.pce.2015.09.012

Oszust, K., Franc, M., Ochoa, B., Cárdenas, J., Teutli, M. y Bustos, E. (2013). Assessment of microbial status for a hydrocarbon polluted soil after applying an electrokinetic treatment. En *Recent research development in electrochemistry* (pp. 33-48). Transworld Research Network.

Pansu, M. y Gautheyrou, J. (2006). *Handbook of soil analysis. Mineralogical, Organic and Inorganic Methods.* Springer. https://www.geokniga.org/bookfiles/geokniga-handbook-soil-analysis.pdf

Pérez-Corona, M., Beltrán, E. D., Castro, S., Corona, J. L., Cárdenas, J. y Bustos, E. (2013a). Electroremediation of hydrocarbons-contaminated Vertisol type soil employing different electrode configurations. *Sustainable Environment Research*, *23*(4), 285-288. https://www.researchgate.net/publication/287337031_Electroremediation_of_hydrocarbon-contaminated_Vertisol_type_soil_employing_different_electrode_configurations

Pérez-Corona, M., Ochoa, B., Cárdenas, J., Hernández, G., Solís, S., Fernández, R., Teutli, M. y Bustos, E. (2013b). Comparison of different arrangements of electrodes during the electrokinetic treatment of polluted soil with hydrocarbons and its final application *in situ*. En *Recent resource development of electrochemistry.* pp. 59-80. Transworld Research Network.

Procuraduría Federal de Protección al Ambiente. (2012). *Practiguía de cumplimiento ambiental: obligaciones en materia de contaminación de suelos*. http://www.amhpac.org/es/images/rse/catalogo/Contaminacion%20de%20suelos%20-.pdf

Rodríguez, H. y Rodríguez, J. (2002). *Métodos de análisis de suelos y plantas: criterios de interpretación*. Trillas.

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2021). *Consulta temática de sitios contaminados*. http://dgeiawf.semarnat.gob.mx:8080/ibi_apps/WFServlet?IBIF_ex=D3_R_SITIOS01_01&IBIC_user=dgeia_mce&IBIC_pass=dgeia_mce

Solís, S., Fuentes, E. y Mercado, I. (2012). *Manual de t*écnicas *de laboratorio 1: caracterización de suelos. Los Metales Pesados en el Medio Ambiente y la Salud Pública*. Centro de Geociencias y Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación de la Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Juriquilla.

Torri, S., Cabello, M. J. y Lavado, R. S. (2006). Diagnóstico de la calidad de los suelos y su fertilidad para el pecán. En R. Lavado y E. Frusso (Eds.), *Producción de Pecán en Argentina* (pp. 290-332). https://www.researchgate.net/publication/232769113_Diagnostico_de_la_calidad_de_los_suelos_y_su_fertilidad_para_el_pecan

United States Department of Agriculture. (1999). *Guía para la evaluación de la calidad y salud del suelo*. https://www.nrcs.usda.gov/sites/default/files/2022-10/Gu%C3%ADa%20para%20la%20Evaluaci%C3%B3n%20de%20la%20Calidad%20y%20Salud%20del%20Suelo.pdf

Volke, T. y Velasco, J. A. (2002). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados.* Instituto Nacional de Ecología-Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. https://books.google.co.ve/books?id=mjgrVEScHCcC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false

Normas jurídicas

NMX-AA-134-SCFI-2006. Norma mexicana técnica relacionada con suelos – hidrocarburos fracción pesada por extracción y gravimetría–método de prueba.

NMX-AA-141-SCFI-2007. Norma mexicana técnica relacionada con la potabilización del agua para uso y consumo humano–poliaminas–especificaciones y métodos de prueba.

NMX-AA-145-SCFI-2008. Norma mexicana técnica relacionada con suelos–hidrocarburos fracción media por cromatografía de gases con detector de ionización de flama–método de prueba.

NOM-021-RECNAT-2000. Metodología de análisis de suelo en México.

NOM-138-SEMARNAT/SS-2003. Norma oficial mexicana relacionada con los límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación.

NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Norma oficial mexicana que establece los criterios para la caracterización y determinación de concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio, vanadio y sus compuestos inorgánicos; así como los criterios de remediación.

PROY-NMX-AA-105-SCFI-2007. Proyecto de norma mexicana relacionada con suelos–hidrocarburos fracción ligera por cromatografía de gases por detectores de ionización de flama o espectrometría de masas.

PROY-NMX-AA-146-SCFI-2008. Norma mexicana técnica relacionada con suelos. hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) por cromatografía de gases/espectrometría de masas (cg/em) o cromatografía de líquidos de alta resolución con detectores de fluorescencia y ultravioleta visible (UV-vis).

Reglamento de la Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente (RLGEEPA).

Reglamento de la Ley General de Prevención y Gestión Integral de los Residuos (RLGPGIR).

Aplicación de modelos matemáticos en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos

Mario Andrés Noriega Valencia[*]
Valentina Méndez Jiménez[**]

Resumen

La explotación, el transporte, la refinación y el almacenamiento de hidrocarburos puede generar derrames accidentales de gran afectación ambiental. El depósito de hidrocarburos en el suelo debe ser mitigado para reducir la toxicidad en los ecosistemas. La biorremediación propone degradar estos componentes contaminantes a través de microorganismos. Sin embargo, no son claros los diferentes modelos matemáticos para predecirla ni para generar diseños apropiados en su implementación. El uso de modelos matemáticos en biorremediación promete desarrollar diseños más eficientes, seguros, sostenibles y económicos. Adicionalmente, el empleo de simulación matemática permitirá la reducción de tiempos y costos de experimentación. Este trabajo proporciona información completa para el planteamiento y el desarrollo de investigaciones relacionadas con la biorremediación de suelos. Inicialmente, se presenta una revisión bibliográfica sobre los principales modelos matemáticos empleados en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos. Posteriormente, estos modelos se clasifican de acuerdo con su complejidad, precisión y capacidad para representar los procesos de biorremediación y, finalmente, se presentan casos aplicados de estudio, en los que se emplean los modelos matemáticos más completos para el diseño de sistemas de biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos.

[*] Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, Grupo de Investigación en Procesos Químicos y Bioquímicos, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. manoriegava@unal.edu.co
[**] Programa de Ingeniería Química, Universidad La Salle, Bogotá, Colombia.

Palabras clave

Biorremediación, modelamiento y simulación, modelo de Monod, estimación de parámetros, suelos.

Introducción

Los accidentes con hidrocarburos aumentan la contaminación de suelos. Ante ello, la biorremediación ha demostrado ser una de las tecnologías más ecológicas y eficientes para la recuperación de dichos suelos (Das y Chandran, 2011; Farag et al., 2018). Sin embargo, es complejo predecir con certeza los resultados debido a la gran cantidad de factores que intervienen (Alvarez y Illman, 2006). Los modelos matemáticos permiten predecir y describir el comportamiento de los procesos, además de ofrecer ventajas al diseñar reactores, optimizar costos y analizar diferentes escenarios de implementación (Fernández et al., 2016). Existe una gran cantidad de trabajos en biorremediación, pero es baja la cantidad de estudios donde se exploren los modelos matemáticos aplicados en esta tecnología, y es todavía más escaso encontrar información que presente de forma sistemática los diferentes modelos matemáticos empleados en biorremediación incluyendo casos de estudio (Anaele, 2018).

En este capítulo se realizó una revisión bibliográfica completa sobre modelación matemática aplicada a sistemas de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. La información reunida se consolidó en las tablas 1, 3 y 5, en las que se presentan aspectos fundamentales de la biorremediación de suelos, como la técnica de biorremediación, el organismo utilizado, el hidrocarburo contaminante y el tipo de modelo empleado. Las investigaciones se clasificaron de acuerdo con el grado de complejidad (baja, media o alta) del modelo planteado por los autores. Aquellos de complejidad baja (tabla 1) se caracterizan por emplear ecuaciones cinéticas de biodegradación de primer orden (Chemlal et al., 2013; Ibarra y Redondo, 2011; Pala et al., 2006; Venosa et al., 1996; Xu y Obbard, 2004). Los modelos de media complejidad (tabla 3) están basados en cinéticas de biodegradación, principalmente, en variaciones del modelo de Monod (Balseiro-Romero et al., 2019; Fernández et al., 2016). Finalmente, los modelos de alta complejidad (tabla 5) emplean métodos númericos más avanzados, entre ellos los modelos de aprendizaje automático y las redes neuronales (Asiabadi et al., 2015; Bao et al., 2019; Olawoyin, 2016; Pigram y Macdonald, 2001; Wu et al., 2013).

Además, este trabajo presenta de forma sistemática y clasificada los diferentes modelos matemáticos empleados en biorremediación de suelos contamina-

dos por hidrocarburos. Adicionalmente, muestra casos de estudio donde el lector puede comprender el modelo matemático que responde mejor a sus necesidades, así como la metodología para su empleo. Finalmente, se pueden encontrar herramientas suficientes para proponer y desarrollar modelos matemáticos en biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos.

Modelos matemáticos de baja complejidad para biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos

Los modelos de complejidad baja se caracterizan por incluir ecuaciones cinéticas de biodegradación de primer orden (Chemlal et al., 2013; Ibarra y Redondo, 2011; Pala et al., 2006; Venosa et al., 1996; Xu y Obbard, 2004) y tener una dependencia exponencial de la concentración del contenido de carbono orgánico o de la concentración de hidrocarburos (C_H) presente en las muestras de suelo respecto al tiempo (t). Consecuentemente, en estos modelos, la concentración de reactivos (contaminante) disminuye exponencialmente en ese periodo, mientras que la concentración de productos aumenta exponencialmente con el tiempo, y la constante de velocidad de reacción (k) está influenciada por variables como el contenido de nitrógeno en el suelo, la concentración inicial de biomasa, la temperatura, el pH y la velocidad de aireación. Un resumen de las principales investigaciones en modelos matemáticos de baja complejidad para biorremediación se presenta en la tabla 1.

Algunos modelos de baja complejidad presentan ligeras variaciones respecto a las descritas previamente; por ejemplo, el modelo propuesto por Ortega (2012) presenta dos constantes, k1 y k2, que son, respectivamente, la concentración de los hidrocarburos totales de petróleo (HTP) en el tiempo cero y el tiempo que tardaría en llegar el HTP a la mitad de la concentración inicial. Sin embargo, la esencia del modelo es la misma: modelos cinéticos de primer orden. Por otro lado, Khamforoush et al. (2013) propusieron un modelo de compostaje aeróbico para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo. El modelo también correspondió a una cinética de primer orden. Sin embargo, la constante cinética incluyó elementos de transferencia de masa y equilibrio de fases.

Los modelos de baja complejidad presentan poca aplicabilidad debido a que solo pueden describir biorremediación de suelos en las condiciones de correlación del modelo (temperatura, pH y concentración inicial de biomasa); y no incluyen factores adicionales como el crecimiento y la muerte microbiana en el suelo. No obstante, los modelos de baja complejidad son de fácil implementación, por lo que se recomienda su empleo en la generación de estimados iniciales y en el desarrollo de cálculos rápidos en campo.

Tabla 1. Modelos matemáticos de baja complejidad para biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos

Tipo de biorremediación (organismo, suelo)	Contaminante	Modelo	Autores
Atenuación natural (BPS, arenosa)	Petróleo	Cinética de primer orden	Venosa et al. (1996)
Atenuación natural (BPS, sedimentos de playa)	Hidrocarburos aromáticos policíclicos	Cinética de primer orden	Xu y Obbard (2004)
Biorreactores de lecho fijo (bacterias heterotróficas, arcilloso)	Petróleo	Cinética de primer orden	Pala et al. (2006)
Landfarming (bacterias)	Hidrocarburos	Cinética de primer orden	Ibarra y Redondo (2011)
Bioestimulación y *landfarming* (bacterias, franco-arcilloso-arenoso y arcillo-arenoso)	Gasoil	Cinética de primer orden	Ortega (2012)
Biopilas (BPS, arenoso)	Diésel	Cinética de primer orden	Chemlal et al. (2013)
Atenuación natural (BPS, compostaje aeróbico)	Hidrocarburos de petróleo	Cinética de primer orden	Khamforoush et al. (2013)

Nota: BPS equivale a bacterias propias del suelo (autóctonas).

Los modelos matemáticos de baja complejidad para biorremediación de suelo se describen mediante las ecuaciones. Estos modelos son ecuaciones cinéticas de primer orden respecto a la concentración de los hidrocarburos (ecuación 1). Después de integrar la ecuación (1) se obtiene la expresión (2), que describe la concentración de hidrocarburos en el suelo respecto al tiempo, donde C_{H^0} es la concentración de hidrocarburos inicial. La constante cinética de estos modelos puede ser ajustada con la temperatura (T) empleando la ecuación de Arrhenius (ecuación 3), donde E_a es la energía de activación de la reacción, R es la constante de gases ideales y A es el factor de frecuencia de las colisiones entre las moléculas de reactivos.

$$\frac{dC_H}{dt} = -k \cdot C_H \quad (1)$$

$$-k \cdot t = \ln\left(\frac{C_H}{C^0}\right) \quad (2)$$

$$\ln k = t = \ln A - \frac{Ea}{RT} \quad (3)$$

Para correlacionar los modelos matemáticos de biorremediación de baja complejidad se requieren los datos de concentración de hidrocarburos en el suelo respecto al tiempo. Los datos de tiempo se grafican en el eje de la abscisa, mientras que el $\ln(C_H|C_{HO})$ se grafica en el eje de ordenadas; la pendiente de esta gráfica será igual a la constante cinética.

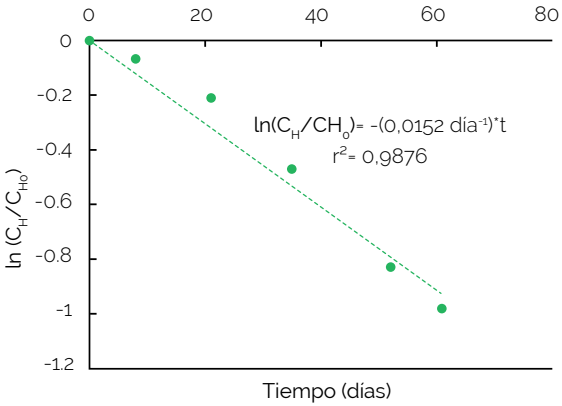
La tabla 2 presenta datos experimentales de biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos (Li et al., 1994a, 1994b), los cuales serán empleados para estudiar el modelamiento matemático de baja complejidad. La primera columna presenta los datos de tiempo en días, la segunda muestra la fracción másica de hidrocarburos en el suelo en base seca (W_H) y la tercera expone el logaritmo natural de la fracción másica del suelo respecto a la fracción másica inicial para cada tiempo.

Tabla 2. Generación de modelo de baja complejidad para la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos

Tiempo (días)	WH	ln(CH/CH0)
0	0.32	0
8	0.3	-0.064539
21	0.26	-0.207639
35	0.2	-0.470004
52	0.14	-0.826679
61	0.12	-0.980829

Los datos procesados de la tabla 2 se presentan en la figura 1, en la cual el tiempo se grafica en el eje de las abscisas, mientras que el $\ln(C_H / CH_0)$ se grafica en el eje de las ordenadas. Posteriormente, se genera una correlación lineal entre ambos parámetros, y la pendiente de esta gráfica será igual a la constante cinética (k=0.0152 día-1). Nótese que la correlación de la tendencia (r^2) es de 0.9876, que evidencia el buen grado de correlación del modelo.

Figura 1. Cinética de primer orden para biorremediación



A pesar de su fácil correlación, los modelos matemáticos de biorremediación de baja complejidad no incluyen parámetros fundamentales del escalado del proceso como la concentración inicial de microorganismos (CX_0) ni la concentración de microorganismos en el tiempo (C_X). En este sentido, este tipo de modelos solo pueden ser usados en el escalado del proceso si se garantiza que la concentración inicial de microorganismos en el suelo es la misma a la empleada en la correlación del modelo cinético.

Modelos matemáticos de media complejidad para biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos

Los principales modelos matemáticos de media complejidad empleados en biorremediación de suelos se presentan en la tabla 3. Estos se caracterizan por estar basados en cinéticas de biodegradación, principalmente en variaciones del modelo de Monod (1949), que es la expresión más empleada para la descripción del crecimiento microbiano, y que por lo general no considera la tasa de muerte microbiana. El modelo está planteado para predecir y describir el crecimiento microbiano en presencia de un solo tipo de sustrato a través de una sola especie de microorganismo. Sin embargo, se ha comprobado que puede ser usado en mezclas de sustratos y en cultivos microbianos mixtos (Balseiro-Romero et al., 2019; Fernández et al., 2016; Kermanshahi et al., 2006; Li et al., 1995; Moliterni et al., 2012; Mulder et al., 2001; Ostendorf et al., 2007; Rein et al., 2016).

Algunos modelos combinan la transferencia de masa con la cinética de Monod o con las cinéticas de primer orden para la biodegradación de hidrocarburos (Fernández et al., 2016; Kosterin y Sofinskaya, 2010; Park et al., 2001).

Por ejemplo, Park et al. (2001) desarrollaron un modelo para predecir la degradación de naftaleno mediante bioaumentación, en la cual se asumió que los suelos tienen sitios de equilibrio, no equilibrio y no desorción, y esto se ajustó con la cinética de Monod y la cinética de primer orden. Kosterin y Sofinskaya (2010) plantearon ecuaciones de transferencia por difusión de hidrocarburos y microorganismos en la fase acuosa y la ecuación de Monod para la bioestimulación de un suelo contaminado por petróleo. Por otro lado, Fernández et al. (2016) emplean balances de masa para describir el comportamiento del diésel en cuatro fases: sólida, agua, líquida no acuosa y aire. Rein et al. (2016) plantearon un conjunto de ecuaciones diferenciales, que incluían la disolución de los hidrocarburos, la biodegradación microbiana descrita con la cinética de Michaelis-Menten (para describir las reacciones catalizadas enzimáticamente) y la cinética de crecimiento descrita por la ecuación de Monod; el modelo incluye el retraso del crecimiento, los requisitos de mantenimiento, la velocidad de muerte y de decaimiento. Al incluir todos estos parámetros lograron describir resultados experimentales con un mayor grado de precisión. Ojewumi et al. (2017) investigaron la modelización matemática de la biorremediación en sitios de suelos contaminados con petróleo crudo, desarrollaron un modelo matemático basado en el flujo masivo de aceite a través del suelo y de la difusión molecular a través de los poros, y adicionalmente describieron la biorremediación con el modelo de Monod. Los resultados de simulación presentaron un buen ajuste con los datos experimentales. Finalmente, Balseiro-Romero et al. (2019), además de incorporar los procesos de transferencia de masa entre tres fases (suelo, agua, aire), tienen en cuenta el decaimiento de bacterias siguiendo la cinética de Monod modificada y la cinética de desorción sigmoidea del suelo.

Tabla 3. Modelos matemáticos de media complejidad para biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos

Tipo de biorremediación (organismo, suelo)	Contaminante	Modelo	Autores
Aireación con y sin organismos autóctonos (bacterias)	Fuel-oil	Cinética de Monod modificada	Li et al. (1994a, 1994b)
Atenuación natural	Petróleo	Cinética de Monod modificada	Li et al. (1995)
Reactor por Lote (Pseudomonas 8909N y 8803F, suelo de turba)	Hidrocarburos aromáticos policíclicos	Cinética de Monod	Mulder et al. (2001)

(*Continúa*)

Bioaumentación (*Pseudomonas putida*, franco-arenosos)	Naftaleno	Cinética de Monod y cinétida de primer orden	Park et al. (2001)
Biopelícula (*Pseudomonas acidovorans* y *Chryseobacterium indologenes*, lodo)	*p*-xileno y naftaleno	Cinética de Monod	Kermanshahi et al (2006)
Atenuación natural	Petróleo	Cinética de Monod	Ostendorf et al. (2007)
Bioestimulación (células procariotas, sedimento arenoso)	Hidrocarburos aromáticos alifáticos y policíclicos	Ecuaciones semiempíricas	Beolchini et al. (2010)
Bioestimulación (microbios, chernozem)	n-tridecano	Cinética de Monod	Kosterin y Sofinskaya (2010)
Reactor por Lote (bacterias heterotróficas propias del suelo)	Diésel	Cinética de Monod	Moliterni et al. (2012)
Atenuación natural (BPS)	Hidrocarburos de petróleo	Cinética de Monod	Yelebe et al. (2015)
Bioestimulación Bioaumentación en reactor (microorganismos heterótrofos, arcilloso)	Diésel	Cinética de Monod	Fernández et al. (2016)
Bioaumentación (*Mycobacterium rutilum* y *Mycobacterium pallens*)	Hidrocarburos aromáticos policíclicos	Cinética de *Michaelis-Menten* y cinética de Monod	Rein et al. (2016)
Atenuación natural (BPS) ensuelo contaminado con petróleo crudo	Hidrocarburos de petróleo	Cinética de Monod	Sanni y Emetere (2016)
Atenuación natural (BPS)	Hidrocarburos de petróleo	Balance de masa y cinética de Monod	Ojewumi et al. (2017)
Atenuación natural (BPS)	Hidrocarburos de petróleo	Balance de masa y cinética de Monod	Zivelyte et al. (2017)
Bioaumentación en reactor (bacterias)	Diésel	Cinética de Monod y Cinética sigmoidea de Weibull	Balseiro-Romero et al. (2019)

Nota: BPS equivale a bacterias propias del suelo (autóctonas).

Los modelos matemáticos de media complejidad para biorremediación de suelos se describen mediante las ecuaciones 4-6. La ecuación (4) describe la tasa de crecimiento microbiano (μ), la cual es proporcional a la tasa máxima de crecimiento de biomasa (μ_{Max}) y a la concentración de hidrocarburos en el suelo (C_H), mientras que es inversa a la sumatoria entre la concentración de sustrato (C_H) y la constante K_S (propia del tipo de microorganismo y sustrato empleado). Nótese que para valores muy bajos de concentración de sustrato, la tasa de crecimiento microbiano aumentará linealmente con el incremento de la concentración de sustrato, y esto representa la inhibición por ausencia de sustrato (ecuación 5), mientras que para valores altos de concentración de sustrato la tasa de crecimiento de biomasa alcanzará su máximo valor (ecuación 6).

$$\mu = \frac{\mu_{MAX} \cdot C_H}{K_S + C_H} \qquad (4)$$

$$\text{Si } K_S >> C_H \text{ entonces } m = \frac{\mu_{MAX} \cdot C_H}{K_S} \qquad (5)$$

$$\text{Si } K_S << C_H \text{ entonces } \mu = \mu_{MAX} \qquad (6)$$

La ecuación (7) predice el cambio en la concentración biomasa (C_X); este término es proporcional a la tasa de crecimiento microbiano (μ) y a la concentración de biomasa en el medio. Nótese la similitud con una reacción química autocatalítica en la cual la capacidad de reproducción de los microorganismos a su vez acelerará la reproducción celular. La ecuación (8) describe el consumo total de sustrato como el producto entre crecimiento de biomasa y el rendimiento observado sustrato a biomasa ($Y'_{X/H}$); a su vez, $Y'_{X/H}$ es igual a la suma del consumo de sustrato asociado al crecimiento celular ($Y_{X/H}$), con el consumo de sustrato asociado al mantenimiento de la biomasa (m_S) ecuación 9. Adicionalmente, la expresión matemática para la descripción del cambio de la concentración de sustrato en función del tiempo (ecuación 10) se obtiene reemplazando la ecuación (7) en la ecuación (8). Los valores de todas las constantes descritas en el modelo pueden correlacionarse como una función de la temperatura mediante el empleo de la ecuación de Arrhenius (ecuación 3).

$$\frac{dC_X}{dt} = \mu \cdot C_X \qquad (7)$$

$$\frac{dC_H}{dt} = Y'_{X/H}\frac{dC_X}{dt} \quad (8)$$

$$\frac{1}{Y'_{X/H}} = \frac{1}{Y_{X/H}} + \frac{m_X}{\mu} \quad (9)$$

$$\frac{dC_X}{dt} = Y'_{X/H} \cdot \mu \cdot C_X \quad (10)$$

Suponiendo que la velocidad de crecimiento microbiana (μ) es constante en el tiempo e igual a su valor máximo ($\mu = \mu_{Max}$), es posible emplear las ecuaciones (11) y (12) para describir la concentración de biomasa e hidrocarburos en el tiempo. Con el fin de obtener los parámetros cinéticos de la ecuación de Monod, es necesario contar con datos de concentración de biomasa (C_X) y concentración de sustrato (C_H) en función del tiempo (t). Inicialmente, los datos se procesan de acuerdo con la ecuación (11), donde el eje de la abscisa será el tiempo, el eje de las ordenadas será el $\ln(C_X / C_{X0})$ y la pendiente de la tendencia será igual a la tasa máxima de crecimiento microbiano (μ_{Max}). Posteriormente, el rendimiento observado sustrato a biomasa ($Y'_{X/H}$) será igual a la pendiente de la gráfica del parámetro $C_{X0}(e^{\mu_{Max}\cdot t} - 1)$ en el eje de la abscisa y de la concentración de sustrato (C_H) en el de ordenadas.

$$\mu_{Max} \cdot t = \ln\left(\frac{C_X}{C_{X0}}\right) \quad (11)$$

$$C_H = C_{H0} - Y'_{X/H} \cdot C_{X0}(e^{\mu_{Max}\cdot t} - 1) \quad (12)$$

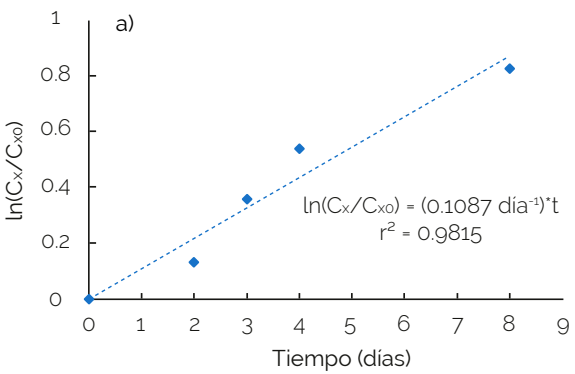
La tabla 4 presenta datos experimentales de biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos (Li et al., 1994a, 1994b), los cuales serán empleados para estudiar el modelamiento matemático de media complejidad. La primera sección de la tabla 4 presenta la correlación del crecimiento de microorganismos, mientras que la segunda detalla la correlación para el consumo de sustrato. Los datos experimentales por procesar se tomaron solo para la etapa de crecimiento exponencial con el fin de poder garantizar la aplicabilidad de las ecuaciones (11) y (12) para la correlación del modelo.

