



**UNIVERSIDAD VERACRUZANA**  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS  
ZONA: Poza Rica -Tuxpan

---

---

“Tecnologías para la restauración de suelos  
contaminados por hidrocarburos”.

**TESINA**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
**ESPECIALISTA EN GESTIÓN  
E IMPACTO AMBIENTAL.**

PRESENTA:

I.BQ. Daniela Itzel Loya Del Angel

DIRECTOR:

**Dr. Pablo San Martín Del Angel**

CO-DIRECTORA:

**Dra. Rosa Idalia Hernández Herrera**

Tuxpan de Rodríguez Cano, Ver., a 09 de Julio de 2013



**UNIVERSIDAD VERACRUZANA**  
**Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias**  
**Especialización en Gestión e Impacto Ambiental**



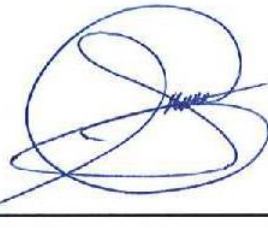
Revisión del trabajo recepcional de la alumna: Daniela Itzel Loya Del Ángel

Nombre	Fecha	Fecha	Dictamen	Firma
<u>Ascención Capistrán Bonada</u>	<u>26-VI-2013</u>	_____	<u>Aprobada</u>	<u>Capistrán</u>
<u>José Manuel Múrcic</u>	<u>27/VI/13</u>	_____	<u>Aprobada</u>	<u>Múrcic</u>
<u>Jordán Gutiérrez Vivanco</u>	<u>27/VI/13</u>	_____	<u>Aprobada</u>	<u>Gutiérrez</u>

En la presente revisión se acordó que el trabajo recepcional denominado "Tecnologías para la restauración de suelos contaminados por hidrocarburos" que presenta la sustentante para obtener el Título de Especialista, está terminado por lo que puede proceder a su inmediata impresión.

La presente Tesis titulada: **“Tecnologías para la restauración de suelos contaminados por hidrocarburos”**, realizada por la C. Daniela Itzel Loya Del Ángel, bajo la dirección del DR. PABLO SAN MARTÍN DEL ÁNGEL y asesoría del consejo particular de la DRA. ROSA IDALIA HERNÁNDEZ HERRERA, ha sido revisada y aprobada como requisito parcial para obtener el grado de:

**ESPECIALISTA EN GESTIÓN E IMPACTO AMBIENTAL**



---

DR. PABLO SAN MARTÍN DEL ÁNGEL

DIRECTOR



---

DRA. ROSA IDALIA HERNÁNDEZ HERRERA

CODIRECTOR

## AGRADECIMIENTOS

*A la Universidad Veracruzana por esta oportunidad.*

*A mis maestros por los nuevos conocimientos adquiridos y su entrega para enseñarnos.*

*A mis compañeros, por su amistad y los buenos momentos, por todas las anécdotas vividas a lo largo de este año.*

*Al Dr. San Martín por su motivación para concluir este trabajo.*

*A la Dr. Rosa Idalia por su apoyo y valiosa a portación.*

*Al Dr. Pech por su amistad y su apoyo para este trabajo.*

*Al Dr. Alanís por su incondicionable apoyo siempre.*

***A mi familia***

***A Esteban***

Este trabajo no se hubiera concluido sin su apoyo, motivación y amor para conmigo. Gracias por todo.

*Esforzaos y cobrad ánimo; no temáis, ni tengáis miedo de ellos,  
porque Jehová tu Dios es el que va contigo; no te dejará,  
ni te desampará.*

*Deuteronomio 31:6*

# **Tecnologías para la restauración de suelos contaminados por hidrocarburos.**

**Loya del Angel Daniela Itzel**

## **RESUMEN**

El petróleo es la fuente principal de energía de la sociedad actual, sin embargo la explotación del mismo trae consigo consecuencias ambientales dañinas al suelo. A través de una revisión bibliográfica, se analizaron los diferentes casos de aplicación de medidas remediativas como son la biorremediación y fitorremediación, empleadas para atenuar los efectos contaminantes después de un derrame. Se define la efectividad de dichas técnicas al determinar la relación entre microorganismos, propiedades del suelo, características del contaminante y tipo de plantas, al examinar los resultados obtenidos en cada uno de los casos de estudio tratados en la presente revisión.

En la inspección de los logros alcanzados en cada una de las aplicaciones remediativas, los porcentajes de remoción oscilaron entre el 75 y 90 %, conseguidos en un lapso de tratamiento que va de los 25 a 90 días, el hidrocarburo que mostró mayor remoción fue el fenantreno en fitorremediación y el diesel en biorremediación. Aunque las técnicas de fitorremediación incluyen el uso de microorganismos y plantas, estas relaciones resultan igual de efectivas que las manejadas en los sistemas de biorremediación que solo usan microorganismos ya sean autóctonos o en consorcios bacterianos.

*Palabras clave: Biorremediación, Fitorremediación, bacterias, hongos, suelo*

# ÍNDICE GENERAL

	PÁGINA
Resumen .....	I
Introducción .....	1
Objetivo general .....	4
Objetivos específicos .....	4
Fundamento .....	5
<b>CAPÍTULO I HIDROCARBUROS .....</b>	<b>6</b>
Característica de los hidrocarburos .....	6
Composición química del petróleo .....	7
Hidrocarburos en el ambiente .....	8
Efectos ambientales .....	10
Consecuencias .....	12
Fuentes de contaminación por hidrocarburos en México .....	14
<b>CAPITULO II SUELOS .....</b>	<b>17</b>
Caracterización del suelo .....	18
Hidrocarburos en el suelo .....	21
<b>CAPITULO III REMEDIACIÓN .....</b>	<b>25</b>
Tecnologías de remediación .....	25
Clasificación de tecnologías .....	26
Biorremediación .....	28
Métodos aplicados a la biorremediación .....	29
Microorganismos degradadores de hidrocarburos .....	38
Propiedades de algunos microorganismos hidrocarbonoclastas .....	45
Fundamentos bioquímico de la biodegradación .....	51
Fitorremediación .....	54
Aplicaciones de la fitorremediación .....	56
Tolerancia de las plantas a los contaminantes .....	60
<b>CAPITULO IV REMEDIACION DE SUELOS .....</b>	<b>63</b>
Casos de estudio .....	63
Taxonomía de microorganismos .....	81
<b>CAPITULO V CONSIDERACIONES FINALES .....</b>	<b>83</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA CITADA .....</b>	<b>87</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA .....</b>	<b>92</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

	PÁGINA
<b>Cuadro 1</b> Relación de compuestos orgánicos y su destino en el ambiente.	.....9
<b>Cuadro 2</b> Parámetros que influyen en el transporte de contaminantes en el suelo	.....22
<b>Cuadro 3</b> Tipos de fitorremediación	.....60
<b>Cuadro 4</b> Estudio de la efectividad de las técnicas de bio y fitorremediación en los casos de aplicación y estudio.	.....78

## ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
<b>Figura 1</b> Esquema de biofiltración para la descontaminación de tolueno.	.....29
<b>Figura 2</b> Esquema de bioventeo	.....30
<b>Figura 3</b> Esquema de tratamiento por biopilas estáticas	.....31
<b>Figura 4</b> Proceso de atenuación natural	
<b>Figura 5</b> Procesos de fitorremediación	.....59



## INTRODUCCIÓN

El medio ambiente es el conjunto de todas las cosas vivas que nos rodean. De éste obtenemos agua, comida, combustibles y materias primas que sirven para fabricar las cosas que utilizamos diariamente. Desde sus orígenes, la acción humana ha introducido cambios en los procesos ecológicos, y lo que empezó como un conjunto de pequeñas alteraciones puntuales adquirió en los últimos tiempos una dimensión altamente preocupante. Durante el último medio siglo la humanidad ha modificado los ecosistemas más extensa y rápidamente que en cualquier otro período comparable de la historia reciente. Esta acción transformadora se relaciona sobre todo con la necesidad de atender las crecientes demandas de recursos y energía. Desde la Revolución Industrial del siglo XVIII se incrementó el uso de combustibles fósiles y, con ello, la emisión de contaminantes al ambiente (SEMARNAT, 2006).

El petróleo es la fuente principal de energía de la sociedad actual, este compuesto y sus productos de refinación no son sustancias específicas y únicas, puesto que son mezclas de varios hidrocarburos y otros compuestos cuyas propiedades físicas y químicas son muy variadas, las cuales determinan su comportamiento e impacto en los elementos ambientales (recursos físicos, biológicos y actividades socioeconómicas) cuando ocurre una descarga al ambiente. Al suceder esto es necesario hacer una investigación y caracterización de la contaminación para

evaluar los daños e implementar una corrección ambiental efectiva (Echarri, 1998).

Según las estadísticas de la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA, 1999), entre los años de 1997 y 2001, de 2,592 emergencias ambientales con materiales peligrosos a nivel nacional, Petróleos Mexicanos provocó 57 % de ellas. Entre los estados con mayores emergencias ambientales se encuentra Veracruz, donde el 80 % de estos eventos son causados por PEMEX. La mayoría de las emergencias se presentan en ductos, provocando derrames con sustancias como petróleo crudo, combustóleo, diesel, gasolina, turbosina, gas natural y amoníaco. Los derrames en ductos en el área de PEMEX Refinación se deben en orden de importancia a: toma clandestina, daños o averías provocadas por terceros, corrosión y fallas del material. En el 60 % de estos eventos existe afectación al suelo, en 30 % al agua y en 10 % al aire (CEMDA, 2006). De los 50 mil kilómetros de ductos que existen en el país, por lo menos 20 mil necesitan de urgente atención, datos que son confirmados por el Instituto Mexicano del Petróleo (IMP), pues cerca de la mitad de los ductos tienen más de 30 años de operación.

El problema de los suelos contaminados con hidrocarburos radicaba en que no existía conciencia de las técnicas y costos de la biorremediación pero gracias al desarrollo tecnológico ahora se cuenta con diversos estudios que han definido estas metodologías y sus diferentes aplicaciones. En México, se han iniciado algunos trabajos de caracterización de sitios afectados por hidrocarburos,

específicamente en zonas petroleras como Tabasco y Veracruz (Gutiérrez y Zavala, 2002), donde el suelo es el factor que más se estudia. Estas prácticas remediativas consisten en el uso de organismos como plantas, hongos, bacterias naturales o modificadas genéticamente para neutralizar sustancias tóxicas, transformándolas en sustancias menos dañinas o bien inocuas para el ambiente y la salud humana.

Este trabajo presenta una recopilación de las principales técnicas de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, así como el análisis de los criterios considerados en cada una de las metodologías aplicadas y su efectividad de acuerdo a las características del sitio, propiedades del contaminante y el tipo de organismos (bacterias y plantas) usados en dichas prácticas.

## **OBJETIVO GENERAL**

Generar un documento informativo sobre las principales técnicas en el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos, así como de los criterios considerados en las diferentes técnicas remediativas que definen su efectividad.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Buscar y recopilar información;
2. Revisar las técnicas de aislamiento y caracterización de microorganismos y plantas de sitios contaminados por hidrocarburos;
3. Analizar los casos de aplicación y estudio de biorremediación y fitorremediación en México documentados en artículos científicos.
4. Describir la relación entre microorganismos, propiedades del suelo, características del contaminante y tipo de plantas que definen la efectividad de las medidas biocorrectivas.

## FUNDAMENTO

Se realizó una revisión bibliográfica de artículos científicos que abordan casos de estudio y aplicación de medidas de biorremediación, se recopilaron los resultados de cada uno de ellos para concentrarlos en una tabla para el análisis de las variables como son la técnica aplicada, el contaminante en cuestión, porcentaje y tiempo de remoción, tipo de suelo, cantidad de muestra y el microorganismo o planta utilizada en los métodos correctivos para determinar las relaciones entre los factores bióticos y abióticos que definen la efectividad en los procesos remediativos.

Al hacer una revisión bibliográfica y una recopilación de información sobre los diversos casos de estudio y aplicación de medidas biocorrectivas se genera un documento útil como herramienta de consulta al facilitar la búsqueda bibliográfica ya que compila valiosa y diversa información de artículos científicos de los principales y últimos casos de biorremediación.

# CAPITULO I

## HIDROCARBUROS

### *Características de los hidrocarburos*

Los hidrocarburos son compuestos formados por átomos de carbono e hidrógeno, de gran abundancia en la naturaleza, presentes principalmente en el petróleo (Chappin, 1988). Se consideran como una mezcla compleja de gases, líquidos y sólidos, existiendo cantidades combinadas de nitrógeno, oxígeno y azufre, además de contener compuestos de hierro, níquel, vanadio u otros metales (Wood, 1974). El petróleo tiene una proporción de 76 a 86 % de carbono y de 10 a 14 % de hidrogeno. Los hidrocarburos se clasifican de la siguiente forma:

Hidrocarburos biogénicos: éstos son sintetizados por casi todas las plantas, animales terrestres y marinos, incluyendo a la microbiota, bacterias, plancton marino, diatomeas, algas y plantas superiores (Bedair y Al-Saad, 1992).

Hidrocarburos antrópicos: éstos son introducidos al ambiente como resultado de la actividad humana (Bedair y Al-Saad, 1992).

### *Composición química del petróleo.*

El petróleo es una mezcla compleja de hidrocarburos que contiene principalmente carbono e hidrogeno en cantidades que varían entre 86 % y 14 %, respectivamente, en la mezcla que lo constituye, los hidrocarburos coexisten en fase sólida, líquida y gaseosa y pueden presentar además en su composición, pequeñas proporciones de heterocompuestos con presencia de nitrógeno, azufre, oxígeno y algunos metales. El petróleo varía mucho en su composición, la cual depende principalmente del tipo de yacimiento de donde provenga (Chow, 1987).

Los hidrocarburos que componen al petróleo pueden agruparse en cuatro categorías: alifáticos, aromáticos, polares o resinas y asfaltenos. La proporción de cada una de estas fracciones depende de muchos factores como la zona geográfica, historia geológica, edad, migración y alteración del petróleo crudo (Chow, 1987).

- Alifáticos: La fracción de los compuestos alifáticos incluye alcanos lineales, alcanos ramificados (isoparafinas), alcanos cíclicos (naftenos), alquenos y alquinos.
- Aromáticos: La fracción de los aromáticos contiene hidrocarburos como el benceno, tolueno, xileno, etc., e hidrocarburos poliaromáticos, como los naftenoaromáticos y compuestos aromáticos de sulfuro como el tiofeno y dibenzotiofeno. La fracción de los hidrocarburos aromáticos policiclicos (HAPs) contiene compuestos cancerígenos como el benzopireno.

- Polares: La fracción de polares, o resinas que contienen compuestos polares con Nitrógeno, Azufre y Oxígeno, con una gran variedad de componentes como piridinas, quinoleinas, carbazoles, tiofenos, sulfóxidos y amidas, que pueden ser sólidos amorfos que difícilmente se disuelven en el petróleo.
- Asfaltenos: Son compuestos de moléculas grandes que se dispersan en el petróleo como compuestos poliaromáticos, ácidos nafténicos, sulfuros, fenoles polihídricos, ácidos grasos y metaloporfirinas (Chow, 1987).

### *Hidrocarburos en el ambiente*

Las características determinantes de los hidrocarburos en el ambiente son las siguientes: densidad, presión de vapor, coeficiente de partición de suelo, polaridad (McBride, 1994), electronegatividad, hidrofobicidad (característica química más importante usada para asegurar lo siguiente: (a) movilidad química, (b) estabilidad química, (c) acumulación química, (d) bioacumulación química y (e) sorción química en el ambiente) y solubilidad en agua. La alta solubilidad de un compuesto químico promueve su mayor movilidad y tener menos probabilidad de ser acumulativo, bioacumulativo, volátil y persistente. Como compuesto químico altamente soluble es propenso a ser biodegradado y metabolizado por los microorganismos (Ney, 1990), el contenido de materia orgánica del suelo o sedimento es importante en la adsorción de los contaminantes orgánicos (Ney,



1990). El coeficiente de distribución agua-suelo/sedimento ( $k_d$ ) de contaminantes no polares es fuertemente dependiente del contenido de materia orgánica del suelo o sedimento ( $f_{om}$ ) o alternativamente del contenido de carbón orgánico del suelo/sedimento ( $f_{oc}$ ) (Chiou, 1998).

Se expresa la siguiente relación:

$$K_{oc} = k_d / f_{oc}$$

Cuadro 1. Se muestra el destino de los contaminantes orgánicos en el ambiente en función de su coeficiente de distribución en suelo y solubilidad en el agua.

Suelo	Koc > 10,000	Koc de 1,000 a 10,000	Koc < 1,000
	SA < 10 ppm	SA 10 – 10,000 ppm	SA > 1,000 ppm
<b>Adsorción</b>	Sí	Otra vía	No
<b>Movilidad</b>	No	Otra vía	Si
<b>Acumulación</b>	Si	Otra vía	No
<b>Bioacumulación</b>	Si	Otra vía	No
<b>Contaminación de la cadena alimenticia</b>	Si	Otra vía	No
<b>Solubilidad</b>	No	Otra vía	Si
<b>Persistencia</b>	Si	Otra vía	No
<b>Disipación</b>	Si	Otra vía	Si

*Simbología:* No denota insignificante, Koc coeficiente de partición en suelo, SA; solubilidad al agua.

## *Efectos ambientales*

Un derrame de petróleo lleva consigo una serie de cambios progresivos de sus propiedades físico-químicas los cuales se atribuyen al proceso de intemperización, el cual incluye: evaporación, disolución, dispersión, oxidación, emulsificación, sedimentación y biodegradación, los cuales se describen a continuación.

La **intemperización** es la pérdida de ciertos componentes del petróleo a través de una serie de procesos naturales que comienzan una vez que ocurre el derrame y continúan indefinidamente.

La **evaporación** es el proceso que afecta la composición del producto derramado; aumenta su densidad y viscosidad, decrece su solubilidad en el agua reduciendo así el nivel de toxicidad del producto. En la medida que los compuestos más volátiles se evaporan, el petróleo se hace más pesado y puede llegar a hundirse. A las 24 horas casi el 40% del petróleo se ha evaporado. Estos porcentajes van variando de acuerdo al grado de viscosidad del hidrocarburo, por lo que el proceso de evaporación juega un papel muy importante en los derrames, en especial cuando se trata de gasolinas o crudos livianos.

