

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**



**BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON  
GASOLINA UTILIZANDO ESTIÉRCOL DE CABALLO,  
EN TORREÓN, COAHUILA**

**POR  
APOLONIA PÉREZ VENTURA**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL  
TÍTULO DE:**

**INGENIERO EN PROCESOS AMBIENTALES**

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO**

**DICIEMBRE DE 2009.**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**

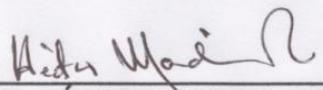
**BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON  
GASOLINA UTILIZANDO ESTIÉRCOL DE CABALLO,  
EN TORREÓN, COAHUILA**

TESIS DE LA C. **APOLONIA PÉREZ VENTURA** QUE SE SOMETE A  
LA CONSIDERACIÓN DEL COMITÉ PARTICULAR DE ASESORIA Y  
APROBADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL  
TÍTULO DE:

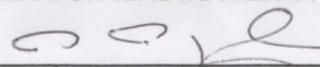
**INGENIERO EN PROCESOS AMBIENTALES**

**APROBADA POR:**

**ASESOR PRINCIPAL:**

  
\_\_\_\_\_  
**DR. HÉCTOR MADINAVEITIA RÍOS**

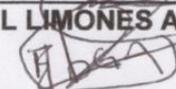
**COASESOR:**

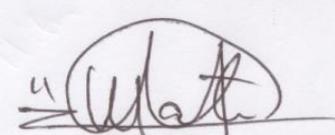
  
\_\_\_\_\_  
**DR. JOSÉ LUIS REYES CARRILLO**

**COASESOR:**

  
\_\_\_\_\_  
**ING. JOEL LIMÓNES AVITIA**

**COASESOR:**

  
\_\_\_\_\_  
**MC. EDGARDO CERVANTES ÁLVAREZ**

  
\_\_\_\_\_  
**M. C. VICTOR MARTÍNEZ CUETO.  
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CARRERAS  
AGRONÓMICAS.**



Coordinación de la División  
de Carreras Agronómicas

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO**

**DICIEMBRE DE 2009.**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**

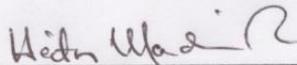
**BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON  
GASOLINA UTILIZANDO ESTIÉRCOL DE CABALLO,  
EN TORREÓN, COAHUILA**

TESIS DE LA C. APOLONIA PÉREZ VENTURA QUE SE SOMETE A  
LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR Y  
APROBADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL  
TÍTULO DE:

**INGENIERO EN PROCESOS AMBIENTALES**

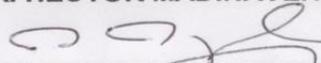
**APROBADA POR:**

**PRESIDENTE:**



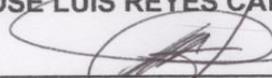
**DR. HÉCTOR MADINAVEITIA RÍOS**

**VOCAL:**



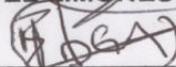
**DR. JOSÉ LUIS REYES CARRILLO**

**VOCAL:**

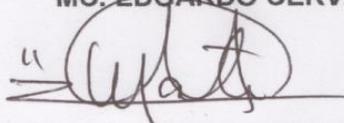


**ING. JOEL LIMONES AVITIA**

**VOCAL SUPLENTE:**



**MC. EDGARDO CERVANTES ÁLVAREZ**



**M. C. VICTOR MARTÍNEZ CUETO  
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CARRERAS  
AGRONÓMICAS.**



Coordinación de la División  
de Carreras Agronómicas

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

DICIEMBRE DE 2009.

## **AGRADECIMIENTOS**

**A Dios** por su gran amor y misericordia de darme la oportunidad de vivir hasta este momento, por haberme ayudado a culminar satisfactoriamente mis estudios, dándome de su gracia y felicidad de disfrutar las maravillas de su obra y una gran familia, por ser mi proveedor y fortaleza en todo tiempo.

**A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna (UAAAN-UL)** por darme la oportunidad de realizar mis estudios en sus instalaciones y por brindarme todo apoyo durante mi estancia de formación profesional.

**Al Dr. Héctor Madinaveitia Ríos** le agradezco por haberme brindado incondicionalmente de su valioso apoyo y tiempo en el asesoramiento, desarrollo, y supervisión del presente trabajo reconociendo su capacidad en el tema. Por su amabilidad que siempre me ha demostrado, por las convivencias durante mi estancia, que Dios lo bendiga siempre.

**Dr. José Luis Reyes Carrillo** por brindarme su apoyo en la supervisión y enseñanza de la elaboración del presente trabajo. **Al Ing. Joel Limones Avitia** le agradezco por su colaboración y apoyo en esta tesis, por compartirme de sus conocimientos y formar parte del miembro del jurado. **Al M.C. Edgardo Cervantes Álvarez** gracias por su apoyo y dedicación para finalizar esta gran labor.

También agradezco a la **Biól. Isabel Blanco**, a **Gilmar, Juan, Patricio** y a todas las personas que de alguna manera me apoyaron en el trabajo de campo.

## **DEDICATORIA**

### **A MIS PADRES.**

A mi querida y admirable madre **Cecilia Ventura Macario** por su apoyo incondicional que me ha dado; por su ejemplo y sabios consejos, por haber depositado su confianza en mí. Gracias por ser la mamá más linda y comprensiva, por los buenos y malos momentos que hemos pasado juntas, que Dios te bendiga siempre mamita. Te quiero mucho, es una gran bendición tenerte.

Agradezco a mi querido padre **Néstor Pérez Hernández** que en paz descansa (†) que durante el tiempo que pasamos juntos siempre me brindó su apoyo, amor y cariño. Gracias papá por confiar en mí, por haberme enseñado a trabajar, respetar y ser humilde, y por la virtud que es el estudio. Te extraño papá, te tengo en lo más profundo de mi corazón.

### **A MIS ABUELITOS**

Crecencio Ventura Morales y Elvira Macario Pérez les agradezco mucho por su apoyo y ánimo a esforzarme más. Gracias por confiar en mí y por desearme lo mejor, que Dios los guarde y los bendiga siempre.

### **A MIS HERMANAS Y HERMANOS.**

Rosalinda, Marleni, Natalia, Elodia, y Marylena; muchas gracias por ser las mejores hermanas son muy especiales para mi, gracias por el gran apoyo amistad y compañerismo que me han brindado desde la infancia, por todos los gratos y tristes momentos que hemos pasado y por impulsarme a seguir adelante. Baudolio y Pedro gracias por ser los mejores y admirables hermanos, gracias por compartir grandiosos momento, por apoyarme incondicionalmente en momentos difíciles cuando más lo necesite, son de mucha bendición que Dios los bendiga.