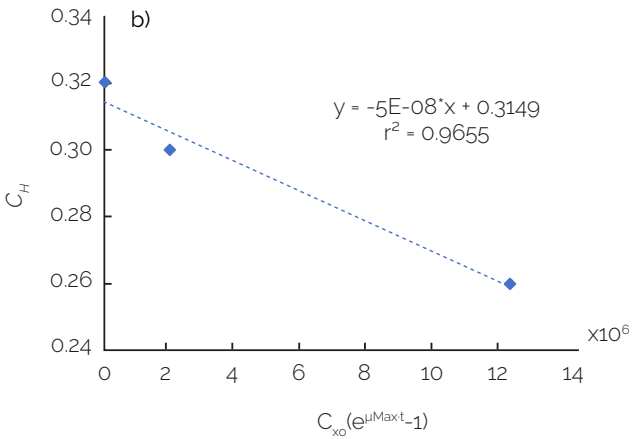
Tabla 4. Generación de modelo de media complejidad para la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos

Correlación para el crecimiento de microorganismos			Correlación para el consumo de sustrato		
Tiempo (días)	Número de bacterias	$\ln(C_X/C_{Xo})$	Tiempo (días)	WH	$C_{Xo}(e^{\mu Max\cdot t}-1)$
0	1.4×10^5	0	0	032	0
2	1.6×10^5	0.1335	8	0.3	1.95 x 105
3	2.0×10^5	0.3567	21	0.26	1.24 x 106
4	2.4×10^5	0.5390			
8	3.2×10^5	0.8267			

Los datos procesados de la tabla 4 se presentan en la figura 2. Para correlacionar el crecimiento de microorganismos (parte a de la figura 2), el tiempo se grafica en el eje de las abscisas, mientras que el $\ln(C_X/C_{X0})$ se grafica en el eje de las ordenadas. Posteriormente, se genera una correlación lineal entre ambos parámetros donde la pendiente de esta gráfica será igual a la tasa máxima de crecimiento microbiano (μMax =0.1087). Nótese que la correlación de la tendencia es de 0.9815, que evidencia el buen grado de correlación del modelo. Por otro lado, para correlacionar el consumo de sustrato (parte b de la figura 2), el parámetro $C_{x0}^{(e\mu_{Max}\cdot t-1)}$ se grafica en el eje de las abscisas, mientras que la concentración de hidrocarburos (C_H) se grafica en el eje de las ordenadas. Finalmente, se genera una correlación lineal entre ambos parámetros (r^2 = 0.9655) donde la pendiente de la gráfica será igual al rendimiento observado sustrato a biomasa ($Y'_{X/H}$ = $5x10^{-8}$).

Figura 2. Modelo de Monod para cinética de biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos





El modelo matemático de media complejidad reportó un coeficiente de correlación superior a 0.98 (parte a de la figura 2) sobre el ejercicio, lo que indica un alto grado de precisión del modelo. Los modelos matemáticos de media complejidad para biorremediación de suelos se recomiendan para escenarios donde sea necesario incluir efectos de transferencia de masa, como por ejemplo en el escalado y el diseño de procesos, plantas y equipos.

Modelos matemáticos de alta complejidad para biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos

Finalmente, se clasificaron como modelos de alta complejidad en la biorremediación de suelos aquellos trabajos que emplearon métodos numéricos más avanzados, como modelos de aprendizaje automático o redes neuronales (tabla 5). Las redes neuronales artificiales son modelos computacionales capaces de reconocer relaciones no lineales complejas entre conjuntos de datos y estimar valores de salida basados en los procesos de entrenamiento y aprendizaje. Entre las principales aplicaciones de redes neuronales en el proceso de biorremediación de hidrocarburos en el suelo, Pigram y Macdonald (2001) propusieron un modelo de red neuronal para el modelado predictivo de un biorreactor que forma parte del proceso de remediación de aguas residuales, en el cual la complejidad de los procesos biológicos, físicos y químicos del reactor hacen que el modelado determinista no sea adecuado. Wu et al. (2013) evaluaron la relación entre propiedades fisicoquímicas del suelo con el cambio en la concentración de hidrocarburos aromáticos policíclicos en suelos, lo que podría ayudar en la toma de decisiones en

la remediación. Asiabadi et al. (2015) implementaron una inferencia difusa con dos entradas (tiempo y profundidad) y 10 funciones de membresía para cuantificar las concentraciones de hidrocarburos (salida) a diferentes profundidades de suelos plantados y no plantados durante el proceso de fitorremediación. Olawoyin (2016) utilizó una red neuronal artificial de retropropagación (RNR) para predecir el comportamiento de la concentración de hidrocarburos aromáticos policíclicos utilizando la leguminosa *Melitus alba*, y reportó un coeficiente de correlación de 0.9994 entre los datos experimentales y los calculados con el modelo. Finalmente, Bao et al. (2019) determinaron la capacidad predictiva de la RNR para determinar la concentración de hidrocarburos aromáticos policíclicos en suelos remediados con paja de maíz al utilizar los datos disponibles de parámetros relacionados. Se tuvieron en cuenta las propiedades del suelo y la concentración de hidrocarburos aromáticos policíclicos, la actividad enzimática, el carbono orgánico disuelto y el carbono de biomasa microbiana, lo que permitió predicciones satisfactorias.

Tabla 5. Modelos matemáticos de alta complejidad para biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos

Tipo de biorremediación (organismo, suelo)	Contaminante	Modelo	Autores
Atenuación natural	Hidrocarburos	Red neuronal	Pigram y Macdonald (2001)
Atenuación natural (arenoso)	Hidrocarburos aromáticos policíclicos	Modelo de aprendizaje automático	Wu et al. (2013)
Atenuación natural	Hidrocarburos de petróleo	Lógica difusa	Asiabadi et al. (2015)
Biorremediación con la leguminosa *Melilutus alba*	Hidrocarburos aromáticos policíclicos	Red neuronal artificial de retropropagación	Olawoyin (2016)
Atenuación natural (paja de maíz, suelos agrícolas)	Hidrocarburos aromáticos policíclicos	Red neuronal artificial de retropropagación	Bao et al. (2019)

Los modelos matemáticos de alta complejidad generan, en el mejor de los casos, modelos empíricos de caja gris, en los que el modelo tiene que ser entrenado para cada condición diferente del sistema que se está estudiando. Estos modelos requieren herramientas computacionales más complejas para su implementación; su velocidad de solución es baja y requieren un intensivo entrenamiento.

Los modelos matemáticos de alta complejidad para biorremediación de suelos se recomiendan para escenarios donde se requiera incluir variables de proceso no contempladas en el modelo de Monod, como la composición del suelo, la cantidad de radiación solar o la cantidad de lluvias.

Conclusiones

Los modelos matemáticos usados en biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos se pueden clasificar por baja, media y alta complejidad. Los modelos de baja complejidad son aquellos en los que se aplican ecuaciones cinéticas de primer orden para describir la desaparición de los hidrocarburos en el suelo; estos modelos no consideran ningún factor adicional, y son cálculos sencillos y de rápida ejecución. Sin embargo, tienen baja reproducibilidad y escalabilidad. Se recomienda su empleo en la generación de estimados iniciales y en el desarrollo de cálculos rápidos en campo.

Los modelos de complejidad media incluyen principalmente cinéticas microbianas, como cinéticas de Monod simples y modificadas. Estos modelos presentan alta reproducibilidad, alta escalabilidad y alta precisión. Los modelos matemáticos de media complejidad para biorremediación de suelos se recomiendan en escenarios donde sea necesario incluir efectos de transferencia de masa, por ejemplo, en el escalado y el diseño de procesos, plantas y equipos.

Los modelos matemáticos de alta complejidad requieren herramientas matemáticas de mayor complejidad para su implementación; su velocidad de solución es baja y requieren un intensivo entrenamiento del modelo. Estos se recomiendan para escenarios donde se requiera incluir variables de proceso no presentes en el modelo de Monod, como la composición del suelo, la cantidad de radiación solar o la cantidad de lluvias.

Finalmente, el estudio de estos modelos matemáticos permite comprender a profundidad los fundamentos de la biorremediación de suelos, así como su escalado e implementación en campo. Adicionalmente, en el futuro, se recomienda el estudio de modelos matemáticos de complejidad mixta donde se puedan aprovechar de forma sinérgica las diferentes fortalezas de los modelos estudiados en este trabajo. Además, se propone la construcción de una base de datos que incluya las principales constantes de modelamiento matemático para biorremediación de suelos.

Referencias

Alvarez, P. J. J. y Illman, W. A. (2006). Numerical modeling of contaminant transport, transformation, and degradation processes. En *Bioremediation and natural at-*

tenuationn: process fundamentals and mathematical models (pp. 201-282). Wiley-Interscience https://doi.org/10.1002/047173862x.ch6

Anaele, J. (2018). Mathematical modelling of the remediation of total petroleum hydrocarbon in soil samples case study: shell spill site. *The International Journal of Science & Technoledge*, 6(7), 188-195, https://www.researchgate.net/publication/327777372_Mathematical_Modelling_o_f_the_Remediation_of_Total_Petroleum_Hydrocarbon_in_Soil_Samples_Case_Study_Shell_Spill_Site

Asiabadi, F. I., Mirbagheri, S. A. y Radnezhad, H. (2015). A fuzzy logic model to determine petroleum hydrocarbons concentration at different depths of contaminated soil during phytoremediation. *Nature Environment and Pollution Technology*, 14(2), 391-396. https://neptjournal.com/upload-images/NL-52-28-(26)D-222.pdf

Balseiro-Romero, M., Monterroso, C., Kidd, P. S., Lu-Chau, T. A., Gkorezis, P., Vangronsveld, J. y Casares, J. J. (2019). Modelling the ex situ bioremediation of diesel-contaminated soil in a slurry bioreactor using a hydrocarbon-degrading inoculant. *Journal of Environmental Management*, 246(february 2018), 840-848. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.06.034

Bao, H., Wang, J., Li, J., Zhang, H. y Wu, F. (2019). Effects of corn straw on dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons and potential application of backpropagation artificial neural network prediction model for PAHs bioremediation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *186*(october). https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109745

Beolchini, F., Rocchetti, L., Regoli, F. y Dell'Anno, A. (2010). Bioremediation of marine sediments contaminated by hydrocarbons: experimental analysis and kinetic modeling. *Journal of Hazardous Materials*, 182(1-3), 403-407. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.06.047

Chemlal, R., Abdi, N., Lounici, H., Drouiche, N., Pauss, A. y Mameri, N. (2013). Modeling and qualitative study of diesel biodegradation using biopile process in sandy soil. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 78, 43-48. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.12.014

Das, N. y Chandran, P. (2011). Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. *Biotechnology Research International*, 2011, 1-13. https://doi.org/10.4061/2011/941810

Farag, S., Soliman, N. A. y Abdel-Fattah, Y. R. (2018). Statistical optimization of crude oil bio-degradation by a local marine bacterium isolate *Pseudomonas* sp. sp48. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 409-420. https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.01.001

Fernández, E. L., Merlo, E. M., Mayor, L. R. y Camacho, J. V. (2016). Kinetic modelling of a diesel-polluted clayey soil bioremediation process. *Science of the Total Environment*, *557-558*, 276-284. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.074

Ibarra, D. y Redondo, J. (2011). Modelo para biorremediación de suelos contaminados. Una aproximación con dinámica de sistemas. Memorias del 9 Encuentro colombiano de dinámica de sistema.

Kermanshahi, A., Karamanev, D. y Margaritis, A. (2006). Kinetic modeling of the biodegradation of the aqueous p-xylene in the immobilized soil bioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 27(3), 204-211. https://doi.org/10.1016/j.bej.2005.08.024

Khamforoush, M., Bijan-Manesh, M. J. y Hatami, T. (2013). Application of the Haug model for process design of petroleum hydrocarbon-contaminated soil bioremediation by composting process. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 10(3), 533-544. https://doi.org/10.1007/s13762-012-0129-4

Kosterin, A. V. y Sofinskaya, O. A. (2010). Simulation of tridecane degradation under different soil water contents. Eurasian Soil Science, 43(6), 712-718. https://doi.org/10.1134/S1064229310060128

Li, K., Xu, T., Cawley, W., Colapret, J., Bonner, J., Ernest, A. y Verramachaneni, P. (1994a). Field test and mathematical modeling of bioremediation of an oil-contaminated soil-Part 1: field test. *Waste Management*, *14*(7), 561-569. https://doi.org/10.1016/0956-053X(94)90028-0

Li, K., Xu, T., Cawley, W., Colapret, J., Bonner, J., Ernest, A. y Verramachaneni, P. (1994b). Field test and mathematical modeling of bioremediation of an oil-contaminated soil-Part 2: mathematical modeling. *Waste Management*, *14*(7), 561-569. https://doi.org/10.1016/0956-053X(94)90028-0

Li, K. Y., Zhang, Y. y Xu, T. (1995). Bioremediation of oil-contaminated soil - A rate model. *Waste Management*, *15*(5-6), 335-338. https://doi.org/10.1016/0956-053X(95)00034-W

Moliterni, E., Jiménez-Tusset, R. G., Villar Rayo, M., Rodriguez, L., Fernández, F. J. y Villaseñor, J. (2012). Kinetics of biodegradation of diesel fuel by enriched microbial consortia from polluted soils. International *Journal of Environmental Science and Technology*, *9*(4), 749-758. https://doi.org/10.1007/s13762-012-0071-5

Monod, J. (1949). The growth of bacterial cultures. *Annual Reviews in M*, *3*(Xl), 371-394.

Mulder, H., Breure, A. M. y Rulkens, W. H. (2001). Application of a mechanistic desorption-biodegradation model to describe the behavior of polycyclic aromatic hydrocarbons in peat soil aggregates. *Chemosphere*, *42*(3), 285-299. https://doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00080-1

Ojewumi, M. E., Emetere, M. E., Babatunde, D. E. y Okeniyi, J. O. (2017). In situ bioremediation of crude petroleum oil polluted soil using mathematical experimentation. *International Journal of Chemical Engineering*, *2017*, 1-11. https://doi.org/10.1155/2017/5184760

Olawoyin, R. (2016). Application of backpropagation artificial neural network prediction model for the pah bioremediation of polluted soil. *Chemosphere*, *161*, 145-150. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.07.003

Ortega, M. F. (2012). *Modelización de un proceso de biorremediación de suelos contaminados con gasoil* [Tesis doctoral, ETSI Minas, Universidad Politécnica de Madrid]. https://doi.org/10.20868/UPM.thesis.14727

Ostendorf, D., Schoenberg, T., Hinlein, E. y Long, S. (2007). Monod kinetics for aerobic biodegradation of petroleum hydrocarbons in unsaturated soil microcosms. *Environmental Science & Technology*, 41(7), 2343-2349. https://doi.org/10.1021/es062313l

Pala, D. M., de Carvalho, D. D., Pinto, J. C. y Sant'Anna, G. L. (2006). A suitable model to describe bioremediation of a petroleum-contaminated soil. *International Biodeterioration and Biodegradation*, *58*(3-4), 254-260. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2006.06.026

Park, J., Zhao, X. y Voice, T. C. (2001). Biodegradation of non-desorbable naphthalene in soils. *Environmental Science & Technology*, *35*(13), 2734–2740. https://doi.org/10.1021/es0019326

Pigram, G. M. y Macdonald, T. R. (2001). Use of neural network models to predict industrial bioreactor effluent quality. *Environmental Science and Technology,* 35(1), 157-162. https://doi.org/10.1021/es0012640

Rein, A., Adam, I. K. U., Miltner, A., Brumme, K., Kästner, M. y Trapp, S. (2016). Impact of bacterial activity on turnover of insoluble hydrophobic substrates (phenanthrene and pyrene)-model simulations for prediction of bioremediation success. *Journal of Hazardous Materials*, *306*, 105-114. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.12.005

Sanni, E. S. y Emetere, E. M. (2016). Mathematical modelling of insitu-bioremediation of crude oil polluted soil. *Science and Engineering Applications*, *1*(4), 27-32, https://www.researchgate.net/publication/311271562_Mathematical_Modelling_of_insitu-Bioremediation_of_Crude_Oil_Polluted_Soil

Venosa, A. D., Suidan, M. T., Wrenn, B. A., Strohmeier, K. L., Haines, J. R., Eberhart, B. L., King, D. y Holder, E. (1996). Bioremediation of an experimental oil spill on the shoreline of Delaware Bay. *Environmental Science and Technology*, *30*(5), 1764-1775. https://doi.org/10.1021/es950754r

Wu, G., Kechavarzi, C., Li, X., Wu, S., Pollard, S. J. T., Sui, H. y Coulon, F. (2013). Machine learning models for predicting pahs bioavailability in compost amended soils. *Chemical Engineering Journal*, *223*, 747-754. https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.02.122

Xu, R. y Obbard, J. P. (2004). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in oil-contaminated beach sediments treated with nutrient amendments. *Journal of Environment Quality*, *33*(3), 861. https://doi.org/10.2134/jeq2004.0861

Yelebe, Z. R., Samuel, R. J. y Yelebe, B. Z. (2015). Kinetic model development for bioremediation of petroleum contaminated soil using palm bunch and wood ash. *International Journal of Engineering Science Invention*, *4*(5), 40-47 https://www.ijesi.org/papers/Vol(4)5/G045040047.pdf

Zivelyte, V., Valters, K. y Vasarevicius, S. (2017). Comparison between passive remediation and bioremediation for the hydrocarbons contaminated soil clean up. *Energy Procedia*, *128*, 339-344. https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.08.322

Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos con aplicación de microorganismos autóctonos de la Patagonia argentina

Marina Rega Babek[*]
Claudio Valverde[**]
Adrián Acuña[***]
Mariana Garbi[****]
Enrique Rodríguez Cáceres[*****]

Resumen

En la actualidad, los derrames de hidrocarburos de petróleo y sus derivados producen serios problemas ambientales, además de generar impactos económicos, sociales y de salud pública. La explotación y el transporte de hidrocarburos son las principales fuentes de contaminación. Para dar solución a esta problemática, existen métodos como la técnica de biorremediación. El objetivo de esta investigación fue la evaluación de dicha técnica a través de la inoculación de un suelo artificialmente contaminado de la zona de la Patagonia, Argentina. Luego de obtener cepas con alta capacidad de transformación del petróleo, se cuantificó la biodegradación a través del tiempo y se determinó el contenido residual de los hidrocarburos del suelo por cromatografía. También se evaluó la población de microorganismos heterotróficos totales (MHT) y microorganismos biodegradables del petróleo (MBP) en el tiempo. Se aislaron y caracterizaron dos especies, una del género *Raoultella* y otra de *Enterobacter* con capacidad de biodegradación de petróleo. Después de 190 días de tratamiento, se detectaron diferencias significativas en la población de MBP en suelos contaminados (petróleo y aceite). Los aumentos fueron de 28.1 % para el tratamiento con petróleo y de 27.4 % para el tratamiento con aceite. Se observó, con el transcurso del tiempo,

[*] Licenciatura en Gestión Ambiental. Universidad Blas Pascal, Córdoba, Argentina.
[**] Laboratorio de Fisiología y Genética de Bacterias Beneficiosas para Plantas. Centro de Bioquímica y Microbiología del Suelo. Departamento de Ciencia y Tecnología. Universidad Nacional de Quilmes, Argentina.
[***] Facultad Regional Santa Cruz, Universidad Tecnológica Nacional, Argentina.
[****] Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
[*****] Asesor particular de bioindustrias. Buenos Aires, Argentina. erodriguezcaceres@gmail.com

una disminución de los componentes del petróleo en los suelos inoculados respecto a los testigos. Cuando se aplicaron bacterias seleccionadas a los suelos contaminados con petróleo, luego de 190 días, hubo una biodegradación del 100 %, mientras que el suelo sin tratar fue del 78 %. Con base en estos resultados, se propuso la implementación de una técnica de biorremediación en los programas de recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos en la provincia de Tierra del Fuego. El propósito de este capítulo es incluir una visión de la biorremediación de suelos contaminados utilizando microorganismos autóctonos de la Patagonia, Argentina.

Palabras clave

Petróleo, suelo patagónico, microbiología de suelos, biorremediación, bacterias autóctonas.

Introducción

La Patagonia está ubicada en el sur argentino y presenta características diferenciales con el resto del país. En esta área se desarrolló una importante actividad de la industria petrolera, como en la figura 1, en la que se muestran las concesiones de explotación de hidrocarburos (HC) del Argen-Map. Cabe destacar que el petróleo se originó a través de la descomposición anaeróbica de materia orgánica a altas temperaturas y presión. Asociados a esto, comenzaron algunos problemas de contaminación que pocas veces se han tratado debido a su extensión y dificultad de acceso (Acuña et al., 2008).

Cuando un contaminante como el petróleo o sus derivados es derramado en el suelo, existen diferentes posibilidades con respecto a su destino. Una de ellas es que permanezca en el suelo por largos periodos sin ser modificado, lo que se denomina *pasivo ambiental*, y de estos existen muchos ejemplos en la Patagonia (Acuña et al., 2013). Al estar expuestos a diferentes condiciones en el medioambiente, estos pasivos ambientales sufren procesos fisicoquímicos, como oxidación, evaporación, etcétera, o procesos biológicos no asistidos (Singleton y Sainsbury, 2006).

Otra alternativa es la biorremediación, que consiste en la utilización de microorganismos con capacidad de biodegradación de hidrocarburos hasta llegar a productos inocuos para el suelo y todo el ambiente (Nilanjana y Chandran, 2011). Entre sus ventajas respecto a los métodos fisicoquímicos están su bajo costo económico (Ulrici, 2000), la no afectación de otros compartimentos ambientales y la optimización de los recursos (Klein, 2000). Mediante esta técnica se han logrado interesantes resultados, además de ser una tecnología en clara expansión y muy competitiva (Bollag, 1992).

Figura 1. Zonas petroleras en la Patagonia, Argentina



Fuente: Secretaría de Energía de la República Argentina (s.f.).

Una forma de mejorar la capacidad de biodegradación en los tratamientos de biorremediación es mediante la bioaumentación, que utiliza bacterias altamente especializadas. Este proceso es empleado cuando se detecta una baja actividad de los microorganismos del suelo con capacidad de utilización de los hidratos de carbono presentes en una contaminación con petróleo o sus derivados. De acuerdo con Riser (1998), este método consiste en adicionar microorganismos, ya sea autóctonos o externos, a un sitio, con la finalidad de incrementar la cantidad de estos y promover la biodegradación o la biotransformación del contaminante.

Un plan de biorremediación efectivo requiere un estudio previo de las condiciones ambientales y de la evolución de las poblaciones microbianas degradadoras de hidrocarburos en los suelos por tratar.

Los denominados *pasivos ambientales* representan los efectos negativos y las consecuencias que genera la actividad comercial en la explotación de un recurso como el petróleo. Por eso, su aplicación requiere una gestión que permita caracterizarlos, evaluar su riesgo e implementar medidas de mitigación tendientes a reducir los riesgos potenciales que representan para la sociedad, el ambiente, la fauna y la flora.