**La Disolución** Este proceso es aquel por el cual parte del hidrocarburo se disuelve en el volumen de la columna de agua y en los alrededores del derrame.

El tiempo de disolución depende de la composición, tasa de esparcimiento, temperatura del agua, turbulencia y grado de dispersión. Aunque el proceso comienza inmediatamente, es de largo plazo y continúa durante todo el proceso de degradación del hidrocarburo. Es de notar que los compuestos más ligeros son los más solubles en el agua y por lo tanto se convierten en los más tóxicos, por lo que es muy importante calcular su concentración, para estimar los posibles efectos tóxicos.

**La oxidación** Es la combinación química de hidrocarburos con el oxígeno atmosférico y contribuye a la descomposición o degradación final del petróleo. Cuanto más área expuesta exista, mayor será la oxidación y mayor la velocidad de degradación. Este proceso es lento puesto que sólo una pequeña cantidad de oxígeno puede penetrar en una mancha de petróleo. La radiación ultravioleta solar produce la oxidación fotoquímica, dependiendo de la intensidad de la radiación solar.

**La emulsificación** Este es el proceso por el cual un líquido se dispersa en otro líquido en forma de pequeñas gotitas, es decir como suspensión. Muchos hidrocarburos presentan una tendencia a absorber agua en emulsiones que pueden aumentar el volumen del contaminante en un factor entre 3 y 4. Estas emulsiones a menudo son extremadamente viscosas y como resultados de estos los demás procesos que harían que el hidrocarburo se disipe se ven retardados.

**La sedimentación** Puede suceder por dos mecanismos: el primero se define en la medida que el hidrocarburo se intemperiza resultando en un incremento de su densidad respecto al agua circundante y por consiguiente se hunde. El segundo ocurre por la adhesión de las partículas suspendidas en la columna de agua al petróleo.

**Biodegradación:** Este es el proceso por el cual la mancha desaparece del medio ambiente. Ciertas especies de bacterias marinas, hongos y otros organismos utilizan los hidrocarburos como fuente de alimento. Es un proceso natural y muy lento debido al agotamiento continuo de oxígeno, a la formación de emulsiones de agua en petróleo (mousse), etc. La tasa de biodegradación depende del contenido de nutrientes (nitrógeno y fósforo), oxígeno disuelto, salinidad, área superficial del derrame y de la composición y tamaño de la población microbiana.

### *Consecuencias*

Un derrame o descarga de hidrocarburo afecta básicamente a tres elementos del ambiente, los cuales son:

- Elementos abióticos (suelo, formaciones del relieve, geomorfología, etc).
- Elementos bióticos (flora y fauna).
- Elementos socioeconómicos (actividades humanas, pesca, agricultura, lugares de esparcimiento de clubes, de recreación, de turismo, etc).

Los derrames de petróleo pueden causar un daño considerable a los recursos biológicos en una variedad de formas:

- Mortalidad directa debido a sofocación, suciedad (cobertura) y asfixia, envenenamiento por contacto directo con petróleo (especialmente petróleo fresco), absorción de las fracciones tóxicas de la columna de agua (ej. algas). La toxicidad del petróleo aumenta con la concentración de compuestos aromáticos no saturados y de baja ebullición. Las formas vivientes larvales o juveniles, por lo general son más sensibles.
- Mortalidad indirecta debido a la muerte de recursos alimenticios o a la destrucción o eliminación del hábitat.
- Incorporación de cantidades subletales de fracciones petrolíferas en los tejidos del cuerpo (ej. ingestión), que disminuye potencialmente la tolerancia a otras tensiones (ej. depredación y enfermedad).
- Reducción o destrucción de los alimentos o del valor comercial de pesquerías, debido a la degeneración del sabor por la absorción de hidrocarburos.
- Incorporación de sustancias potencialmente cancerígenas o mutagénicas en la cadena alimenticia.
- Comportamiento alterado de la biota que podría entorpecer las funciones ecológicas normales.

### *Fuentes de contaminación por hidrocarburos en México*

Como consecuencia de varios siglos de actividad minera en México y posteriormente, debido a la industria de la química básica, petroquímica y de refinación del petróleo, se han producido cantidades muy grandes, pero muy difíciles de cuantificar de residuos peligrosos. Aunado a lo anterior, la intensa actividad de otras industrias, junto con accidentes durante el almacenamiento, transporte o trasvase de sustancias (fugas, derrames, incendios) y la disposición clandestina e incontrolada de residuos, contribuyen en gran medida a la contaminación de suelos (SEMARNAT, 2002). El número de sitios contaminados, aún en las estimaciones más conservadoras, asciende a varios miles de lugares cuyo riesgo potencial es desconocido. De acuerdo con datos publicados por el INEGI (2000), la superficie de suelo degradado por causas de contaminación en 1999 fue de 25,967 km<sup>2</sup>.

Todos los eventos en los que se encuentran involucradas sustancias que implican algún riesgo para el ambiente o la población y que puedan generar la contaminación de suelos y cuerpos de agua, son conocidos como emergencias ambientales. De acuerdo con estadísticas de la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA, 1999), cada año se presentan en México un promedio de 550 emergencias ambientales asociadas con materiales y residuos peligrosos. Dentro de los compuestos peligrosos más comúnmente involucrados en emergencias ambientales, se encuentran el petróleo y sus derivados

(gasolinas, combustóleo, diesel), agroquímicos, gas LP y natural, entre otros (PROFEPA, 1999).

Dentro de los contaminantes que se consideran prioritarios en México debido a su alta toxicidad y a su persistencia en el ambiente, se encuentran los siguientes: dioxinas, furanos, hexaclorobenceno, bifenilos policlorados (BPC), plaguicidas organoclorados, mercurio, plomo, cromo, cadmio, compuestos tóxicos atmosféricos e hidrocarburos poliaromáticos (HAP). De éstos, compuestos como los BPC se han almacenado en tambores que, en muchas ocasiones, han sido dispuestos clandestinamente. Por su parte, los HAP se encuentran como componentes de los hidrocarburos totales del petróleo (HTP) (PROFEPA, 2002).

La industria petroquímica en México se ha desarrollado aceleradamente, generando diversos satisfactores económicos. Sin embargo, su expansión y desarrollo también ha dado origen a graves problemas ambientales, derivados de emergencias ambientales, con graves repercusiones a la salud de la población y al equilibrio ecológico de los ecosistemas (Quadri, 1994; PROFEPA, 2000). Entre las causas que han generado este deterioro ambiental por la contaminación de cuerpos de agua y suelos a lo largo de todo el país, se encuentran las siguientes: (i) manejo inadecuado y abandono de materiales y residuos peligrosos; (ii) mantenimiento inadecuado o falta de éste en instalaciones petroleras; (iii) explosiones en instalaciones de alto riesgo; (iv) fugas en líneas de conducción y (v) derrames de hidrocarburos (CENAPRED 2001, PROFEPA 2002).

En el inventario de residuos peligrosos de PEMEX en el 2001 reportan la generación de más de 270 mil toneladas de residuos peligrosos. Aproximadamente el 86 % del volumen total de estos residuos, corresponde a lodos y recortes de perforación (72 %), lodos aceitosos (8 %) y aceites gastados (6 %). Con respecto a los derrames y fugas de hidrocarburos, PEMEX reporta que durante el año 2001 hubo un total de 8,031 toneladas de hidrocarburos (crudo, diesel y gasolina) derramados en su mayoría en tierra, en los cuatro sectores de ductos del país (PEMEX, 2001). Esta última cifra es importante, ya que de esta manera puede estimarse la magnitud de la contaminación en los sitios cercanos a los derrames.

De los estados con mayor incidencia de sitios contaminados por actividades petroleras están Tabasco y Veracruz. De acuerdo con información de PEMEX, dos de los lugares más contaminados por hidrocarburos a nivel nacional son la refinería Lázaro Cárdenas y el pantano de Santa Alejandrina, precisamente ubicados en Tabasco (PEMEX, 2001).

Los productos combustibles como gasolina, diesel, combustóleo, gasóleo, gas avión y gas LP, son producidos y distribuidos en México por PEMEX. La distribución al menudeo de gasolina y diesel, se lleva a cabo en estaciones de servicio (gasolineras). Uno de los riesgos ambientales que involucra el manejo de estas estaciones, son los derrames o fugas de combustibles, que provocan la contaminación de los sitios en donde se encuentran los tanques de almacenamiento (CENAPRED, 2001).



## **CAPÍTULO II**

### **SUELOS**

El suelo representa un ecosistema donde, actualmente, se puede encontrar una gran variedad de compuestos tóxicos, entre los cuales se incluyen los hidrocarburos derivados de las actividades petroleras. El suelo es un cuerpo natural que conforma el hábitat de bacterias, hongos, levaduras, virus y plantas superiores, entre otros, que sirve para la alimentación de los animales y del hombre a través de los ciclos tróficos. El suelo y los microorganismos mantienen los sistemas ecológicos, ya que le aportan componentes químicos y minerales (como resultado de la biodegradación); y complejos orgánicos como ácidos húmicos y fúlvicos, enzimas, vitaminas, hormonas y antibióticos; además, albergan una rica reserva genética (IMP, 2006; INE, 2006).

Por la gran importancia que representa el suelo para la vida del hombre y de todos los seres vivos, este recurso se debe conservar. Sin embargo, en la actualidad está seriamente amenazado por la práctica de sistemas de producción inadecuados o mal aplicados, que incluso han acelerado los procesos de erosión y desertificación de grandes zonas (INE 2006). Para elegir la tecnología adecuada es necesario considerar una serie de procesos y fenómenos fisicoquímicos y microbiológicos que ocurren en el suelo. Por esta razón, la evaluación o determinación de las propiedades físicas, químicas y microbiológicas de un suelo contaminado contribuye al seguimiento del proceso de remediación; además de

ser útil para tomar acciones pertinentes en el mejoramiento de dichos procesos (INE 2006).

### *Caracterización del suelo*

El suelo constituye un recurso natural que desempeña diversas funciones en la superficie de la Tierra, proporcionando un soporte mecánico así como nutrientes para el crecimiento de plantas y micro-organismos. La matriz del suelo está formada por cinco componentes principales: minerales, aire, agua, materia orgánica y organismos vivos (Eweis, 1998).

Los materiales minerales son los principales componentes estructurales y constituyen más del 50 % del volumen total del suelo. El aire y el agua juntos ocupan el volumen de los espacios, y usualmente conforman de 25 % a 50 % del volumen total. La proporción relativa de aire/ agua fluctúa considerablemente con el contenido de humedad del suelo. El material orgánico ocupa entre 3 % y 6 % del volumen promedio, mientras que los organismos vivos constituyen menos del 1% (Eweis, 1998).

Todos estos factores definen el tipo de suelo, que junto con las condiciones particulares de un sitio frecuentemente pueden limitar la selección de un proceso de tratamiento en particular. Por otra parte, la posibilidad de usar una tecnología de tratamiento, puede eliminarse con base en la clasificación del suelo u otras

características propias de éste (Van Deuren 1997). A continuación se describen algunos de los datos del suelo, que pueden obtenerse con relativa facilidad y que controlan la eficiencia de una tecnología de remediación.

**Tamaño de partícula.** Los suelos se clasifican en función de su tamaño de partícula, siendo sus tres principales componentes las arcillas ( $< 0.002$  mm), los sedimentos ( $0.002 - 0.05$  mm) y las arenas ( $0.05 - 2.0$  mm). Es importante considerar esta propiedad, ya que la relación área/volumen de los diferentes tipos de partícula, tienen un impacto directo sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, y por consiguiente en las tecnologías de remediación. En general, los materiales no consolidados (arenas y gravas finas) son más fáciles de tratar (Van Deuren, 1997; Eweis, 1998).

**Heterogeneidad.** Un suelo demasiado heterogéneo puede impedir el uso de tecnologías *in situ* que dependan del flujo de un fluido. Pueden crearse canales indeseables de fluidos en las capas arenosas y arcillosas, dando como resultado tratamientos inconsistentes (Van Deuren, 1997).

**Densidad aparente.** Es el peso del suelo por unidad de volumen, incluyendo agua y espacios. Es importante considerar que el suelo está compuesto por sólidos y espacios llenos de agua y/o aire, y que su densidad dependerá de su humedad. Es útil para realizar cálculos para el transporte del material (Van Deuren, 1997).

**Permeabilidad.** Se refiere a la facilidad o dificultad con la que un líquido puede fluir a través de un medio permeable. La permeabilidad de un suelo es uno de los factores que controla la efectividad de tecnologías *in situ* (Sellers 1999). En general, una baja permeabilidad en el suelo disminuye la efectividad de la mayoría de las tecnologías de remediación.

El **pH** determina el grado de adsorción de iones por las partículas del suelo, afectando así su solubilidad, movilidad, disponibilidad y formas iónicas de un contaminante y otros constituyentes del suelo (Alexander 1994). La solubilidad de muchos contaminantes inorgánicos cambia en función del pH y normalmente su movilidad disminuye con altos valores de pH.

**Humedad.** La humedad del sitio a tratar es un factor importante para la elección de una tecnología en particular. Una alta humedad puede impedir el movimiento de aire a través del suelo, lo que afecta los procesos de biorremediación, así como provocar problemas durante la excavación y transporte, además de aumentar costos durante el uso de métodos de remediación térmicos (Van Deuren 1997).

**Materia orgánica.** La fracción orgánica de los suelos está constituida por desechos vegetales y animales, que generalmente se le conoce como humus. Un suelo con alto contenido húmico, disminuye la movilidad de los compuestos orgánicos y así la eficiencia de ciertas tecnologías (extracción de vapores, lavado de suelo) (Van Deuren, 1997).

### *Hidrocarburos en el suelo*

El comportamiento de los contaminantes orgánicos está en función de sus características físicas y químicas como la densidad, polaridad, entre otras. Además, las características del medio, como la unidad del suelo, permeabilidad, estructura, tamaño de las partículas, contenido de humedad y de materia orgánica, así como la profundidad del manto freático, factores climatológicos como la temperatura y la precipitación pluvial también tienen gran influencia (Jury, 1989). Todas las variables en conjunto definen el tamaño y la distribución tridimensional del frente de contaminación en una zona específica. En el cuadro 2 se indican algunos parámetros del compuesto químico, suelo y ambiente que influyen en el transporte a través del suelo.

Los compuestos orgánicos ligeros como gasolinas, aceites y petróleo crudo tienden a formar una capa en forma de nata en el nivel freático y se mueven horizontalmente en dirección al flujo del agua subterránea. Los compuestos densos, migran hacia la base del acuífero creando una columna a partir de la cual pueden moverse en dirección del flujo de agua subterránea contaminando así el acuífero en toda su profundidad. La presencia de contaminantes en el suelo se ha conceptualizado a través de observaciones indirectas que indican la acumulación de contaminantes orgánicos en asociación con adsorbentes naturales (Luthy, 1997), estableciéndose los siguientes procesos: absorción de la materia orgánica en forma, amorfa o natural o en líquidos de la fase no acuosa (LFNA), condensada o en polímeros o residuos de combustión, adsorción en superficies minerales

(cuarzo), adsorción a superficies orgánicas húmedas (hollín) y adsorción dentro de los micro poros o en minerales (zeolitas).

**Cuadro 2.** Se presentan los parámetros que influyen en el transporte de contaminantes en el suelo. (Tomado de Jury, 1989)

Parámetros del contaminante	Parámetros del suelo	Parámetros ambientales
<b>Solubilidad</b>	Contenido y retención de agua	Temperatura
<b>Presión de vapor</b>	Porosidad, densidad y permeabilidad	Precipitación
<b>Número y tipo de grupos funcionales</b>	Contenido de arcilla	Evapotranspiración
<b>Polaridad</b>	Contenido de materia orgánica	
	Profundidad de agua subterránea	

Munguía y Martínez (SEMARNAT, 1996), concluyeron que las propiedades físicas del suelo más afectadas por derrames de hidrocarburos son:

- La estructura del suelo debido a la ruptura de los agregados.
- Aumento de la retención del agua en la capa superficial.
- El potencial hídrico

Las propiedades químicas del suelo más afectadas por un derrame de hidrocarburos son:

- Aumento de carbono orgánico, ya que el 75 % del carbono del petróleo crudo es oxidable.
- Disminución del pH, debido a la acumulación del carbono orgánico y generación de ácidos orgánicos.
- Aumentos del manganeso y hierro intercambiable.
- Aumento del fósforo disponible (SEMARNAT, 1996).

Los efectos tóxicos de los hidrocarburos en el ambiente dependerán de:

- La cantidad y composición del petróleo.
- La frecuencia y tiempo de exposición
- El estado físico del derrame.
- Las características del sitio donde sucedió el derrame.
- Variables ambientales como temperatura, humedad y oxígeno.
- El uso de dispersantes químicos (está restringido su uso).
- La sensibilidad de la biota específica del ecosistema impactado (SEMARNAT, 1996).

El petróleo contamina el suelo por su presencia y su permanencia en él. Esto también depende del tipo de suelo lo cual es un producto de su composición y textura (tamaños de las partículas que lo forman) ya que según las características del suelo el petróleo se adherirá o penetrará con mayor o menor fuerza y por lo tanto permanecerá mayor o menos tiempo en ese ambiente.

En general se puede afirmar que:

- En suelos arenosos (suelos de grano grueso); el petróleo penetra con mayor rapidez, en mayor cantidad y a mayor profundidad (llega hasta la capa freática).
- En suelos arcillosos o rocosos (suelos de grano fino); el petróleo no penetra con facilidad, penetra en poca cantidad y a poca profundidad y por ende se retira mediante recojo y/o lavados de manera rápida, por ejemplo, las playas arcillosas de la selva.
- En suelos con alto contenido de materia orgánica el petróleo se adhiere fuertemente a las partículas y restos vegetales de tal manera que permanece por más tiempo en el ambiente por ejemplo, en suelos de manglares y pantanos.