### **A MI SOBRINA Y SOBRINOS.**

Adanary, Roberto, y Williams, gracias por los momentos grandiosos y felices que me han hecho pasar, son de mucha bendición, gracias por sus apoyos y cariño y por ser parte de este sueño que Dios los siga bendiciendo.

### **A MIS AMIGOS.**

Muchas gracias por su amistad, compañerismo, confianza y apoyo, por los momentos buenos y malos que pasamos en la Universidad. A Selene, Annita, René, Paul, Ezequiel, Deysí, Elba, Yaneli y a todos aquellos a quienes aprecio mucho. Muchas gracias Chus por tu amor y cariño, por el apoyo que me brindas, por escucharme y darme ánimo en los momentos difíciles, te quiero mucho y que Dios te bendiga siempre.

### **A TODAS LAS PERSONAS**

Que de alguna manera me han apoyado en momentos de mi vida, por haberme brindado su amistad y apoyo moral, les agradezco por su confianza en mi, por inculcarme a seguir esforzando, especialmente a mi tío Armando.

# ÍNDICE

	PÁG.
AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIA.....	ii
ÍNDICE.....	iii
ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURA.....	iv
RESUMEN.....	v
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO.....	3
Objetivo general.....	3
Hipótesis alternante.....	3
REVISION DE LITERATURA.....	4
El suelo y la contaminación.....	4
Contaminación por hidrocarburos.....	6
Contaminación del suelo con hidrocarburos en el mundo.....	6
Contaminación del suelo por hidrocarburos en México.....	8
Causas de la contaminación de suelos.....	10
Biorremediación.....	10
Biorremediación “ <i>in situ</i> ”.....	11
Biorremediación “ <i>ex situ</i> ”.....	12
Importancia de la biorremediación de suelos.....	13
Ventajas y desventajas de los tipos de biorremediación.....	15
Factores que condicionan la biorremediación de un suelo contaminado....	16
Factores medio ambientales.....	16
Factores físicos.....	20
Factores químicos.....	20
Factores microbiológicos.....	21
Tipos de tecnologías de remediación de suelos contaminados.....	22
Las tecnologías de biorremediación en México.....	22
La gasolina y su composición.....	24
Características de un suelo contaminado y sus efectos en el ambiente.....	27
Efectos de la contaminación de hidrocarburos en el ser humano.....	28
Factores que influyen en la permeabilidad de los suelos.....	29
Biodegradación de la gasolina mediante estiércol.....	30
Estiércol de caballo y sus características.....	31
Microorganismos que degradan la gasolina.....	31
Respuesta de las poblaciones microbianas a la biorremediación.....	34
Legislación ambiental de suelos contaminados con hidrocarburos.....	35
MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
RESULTADOS Y DISCUSION.....	42
CONCLUSIONES.....	50
RECOMENDACIONES.....	51
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	52

## ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURA

<b>CUADRO</b>		<b>PAG.</b>
1.	Parámetros evaluados de textura, nitrógeno (N), carbono (C), pH y conductividad eléctrica (CE) del suelo, suelo con gasolina y del estiércol de caballo en la UAAAN-UL. 2009.....	42
2.	Concentración de C (%), N (%), relación C/N y degradación de gasolina en terrenos de la UAAAN-UL. Mes de junio. Mayo – Junio de 2009.....	43
3.	Concentración de C (%), N (%), relación C/N y degradación de gasolina en terrenos de la UAAAN-UL. Mes de julio. Mayo – Julio de 2009.....	44
4.	Concentración de C (%), N (%), relación C/N y degradación de gasolina en terrenos de la UAAAN-UL. Mes de agosto. Mayo – Agosto de 2009.....	45
5.	Concentración de C (%), N (%), relación C/N y degradación de gasolina en terrenos de la UAAAN-UL. Mes de septiembre. Mayo – Septiembre de 2009.....	45
6.	Degradación de gasolina por la aplicación de estiércol de caballo lograda durante cuatro meses, en los terrenos de la UAAAN-UL. Mayo-septiembre de 2009.....	46
7.	Media del carbono, nitrógeno y relación C/N en los T <sub>1</sub> (10 Kg), T <sub>2</sub> (15 Kg), T <sub>3</sub> (20 Kg) y T <sub>4</sub> (0 Kg ó control) de estiércol de caballo, y el coeficiente de variación del carbono, nitrógeno y relación C/N. En terrenos de la UAAAN-UL durante los meses de Mayo – Septiembre de 2009.....	49
<b>FIGURA</b>		
1.	Diseño experimental establecido en el área de estudio. T <sub>1</sub> = 8 litros de gasolina + 10 Kg de estiércol de caballo, T <sub>2</sub> = 8 litros de gasolina + 15 Kg de estiércol de caballo, T <sub>3</sub> = 8 litros de gasolina + 20 Kg de estiércol de caballo y Control = 8 litros de gasolina. UAAAN-UL. 2009.....	40

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se efectuó en el campo experimental de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, en el periodo de mayo-septiembre de 2009, teniendo como objeto el tiempo de degradación de la gasolina a través de la aplicación de distintas cantidades de estiércol de caballo. La metodología empleada fue la siguiente: delimitar los bloques al azar para la evaluación del tratamiento, en el cual fueron cuatro tratamientos con tres repeticiones ( $T_1$ ,  $T_2$ ,  $T_3$  y el control), a cada tratamiento se le aplicó 8 litros de gasolina Magna; para cada tratamiento varió la concentración de estiércol al  $T_1$  se aplicó 10 Kg de estiércol, en el  $T_2$  15 Kg de estiércol, en el tratamiento  $T_3$  20 Kg de estiércol de caballo, y al control no se le aplicó estiércol, pero sí gasolina; cada uno de los lotes fue de  $1 \text{ m}^2$  para mantener de una forma adecuada a los tratamientos que se le aplicó estiércol se regó y se removió mínimo una vez por semana durante cuatro meses ya que fue el tiempo requerido, se obtuvieron muestras cada mes para ser analizadas. Las muestras se trasladaron al laboratorio de suelos en donde se determinaron los parámetros de carbono (C%) y nitrógeno (N%), del control y de cada tratamiento, al obtener los resultados de estos análisis se calculó la relación C/N que fue clave para saber la eficiencia de la descontaminación de los suelos, para ello se restó la relación carbono-nitrógeno del testigo con cada uno de los tratamientos  $T_1$ ,  $T_2$  y  $T_3$ . El criterio a seguir fue que valores menores de 150 que presentó cada tratamiento indicó que hubo degradación, entre menor valor obtenido mayor degradación de gasolina se detectó. Los resultados indicaron que la concentración más eficiente fue el  $T_3$  donde se le aplicó mayor cantidad de estiércol y de acuerdo a los meses en julio hubo mayor degradación. Aunque cabe mencionar que también hubo degradación en todos los tratamientos. Esta técnica biológica, se basó en la capacidad de los microorganismos de biodegradar la gasolina.