En este trabajo se estudiaron los efectos de la aplicación de microorganismos autóctonos de la provincia de Tierra del Fuego (Patagonia, Argentina) en suelos contaminados artificialmente con HC (petróleo y aceite). Además, con base en los resultados obtenidos, se desarrolló una propuesta para la biorremediación de suelos contaminados con derrames de petróleo.

Materiales y métodos

Aislamiento de bacterias biodegradadoras de petróleo

Primero, se recolectaron muestras de suelo que habían sufrido derrames de petróleo del yacimiento de San Sebastián, en el área denominada Chorrillo, en la planta de almacenaje Cruz del Sur, provincia de Tierra del Fuego (53°19´12,5˝ S y 68°36´33˝ W). Se utilizó un barreno muestreador de suelos y se extrajeron muestras de 10 cm de profundidad en 3 lugares diferentes distanciados 10 m uno de otro. Estas muestras se colocaron en bolsas de polietileno y se homogenizaron.

Una vez llevadas al laboratorio, se tomaron 10 g de suelo contaminado y se colocaron en dos matraces de Erlenmeyer con 90 mL de solución fisiológica estéril (8.5 g de NaCl/L, suplementado con 0.4 % de Tween 80). Se mantuvieron en agitación a 180 r. p. m. durante 20 minutos y se tomaron alícuotas de 0.1 mL que fueron colocadas y extendidas con espátula de Drigalsky sobre la superficie de medio de cultivo Tripteina Soya Agar con la siguiente composición: g/L, Tripteina de soya 10; extracto de levadura, 5; y NaCl: 10, agar 15. Se incubaron a 28 °C durante 6-7 días, y se aislaron cultivos axénicos que fueron conservados en agar nutritivo.

Posteriormente, las cepas bacterianas aisladas fueron sembradas en medio R2A (Reasoner y Geldreich, 1985), donde la única fuente carbonada fue el petróleo que reemplazó la glucosa. El medio se distribuyó en las cajas de Petri y una vez que estuvo solidificado, se vertieron en la superficie 5 mL del mismo medio con el agregado de petróleo (esterilizado por filtración “Millipore®” 0,25 µm). Las colonias que mantuvieron un crecimiento activo en sucesivas resiembras en este medio fueron seleccionadas como potencialmente biodegradadoras de petróleo. Adicionalmente, se confirmó su crecimiento en medio líquido R2A, enriquecido con petróleo (1 %), como única fuente carbonada. Se mantuvieron en agitación a 180 r. p. m. por 10 días, y se evaluó el crecimiento por turbidimetría (Ingraham e Ingraham, 1998).

Identificación de las bacterias biodegradadoras de petróleo

Se obtuvieron dos cepas bacterianas denominadas provisoriamente MR1 y MR2, que fueron enviadas al Laboratorio de Biología de Suelos de la Plataforma de Servicios Biotecnológicos de la Universidad Nacional de Quilmes (Buenos Aires, Ar-

gentina) para su identificación molecular. Se evaluó la capacidad de crecimiento en medio selectivo Gould S1 (Gould et al., 1985) y se realizaron reacciones de amplificación de ADN (PCR) a partir de colonias aisladas luego de 24 h de crecimiento en agar nutritivo a 28 °C. Se utilizaron los siguientes oligonucleótidos: a) universales para 16S rDNA (ARN ribosomal 16S) de Eubacterias, con un tamaño de producto esperado de 1450 pb (Picard et al., 2000); b) específicos para el gen o*prF* del género *Pseudomonas*, que codifica una porina de membrana externa, con un tamaño de producto esperado de 650 a 750 pb (Agaras et al., 2012); c) específicos para el gen *rpoB* del género *Pseudomonas* (codifica la subunidad beta de la ARN polimerasa), con un tamaño de producto esperado de 1000 pb (Mulet, et al., 2010). Se verificó la amplificación por electroforesis en agarosa. Se determinaron las secuencias de los productos de amplificación del 16S rDNA (Macrogen Inc, Korea) y se realizó la asignación taxonómica mediante su análisis comparativo con secuencias de cepas tipo (Yoon et al., 2017). Estas secuencias se introdujeron como argumentos de búsqueda en los servidores BlastN NCBI, Ribosomal Database Project y EzBiocloud para identificar las especies tipo más cercanas taxonómicamente a los aislamientos MR1 y MR2. Las secuencias de las especies tipo identificadas se descargaron y alinearon junto a las obtenidas para MR1 y MR2 en el algoritmo Muscle, con parámetros por defecto. El alineamiento resultante se utilizó para generar un árbol de relaciones evolutivas con el método Minimum Evolution, utilizando 28 secuencias con un total de 1299 posiciones nucleotídicas en el conjunto final de datos. Los análisis evolutivos se llevaron a cabo en MEGA X (Kumar, et al. 2018), utilizando parámetros por defecto. Las secuencias parciales ribosomales del gen 16S de *Vibrio cholerae* y *Escherichia coli* se utilizaron como referencias externas.

Ensayo de biorremediación con suelo zonal empleando bacterias autóctonas

Se realizó un ensayo de biorremediación en ambientes controlados con el objetivo de obtener información del efecto de la adición de bacterias autóctonas de la Patagonia en suelos contaminados artificialmente.

El suelo empleado en el experimento fue extraído de un campo ubicado en la ciudad de Río Grande Tierra del Fuego (Argentina) (53°48´44.11˝ S, 87°47´08.75˝ O). Se extrajo del horizonte A, tomando las muestras de los 0,20 m de profundidad. Este lugar se eligió por no haber tenido contaminación previa con hidrocarburos. Se homogenizó y se tamizó con malla de 8 mm.

Para conocer las propiedades edáficas, se realizó un análisis físico y químico del suelo en el laboratorio de suelos del Instituto de Suelos del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Castelar Buenos Aires, Argentina (tabla 1).

Tabla 1. Composición física y química del suelo empleado en el ensayo

Análisis	Valor obtenido	Metodología
Arena fina (%)	53	Sedimentología
Arena media (%)	10	Ídem arena fina
Arena ultrafina (%)	27	Ídem arena fina
Limo + arcilla (%)	10	Ídem arena fina
Capacidad de retención hídrica (%)	32	Gravimetría
pH	7,6	Potenciométrico con electrodo
Densidad aparente	1,13	Cilindro y gravimetría
Porosidad (%)	48	Humedad y saturación
Carbono orgánico (mg/kg)	3,59	Walkey y Black
Materia orgánica (mg/kg)	6,20	C (%) x 1,724
Fósforo total (mg/kg)	8,1	Olsen
Nitrato (mg/kg)	20,8	Ácido fenoldisulfónico
Calcio (mg/kg)	17	Volumetría con EDTA
Magnesio (mg/kg)	49	Ídem calcio

Para el ensayo se utilizaron recipientes de 20 L de plástico con 7 kg de suelo, por triplicado.

Tratamientos

Los tratamientos fueron los siguientes:

1) Testigo sin hidrocarburo y sin inocular
2) Con petróleo sin inocular
3) Con petróleo inoculado
4) Con aceite sin inocular
5) Con aceite inoculado

Todos los tratamientos tuvieron tres repeticiones. Para realizar la impregnación del petróleo crudo y del aceite, se pulverizó el HC sobre el suelo en una proporción equivalente al 5 % v/p. Se consideró la cantidad de HC agregado como óptima para el proceso de biodegradación (Vecchioli et al., 1990).

El aceite usado para los tratamientos se obtuvo a partir de motores de un taller mecánico de la zona. La inoculación de los microorganismos se realizó al impregnar el sustrato con 10 mL de inoculante por kg de suelo, que contenía $3,1 \times 10^9$ UFC/mL, en la etapa de crecimiento exponencial.

Las macetas se mantuvieron con una humedad aproximada al 60 % de la capacidad de campo y se cubrieron con un polietileno para evitar encharcamientos y permanecer en esas condiciones durante 6 meses.

Se extrajeron muestras de suelo para realizar las evaluaciones correspondientes, en tres periodos: T1, T2 y T3 (63, 116 y 190 días de tratamiento, respectivamente). Luego se colocaron en recipientes refrigerados hasta su evaluación.

Análisis microbiológico

Para evaluar la población de los microorganismos heterotróficos totales (MHT) como los biodegradadores de petróleo (MBP) en el suelo fueron cuantificados de acuerdo a Frioni (2006) y fueron expresados como UFC/g de suelo (Unidades Formadoras de Colonias por gramo de suelo).

Determinaciones químicas

La concentración de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) se analizó en el laboratorio de la Universidad Tecnológica Nacional de Río Gallegos, Santa Cruz, Argentina, mediante cromatografía de gases de acuerdo con la norma TNRCC 1005 (Saitas, 2001). A partir de estos datos, y para evaluar la biodegradación de las diferentes fracciones del hidrocarburo presente, se realizó una cuantificación de apertura de carbono. De igual forma se realizó el análisis de los índices C17/pristano y C18/fitano, los cuales se encuentran descritos por Minai-Tehrani et al. (2015), y nos permiten determinar si la disminución de contaminantes en los sistemas estudiados se debe a un proceso de biodegradación.

Análisis estadístico

Todas las determinaciones de contaje de microorganismos y análisis de hidrocarburos se realizaron con tres repeticiones y con un análisis de la varianza no paramétrica utilizando la prueba de Kruskal-Wallis. Los resultados fueron procesados por el paquete estadístico de InfoStat (Di Renzo et al., 2008).

Propuesta para la incorporación del método de biorremediación a los programas de recuperación de suelos

En este trabajo se estudió la biorremediación de suelos con el interés de disminuir el efecto contaminante de hidrocarburos a rangos no tóxicos.

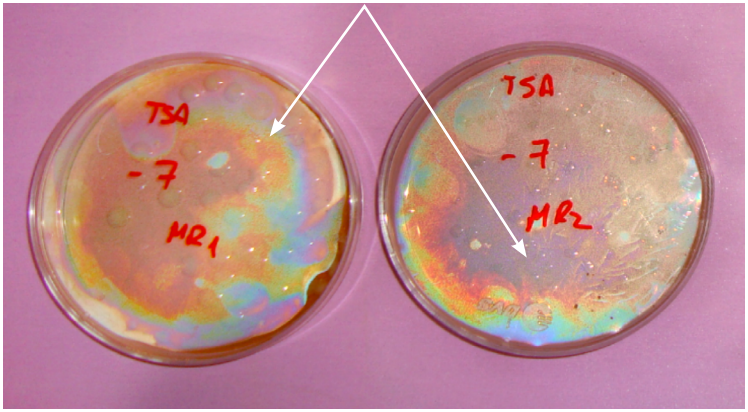
Con base en los datos obtenidos y las respuestas de biorremediación de suelos contaminados con petróleo, se efectuó un análisis de posibilidades de implementación de esta técnica en los programas de recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos en la provincia de Tierra del Fuego, Patagonia, Argentina.

Resultados

Aislamiento de bacterias biodegradadoras de petróleo

Como puede observarse en la figura 2, las colonias con capacidad de biodegradación de petróleo formaron un halo trasparente en la superficie del agar que contiene petróleo como única fuente carbonada. Esto evidenció un efecto de aprovechamiento de la fuente carbonada con una consecuente degradación del HC.

Figura 2. Cultivos de bacterias biodegradadoras de petróleo



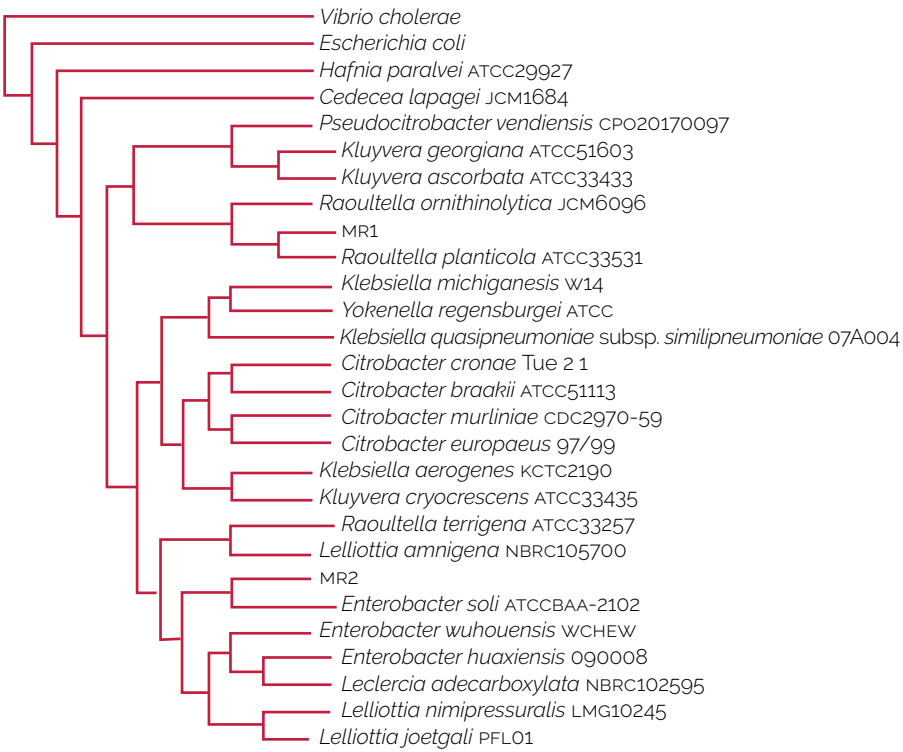
De esta forma, se obtuvieron dos cepas de microorganismos que se denominaron provisoriamente MR1 y MR2.

Identificación de las bacterias biodegradadoras de petróleo

Ante la sospecha inicial de que los aislamientos MR1 y MR2 fueran representantes del género *Pseudomonas*, se evaluó su capacidad de crecimiento en el medio selectivo para *Pseudomonas* S1 (Gould et al., 1985). Sin embargo, ninguno de los aislamientos fue capaz de crecer en este medio. En forma consistente con esta observación, no se obtuvieron productos específicos de amplificación a partir de los dos aislamientos en las PCR específicas para el género dirigidas a los genes *oprF* y *rpoB*. Por ello, se determinó la secuencia de los productos que se obtuvieron con *primers* universales para el gen ribosomal 16S. Las secuencias se depo-

sitaron en la base de datos Genbank, bajo los códigos de acceso MW940702 y MW940703, para MR1 y MR2, respectivamente. Como se observa en la figura 3, la comparación de las secuencias parciales del gen 16S rDNA con las de cepas de referencia reveló que ambos aislamientos pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*. La mayor similitud secuencial del gen ribosomal del aislamiento MR1 fue con la cepa tipo de la especie *Raoultella planticola* (99.6 % similar), mientras que para el aislamiento MR2 fue con la cepa tipo de la especie *Enterobacter soli* (98.7 % similar).

Figura 3. Relaciones evolutivas de los linajes bacterianos relacionados a los aislamientos MR1 y MR2



Determinaciones químicas

En el sistema contaminado con petróleo y sin inoculación, inicialmente se pudo determinar un total de 35 734 ppm de HTP, y al finalizar la biorremediación este valor descendió significativamente ($p \leq 0.05$) a 7 747 ppm, que significa una disminución de 78.32 % (tabla 2). Se observó que en los hidrocarburos de alto peso molecular

(C30 a C32) casi no hubo cambios, quizás porque estos compuestos son más recalcitrantes. Por otro lado, los hidrocarburos presentes en el suelo están representados en su mayoría por compuestos de más de 10 átomos de carbono, y en su minoría por hidrocarburos de menor peso molecular (tabla 2).

En el tiempo T1 se observó un marcado descenso en la concentración de HTP, y con ello una disminución significativa ($p \leq 0{,}05$) del 42.9 % de la concentración de HTP. En el tiempo T2 la degradación de HTP fue de 55.05 % respecto al tiempo inicial, y al tiempo T3 de 78.32 %. Esto demuestra que, en la primera etapa del tratamiento, se ha logrado la mayor reducción de componentes de petróleo en el suelo con una tasa de degradación mayor al inicio, y que va descendiendo con el transcurso del tiempo de tratamiento. Se obtuvo una mayor degradación en los componentes de menor peso molecular y se observó que en los HTP de más de C30 la disminución en la concentración de estos no fue significativa, lo cual puede deberse a su menor degradabilidad debido a la estabilidad en su estructura química. Si bien al tiempo T3 del tratamiento puede verse una significativa reducción del 78.32 % ($p \leq 0{,}05$) en la concentración de HTP, aún quedan restos de HC en el suelo, lo cual debería ser eliminado totalmente si lo que se busca es reducir al mínimo el impacto ambiental producido.

En el sistema de suelo contaminado con petróleo y tratado con bacterias biodegradadoras, se observa que la biodegradación de los componentes fue mucho más significativa ($p \leq 0.05$) y al finalizar la experiencia no se detectaron componentes del petróleo adicionado (tabla 2). A medida que pasa el tiempo (T0 a T3) hay una disminución de los componentes del petróleo más pronunciada que en el sistema sin inoculante ($p \geq 0.05$). Inicialmente se pudo determinar un total de 18 444 ppm de HTP y al finalizar la experiencia de biorremediación este valor descendió a 0 ppm; así, se demuestra una disminución del 100 % en el total de los hidrocarburos presentes. En este caso también hubo una acción biodegradadora aun en compuestos de alto peso molecular (tabla 2).

Tabla 2. Componentes de hidrocarburos en sistemas con petróleo

Unidad (ppm)	T0 (0 días)		T1 (63 días)		T2 (116 días)		T3 (190 días)	
	SI	CI	SI	CI	SI	CI	SI	CI
< C8	0	27	0	9	0	0	0	0
C8 a < C10	1120	1304	29	24	39	0	0	0
C10 a < C12	4473	2510	1171	333	1132	224	225	0
C12 a < C14	4240	2390	1455	846	1429	360	658	0
C14 a < C16	4062	2216	1975	1527	1550	532	874	0
C16 a < C18	3949	2121	2580	22110	1927	960	1027	0

(*Continúa*)

C18 a < C20	2968	1952	2142	1877	1642	677	942	0
C20 a < C22	3158	1584	2350	1523	1885	620	1048	0
C22 a < C24	3408	1278	2375	1256	1751	544	784	0
C24 a < C26	2597	1124	1876	1095	1371	474	593	0
C26 a < C28	2080	955	2066	912	1478	491	624	0
C28 a < C30	3047	723	1852	710	1309	636	485	0
C30 a < C32	632	261	532	255	548	64	487	0
> C32	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	35734	18444	20403	12478	16062	5582	7747	0
Biodegradación (%)	-	-	42.90	32.34	55.05	69.74	78.32	100.00
C17/pristano	1.12	1.46	0.93	1.29	0.92	1.25	0.74	0.00
C18/fitano	1.31	2.06	0.92	1.42	0.68	1.23	0.51	0.00

Nota: SI= sin inoculación, CI= con inoculación.

En los suelos contaminados con aceite se observan menos hidrocarburos de bajo peso molecular, así como una disminución de esos componentes en un tiempo breve de tratamiento (T1), pero en los hidrocarburos de alto peso molecular no se muestra una disminución muy marcada (tabla 3). En esta situación de biorremediación de suelos contaminados con aceite, la acción de los microorganismos adicionados fue muy significativa ($p \leq 0.05$) en los compuestos de bajo peso molecular (hasta compuestos con C18) (tabla 3). En aquellos compuestos con más carbonos se observó una disminución más marcada que en el caso de suelos con aceite y sin la incorporación del inóculo bacteriano ($p \leq 0.05$).

Tabla 3. Componentes de hidrocarburos en sistemas con aceite

Unidad (ppm)	T0 (0 días)		T1 (63 días)		T2 (116 días)		T3 (190 días)	
	SI	CI	SI	CI	SI	CI	SI	CI
< C8	0	0	0	0	0	0	0	0
C8 a < C10	429	0	0	0	0	0	0	0
C10 a < C12	2986	816	239	186	88	78	75	0
C12 a < C14	2718	1577	691	586	397	186	359	24
C14 a < C16	388	613	378	310	247	204	231	33
C16 a < C18	651	531	411	499	354	271	325	35
C18 a < C20	617	506	490	499	466	265	429	158
C20 a < C22	1693	1518	1657	1497	1541	958	1358	584
C22 a < C24	4396	4281	4322	4292	3898	3000	3741	2310

(*Continúa*)

C24 a < C26	4156	3856	4121	3741	3735	2569	3594	1863
C26 a < C28	5940	5517	5892	5491	5093	3742	4866	2974
C28 a < C30	4854	5317	4799	5249	4438	3700	4211	3025
C30 a < C32	1768	1458	1731	1169	1432	1399	1294	847
> C32	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	30596	25990	24730	23519	21691	16372	20483	11853
Biodegradación (%)	-	-	19.17	9.51	29.11	37.01	33.05	54.39
C17/pristano	1.68	2.30	1.03	0.30	0.32	0.12	0.21	0.05
C18/fitano	0.18	0.25	0.05	0.07	0.02	0.03	0.02	0.02

Nota: SI= sin inoculación, CI= con inoculación.

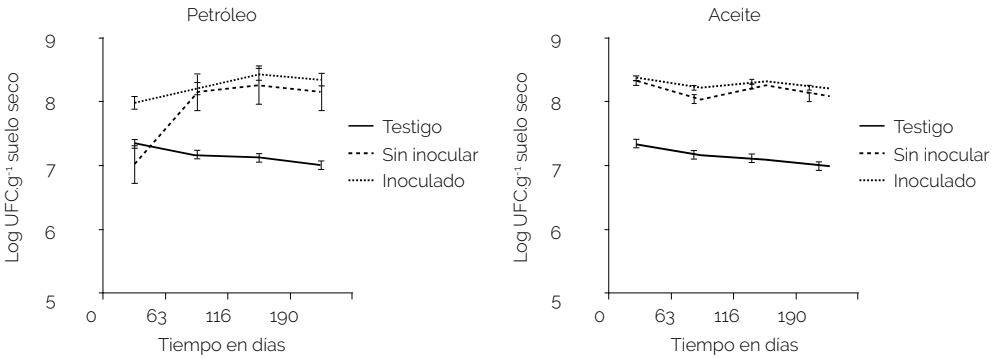
En resumen, puede observarse que la biodegradación expresada en porcentaje cuando se impregnaron los suelos con petróleo y no se aplicaron bacterias fue de 78.32 %, mientras que cuando se aplicaron bacterias (MR1+MR2), la biodegradación fue del 100 % luego de aproximadamente 6 meses. Por otro lado, en sistemas con aceite como contaminante, la degradación natural fue del 33.05 % versus la lograda con biorremediación de 54.39 % (tabla 3). Esto demuestra que, con ambos tipos de contaminantes, la biodegración de estos fue significativamente mayor ($p \leq 0,05$) cuando se incorporó el inoculante bacteriano en el suelo estudiado.

Los índices C17/pristano y C18/fitano se denominan biomarcadores y brindan información sobre la efectividad de los procesos de degradación de los residuos del petróleo utilizando microorganismos. Ambos índices disminuyeron significativamente ($p \leq 0.05$) a medida que avanzó el tiempo, y fue aún más marcada su disminución en los suelos inoculados con microorganismos, lo que evidenció una mayor descontaminación y un proceso más eficiente de biodegradación. En los sistemas de suelos contaminados con aceites, ambos índices descendieron con una pendiente negativa mayor ($p \leq 0.05$) a lo observado en los sistemas con petróleo (tablas 2 y 3).

Recuento de microflora heterotrófica y biodegradadora de petróleo

Como puede observarse en la figura 4, en todos los muestreos realizados, la evolución de la población de MHT fue superior en ambos suelos con contaminantes respecto al testigo. Al finalizar el ensayo en los 190 días se detectaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en la población de microorganismos en ambos contaminantes entre el testigo y los inoculados con petróleo y aceite. Los aumentos fueron de 19 % para el tratamiento con petróleo y de 17.3 % para el tratamiento con aceite.

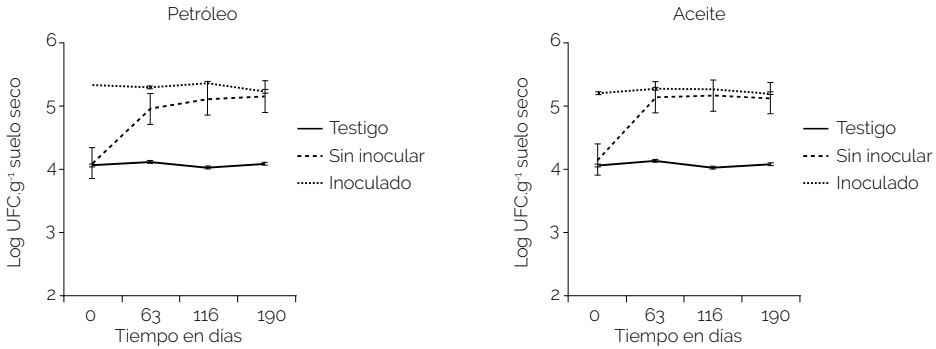
Figura 4. Evolución de la población de MHT en suelos



Nota: las barras verticales indican error estándar.