## **CAPÍTULO III**

### **REMEDIACIÓN**

#### *Tecnologías de remediación*

El término «tecnología de tratamiento» implica cualquier operación unitaria o serie de operaciones unitarias que altera la composición de una sustancia peligrosa o contaminante a través de acciones químicas, físicas o biológicas de manera que reduzcan la toxicidad, movilidad o volumen del material contaminado (EPA, 2001). Las tecnologías de remediación representan una alternativa a la disposición en tierra de desechos peligrosos que no han sido tratados, y sus capacidades o posibilidades de éxito, bajo las condiciones específicas de un sitio, pueden variar ampliamente.

El uso de una tecnología de remediación en particular depende, además de los factores específicos del sitio y de las propiedades fisicoquímicas del contaminante, de su disponibilidad, de la fiabilidad demostrada o proyectada, de su estado de desarrollo (laboratorio, escala piloto o gran escala) y de su costo (Sellers, 1999).

## *Clasificación de tecnologías de remediación*

Las tecnologías de remediación pueden clasificarse de diferentes maneras, con base en los siguientes principios: (i) estrategia de remediación; (ii) lugar en que se realiza el proceso de remediación, y (iii) tipo de tratamiento. Es importante mencionar que cada una de estas clasificaciones proporciona diferente información acerca de las tecnologías de remediación. A continuación se describen con más detalle las clasificaciones anteriores (Van Deuren 1997, Sellers 1999, EPA 2001).

**Estrategia de remediación.** Son tres estrategias básicas que pueden usarse separadas o en conjunto, para remediar la mayoría de los sitios contaminados:

**Destrucción o modificación de los contaminantes.** Este tipo de tecnologías busca alterar la estructura química del contaminante (Van Deuren 1997, Sellers 1999, EPA 2001).

**Extracción o separación.** Los contaminantes se extraen y/o separan del medio contaminado, aprovechando sus propiedades físicas o químicas (volatilización, solubilidad, carga eléctrica) (Van Deuren 1997, Sellers 1999, EPA 2001).

**Aislamiento o inmovilización del contaminante.** Los contaminantes son estabilizados, solidificados o contenidos con el uso de métodos físicos o químicos.

**Lugar de realización del proceso de remediación.** En general, se distinguen dos tipos de tecnología:

***In situ.*** Son las aplicaciones en las que el suelo contaminado es tratado, o bien, los contaminantes son removidos del suelo contaminado, sin necesidad de excavar el sitio. Es decir, se realizan en el mismo sitio en donde se encuentra la contaminación (Van Deuren 1997, Sellers 1999, EPA 2001).

***Ex situ.*** La realización de este tipo de tecnologías, requiere de excavación, dragado o cualquier otro proceso para remover el suelo contaminado para realizarse el tratamiento fuera del terreno (Van Deuren 1997, Sellers 1999, EPA 2001).

**Tipo de tratamiento.** Esta clasificación se basa en el principio de la tecnología de remediación y se divide en tres tipos de tratamiento:

**Tratamientos biológicos (biorremediación).** Utilizan las actividades metabólicas de ciertos organismos (plantas, hongos, bacterias) para degradar (destrucción), transformar o remover los contaminantes a productos metabólicos inocuos (Van Deuren 1997, Sellers 1999, EPA 2001).

**Tratamientos fisicoquímicos.** Este tipo de tratamientos, utiliza las propiedades físicas y/o químicas de los contaminantes o del medio contaminado para destruir, separar o contener la contaminación (Van Deuren 1997, Sellers 1999, EPA 2001).

**Tratamientos térmicos.** Utilizan calor para incrementar la volatilización (separación), quemar, descomponer o fundir (inmovilización) los contaminantes en un suelo (Van Deuren 1997, Sellers 1999, EPA 2001).

### *Biorremediación*

Las prácticas de biorremediación consisten en el uso de organismos como plantas, hongos, bacterias naturales o modificadas genéticamente para neutralizar sustancias tóxicas, transformándolas en sustancias menos tóxicas o convirtiéndolas en inocuas para el ambiente y la salud humana (Benavides y col. 2005).

Las bacterias son las más empleadas en el proceso de biorremediación, aunque también se han empleado otros microorganismos como hongos, algas, cianobacterias y actinomicetes para la degradación de compuestos tóxicos en el suelo. Así mismo, existen animales que actúan como agentes descontaminantes, ya que pueden desarrollarse en medios con fuerte toxicidad y poseen en su interior microorganismo capaces de retener metales pesados; tal es el caso de la lombriz de tierra (*Lumbricus terrestris*) la cual absorbe los contaminantes a través de los tejidos y los acumula en las vías digestivas (Benavides y col. 2005).

La biorremediación del suelo, puede ser dividida en estrategias, en el lugar (*in situ*) corresponde a la biorremediación referente a tratamientos que no requieren excavación del suelo contaminado; o fuera del lugar (*ex situ*) es un método donde se excava el suelo o el material a tratar y se le maneja en un sistema controlado

como una celda para biolabranza o algún tipo de biorreactor (Benavides y col. 2005). Las técnicas de biorremediación en el lugar presentan una mayor ventaja sobre las fuera del mismo por el menor costo y la disminución de la generación de residuos a eliminar en la superficie. La biorremediación en el sitio contaminado es la más aplicada y utiliza microorganismos autóctonos, estos en el suelo pueden degradar un gran número de constituyentes de lodo pero su eficacia y su población son afectados cuando algunos contaminantes tóxicos están presentes en altas concentraciones. La reintroducción de microorganismos aislados de un sitio contaminado ayuda a resolver este problema ya que los microorganismos pueden degradar los constituyentes y tiene una gran tolerancia a la toxicidad (op.cit.).

#### *Métodos aplicados en bioremediación*

**Biofiltración**, en esta entra el aire contaminado a unos biorreactores en los cuales la flora microbiana degrada los contaminantes volátiles en dióxido de carbono, agua y biomasa (Benavides y Quintero, 2005) (Figura 1).

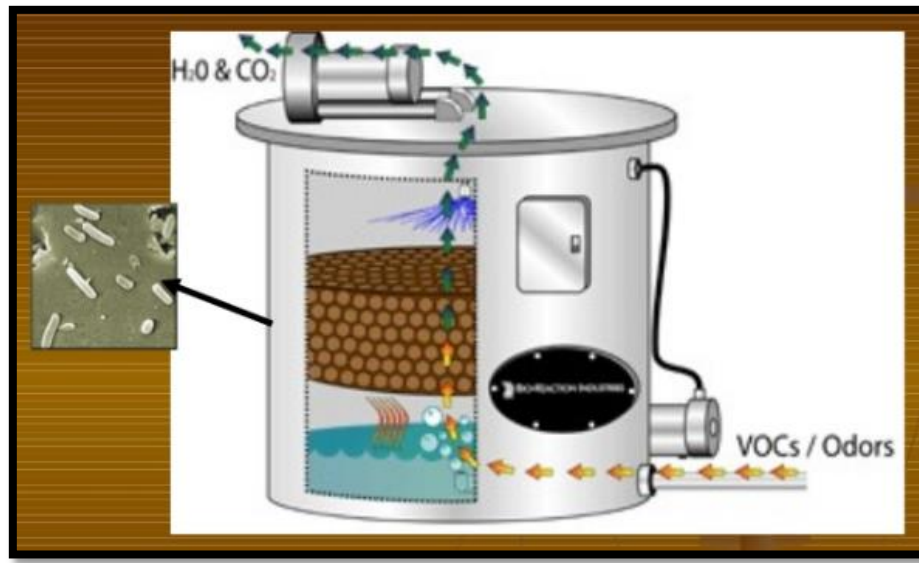


Figura 1. Esquema de biofiltración.

**Bioventeo**, el cual es un proceso de biorremediación en el lugar de la contaminación que consiste en la ventilación forzada del suelo mediante la inyección de  $O_2$  en la zona no saturada mediante pozos de inyección; debido a la aireación se va a favorecer la degradación de los hidrocarburos por volatilización y migración de la fase más volátil del contaminante, y por biodegradación, ya que al incrementar la oxigenación del suelo se va a estimular la actividad microbiana (Benavides y Quintero, 2005), para diseñar estos sistemas es necesario conocer la permeabilidad del suelo a los gases, con el fin de determinar el radio de influencia de los pozos de venteo, la distancia entre pozos y las dimensiones de los equipos de inyección. La bioaireación generalmente se lleva a cabo en áreas poco profundas y pequeñas; a menudo es factible la instalación de barreras para guiar el flujo, el uso de cubiertas, un control intensivo, un plan de muestreo y un

sistema de ventilación. Una característica determinante en la selección de esta técnica es el tipo de contaminante, puesto que es de mayor efectividad donde los contaminantes tienen baja volatilidad. Además se deben tener en cuenta las características físicas del suelo, la profundidad de la zona contaminada y el potencial para transportar contaminantes fuera de la zona (Torres y Zuluaga, 2009) (Figura 2).

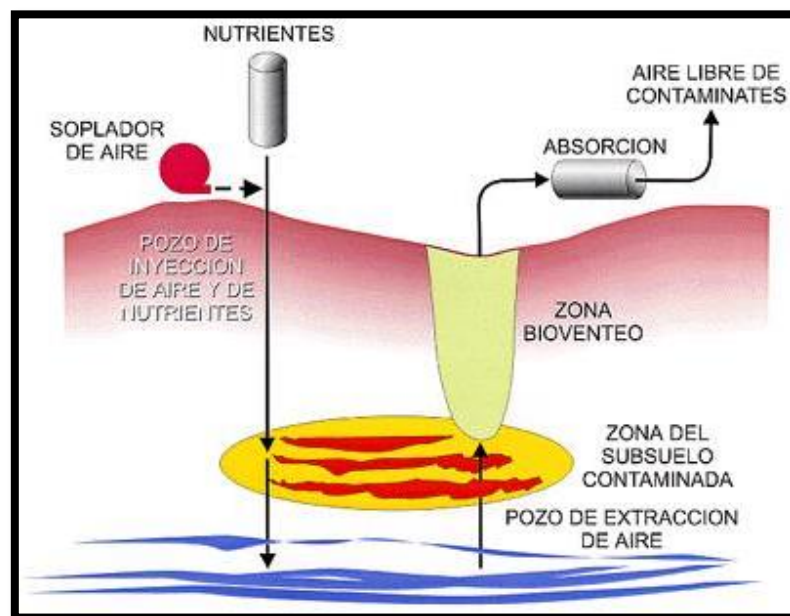


Figura 2. Esquema de Bioventeo.

**Bioaspersión** es un método *in situ* que combina el efecto de la ventilación con la utilización de los microorganismos autóctonos para degradar compuestos orgánicos absorbidos por el suelo en la zona saturada. En este el aire y los nutrientes se inyectan en la zona saturada para mejorar la actividad de los

microorganismos presentes. Esta técnica se utiliza para la degradación de compuestos orgánicos en el suelo y aguas subterráneas (Torres y Zuluaga, 2009).

Las características determinantes en la selección de esta técnica son:

**El tipo de contaminante.** Se degradan fácilmente las moléculas más pequeñas (hasta C<sub>20</sub>), siendo más biodegradables los compuestos parafinados o de cadena lineal que los compuestos aromáticos. En general, son favorables los compuestos de alta volatilidad (presión de vapor mayor de 10 mm de Hg a 20°C) (Torres y Zuluaga, 2009).

**Tipo de suelo.** Los suelos deben contener bajos contenidos en arcilla y ser lo más homogéneamente posible, con un valor de permeabilidad al aire adecuado (> 10-10 cm<sup>2</sup>) (op. cit.).

**Los aportes de oxígeno** deben ser suficientes, así como la existencia de fuentes de carbono, aceptores de electrones y energía suficientes (op. cit.).

Deben existir unas **condiciones óptimas de pH** (6 a 8), de humedad (12 a 30% en peso), potencial redox mayor de -50 mV, temperatura entre 0 y 40 °C y los nutrientes del suelo en relación N:P de 10:1 (op. cit.).



**Biopilas**, son un tipo de biorremediación de tipo *ex situ* (o fuera del sitio contaminado) en condiciones no saturadas, consiste en la reducción de la concentración de contaminantes derivados del petróleo de suelos excavados mediante el uso de la biodegradación (Benavides y Quintero, 2005), (Figura 3).

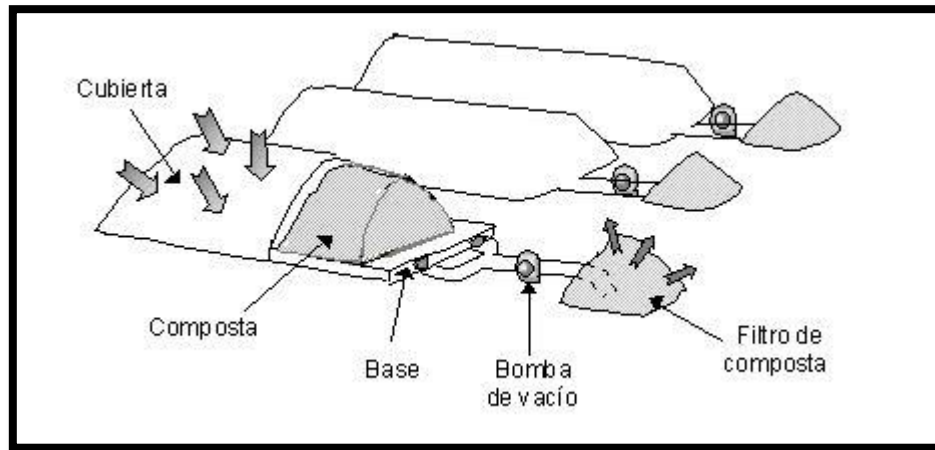


Figura 3. Esquema de tratamiento por biopilas estáticas.

La técnica consiste en la formación de pilas de material biodegradable de dimensiones variables formadas por suelos contaminados y materia orgánica, compost, en esta se aplica una aireación activa volteando la pila o pasiva por tubos de aireación. Este principio se puede aplicar a la mayoría de los compuestos orgánicos siendo más eficaz en los ligeros. Entre los factores que influyen en la aplicación de esta técnica se destacan: los hidrocarburos deben ser no halogenados con concentraciones en suelo menores a 50 ppm, superficie de trabajo relativamente grandes, necesidad de una población microbiana mayor a 1000 UFC (Unidades Formadoras de Colonias) por gramo de suelo (Benavides y Quintero, 2005).

**Atenuación natural**, es una técnica de biorremediación en el lugar de la contaminación (*in situ*) de bajo costo, su característica principal es la utilización de los procesos físicoquímicos de interacción contaminante suelo y los procesos de biodegradación tienen lugar de forma natural. Estos procesos se conocen como procesos de biotransformación natural, que van a reducir la concentración de los contaminantes. Entre ellos se encuentra la dilución, la dispersión, volatilización, adsorción, biodegradación y las reacciones químicas que se producen en el suelo. Las técnicas de recuperación para acuíferos contaminados más empleadas son el bombeo de agua contaminada y posterior tratamiento en superficie, inyección de soluciones acuosas con reactivos e inyección de airea para eliminar sustancias volátiles y el uso de microorganismos para transformar y degradar el contaminante (Benavides y Quintero, 2005).

Entre los factores que influyen en la eficacia y viabilidad de la atenuación natural destacan:

- La existencia de unas condiciones geológicas y geoquímicas favorables.
- Las necesidades de reducción de la masa contaminante en un intervalo razonable de tiempo (meses a años), tanto en la superficie del suelo como en la zona más subsuperficial del mismo (Torres y Zuluaga, 2009).
- Confirmación de la existencia de los tipos y número de poblaciones de microorganismos que puedan biodegradar los contaminantes.

- La concentración de los compuestos utilizados como aceptores de electrones en condiciones anaerobias debe ser superior a 0,21 mg/l para nitratos, la de  $\text{Fe}^{3+}$  para que pueda ser reducido a  $\text{Fe}^{2+}$  debe ser superior a 21,8 mg/l y la de sulfatos mayor de 0,21 mg/l (Torres y Zuluaga, 2009).
- El potencial redox debe estar situado entre un rango de -400 y 800 mV.
- Deben existir unas condiciones óptimas de pH (6 a 8), de humedad (12 a 30% en peso), temperatura entre 0 y 40 °C y los nutrientes del suelo en relación N:P de 10:1 (Torres y Zuluaga, 2009).
- Existencia de un coeficiente de retardo favorable para que se produzcan los fenómenos de sorción con suficiente eficacia (Torres y Zuluaga, 2009).

Si se aportan al medio algunos de los elementos de los que carece o bien se potencian los existentes, se favorece la eliminación del posible contaminante. En muchos casos este tipo de intervención será necesario para reforzar el proceso natural o bien para implantar unas condiciones que reduzcan el riesgo. En esto se basan la bioestimulación y la bioaumentación, que son aproximaciones biotecnológicas de la atenuación natural (Torres y Zuluaga, 2009).

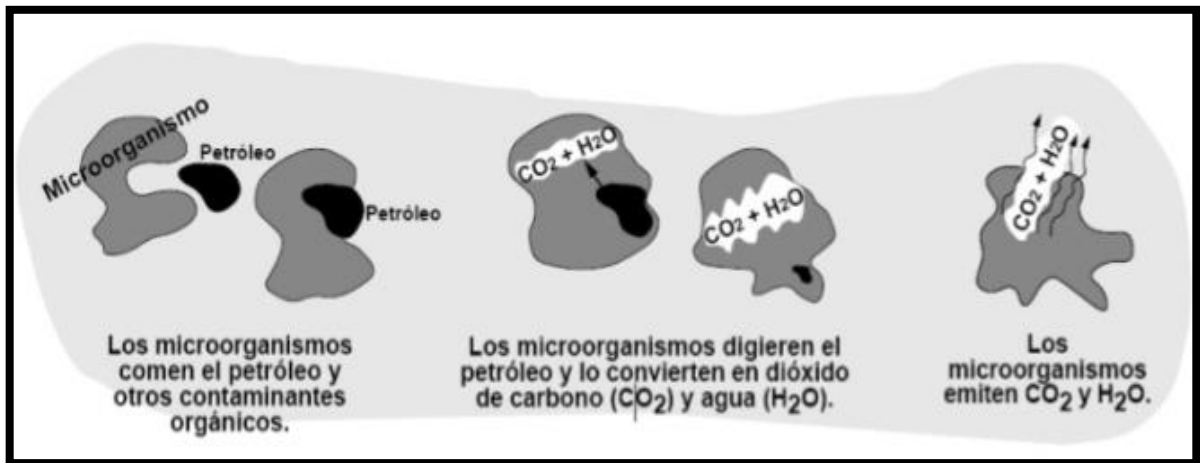


Fig. 4 Proceso de atenuación natural.