**Palabras claves:** degradación, hidrocarburos, gasolina, microorganismos y relación carbono-nitrógeno.

## INTRODUCCIÓN

El desarrollo petrolero y el crecimiento de la industria petroquímica surgen de la necesidad de obtener una serie de derivados del petróleo básicos para las industrias, han requerido de la utilización intensiva de los energéticos fósiles para cubrir las necesidades de una sociedad más consumista, en artículos indispensables en la industria, hogar, comercio y personal que ha llevado, a lo largo del tiempo, a una fuerte degradación del ambiente.

El desarrollo de la industria petrolera en México, se convirtió en una de las principales productoras mundiales de hidrocarburos y sus derivados, si bien a sido el sustento de la economía nacional, también hay que señalar que a provocado la alteración de los ecosistemas contribuyendo a la degradación del aire, agua y suelo, el motivo de esto es que se ha realizado poca investigación sobre la contaminación del suelo por hidrocarburos y sus derivados como la gasolina, diesel y keroseno, son contaminantes comunes del ambiente. Por lo que es necesario llevar a cabo estudios para conocer el estado actual de suelos cercanos a zonas industriales y urbanas, indispensables para el uso adecuado y conservación de éstos.

Por las diferentes actividades industriales que efectúa PEMEX, existe un potencial de contaminación del ambiente. Por la emisión de humos, polvos, gases y descargas de aguas residuales generadas durante la perforación de pozos petroleros, por la extracción de líquidos, por su refinación y producción de petroquímicos.

En el suelo, los hidrocarburos impiden el intercambio gaseoso con la atmósfera, iniciando una serie de procesos físico-químicos simultáneos, como evaporación y penetración, que dependiendo del tipo de hidrocarburo, temperatura, humedad, textura del suelo y cantidad vertida pueden ser procesos más o menos lentos lo que ocasiona una mayor toxicidad. Además de tener una moderada, alta o extrema salinidad, lo que dificulta su tratamiento, debido a que

altos gradientes de salinidad pueden destruir la estructura terciaria de las proteínas, desnaturalizar enzimas y deshidratar células, lo cual es letal para muchos microorganismos usados para el tratamiento de aguas y suelos contaminados. La contaminación por hidrocarburos en consecuencia puede producir la degradación de la flora y fauna de un ecosistema.

Durante mucho tiempo y hasta hace poco nadie se preocupaba por los derrames de hidrocarburos en el suelo dando por hecho que a través de la biota del suelo la naturaleza limpiaba el ambiente, pero según fue cambiando la composición de los hidrocarburos y al aumentar la cantidad de derrames accidentales y complejidad de estos, a ocasionado que la capacidad degradativa y amortiguadora de los microorganismos sea lentas y difícil para su degradación. Además, la transportación de petróleo crudo y productos refinados por buques, tanque, y tuberías tienen implícita la posibilidad de derrames que pueden contaminar suelo, agua y atmósfera.

En la actualidad existe un gran número de técnicas para disminuir la contaminación por hidrocarburos en el suelo, sin embargo, la biorremediación es una técnica innovadora considerada como la vía más efectiva para la remediación la cual ha sido aplicada exitosamente en el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos, se caracteriza por ser una técnica de bajo costo de operación ya que mediante la actuación de microorganismos se degradan las sustancias tóxicas convirtiendo al ecosistema en lugar con mejores condiciones de uso; el proceso de degradación requiere control de variables operacionales tales como nutrientes, humedad y oxígeno.

La biorremediación del suelo, puede ser dividida en estrategias *in situ* y *ex situ*. *In situ* corresponde a la biorremediación referente a tratamientos que no requieren excavación del suelo contaminado si no que se aplica en el lugar donde se encuentra el suelo contaminado; *ex situ* es un método donde se excava o se traslada el suelo a una instalación para su tratamiento.

## **OBJETIVO**

### **Objetivo general**

Determinar a través de una misma cantidad de gasolina el tiempo de descontaminación de suelos utilizando distintas cantidades de estiércol de caballo.

### **Hipótesis alternante**

La descontaminación de suelos contaminados con gasolina es posible lograrla mediante la aplicación de estiércol de caballo.

## REVISION DE LITERATURA

### **El suelo y la contaminación**

El suelo es un recurso natural definido generalmente como la capa superior de la corteza terrestre, está formado por partículas de minerales, materia orgánica, agua, aire y allí nacen y se desarrollan miles de seres vivos, desde microorganismos hasta plantas y animales superiores; las principales funciones de los suelos son la provisión de un entorno físico y cultural para el hombre y sus actividades; la producción de biomasa y de materias primas; el apoyo al desarrollo de la biodiversidad y la constitución de sumideros de carbono (COM, 2002).

También se le denomina como sistema estructurado, biológicamente activo, que tiende a desarrollarse en la superficie de las tierras emergidas por la influencia de la intemperie y de los seres vivos constituyendo la interfaz de la tierra lo que le confiere la capacidad de desempeñar tanto funciones naturales como de uso antropogénico (Marc, 2005).

La contaminación es uno de los problemas más importantes del suelo (AEMA-PNUMA, 2002) esto consiste en la introducción de elementos extraños al sistema suelo o la existencia de un nivel inusual de uno propio que, por sí mismo o por su efecto sobre los restantes componentes, genera un efecto nocivo para los organismos del suelo, sus consumidores, o es susceptible de transmitirse a otros sistemas (Martínez *et al.*, 2005).

Según la definición de la EPA un sitio contaminado “es aquel que es una propiedad cuya expansión, desarrollo o reuso puede complicarse por la presencia, verdadera o percibida, de alguna sustancia peligrosa o algún contaminante” (EPA, 2003). Genera un efecto nocivo para los organismos del suelo y sus consumidores. La contaminación puede tener un origen natural y/o antrópico o inducido (COM, 2002).

Se considera suelo contaminado aquel cuyas características han sido alteradas negativamente por la presencia de componentes químicos de carácter peligroso de origen humano, en concentración tal que comporte un riesgo inaceptable para la salud humana o el medio ambiente (Real Decreto 9/2005).

Debido a las sustancias presentes en o bajo el suelo, generalmente debido a un mal uso previo, también se puede decir que un sitio contaminado es “aquel con presencia de componentes que no son atribuibles a la condición natural del sitio” (Moraga, 2003).

La contaminación no solo perjudica al suelo, sino también puede tener implicancias en aguas superficiales y subterráneas al ser arrastrados los contaminantes de ese lugar ya sea por medio de lluvias o simple infiltración. Además la presencia de contaminantes por sobre ciertos niveles implica múltiples consecuencias negativas para la cadena alimenticia (Contreras y Herrera, 2005).