Respecto a las bacterias biodegradadoras (MBP), estas tuvieron un comportamiento similar en los suelos con ambos contaminantes (petróleo y aceite), y mostraron un mayor número de UFC/g de suelo respecto al testigo en todos los tiempos analizados (figura 5). La población de estos microorganismos en los suelos inoculados fue estable y con un alto número de bacterias MBP respecto al testigo, lo que permitió alcanzar valores entre 1.6 x 10^5 y 1.8 x 10^5 UFC/g de suelo seco.

Figura 5. Evolución de la población de MBP en suelos



Nota: las barras verticales indican error estándar.

Al finalizar el ensayo en los 190 días se detectaron diferencias significativas en la población de MBP en ambos contaminantes entre el testigo y los inoculados con petróleo y aceite. Los aumentos fueron de 28.1 % ($p \leq 0.05$) para el tratamiento con petróleo, y de 27.4 % ($p \leq 0.05$) para el tratamiento con aceite.

Implementación de una técnica de biorremediación en Tierra del Fuego

El impacto ambiental ocasionado por derrames de hidrocarburos en la Patagonia, Argentina, ha ocasionado daños en miles de hectáreas, kilómetros de ríos y quebradas (Acuña et al., 2008). El daño hecho por este tipo de siniestros es prácticamente irremediable. Los procesos de remediación no son lo suficientemente eficientes; además, se implementan mucho tiempo después, cuando el petróleo ya ha penetrado en el sistema. El daño realizado al suelo, a los mantos acuíferos, a la flora y a la fauna no puede revertirse por completo. Sin embargo, es necesario implementar procesos que permitan las condiciones originales del sitio en la mayor medida de lo posible.

Para que un método de biorremediación resulte productivo hay que tener en cuenta varios factores como una población de microorganismos efectiva en la biodegradación y también los elementos ambientales propicios para que puedan desarrollarse eficientemente (Boopathy, 2000).

Con base en los datos obtenidos y las respuestas de biorremediación de suelos contaminados con petróleo, se efectuó un análisis de posibilidades de implementación de esta técnica en los programas de recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos en la provincia de Tierra del Fuego, Patagonia, Argentina.

Desde la Dirección General de Gestión Ambiental de la provincia de Tierra del Fuego se implementan mecanismos de fiscalización y control ambiental respecto a los incidentes ocurridos en el ámbito petrolero, con el fin de controlar aquellos que pudieran impactar el ambiente, para prevenir y coordinar acciones que alerten, así como exigir al administrado que implemente de manera inmediata los protocolos de emergencia y las medidas de mitigación correspondientes.

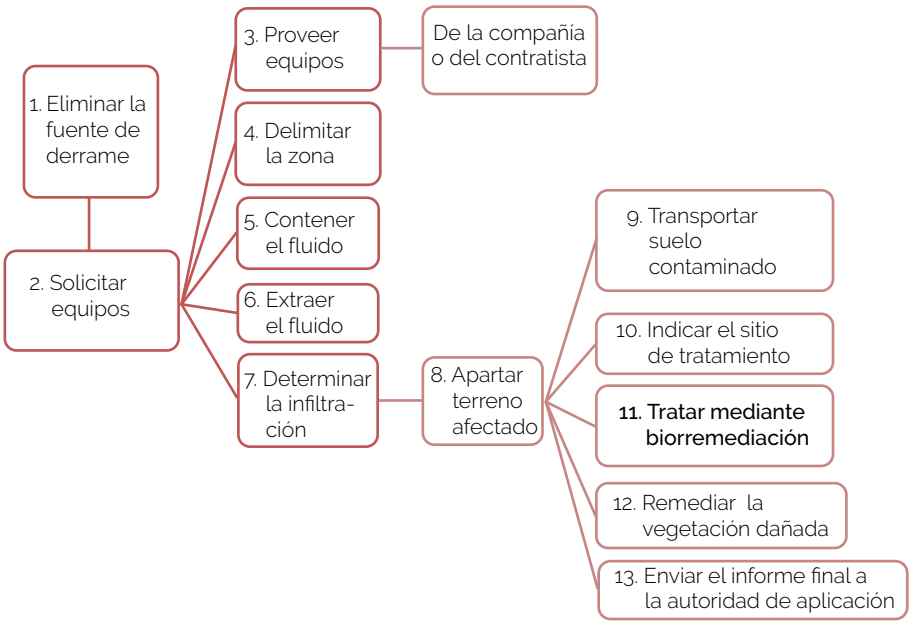
Acciones ante derrame de HC en suelo

Este análisis y la propuesta de biorremediación se elaboraron bajo los conceptos anunciados por la Secretaría de Medio Ambiente de Tierra del Fuego, Argentina (figura 6).

La propuesta contempla los siguientes aspectos:

a) Realización del primer diagnóstico
b) Recopilación de información y verificación *in situ*
c) Información a las autoridades correspondientes: Secretaría de Medio Ambiente, Dirección General de Gestión Ambiental

Figura 6. Diagrama de acciones ante un derrame de hidrocarburo



Fuente: elaboración propia con base en investigaciones en la Secretaría de Ambiente y consultas al personal de las petroleras argentinas.

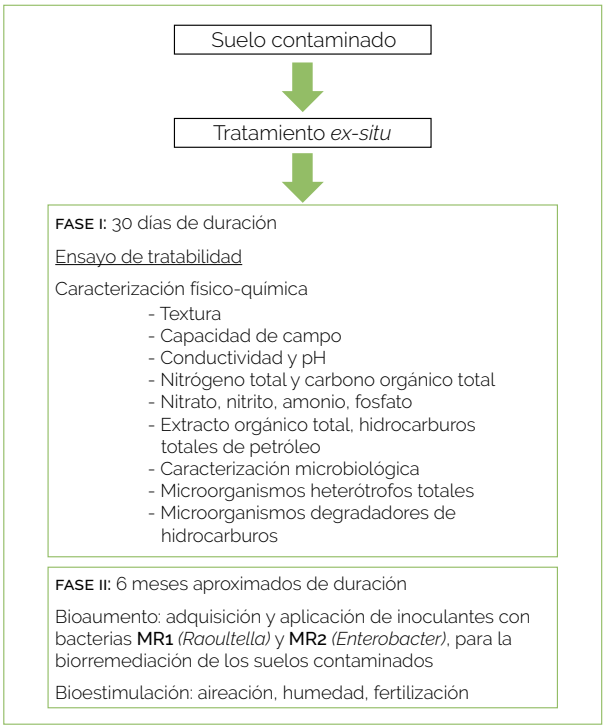
Tratamiento mediante biorremediación

Para que un proceso biológico de tratamiento sea efectivo, es necesario realizar la caracterización total del sistema. En primer lugar, se deben determinar las poblaciones microbianas presentes, así como la biodegradabilidad de los contaminantes. A la par, se tiene que considerar también la caracterización de los factores físicos, químicos y ambientales del sitio, ya que esos parámetros condicionarán dicho proceso biológico. Una vez contempladas todas las variables, se deben realizar experimentos a escala laboratorio, con la finalidad de evaluar el comportamiento esperado, bajo condiciones controladas, antes de su aplicación en un suelo contaminado (Zhou y Crawford, 1995).

En lo relacionado al aspecto microbiológico se deben programar ensayos donde se determina el número de microorganismos por gramo de suelo con capacidad biodegradadora, así como su proporción respecto a la población total endémica del suelo contaminado. De esta forma, se podrá determinar si la población autóctona está metabólicamente activa y, si fuera necesario, estimularla a través de una bioaumentación. Una vez que tanto el suelo, los contaminantes y la población microbiana han sido estudiados, se debe evaluar la biodegradabilidad de

los contaminantes. Para llevarlo a cabo, estos estudios se realizan en dos fases. La fase I de biodegradabilidad, que se lleva a cabo mediante ensayos rápidos y, posteriormente, la fase II, llevada a cabo en un periodo mayor, en el que se evalúan todos los factores fisicoquímicos y biológicos que puedan afectar el proceso de biodegradación.

Figura 7. Fases para la implementación de la biorremediación de suelos contaminados con HC, empleando microorganismos autóctonos de la Patagonia



Raoultella planticola es una especie de enterobacteria descrita por Drancourt et al. (2001), que posee una amplia distribución ambiental, y de la cual se han reportado aislamientos con capacidad de biorremediar compuestos hidrofóbicos y policíclicos recalcitrantes (Sugimori et al., 2013; Ping et al., 2017). Por su parte, *Enterobacter soli* fue descrita como una especie de enterobacteria aislada de suelo con capacidad de degradar lignina, un polímero abundante de origen vegetal compuesto por fenoles altamente ramificados (Manter et al., 2011). Estas características son consistentes con el aislamiento de MR1 y MR2 a partir del suelo, seleccionadas por su capacidad para degradar petróleo, como cepas genéticamente relacionadas con *R. planticola* y *E. soli*.

El resultado fue que las poblaciones de bacterias biodegradadoras de HC fueron mayores en los suelos empetrolados contra los testigos, y no en los tratados con aceite; esto podría deberse a que los inoculantes fueron elaborados con bacterias seleccionadas de suelos con derrames de petróleo. En la situación de los tratamientos con aceite —en este caso aceite usado—, la composición podría ser bastante diferente y sobre todo con otros elementos producto de la combustión de máquinas con motores a explosión.

En la Patagonia también se realizó la remediación de un predio con desechos petroleros acumulados por décadas en forma de una laguna. Se trabajó con hongos y bacterias autóctonos cultivados en Neuquén. El proceso de biorremediación logró reducir los niveles de contaminación de 30 % a 3 o 4 % en un periodo de 6 meses. Este trabajo fue realizado por especialistas de la Universidad Nacional del Comahue, quienes realizaron el cultivo de los microorganismos y la implementación del proceso de biorremediación (Ortiz, 1997). Luego de un mes, el 43 % de los HC fueron degradados en suelos no inoculados, mientras que en aquellos inoculados el porcentaje de degradación ascendió a un 65 % (Vecchioli et al., 1990).

En el trabajo de Lin et al. (2010) se observó que uno de los parámetros más importantes de los contaminantes es su peso molecular. Las fracciones más ligeras son más fácilmente degradables en comparación con las más pesadas, que requirieron mayor tiempo para degradarse.

Esta observación también es compartida por Pucci et al. (2013), quienes concluyen que conocer la composición química del hidrocarburo contaminante es vital para su eliminación eficaz. Koma et al. (2003) y Raju et al. (2017) mencionan que, por ejemplo, los aceites lubricantes se encuentran constituidos por cadenas de hidrocarburos saturados de 25 a 35 átomos de carbono y 75 % de cicloalcanos, los cuales hacen que este contaminante sea muy difícil de degradar. A esta fracción de hidrocarburos se le conoce como *recalcitrante* para la degradación microbiana. Por lo general, la fracción alifática compuesta por n-alcanos es fácilmente metabolizada por los microorganismos (Ríos y Nudelman, 2008; Minai-Tehrani et al., 2015).

La dificultad en la degradación de los aceites lubricantes por parte de los microorganismos también fue evidenciada por Bhattacharya et al. (2015) a partir de experiencias con la cepa de *Ochrobactrum* sp. C1. En dicha experiencia comprobaron que los alcanos lineales comprendidos entre n-C12 a n-C28 fueron metabolizados de manera efectiva. Sin embargo, a medida que la longitud de la cadena de los alcanos aumentaba, dicha eficiencia se veía disminuida, situación también reportada por otros investigadores (Wang et al., 2011; Zhang et al., 2011).

Conclusiones

El uso de bacterias de los géneros *Raoultella planticola* y *Enterobacter soli* aceleran el proceso de biorremediación de suelos contaminados con petróleo y aceite de motores. En un periodo de 6 meses se logró remediar el 100 % de los compuestos del petróleo.

Los índices C17/pristano y C18/fitano son útiles para los estudios de biorremediación con microorganismos en suelos contaminados con HC.

Finalmente, se propone un sistema con dos fases para la implementación y seguimiento de suelos contaminados con HC empleando microorganismos autóctonos de la Patagonia, Argentina.

Referencias

Acuña, A. J., Pucci, O. H. y Pucci, G. N. (2008). Caracterización de un proceso de biorremediación de hidrocarburos en deficiencia de nitrógeno en un suelo de la Patagonia Argentina. *Ecosistemas*. *17*(2), 85-93. https://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/474

Acuña, A. J., Pucci, G. N. y Pucci, O. H. (2013). Inconvenientes en el desarrollo de la biodegradación. *Microbiología Agrícola*, 465-474. https://www.researchgate.net/publication/344390230_Inconvenientes_en_el_desarrollo_de_una_buena_Biodegradacion

Agaras, B., Wall, L. y Valverde, C. (2012). Specific enumeration and analysis of the community structure of culturable pseudomonads in agricultural soils under no-till management in Argentina. *Applied Soil Ecology*, *61*, 305-319. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.11.016

Bhattacharya, M., Biswas, D., Sana, S. y Datta, S. (2015). Biodegradation of waste lubricants by a newly isolated Ochrobactrum sp. C1. 3 *Biotechnology*, *5*(5), 807-817. https://doi.org/10.1007/s13205-015-0282-9

Bollag, J. M. (1992). Decontaminating soil with enzymes: an in situ method using phenolic and anilinic compounds. *Environmental Science & Technology*, *26*(10), 1876-1881. https://doi.org/10.1021/es00034a002

Boopathy, R. (2000). Factors limiting biorremediation technologies. *Bioresourses Technology*, *74*(1), 63-67. https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00144-3

Di Renzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M. y Robledo, C. W. (2008). InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Drancourt, M., Bollet, C., Carta, A. y Rousselier, P. (2001). Phylogenetic analyses of Klebsiella species delineate *Klebsiella* and *Raoultella* gen. nov., with description of *Raoultella ornithinolytica* comb. nov., *Raoultella terrigena* comb. nov.

and *Raoultella planticola* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *51*(3), 925-932. https://doi.org/10.1099/00207713-51-3-925

Frioni, L. (2006). *Microbiología básica, ambiental y agrícola*. Universidad de Agronomía de la República, Montevideo.

Gould, W. D., Hagedorn, C., Bardinelli, T. R. y Zablotowicz, R. M. (1985). New selective media for enumeration and recovery of fluorescent pseudomonads from various habitats. *Applied and Environmental. Microbiology*, *49*(1), 28-32. https://doi.org/10.1128/aem.49.1.28-32.1985

Ingraham, L. J. e Ingraham. A. C. (1998). *Introducción a la microbiología*. Reverté.

Klein, J. (2000). Possibilities, limits and future developments of soil bioremediation. En H. J. Rehm y G. Reed (Eds.), *Biotechnology Set* (2.ª ed., pp. 465-476).Wilay-Interscience https://doi.org/10.1002/9783527620999.ch22m

Koma, D., Sakashita, Y., Kubota, K., Fujii, Y., Hasumi, F., Chung, S. Y. y Kubo, M. (2003). Degradation of car engine base oil by *Rhodococcus* sp. NDKK48 and *Gordonia* sp. NDKY76A. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, *67*(7), 1590-1593. https://doi.org/10.1271/bbb.67.1590

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. y Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, *35*(6), 1547-1549. https://doi.org/10.1093/molbev/msy096

Lin, T. C., Pan, P. T., Cheng, S. S. (2010). Ex situ bioremediation of oil-contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, *176*(1), 27-34. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.080

Manter, D. K., Hunter, W. J. y Vivanco, J. M. (2011). *Enterobacter soli* sp. nov.: a lignin-degrading-proteobacteria isolated from soil. *Current Microbiology*, *62*(3), 1044-1049. https://doi.org/10.1007/s00284-010-9809-9

Minai-Tehrani, D., Rohanifar, P. y Azami, S. (2015). Assessment of bioremediation of aliphatic, aromatic, resin, and asphaltene fractions of oil-sludge-contaminated soil. *International Journal of Environmental Science and Technology*, *12*, 1253-1260. https://doi.org/10.1007/s13762-014-0720-y

Mulet, M., Lalucat, J. y García Valdés, E. (2010). DNA sequencebased analysis of the *Pseudomonas* species. *Environmental Microbiology*, *12*(6), 1513-1530. https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02181.x

Nilanjana, D. y Chandran, P. (2011). Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. *Biotechnology Research International* (Vol. 2011). https://doi.org/10.4061/2011/941810

Ortiz, O. (1997, 17 de octubre). Ecología: primeras experiencias a gran escala. Usan bacterias comepetróleo. *Clarín*. https://www.clarin.com/sociedad/usan-bacterias-comepetroleo_0_H1tarxWRKe.html

Picard, C., Di Cello, F., Vestura, M., Fani, R. y Guckert, A. (2000) Frequency and biodiversity of 2,4 diacetylphloroglucinol producing bacteria isolated from the maize rhizosphere at different stages of plant growth. *Applied and Environmental Microbiology*, *66*(3), 948-955. https://doi.org/10.1128/aem.66.3.948-955.2000

Ping, L., Guo, Q., Chen, X., Yuan, X., Zhang, C. y Zhao, H. (2017). Biodegradation of pyrene and benzo[a]pyrene in the liquid matrix and soil by a newly identified Raoultella planticola strain. 3 *Biotechnology*, *7*(1), 56. https://doi.org/10.1007/s13205-017-0704-y

Pucci, G. N., Acuna, A. J. y Pucci, O. H. (2013). Inconvenientes en el desarrollo de la biodegradación. En A. S. Albanesi (Ed.). *Microbiología agrícola. Un aporte de la investigación en Argentina* (pp. 465-474). Magna.

Raju, M. N., Rodriguez, L., Sanaguano, H., Burgos, R. E., Venkateswarlu, K. y Scalvenzi, L. (2017). Biodegradation of diesel, crude oil and spent lubricating oil by soil isolates of *Bacillus* spp. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *98*(5), 698-705. https://doi.org/10.1007/s00128-017-2039-0

Reasoner, D. y Geldreich, E. (1985). A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. *Applied and Environmental Microbiology*, *49*(1), 1-7. https://doi.org/10.1128/aem.49.1.1-7.1985

Ríos, S. M. y Nudelman, N. S. (2008). Natural attenuation of oil spills in Patagonian soils. Characterization by 1H NMR spectroscopy. *Environmental Technology*, *29*(1), 23-33. https://doi.org/10.1080/09593330802008446

Riser, E. (1998). *Remediation of petroleum contaminated soils.* CRC Press. Lewis publishers.

Saitas, P. E. (2001). Total petroleum hydrocarbons, TNRCC Method 1005. *Texas natural resource conservation commission*, *1*(3), 1-26. https://www.tceq.texas.gov/downloads/remediation/trrp/method-1005.pdf

Secretaría de Energía de la República Argentina. (s.f.) Concesiones de explotación de hidrocarburos [Mapa] https://sig.energia.gob.ar/visor/visorsig.php

Singleton, P. y Sainsbury, D. (2006). *Dictionary of microbiology and molecular biology*. Wiley Interscience.

Sugimori, D., Watanabe, M. y Utsue, T. (2013). Isolation and lipid degradation profile of *Raoultella planticola* strain 232-2 capable of efficiently catabolizing edible oils under acidic conditions. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *97*(2), 871-80. https://doi.org/10.1007/s00253-012-3982-7

Ulrici, W. (2000). Contaminated soil areas, different countries and contaminants, monitoring of contaminants. En G. Reed Weinheim (Ed.), *Environmental processes II. Soil Decontamination Biotechnology* (5-42). Wiley. https://doi.org/10.1002/9783527620999.ch1m.

Vecchioli, G. I., Del Panno, M. T. y Painceira, M. T. (1990). Use of selects autochthonous soil bacteria to enhance degradation of hydrocarbons in soil. *Environmental pollution. 67*(3), 249-258. https://doi.org/10.1016/0269-7491(90)90190-n

Wang, X. B., Chi, C.Q., Nie, Y., Tang, Y. Q., Tan, Y., Wu, G. y Wu, X. L. (2011). Degradation of petroleum hydrocarbons (C6-C40) and crude oil by a novel Dietzia strain. *Bioresource Technology*, *102*(17), 7755-7761. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.06.009

Yoon, S. H., Ha, S. M., Kwon, S., Lim, J., Kim, H. y Chun, J. (2017). Introducing EzBioCloud: a taxonomically united database of 16S rRNA and whole genome assemblies. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *67* (5), 1613-1617. https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001755

Zhang, Z., Hou, Z., Yang, C., Ma, C., Tao, F. y Xu, P. (2011). Degradation of n-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons in petroleum by a newly isolated Pseudomonas aeruginosa DQ8. *Bioresource Technology*. *102*(5), 4111-4116. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.12.064

Zhou, E. y Crawford, R. L. (1995). Effects of oxygen, nitrogen, and temperature on gasoline biodegradation in soil. *Biodegradation*. *6*(2), 127-140. https://doi.org/10.1007/BF00695343

Potencial de poáceas y hongos DSE para la fitorremediación de suelos contaminados con derivados de petróleo

Fernando J. Ureta Suelgaray[*]
Dafne Micaela Aguilar Beltramo[*]
Raúl Silvio Lavado[**]
Viviana Mónica Chiocchio[*]

Resumen

Los derrames de petróleo y sus subproductos significan problemas ambientales relevantes en el mundo, ya que contaminan el aire, el agua y los suelos, en los que pueden persistir durante años y afectar a los distintos organismos. Las tecnologías convencionales utilizadas para la remediación son generalmente costosas; por ello, se han desarrollado metodologías con bajo costo e impacto ambiental. En este contexto, la biorremediación es una alternativa cada vez más destacada, dada su rentabilidad frente a otras tecnologías. Estas técnicas tienen como objetivo convertir compuestos xenobióticos en inocuos; además, cuando utilizan plantas, se suma la estabilización y la protección de los suelos.

Entre los cultivos utilizados en fitorremediación —una variante de biorremediación— se destacan las poáceas por incluir una gran variedad de especies con capacidad para dicha actividad. Por su parte, entre los hongos encontramos un grupo endófito de raíz conocido como endófitos septados oscuros (DSE, por sus siglas en inglés). Estos tienen la capacidad de crecer en forma biotrófica y saprofítica, y de compartir funcional y ecológicamente nichos con otros hongos del suelo. Los DSE han mostrado tolerancia a diferentes estreses bióticos y abióticos, entre ellos los ambientes contaminados con hidrocarburos.

En este capítulo se presentan resultados de investigaciones de aislamiento, clasificación y caracterización metabólica de hongos DSE; crecimien-

[*] Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina.
[**] Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (Conicet), Buenos Aires, Argentina. lavado@agro.uba.ar

to, acumulación de biomasa, capacidad emulsionante y de degradación del queroseno y aceite lubricante, y un ensayo con *Dactylis glomerata* L. y *Festuca arundinacea* Schreb., inoculadas con estos hongos. Estos resultados aportan herramientas y conocimientos potenciales para ser utilizados en la mitigación de los efectos negativos generados por los derrames de hidrocarburos en el ambiente.

Palabras clave

Micorremediación, fitorremediación, queroseno, aceite lubricante, capacidad emulsionante.

Introducción

Los hidrocarburos y sus derivados constituyen la principal fuente energética de la humanidad, situación que desencadenó su uso excesivo. El progresivo aumento de demanda los convirtió en uno de los agentes contaminantes más relevantes de los últimos años. Por esta razón, se registró un rápido incremento en la cantidad de suelos contaminados con hidrocarburos y sus derivados. Estos derrames significan problemas ambientales importantes, ya que contaminan el aire, el agua y los suelos (Michel y Fingas, 2016). La contaminación por hidrocarburos tiene una amplia distribución geográfica, que abarca mares, océanos, lagos, suelos, aguas freáticas, ríos y playas. El petróleo crudo y sus derivados afectan a todos los organismos vivos; además, la contaminación residual puede persistir durante años (Michel y Fingas, 2016).

Los impactos generados en el suelo por los hidrocarburos dependen tanto del tipo como del volumen de este; de las características físicas, químicas y microbiológicas de dicho suelo, y de factores ambientales como la humedad, la temperatura y aspectos climatológicos. Usualmente los hidrocarburos ocasionan un efecto pronunciado sobre las propiedades de los suelos y disminuyen su calidad (Inoni et al., 2006). Esta situación puede desencadenar efectos negativos en el desarrollo de la vegetación y, a su vez, alterar las poblaciones microbianas (Jobson et al., 1974).