En el sistema de **bioestimulación**, el agua subterránea es conducida a la superficie por medio de un sistema de pozos de extracción, se acondiciona en un reactor para volverla a inyectar y estimular la degradación bacteriana de los contaminantes del subsuelo y del acuífero. En el reactor en superficie se agregan al agua: nutrientes, oxígeno, microorganismos previamente seleccionados y adaptados, y el efluente se retorna al subsuelo por medio de pozos de inyección, aspersores superficiales o galerías de infiltración distribuidas a lo largo y ancho del sitio que se requiere remediar. Algunas veces esta técnica utiliza biosurfactantes para ayudar al lavado de contaminantes del suelo (Zitrides, 1990); (Cole, 1994).

Las características determinantes en la selección, el éxito o el fracaso de esta técnica de remediación son:

- Tipo de suelo. Los suelos deben ser lo más homogéneos posible, con un valor de porosidad y permeabilidad al aire adecuado (> 10-10 cm<sup>2</sup>) (Zitrides, 1990); (Cole, 1994).
- Deben existir unas condiciones óptimas de pH (6 y 8), de humedad (12-30% en peso), temperatura entre 0 y 40 °C y los nutrientes del suelo en relación N:P de 10:1 (Zitrides, 1990); (Cole, 1994).

### ***Bioaumentación.***

Otras líneas de investigación han llevado a la introducción de microorganismos aclimatados o incluso modificados genéticamente en el medio, con el fin de mejorar la biodegradación (Walter, 1997; Atlas y Unterman, 1999). Esta técnica funciona en condiciones de laboratorio o bioreactor, pero en ambientes externos (suelo o agua) su implantación depende de una serie de factores (Alexander, 1999).

- Presencia de toxinas, nutrientes y condiciones ambientales, movilidad y/o distribución de los microorganismos y la presencia de abundante materia orgánica.
- Los microorganismos añadidos deben sobrevivir a los depredadores y competir con éxito con la población autóctona antes de ocupar los nichos potenciales.

- En general, los ambientes más selectivos y la utilización de consorcios microbianos favorecen la bioaumentación.

### *Microorganismos degradadores de hidrocarburos*

La biodegradación o biooxidación, es el mecanismo más importante, efectivo y económico para la eliminación final de los hidrocarburos no volátiles del petróleo presentes en el medio marino. Bajo su acción se ponen en juego múltiples reacciones de oxidación que conducen a la formación de hidrocarburos de menor peso molecular, además de la formación de dióxido de carbono, agua y biomasa microbiana (Benavides y Quintero 2005).

Las diferencias en la composición y concentración de hidrocarburos en el petróleo determinan una alta especificidad en el proceso de oxidación microbiana (Jackson y Pardue, 1999). En el ambiente marino las n-parafinas son degradadas más rápidamente, seguido por los aromáticos, isoalcanos, cicloparafinas y policíclicos aromáticos de cadenas largas (Prince, 1993). Cuando se trata de petróleos pesados se mantiene esta secuencia de degradación incluidas las resinas y los asfaltenos, compuestos de alto peso molecular (Haines, 1996).

La microbiota marina capaz de utilizar los crudos o fracciones refinadas del petróleo como única fuente de carbono y energía, está ampliamente representada en diversos géneros. Sin embargo, ésta solo se corresponde con el 1 % de la

población heterótrofa total en ecosistemas no contaminados y puede alcanzar hasta un 10 % cuando ocurre un derrame de petróleo (Venosa, 2000).

Entre las bacterias hidrocarbonoclastas marinas que refiere la literatura especializada se incluyen los géneros *Pseudomona*, *Rhodococcus*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Achromabacter*, *Bacillus*, *Corynebacterium* y *Mycobacterium*; entre las levaduras los géneros *Candida* y *Rhodotorula* son los más representativos, mientras que entre los hongos filamentosos los más frecuentes son *Cladosporium*, *Penicillium* y *Aspergillus*.

Se encuentran microorganismos con diferentes metabolismos como quimioorganotrófico, fotolitótrofo, quimiolitotrofo, organótrofo y heterótrofo (Atlas y Bartha 1998). En la degradación de los hidrocarburos del petróleo, se involucran consorcios de microorganismos, incluyendo procariontes y eucariontes. Las bacterias y levaduras son los organismos dominantes en la degradación de compuestos del petróleo en ecosistemas acuáticos, mientras que bacterias y hongos son los que dominan en muestras de suelo. Los microorganismos más comunes que son responsables de la degradación del petróleo comprenden principalmente géneros bacterianos como: *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Arthobacter*, *Corynebacterium*, *Achromobacter*, *Rhodococcus*, *Alcaligenes*, *Mycobacterium* y *Bacillus*.

Los géneros más comunes de hongos son: *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhodotorula*, *Candida* y *Sporobolomyces* (Atlas, 1981; Bossert y Bartha, 1984). Durante la biodegradación, los microorganismos están equipados con la maquinaria metabólica para utilizar al contaminante como fuente de carbono y energía para su crecimiento, produciendo biomasa, subproductos, dióxido de carbono y agua (Eweis, 1998).

El grado de eficiencia de los procesos de degradación se encuentra íntimamente relacionado con factores ambientales que rodean al sistema microorganismo-contaminante (Fernández, 1995). Entre los más importantes se encuentra el pH, la concentración de nutrientes, la temperatura, el tamaño y características de las partículas de suelo, la biodisponibilidad y concentración del contaminante, la toxicidad, la presencia de otros nutrientes, etc. La persistencia de un contaminante en el ambiente depende de las características físicas y químicas del compuesto químico, como la baja solubilidad y la toxicidad que presenta hacia los microorganismos degradadores (Alexander, 1994).

La mayoría de los microorganismos que oxidan hidrocarburos llevan a cabo por vía aerobia las reacciones de oxido-reducción, teniendo como último aceptor de electrones al oxígeno, aunque también se encuentran microorganismos que requieren condiciones anaerobias para la oxidación de estos compuestos. Sin embargo, para la mayoría de los compuestos, la degradación más rápida y completa ocurre en condiciones aerobias (Cookson, 1995).



Tanto la vía aerobia como la anaerobia producen subproductos derivados de la oxidación incompleta del hidrocarburo, tales como alcoholes, dioles y cetonas. También pueden producirse ácidos orgánicos, como pirúvico, cítrico y oxálico. La degradación microbiana de los compuestos orgánicos no siempre conduce a la mineralización sino a una biotransformación y los compuestos que se producen pueden ser, en algunos casos, más tóxicos que el original (King, 1992).

La capacidad de los sistemas biológicos para degradar componentes de petróleo es muy generalizada, puesto que ciertos microorganismos en el suelo pueden adaptarse a los constituyentes del petróleo.

Los mecanismos de degradación del petróleo y sus fracciones dependen de la fracción química dominante y de los microorganismos involucrados. En la biodegradación microbiana de hidrocarburos se conocen genes involucrados en la metabolización de las diferentes fracciones del petróleo en donde múltiples vías metabólicas interaccionan para oxidarlos, dichos genes codifican para la síntesis de enzimas como monoxigenasas, dioxigenasas, deshidrogenasas, etc. También se presentan procesos de cometabolismo en donde el co-metabolito, en este caso el compuesto contaminante, puede ser transformado sólo en presencia de un sustrato utilizado por el microorganismo para su crecimiento o en presencia de otro compuesto transformable (Dalton y Stirling, 1982).

Por otro lado, se ha visto que muestras de suelos no contaminados, contienen poblaciones de alrededor de 10<sup>7</sup>–10<sup>9</sup> UFC por gramo de suelo, en donde tan sólo el 1% puede degradar componentes del petróleo. En un suelo contaminado con

hidrocarburos, cambia el número de microorganismos capaces de degradar petróleo, con poblaciones desde 10<sup>3</sup> -10<sup>6</sup> UFC por gramo de suelo (Agteren, 1998). Esto es posible debido a que los microorganismos pueden obtener su fuente de carbono de los hidrocarburos, y con ello obtener energía para crecer y multiplicarse. En la biodegradación del petróleo interviene otro factor relevante: la disponibilidad de los hidrocarburos para el microorganismo, ya que algunos compuestos presentan una baja solubilidad, lo que dificulta su transporte al interior de la célula a través de las membranas celulares, además de la adsorción que presentan algunos compuestos hacia el propio suelo.

Los microorganismos pueden producir compuestos tensoactivos a fin de emulsionar el hidrocarburo y mejorar así su disponibilidad (Reylli y col. 1996). Se conoce poco de los mecanismos involucrados en el transporte de hidrocarburos a través de la membrana celular. Se cree que la proteína alkL que está involucrada en el transporte a través de la membrana externa de hidrocarburos y que posiblemente también la proteína alkN esté involucrada en procesos de quimiotaxis de hidrocarburos, dicha proteína se encuentra en la membrana interna (Van Hamme y col. 2003). Durante un largo período se creyó que el transporte de hidrocarburos era un proceso pasivo; sin embargo, hay evidencia de un requerimiento de energía para la captación de hidrocarburos. En las levaduras degradadoras la presencia de poros en las membranas celulares permite el paso de hidrocarburos (Morgan y Watkinson, 1994).

La oxidación de hidrocarburos alifáticos, tanto por bacterias como por hongos, consiste en convertir la cadena hidrocarbonada del alcano en el ácido graso correspondiente mediante la oxidación del grupo metilo terminal. En presencia de oxígeno la cadena del alcano puede ser atacada por monoxigenasas o dioxigenasas (Bouwer y Zehnder, 1993), las cuales introducen uno o dos átomos de oxígeno en la molécula, formándose así un alcohol.

Posteriormente, el alcohol es oxidado a un aldehído y después al ácido graso correspondiente. Una vez que el hidrocarburo se encuentra en forma de ácido graso, es utilizado en la ruta catabólica de la  $\beta$ -oxidación, donde se remueven unidades de dos carbonos para la formación de acetil-CoA, éste es llevado hasta  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  por el ciclo de los ácidos tricarboxílicos, la oxidación de NADH +  $\text{H}^+$  y FADH<sub>2</sub> generados por la oxidación de nutrientes se lleva a cabo en cadena respiratoria y como subproducto se produce ATP (Wackett y col. 1989).

Los compuestos alifáticos insaturados (alquenos y alquinos) son oxidados por vía aerobia por mecanismos similares a los utilizados para los alcanos. Sin embargo, los enlaces dobles o triples son más reactivos químicamente y pueden experimentar otro tipo de reacciones tales como epoxidación e hidratación (Bouwer y Zehnder, 1993). Existen un sin número de rutas catabólicas de los hidrocarburos que generalmente pueden llegar a intermediarios menos tóxicos para el ambiente (Smit, 1994).

Los compuestos polares como las resinas y los asfaltenos, poseen estructuras químicas muy complejas que los convierten en compuestos recalcitrantes a la biodegradación, debido a su insolubilidad y a que presentan grupos funcionales que se encuentran protegidos del ataque microbiano, además de estar constituidos por un gran número de anillos aromáticos (Atlas, 1991; Baker y Herson, 1994). Sin embargo, algunos estudios han reportado la degradación de asfaltenos por cometabolismo, en presencia de alcanos alifáticos de 12 a 18 átomos de carbono (Leahy y Colwell, 1990).

Los compuestos aromáticos que poseen como estructura primaria la molécula de benceno, denominados BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos), se encuentran como contaminantes frecuentes y constituyen un porcentaje elevado de la composición del petróleo. Su degradación se lleva a cabo mediante dos vías oxidativas: la activación del anillo y su ruptura. La activación involucra la incorporación de oxígeno en el anillo, esto es, una dihidroxilación del núcleo aromático. Esta activación se lleva a cabo también por la acción de las enzimas mono o dioxigenasas (Cerniglia, 1992). En la segunda fase, los dihidrodioles sufren una oxidación para formar derivados dihidroxilados, como el catecol, los cuales son precursores de la ruptura del anillo por oxidación vía meta u orto, produciendo el semialdehído 2-hidroximucónico y el ácido mucónico, respectivamente. Posteriormente, estos compuestos son oxidados para formar ácidos grasos que pueden ser utilizados por los microorganismos para la síntesis celular y la producción de energía (Eweis y col. 1998).

Se sabe que los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) son degradados, un anillo a la vez, por mecanismos similares a los de la degradación de los hidrocarburos aromáticos. Sin embargo, la biodegradabilidad de los HAP) tiende a disminuir conforme se incrementa el número de anillos que los constituyen y conforme se incrementa el número de radicales alquilo que poseen (Park y col. 1990). El metabolismo microbiano del naftaleno, fenantreno y antraceno ha sido estudiado ampliamente (Gibson y Subramanian, 1984; Bouwer y Zehnder, 1993). La solubilidad que presentan en compuestos polares influye mucho en la biodegradación de estos compuestos. Al utilizar cepas puras pueden formarse intermediarios tóxicos, pero el uso de cultivos mixtos o consorcios microbianos permite degradar estos intermediarios, favoreciendo la mineralización completa de los contaminantes (Singleton, 1994). El sinergismo entre bacterias, hongos y levaduras provoca un incremento en la velocidad de oxidación de los hidrocarburos (Riser-Roberts 1998).

#### *Propiedades de algunos microorganismos hidrocarbonoclastas.*

Uno de los géneros bacterianos más explotados en bioprocesos no convencionales es *Rhodococcus*, un grupo único consistente en microorganismos que presentan una gran diversidad metabólica, capaz de transformar, biodegradar y utilizar como única fuente de carbono compuestos hidrófobos. Los *Rhodococcus* son aeróbios, Gram positivos, inmóviles, Nocardiformes, Actinomicetos, que en algunas ocasiones presentan pequeñas proyecciones filamentosas. Las

características bioquímicas encontradas en algunas cepas son la producción de poli-3- hidroxialcanoatos, acumulación de metales pesados y enzimas útiles como la fenilalanina, deshidrogenasa y endoglucosidasas (Benavides y Quintero, 2005).

El *Rhododoccus* posee una gran variedad de vías metabólicas para la degradación y modificación de compuestos aromáticos, incluyendo las actividades de di-oxigenasa y mono-oxigenasa sobre anillos, así como la actividad de ruptura de catecol. Algunas cepas presentan también la vía del 3-oxoadipato. Lo anterior sumado a su capacidad de crecimiento en medios con escasos nutrientes, la carencia de un sistema de represión catabólica y su persistencia ambiental las hacen excelentes candidatas para los tratamientos de biorremediación (Flavio y Zachia, 1999).

El *Rhodococcus sp.* utiliza el dibenzotiofeno (DBT) como única fuente de azufre, el DBT y sus derivados son los órganoazufrados más abundantes en el diesel primario. En México, investigadores del Instituto Mexicano del Petróleo han aislado cepas de *Rhodococcus* de sitios contaminados con petróleo capaces de desulfurar muestras de diesel. Otros microorganismos reportados como capaces de utilizar el DBT como fuente de azufre son las cepas de *Gordona* y *Nocardia sp.* Dentro de las aplicaciones industriales y ambientales, se incluye la producción de ácido acrílico y acrilamida, conversión de esteroides, biorremediación de hidrocarburos clorados y fenoles, a lo que se añade su gran capacidad de degradar hidrocarburos alifáticos halogenados y numerosos compuestos aromáticos, como

los PHA's (hidrocarburos policiclicos aromáticos), evidenciandose que tanto *R. rhodochorus* como *R. erythropolis* demostraron ser una excepción, pues la degradación de naftaleno por parte de estos no es significativa, debido a que la actividad degradadora de PAHs por parte de estos microorganismos, se ve regulada por las proteobacterias del medio afectado (Nicholson y Fathepure, 2004).

Las bacterias del género *Pseudomonas* poseen la habilidad para utilizar diversos substratos, incluyendo aquellos creados por el petróleo. Las *Pseudomonas* son bacterias Gram negativas, oblicuas, que pertenecen a la subclase gamma de las Proteobacterias. Las *Pseudomonas* son bacterias productoras de biosurfactantes como los ramnolipidos involucrados en procesos de remoción de aceites y productos relacionados, Bushnell y Hass fueron de los primeros en describir bacterias productoras de biosurfactantes, como el *Corynebacterium simplex* y cepas de *Pseudomonas*. La *Pseudomona aeruginosa*, es otro de los microorganismos más usado y estudiado en biorremediación y presenta una serie de actividades naturales sobre xenobióticos. Lamentablemente, también es conocida por ser un patógeno oportunista en humanos y causante de complicaciones graves en personas inmunosuprimidas, con quemaduras severas o con fibrosis quística (Rockne y col. 2000).

Estudios con relación al desempeño metabólico de la *Pseudomonas aeruginosa* ha permitido identificarla como degradadora de gran cantidad de sustratos como el n-hexadecano, mineralización de compuestos alifáticos en condiciones anaerobias, y degradadora de hidrocarburos aromáticos y poli aromáticos, así

como del pireno en estudios *in vitro*. La *P. aeruginosa* tiene la capacidad de sintetizar ramnolipidos cuando se encuentra en la fase estacionaria de su crecimiento, por tal razón esto sólo se puede realizar en la primera fase del proceso de biorremediación y contribuyendo así con la movilización y solubilización de los contaminantes durante la fase siguiente de mineralización. Al mismo tiempo que pueden transformarse bajo microcosmos en el suelo con un tratamiento físico o químico específico, característica que comparte con el *Agrobacterium tumefaciens* (Demaneche, 2011).