Pero fue en el año 1992, donde se reconoció la importancia de la protección de los suelos y de sus usos potenciales en el contexto de un desarrollo sostenible, en particular contra la contaminación procedente de acciones o actividades de origen antrópico (Real Decreto 9/2005. Consultado).

En los estudios de contaminación, no basta con detectar la presencia de contaminantes sino que se han de definir los máximos niveles admisibles y además se han de analizar posibles factores que puedan influir en la respuesta del suelo a los agentes contaminantes entre ellos la asimilación del contaminante por los organismos (Contreras y Herrera, 2005).

## **Contaminación por hidrocarburos**

**Contaminación del suelo con hidrocarburos en el mundo.** Antes de la década de los 70 se hablaba de la contaminación del aire y del agua, pero al suelo se le consideraba con una capacidad de autodepuración casi infinita. La sensibilidad mundial comenzó a cambiar a partir de la declaración de la "Carta Europea de Suelos" desarrollada por la Comunidad Europea en 1972 (Real Decreto 9/2005).

Por lo tanto el concepto del suelo contaminado es un concepto moderno, del que no se había oído hablar hace 25 años. A esta contaminación se le ha llamado "silenciosa" porque no deja una huella evidente en el momento en que se provoca, sino que pueden transcurrir años en los que va migrando por el subsuelo hasta que surge en forma de efectos nocivos para la salud humana y el entorno. Es por ello, que la conciencia de su existencia ha venido ligada a catástrofes provocadas por su causa y que se descubren hacia finales de los años 70 y principios de los 80 (Terra Nova, 2005).

Esta problemática comenzó a fines del siglo XIX, con la revolución industrial, las principales fuentes de contaminación fueron las instalaciones industriales, las que causaron derrames y filtraciones, tanto por accidentes o debido al mal manejo de las operaciones. Los contaminantes comúnmente encontrados en sus instalaciones se puede mencionar la asociación de industrias como la producción de gas desde carbón, manufactura de cueros y pieles, estaciones de servicio y refinerías de petróleo, entre otras, a la presencia de hidrocarburos como contaminantes (Contreras y Herrera, 2005).

El Gobierno de los EEUU desarrolla la primera ley de suelos contaminados en 1980: "CERCLA 1980". Se trata de la "Ley de Respuesta Ambiental Exhaustiva, Compensación y Responsabilidad Pública" (Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act), que se encarga de la limpieza de vertederos de desechos peligrosos y de definir los mecanismos de respuesta a los

vertidos de desechos peligrosos. En 1986 se publica en España la "Ley básica de Residuos Tóxicos y Peligrosos" (Terra Nova, 2005).

Pero fue en el año 1992, en la Cumbre de Río (Río Janeiro, Brasil), donde se reconoció la importancia de la protección de los suelos y de sus usos potenciales en el contexto de un desarrollo sostenible, en particular contra la contaminación procedente de acciones o actividades de origen entrópico (Real Decreto 9/2005).

En la República Eslovaca se detectó una de las mayores contaminaciones por hidrocarburos en el año 1972 en la refinería Slovnaft de Bratislava. Se determinó que el origen de la contaminación estaba en las fugas durante la producción, manipulación y almacenamiento de estos productos de la refinería. Actualmente la contaminación se encuentra bajo control mediante una cortina hidráulica formada por 30 pozos de extracción (Álvarez *et al.*, 2001).

En Europa, se detecta el primer caso de alerta en 1980. En Holanda la población se ve afectada con niveles sanguíneos por hidrocarburos aromáticos porque sus casas se habían construido sobre un vertedero de residuos químicos.

En España, los primeros casos de contaminación son de 1989, relacionados en su mayoría con las zonas de más actividad industrial, pero la preocupación se desata con una explosión ocurrida en un taller de automóviles de Gernika en la que murieron dos personas (Terra Nova, 2005), la explosión fue originada por la emanación de gases procedente de gasolina que se encontraba en las tierras que estaban por debajo del edificio (Álvarez *et al.*, 2001).

En la República Checa en enero de 1993, se fisuró una válvula situada en el mayor oleoducto entre Rusia y la República Checa, La solución que se le está dando es la excavación parcial del suelo contaminado y el resto mediante tratamiento por vía bacteriana, mientras que el petróleo se bombea desde las

excavaciones y zanjas realizadas para su drenaje y contención (Álvarez *et al.*, 2001).

En Brasil en julio de 2000, la rotura de una tubería subterránea de la empresa estatal Petróleo de Brasil (Petrobras) ocasionó el derrame de cuatro millones de litros de petróleo sobre un afluyente del Iguazú, lo que se considera como la mayor tragedia ecológica de Brasil en los últimos 25 años (Álvarez *et al.*, 2001).

El 10 de agosto de 2005 se encontró una mancha de petróleo crudo en el área del pozo RubelSanto, Departamento de Alta Verapaz, Guatemala. Las fuertes precipitaciones pluviales derivadas del Huracán Mitch en 1998 influyeron en un mayor rebalse y arrastre de suelos con hidrocarburos (Barilla *et al.*, 2005).

**Contaminación del suelo por hidrocarburos en México.** En el periodo 2003–2006 ocurrieron en el país 755 emergencias ambientales en las cuales se derramaron residuos peligrosos que condujeron a la elaboración de una propuesta de remediación. Los contaminantes más involucrados, en orden de magnitud son: “Gasolina Magna”, “Diesel”, “Hidrocarburos”, “Petróleo crudo”, “Combustóleo”, “Gasolina Premium”, “Aceites” y “Turbosina”. Los residuos peligrosos solo tienen una participación marginal en las emergencias ambientales. Los responsables de dichas emergencias principalmente son: PEMEX (394 casos de derrames), los transportistas de productos derivados de petróleo y residuos peligrosos (241 casos de derrames), otras industrias (90), Ferrocarriles (17). Las principales causas de las emergencias son en orden de magnitud: las fugas de ductos, los derrames de carros tanque, el robo de hidrocarburos en ductos, los derrames de materiales peligrosos de tanques de almacenamiento. Las entidades mas afectadas por las emergencias ambientales son: Veracruz, Tamaulipas, Oaxaca, Hidalgo, Puebla, Guanajuato, San Luís Potosí, Jalisco, Tabasco, Coahuila. En cuanto al volumen de suelo contaminado, la fuga de ductos contribuye con el mayor porcentaje al volumen total de suelos contaminados en el periodo 2003-2006. En cuanto al área

contaminada las gasolinas generan las mayores extensiones de contaminación por accidente. Las carreteras donde más ocurren volcaduras de carros tanque son, en el orden de importancia: Carapan–Playa Azul, México–Cd. Cuauhtémoc, Tampico – Sánchez Román, México–Nogales, Pachuca–Tuxpan. En cuanto a los sitios contaminados actualmente se tienen registrados 297 sitios considerados pasivos ambientales (SEMARNAT, 2008).