Las tecnologías convencionales para la recuperación de sitios contaminados con petróleo son generalmente costosas y, a veces, insuficientes (Rayu et al., 2012). Esto ha llevado a la necesidad de desarrollar tecnologías con bajo impacto ambiental y a menor costo (Van Hamme et al., 2003). En este contexto, la fitorremediación es una alternativa de interés creciente, ya que es una tecnología que puede resultar rentable frente a otras (Rayu et al., 2012).

La remediación de suelos contaminados que utilizan plantas con o sin microorganismos asociados es conocida como *fitorremediación*, y tiene como objetivo convertirlos en inocuos o, al menos, disminuir la toxicidad de los contaminantes a través de la extracción, secuestro, detoxificación, contención y conversión de ellos (Abatenh et al., 2017). La exploración del suelo por parte de las raíces pone en contacto a las plantas y a los microorganismos con los contaminantes; así, se acelera el proceso de remediación. Una ventaja de la implementación de la fitorremediación es que la recomposición de la cobertura vegetal permite la estabilización y la protección de los suelos, también disminuye el riesgo de ocurrencia de erosión hídrica y eólica.

Existen numerosos trabajos que estudian el proceso de fitorremediación con múltiples especies provenientes de diversas familias y a su vez en presencia o ausencia de microorganismos (bacterias y hongos) (Ansari et al., 2015; Terry y Banuelos, 2019). Dentro de los cultivos utilizados en fitorremediación se destacan las poáceas, de las que se conoce una gran variedad de especies con potencial y capacidad fitorremediadora, como las *Dactylis glomerata* (Rasmussen y Olsen, 2004) y *Festuca arundinacea* (Ho y Banks, 2006), las cuales son utilizadas en varios países como forrajeras.

Por una parte, *Festuca arundinacea* (festuca alta) es la gramínea forrajera perenne más importante de las pasturas cultivadas de la región templada húmeda y subhúmeda de Argentina. Tiene capacidad de desarrollarse en una gran diversidad de ambientes, además de tolerar suelos pesados, pH ácido a alcalino (desde 4.7 a 9.5), encharcamientos y sequías. Las pasturas perennes que incluyen festuca alta son utilizadas para la producción de carne y leche en toda la región (Cauhepé y Gutheim, 2013). Por otro lado, *Dactylis glomerata* (pasto ovillo) es una gramínea nativa de Europa con gran importancia forrajera. Es una especie perenne de clima templado y porte erecto que se encuentra difundida en Europa, Asia y norte de África. En América del Sur, principalmente, se concentra en Chile y Argentina. Esta especie se adapta a suelos livianos de fertilidad media a alta, así como a suelos con pH neutro (6.0 a 7.0); no requiere altas temperaturas para su crecimiento activo, y tolera fácilmente el invierno, pero no así los suelos que se encharcan. Tiene un sistema radical poco profundo y es poco resistente a las sequías. Se trata de una gramínea otoño-inverno-primaveral, con un crecimiento rápido en primavera (Cauhepé y Gutheim, 2013).

Los microorganismos también participan en procesos de remediación (Ansari et al., 2015; Terry y Banuelos, 2019), y en una gran cantidad de suelos contaminados se ha encontrado un número importante de bacterias y hongos capaces de tolerar y degradar hidrocarburos. Esto sucede como consecuencia de respuestas fisiológicas y enzimáticas que permiten a los microorganismos utilizar estos hidrocarburos como fuente de carbono (Atlas et al., 1991). Los microorganismos tam-

bién poseen capacidad para producir biosurfactantes, que son compuestos que mejoran la biodisponibilidad de los compuestos hidrófobos (Ron, 2000; Silva et al., 2018). Esta capacidad emulsionante permite la desorción de contaminantes de la matriz sólida, y facilita su movilización, remoción y eliminación (Potin et al., 2004; Banat et al., 2010).

La mayoría de los trabajos de remediación a escala industrial utilizan bacterias; sin embargo, los hongos presentan ventajas debido a que pueden degradar diversos tipos de xenobióticos de gran tamaño molecular (Pointing, 2001). Y de este modo, esta tecnología que utiliza hongos para la recuperación de suelos contaminados, llamada micorremedicación, representa una alternativa con un gran potencial (Wu et al., 2007). Entre los grupos de hongos más estudiados en cuanto a su capacidad de degradar el petróleo crudo, el benzopireno y otros compuestos policíclicos, se encuentran los hongos superiores lignolíticos (Basidiomycetes) llamados de "podredumbre blanca" (*Pleurotus ostreatus*, *Irpex lacteus* y *Phanerochaete chrysosporium*) y hongos imperfectos (*Penicillium, Trichoderma*, o *Aspergillus*) (Byss et al., 2008).

Por otro lado, existe una gran variedad de hongos endófitos que habitan en las raíces de las plantas vasculares, y esto les permite establecer un amplio rango de interacciones simbióticas (Jumpponen y Trappe, 1998; Mandyam y Jumpponen, 2005), además de las micorrizas. Entre ellos se encuentran los hongos endófitos de raíz conocidos como endófitos septados oscuros (DSE, por sus siglas en inglés) (Barrow, 2004; Mandyam y Jumpponen, 2005). Estos hongos DSE se caracterizan por crecer en forma biotrófica y saprofítica, presentar hifas septadas y melanizadas capaces de colonizar las raíces inter e intracelularmente, y por formar microesclerocios y clamidosporas (Sieber y Grünig, 2006). Funcional y ecológicamente se solapan con otros hongos del suelo, como los saprótrofos, los patógenos facultativos y obligados, y los hongos micorrícicos arbusculares (Mandyam y Jumpponen, 2005). No obstante, pese a que son encontrados en una gran diversidad de ambientes, representan uno de los microorganismos menos estudiados en el mundo. Esto se debe en parte a que su identificación mediante las herramientas de la taxonomía clásica presenta dificultades dado que frecuentemente no producen *in vitro* estructuras sexuales ni asexuales para su caracterización. Por ello, desde hace unos años se ha avanzado en la identificación taxonómica de estos mediante el uso de técnicas moleculares (White et al., 1990).

Debido a su gran heterogeneidad, los hongos DSE pueden establecer efectos positivos, neutros o negativos sobre sus hospedantes efectos. Se estima que los DSE poseen un papel significativo en la adquisición de nutrientes, especialmente a partir de fuentes orgánicas complejas o recalcitrantes, no disponibles para la planta hospedante. Se ha demostrado, además, su capacidad para producir en-

zimas extracelulares, como lipasas, amilasas, proteasas, celulasas y ligninasas, lo que permite la utilización de compuestos orgánicos (Mandyam et al., 2012). Algunos hongos DSE han mostrado tolerancia a diferentes factores de estrés biótico y abiótico (Zhang et al., 2017; Berthelot et al., 2019). Se les ha encontrado en hábitats muy diferentes, incluidos sitios contaminados con petróleo (Bourdel et al., 2016). Sin embargo, su asociación con plantas hospedantes y su comportamiento en ambientes contaminados con hidrocarburos son menos conocidos que con otros hongos (Mandyam et al., 2012). Dentro del grupo de hongos saprobios del suelo se incluyen también géneros que han sido reportados como DSE. Al-Nasrawi (2012) y Snellman et al. (1988) aislaron hongos del género *Alternoria* sp. y *Humicola* sp. de suelos contaminados con alto contenido de hidrocarburos.

Otras especies como *Ophiosphaerella agrostidis*, *Curvularia lunata* y *Exophiala* sp. se han registrado en diferentes sitios contaminados con petróleo (Flayyih y Al-Jawhari, 2014; Godoy et al., 2016; Mohammadian et al., 2017). La diversidad de especies de hongos DSE en ambientes contaminados con petróleo o sus derivados se incrementa en forma continua, pues se reconocen especies de hongos como *Setosphaeria pedicellata* que no se habían registrado previamente en este tipo de ambientes (Ureta et al., 2022). No obstante, los estudios sobre la capacidad de los hongos DSE para remediar suelos contaminados con diferentes compuestos del petróleo son limitados.

Dado que en los últimos tiempos se ha generado mucho interés en las técnicas de recuperación biológica, en el presente capítulo nos proponemos ahondar en el conocimiento de la temática de la biorremediación utilizando hongos y plantas. La idea es aportar conocimientos y herramientas que puedan ser utilizadas para contrarrestar los efectos negativos generados por la dispersión de los hidrocarburos en el medio. Existen marcadas diferencias entre la actividad de las distintas cepas de DSE estudiadas e, incluso, entre cepas de la misma especie, sobre todo si se toma en cuenta que el comportamiento de los diferentes aislamientos está influenciado por el tipo de derivado de hidrocarburo utilizado en las investigaciones. La respuesta de crecimiento, y la actividad tensoactiva y de metabolización de compuestos de estos hongos es en general positiva, aunque, en algunos casos, las respuestas encontradas de bacterias y de otros hongos alcanzan valores superiores. Pese a ello, con base en sus tasas de crecimiento y sus resultados en capacidad emulsionante y de degradación se considera que la inoculación de cultivos con estos hongos endófitos septados oscuros tiene potencial tecnológico para su aplicación en procesos de biorremediación (Ureta et al., 2022).

Desarrollo de estudios

Para obtener hyphomycetes dematiáceos (hongos imperfectos dematiáceos) y DSE se suelen tomar muestras de suelo rizosférico y de raíces de diferentes

plantas en sitios con alta exposición a hidrocarburos. En el presente estudio, el muestreo se realizó en un área contaminada con hidrocarburos, una refinería de petróleo ubicada en la ciudad de Campana, provincia de Buenos Aires, Argentina (-34.155217, -58.954149). Se recolectaron diferentes plantas con suelo rizosférico realizando los aislamientos fúngicos según las técnicas de Bisset y Widden (1972) y de Silvani et al. (2008). Luego, los aislamientos fueron agrupados en morfotipos de acuerdo con los caracteres propuestos por Lacap et al. (2003). De cada uno de los morfotipos obtenidos se realizaron ensayos enzimáticos, de los cuales fueron elegidos para este trabajo aquellos que mostraron un perfil metabólico óptimo.

A continuación, se identifican los hongos taxonómicamente. Hace algunas décadas este procedimiento se hacía a través de una caracterización morfológica a través de observaciones macro y microscópicas siguiendo las claves taxonómicas de Domsch et al. (1980), Kirk et al. (2008) y otras, así como de claves interactivas. Por otro lado, en los últimos años, para identificar los aislados, se amplifican y secuencian los genes que codifican para ARN ribosomales presentes en unidades transcripcionales 16-18S, 5.8S y 23- 28S; dos espaciadores transcritos internos ITS1 e ITS2, y dos secuencias espaciadoras externas 5´y 3´ ETS del ADN genómico (Korabecna, 2007). La variabilidad que presentan las regiones ITS permite realizar una identificación taxonómica de género y especie (Schoch et al., 2012). White et al. (1990) desarrollaron los primeros ITS1/ITS2 e ITS3/ITS4 y los utilizaron como herramienta para estudios filogenéticos de hongos. De esta forma, se lograron diseñar oligonucleótidos universales y específicos para cada especie. El resultado de la secuenciación se compara con las secuencias de referencia depositadas en el GenBank. Los análisis bioinformáticos, la anotación y la predicción de genes, las comparaciones entre los genomas analizados y diferentes genomas ya publicados se realizan utilizando programas disponibles en línea: BLASTClustal, MetaCyc.

Se seleccionaron dos derivados del petróleo para evaluar el crecimiento de las cepas: queroseno y aceite lubricante semisintético para motores. El crecimiento fúngico se verificó mediante metodologías clásicas: medio sólido, que mide el diámetro de la colonia fúngica; y medio líquido, que registra la formación de biomasa fúngica. Esto indica la capacidad de uso de los hidrocarburos como fuente de energía; es decir, es un primer indicio de la capacidad remediadora de los hongos. Para medir el crecimiento de las cepas en medio sólido se sembró el inóculo en placas que contenían medio mineral sólido, queroseno o aceite lubricante al 1 %, más su control (1 % de glucosa), y se incubaron en oscuridad a 25 °C. La tasa de crecimiento se analizó mediante la ecuación de Mead et al. (1993), y la inhibición o inducción del crecimiento se calculó utilizando la ecuación de Pandey et al. (1982). El crecimiento de los hongos en medio líquido fue semejante al obtenido en me-

dio sólido, pero usando un frasco Erlemeyer para contener el medio más queroseno o aceite lubricante al 1 %. Posteriormente, la biomasa de micelio se recuperó, pesó y evaluó mediante la ecuación de Eman et al. (2013).

La capacidad tensoactiva se evaluó utilizando el sobrenadante de los hongos que crecieron en queroseno, aceite lubricante o el control, procedente del ensayo de crecimiento fúngico en medio líquido. Luego de 24 h, cuando se visualizó la capa emulsionante, se calculó el índice de actividad emulsionante (IAE) de acuerdo con Cooper y Goldenberg (1987). El sobrenadante que resultó de los hongos en crecimiento en aceite lubricante se utilizó para cuantificar el aceite remanente en la muestra mediante cromatografía de gases, y de ese modo inferir la capacidad de degradación de los hongos a este derivado de petróleo (EPA, 2003).

Por otro lado, las plantas superiores constituyen otro camino biológico para proceder a la remediación de sitios contaminados con petróleo, especialmente asociadas con microorganismos. Para investigar esta vía, la primera etapa es llevar a cabo ensayos en invernáculo. Sin embargo, de acuerdo con Beans (2017), será necesario pasar a la etapa de campo para verificar el beneficio concreto de estas técnicas. Siguiendo estas metodologías se aportan herramientas y conocimientos potenciales, que, corroborados en condiciones de campo, pueden ser utilizados en la mitigación de los efectos negativos generados por los derrames de hidrocarburos en el ambiente. A continuación, se describen fundamentalmente resultados propios utilizando dichas metodologías.

Crecimiento de cepas de hongos DSE en derivados del petróleo

Para evaluar el crecimiento de hongos (que en este estudio incluyeron *Setosphaeria pedicellata* y *Ophiosphaerella* sp.), se suelen seleccionar distintos derivados del petróleo, dentro de los cuales se destacan el queroseno y el aceite lubricante para motores de automóviles. El crecimiento fúngico se corrobora en medio sólido, a través del diámetro de crecimiento de la colonia, y en medio líquido, por la acumulación de biomasa fúngica.

Tanto *Setosphaeria* como *Ophiosphaerella* crecieron en medio sólido con queroseno y aceite lubricante, pero *Setosphaeria pedicellata* presentó una tasa de crecimiento muy superior a la tasa de *Ophiosphaerella* sp. en queroseno. Por el contrario, en aceite lubricante si bien *Setosphaeria pedicellata* creció más que *Ophiosphaerella* sp., las tasas no fueron tan disímiles. Los rangos de crecimiento de los hongos aquí evaluados (tabla 1) fueron superiores a los encontrados por Dos Santos et al. (2008), quienes evaluaron la respuesta de 4 cepas de *Aspergillus* sp. en medio sólido con el agregado de diésel, y cuyos registros fueron valores de 0.8 a 2.1 mm/día, y de 1 a 2.1 mm/día a 0.5 y 0.25 %, respectivamente, del hidrocarburo.

Tabla 1. Valores máximos y mínimos de la tasa de crecimiento promedio

Tasa crecimiento promedio (cm/día)	Queroseno	Aceite lubricante
Valor máximo	*Setosphaeria pedicellata* 0.57 ± 0.010	*Setosphaeria pedicellata* 0.57 ± 0
Valor mínimo	*Ophiosphaerella* sp. 0.10 ± 0.038	*Ophiosphaerella* sp. 0.49 ± 0.038

Nota: los datos señalan los hongos que presentaron los valores máximos (*Setosphaeria pedicellata*) y mínimos de la tasa crecimiento promedio (cm/día) (*Ophiosphaerella* sp.) en medio sólido (Mead et al., 1993) con queroseno y aceite lubricante.

La tasa de crecimiento promedio de cada colonia permite inferir su capacidad de degradación, ya que ambos procesos muestran una relación directa (Leahy y Colwell, 1990). Lo más destacable es que estos hongos pueden utilizar queroseno como fuente de carbono; además, son capaces de degradar significativamente el aceite lubricante. Estas y otras cepas pueden utilizar indistintamente derivados del aceite o de la glucosa como fuente de carbono (tabla 2).

Tabla 2. Porcentaje de inhibición o crecimiento en medio sólido

Porcentaje de inhibición o crecimiento (%)	Queroseno	Aceite lubricante
Inhibición	*S. pedicellata* 0 ± 0	*S. pedicellata* 0 ± 0
Crecimiento	*C2-2-18* * 57.81 ± 22.15	*Ophiosphaerella* sp. 124.03 ± 23.61

Nota: se muestran los resultados presentados por los hongos *Setosphaeria pedicellata* y *Ophiosphaerella* sp., en queroseno o aceite lubricante, en medio líquido (Eman et al., 2013).

Los valores de biomasa de los hongos que crecen en queroseno y en aceite lubricante (tabla 3) fueron similares a la biomasa de otros hongos cuando crecieron en condiciones de cultivo semejantes (Hashem, 2007; Flayyih y Al-Jawhari, 2014).

Tabla 3. Porcentaje de inhibición o crecimiento en medio líquido

Porcentaje de inhibición o crecimiento (%)	Queroseno	Aceite lubricante
Inhibición	*S. pedicellata* 80.03 ± 5.44	*S. pedicellata* 3.62 ± 2.86
Crecimiento	*Ophiosphaerella* sp. 84.79 ± 8.94	*Ophiosphaerella* sp. -282.21 ± 53.46

Nota: se muestran los resultados presentados por los hongos *Setosphaeria pedicellata* y *Ophiosphaerella* sp., en queroseno o aceite lubricante, en medio líquido (Eman et al., 2013).

Algunos resultados de capacidad surfactante

Para evaluar la capacidad surfactante de las cepas se utilizó la técnica del índice de actividad emulsionante y, en algunos otros casos, se utilizó como medida el número y diámetro de burbujas (llamadas gotas-drops).

La cantidad, la calidad y el tipo de biosurfactantes producidos por los hongos se encuentran relacionados con la fase de crecimiento, las fuentes de carbono y nitrógeno, y con factores ambientales como los rangos de pH, temperatura y salinidad (Sarubbo et al., 2001; Bhardwaj et al., 2013). No se registró la formación de una capa emulsionante en la prueba con queroseno, excepto una mínima presencia en el ensayo con *Ophiosphaerella* sp. Esto se considera positivo, porque su formación se atribuye al mismo proceso que la formación de una emulsión.

En distintas especies de hongos se observó en todos los tratamientos con aceite lubricante la formación de una capa emulsionante blanca opaca (Camargo et al., 2003), y que nuestros resultados de IAE fueron similares o inferiores a los encontrados con otros hongos, por Kiran et al. (2009). La capacidad emulsionante de diferentes cepas de una misma especie puede ser diversa (Mollea y Bosco, 2020); en nuestro caso, las dos cepas de *Alternaria alternata* mostraron una producción diferente de la capa emulsionante en aceite lubricante (tabla 4).

Tabla 4. Valores máximo y mínimo del índice de actividad emulsionante (IAE) en aceite lubricante

IAE (%)	Aceite lubricante
Valor máximo	*A. alternata* (cepa 14-2) 24.39
Valor mínimo	*A. alternata* (cepa 6-4) 2.17

Nota: se presentan los valores de diferentes cepas de *Alternaria alternata* (Cooper y Goldenberg, 1987).

Capacidad de degradación del aceite

Entre las cepas estudiadas, *A. alternata* (6-4) fue la cepa que degradó la mayor cantidad de aceite lubricante. Esto podría indicar que utilizó una estrategia metabólica diferente a otros hongos para dicha degradación, e hizo un mejor uso de este aceite como fuente de carbono. Estos resultados explicarían la menor concentración de aceite remanente encontrado con *A. alternata* (6-4), aunque su actividad tensoactiva haya sido baja (tabla 5). En el tratamiento con *Ophiosphaerella* sp. quedó un 23.5 % de aceite remanente sin degradar, en cambio con *A. alternata* (6-4) el aceite remanente fue menos del 0.1 %. El proceso de degradación del aceite no estaría relacionado con la producción de compuestos tensoactivos, sino con otros mecanismos, como la inducción de actividad enzimática. Esto explicaría los resultados de degradación del aceite lubricante y su relación con la producción

de biomasa (Aranda et al., 2017). Esta presunción fue consistente con la regresión lineal existente entre el IAE y el aceite lubricante remanente en todas las cepas, lo que muestra que la degradación no está relacionada (R^2 = 0.07) con la producción de compuestos tensoactivos. Por el contrario, el peso seco de la biomasa fúngica y el aceite remanente se relacionaron inversamente (y = -63434x + 8791.7; R^2 = 0.98).

Tabla 5. Valores máximo y mínimo de la capacidad de degradación fúngica

Hidrocarburo remanente (µg/ml)	Aceite lubricante
Valor máximo	*A. alternata* (6-4) 0.3 ± 0.007
Valor mínimo	*Ophiosphaerella* sp. 2350 ± 622.2

Nota: se muestran los hongos que presentaron los valores máximo y mínimo, cuantificados como aceite lubricante remanente (µg/ml) (EPA, 2003).

Estudio con plantas superiores

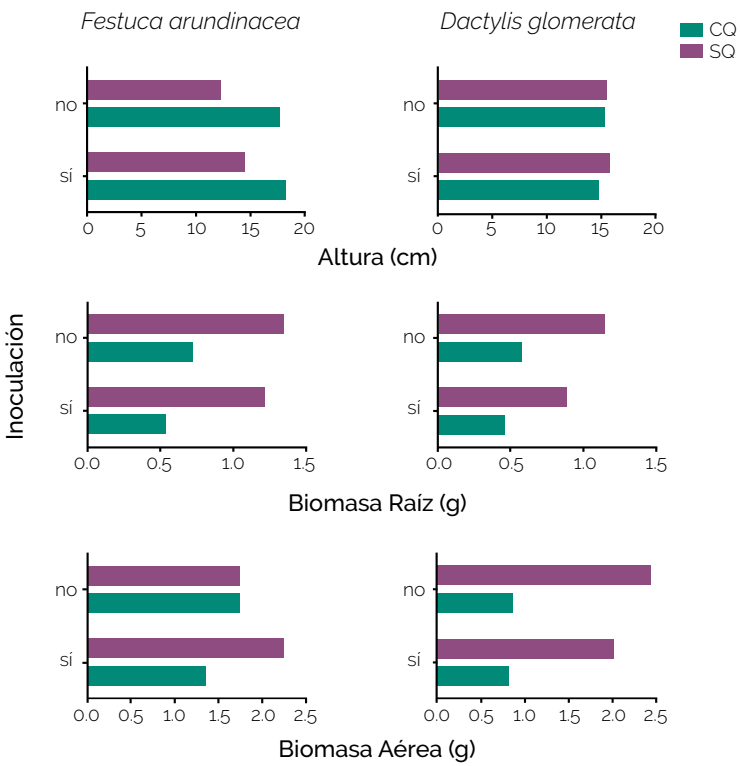
Ureta (2017) llevó a cabo un ensayo en invernáculo de corto plazo en condiciones semicontroladas, utilizando dos especies forrajeras, *Dactylis glomerata* y *Festuca arundinacea*. Se trabajó en macetas utilizando sustrato (suelo: vermiculita; 1:2) tindalizado. El sustrato se mantuvo en valores cercanos a la capacidad de campo y se aplicó queroseno en suspensión acuosa al 1 y 3 %. Se midieron parámetros morfológicos de las plantas como altura, biomasa aérea y biomasa radical. Todas las variables medidas en los distintos tratamientos del experimento se analizaron mediante ANOVA.

Diferentes trabajos de investigación muestran que *D. glomerata* y *F. arundinacea* tienen tolerancia frente a la presencia de hidrocarburos. Se han estudiado sus efectos directos sobre la degradación de este tipo de compuestos (Ho y Banks, 2006), y autores como Kulakow et al. (2000) concluyeron que, frente al estrés generado por hidrocarburos, *F. arundinacea* fue la más tolerante dentro de 26 especies evaluadas; *D. glomerata*, en cambio, tuvo un menor crecimiento. Otros autores (Cruz-Hernández et al., 2013) encontraron que la biomasa radical y aérea de festuca alta disminuyó frente a una mezcla de hidrocarburos. Asimismo, con otras poáceas encontraron menor área foliar y menor volumen radical, además de biomasa de raíz y de parte aérea. En nuestro caso, la presencia de queroseno afectó de forma negativa la biomasa radical y aérea en ambas especies, particularmente *D. glomerata*, mientras que la altura de la planta en algunos casos aumentó (figura 1). La inoculación con distintas cepas fúngicas no afectó estos parámetros de las plantas.