La *Pseudomona putida* es un saprofito del suelo, oportunista, cosmopolita, metabólicamente versátil, por poseer una dioxigenasa inicial, una tolueno dioxigenasa, aunque no presenta la dioxigenasa específica para los PAHs por lo cual es una buena candidata para las aplicaciones biotecnológicas, tales como agricultura, biocatálisis, biorremediación, biocontrol en protección de las plantas y producción de bioplásticos (Danne, 2011).

La *Pseudomonas fluorescens* es degradadora de naftaleno y fenantreno, ventaja que tiene frente a las otras *Pseudomonas*, que solo metabolizan naftaleno y asfaltenos. Estudios realizados demuestran que *Flavobacterium* y *Pseudomonas* son los microorganismos más aislados en la fase de degradación de los TPH (Hidrocarburos Totales). La *Pseudomonas stutzeri* es una degradadora de PHA's. *Burkholderia* es otro género bacteriano utilizado para biorremediación de herbicidas y pesticidas recalcitrantes y también es usado para proteger cultivos



contra hongos. Debido a su genoma extremadamente flexible, *Burkholderia cepacia*, bacilo Gram negativo no fermentador, productora de pigmento amarillo tiene una gran capacidad mutagénica y adaptativa, ha sido recuperada a partir de agua y superficies húmedas, es resistente a múltiples antibióticos y ésta capacidad es altamente transmisible entre especies. Por todas estas razones, la selección de cepas seguras” para su uso ambiental no es posible por el momento y su uso en la agricultura también debe ser cauteloso. Aunque es una excelente degradadora de los hidrocarburos aromáticos (Rockne, Sanford, 2000).

El *Acinetobacter sp.* es un bacilo Gram negativo, es productor de ácido a partir de la glucosa, se desarrolla a 41 y 44°C, produce a-xilosa y utiliza el malato. Dentro de las especies de importancia ambiental se destacan, *A. baumannii*, *Acinetobacter calcoaceticus* carente de ácido metílico. Las cepas de *Acinetobacter baumannii* son eficientes en la degradación de fracciones de alcanos (Diaz, Burgess, 2002).

En cuanto a la capacidad de degradación del isooctano, resulta ser complicada en las muestras naturales, solo se ha aislado el *Mycobacterium austroafricanum* con esta capacidad, así como también se ha encontrado que esta cepa se caracteriza por el uso de ciclohexano como un co-sustrato, pues su habilidad radica en el uso de isooctano como única fuente de carbono (Floriane y col. 2000).

Otro género estudiado dentro de las técnicas de biorremediación es *Sphingomonas*, bacilos no fermentadores y dentro de estos la *Sphingomonas wittichi* es un microorganismo capaz de degradar en condiciones anaerobias el 2,7

diclorobenceno, produciendo el metabolito 4 clorocatenol y el 1,2,3,4 tetraclorodibenceno, y cepas como *Sphingomonas yanoikuyae*, y *Sphingomonas paucimobilis* como degradadoras de PAH's utilizándolos como única fuente de energía, tienen actividad Catecol 2,3- dioxigenasa, fenantreno y antraceno. Se han aislado cepas capaces de metabolizar naftaleno y fenantreno como única fuente de carbono, estas fueron taxonómicamente implicadas en diferentes subclases de las Proteobacterias (*Sphingomonas sp.* *Acidovorax sp.* *Comamonas sp.* y *Pseudomonas sp.* ) y a bacterias Gram positivas con bajo y alto contenido de DNA G+C (*Paenibacillus sp.* y *Rhodococcus sp.* respectivamente). *Alcaligenes sp.*, *Micobacterium sp.* y *Bacteroides sp.* han sido reportados como degradadores de hidrocarburos de petróleo, y estos filotipos son candidatos para el tratamiento de terrenos contaminados con TPH (Nannipiery y col. 2001).

La degradación del bifenil policlorinado PCBs y otros hidrocarburos por microorganismos como *Comamonas acidovorans*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Achromobacte*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium devorans*, *Bacillus lentus*, *Bacillus mascerans* y *Bacillus thuringensis* ha sido aplicada con buenos resultados para el tratamiento de los mismos. Se ha referenciado que las *Comamonas* son degradadoras de fenaltreno, *Gordona* degrada el Pireno, de 5 a 35 días luego de ser inoculada. *Azoarcus* puede degradar benceno, tolueno, etilbenzeno y xileno (De Boer, 2003; Jizhong, 2001)

### *Fundamento bioquímico de la biodegradación*

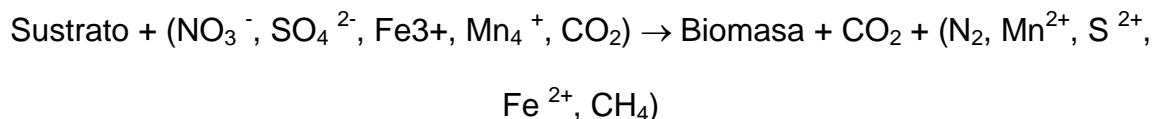
El fundamento bioquímico de la biorremediación se basa en que en la cadena respiratoria, o transportadora de electrones de las células, se van a producir una serie de reacciones de óxido-reducción cuyo fin es la obtención de energía. La cadena la inicia un sustrato orgánico (compuestos hidrocarburos) que es externo a la célula y que actúa como dador de electrones, de modo que la actividad metabólica de la célula acaba degradando y consumiendo dicha sustancia (Maroto y Rogel, 2001).

Los aceptores más comúnmente utilizados por los microorganismos son el oxígeno, los nitratos, el hierro (III), los sulfatos y el dióxido de carbono. Cuando el oxígeno es utilizado como aceptor de electrones la respiración microbiana se produce en condiciones aerobias, y los procesos de biodegradación serán de tipo aerobio; sin embargo, si utiliza los sulfatos o el dióxido de carbono se produce en condiciones reductoras o anaerobias, y los procesos de biodegradación serán de tipo anaerobio (Maroto y Rogel, 2001).

Degradación aerobia:



Degradación anaerobia:



La concentración y composición de la comunidad microbiana y la tasa de transformación de contaminantes está influenciada por diversos factores:

- I. Necesidad de nutrientes: El metabolismo microbiano está orientado a la reproducción de los organismos y éstos requieren que los constituyentes químicos se encuentren disponibles para su asimilación y sintetización. Los nutrientes principalmente requeridos son el fósforo y el nitrógeno. Por lo general suele haber en el suelo una concentración de nutrientes suficiente, sin embargo, si estos no se encontrasen en el rango normal se puede adicionar mayor cantidad al medio (Maroto y Rogel, 2001). El rango normal de C:N:P depende del sistema de tratamiento a emplear, siendo de modo habitual 100:10:1.
  
- II. pH del suelo: afecta significativamente en la actividad microbiana. El crecimiento de la mayor parte de los microorganismos es máximo dentro de un intervalo de pH situado entre 6 y 8. Así mismo el pH también afecta directamente en la solubilidad del fósforo y en el transporte de metales pesados en el suelo. La acidificación o la reducción del pH en el suelo se puede realizar adicionando azufre o compuestos del azufre (Maroto y Rogel, 2001).
  
- III. Temperatura: generalmente las especies bacterianas crecen a intervalos de temperatura bastante reducidos, entre 15 y 45 °C (condiciones mesófilas),

decreciendo la biodegradación por desnaturalización de las enzimas a temperaturas superiores a 40 °C e inhibiéndose a inferiores a 0 °C (Maroto y Rogel, 2001).

- IV. Humedad: los microorganismos requieren unas condiciones mínimas de humedad para su crecimiento. El agua forma parte del protoplasma bacteriano y sirve como medio de transporte a través del cual los compuestos orgánicos y nutrientes son movilizados hasta el interior de las células. Un exceso de humedad inhibirá el crecimiento bacteriano al reducir la concentración de oxígeno en el suelo. El rango varía en función de la técnica (Maroto y Rogel, 2001).
- V. Estructura química del hidrocarburo: la inherente biodegradabilidad de un hidrocarburo depende, en gran medida, de su estructura molecular. Siendo los parámetros que más van a afectar la halogenación, la existencia de ramificaciones, la baja solubilidad en el agua y la diferente carga atómica (Maroto y Rogel, 2001).

La mayoría de estos descubrimientos sobre el metabolismo de la biodegradación de hidrocarburos fueron realizados en laboratorios académicos. Luego gracias al esfuerzo de profesionales trabajando en la industria petrolera misma, así como en empresas dedicadas a la restauración ambiental, se implementaron estos descubrimientos en el campo (Maroto y Rogel, 2001).

## *Fitorremediación*

El proceso de fitorremediación busca contener, estabilizar, secuestrar-adsorber, asimilar, reducir, degradar, metabolizar o mineralizar los contaminantes — hidrocarburos, pesticidas, metales pesados, sales, solventes clorados, entre otros— presentes en el suelo, agua subterránea o sedimentos a través de especies vegetales con características especiales (Hutchinson, 2001).

Inicialmente, el término de fitorremediación se asoció al uso de plantas capaces de bioconcentrar niveles inusuales de metales en sus tejidos. La mayor parte de ellas están constituidas por pequeñas plantas herbáceas que se desarrollan en zonas metalúrgicas naturales o en depósitos. Hoy en día, las investigaciones en fitorremediación se encaminan no sólo al tratamiento de contaminantes inorgánicos (metales, metaloides, haluros y radionucleidos), sino también al tratamiento de contaminantes orgánicos (50); algunas especies de plantas probadas con éxito en la fitorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo son: *Zea mays L.*, *Panicum maximum Jacq.*, *Paspalum virgatum L.*, *Echinochloa polystachya H.B.K.*, *Sorghum vulgare L.*, *Phaseolus vulgaris L.*, *Phaseolus coccineus L.*, *Chamaecrista nictitans (L.) Moench.*, *Brachiaria brizantha (Hochst. ex A. Rich) Stapf.*, *Triticum aestivum L.*, *Hordeum vulgare L.*, entre otras. (Revista Latinoamericana de Microbiología vol 48. Abril - Junio de 2006).

En la rizósfera —área de la planta que comprende la raíz y los tres milímetros que la rodean— se libera oxígeno y más de 100 exudados —azúcares, ácidos alifáticos, aminoácidos, ácidos aromáticos, compuestos fenólicos, ácidos grasos, esteroides y enzimas (las cuales facilitan a las bacterias fraccionar las moléculas de los contaminantes)— que sumados a la humedad y características del suelo crean condiciones ideales para el desarrollo de bacterias y hongos que intervienen en la biodegradación de contaminantes (Martínez, 2007).

Los diferentes niveles de descontaminación por fitoremediación dependerán de la interacción suelo-planta-contaminante. El análisis y muestreo de estos tres elementos son parte de la primera etapa donde se caracteriza el terreno afectado por sus propiedades, químicas y biológicas (op. cit).

En la planta se examina el tipo de especie, el abastecimiento para cubrir la zona contaminada, el tipo y profundidad de raíz —mientras más contacto tenga con el tóxico aumenta la eficiencia—, requerimientos climáticos, tasa de transpiración y crecimiento —son preferibles las que tienen ciclos de vida corta porque limpian más rápido (Martínez, 2007).

Por otro lado, la información del contaminante nos permite decidir si se usa la fitoremediación como alternativa primaria o final para descontaminar el suelo. En este se mide sorción, biodisponibilidad, solubilidad, presión de vapor, Constante de Henry, distribución, fuente y concentración —si la toxicidad es alta, la

fitoremediación se usaría al final para pulir la descontaminación después de otro proceso de remediación (op. cit.).

De igual forma, para determinar si se requiere o no la fitoremediación se evalúa el volumen de suelo contaminado, las condiciones climáticas, hidrogeología y la dirección del agua freática, tomando en cuenta la normatividad ambiental a través de un estudio de diagnóstico del sitio con base a la legislación ambiental aplicable, por ejemplo la NOM-138-SEMARNAT/SS-2003, donde se indican las especificaciones de la caracterización y los límites máximos permisibles de hidrocarburos (Martínez, 2007).

#### *Aplicaciones de la fitorremediación*

Puede aplicarse eficientemente para tratar suelos contaminados con compuestos orgánicos como benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos (BTEX); solventes clorados; HAP; desechos de nitrotolueno; agroquímicos clorados y organofosforados; además de compuestos inorgánicos como Cd, Cr (VI), Co, Cu, Pb, Ni, Se y Zn (Sellers, 1999). Se ha demostrado también su eficiencia en la remoción de metales radioactivos y tóxicos de suelos y agua.

Especies como el álamo, sauce, pasto alemán, maíz, rábano, mimosa, festuca, alfalfa, frijol, girasol, cebada, soya, crisantemo, trébol, entre otras están señaladas



por referencias bibliográficas como degradadoras de hidrocarburos. Para la extracción de metales se utilizan el girasol, colza, sorgo, lirio acuático, etcétera.

El proceso de fitoremediación tiene como beneficios mejorar las condiciones del suelo, optimizar la calidad de agua freática, evitar la erosión eólica e hídrica, brinda servicios ambientales útiles para cualquier ecosistema —restauración—, provee el hábitat para especies silvestres, favorece la captura de CO<sub>2</sub>, es de bajo costo y puede combinarse con otras tecnologías de remediación. México cuenta con una amplia variedad biológica de especies vegetales con las que puede facilitar la estabilización de las condiciones del ambiente y promover su mejoramiento a través de prácticas de conservación del suelo.

La *fitodescontaminación* (cuadro 3) es el proceso por el cual la concentración de contaminantes del suelo se reduce a niveles tolerables a través de la acción de las plantas, su microflora asociada y de las técnicas agronómicas apropiadas. A su vez, comprende los siguientes procesos:

**Fitoextracción.** Es el proceso por medio del cual, tanto los contaminantes metálicos, como los contaminantes orgánicos del suelo, son absorbidos directamente por las plantas e incorporados a su biomasa, que con posterioridad será recolectada para su destrucción (Torres y Zuluaga, 2009). (Fig. 5).

**Fitovolatilización.** Proceso por el cual las plantas y la actividad microbiana asociada, a través de enzimas especializados, pueden transformar, degradar y finalmente volatilizar los contaminantes desde el suelo. La volatilización puede producirse tanto desde el sistema radicular como desde la parte superficial del suelo (Torres y Zuluaga, 2009) (Fig. 5).

**Fitodegradación.** Es el proceso mediante el cual las plantas toman el contaminante y lo metabolizan transformándolo en un material sin riesgos para el medio natural (Fig. 5).

**Rizodegradación.** Es el proceso por medio del cual las raíces de las plantas, su microflora asociada y/o los productos excretados destruyen el contaminante en la zona radicular (op. cit.) (Cuadro 3).

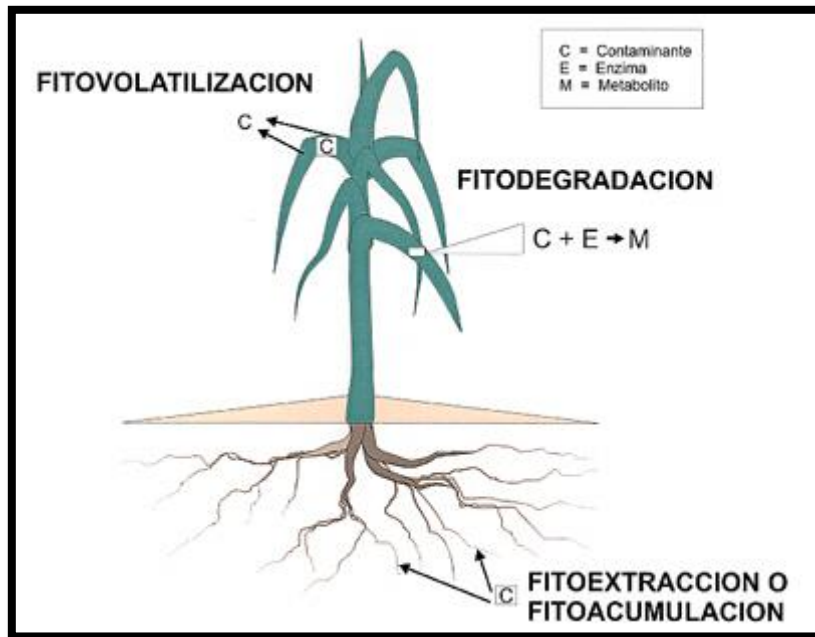


Fig. 5 Procesos de fitorremediación

La *fitoestabilización* es el proceso que está encaminado al secuestro y estabilización de los contaminantes en los suelos. Se utilizan plantas tolerantes al contaminante, capaces de estabilizarlo mecánicamente, y por tanto impiden su transporte a otros medios, incluyendo el agua subterránea (op. cit.) (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Tipos de fitorremediación.

<b>TIPO</b>	<b>PROCESO INVOLUCRADO</b>	<b>CONTAMINANTE</b>
<b>Fitoextracción</b>	Concentración de metales pesados en las partes aéreas y cosechables de la planta.	Cadmio, cobalto, cromo, níquel, mercurio, plomo, selenio y zinc.
<b>Rizodegradación</b>	Absorción, precipitación y concentración de los metales pesados en las raíces de efluentes líquidos contaminados. Degradación de compuestos orgánicos.	Cadmio, cobalto, cromo, níquel, mercurio, plomo, selenio, zinc, isotopos radioactivos, compuestos fenólicos.
<b>Fitoestabilización</b>	Las plantas tolerantes a metales se usan para reducir la movilidad de los mismos y evitar el pasaje a aguas subterráneas o al aire.	Desechos mineros, componentes fenólicos y clorados.
<b>Fitoestimulación</b>	Se usan exudados radiculares para promover el desarrollo de microorganismos degradativos (bacterias y hongos).	Hidrocarburos derivados del petróleo y poliaromáticos, benceno, tolueno, etc.
<b>Fitovolatilización</b>	Las plantas captan y modifican metales pesados o compuestos orgánicos y los liberan a la atmosfera con la transpiración.	Mercurio, selenio y solventes clorados (tetraclorometano y triclorometano).
<b>Fitodegradación</b>	Las plantas acuáticas y terrestres captan, almacenan y degradan compuestos orgánicos para dar subproductos menos tóxicos o no tóxicos.	TNT, DNT, RDX, nitrobenzeno, nitrotolueno, atrazina, solventes clorados, DDT, pesticidas, fenoles y nitrilos, etc.