En México existen extensas áreas contaminadas con hidrocarburos del petróleo debido principalmente a derrames, así como a las actividades propias de la industria petrolera. Este tipo de compuestos, se acumulan en ecosistemas marinos y en suelos. Algunos suelos contaminados, principalmente en el sureste de México, contienen concentraciones de hidrocarburos hasta de 450,000 mg/kg (Gallegos *et al.*, 2000, citado por Volke y Velasco, 2003).

En el mercado ambiental de nuestro país, actualmente existe una cantidad considerable de empresas nacionales e internacionales que ofrecen diferentes tipos de tecnologías para la remediación de sitios contaminados. Las empresas están enfocadas exclusivamente a la remediación de sitios contaminados por compuestos orgánicos. Dentro de los contaminantes tratados con mayor frecuencia, se encuentran los HTP y los HAP, lodos aceitosos, lodos de perforación y recortes de perforación. De un total de 57 empresas autorizadas (SEMARNAT, 2002).

El acelerado incremento en la población mundial, ha dado como resultado la demanda de mayores cantidades de combustibles fósiles (hidrocarburos). Aunque muchos de estos compuestos se utilizan para generar energía, un alto porcentaje se libera al ambiente, por cuestiones de extracción, refinado, transporte y almacenamiento, lo cual representa un riesgo potencial para los ecosistemas (Semple, 2001).

**Causas de la contaminación de suelos:** se pueden dividir en dos grupos, los derrames y las fugas de contaminates.

Derrames. Las fuentes potenciales de derrames que contaminan el suelo son los accidentes que ocurren cuando estas sustancias son transportadas a sus centros de consumo, ya que por las carreteras y las vías férreas, se mueven gran parte de productos.

Fugas. La contaminación de suelos por fugas tiene su principal ocurrencia en el transporte de hidrocarburos a través de la red de ductos con la que cuenta actualmente PEMEX, otra fuente de importancia que ha causado muchos problemas es el flujo de gasolina hacia el suelo aledaño de los tanques de almacenamiento en gasolineras (Álvarez *et al.*, 2002).

### **Biorremediación**

A mediados del siglo XX se desarrollaron las primeras investigaciones encaminadas a estudiar el potencial de los microorganismos para biodegradar contaminantes. Este "uso" intencionado recibió entonces el nombre de biorremediación ("*bioremediation*"). Las primeras patentes, fundamentalmente para remediación de vertidos de gasolina, aparecen en los años 70 (Torres y Zuluaga, 2009).

La biorremediación es una de las tecnologías de remediación para suelos contaminados con hidrocarburos (Volke y Velasco, 2003), también se define como el proceso de aceleración de la tasa de degradación natural de hidrocarburos (Ercolli *et al.*, 2001) se caracteriza por ser una técnica de bajo costo de operación.

La biorremediación en general, es un proceso viable de aplicación para la remediación de suelos contaminados por compuestos orgánicos en México ya que usualmente, la mayor parte de su territorio, cuenta con las condiciones climáticas

adecuadas, con temperaturas medias anuales que oscilan entre los 18 y 26 °C, propicias para emplear estos tipos de procesos (SEMARNAT, 2002).

Esta técnica se basa en la capacidad de los microorganismos de biotransformar compuestos orgánicos, por lo general hacia productos menos tóxicos o de más fácil degradación, usando microorganismos 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 *et al.*, 2006).

Los tratamientos biológicos de degradación en suelos pueden ser eficientes y económicos se aplican frecuentemente al tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos, si las condiciones de biodegradación son optimizadas como el control de variables operacionales tales como nutrientes, humedad y oxígeno. (Álvarez, 2001).

Se pueden aplicar técnicas de biorremediación *in-situ* o biorremediación *ex-situ*:

### **Biorremediación “*in situ*”**

Torres y Zuluaga, (2009) mencionan que la biorremediación *in situ*, es la opción más adecuada para la recuperación de suelos, ya que se realiza en el lugar donde se encuentra el suelo contaminado por lo tanto no es necesaria la preparación y excavación del material. No obstante, antes de decidir el tipo de tratamiento deben valorarse numerosos factores entre los que se destacan:

- Impacto ambiental en la zona
- Actividades industriales que pueden verse afectadas.
- Costos comparativos con otros tratamientos.

- La dificultad de acceso a la zona contaminada para proveer de oxígeno y nutrientes
- La determinación del porcentaje de tratamiento.
- La velocidad del proceso
- El potencial peligro de extensión de la contaminación.

El método de la biorremediación "*in situ*" de suelos se puede dividir en dos tipos: tratamiento de compuestos volátiles y tratamiento de compuestos semivolátiles y no volátiles (Torres y Zuluaga, 2009). Los factores que controlan la eficacia de esta técnica son el tipo de contaminante, las características del suelo (permeabilidad, arenas no finas para su mezcla), presencia de obstáculos subterráneos que impidan la mezcla subsuperficial, profundidad de la contaminación en el suelo y existencia, a poca profundidad, de un acuífero utilizable (Álvarez *et al.*, 2001).

### **Biorremediación "*ex situ*"**

Esta técnica se distinguen por el traslado del suelo contaminado para su tratamiento, ya que se realiza fuera del lugar de donde está la contaminación: El tratamiento *ex-situ* de suelos, sedimentos y otros sólidos contaminados con hidrocarburos se puede realizar en un variado número de procesos en fase sólida y en fase lodo (Ercoli *et al.*, 2001).

La biorrecuperación en fase sólida son aquellos en donde el suelo se trata con un contenido de agua mínima (Saracino, 2001 citado por Álvarez *et al.*, 2005). Se puede realizar por dos métodos: tratamiento en lechos y tratamiento por compostaje. La diferencia fundamental entre ambos es el sistema de aireación, mientras que en el primero sólo se pueden tratar las capas de suelo menos profundas, en el compostaje se requiere la formación de grandes apilamientos de material degradable (Torres y Zuluaga, 2009).

Los procesos de fase lodo se caracterizan por la suspensión de agua en el suelo contaminado (Saracino, 2001 citado por Álvarez *et al.*, 2005) es decir, el tratamiento se lleva a cabo bajo condiciones de saturación de agua. En este tratamiento se excava el material contaminado y se traslada a un reactor donde se lleva a cabo dicho proceso, la ventaja de estos procedimientos frente a los primeros radica en la posibilidad de optimizar mejor los parámetros microbiológicos, así como el control del proceso; a cambio, lógicamente, de un mayor costo (Torres y Zuluaga, 2009).

El mismo investigador menciona que en la actualidad, la biorremediación enfrenta un nuevo reto: el de convencer a las compañías y a los organismos oficiales de su alto potencial. En algunos países, la biorremediación fue una técnica poco reconocida y marginada, hoy en día se ha convertido en una verdadera industria. Esta “industria” busca seguir mejorando en sus líneas interdisciplinarias, como Integración en el proceso de técnicas innovadoras que ayuden a comprender y controlar los fenómenos de transporte de nutrientes y otros posibles aditivos.