Estos efectos negativos observados en las plantas pueden deberse a que la presencia de queroseno genera una gran hidrofobicidad en el suelo, lo cual disminuye la eficiencia en el uso del agua, y conlleva a una disminución en la absorción

de nutrientes (Chaîneau et al., 1997). Otro factor importante es que la degradación del queroseno exige una alta demanda biológica de oxígeno, que a su vez genera condiciones anaerobias que pueden afectar el desarrollo de las raíces y los microorganismos, situación que ha sido observada aun a bajas concentraciones de compuestos derivados del petróleo (Rentz et al., 2003).

Figura 1. Altura de planta, peso seco de biomasa radical y aérea de *Festuca arundinacea* y *Dactyli s glomerata*, sometidas al efecto de queroseno (CQ) y sin queroseno (SQ)



Conclusiones

Se ha documentado la presencia de una diversidad importante de hongos DSE en ambientes contaminados con derivados del petróleo. Diferentes especies de estos hongos e incluso cepas de la misma especie extraídas de suelo contaminados presentaron variabilidad en su crecimiento, aunque el comportamiento de los diferentes aislamientos estuvo influenciado por el tipo de derivado de hidrocarburo (queroseno o aceite lubricante). La respuesta de crecimiento, y la actividad

tensoactiva y de metabolización de estos hongos frente a los derivados del petróleo fueron positivas, aunque, en algunos casos, inferiores a las registradas para bacterias y otros hongos. No hubo relación entre la capacidad emulsionante y la degradación del aceite entre los hongos DSE estudiados. A diferencia de otras investigaciones, en nuestro caso, las dos especies forrajeras analizadas no presentaron tolerancia frente a la presencia del queroseno y, contrariamente a lo indicado en otros reportes, la presencia de hongos DSE no afectó los parámetros morfológicos medidos. Hay que indicar, sin embargo, que también se han registrado resultados negativos, por parte de otros autores.

Pese a los resultados negativos obtenidos con plantas, inoculadas o no, se considera que los hongos DSE tienen potencial tecnológico para su aplicación en procesos de biorremediación. Los resultados positivos de crecimiento en derivados de petróleo, y su capacidad emulsionante y de degradación justifican ulteriores investigaciones para avanzar en biosoluciones a estos problemas de contaminación.

Referencias

Abatenh, E., Gizaw, B., Tsegaye, Z. y Wassie, M. (2017). The role of microorganisms in bioremediation-A review. *Open Journal of Environmental Biology, 2*(1), 038-046. https://doi.org/10.17352/OJEB.000007

Al-Nasrawi, H. (2012). Biodegradation of crude oil by fungi isolated from Gulf of Mexico. *Journal of Bioremediation and Biodegradation*, *3*(4), 1-6. 2012. https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000147

Ansari, A., Singh, G. S., Gill, R., Lanza, G. y Newman, L. (2015). *Phytoremediation.* Springer International.

Aranda, E., Godoy, P., Reina, R., Badia-Fabregat, M., Rosell, M., Marco-Urrea, E. y García-Romera, I. (2017). Isolation of Ascomycota fungi with capability to transform PAHS: insights into the biodegradation mechanisms of *Penicillium oxalicum*. *International Biodeterioration and Biodegradation*, *122*, 141-150. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.05.015

Atlas, R., Horowitz, A., Krichevky, M. y Bej, K. (1991). Response of microbial population of environmental disturbance. *Microbial Ecology*, *22*, 249-256. https://doi.org/10.1007/BF02540227

Banat, I., Franzetti, A., Gandolfi, I., Bestetti, G., Martinotti, M., Fracchia, L. y Marchant, R. (2010). Microbial biosurfactants production, applications and future potential. *Applied Microbiology Biotechnology*, *87*(2), 427-444. https://doi.org/10.1007/s00253-010-2589-0

Barrow, J. R. (2004). *Unique characteristics of a systemic fungal endophyte of native grasses in arid southwestern rangeland*. USDA Forest Service Proc RMRS-P-31.

Beans, C. (2017). Phytoremediation advances in the lab but lags in the field. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 114*(29), 7475-7477. https://doi.org/10.1073/pnas.1707883114

Berthelot, C., Chalot, M., Leyval, C. y Blaudez, D. (2019). From darkness to light: emergence of the mysterious dark septate endophytes in plant growth promotion and stress alleviation en T. Hodkinson, F. Doohan, M. Saunders, y B. Murphy (Eds.), *Endophytes for a Growing World* (pp. 143-164). Cambridge University Press. https://doi.org/10.1017/9781108607667.008

Bhardwaj, G., Cameotra, S. y Chopra, H. (2013). Biosurfactants from fungi: a review. *Journal of Petroleum and Environmental Biotechnology 4*(6), 1-6. https://doi.org/10.4172/2157-7463.1000160

Bisset, J. y Widden, P. (1972). An automatic multichamber soil-washing apparatus for removing fungal spores from soil. *Canadian Journal of Microbiology,* 18, 1399-1409. https://doi.org/10.1139/m72-216

Bourdel, G., Roy-Bolduc, A., St-Arnaud, M. y Hijri, M. (2016). Concentration of petroleum-hydrocarbon contamination shapes fungal endophytic community structure in plant roots. *Frontiers in Microbiology,* 7, 685. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00685

Byss, M., Elhottová, D., Tøiska, J. y Baldrian, P. (2008). Fungal bioremediation of the creosote-contaminated soil: influence of *Pleurotus ostreatus* and *Irpex lacteus* on polycyclic aromatic hydrocarbons removal and soil microbial community composition in the laboratory-scale study. *Chemosphere*, *73*(9), 1518-1523. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.07.030

Cauhepé, M. y Gutheim, F. (2013). *Agricultura y ganadería pampeanas*. Editorial de la Universidad Nacional de Mar del Plata.

Camargo, M., Ramos, S., Pimentel, M., de Morais Jr, M. y Lima Filho, J. (2003). Production of an extracellular polysaccharide with emulsifier properties by *Penicillium citrinum*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology, 19*(2), 191-194. https://doi.org/10.1023/A:1023299111663

Cooper, D. y Goldenberg, B. (1987). Surface-active agents from two *Bacillus* species. *Applied Environmental Microbiology, 53*(2), 224-229. https://doi.org/10.1128/aem.53.2.224-229.1987

Chaîneau, C., Morel, J. y Oudot, J. (1997). Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons. *Journal of Environmental Quality,* 26, 1478-1483. https://doi.org/10.2134/jeq1997.00472425002600060005x

Cruz-Hernández, A., Tomasini-Campocosio, A., Pérez-Flores, L., Fernández-Perrino, F. y Gutiérrez-Rojas, M. (2013). Inoculation of seed-borne fungus in the rhizosphere of *Festuca arundinacea* promotes hydrocarbon removal and pyrene accumulation in roots. *Plant and Soil, 362*(1-2), 261-270. https://doi.org/10.1007/s11104-012-1292-6

Domsch, K., Gams, W. y Anderson, T. (1980). *Compendium of soil fungi. Volume 1*. Academic Press.

Dos Santos, E., da Rosa, C., Dos Passos, C., Sanzo, A., Burkert, J., Kalil, S. y Burkert, C. (2008). Pre-screening of filamentous fungi isolated from a contaminated site in Southern Brazil for bioaugmentation purposes. *African Journal of Biotechnology, 7*(9), 1314-1317. https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/58667

Eman, A., Abdel-Megeed, A., Suliman, A., Sadik, M. y Sholkamy, E. (2013). Biodegradation of glyphosate by fungal strains isolated from herbicides polluted-soils in Riyadh area. *International Journal of Current Microbiology Applied Sciences, 2*(8), 359-381 https://www.ijcmas.com/vol-2-8/Ashour%20Eman,%20et%20al.pdf

Environmental Protection Agency. (2003). *Method 8015C (SW-846): Nonhalogenated Organics Using GC/FID*. https://www.epa.gov/esam/epa-method-8015d-sw-846-nonhalogenated-organics-using-gcfid

Flayyih, I. y Al-Jawhari, H. (2014). Ability of some soil fungi in biodegradation of petroleum hydrocarbon. *Journal of Applied & Environmental Microbiology, 2*, 46-52. http://pubs.sciepub.com/jaem/2/2/3/#

Godoy, P., Reina, R., Calderón, A., Wittich, R. M., García-Romera, I. y Aranda, E. (2016). Exploring the potential of fungi isolated from PAH-polluted soil as a source of xenobiotics-degrading fungi. *Environmental Science and Pollution Research, 23*(20), 20985-20996. https://doi.org/10.1007/s11356-016-7257-1

Hashem, A. (2007). Bioremediation of petroleum contaminated soils in the Arabian Gulf region: a review. *Science*, *19*(1), 81-91. https://www.kau.edu.sa/files/320/researches/52387_22694.pdf

Ho, C. H. y Banks, M. (2006). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere of *Festuca arundinacea* and associated microbial community changes. *Bioremediation Journal, 10*(3), 93-104. https://doi.org/10.1080/10889860600939609

Inoni, O., Omotor, D. y Adun, F. (2006). The effect of oil spillage on crop yield and farm income in Delta State, Nigeria. *Journal of Central European Agriculture*, *7*, 41-49. https://doi.org/10.4236/jgis.2021.135033

Jumpponen, A. y Trappe, J. (1998). Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. *New Phytologist*, *140*, 295-310. https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1998.00265.x

Jobson, A., Mclauglin, M., Cook, F. y Westlake, D. (1974). Effect of amendments on the microbial utilization of oil applied to soil. *Applied Microbiology, 27*(1), 166-171. https://doi.org/10.1128/am.27.1.166-171.1974

Kiran, G., Hema, T., Gandhimathi, R., Selvin, J., Thomas, T., Ravji, T. y Natarajaseenivasan, K. (2009). Optimization and production of a biosurfactant from the sponge-associated marine fungus *Aspergillus ustus* MSF3. *Colloids Surf, 73*(2), 250-256. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.05.025

Kirk, P., Cannon, P. F., Minter, D. W. y Stalpers, J. A. (2008). *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi* (10.ª ed.). Wallingford.

Korabecna, M. (2007). The variability in the fungal ribosomal DNA (ITS1, ITS2, and 5.8 S rRNA gene): its biological meaning and application in medical mycology. En A. Mendez-Vilas (Ed.), *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology* (pp. 783-787). Scientific Research Publishers.

Kulakow, P., Schwab, A. y Banks, M. (2000). Screening plant species for growth on weathered, petroleum hydrocarbon-contaminated sediments. *International Journal of Phytoremediation, 2*(4), 297-317. https://doi.org/10.1080/15226510008500040

Lacap, D., Hyde, K. y Liew, E. (2003). An evaluation of the fungal "morphotype" concept based on ribosomal DNA sequences. *Fungal Divers, 12*, 53-66. https://doi.org/10.4014/jmb.1402.02035

Leahy, J. y Colwell, R. (1990). Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiology Review, 54*, 305-315. https://doi.org/10.1128/mr.54.3.305-315.1990

Mandyam, K. y Jumpponen, A. (2005). Seeking the elusive function of the root-colonising dark septate endophytic fungi. *Studies in Mycology, 53*, 173-189. https://doi.org/10.3114/sim.53.1.173

Mandyam, K., Fox, C. y Jumpponen, A. (2012). Septate endophyte colonization and host responses of grasses and forbs native to a tallgrass prairie. *Mycorrhiza*, *22*(2), 109-119. https://doi.org/10.1007/s00572-011-0386-y

Mead, G., Hudson, W. y Hinton, M. (1993). Microbiological survey of five poultry processing plants in the UK. *British Poultry Science, 34*(3), 497-503. https://doi.org/10.1080/00071669308417605

Michel, J. y Fingas, M. (2016). Fossil fuels: oil spills: causes, consequences, prevention, and countermeasures. En G.M. Crawley (Ed.), *Current status and future directions*, (pp. 159-201). World Scientific https://doi.org/10.1142/9789814699983_0007

Mohammadian, E., Arzanlou, M. y Babai-Ahari, A. (2017). Diversity of culturable fungi inhabiting petroleum-contaminated soils in Southern Iran. *Antonie Van Leeuwenhoek, 110*(7), 903-923. https://doi.org/10.1007/s10482-017-0863-1

Mollea, C. y Bosco, F. (2020). Natural rubber biodegradation by *Alternaria alternata* and *Penicillium chrysogenum* isolates. *Bioremediation Journal, 24*(2-3), 112-128. https://doi.org/10.1080/10889868.2020.1777931

Pandey, D., Tripathi, N., Tripathi, R. y Dixit, S. (1982). Fungitoxic and phytotoxic properties of the essential oil and of *Hyptis suaveolens*. *Journal of Plant Diseases Protection, 89*(6), 344-349. https://www.jstor.org/stable/43214961

Pointing, S. (2001). Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *57*, 20-33. https://doi.org/10.1007/s002530100745

Potin, O., Rafin, C. y Veignie, E. (2004). Bioremediation of an aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHS)-contaminated soil by filamentous fungi isolated from the soil. *International Biodeterioration and Biodegradation, 54*(1), 45-52. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2004.01.003

Rasmussen, G. y Olsen, R. (2004). Sorption and biological removal of creosote-contaminants from groundwater in soil/sand vegetated with orchard grass *(Dactylis glomerata). Advances in Enviromental Research, 8*, 313-327. https://doi.org/10.1016/S1093-0191(02)00105-3

Rayu, S., Karpouzas, D. y Singh, B. (2012). Emerging technologies in bioremediation: constraints and opportunities. *Biodegradation, 23*(6), 917-926. https://doi.org/10.1007/s10532-012-9576-3

Rentz, J., Chapman, B., Álvarez, P. y Schnoor, J. (2003). Stimulation of hybrid poplar growth in petroleum-contaminated soils through oxygen addition and soil nutrient amendments. *International Journal of Phytoremediation, 5*, 57-72. https://doi.org/10.1080/16226510390856475

Ron, E. Z., (2000). Microbial life on petroleum. En J. Seckbach (Ed.), *Journey to diverse microbial worlds. Cellular origin and life in extreme habitats* (vol. 2). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-011-4269-4_21

Sarubbo, L., do Carmo Marçal, M., Neves, M., Maria da Paz, C., Porto, L. y Campos-Takaki, G. (2001). Bioemulsifier production in batch culture using glucose as carbon source by *Candida lipolytica. Applied Biochemistry and Biotechnology, 95*(1), 59-67. https://doi.org/10.1385/ABAB:95:1:59

Schoch, C., Seifert, K., Hunhndorf, S., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J., Levesque, A., Chen, W. y Fungal Barcoding Consortium. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *109*(16), 6241-6246. https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109

Sieber, T. y Grünig, C. (2006). Biodiversity of fungal root-endophyte communities and populations in particular of the dark septate endophyte *Phialocephala fortinii* en B. Schulz., C. Boyle, T. Sieber (Eds.), *Microbial Root Endophytes Vol. 9* (pp. 107-132). Springer.

Silva, A., Dos Santos, P., Silva, T., Andrade, R. y Campos-Takaki, G. (2018). Biosurfactant production by fungi as a sustainable alternative. Ar*quivos do Instituto Biológico*, (85), 1-12. https://doi.org/10.1590/1808-1657000502017

Silvani, V., Fracchia, S., Fernández, L., Pérgola, M. y Godeas, A. (2008). A simple method to obtain endophytic microorganisms from field-collected roots. *Soil Biology and Biochemistry*, *40*(5), 1259-1263. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.11.022

Snellman, E., Collins, R. y Cooke, J. (1988). Utilization of fuel oils by fungi isolated from oceanic tar balls. *Letters in Applied Microbiology*, *6*(5), 105-107. https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1988.tb01225.x

Terry, N., y Banuelos, G. (2019). *Phytoremediation of contaminated soil and water*. CRC Press.

Ureta, S. F. (2017). *Efectos de hifomicetes dematiáceos sobre el proceso de fitorremediación en suelos con alto contenido de hidrocarburos*. [Tesis de grado]. Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires

Ureta, S. F., Aguilar Beltramo, D., Lavado, R. y Chiocchio, V. (2022). Dark septate endophytes (DSE): potential promoters of bioremediation of oil derivatives. *International Journal of Phytoremediation*, *24*(3), 255-262. https://doi.org/10.1080/15226514.2021.1932733

Van Hamme, J., Singh, A. y Ward, O. (2003). Recent advances in petroleum microbiology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews 67*(4), 503-549. https://doi.org/10.1128/mmbr.67.4.503-549.2003

White, T., Bruns, T., Lee, S. y Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En M. Innis, D. Gelfand, J. Sninsky and T. White (Eds.), *PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications* (pp. 315-322). Academic Press.

Wu, Y., Luo, Y., Zou, D., Ni, J., Liu, W., Teng, Y. y Li, Z. (2007). Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil with *Monilinia* sp.: degradation and microbial community analysis. *Biodegradation, 19*(2), 247-257. https://doi.org/10.1007/s10532-007-9131-9

Zhang, Q., Gong, M., Yuan, J., Hou, Y., Zhang, H., Wang, Y. y Hou, X. (2017). Dark septate endophyte improves drought tolerance in *Sorghum*. *International Journal of Agriculture and Biology, 19*(1), 53-60. https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0241

Biorremediación por biopilas y ecotoxicología de un suelo contaminado con hidrocarburos en el sur de Veracruz

María del Carmen Cuevas Díaz[*]
Ángeles Martínez Toledo[**]
María del Rocío Cruz Colín[***]
Oswaldo Guzmán López[****]
Gabriela Alamina Neyra[****]

Resumen

La recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos por biorremediación en biopilas puede incluir la adición de nutrientes con el fin de estimular a los microorganismos nativos para que degraden contaminantes. Por otra parte, algunos residuos agroindustriales pueden servir de nutrientes y a la vez como texturizantes del suelo. El objetivo de este trabajo fue estudiar el proceso de biorremediación en biopilas utilizando enmiendas con cachaza y bagazo de caña, y la adición de nutrientes en un suelo de textura franco-arenosa contaminado por derrame de petróleo maya, proveniente del sur de Veracruz. Se prepararon nueve biopilas con una humedad inicial del 45 % y, a capacidad de campo, se les adicionaron nutrimentos $(NH_4)_2SO_4$ y $(NH_4)_2HPO_4$ en relación C:N:P 100:10:1, y enmiendas de cachaza y bagazo de caña de azúcar al 2 %. A tres se les aplicó volteo manual, a otras tres se les instalaron tubos perforados y el resto fueron utilizadas como control. Se monitorearon pH, materia orgánica, fósforo, nitrógeno, hidrocarburos totales del petróleo (HTP) fracción pesada, y se hizo la cuenta total de bacterias heterotróficas y de hongos. Adicionalmente, se realizó la prue-

[*] Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Veracruzana, Coatzacoalcos, Veracruz, México. ccuevas@uv.mx
[**] Facultad de Medicina, Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología-Centro de Investigación Aplicada en Ambiente y Salud (CIACYT-CIAAS), UASLP, San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.
[***] Departamento de Microbiología, Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco, Ciudad de México, México.
[****] Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Veracruzana, Coatzacoalcos, Veracruz, México.

ba de evasión con lombriz (*Eisenia andrei*), actividad deshidrogenasa y lipasa, y germinación de frijol (*Phaseolus vulgaris*) y trigo (*Triticum aestivum*). A los 240 días se removió el 66 % de HTP fracción pesada con volteo manual y de aireación con tubos de 59 %; la actividad deshidrogenasa fue del 75 %, la germinación en frijol fue de 93.3 % con volteo manual, y para el aireado con tubos, 90 %. En la evasión de la lombriz se presentó un 33.3 % para la biopila aireada con tubos y un 30 % para la aireada manualmente. Se concluye que los tratamientos en biopilas pudieron remover los hidrocarburos y reducir la toxicidad del suelo en estudio.

Palabras clave

Residuos agroindustriales, nutrimentos, hidrocarburos, bioindicadores.

Introducción

En México, como resultado de las actividades relacionadas con la industria del petróleo, se reportó que tan solo en 2020 se presentaron 692 derrames y fugas, y 1544.8 toneladas/año de hidrocarburos que impactaron el suelo y el agua (Pemex, 2020). Las fugas de hidrocarburos producen alteraciones en las propiedades físicas y esto provoca cambios en las reacciones de óxido-reducción. Su nivel de toxicidad dependerá de la estructura química del hidrocarburo, la temperatura, la humedad, la textura y la magnitud del derrame (Martínez y López, 2001); relacionado con esto, se sabe que los suelos más afectados son aquellos con alto contenido en materia orgánica y textura arcillosa, y los menos afectados, aquellos con texturas arenosas y alta fertilidad. Los suelos de las planicies costeras son los de mayor interés por el impacto que se pueda presentar en sus acuíferos, debido a su alta permeabilidad (Benavides et al., 2006).

Los hidrocarburos en suelo también provocan alteraciones en las propiedades biológicas del suelo, como la destrucción de la estructura terciaria de las proteínas, la desnaturalización de las enzimas y la deshidratación de las células (Alrumman et al., 2015), que afecta a las plantas (inhibición de la germinación y crecimiento, necrosis foliar, etc.), así como a la micro y mesofauna de forma directa (Abha y Swaranjit, 2012; García-Segura et al., 2018). De esta manera, se pone en riesgo la estabilidad de los ecosistemas y la salud de las poblaciones, a causa de su infiltración a mantos freáticos, o por su llegada a fuentes superficiales de agua y por la acumulación de metabolitos tóxicos en sus tejidos (Benavides et al., 2006). Por tanto, se requieren tecnologías adecuadas para la remediación de los suelos.

Los procesos utilizados para la remediación pueden ser tratamientos físicos, químicos, y biológicos; dentro de estos últimos, la biorremediación aprovecha el uso de microorganismos (bacterias, hongos y algas, principalmente) plantas y macrofauna (como las lombrices) para la degradación o para la transformación de compuestos tóxicos en compuestos que sean menos tóxicos o inocuos (Thapa et al., 2012; Zeneli et al., 2019). La biorremediación ha sido utilizada por tener varias ventajas en relación con los tratamientos físicos y químicos tradicionales, como un menor costo y mayor facilidad de operación; al mismo tiempo es de menor riesgo para la salud, y es más eficiente (Semple et al., 2001). Los HTP son mezclas complejas de compuestos alifáticos, aromáticos, de resinas y asfaltenos. La fracción pesada se caracteriza por contener cadenas de carbono de peso molecular elevado, así que su biodegradabilidad depende del tamaño de la cadena, estructura, capacidad de enlazarse al suelo y de su aromaticidad (Ossai et al., 2020).

El composteo en biopilas es uno de los tratamientos biológicos cuyos principios se han utilizado en la recuperación de suelos contaminados. Esta tecnología consiste en promover la biodegradación del contaminante mediante la formación de montículos (pilas) de suelo mezclados con texturizantes o enmiendas adicionadas con nutrientes, humedad o aireación para la estimulación de la actividad microbiana (Semple et al., 2001; Nnaji et al., 2020). Un aspecto importante en el proceso de biopilas reside en conocer la composición de la mezcla que consiga la eliminación del contaminante. La adición del texturizante o de la enmienda debe ser suficiente en cantidad, forma y tipo para permitir la aireación de la biopila (Cookson, 1995). De las enmiendas, Chaineau et al. (2003) utilizaron paja, pasto y fertilizantes para biorremediar suelo contaminado con petróleo crudo. En otro estudio, se adicionó composta proveniente de residuos municipales y de jardinería en relación 100:15 de suelo: residuo, en un suelo contaminado con diésel con 37.681 mg/kg de hidrocarburos totales del petróleo (HTP), que disminuyó después de 184 días a 3.108 mg/kg de HTP con una remoción del 85 % (Gandolfi et al., 2010). La adición de bagazo, cachaza de caña de azúcar y composta de residuos urbanos ha logrado la remoción de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) de cuatro anillos y pireno (García-Torres et al., 2011).

La eficiencia de una biopila en el campo depende de las características del suelo, del tipo y de la concentración del contaminante, etcétera. Pero también existe la posibilidad de que interfieran eventos climatológicos extremos. Dentro de los parámetros que se deben tomar en cuenta en este proceso biológico se encuentran temperatura, humedad, oxígeno, tamaño de partícula, pH (6 a 8), humedad (40-85 % a capacidad de campo), nutrientes como carbono (C), nitrógeno (N), fósforo (P) en relación 100:10:1 (Singh y Ward, 2004; Guzmán-López et al., 2021). El resultado del tratamiento también está influenciado por el envejecimiento del contaminante, que afecta directamente en su biodisponibilidad; es

posible que ciertas fracciones se desorban rápida o más lentamente, y finalmente otras que no puedan ser extraídas debido a su unión con la materia orgánica o inorgánica del suelo, así como de la velocidad con la que son degradados por los microorganismos del suelo (Semple et al., 2001). Es necesario precisar que durante el proceso de composteo se presentan cuatro fases microbiológicas en relación con el cambio de temperatura (mesófila, termófila, fría y de maduración), y es posible que, durante el cambio de poblaciones microbianas, se reduzcan aquellas con la capacidad metabólica para remover contaminantes. Se han reportado remociones de 84, 63 y 55.7 % para HTP en biopilas con concentraciones iniciales de 30.000 mg/kg, 58.000 mg/kg y 36.900 mg/kg, respectivamente (Iturbe-Argüelles, 2002; Roldán-Martin et al., 2007; Ma et al., 2016).