*Tolerancia de las plantas a los contaminantes*

Una característica esencial en cualquier tecnología de fitorremediación es la tolerancia de las plantas a los contaminantes, que se define como la capacidad

para resistir la acumulación en sus tejidos de elevados niveles de compuestos tóxicos. Para comprender el desarrollo de las plantas hipertolerantes es necesario conocer las estrategias moleculares que adoptan para resistir los efectos tóxicos de los contaminantes inorgánicos y orgánicos (Torres y Zuluaga, 2009).

**Tolerancia a los metales pesados.** La tolerancia a los metales pesados por las plantas está limitada tanto por la admisión celular, como por la resistencia de los metales una vez que han penetrado en las células.

Las estrategias empleadas por las plantas, para resistir los efectos tóxicos causados por los metales pesados, se relacionan con los siguientes mecanismos:

- Establecimiento de enlaces entre los metales y la pared celular.
- Nivel de tolerancia por la membrana celular hacia los metales.
- Reducción del transporte por la membrana celular.
- Flujo activo de metales desde las células hacia el exterior.
- Nivel de tolerancia de los enzimas vegetales hacia los metales.
- Compartimentación o acumulación del exceso de metales en órganos subcelulares como son las vacuolas.
- Quelación del metal por ligandos orgánicos y/o inorgánicos (fitoquelatos).
- Precipitación del metal al formar compuestos de baja solubilidad.

**Tolerancia a los contaminantes orgánicos.** Las plantas muestran una variación considerable de su tolerancia hacia los contaminantes orgánicos; dos son los mecanismos por los que las plantas pueden incrementar su resistencia a los contaminantes orgánicos. El primero de ellos consiste en la transformación de los elementos tóxicos en la rizosfera, para ello la planta libera más del 20% de su fotosintato dentro del suelo en forma de exudado radicular. El fotosintato liberado está constituido por una mezcla de azúcares, alcoholes, fenoles, ácidos orgánicos y proteínas que rápidamente son utilizados por las comunidades microbianas existentes en la rizosfera. Estas poblaciones pueden ser, de 100 a 10.000 veces mayores que las poblaciones presentes en la matriz del suelo, y se caracterizan por presentar enzimas específicos capaces de metabolizar los contaminantes orgánicos hacia formas menos tóxicas (Torres y Zuluaga, 2009).

El segundo mecanismo se produce una vez que los contaminantes han atravesado el sistema radicular. En este caso, los elementos tóxicos pueden seguir dos vías de transformación, por un lado se trasladan hacia brotes y hojas para, posteriormente, volatilizarse, y por otro pueden sufrir procesos de metabolización hacia nuevas formas. Estos nuevos compuestos pueden mineralizarse o pueden acumularse como nutrientes o como nuevos contaminantes. La inclusión en órganos subcelulares y la formación de otros compuestos representan las principales vías para la desintoxicación de xenobióticos en plantas (Torres y Zuluaga, 2009).

**CAPÍTULO IV**  
**REMEDIACIÓN DE SUELOS**  
***CASOS DE APLICACIÓN Y ESTUDIO***

Bermúdez y colaboradores en 2011, en su estudio titulado “**Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos en la zona costera de “Punta Majagua”**”, describieron y evaluaron los resultados de la biorremediación de 479 m<sup>3</sup> de residuos petrolizados, contenidos en cuatro depósitos de combustible que habían sido derramados en la zona costera, el diseño propuesto, se basó en el uso de la técnica de bioaumentación, a partir de la aplicación del Bioproducto BIOIL-FC, consorcio bacteriano producido y patentado por el Centro de Bioproductos Marinos de Cuba, cuya formulación contiene un cultivo mixto de bacterias extraídas de la Bahía de Cárdenas, Matanzas, con un alto espectro de degradación de los hidrocarburos del petróleo, aplicándose 54,5 m<sup>3</sup> del producto en un fermentador industrial de 12000 L. Se realizó un muestreo inicial registrándose valores superiores de 41880 mg/kg de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) con altas concentraciones de saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos (SARA) y tres posteriores con una periodicidad de 45, 90 y 120 días a partir de la aplicación. Se obtuvo una concentración media de 1884.57 mg/kg de hidrocarburos totales a los 120 días con una tasa media de remoción de 94.8 %, mientras que para SARA se reportaron valores de 94.6 %, 90.78 %, 86.99 % y 79.9 % respectivamente.

Ordaz, J., Martínez A., Ramos F.R., Sánchez Díaz L. Martínez A., Tenorio J.A. y Cuevas-Díaz M.C. en 2011 con su estudio **“Biorremediación de un suelo contaminado con petróleo mediante el empleo de bagazo de caña con diferentes tamaños de partícula”**, realizaron pruebas de biorremediación a nivel microcosmos a un suelo arcilloso, contaminado con petróleo crudo, del sureste de México con una concentración inicial de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) de 16000 ppm. Se utilizó como texturizante y enmienda al bagazo de caña. Se utilizó suelo con 2 % de bagazo, con un ajuste de nutrientes (carbono, nitrógeno y fósforo) a una relación de 100/10/1. Se empleó un diseño experimental factorial fraccionado (por triplicado) en cultivo sólido, los factores fueron (a dos niveles, + y -): bagazo (tamaño de partícula de 0,84 mm y 4,76 mm), el contenido de humedad (60 % y 90 %) y la temperatura de incubación (28 °C y 33 °C). La máxima remoción de HTP (30 %), después de 20 días, se logró con un tamaño de partícula de 4,76 mm, con una humedad de 60 % y 28 °C. Con esas condiciones se realizó una cinética de remoción de HTP en cultivo sólido durante 20 días, la toma de muestras se realizó cada cinco días, finalmente la máxima remoción de HTP ( 28 %) se obtuvo al día 20. En este estudio se observó que a mayor tamaño de partícula se mejora la remoción de HTP del suelo.

Pérez-Armendáriz y colaboradores en el 2009 realizaron un trabajo denominado **“Remoción por hongos filamentosos de los hidrocarburos de petróleo de un suelo contaminado”** en el cual se estudió la remoción de hidrocarburos de petróleo de un suelo contaminado [65,000 mg de hidrocarburos totales de petróleo



(HTPs)/kg de suelo], el cual había estado expuesto a condiciones ambientales tropicales por más de 20 años en el sureste de México. Los experimentos se llevaron a cabo en reactores de lote (60 mL), los cuales contenían un sustrato a base de suelo contaminado y bagazo de caña de azúcar como agente texturizante (proporción 80:20, peso/peso). Se inocularon reactores de lote, estériles y no estériles, con suspensiones de esporas de *Aspergillus niger*, *Penicillium glabrum*, y *Cladosporium cladosporioides*. Los HTP se determinaron al principio y al final de los experimentos, mientras que la producción y acumulación de CO<sub>2</sub> se determinó por cromatografía de gases. Todas las especies fúngicas estudiadas estuvieron asociadas a la remoción de HTP, tanto en tratamientos estériles como no estériles. Se observó un proceso de bioaumentación debido al efecto sinérgico entre *C. cladosporioides* y la poblaciones microbianas nativas bien adaptadas del suelo contaminado, ya que la remoción más alta de HTP (78.5 %) y mayor acumulación de CO<sub>2</sub> (14.3 %) se registraron en este tratamiento no estéril. En cambio, la remoción más baja de HTP se observó en la misma especie, pero en el tratamiento estéril (62.3 %), demostrando que la ausencia de microbiota nativa adaptada redujo significativamente el metabolismo fúngico (acumulación de CO<sub>2</sub>: 9.1 %), así como la remoción de HTP. Se determinó que los patrones de acumulación de CO<sub>2</sub> y la remoción de HTP en los otros tratamientos pueden relacionarse con competencia interespecífica entre el hongo filamentoso y la microbiota nativa adaptada.

En el trabajo realizado por Zúñiga y colaboradores en el año 2009 titulado **“Especies fúngicas involucradas en la remoción de hidrocarburos utilizando grano verde de café como texturizante”** cuyo objetivo fue identificar las especies fúngicas involucradas en la remoción de hidrocarburos, se determinaron variables de respuesta como la producción de CO<sub>2</sub>, remoción de hidrocarburos de fracción media (HFM), detección de oxalato de calcio por medio de titulación permanganimétrica y cuenta fúngica de poblaciones hidrocarbonoclastas, para ello se inició con la caracterización del suelo y se obtuvo como resultado una concentración de contaminación inicial de 1213 mg de HFM por kg de muestra. Se plantearon diferentes tratamientos durante 12 días obteniéndose la remoción de hidrocarburos en un 92 % y 94 %, respectivamente, además de encontrarse que los hongos con capacidad hidrocarburoclasta más abundantes en el grano verde de café fueron *Aspergillus flavus*, *Penicillium chrysogenum* y *Absidia corymbifera*.

En el 2007, Ferrera-Cerrato y colaboradores con su trabajo denominado **“Fitorremediación de un suelo contaminado con combustóleo usando *Phaseolus coccineus* y fertilización orgánica e inorgánica”** fueron de los primeros en reportar la fitorremediación de hidrocarburos en suelo usando *P. coccineus*. Se usó suelo contaminado (SC) con combustóleo (50 000 mg kg<sup>-1</sup>) de la localidad de Frijol Colorado, Veracruz, el área afectada por el derrame fue aproximadamente 100 m<sup>2</sup>. El suelo presentó pH 6.6, 0.1 % N, 25 µg g<sup>-1</sup> P Olsen, 2.1 % materia orgánica (MO), y textura franca. Las unidades experimentales

fueron recipientes de cristal ámbar rellenos con suelo (250 g por unidad) usándose SC con combustóleo y SNC que se prepararon así: la muestra compuesta se dividió en tres partes, en una parte se aplicó 5 % MO (FOrg; vermicomposta de café); en otra parte se aplicó solución nutritiva completa de Long Ashton (Hewitt, 1966) que fue el tratamiento con fertilización inorgánica (FInor); el suelo restante se mantuvo sin fertilización (NoF). La degradación de combustóleo se determinó a los 90 días, mediante extracción y cuantificación de hidrocarburos de dos muestras compuestas de suelo de cada tratamiento, obteniéndose como resultado que usando las dos fertilizaciones se logra mayor remoción a los 90 días de iniciado el proceso.

Otro estudio en el 2007 titulado **“Remoción de fenantreno por *Azolla caroliniana* utilizando bioaumentación con microorganismos hidrocarbonoclastas”** realizado por Castro-Carrillo y colaboradores tuvo como objetivo conocer la capacidad de crecimiento y remoción de fenantreno (FEN) por el helecho *Azolla caroliniana*, utilizando bioaumentación con *Bacillus stearrowthermophilus* y *Oscillatoria sp.* De acuerdo a los resultados obtenidos en la Fase I, se seleccionó la colecta de *Azolla* que mostró mayor tolerancia a FEN. Se inoculó un consorcio con dos microorganismos degradadores de FEN, *Bacillus stearrowthermophilus* y *Oscillatoria sp.* (BST+OSC). La bacteria *B. Stearrowthermophilus* tiene la capacidad de producir un surfactante útil en la degradación de hidrocarburos del petróleo. La cianobacteria *Oscillatoria* es fijadora

de N<sub>2</sub> atmosférico y tiene capacidad fotosintética. De cada cultivo microbiano se tomaron 5ml (10<sup>9</sup> células-ml<sup>-1</sup>), para inocular las respectivas unidades experimentales, las cuales tras un periodo de 49 días presentaron una remoción del 80 % mostrando esta similitud en el proceso donde solo actuaron microorganismos autóctonos.

En el 2006 el trabajo de Rivera y colaboradores “**Fitorremediación de suelos con benzo(a)pireno mediante microorganismos autóctonos y pasto alemán *Echinochloa polystachya* (H.B.K.) Hitch**”, se realizó un experimento en invernadero para tratar un suelo contaminado con (100 mg / kg de benzo(a)pireno y cuatro diferentes tipos de inóculos. A los 60 días las bacterias, hongos y el consorcio bacterias-hongos presentaron las poblaciones máximas. La biodegradación del BaP a los 120 días fue significativamente mayor en suelo rizosférico inoculado con la asociación bacterias-hongos, y fue determinada por espectrofotometría Uv/visible a 381 nm y observándose que esta degradación removi6 hasta el 66.5 % del BaP.

De los Santos y colaboradores en el a6o 2005 con el trabajo denominado “**Aislamiento, identificaci6n y cin6tica de microorganismos degradadores de hidrocarburos del petr6leo, nativos de un suelo minero**”, aislaron cepas capaces de utilizar diesel comercial como 6nica fuente de carbono, y de acuerdo al m6todo sugerido por Cowan y Steel en 1982 de suelo minero contaminado con

hidrocarburos del petróleo. Se determinaron cinéticas de crecimiento y degradación de hidrocarburos a nivel matraz (0.1L) y fermentador (6 L), utilizando una solución mineral y como fuente de carbono  $C_{16}H_{34}$  al 1 %. Los principales microorganismos encontrados durante el aislamiento, utilizando como única fuente de carbono el diesel, fueron una bacteria perteneciente al género *Flavobacterium*, y un hongo del género *Aspergillus*. Las pruebas de caracterización cinética a nivel matraz realizada a los microorganismos antes mencionados nos muestran que en el caso de *Flavobacterium*, éste fue capaz de degradar un 60% de  $C_{16}H_{34}$  en un periodo de 39 horas y en el de *Aspergillus*, el  $C_{16}H_{34}$  fue degradado a un 40% a los 13 días, además demostraron que los microorganismos aislados e identificados son capaces de crecer en simbiosis utilizando como fuente de carbono diesel comercial, logrando un porcentaje cercano al 90 %. Reafirmando así que *Flavobacterium* y *Aspergillus*, son capaces de degradar hidrocarburos del petróleo eficientemente en periodos de tiempo relativamente cortos.

Hernández-Acosta y colaboradores 2003, con el trabajo “**Bacterias y hongos hidrocarbonoclastas de rizósfera frijol y maíz, en un suelo contaminado con petróleo**” estudiaron la interacción de bacterias y hongos hidrocarbonoclastas (HCT's). Colectaron muestras de suelos rizosféricos de la leguminosa *Chamaecrista nictitans* y del pasto *Panicum sp.*, las cuales crecían en presencia de petróleo crudo en suelos de Minatitlán, Veracruz. A partir de suelos rizosféricos de las plantas mencionadas, se prepararon diluciones y se realizaron siembras en

cajas de Petri, como fuente de carbono en los medios de cultivo se agregó 2 mL de petróleo, como resultado de estos aislamientos de bacterias, tres se clasificaron como *Pseudomonas sp.* y dos como *Agrobacterium sp.* en lo referente a los aislamientos de hongos, dos se identificaron como *Trichoderma sp.*, uno como *Aspergillus sp.* y el último como *Mucor sp.* Se sembraron semillas de frijol var. negro INIFAP y una colecta de maíz criollo (MV06) y se aplicaron 5 mL de inóculo de bacterias HCT's con una carga de  $5.0 \times 10^{10}$  UFC mL<sup>-1</sup> y 5 mL de inóculo de hongos HCT's con una carga de  $4.0 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>, después el suelo se regó con agua destilada estéril. Gracias a estos tratamientos se descubrió que la rizósfera de maíz permitió mayores tasas de degradación en comparación con la rizósfera de frijol.

Hernández A., E. Ferrera-Cerrato; R. Rodríguez. también en el 2003 con su estudio **“Bacterias de vida libre fijadoras de nitrógeno atmosférico en rizósfera de frijol contaminada con queroseno”**, evaluaron la influencia del queroseno sobre la capacidad de fijar N atmosférico por BFNA y BFNA hidrocarbonoclastas (HC's) establecidas en *Phaseolus vulgaris L.* Se consideraron dos factores: presencia de planta (con y sin planta) y cuatro concentraciones de queroseno (0, 500, 2,500 y 5,000 mg kg<sup>-1</sup>). En invernadero, se estableció un diseño experimental completamente al azar que consistió de ocho tratamientos con seis repeticiones. Se analizaron muestras de raíz (para evaluar poblaciones del rizoplano) y muestras de suelo (para evaluar poblaciones de rizósfera y suelo sin planta) 19, 47 y 83 días después del trasplante. Se estimó la actividad de

reducción de acetileno en BFNA-HC's para conocer su potencial en la fijación de N atmosférico. La presencia del queroseno no afectó drásticamente las poblaciones de BFNA y BFNA-HC's; al evaluar la fijación de N atmosférico, se encontró que las bacterias podían llevar a cabo esta función. Las mayores poblaciones fueron: para BFNA ( $410 \times 10^4$  UFC g<sup>-1</sup> raíz) en el rizoplano en la concentración 2500 mg kg<sup>-1</sup> de queroseno y para BFNA-HC's ( $299 \times 10^4$  UFC g<sup>-1</sup> suelo) en la rizósfera, en la concentración 500 mg kg<sup>-1</sup> de queroseno.

Se aislaron 21 cepas de BFNA-HC's de las cuales 29 % mostró actividad de la enzima nitrogenasa. Estos resultados muestran que las BFNA-HC's pueden ser una opción para biorremediar suelos contaminados por queroseno y que su aplicación inducirá la incorporación de N en los suelos afectados. En relación con lo anterior, Perez-Vargas y col. (2000) estudiaron la capacidad de las BFNA en la utilización de queroseno como única fuente de carbono y encontraron que éstas lograban reducir hasta en 75 % el total de los hidrocarburos del queroseno. Supieron que este grupo de bacterias fijaba de 4 a 183 nmol N<sub>2</sub> 3E09<sup>-1</sup> bacteria<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> (nanomoles de N atmosférico fijado por un exponencial de bacterias  $1 \times 10^9$  por día). Algunos reportes indican que las BFNA de vida libre se encuentran ampliamente distribuidas en muchos ecosistemas de suelo (Knowles y Barriquio, 1999). Años atrás (Bossert y Bartha, 1984) reportaron que los suelos crónicamente contaminados con petróleo crudo son capaces de sostener abundantes poblaciones de bacterias fijadoras de N atmosférico de vida libre.