### **Importancia de la biorremediación de suelos**

La descontaminación de suelos tiene como objetivo principal emplear el proceso de biorremediación, siendo necesario y el más adecuado para la disminución de los niveles de contaminación de zonas afectadas (Mallia, 2002). En la biorremediación se degradan los compuestos orgánicos hasta convertirse en elementos con un menor grado de peligrosidad. La biorremediación y las barreras reactivas permeables son ejemplos de métodos que permiten reducir la peligrosidad de los químicos contaminantes. Muchos de estos métodos para eliminar la contaminación, que convierten o destruyen los contaminantes, se consideran innovadores (EPA, 2002).

La degradación del suelo es una amenaza para el futuro de la humanidad; los científicos se enfrentan al triple desafío de preservar e incrementar la calidad de la tierra, para ello es necesario contar con indicadores de calidad o salud de la tierra y de manejo sostenible de la misma, dando seguimiento a variables sociales y económicas. La calidad del suelo ha sido relacionada con la capacidad del suelo para funcionar; esto incluye atributos como fertilidad, productividad potencial, sostenibilidad y calidad ambiental. Simultáneamente, la calidad del suelo es un instrumento que sirve para comprender la utilidad y salud de este recurso. (Bautista *et al.*, 2004).

Se observó que en los estudios acerca de la importancia del suelo para el desarrollo de la sociedad, tanto como recurso económico o como fuente de alimento. La errónea gestión de instalaciones y procesos industriales ha llevado a la contaminación de los suelos en gran parte del mundo esto se traduce en una pérdida de calidad del suelo y sus funciones e impacta directamente a las actividades que se desarrollan en él, principalmente en la agricultura, el turismo y los recursos naturales, hasta ahora el manejo de suelos ha sido no sustentable (Contreras y Herrera, 2005).

Otras consecuencias ambientales que se presentan después de un evento de contaminación por hidrocarburos son: la reducción o inhibición del desarrollo de la cobertura vegetal del lugar del derrame, cambios en la dinámica poblacional de la fauna y la biota microbiana y contaminación por infiltración de cuerpos de agua subterráneos. Además del impacto ambiental negativo, los derrames de hidrocarburos generan impactos de tipo económico, social y de salud pública en las zonas aledañas al lugar afectado. En los ecosistemas terrestres, el suelo representa el medio físico que sustenta la vida de diversas especies, tanto animales como vegetales es por eso que la técnica de biorremediación es muy importante para llevar a cabo las funciones vitales en el ambiente (Pardo *et al.*, 2004). El tratamiento de suelos contaminado con hidrocarburos es esencial para mantener la calidad del medio ambiente (Vázquez *et al.*, 2004).

## **Ventajas y desventajas de la biorremediación**

**Ventajas.** Mientras que los tratamientos físicos y buena parte de los químicos están basados en transferir la contaminación entre medios gaseoso, líquido y sólido, en la biorremediación se transfiere poca contaminación de un medio a otro.

- Es económica viable y al tratarse de un proceso natural (Torres y Zuluaga, 2009).
- Es un procedimiento completamente ecológico, pues no agrega ningún tipo de sustancia u organismo extraño y transforma un residuo aceitoso en componentes naturales no contaminantes.
- Al final de un tratamiento no queda ningún rastro de productos nocivos, mientras que la población bacteriana disminuye naturalmente, a medida que desaparece su alimento.
- Es una tecnología simple y de fácil aplicación (Velasco y Volke, 2007).
- Ventajas del tratamiento “in situ” es una alternativa económicamente interesante ya que no requiere área adicional para llevar a cabo el tratamiento, ni el uso de maquinaria pesada.
- Una de las técnicas desarrolladas con el objeto de biorremediar suelos contaminados con petróleo, es el composteo del suelo con materiales orgánicos de fácil degradación, (Volke y Velasco, 2003).
- La tecnología de la biorremediación, basada en la utilización de los microorganismos y su potencial metabólico biodegradador para eliminar los contaminantes del medio, por la no afectación de otros compartimentos ambientales y la optimización de los recursos (Marc, 2005).

**Desventajas.** Por su misma naturaleza, este procedimiento no afecta las concentraciones originales de metales pesados y salinidad, (Olea y Figueroa, 1998).

- La biodegradación incompleta puede generar intermediarios metabólicos inaceptables, con un poder contaminante similar o incluso superior al

producto de partida y algunos compuestos contaminantes son tan resistentes que pueden incluso inhibir a biorremediación.

- Es difícil predecir el tiempo de requerido para un proceso adecuado y el seguimiento y control de la velocidad (Torres y Zuluaga, 2009).
- Los microorganismos inoculados pueden desplazar a los existentes en el suelo por competición y lograr poco efecto degradativa o bien pueden no adaptarse a las condiciones ambientales del lugar.
- Cuando la temperatura es baja, la viscosidad del petróleo aumenta variando su solubilidad en agua y se disminuye la volatilización de algunas fracciones tóxicas que pueden afectar la actividad degradadora de los microorganismos (Pardo *et al.*, 2004).
- Los metales y las sales en altas concentraciones intoxican a los microorganismos (Ercoli *et al.*, 2001).
- Las limitantes de este método son: Tipo y concentración del contaminante.

### **Factores que condicionan la biorremediación de un suelo contaminado**

Una serie de factores relacionados entre sí influyen en la velocidad y eficiencia de un tratamiento de biodegradación de una mezcla de hidrocarburos presente en un suelo contaminado, los cuales como pueden clasificarse en cuatro grupos:

#### **Factores medio ambientales**

Los factores medio ambientales son aquellos necesarios a la hora de proporcionar las condiciones óptimas para el crecimiento de los microorganismos que llevan a cabo la recuperación. Los microorganismos son muy sensibles a los cambios de temperatura, pH, humedad, oxígeno y disponibilidad de nutrientes.

**Temperatura.** Es uno de los factores ambientales más importantes que afecta la actividad metabólica de los microorganismos y la tasa de biodegradación.

Generalmente, las especies bacterianas crecen a intervalos de temperatura, superiores a 40 °C e inhibiéndose a inferiores a 0 °C. Sin embargo, también se ha dado la biodegradación de hidrocarburos a temperaturas extremas (Torres y Zuluaga, 2009).