El escalamiento de resultados obtenidos mediante investigaciones en el laboratorio y la aplicación en campo es un reto, ya que es difícil controlar las variables ambientales. Sin embargo, trabajos realizados en campo demuestran la efectividad de las biopilas; por ejemplo, en 2009 se completó un ciclo de remediación de la Exrefinería 18 de Marzo ubicada en Ciudad de México, en el que participaron diferentes instituciones académicas aplicando diversos métodos como biopilas, bioventeo e inyección de aire para benceno principalmente (Semarnat, 2013). Por lo antes mencionado, el objetivo de este trabajo fue estudiar en biopilas el proceso de biorremediación utilizando enmiendas con cachaza y bagazo de caña, y la adición de nutrientes en un suelo contaminado con hidrocarburos, proveniente del sur de Veracruz.

Materiales y métodos

Suelo contaminado

Se obtuvo suelo contaminado de una refinería localizada en el sur de Veracruz, en donde se procesa crudo maya, y se transportó para su tratamiento a las instalaciones de la compañía CEISA, ubicada en el municipio de Cosoleacaque, Veracruz. La fuente de contaminación por derrame accidental fue petróleo maya mezclado con residuos aceitosos. El sitio se encuentra ubicado en la latitud norte 18° 02´ 15˝, y longitud oeste 94° 36´ 28˝ a 50 m sobre el nivel del mar.

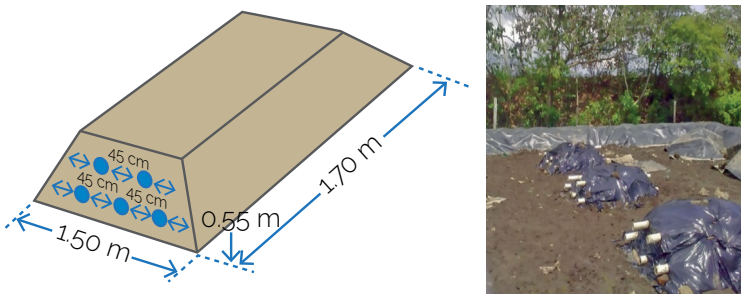
Residuos agroindustriales

Los residuos fueron proporcionados por el Ingenio Cuatotolapan, ubicado en Juan Díaz Covarrubias, municipio de Hueyapan de Ocampo, Veracruz. El bagazo y la cachaza de caña de azúcar se seleccionaron con base en las pruebas de tratabilidad de aplicación de residuos agroindustriales previos a esta etapa (García-Torres et al., 2011; Antonio-Ordaz et al., 2011).

Construcción de las biopilas en campo

De acuerdo con los lineamientos de Fahnestock (1998), para la celda se colocó una subcapa con arcilla seguida de una membrana semipermeable (geomembrana HPDE de polietileno de alta densidad), con espesor de 80 milésimas de pulgada equivalente a 2 mm, seguido de una capa de suelo limpio. El ángulo de inclinación que se le dio fue del 1 %; las biopilas fueron de 1.50 m de ancho por 1.70 m de largo con altura de 0.45 a 0.55 m, aproximadamente, con la base más ancha que la parte superior. Se construyeron nueve biopilas, de las cuales, a tres se les aplicó volteo manual (BM), a otras tres se les instalaron cinco tubos perforados de 2.2 m de longitud y tres pulgadas de diámetro para permitir el paso del aire (BT), y a las otras tres no se les aplicó ningún tipo de aireación (BC) por ser biopilas de control (figura 1).

Figura 1. Biopilas y dimensiones de los tubos para aireación pasiva



A seis biopilas se le adicionaron cachaza y bagazo en relación 100:2:2 equivalente a 209 kg de cachaza y de bagazo de caña de azúcar. Como nutrimentos se adicionaron $(NH_4)_2SO_4$, como fuente de nitrógeno, y $(NH_4)_2HPO_4$ como fuente de fósforo en relación 100:10:1. Se realizó la mezcla mediante una retroexcavadora y se adicionaron 869 L de agua por m^3 de suelo. A las biopilas control solo se les adicionó agua en la misma proporción.

Monitoreo y mantenimiento de la biopila

Se determinó la humedad cada 15 días durante 2 meses y, posteriormente, cada mes, con humedad a capacidad de campo del 45 %. Para mantener la estructura de la biopila y la relación C:N:P (100:10:1), se adicionaron cachaza y bagazo de caña de azúcar, a los 30 y 90 días; los fertilizantes, a los 15, 30, 90 días, y luego cada dos meses, hasta los 240 días.

Muestreo del suelo en las biopilas

Se utilizó una muestra compuesta de seis puntos para cada biopila, de forma diagonal de 0.30 m y 0.55 m. Se utilizaron frascos de vidrio ámbar con tapa de teflón para los análisis de HTP, para los análisis biológicos se usaron tubos de polipropileno estériles, y para los análisis fisicoquímicos, bolsas de polietileno. Todas las muestras se transportaron en un contenedor a 4 °C para su conservación y análisis posterior.

Análisis fisicoquímicos

La humedad se determinó por gravimetría (Gardner, 1986), la materia orgánica (MO) por el método de Walkley y Black (NOM-021-SEMARNAT-2000; Muñoz-Iniestra et al., 2000), el pH y la conductividad eléctrica por métodos electrométricos (Jones, 2001), el fósforo disponible (P) por el método de Bray y Kurt (Muñoz-Iniestra et al., 2000), el nitrógeno total (N) por el método Kjeldahl (Muñoz-Iniestra et al. 2000), así como la capacidad de campo (Gardner, 1986) y la textura con el método Bouyoucos (1962).

Determinación de hidrocarburos totales del petróleo (HTP)

El contenido de HTP se determinó de forma gravimétrica mediante el método EPA 3570 (EPA, 2002) y la norma NMX-AA-134-SCFI-2006, las cuales se refieren al análisis de la fracción pesada del hidrocarburo. La toma de muestras de las biopilas de HTP fracción pesada se realizó a los 15, 90, 120 y 240 días.

Conteo de microorganismos

La cuantificación de bacterias y hongos fue expresada como UFC/g de suelo seco. Se utilizó la técnica de dilución en placa con agar nutritivo para conteo de bacterias mediante la incubación 37 °C por dos días, y agar dextrosa papa con cloranfenicol para el conteo de hongos a 28 °C por cinco días (Alef y Nannipieri, 1995).

Identificación de los microorganismos y su capacidad hidrocarburoclasta

Se realizó el aislamiento de bacterias y hongos de las biopilas para realizar su identificación. Para las bacterias se utilizó la tinción de Gram y el kit bioquímico del Sistema de Identificación BD BBL Crystal. La identificación de los hongos obtenidos se realizó en forma presuntiva, utilizando la técnica de microcultivo en agar dextrosa sabouraud y agar extracto de malta, con observaciones al microscopio (Castañeda, 2004). Para determinar la capacidad hidrocarburoclasta de los microorganismos, se prepararon cajas de Petri de medio salino sólido y se agregó petróleo con un aspersor sobre su superficie; posteriormente los hongos se inocularon por picadura en el centro y se observó su crecimiento (Jorgensen et al., 2000).

Evaluación ecotoxicológica del suelo con bioindicadores

La evaluación con lombrices y enzimas se realizó a los 60, 120 y 240 días de tratamiento, mientras que la prueba de germinación al inicio y después a los 240 días.

Evasión con lombrices

En el bioensayo de evasión, se utilizaron 30 lombrices cliteladas de *Eisenia andrei* previamente colocadas en cajas de Petri con papel filtro durante cinco horas, para que vaciaran sus intestinos; posteriormente se lavaron, secaron y pesaron. Se depositaron 10 lombrices en el centro de un contenedor con seis cámaras, en el que se colocó alternadamente suelo sin contaminación, suelo contaminado, suelo sin contaminar, suelo tratado, suelo sin contaminación y suelo tratado. Se determinó en 48 h el número de lombrices por compartimento y el porcentaje de evasión (ISO, 2008; Palafox, 2012).

Enzimas

La lipasa se realizó mediante el método de Margesin et al. (2002) donde el p-nitrofenilbutirato (p-NPB) actúa como sustrato, y se cuantifica el p-nitrofenol (p-NP) producido por la hidrólisis del sustrato a pH de 7.25 midiendo la absorbancia en un espectrofotómetro a 400 nm (Cuevas-Díaz et al., 2012).

La cuantificación de deshidrogenasa se efectuó con la metodología de Casida (1977), al emplear como aceptor de electrones el cloruro de 2, 3, 5-trifeniltetrazolium (TTC). Las muestras de suelo se incubaron por 24 h a 37 °C, en las que el TTC se reduce para generar el compuesto rojo trifeniltetrazoliumformazan (TPF). Inmediatamente después a la extracción de TPF con metanol o acetona, se realiza la lectura a 485 nm para su cuantificación.

Germinación de semillas

Se utilizaron las semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) y trigo (*Triticum aestivum*). Luego se desinfectaron con NaClO al 5 % durante 15 minutos, lavando con agua destilada. En cada contenedor se depositaron 5 g de suelo y una semilla en recipientes plásticos. Se utilizaron 10 semillas, una por contenedor, con tres réplicas por especie de semilla. Como control negativo se utilizó suelo no contaminado. Se colocaron en la oscuridad a 22 ± 2° C hasta observar el 65 % de la germinación en el control negativo; posteriormente se mantuvo con 16 h de luz y 8h de oscuridad. Se determinó el porcentaje de germinación y elongación del tallo y raíz (OECD, 2006).

Resultados y discusión

Los resultados de la caracterización del suelo y de los residuos se presentan en la tabla 1: el suelo fue franco arenoso, con pH neutro. En cuanto a la MO fue de elevada, tanto el contenido de N y P fue muy bajo, y la conductividad de 0.807 dS/m

no representó riesgo de salinidad, lo anterior de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000. La densidad aparente (1.6 g/cm^3), la conductividad y los otros parámetros mencionados pueden afectarse por la presencia de hidrocarburos en el suelo. Aun cuando se encuentra dentro del límite reportado para suelos arenosos, la textura del suelo se altera al aumentar la porción de arena en presencia de concentraciones altas de hidrocarburo (Martínez y López, 2001). La interacción entre los hidrocarburos y los minerales superficiales (arcilla, limo y arena) son relevantes solo cuando el contenido de MO es <0-1 %. En nuestro estudio, el contenido de materia orgánica superó ese límite, por lo que se infiere un efecto por el contenido de arcillas. Por otro lado, se ha observado que la MO es la de mayor influencia en la degradación de hidrocarburos, en especial su fracción húmica, ya que dichos compuestos se adhieren fuertemente a ella, y se reduce su disponibilidad para los microorganismos degradadores (Vázquez-Murrieta et al., 2016). El contenido de HTP (74.660 mg/kg de suelo) fue superior a los niveles establecidos para uso de suelo industrial y comercial de acuerdo con la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012; esto presenta un riesgo para la población, ya que la textura del suelo contiene un alto porcentaje de arena (85.25 %), lo que lo hace un suelo permeable.

Las elevadas concentraciones de HTP (74.660 mg/kg) pueden afectar el proceso de biorremediación, sin embargo, Roldán-Martín et al. (2007) reportaron la remoción del 63 % de HTP (58 000 mg/kg) con granos de café. Asimismo, la concentración de microorganismos en el suelo en este trabajo fue adecuada 1.2 x 10^8 UFC/g para bacterias y para hongos 2 x 10^4 UFC/g para aplicar este método (Knaebel et al., 1994); por lo cual se aprovechó para bioestimular con nutrientes como nitrógeno y fósforo, también como base de crecimiento e interacción con otros organismos aportados por la cachaza y el bagazo de caña de azúcar.

Tabla 1. Características fisicoquímicas del suelo y residuos

Parámetro	Suelo	Bagazo de caña	Cachaza de caña
pH	6.91	5.8	8.2
Materia orgánica (%)	15.53	97.4	93.43
Nitrógeno total (%)	0.169	0.23	0.79
Fósforo disponible (mg/kg)	>1.0	5.22	44.9
Composición textural	85.25 % arena, 14.38 % arcilla y 0.36 % limo		
Clasificación textural	Franco arenoso		
Conductividad (dS/m)	0.807		
Densidad aparente (g/cm^3)	1.6		
HTP (mg/kg)	74,660		
UFC/g bacterias	1.2 x 10^8		
UFC/g hongos	2.0 x 10^4		

Parámetros químicos de las biopilas

Los valores de pH, materia orgánica, nitrógeno y fósforo se presentan en la tabla 2 determinados al inicio y final de los tratamientos.

Los valores de pH entre 6 y 8 permitieron el desarrollo de microorganismos (hongos y bacterias) en el proceso de biorremediación (Fahnestock et al., 1998). Se observó un mayor contenido de nitrógeno al final del tratamiento debido a que este fue adicionando como fertilizante. A los 90 días, la relación C:N fue de 100:2.55; esto favoreció su consumo, ya que los nutrientes se encontraban en forma soluble. La adición de nitrógeno estimuló a los microorganismos en sus procesos metabólicos y coadyuvó en la degradación de los HTP en el suelo (Juteau et al., 2003). La materia orgánica disminuyó un 32.2 % para BM y 28.3 % para BT, lo que indica que fue consumida durante el proceso de remoción de los hidrocarburos, a diferencia del control donde no se observó disminución de esta. Se ha reportado que la adición de fuentes de carbono como nutrientes en suelos contaminados aumenta el porcentaje de degradación, ya que estimulan el crecimiento de los microorganismos degradadores (Haristash y Kaushik, 2009).

Tabla 2. Parámetros químicos de las biopilas

Parámetros	BM		BT		BC	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
pH	6.91 ± 0.12	6.4 ± 0.09	6.89 ± 0.11	6.35 ± 0.10	6.9 ± 0.10	6.5 ± 0.12
Materia orgánica (%)	14.03 ± 0.06	9.51 ± 0.16	14.08 ± 0.05	10.09 ± 0.50	14.07 ± 0.03	14.0 ± 0.19
Nitrógeno (%)	0.16 ± 0.00	0.22 ± 0.01	0.16 ± 0.01	0.19 ± 0.00	0.16 ± 0.00	0.12 ± 0.00
Fósforo (mg/kg)	34 ± 0.50	7 ± 0.40	31 ± 0.60	8 ± 0.40	<1	<1

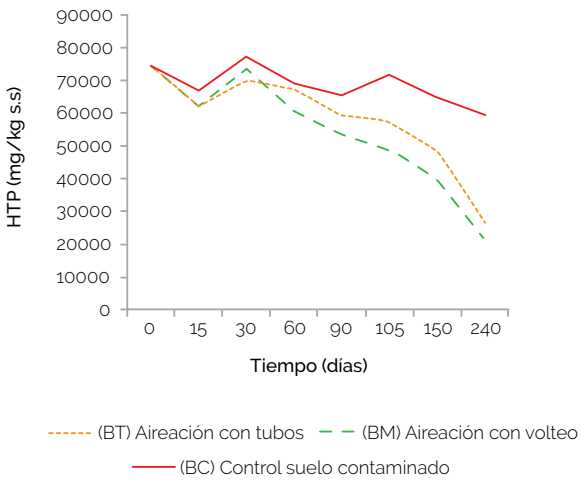
Nota: BM = aireación con volteo, BT = aireación con tubos y BC= control.

Determinación de HTP

En la figura 2 se observa un descenso en la concentración de HTP a los 15 días con un crecimiento de bacterias del orden de 10^8 UFC/g en todos los tratamientos, por lo que puede inferirse que los microorganismos mesófilos fueron capaces de remover los contaminantes que se encontraban de forma biodisponible. Y que después de ese tiempo entraron en la fase termófila (del día 30 al 90, aproximadamente), en la cual aumentó la disponibilidad de los hidrocarburos por efecto de temperatura, además de los metabolitos de la primera degradación y de la

degradación de la materia orgánica; sin embargo, los microorganismos, aunque en menor cantidad (orden de 10^4), fueron capaces de degradar dichos hidrocarburos. Finalmente, se observa un descenso en la concentración de HTP con ligeras fluctuaciones de desorción y degradación, tanto de hidrocarburos como de materia orgánica, que puede deberse a cambios en la temperatura, o en la cantidad y la estructura de la comunidad microbiana (Semple et al., 2001; Huesemann et al., 2004); con ello, se logran remover los HTP fracción pesada 59 % en BM y 66 % en BT al término del tiempo experimental (240 días).

Figura 2. Hidrocarburos totales del petróleo en las biopilas



El análisis estadístico ANDEVA resultó significativo (F = 3.74, P = 0.0083); la prueba de medias Tukey indicó que el control es diferente a los tratamientos, pero no se encontró diferencia entre los tratamientos por procesos de aireación, lo cual puede deberse a la frecuencia del volteo manual tan solo una vez por semana, y a las limitaciones del oxígeno por inhibición de la mineralización en bajas concentraciones de oxígeno (Van De Steene et al., 2007). En este estudio, el tratamiento adicionado con bagazo y cachaza de caña de azúcar, logró remociones de 59 y 66 % de HTP fracción pesada para BT y BM, respectivamente, a los 240 días en concentraciones iniciales de HTP consideradas altas (74.400 mg/kg). Estos resultados pueden deberse al efecto sinérgico de bagazo y cachaza de caña de azúcar, con los nutrientes adicionados, lo que no está presente en el suelo control, donde solo se encuentran los microorganismos autóctonos, pero con limitación de nutrientes y sin interacción con otros microorganismos, tal como algunos trabajos han reportado (Menéndez et al., 2007). En el suelo de control, la flora autócto-

na es capaz de degradar a los HTP sin ningún tratamiento, debido principalmente a fuentes de carbono accesibles (Bamforth y Singleton, 2005; Zhang et al., 2011); de allí la necesidad de mejorar el proceso de biodegradación con los nutrientes y los residuos agroindustriales.

Asimismo, la fracción pesada está constituida por cadenas grandes de hidrocarburos > 28 C; esta estructura química provoca que la degradación sea más lenta y compleja. Por esa razón, los HTP son considerados compuestos recalcitrantes (Kshirsagar et al., 2020). Dentro de las propiedades de los hidrocarburos de alto peso molecular se encuentran su escasa solubilidad en agua y baja volatilidad, por lo que su migración puede ser limitada, de allí que su degradación se deba al metabolismo microbiano favorecido por la cachaza y el bagazo de caña de azúcar, y esto propicie la proliferación de microorganismos hidrocarburoclastas (Koshlaf et al., 2019; Hoang et al., 2021).

El tratamiento propuesto donde se bioestimula a los microorganismos por la aplicación de cachaza y bagazo de caña de azúcar, así como de fertilizantes, es sencillo y no tan costoso para remover concentraciones altas de hidrocarburos del petróleo, a diferencia de otras metodologías en las que se requiere la adición de inóculos microbianos (Joo et al., 2008; Li et al., 2009), lodos activados o surfactantes (Araujo et al., 2006; Wyrwasa et al., 2011).

Recuento de microorganismos

El conteo de bacterias fue aproximadamente de 10^8 para el tratamiento, en el que se aplicó aireación por volteo (tabla 3), en comparación con BC y BT. A los 60 días se observó una disminución de la población microbiana debido a la limitación de oxígeno (1.2×10^7, 9.1×10^6 y 5.0×10^8 UFC/g suelo seco, de bacterias para cada uno de los tratamientos). Para todas las biopilas (BM, BT y BC), la flora microbiana (bacterias y hongos) aumentó a los 120 días, pero se mantuvieron los valores mínimos para microorganismos heterotróficos de 10^3, los cuales son considerados como límite para la biorremediación, según la EPA (1994).

En las biopilas con los dos tipos de aireación, se identificaron bacterias *Bacillus cereus*, *Acinetobacter iwoffi*, *Pseudomonas oryzahabitans* y hongos. *Aspergillus* sp. presentó la mayor capacidad degradadora de entre las cepas de hongos identificadas en las biopilas BT, ya que este microorganismo tuvo un crecimiento radial en presencia del hidrocarburo de 7 cm, seguido por *Penicillium* sp. con 4 cm de las biopilas BM, y por el *Penicillium* sp. con 3.8 cm de las biopilas BM. Lo anterior indica que algunos de los microorganismos desarrollados en las biopilas actúan como hidrocarburoclastas. En la biopila control se aislaron bacterias *Enterobacter cloacae*, *Bacillus cereus*, *Sthaphylococcus hominis* y *Enterobacter sakazakii*, de las cuales solo *Bacillus cereus* es la común en los tratamientos.

Tabla 3. Cuenta total de microorganismos durante los tratamientos

Tiempo (días)	Cuenta de bacterias (UFC/g suelo seco)			Cuenta de hongos (UFC/g suelo seco)		
	BC	BM	BT	BC	BM	BT
15	1.6×10^8	6.1×10^8	1.1×10^8	2.0×10^4	5.3×10^3	1.10×10^4
120	5.3×10^7	2.4×10^7	4.4×10^7	4.7×10^4	8.9×10^4	5.4×10^4
240	2.6×10^7	1.0×10^8	3.4×10^7	1.0×10^3	1.0×10^5	2.1×10^3

Nota: BM = aireación con volteo, BT = aireación con tubos y BC = control.

El crecimiento de microorganismos en el suelo se relaciona con la disminución en el contenido de HTP. Diversos reportes indican que *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Achromobacter*, *Rhodococcus*, *Alcaligenes*, *Mycobacterium*, *Bacillus*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhodotorula* y *Phanerochaete* tienen capacidad para degradar a los hidrocarburos del petróleo (Atlas y Bartha, 1998; Balba et al., 1998). En este trabajo se aislaron del suelo contaminado, antes del tratamiento, las bacterias *Bacillus cereus* y los hongos *Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp.; estos últimos presentaron capacidad hidrocarburoclasta.

Después de los 120 días se aislaron en las biopilas sujetas a tratamiento (BM y BT), bacterias como *Bacillus cereus*, *Pseudomonas oryzihabitans*, *Acinetobacter iwoffii* y hongos como *Penicillium chrysogenum* y *Aspergillus terreus*, algunos de los cuales pueden provenir de los residuos agroindustriales y con ello verse favorecido su desarrollo en las nuevas condiciones de las biopilas. Se han encontrado bacterias del tipo *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermides*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Xanthomonas*, *Aerobacter*, *Arthrobacter*, *Staphylococcus*, *Micrococcus* y hongos asociados al bagazo de caña como *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* y *Trichoderma* (Valiño et al., 2002).

Tanto *Bacillus cereus* como *Pseudomonas oryzihabitans* y cepas de *Acinetobacter* han sido reportadas como degradadoras de hidrocarburos, por lo que su presencia se encuentra relacionada con el proceso de biorremediación (Eriksson et al., 2000; Vázquez et al., 2010). En este estudio *Bacillus cereus* se encontró como flora autóctona, no así *Acinetobacter* ni *Pseudomonas*. Por otro lado, *Acinetobacter* ha sido reportada como productora de biosurfactantes, por lo que se infiere su participación en la desorción de los hidrocarburos del suelo. Además, se ha observado que colonias de *Acinetobacter iwoffii* biodegradan hidrocarburos del pe-

tróleo; mientras que *Bacillus cereus* ha demostrado su efectividad biodegradadora sobre hidrocarburos aromáticos policíclicos en consorcios microbianos y HTP (Jacques et al., 2008; Sarma y Sarma, 2010; Alkaabi et al., 2020).

Pruebas de evasión de lombrices

En la prueba de evasión, la lombriz evadió todos los casos en suelo tratado hasta el día 60; sin embargo, para los 75 días se aplicó la prueba de evasión y se encontró aceptación de 7 %. En esta fase del estudio no se utilizó la prueba de reproducción con lombrices por la concentración elevada del hidrocarburo. A los 240 días, aunque las concentraciones del hidrocarburo fueron elevadas (26.526 mg/kg biopila con tubos y 21.588 mg/kg), la evasión de las lombrices correspondió a 33.3 % para la biopila BT y para la BM de 30 %, lo que indica que la lombriz ya tolera el suelo tratado, a diferencia de la BC, donde la lombriz evadió este suelo en 50 % a 59.520 mg/kg de HTP. Shi et al. (2010) usaron la prueba de evasión para lodos de petróleo con concentraciones de 25.000 mg/kg de HTP, y reportaron evasión hasta que la concentración disminuyó al 5 %; estos resultados son similares a los obtenidos en este trabajo. La prueba de evasión, por su rapidez (48 h) en relación con la de mortalidad (14 días) y su sensibilidad, tal como se demuestra en los resultados obtenidos, es una alternativa para el proceso de biorremediación.