El suelo utilizado presentó las siguientes características físicas y químicas: pH, 8.3; conductividad eléctrica, 0.18 dS m<sup>-1</sup>; materia orgánica, 0.41 %; N total, 0.04%; P Olsen, 16 mg kg<sup>-1</sup>; K intercambiable, 0.55 meq/100 g suelo; y textura franco-arcilloso-arenosa. Se utilizaron macetas de plástico con capacidad de 4 kg de suelo, las cuales no se perforaron para evitar la pérdida del queroseno en el momento del riego. El suelo no se esterilizó para asegurar la presencia de los microorganismos que se encuentran de manera natural.

En el 2000, Margesin R. y Schinner F. con el trabajo **“Biorremediación (Atenuación Natural y Bioestimulación) de suelos contaminados por diesel en un área de esquí en los glaciares Alpinos”**, se utilizaron lisímetros de campo (mesocosmos) con pruebas sin fertilización y fertilizado (N-P-K). Durante tres temporadas (Julio 1997- Septiembre 1999), se supervisó los cambios en las concentraciones de hidrocarburos en el suelo y los lixiviados así como los cambios en los recuentos microbianos y su actividad, para lograr una reducción significativa en el nivel de aceite diesel. Al final de la tercera estación de verano (después de 780 días), el nivel inicial de contaminación (2612.6 mg de hidrocarburos /g [peso seco] de suelo) se redujo en 50 % y 70 % en el suelo no fertilizado y fertilizado, respectivamente. Sin embargo, los niveles residuales de contaminación (1296 y 774 mg de hidrocarburos /g [peso seco] de suelo en terreno no fertilizado y fertilizado, respectivamente) siguieron siendo elevadas.



La mayor parte de la pérdida de hidrocarburos se produjo durante la primera temporada de verano (42 % de pérdida) en el terreno abonado y durante la segunda temporada de verano (41 % de pérdida) en el suelo sin fertilizar. En el suelo fertilizado, todos los parámetros biológicos (el número de microbios, la respiración del suelo y actividades lipasa y catalasa) fueron significativamente mayores existiendo una correlación significativa entre sí, así como con la concentración de hidrocarburo residual, señalando la importancia de la biodegradación. El efecto de la bioestimulación de los microorganismos autóctonos del suelo disminuyó con el tiempo.

En el estudio titulado **“Biorremediación de hidrocarburos de petróleo en suelo contaminado mediante compostaje en biopilas”** hecho por Jürgensen K. S., J. Puustinen<sup>1</sup>, A.-M. Suortti en 1998 se llevó a cabo el compostaje de suelo contaminado con aceite lubricante a una escala de 5 y 40 m<sup>3</sup> con astillas de corteza de árbol como el agente de carga, dos inóculos microbianos comerciales y nutrientes añadidos (N, P, K) para las pruebas.

El compostaje de suelo contaminado con aceite diesel también se realizó en un nivel de adición de nutrientes y sin inóculo. La tasa de degradación del aceite mineral fue más rápida durante los primeros meses siguiendo una típica curva degradación de primer orden. Durante 5 meses, el compostaje del aceite mineral disminuyó en todas las pilas con aceite de lubricación de 2400 a 700 mg (kg peso seco), que era aproximadamente el 70 % del contenido de aceite mineral. En consecuencia, el contenido de aceite mineral en la pila con diesel de petróleo se

redujo en el suelo contaminado al 71 % de 700 a 200 mg (kg peso seco). En este tipo de tratamiento con adición de una gran cantidad de materia orgánica, la actividad microbiana general, medida por la respiración del suelo mejoró.

Los nutrientes se añadieron como fertilizante seco rico en nitrógeno (Typpirikas, Finlandia). El producto contenía 26 % de N, 3 % de P, 3 % de K, 1,5 % S, 0,5 % Mg, B 0,03 % y 0,0006 % de Se. Los compuestos de nitrógeno constaban de  $\text{NH}_4\text{-N}$  (54 %) y  $\text{NO}_3\text{-N}$  (46 %). En las cuatro pilas de lubricación del suelo contaminadas de aceite, la adición era aproximadamente 1 kg de fertilizante por metro cúbico de composta. En la pila de control no se han añadido nutrientes. En una de las pilas (pila 5) la dosis era inicialmente dos veces mayor que en las otras pilas. Además, la mitad de la dosis original se aplicó a la pila 5 después de los 60 y 95 días. Los nutrientes se añadieron manualmente en la parte superior de las pilas antes de la mezcla.

Para el compostaje de aceite lubricante fueron utilizados dos inóculos comerciales. Uno de ellos era un polvo seco que consiste en un cultivo mixto de bacterias degradantes de petróleo, el nombre comercial "PRC 107 DTX" (Interbio Inc., EE.UU., distribuido en Finlandia por Biocora Oy) y el otro, "Oilbac" (Ecolution Oy, Helsinki, Finlandia). Los inóculos se añadieron manualmente en la parte superior de las pilas justo antes de la primera mezcla.

**“Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos utilizando bacterias antárticas psicrotolerantes”** trabajo elaborado por Lucas y colaboradores muestran ensayos a campo en donde se evaluó la eficiencia de la bioestimulación y la biomagnificación sobre suelos antárticos contaminados en forma aguda y crónica con hidrocarburos. En los sistemas con biomagnificación, se utilizaron como inóculo, cepas y consorcios bacterianos psicrotolerantes aislados de suelos con historia de contaminación con Gas Oil. Se utilizaron las siguientes cepas: ADH (*Rhodococcus sp.*), DM1-41 (*Stenotrophomonas maltophilia*), MP2-4 (*Stenotrophomonas sp.*), M10dp (*Pseudomonas sp.*) y los consorcios bacterianos M10 y J13. Todas las cepas y consorcios tienen capacidad para utilizar distintos hidrocarburos (alifáticos y aromáticos) como única fuente de carbono y energía (Bej y col. 2000; Mac Cormack, 1999; Margesin y Schinner 1997).

Se realizaron ensayos en diferentes escalas: microcosmos (Duarte da Cunha y Ferreyra, 2000) de 0.25 kg en frascos, microcosmos de 3 kg en bandejas y parcelas de 50 kg de suelo, todos expuestos a las condiciones ambientales antárticas. Los suelos crónicamente contaminados se obtuvieron de las áreas de manejo de combustible de las bases Jubany y Marambio hoy base Carlini.

En todos los ensayos se observó que las condiciones climáticas antárticas producen una importante eliminación abiótica de los contaminantes que osciló entre el 40 % y el 60 % de la carga inicial. Los ensayos en frascos mostraron que, cuando el suelo prístino fue sometido a una contaminación aguda con gasoil

existió una significativa respuesta de la microflora autóctona (35 % de remoción comparado con el control abiótico). Sin embargo la presencia de un inóculo externo produjo una significativa reducción en la concentración final de los contaminantes (81,1 % de remoción). Ensayos en bandejas utilizando suelo contaminado con un hidrocarburo aromático policíclico (fenantreno) mostraron resultados similares.

Cuando se analizaron suelos crónicamente contaminados en sistemas de bandejas, la flora autóctona fue muy efectiva en la remoción de hidrocarburos al ser bioestimulada con N y P (81 % de remoción en 45 días). El sistema inoculado con un consorcio bacteriano aislado del mismo suelo a biorremediar (M10) mostró una remoción del 86 %, mientras que un consorcio aislado de un suelo distinto (J13) mostró una baja eficiencia, similar a la mostrada por la flora autóctona sin bioestimar (62 %).

El estudio llamado “**Presencia de *Azotobacter* en la rizósfera de plantas crecidas en suelos contaminados con hidrocarburos**” de García-Esquivel y colaboradores se realizó con dos suelos rizosféricos. Los suelos se incubaron con medio líquido durante 192 horas para promover el crecimiento de bacterias fijadoras de nitrógeno, observando el crecimiento en todos los cultivos de dos o tres tipos de colonias diferentes, todas Gram negativas y aerobias obligadas. En los suelos con planta una de las colonias aisladas fueron mucoides, redondas, de bordes lisos y de color beige, colonias características de bacterias pertenecientes

al género *Azotobacter*. Estas colonias se denominaron: 11KMO, 2-4MO, 3-1MO y 4-1MO, estos resultados reafirman la presencia de bacterias del género *Azotobacter* en la rizósfera de plantas crecidas en suelos contaminados con hidrocarburos. Además se determinó que estas cepas tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico utilizando una fuente de carbono convencional como es la sacarosa y por otro lado el queroseno como única fuente de carbono. Se trabajó con un suelo sin plantas, tres suelos rizosféricos de pasto Alemán y un suelo rizosférico de una planta de frijol que se incubaron con medio líquido de Rennie (Rennie, 1981) en las siguientes condiciones: 150 r.p.m., y 28 °C durante 7 días para promover el crecimiento de bacterias fijadoras de nitrógeno. El aislamiento y purificación de bacterias se llevó a cabo en cajas con medio de Rennie por la técnica de estría cruzada, incubándolas a 28 °C durante 5 días, para la determinación del crecimiento en presencia de queroseno, se realizaron ensayos en matraces Erlenmeyer, con medio de Rennie modificado, adicionando el Queroseno en una concentración final del 1 %, como resultados se obtuvo que la remoción de queroseno por todas las cepas esta alrededor del 50 % y una pérdida del 12 % por factores abióticos. La menor remoción la presentó la cepa 2-4MO y la mejor remoción la cepa 11KMO con un 64 % de remoción de queroseno.

**Cuadro 3.** Estudio de la efectividad de las técnicas remediativas expuestas en los casos de estudio y aplicación.

Aplicación	Técnica	μorg/planta	H removido	Localizac.	Suelo	% Remoción	t de remoción	Muestra	Efectiva S/N
<b>Fitorrem.</b>	Bioaumentación	Planta <i>Azolla caroliniana</i> c/ <i>Bacillus stearothermophilus</i> y <i>Oscillatoria</i> sp.	Fenantreno 60 mg/ l al 96 % pureza	Tabasco	--	80 %	49 d	300 ml de solución nutritiva Yoshida + 60 mg	Similar con/sin inoculación
<b>Biorrem.</b>	Biomagnificación	<i>Rhodococcus</i> , <i>Stenotrophomona</i> y <i>Pseudomonas</i>	Gasoil Fenantreno (contaminación aguda)	Bases de Jubany / Marambio	Muestra 20 cm prof. Suelo prístino	35 % microflora autóctona 81 % c/ inóculo externo	45 d	0.25 kg	Si C/ inóculo externo
	Bioestimulación con N y P		Contaminación crónica			81 % flora autóctona 62% flora autóctona sin estimulación		3 kg	Si c/ f. autóctona y bioestim.
<b>Fitorrem.</b>	Inóculo en rizófera de maíz y frijol	<i>Pseudomonas</i> , <i>Agrobacterium</i> , <i>Radiobacter</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Mucor</i> .	HTP	Suelo de Minatitlán Veracruz	Textura Migajón arenosa pH 7.8 pobre en M.O, N, rico en P, I.C. 9.15 meq/100g	317.28 mg/kg  256.08mg/kg	28 días  48 días	5 ml de inóculo de bacterias + 5 ml de inóculo de hongos + 700 g de suelo	Frijol + maíz + testigo  Frijol + maíz + bacterias  Maíz mayor
<b>Biorrem.</b>	Bioaumentación con BIOIL	BIOIL –FC bacterias A-5 enriquecido con la cepa CBM-225	HTP	Punta Majagua (Cuba)		5510 y 9760 mg/kg  75%  3000 mg/kg	90 días  120 días	1437 m <sup>3</sup> de tierra divididos en 4 parcelas	Si, cantidades menores a NOM y COPET.
Aplicación	Técnica	μorg/planta	H removido	Localizac.	Suelo	% Remoción	t de remoción	Muestra	Efectiva S/N
<b>Biorrem.</b>	Bioaumentación técnica estéril y no estéril.	<i>Aspergillus niger</i> / <i>P. glabium</i> /	HTP 65 000 mg/kg suelo	Tabasco	20 años contaminado tipo Gleysol mólico.	78.5 % con tratamiento de bioaumen.	25 días	16 g de suelo, 4 g bagazo de caña, 1 ml	Si en bioestimul. esteril, si no se esteriliza

		<i>Cladosporium cladosporioides</i>				Cladosporiod es y moo's nativos.		de esporas	cae a 62.3 % removido
<b>Fitorrem.</b>	Fertilización orgánica e inorgánica para estimulación Planta y moo's.	<i>Phaseolus coccineus</i> con hongos y bacterias en rizófera.	Combustóleo	Frijol colorado, Veracruz	pH 6.6, 0.1 % N, 25 µg/g P Olsen, 2.1 % M.O. textura franca y 50 000 mg /kg hidrocarburo		90 días	250 g suelo + sol. Mineral + vermi-composta	Si, juntas ambas fertilizaciones
<b>Biorrem.</b>	Pruebas de biodegradación	<i>Flavobacterium sp.</i> <i>Aspergillus sp.</i>	Diesel		Suelo minero	Flavobacter 60% Aspergillus 40% Consortio 90%	39 h 13 días 200 h	Matraz de 100 ml y fermentadores de 6 l	Si en consorcio, o solo Flavobacter
<b>Fitorrem.</b>	Sin esterilizar / estéril, con planta /sin planta	Bact. vida libre fij. De N en rizófera de frijol <i>Phaseolus vulgaris</i> Frijol var. Michoacán	Queroseno		pH 8.3, 0.41 % M.O. 16 mg /kg de P Olsen textura franco arcillo-arenosa	Bibliografía: 75 % hubo mayor degradación microbiana 25000mg/kg	19-83 días	4 kg de suelo + plantas	Si disminuyó queroseno y aumento morg en rizófera

**Simbología:**

$\mu$ org: microorganismo

H removido: hidrocarburo removido.

t de remoción: tiempo de remoción.

Efectiva S/N: técnica efectiva sí o no.

NOM: Norma Oficial Mexicana

HTP: Hidrocarburos Totales del Petróleo

OILBAC: Marca registrada de consorcio bacteriano.

Aplicación	Técnica	μorg/planta	H removido	Localizac.	Suelo	% Remoción	t de remoción	Muestra	Efectiva S/N
Fitorremediación	Pruebas biodegradativas	<i>Azotobacter</i> en pasto alemán y frijol var. Tuxpeño	Queroseno , petróleo	Tabasco	Gleysol mólico con 28715 mg/kg de hidrocarburo	64.5 %	5 días	Suelo + medio Rennie mod. Queroseno al 1% a 28 °C	Si
	Inoculación de suelo c/ bacteria- hongo en pasto alemán	<i>Trichoderma sp</i> y <i>Paecilomyces sp</i> en pasto alemán ( <i>Echinochloa polystachya</i> (H.B.K.) HITCH	BENZO (A) PIRENO	Tabasco	Gleysol histi-sódico c/ 323 000 mg/kg pH 5.1, 28.3% M.O. 18.7% arcilla y text. Franco limosa	66.5 % BaP	120 DIAS	450 g suelo estéril, 0.045 g BaP para alcanzar [100 mg/kg ] 2 ml de inóculo	Si con consorcio bacteria hongo
Biorremediación	Tamaño de partícula	Bagazo de caña, bacterias y hongos auctoctonos	HTP		Mezcla cambisol, lluvisol, vertisol	30 %	20 DIAS	16000 ppm	Aumenta al par del tamaño de partícula
	Atenuación natural	Autóctonas	diesel	Eisgrarferner glaciar	Arena y grava carbonosa	50 %	780 dias	2612 mc /g	Si
	Bioestimulación	Autóctonas	diesel	Eisgrarferner glaciar	Arena y grava carbonosa	70 %	780 dias	2612 mc/g	Si
Biorremediación	Composteo x biopilas con inoculo	OILBAC	Lubricante	Helsinki		33 %	145 días	80 m <sup>3</sup>	No
	Composteo x biopilas con inoculo	PRC 107 DTX				47 %			Si
	Composteo x biopilas sin inoculo					33 %			No
	Composteo x biopilas con inoculo	Autóctonas	diesel			28 %			No



**TAXONOMÍA DE ALGUNOS DE LOS MICROORGANISMOS PROPUESTOS EN LOS CASOS DE ESTUDIO CON BUENOS RESULTADOS EN LA REMOCIÓN DE HIDROCARBUROS.**

*Bacillus stearothermophilus*

<b>Reino</b>	<b>Bacteria</b>
<b>Clase</b>	Bacilli
<b>Orden</b>	Bacillales
<b>Familia</b>	Bacillaceae
<b>Género</b>	<i>Bacillus</i>
<b>Especie</b>	<i>stearothermophilus</i>

Catalogado por Donk, 1920

*Oscillatoria*

<b>Reino</b>	<b>Bacteria</b>
<b>División</b>	Cyanobacteria
<b>Clase</b>	Chroobacteria
<b>Orden</b>	Oscillatorales
<b>Familia</b>	Oscillatoraceae
<b>Género</b>	<i>Oscillatoria</i>

*Rhodococcus*

<b>Reino</b>	<b>Bacteria</b>
<b>División</b>	Actinobacteria
<b>Clase</b>	Actinobacteria
<b>Orden</b>	Actinomycetales
<b>Familia</b>	<i>Nocardiaceae</i>
<b>Género</b>	<i>Rhodococcus.</i>

Catalogado por Zopf, 1891

*Stenotrophomona*

<b>Reino</b>	<b>Bacteria</b>
<b>División</b>	Proteobacteria
<b>Clase</b>	Gammaproteobacteria
<b>Orden</b>	Xanthomonadales
<b>Familia</b>	Xanthomonadaceae
<b>Género</b>	<i>Stenotrophomonas</i>

Catalogado por Palleroni  
y Bradbury 1993

*Pseudomonas*

<b>Reino</b>	<b>Bacteria</b>
<b>División</b>	Proteobacteria
<b>Clase</b>	Gammaproteobacteria
<b>Orden</b>	Pseudomonadales
<b>Familia</b>	Pseudomonadaceae
<b>Género</b>	<i>Pseudomonas</i>