Toda actividad bacteriana depende directamente de la temperatura ambiente a que esté sometida; a mayor temperatura, mayor será la actividad (Olea y Figueroa, 1998). El rango de temperatura intensifica la actividad enzimática de los microorganismos acelerando al máximo los procesos de biodegradación (Pardo *et al.*, 2004) dependiendo del tipo de microorganismos disponibles. Normalmente las temperaturas más adecuadas se encuentran entre 20 ° C y 40 ° C, los microorganismos que trabajan a estas temperaturas se denominan mesófilos. Cuando supera los 40 ° C se produce una disminución de la actividad microbiana, o bien se produce una rotación poblacional hacia especies más resistentes a las altas temperaturas, como ocurre en los procesos de compostaje en donde se alcanzan temperaturas de 65 ° C. Durante el cambio de poblaciones se produce una disminución de la actividad microbiana. Se han registrado procesos donde la temperatura del suelo empetroado alcanzó 70 °. En el caso de temperaturas por debajo de 15 °C se ha registrado actividad biológica estos microorganismos se llaman criófilos. Las velocidades de degradación disminuyen pero no se detienen (Ercoli *et al.*, 2001).

Las bacterias que degradan hidrocarburos se reproducen a una temperatura entre 20 y 30 grados, explicó Mac Cormack a Tierramérica."A cuatro grados no crecen y entonces los procesos de descontaminación no tienen éxito o son demasiado lentos como para ser considerados eficientes" (Valente, 2003).

**pH.** El pH del suelo es importante para el desarrollo de los microorganismos degradadores, siendo los más adecuados los comprendidos entre 6 y 8. Si es menor de 6 se puede incrementar mediante la incorporación de carbonato de calcio o hidróxido de calcio al suelo (Ercoli *et al.*, 2001).

El desarrollo bacteriano depende plenamente del pH del medio en el cual van a crecer. Para los residuos de lodos de perforación es normal encontrar pH por encima de 9.5 unidades (Olea y Figueroa, 1998). La mayoría de bacterias heterótrofas se desarrollan óptimamente en pH cercanos a la neutralidad, por lo cual es de esperarse que pH extremos en el medio afectarán de manera negativa a las comunidades microbianas inhibiendo su capacidad para degradar hidrocarburos. Se ha establecido que el rango óptimo de pH para la biodegradación de lodos aceitosos en suelo se encuentra entre 5 y 7.8, (Pardo *et al.*, 2004).

**Humedad.** El agua es importante para el desarrollo de los microorganismos ya que actúa como medio de transporte de nutrientes y oxígeno a la célula. Es conveniente mantener una humedad del orden del 70 % de la capacidad de campo. Un déficit impide el desarrollo de los microorganismos (Ercoli *et al.*, 2001).

Las bacterias requieren un medio en el cual reproducirse y moverse dentro del residuo. Un medio muy seco impide la reproducción de este tipo de vida. Por el contrario, un medio excesivamente húmedo destruirá las bacterias aeróbicas y promoverá la aparición de organismos anaeróbicos. El nivel ideal de humedad está alrededor de 35 %. Se debe evitar valores por debajo de 15 % o por encima de 45 % (Olea y Figueroa, 1998). 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. Existen valores de humedad óptima para biorremediación de terrenos no saturados, que habitualmente están entre 150 y 250 gramos de agua por kg de terreno seco (Torres y Zuluaga, 2009).

**Oxígeno.** Es el aceptor final de electrones generalmente empleado en procesos biológicos y también es necesario en determinados tipos de reacciones de oxidación-reducción catalizada por enzimas. Los microorganismos, oxidan

compuestos orgánicos o inorgánicos, obteniendo así la energía necesaria para su crecimiento (Torres y Zuluaga, 2009).

La disponibilidad de oxígeno es fundamental para el proceso. Las actividades periódicas de agitación mecánica del residuo son extremadamente importantes para optimizar el trabajo esto se hace manualmente aunque puede ser mas lenta, tendrá a su favor la no compactación del terreno, para la aireación. Es importante para la degradación de hidrocarburos, ya que es un proceso aeróbico, si bien se han realizado procesos anaeróbicos exitosos a baja velocidad. (Olea y Figueroa, 1998).

**Nutrimientos.** Son sustancias químicas necesarias para el desarrollo de los microorganismos y se pueden dividir en cuatro grupos: fuentes de carbono, fósforo, nitrógeno y oligoelementos o micronutrientes. La fuente de carbono en este caso es el contaminante, y proporciona el carbono necesario para producir compuestos celulares, la fuente de nitrógeno proporciona el elemento necesario para la producción de aminoácidos y enzimas para esto se pueden utilizar fertilizantes de origen orgánico como estiércol. La fuente de fósforo interviene en la formación de compuestos energéticos dentro de la célula que se utilizan en los procesos de reproducción y degradación. La fuente de oligoelementos constituye un conjunto variado de elementos como hierro, cobre, zinc, azufre, cobalto, manganeso, magnesio, calcio y otros compuestos que dependen del tipo de microorganismo y del proceso que se realiza. Normalmente no se incorporan en los procesos de campo ya que el suelo provee estos elementos en cantidades suficientes (Ercoli *et al.*, 2001).

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 (Torres y Zuluaga, 2009).

## Factores físicos

Los factores físicos de mayor importancia en la biorremediación son:

**Biodisponibilidad:** la presencia de agua y la provisión de un aceptor de electrones. La tasa de degradación depende tanto de la capacidad de transporte y del metabolismo microbiano, como de la transferencia de masas del compuesto. La relación entre estos factores se conoce como biodisponibilidad. En los suelos uno de los factores limitantes para la biodegradación es la transferencia de masas, ya que los microorganismos de los suelos contaminados, suelen tener amplias capacidades biodegradativas al estar expuestos a una gran variedad de compuestos orgánicos diferentes (Stucki y Alexander, 1987; Tabak *et al.* 1994 y 1995; Harms *et al.*, 1996; Bosma *et al.*, 1997; citado por Torres y Zuluaga, 2009). Un fenómeno que afecta de forma negativa a la biodisponibilidad de los contaminantes la pérdida de la biodegradabilidad de los compuestos a lo largo del tiempo en el suelo, el cual es más importante en suelos con elevado contenido en materia orgánica (Torres y Zuluaga, 2009).

**Presencia de agua.** Ésta es necesaria ya que los microorganismos toman el carbono orgánico, los nutrientes inorgánicos y los aceptores de electrones, necesarios para el crecimiento microbiano, de la fase líquida. Por lo tanto, el agua debe estar en contacto con los contaminantes estar presente en cantidades que permitan el desarrollo de las comunidades microbianas. Sin embargo, el agua puede llegar a inhibir el flujo de aire y reducir el suministro de oxígeno necesario para la respiración microbiana (Torres y Zuluaga, 2009).

## Factores químicos

El factor químico más importante en la biorremediación es la estructura molecular del contaminante, cómo ésta afecta a sus propiedades químicas y físicas y su capacidad para ser biodegradado. La capacidad para ser

biodegradado está relacionada con factores tales como la solubilidad, el grado de ramificación, el grado de saturación y la naturaleza y el efecto de los sustituyentes. La estructura química 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 (Torres y Zuluaga, 2009).