Actividades enzimáticas

Estos indicadores de la fertilidad y el grado del impacto de contaminación son importantes, ya que reflejan el nivel de salud de los ecosistemas edáficos (Doran y Parkin, 1994). La actividad de lipasa fue alta al principio del tratamiento, pero después de 120 días disminuyó (tabla 4). Aunque en otros reportes con suelos contaminados con hidrocarburos este comportamiento es contrario (Margesin et al., 2000) en este estudio, el fenómeno puede deberse a la complejidad de los hidrocarburos como resultado de trasformaciones durante el proceso, o de su posible unión en las partículas de las enmiendas (materia orgánica), lo que limita su accesibilidad.

Tabla 4. Actividades enzimáticas presentes en las biopilas

Tiempo (días)	Deshidrogenasa (µg TPF/ g suelo seco x día)			Lipasa (µg p-NP/ g suelo seco x 10 min)		
	BT	BM	BC	BT	BM	BC
0	81	79	78	26 089.1	26 107.9	26 134.0
60	ND	ND	ND	19 036.8	18 836.0	20 034.7
120	127.9	129.7	98.5	13 296.9	15 223.6	14 353.3
240	140	139	110	1 538.8	2 499.5	5 992.2

Nota: BM = aireación con volteo, BT = aireación con tubos y BC = control.

La actividad de deshidrogenasa aumentó conforme pasaba el tiempo, esto puede deberse a que los microorganismos tomaron como fuente de energía a la materia orgánica de las enmiendas y la adición de nutrientes (Balba et al., 1998).

Germinación de semillas

La germinación del frijol fue del 93.3 % en el suelo no contaminado y en el tratado con volteo manual; para el aireado con tubos fue del 90 %, y en suelo contaminado del 80 %. La elongación de la raíz para la dicotiledónea del frijol fue mayor en el tratamiento con BT después de 240 días, donde los HTP se removieron en un 66 % en la BM. El desarrollo de la raíz presentó el siguiente gradiente: 5.29 cm con BM > 4.48 cm con suelo limpio (blanco) > 3.53 cm con BT > 2.62 cm con BC.

Para el trigo, la germinación en el suelo control correspondió a 66.6 %; a los 240 días, 53.3 %, y 33.3 % para BM y con BT, respectivamente, mientras que con BC fue de 26.2 %, lo que implica una menor resistencia del trigo al hidrocarburo. Tanto las plántulas como las raíces de trigo se desarrollaron más en los tratamientos BM y BT, con 12.6 cm y 9.9 cm, respectivamente. Para el suelo de BC, la plántula creció 12.3 cm y 4.7 cm de raíz, y para el suelo blanco fue 9.0 cm de plántula y 4.4 cm de raíz.

En cuanto a la germinación de frijol y trigo, esta fue mejor en los tratamientos que en el control, debido a que los nutrimentos adicionados podrían estar influyendo. Dichos resultados son similares a los observados por Quiñones-Aguilar et al. (2003) para diferentes variedades de maíz que se desarrollaron en concentraciones de 25.000 mg/kg de HTP. En contraste, en el suelo contaminado sin tratamiento la elongación de las raíces fue menor, ya que las raíces sufren de inmediato el efecto del contaminante al estar en contacto con el suelo. Baud-Grasset et al. (1993) mencionan que la reducción en la longitud de la raíz es una respuesta al contaminante. Asimismo, el aumento en la germinación en menor concentración del hidrocarburo se relaciona con la entrada de mayor cantidad de agua al endospermo (Merckl, 2005), y es probable que, como lo reportan Salanitro et al. (1997), ciertas fracciones de petróleo funcionen como auxinas promotoras de germinación.

Conclusiones

El tratamiento con residuos de bagazo y cachaza de caña de azúcar activa la flora microbiana hidrocarburoclasta, lo que promueve la degradación de hidrocarburos totales del petróleo de concentraciones altas (50 %-70 %) en relativamente poco tiempo (240 días), por lo que estos residuos resultan adecuados para su uso en biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos de petróleo. El suelo tratado es menos tóxico como lo demuestran los bioensayos mediante actividad deshidrogenasa, germinación de semillas y lombrices, de las cuales, esta última fue la más sensible.

La eficiencia de la cachaza y el bagazo de caña de azúcar presenta alternativas para que estos sean aprovechados en procesos de biorremediación, lo que permitiría el manejo de procesos integrales y sustentables. Los bioindicadores ofrecen una opción para la evaluación de la eficiencia de los procesos de biorremediación y de otras tecnologías fisicoquímicas. Asimismo, la presencia de los microorganismos hidrocarburoclastas abre perspectivas para su uso en procesos de bioaumentación.

Sin embargo, existen retos para profundizar en los fenómenos observados, como identificar el tipo de hidrocarburo que fue removido en cada fase de proceso de biopilas, determinar a los microorganismos que intervinieron en tales remociones, además de analizar los procesos de desorción y degradación, así como los gases y los lixiviados de cada tratamiento.

En consecuencia, para futuras investigaciones, se propone una maduración de la materia orgánica (crecimiento de sus microorganismos nativos en la superficie) y así tener sustratos más accesibles y con una mayor cantidad de microorganismos presentes en los residuos. También es pertinente utilizar procesos combinados cuando los hidrocarburos estén por arriba de los 50.000 mg/kg.

Agradecimientos

Al proyecto FOMIX-CONACYT (No. 37127). A la compañía CEISA por el apoyo con sus instalaciones y maquinaria en la realización de las biopilas. Al Ingenio Cuatotolapan por la donación de la cachaza y el bagazo de caña de azúcar.

Referencias

Abha, S. y Swaranjit, S. C. (2012). Hydrocarbon pollution: effects on living organisms, remediation of contaminated environments, and effects of heavy metals co-contamination on bioremediation. En L. Romero-Zerón (Ed.), *Introduction to enhanced oil recovery (EOR) processes and bioremediation of oil-contaminated sites* (pp. 185-206). IntechOpen.

Alef, K. y Nannipieri, P. (1995). *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Academic Press.

Alkaabi, N., Al-Ghouti, M. A. y Nabil Z., y Jaova, S. (2020). Potential for native hydrocarbon-degrading bacteria to remediate highly weathered oil-polluted soils in Qatar through self-purification and bioaugmentation in biopiles. *Biotechnology Reports*, 28, 1-10. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2215017X20305397

Alrumman, S. A., Standing, D. B. y Paton, G. I. (2015). Effects of hydrocarbon contamination on soil microbial community and enzyme activity. *Journal of King Saud University-Science*, *27*(1), 31-41. https://doi.org/10.1016/j.jksus.2014.10.001

Antonio-Ordaz, J., Martínez-Toledo, A., Ramos-Morales, R. F., Sánchez-Díaz, L. F., Martínez, A. J., Tenorio-López, J. A. y Cuevas-Díaz, M. C. (2011). Biorremediación de un suelo contaminado con petróleo mediante el empleo de bagazo de caña con diferentes tamaños de partícula. *Multiciencias*, *11*(2), 136-145. https://www.redalyc.org/pdf/904/90419195004.pdf

Araujo, I., Montilla, M., Cárdenas, C., Herrera, L., Angulo, N, y Morillo, G. (2006). Lodos estabilizados y cepas bacterianas en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. *Interciencia*, *31*(4), 268-275. https://www.redalyc.org/pdf/339/33911506.pdf

Atlas, R. M. y Bartha, R. (1998). *Microbial ecology: fundamentals and applications*. The Benjamin-Cummings Publishing Company.

Balba, M. T., Al-Awadhi, N. y Al-Daher, R. (1998). Bioremediation of oil-contaminated soil: microbiological methods for feasibility assessment and field evaluation. *Journal of Microbiological Methods*, *32*(2), 155-164. https://doi.org/10.1016/S0167-7012(98)00020-7

Bamforth, S. M. y Singleton, I. (2005). Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, *80*, 723-736. https://doi.org/10.1002/jctb.1276

Baud-Grasset, F., Baud-Grasset, S. y Safferman, S. I. (1993). Evaluation of the bioremediation of a contaminated soil with phytotoxicity tests. *Chemosphere*, *26*(7), 1365-1374. https://doi.org/10.1016/0045-6535(93)90187-A

Benavides, L. M. J., Quintero, G., Guevara, V. A. L., Jaimes, C. D. C., Gutiérrez, R. S. M. y Miranda, G. J. (2006). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. *Nova*, *4*(5), 82-90. https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/nova/article/view/351/1203

Bouyoucos, G. J. (1962). Hydrometer improved method for making particles size analysis of soil. *Journal of Agronomy*, *54*(5), 464-465. https:/doi.org/10.2134/agronj1962.00021962005400050028x

Casida, L. E. (1977). Microbial metabolic activity in soil as measured by dehydrogenase determinations. *Applied Environmental Microbiology*, *34*(6), 630-636. https://doi.org/10.1128/aem.34.6.630-636.1977

Castañeda, B. M. T. (2004). *Microbiología aplicada. Manual de laboratorio*. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Azcapotzalco.

Chaineau, C. H., Yepremmian, C., Vidalie, J. F., Ducreux, J. y Ballerini, D. (2003). Bioremediation of a crude oil-polluted soil: biodegradation, leaching and toxicity assessments. *Water, Air and Soil Pollution*, *144*(1), 419-440. https://doi.org/10.1023/A:1022935600698

Cookson, J. T. (1995). Solid and slurry-phase bioremediation. En *Bioremediation engineering design and application* (pp. 305-358). McGraw-Hill.

Cuevas-Díaz, M. C., Espinosa-Reyes, G., Ilizaliturri-Mendoza, C. A. y Mendoza-Cantú, A. (Eds.). (2012). *Métodos ecotoxicológicos para la evaluación de suelos con-*

taminados con hidrocarburos. Instituto Nacional de Ecología-Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

Doran, J. W. y Parkin, T. B. (1994). Defining and assessing soil quality. En J. W. Doran, D. C. Coleman, D. F. Bezdicek y B. A. Stewart (Eds.), *Defining soil quality for a sustainable environment* (pp. 3-21), Soil Science Society of America, Madison.

Environmental Protection Agency. (1994). *How to evaluate alternative cleanup technologies for underground storage tank sites. Cap. VI Biopile*. https://www.epa.gov/sites/default/files/2014-03/documents/tum_ch4.pdf

Environmental Protection Agency. (2002). EPA *Method 3570 (SW-846). Microscale solvent extraction (MSE)*. https://www.epa.gov/esam/epa-method-3570-sw-846-microscale-solvent-extraction-mse

Eriksson, M., Dalhammar, G. y Borg-Karlson, A. K. (2000). Biological degradation of selected hydrocarbons in an old PAH/creosote contaminated soil from a gas work site. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *53*(5), 619-626. https://doi.org/10.1007/s002530051667

Fahnestock Von, F. M. (1998). *Biopile design, operation and maintenance handbook for treating hydrocarbon-contaminates soils*. Battelle Press.

Gandolfi, I., Sicolo, M., Franzetti, A., Fontanarosa, E., Santagostino, A. y Bestetto, G. (2010). Influence of compost amendment on microbial community and ecotoxicity of hydrocarbon-contaminated soils. *Bioresource Technology*, *101*(2), 568-575. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.08.095

García-Segura, D., Castillo-Murrieta, I. M., Martínez-Rabeloa, F., Gómez-Anaya, A., Rodríguez-Campos, J., Hernández-Castellanos, B., Contreras-Ramos, S. y Barois, I. (2018). Macrofauna and mesofauna from soil contaminated by oil extraction. *Geoderma*, *332*, 180-189. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.06.013

García-Torres, R., Ríos-Leal, E., Martínez-Toledo, A., Ramos-Morales, F. R., Cruz-Sánchez J. S. y Cuevas-Díaz, M. C. (2011). Uso de cachaza y bagazo de caña de azúcar en la remoción de hidrocarburos en suelo contaminado. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, *27*(1), 31-39. https://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v27n1/v27n1a3.pdf

Gardner, H. W. (1986). Water content. En A. Klute (Ed.), *Methods of soil analysis, Part 1, Physical and mineralogical methods* (pp. 493-544). American Society of Agronomy, Madison.

Guzmán-López, O., Cuevas-Díaz, M. C., Martínez-Toledo, A., Contreras-Morales, M. E., Ruiz-Reyes, C. I. y Ortega Martínez, A. C. (2021). Fenton-biostimulation sequential treatment of a petroleum-contaminated soil amended with oil palm bagasse (*Elaeis guineensis*), *Chemistry and Ecology*, *37*(6), 573-588. https://doi.org/10.1080/02757540.2021.1909003

Haritash, A. K. y Kaushik, C. P. (2009). Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHS): a review. *Journal of Hazardous Materials*, *169*(1-3), 1-15. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.03.137

Hoang, S. A., Sarkar, B. A., Seshadri, B., Lamb, D., Wijesekara, H., Vithanage, M., Linayage, C., Kolivabandara, P., Rinklebe, J., Lam, S. S., Vinu, A., Wang, H., Kirkham, M. B. y Bolan, N. S. (2021). Mitigation of petroleum-hydrocarbon-contaminated hazardous soils using organic amendments: a review. *Journal of Hazardous Materials*, *416*, 1-17, https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125702

Huesemann, M. H., Hausmann, T. S. y Fortman, T. J. (2004). Does bioavailability limit biodegradation? A comparison of hydrocarbon biodegradation and desorption rates in aged soils. *Biodegradation*, 15, 261-274. https://doi.org/10.1023/B:BIOD.0000042996.03551.f4

International Standard Organization. (2008). Soil quality-avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour. Part 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). ISO-17512-1.

Iturbe-Argüelles, R., Flores-Torres, C., Chávez-López, C. y Roldán-Martín, A. (2002). Saneamiento de suelos contaminados con hidrocarburos mediante biopilas. *Ingeniería, Investigación y Tecnología 3*(1), 25-35. https://www.revistaingenieria.unam.mx/numeros/v03n1-04.php

Jacques, R. J., Okeke, B. C., Bento, F. M., Teixeira, A. S., Peralba, M. C. y Camargo, F. A. (2008). Microbial consortium bioaugmentation of a polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil. *Bioresource Technology*, *99*(7), 2637-2643. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.04.047

Jones, J. J. B. (2001). *Laboratory guide for conducting soil test and plant analysis* (vol. 28-31, pp. 151-155). CRC press.

Joo, H., Ndewa, P. M., Shoda M. y Phae, C. (2008). Bioremediation of oil-contaminated soil using *Candida catenulate* and food waste. *Environmental Pollution*, *156*(3), 891-896. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.05.026

Jorgensen, K. S., Puustinen, K. y Suortti, A. M. (2000). Bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil by composting in biopiles. *Environmental Pollution*, *107*(2), 245-258. https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00144-X

Juteau, P., Bisaillon, J. G., Lépine, F., Ratheau, V., Beaudet, R. y Villemur, R. (2003). Improving the biotreatment of hydrocarbons-contaminated soils by addition of activated sludge taken from the wastewater treatment facilities of an oil refinery. *Biodegradation*, *14*, 31-40. https://doi.org/10.1023/A:1023555616462

Knaebel, D. B., Federle, T. W., McAvoy, D. C. y Vestal, J. R. (1994). Effect of mineral and organic soil constituents on microbial mineralization of organic compounds in a natural soil. *Applied Environmental Microbiology*, *60*(12), 4500-4508. https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/aem.60.12.4500-4508.1994

Koshlaf, E., Shahsavari, E., Haleyur, N., Osborn, A. M. y Ball, A. S. (2019). Effect of biostimulation on the distribution and composition of the microbial community of a polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated landfill soil during bioremediation. *Geoderma*, *338*, 216-225. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.12.001

Kshirsagar, S. D., Mattam, A. J., Jose, S., Ramachandrarao, B. y Velankar, H. R. (2020). Heavy hydrocarbons as selective substrates for isolation of asphaltene degraders: a substrate-based bacterial isolation strategy for petroleum hydrocarbon biodegradation. *Environmental Technology and Innovation*, *19*, 1-11. https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100832

Li, Y. T., Rouland, C., Benedetti, M., Li, F. B., Pando, A., Lavelle, P. y Dai, J. (2009). Microbial biomass, enzyme and mineralization activity in relation to soil organic C, N and P turnover influenced by acid metal stress. *Soil Biology and Biochemistry*, *41*(5), 969-977. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.01.021

Ma, J., Yang, Y, Dai, X., Chen, Y., Deng, H., Zhou, H., Gou, S. y Yan, G. (2016). Effects of adding bulking agent, inorganic nutrient and microbial inocula on biopile treatment for oil-field drilling waste. *Chemosphere*, *150*, 17-23. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.01.123

Margesin, R., Walder, G. y Schinner, F. (2000). The impact of hydrocarbon remediation (diesel oil and polycyclic aromatic hydrocarbons) on enzyme activities and microbial properties of soil. *Acta Biotechnologica*, *20*(3-4), 313-333. https://doi.org/10.1002/abio.370200312

Margesin, R., Feller, G., Hammerle, M., Stegner, U. y Schinner, F. (2002). A colorimetric method for the determination of lipase activity in soil. *Biotechnology Letters*, *24*(1), 27-33. https://doi.org/10.1023/A:1013801131553

Martínez, M. V. E. y López, S. F. (2001). Efecto de hidrocarburos en las propiedades físicas y químicas de suelo arcilloso. *Terra*, *19*(1), 9-17. https://www.redalyc.org/pdf/573/57319102.pdf

Menéndez-Vega, D., Gallego, J. L., Peláez, A. J., Fernández De Córdoba, G., Moreno, J., Muñoz, D. y Sánchez, J. (2007). Engineered *in situ* bioremediation of soil and groundwater polluted with weathered hydrocarbons. *European Journal of Soil Biology*, *43*(5-6), 310-321. https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2007.03.005

Merckl, N., Schutze-Kraft, R. e Infante, C. (2005). Phytoremediation in tropics influence of heavy crude oil on root morphology characteristic of graminoids. *Environmental Pollution*. *138*(1), 86-91. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.02.023

Muñoz-Iniestra, D. J., Mendoza-Cantú, A., López-Galindo, F., Soler-Aburto, A. y Hernández-Moreno, M. M. (2000). *Manual de métodos de análisis de suelos*. UNAM.

Nnaji, N. D., Ughamba, K. T., Aduba, C. C., Ogbonna, K. E. y Anyanwu, C. U. (2020). Potato skin: a potential biostimulating agent for used motor oil biodegraders. *International Journal of Environment Agriculture and Biotechnology*, *5*(2), 296-309. https://doi.org/10.22161/ijeab.52.6

Organization for Economic Cooperation and Development. (2006). *Terrestrial plants test. Seedling emergence and seedling growth test. Guideline for testing of chemicals.* https://doi.org/10.1787/9789264070066-en

Ossai, I. C., Ahmed, A., Hassan, A. y Hamid, F. S., (2020). Remediation of soil and water contaminated with petroleum hydrocarbon: a review. *Environmental Technology and Innovation*, *17*, 1-80. https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100526

Palafox, A., Hernández, R. H., López, L. J. y Cuevas D. M. C. (2012). Evaluación de toxicidad de los suelos mediante bioensayos con lombrices. En D. M. C. Cuevas, R. G. Espinosa, C. A. Ilizaliturri y C. A. Mendoza (Eds.), *Métodos ecotoxicológicos para* la *evaluación de suelos contaminados con hidrocarburos* (pp. 47-86). Instituto Nacional de Ecología; Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales.

Petróleos Mexicanos. (2020). *Petróleos Mexicanos, gerencia de protección ambiental, gestión energética y sustentabilidad. Derrames de hidrocarburos por organismo subsidiario*. Recuperado el 26 de abril de 2020. http://dgeiawf.semarnat.gob.mx:8080/ibi_apps/WFServlet?IBIF_ex=D2_INDUSTRI02_08&IBIC_user=dgeia_mce&IBIC_pass=dgeia_mce&NOMBREANIO=*

Quiñones-Aguilar, E., Ferrera-Cerrato, R., Gavy-Reyes, F., Fernández-Linares, L., Rodríguez-Vázquez, R. y Alarcón, A. (2003). Emergencia y crecimiento de maíz en un suelo contaminado con petróleo crudo, *Agrociencia*, *37*(6), 585-594. http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30237604

Roldán-Martín, A., Calva-Calva, G., Rojas-Avelizapa, N., Díaz-Cervantes, M. D. y Rodríguez-Vázquez, R. (2007). Solid culture amended with small amounts of raw coffee beans for the removal of petroleum hydrocarbon from weathered contaminated soil. *International Biodeterioration and Biodegradation*, *60*(1), 35-39. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2006.10.008

Salanitro, J., Dorn, P., Hueseman, M., Moore, K., Rhodes, I., Rice, J. L. M., Vipond, T. E., Western, M. M. y Wisniewski H. L. (1997). Crude oil hydrocarbon bioremediation and soil ecotoxicity assessment. *Environmental Science and Technology*, *31*(6), 1769-1776. https://doi.org/10.1021/es960793i

Sarma, A. y Sarma, H. (2010). Enhanced biodegradation of oil products by some microbial isolate supplemented with heavy metals. *International Journal of Botany*, *6*(4), 441-338. https://doi.org/10.3923/ijb.2010.441.448

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2013). Remediación de la exrefinería 18 de marzo en Miguel Hidalgo, Distrito Federal. En W. Schmidt, R. M. Flores-Serrano, U. Ruiz-Saucedo (Eds.), *Remediación y revitalización de sitios contaminados: casos exitosos en México* (pp. 77-111). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales; Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit (GIZ) GmbH.

Semple, K. T., Reid, B. J., Fermor, T. R. (2001). Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. *Environmental Pollution*, *112*(2), 269-283. https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00099-3

Shi, W., Zeng, Y., Guan, G., Gui, L., Qun, H. W., Fa, L. (2010). Ecotoxicity assessment

of aged petroleum sludge using a suite of effects-based end points in earthworm *Eisenia fetida*. *Environmental Monitor Assess*, *169*(1-4), 417-428. https://doi.org/10.1007/s10661-009-1184-2

Singh, A. y Ward, O. P. (2004). *Biodegradation and bioremediation*. Springer-Verlag.

Thapa, B., Kumar, K. C. A. y Ghimire, A. (2012). A review on bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminants in soil. Kathmandu University. *Journal of Science Engineering and Technology*, *8*(1), 164-170. https://doi.org/10.3126/kuset.v8i1.6056

Valiño, E., Elías, A., Torres, V. y Albelo, N. (2002). Estudio de la carga microbiana en el bagazo de caña de azúcar fresco como sustrato para la alimentación animal, mediante fermentaciones en estado sólido. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, *36*(4), 373-378. http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193018080010

Van De Steene, J., Van Vooren, H. y Verplancke, H. (2007). Evaluation of a quasi-steady-state respiration test in a full-scale biopile. *Water Air Soil Pollution*, *183*(1), 403-413. https://doi.org/10.1007/s11270-007-9389-x

Vásquez-Murrieta, M. S., Hernández-Hernández, O. J., Cruz-Maya, J. A., Cancino-Díaz, J. C. y Jan-Roblero, J. (2016). Approaches for removal of PAHs in soils: bioaugmentation, biostimulation and bioattenuation. En M. L. Larramendy y S. Soloneski (Eds.). *Soil contamination, current consequences and further solutions* (pp. 329-342). Intechopen. https://doi.org/10.5772/64682

Vázquez, M. C., Guerrero, F. T. y Quintero, A. P. (2010). Biorremediación de lodos contaminados con aceites gastados. *Revista Colombiana de Biotecnología*, *12*(1), 141-157. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752010000100014

Wyrwasa, B., Chrzanowski, L., Ławniczak, Ł., Szulc, A., Cyplik, P., Białłas, W., Szymański, A. y Hołderna-Odachowska, A. (2011). Utilization of Triton X-100 and polyethylene glycols during surfactant-mediated biodegradation of diesel fuel. *Journal of Hazardous Materials*, *197*(15), 97-103. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.09.060

Zeneli, A., Kastanaki, E., Simantiraki, F., Gidarakos, E. (2019). Monitoring the biodegradation of TPH and PAHs in refinery solid waste by biostimulation and bioaugmentation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *7*(3), 103054. https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103054

Zhang, Y., Zhu, Y., Houot, S., Qiao, M., Nunan, N. y Garnier, P. (2011). Remediation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) contaminated soil through composting with fresh organic wastes. *Environmental Science and Pollution Research*, *18*(9), 1574-1584. https://doi.org/10.1007/s11356-011-0521-5

Normas jurídicas

NMX-AA-134-SCFI-2006. Suelos-hidrocarburos fracción pesada por extracción y gravimetría-método de prueba.

NOM-021-SEMARNAT-2000. Especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreos y análisis.
NOM-138-SEMARNAT/SS-2003. Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación.
NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012. Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y lineamientos para el muestreo en la caracterización y especificaciones para la remediación.





www.editorialparmenia.com.mx