Catalogado por Mugula, 1894

*Agrobacterium*

<b>Reino</b>	<b>Bacteria</b>
<b>División</b>	Proteobacteria
<b>Clase</b>	Proteobacterias alfa
<b>Orden</b>	Rhizobiales
<b>Familia</b>	Rhizobiaceae
<b>Género</b>	<i>Rhizobium</i>

Catalogado por H.J. Conn

*Trichoderma*

<b>Reino</b>	<b>Fungi</b>
<b>División</b>	Ascomycota
<b>Clase</b>	Sordariomycetes
<b>Orden</b>	Hipocreales
<b>Familia</b>	Hypocreaceae
<b>Género</b>	<i>Trichoderma</i>

Catalogado por Rifai, 1969

*Aspergillus*

<b>Reino</b>	<b>Fungi</b>
<b>División</b>	Ascomycota
<b>Clase</b>	Eurotiomycetes
<b>Orden</b>	Eurotiales
<b>Familia</b>	Trichocomaceae
<b>Género</b>	<i>Aspergillus</i>

Catalogado por Micheli, 1729

*Aspergillus niger*

<b>Reino</b>	<b>Fungi</b>
<b>División</b>	Ascomycota
<b>Clase</b>	Eurotiomycetes
<b>Orden</b>	Eurotiales
<b>Familia</b>	Trichocomaceae
<b>Género</b>	<i>Aspergillus</i>

Catalogado por Micheli, 1729

*Cladosporium cladosporioides*

<b>Reino</b>	<b>Fungi</b>
<b>División</b>	Ascomycota
<b>Clase</b>	Dothideomycetes
<b>Orden</b>	Capnodiales
<b>Familia</b>	<i>mycosphaerellaceae</i>
<b>Género</b>	<i>Cladosporium</i>

Catalogado por Fresen 1952

*Mucor*

<b>Reino</b>	<b>Fungi</b>
<b>División</b>	Zygomycota
<b>Clase</b>	Zygomycetes
<b>Orden</b>	Mucorales
<b>Familia</b>	Mucoraceae
<b>Género</b>	<i>Mucor</i>

Catalogado por

G.W.Fresen

*Penicillium*

<b>Reino</b>	<b>Fungi</b>
<b>División</b>	Ascomycota
<b>Clase</b>	Plectomycetes
<b>Orden</b>	Eurotiales
<b>Familia</b>	Eurotiaceae
<b>Género</b>	<i>Penicillium</i>

Catalogado por Link, 1809

*Azotobacter*

<b>Reino</b>	<b>Bacteria</b>
<b>División</b>	Proteobacteria
<b>Clase</b>	Gammaproteobacteria
<b>Orden</b>	Pseudomonadales
<b>Familia</b>	Pseudomonadadeae
<b>Género</b>	<i>Azotobacter</i>

## **CAPÍTULO V**

### **CONSIDERACIONES FINALES**

El manejo inadecuado en las actividades de explotación petroleras ha causado a nivel mundial efectos ambientales dañinos en el suelo al ocurrir un derrame. Para ello se han empleado medidas correctivas que tienen como fin disminuir los efectos colaterales de estos accidentes y alcanzar un nivel de toxicidad mínimo para los seres vivos en contacto con dicho sitio impactado. La efectividad de una tecnología de remediación está determinada por una variedad de factores que interactúan de manera compleja por lo que hay que considerar las propiedades del contaminante, el suelo, los procesos químicos y físicos, así como los procesos biológicos que definen la actuación de los microorganismos y plantas incluidos en dichas técnicas correctivas, además es importante conocer el clima del lugar donde está el sitio contaminado ya que la temperatura y precipitación son de los factores que también promueven o decrecen la eficiencia de las aplicaciones remediativas.

Las técnicas biorremediativas y de fitorremediación, al principio se mostraron controvertidas ya que no se tenían los conocimientos adecuados en sus aplicaciones, no se conocían al principio de su aplicación si eran costosas ni de los tratamientos antes o después que pudieran aumentar la efectividad. Las primeras prácticas de biorremediación se hicieron en Estados Unidos por las compañías petroleras que para deshacerse de los lodos de perforación los

depositaban en capas delgadas sobre el suelo, observándose al cabo de un tiempo que estos eran descompuestos y el suelo presentaba una notoria descontaminación, es así como el uso de la “bio-labranza” marcó los primeros estudios sobre el manejo de contaminación de suelos por biorremediación.

Es importante señalar las implicaciones de las diferentes técnicas remediativas, si hablamos de una biorremediación *in situ* o *ex situ*, la primera difiere de la segunda ya que requiere de una caracterización minuciosa del lugar a descontaminar, ya que se realiza en el sitio, es necesario conocer desde las propiedades del suelo, como de la hidrología del terreno y esto implica la intervención de personal más capacitado. Este tipo de biorremediación *in situ*, es muy útil en zonas donde exista una contaminación profunda, incluye una modificación de las condiciones del sitio aunque puede resultar difícil en suelos arcillosos y donde el contaminante sea un hidrocarburo con alta viscosidad. En cambio la biorremediación *ex situ* puede resultar un poco más costosa que la primera, ya que se requiere de llevar a un sitio especial el material a descontaminar aunque esto mejora el control de las condiciones del tratamiento y es útil para tratar contaminación con diversos materiales ya que se utiliza en contaminaciones superficiales.

La alta viscosidad y la baja solubilidad de algunos hidrocarburos como los poliaromáticos (HAP's) comprometen la eficacia de las técnicas biorremediativas ya que son difíciles de remover, este mismo comportamiento tienen los metales pesados que no son biodegradables y los hidrocarburos ligeros que por su bajo peso molecular presentan propiedades de solvente, de manera que dañan las membranas celulares de las bacterias e impiden su desarrollo, por lo que la biorremediación o fitorremediación en estos casos puede emplearse como pre-tratamiento, seguido de otro método de descontaminación.

Tanto la biorremediación como la fitorremediación usan bacterias que usan a los hidrocarburos como sustratos para obtener su energía, donde bacterias autóctonas del sitio y consorcios bacterianos comerciales son los más empleados. Usar bacterias nativas aisladas del mismo sitio a descontaminar puede resultar más beneficioso ya que tiene un cierto nivel de adaptación a las condiciones y puede resultar hasta más barato, además que el uso de un consorcio bacteriano comercial tendría que llevar a cabo un estudio minucioso de la eficiencia de la degradación así como de las especificaciones de crecimiento para poder ser aplicadas correctamente y así se efectúe de manera correcta la medida correctiva.

Para aumentar la eficacia de la remediación se ha implementado el uso de "acondicionadores" como arena y cascaras para apoyar los procesos degradativos, también el uso de aditamentos como soporte para evitar sucesos

que interrumpan o modifiquen las técnicas, por ejemplo si se lleva a cabo una biorremediación por biopilas en un sitio donde las condiciones climáticas son lluviosas.

El potencial de las técnicas de biorremediación y fitorremediación se demuestra en los casos de estudio revisados en el presente trabajo donde se revela que, los tratamientos usando consorcios microbianos (hongos – bacterias) alcanzan porcentajes de remoción que van del 30 al 90 % y teniendo como agentes contaminantes variedades de hidrocarburos como queroseno, combustóleo, diesel, fenantreno y benzo (a) pireno.

En los ensayos de fitorremediación se ha demostrado la obtención de estos valores de remoción (30 al 90 %) al usar consorcios microbianos inoculados en las rizosferas de plantas como helechos, frijol, pastos, maíz junto con estimulaciones como fertilizaciones orgánicas e inorgánicas o bioproductos.

Las tecnologías de remediación son variadas ya que cada una puede aplicarse para un caso en especial de contaminación sin embargo no hay que descartar que si se presenta un sitio con características difíciles se puede usar un “tren de tratamiento” que consiste en la aplicación de una combinación de técnicas remediativas con el fin de asegurar la efectividad de la descontaminación.

## BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. Alexander, M. 1994. Biodegradation and Bioremediation 2nd ed. Academic Press, London.
2. Atlas R.M. y Bartha, R. 2001. Ecología Microbiana & Microbiología Ambiental. Pearson Educación, Madrid.
3. Atlas R.M. y Unterman, R. 1999. Bioremediation. In: Demain AL & Davies JE (Eds) Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology 2nd ed (pp 666-681), ASM Press, Washington D.C.
4. Atlas, R.M. 1981. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: An environmental perspectiva. Microbiological Reviews 45: 180 – 209.
5. Bedair, H.M. y H.T. Al-Saad 1992. Dissolved and particulade adsorbed hydrocarbons in water of Shatt Al Arab River, Iraq. Water, Air, Soil pollution 61: 397-408.
6. Benavides J., Quintero G. 2005, Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. Nova – Publicación científica vol. 4 n° 5, Junio 2005.
7. Chiou, C.T., S.E. McGroddy y D.E. Kile 1998. Partition characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons on soils and sediments. Enviromental Sciense Technology 32: 264-269.
8. Centro mexicano de derecho ambiental CEMDA 2006, informe bianual.
9. Chapin, F.S., III, P.M. Vitousek, and K. Van Cleve. 1986. The nature of nutrient limitation in plant communities. Am. Nat. 127:48-58.

10. Danne L., Harjono I., Zylstra G., Insolation and characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons degrading bacteria associated with rhizosphere of salt marsh plants. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001.
11. Demaneche S., Kay E., Natural transformation of *Pseudomonas fluorescens* and *Agrobacterium tumefaciens* in soil. *Applied and environmental Microbiology*, 2001.
12. De Boer W. Microbial community composition affects soil Fungistasis. *Applied and environmental Microbiology*, 2003.
13. Díaz M., Grigson S., Uso de un consorcio bacteriano extremo – halotolerante para la biodegradación de crudo en ambientes salinos. *Revista colombiana de Biotecnología* 2002.
14. Environmental Protection Agency (EPA). Effect of oil on microorganismos. [www.epa.gov](http://www.epa.gov) Visitado Junio 2012.
15. EWEIS, J et al. Principios de biorrecuperación. Ed. Mac Graw Hill. (1999).
16. Floriane S, Marchal R, Serge C, Christelle V, Lebeault J, Vandecasteele J. A Mycobacterium strain with extended capacities for degradation of gasoline hydrocarbons. *Microbiology*. 2000; 66(6): 2392-2399.
17. Hidalgo, J.C. 2009. Efectos de los derrames de petróleo sobre los habitats marinos. *Ciencia Ahora*, N° 24, año 12, Julio a Diciembre 2009.
18. Jackson, K. (1999). Policing the offshore environment. *Petroleum Review*. Vol 51 No. 603



19. Jizhong Z., Beichen X., Spatial and resource factors influencing high microbial diversity in soil. Environmental sciences division. Center of microbial ecology, Michigan State University, Michigan 2001.
20. Maroto Arroyo M.A, y Rogel Quesada J. M., Aplicación de sistemas de biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos, GEOCISA. Div. Protección Ambiental de Suelos, 2001.
21. Ney, R. 1990 Fate and Transport of organic chemicals in the environment. Abs group Inc., EE.UU.
22. Nannipieri P, Ascher J, Ceccherini M, Landi L, Pietramellara M, Renella G. Microbial diversity and soil functions. 2001. European Journal Soil Science. 2001;54(4): 655-670.
23. PEMEX 2001. Informe 2001: Seguridad, salud y medio ambiente.
24. PEMEX 2000. Boletín N° 75/2000. PEMEX, México.
25. PEMEX 1999, Informe 1999: Seguridad, salud y medio ambiente. Dirección corporativa de seguridad industrial y protección ambiental, PEMEX, México.
26. PROFEPA 1999. Restauración de suelos contaminados. Grupo de trabajo sobre la restauración de suelos contaminados. México
27. Quadri, G. 1994. Industria y política ambiental. El Nacional. Sábado 18 de Junio, México.
28. Rockne K., Chee Sanford J., Sanford R., Brian P., Anaerobic naphthalene degradation by microbial pure cultures under nitrate reducing conditions. Applied and environmental Microbiology, 2000.

29. Saval, B.S. 1995. Acciones para la remediación de suelos en México. Segundo minisimposio Internacional sobre contaminantes del agua y suelo. Instituto de ingeniería, UNAM, México.
30. Sellers, K., T.A Pedersen, y Fan, C. 1993. Review of soil mound technologies for the bioremediation of hydrocarbon contaminate soil. En: Hydrocarbon contaminate soil, vol. III. Lewis Publishers
31. Van Deuren, J., Wang, Z. y Ledbetter, J. 1997. Remediation technologies screening matrix and reference Guide. 3ª Ed. Technology Innovation Office, EPA. <http://www.epa.gov/tio/remed.htm>
32. Van Hamme J. Ajay S. Recent advances in petroleum microbiology. Microbiol. Mol. Boil. Rev. 2003
33. Wackett, L.P. y Hershberger, C.D. 2001. Biocatalysis and biodegradation: Microbial transformation of organic compounds. ASM Press, Washington, D.C.
34. Flavio B, Leonardo F, Zachia M. Production of biosurfactant by hydrocarbon degrading *Rhodococcus ruber* and *Rhodococcus erythropolis*. Revista de Microbiología. 1999; 30 (3).
35. Kästner M, Breuer M, Mahro B. Impact of inoculation protocols, salinity, and pH on the degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) and survival of PAHdegrading Bacteria introduced into soil. Applied and Environmental Microbiology. 1998; 64(1): 359-362.
36. Carla A, Nicholson M, Fathepure B. Biodegradation of benzene by halophilic and halotolerant bacteria under aerobic conditions. Applied and Environmental Microbiology. 2004; 70(2): 1222-1225.

37. Hideki K, Katsuyuki U, Hisako H, Horikoshi K. Novel toluene elimination system in a toluene-tolerant microorganism. *Journal of Bacteriology*. 2000; 182: 6451-6455.
38. Rockne K, Chee-Sanford J, Sanford R, Brian P, James T, Staley S. Anaerobic naphthalene degradation by microbial pure cultures under nitrate-reducing conditions. *Applied and Environmental Microbiology* . 2000; 66: (4)1595-1601.
39. Torres Katherine, Zuluaga Tatiana, 2009, tesis: Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos, Universidad Nacional de Colombia, Medellín.
40. Zitrides, T. G. 1990. Bioremediation comes of age. *Pollution Engineering*, Vol. 22, No. 5, p 57-62.

## BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

1. Bermúdez Acosta J., Núñez Moreira R., Castro Hernández Y., Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos en la zona costera de "Punta Majagua", Revista Infociencia Vol.15, No.4, Octubre-Diciembre, 2011.
2. Castro-Carrillo J., Delgadillo-Martínez J., Ferrera-Cerrato R., Alarcón A., remoción De fenantreno Por *Azolla caroliniana* utilizando bioaumentación con microorganismos hidrocarbonoclastas, comunicaciones reports.
3. Córdova M., Salcido-Hernández S., Salinas-Martínez A., Soto-Cruz O., Pérez-Andrade H., Medrano-Roldán H., Aislamiento, Identificación Y Cinética De Microorganismos Degradadores De Hidrocarburos Del Petróleo, Nativos De Un Suelo Minero.
4. Ferrera-Cerrato R., Alarcón A., Mendoza-López M. R., Sangabriel, W., Trejo-Aguilar D., Cruz-Sánchez, J., López-Ortiz C., Delgadillo- Martínez J. 2007, Fitorremediación De Un Suelo Contaminado Con Combustóleo Usando *Phaseolus Coccineus* Y Fertilización Orgánica E Inorgánica Agrociencia, Vol. 41, Núm. 8, Pp. 817-826.
5. Gabriela García-Esquivel, Ronald Ferrera-Cerrato, Refugio Rodríguez-Vázquez, Fernando Esparza-García. Presencia De *Azotobacter* En La Rizósfera De Plantas Crecidas En Suelos Contaminados Con Hidrocarburos.
6. Hernández A., E.; Ferrera-Cerrato, R.; Rodríguez V., R. 2003, Bacterias de vida libre fijadoras de nitrógeno atmosférico en rizósfera de frijol

- contaminada con queroseno, *Terra Latinoamericana*, Vol. 21, Núm. 1, Enero-Marzo, 2003, Pp. 81-89.
7. Hernández-Acosta E., Ferrera-Cerrato, R., Gutiérrez-Castorena M., Rodríguez-Vázquez R., Rubiños-Panta J., Fernández-Linares L. 2003, Bacterias Y Hongos Hidrocarbonoclastas De Rizósfera Frijol Y Maíz, En Un Suelo Contaminado Con Petróleo *Terra Latinoamericana*, Vol. 21, Núm. 4, Octubre-Diciembre, 2003, Pp. 493-502.
  8. K.S. Jørgensen\*, J. Puustinen<sup>1</sup>, A.-M. Suortti 2000, Bioremediation Of Petroleum Hydrocarbon-Contaminated Soil By Composting In Biopiles. *Environmental Pollution* 107 (2000) 245,254.
  9. Lucas R., Vazquez S., Lo Balbo A., Mac Cormack W. Biorremediacion De Suelos Contaminados Con Hidrocarburos Utilizando Bacterias Antarticas Sicrotolerantes.
  10. Pérez-Armendáriz B. 2010, Martínez-Carrera D., Calixto Mosqueda M., Alba J., Rodríguez-Vázquez R., Filamentous Fungi Remove Weathered Hydrocarbons From Polluted Soil Of Tropical México, *Rev. Int. Contam. Ambie.* 26 (3) 193-199.
  11. R. Margesin And F. Schinner 2001, Bioremediation (Natural Attenuation And Biostimulation) Of Diesel-Oil-Contaminated Soil an Alpine Glacier Skiing Area, *Appl. Environ. Microbiol.* 2001, 67(7):3127.
  12. Randy H., Adams S., Dominguez V., García L. 1999, Potencial de la biorremediacion de suelo y agua impactados por petróleo en el trópico mexicano, *Terra Latinoamericana*, Abril – Junio, Vol. 17 Numero 002.

13. Rivera M. Del C., Trujillo A., Ferrera Cerrato R., Rodriguez R., Volke V., Sanchez P., Fernandez L. 2006, Fitorremediación de Suelos con benzo (a) pireno mediante microorganismos autóctonos y pasto alemán [*Echinochloa polystachya* (H.B.K) Hitchc]. Universidad Y Ciencia, Vol. 22 Numero 001.