De las distintas familias de hidrocarburos del petróleo, los n-alcanos y los alcanos ramificados de cadena intermedia (C10-C20) son los sustratos más fácilmente degradables por los microorganismos del suelo, y que por lo tanto tienden a ser eficazmente biodegradados. Sin embargo, los alcanos de cadena larga (>C20) son más difíciles de degradar debido a su (elevado peso molecular) y su baja solubilidad en agua. Los cicloalcanos, por norma general, se degradan más lentamente que los n-alcanos y alcanos ramificados. De igual forma, los HAPs que contienen de 2 a 3 anillos aromáticos pueden ser biodegradados eficazmente en el suelo en condiciones ambientales óptimas, mientras que los HAP de 4 anillos, y especialmente, los de 5 o más anillos bencénicos presentan una mayor recalcitrancia inherente y una baja solubilidad (Torres y Zuluaga, 2009).

### **Factores microbiológicos**

El factor microbiológico más importante en la biorremediación es la transformación biológica de compuestos orgánicos, catalizada por acción de las enzimas. La biodegradación de un compuesto específico es frecuentemente un proceso que se realiza paso a paso en el cual se involucran muchas enzimas y muchos organismos.

Las enzimas son específicas en términos de los compuestos que atacan y las reacciones que catalizan. Más de una enzima es normalmente requerida para romper una sustancia orgánica (Torres y Zuluaga, 2009).

Los factores que controlan su eficacia son la capacidad de que los microorganismos prosperen, niveles de oxígeno disuelto, humedad y permeabilidad del suelo, temperatura, nutrientes pH del suelo, factores de inhibición del crecimiento y productores secundarios de la biodegradación (Álvarez., 2001) La remediación biológica es un proceso para limpiar mediante microorganismos suelos contaminados con metales pesados o hidrocarburos, se aplica desde hace tiempo (Valente, 2003).

Las propiedades físicas y químicas de los suelos influyen en gran manera sobre la aireación, la disponibilidad de nutrientes y la retención de agua y, por lo tanto, en la actividad biológica. Las propiedades más importantes de las que engloban estos grupos son el tamaño de partícula, la porosidad, la humedad, estado de aireación, composición química, fracción de arcilla, capacidad de intercambio de cationes y fracción orgánica. El tamaño de partícula afecta a la química de la superficie de los suelos y al tamaño de los poros. Esto con el fin de reducir el nivel de hidrocarburos presentes en los ripsos de perforación producidos en la perforación con base aceite de una o varias secciones del pozo; hasta obtener una concentración por debajo del 5% en peso, la degradación microbiológica de los hidrocarburos, hasta transformarlos en sustancias no contaminantes e inclusive benéficas para el terreno (Olea y Figueroa, 1998).

## **Tipos de tecnologías de remediación de suelos contaminados**

### **Las tecnologías de biorremediación en México**

En el mercado ambiental de nuestro país existe actualmente una cantidad considerable de empresas nacionales e internacionales que ofrecen diferentes tipos de tecnologías para la remediación de sitios contaminados. De acuerdo con datos proporcionados por 40 empresas autorizadas para remediar suelos contaminados por diferentes tipos de contaminantes, dentro de las tecnologías más comúnmente empleadas se encuentran las biológicas siendo las más utilizadas el composteo y la biolabranza. El lavado de suelos, la oxidación química

y la separación física constituyen otra parte importante de las tecnologías más empleadas en México (SEMARNAT, 2002).

Una de las tecnologías de composteo más utilizada para el tratamiento de extensas áreas de suelos contaminados, principalmente por HTP, se lleva a cabo en condiciones aerobias y se conoce como biopilas (Velasco y Volke 2007).

La biorremediación y la atenuación natural son tecnologías que favorecen la remoción de compuestos orgánicos; sin embargo, los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) se consideran persistentes, y por tanto, difíciles de degradar. La atenuación natural es la reducción de las concentraciones del contaminante en el ambiente (Iturbe *et al.*, 2005).

Asimismo, muchas de las estrategias de biorremediación son competitivas en términos de costos y eficiencia sobre una matriz contaminada (Semple, *et al* 2001). Entre las tecnologías de biorremediación más comunes, se encuentran las siguientes:

**Bioaumentación.** Consiste en la adición de microorganismos vivos que tienen la capacidad de degradar el contaminante en cuestión y así promover su biodegradación o biotransformación (Torres, 2003).

**Biolabranza.** El suelo contaminado se mezcla con agentes de volumen y nutrientes, y se remueve periódicamente para favorecer su aireación. Durante la biolabranza, el suelo contaminado se mezcla con suelo limpio (Torres, 2003).

**Biodegradación en fase sólida.** Este tipo de tecnología generalmente se lleva a cabo *ex situ*, e incluye el composteo, las pilas estáticas y las pilas alargadas (Torres, 2003).

**Bioventing.** El cuál es un proceso de biorremediación *in situ* que consiste en la ventilación forzada del suelo mediante la inyección de O<sub>2</sub> debido a la aireación del suelo se va a favorecer la degradación de los hidrocarburos por dos motivos: por volatilización, facilitando la migración de la fase volátil de los contaminantes, y por biodegradación, ya que al incrementar la oxigenación del suelo se va a estimular la actividad microbiana (Torres, 2003).

**El Biosparging.** 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. Esta técnica se utiliza para la degradación de compuestos orgánicos en el suelo y aguas subterráneas que combina el efecto de la ventilación con la utilización de microorganismos (Crawford *et al.*, 2000 citado por Torres, 2003).

**Biopilas.** Son un tipo de biorremediación de tipo *ex situ* 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.

**Atenuación natural.** Es una técnica de biorremediación *in situ* de bajo costo, su característica principal es la utilización de los procesos físico-químicos 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 (Benavides *et al.*, 2006).

## **La gasolina y su composición**

El petróleo es el producto de la degradación anaeróbica de materia orgánica, durante largos períodos de tiempo y bajo condiciones de alta presión y temperatura, que la convierte en gas natural, crudo; el petróleo crudo es una

mezcla extremadamente compleja y variable de compuestos orgánicos. Los hidrocarburos pueden presentarse en un amplio rango de estructuras moleculares como cadenas lineales y ramificadas, anillos sencillos, condensados o aromáticos. (Torres y Zuluaga, 2009).

La gasolina son los primeros combustibles líquidos que se obtienen del fraccionamiento del petróleo, consiste de una mezcla de hidrocarburos de bajo peso molecular (entre C4 a C10) y aditivos químicos y una temperatura de destilación de entre 30 y 200 °C (API, 2004). Las gasolinas son producidas de petróleo en el proceso de refinación, es un líquido incoloro, pardo pálido o rosado, y es sumamente inflamable, entre los componentes de la misma con mayor potencial de riesgo ambiental, por su fácil liberación al medio ambiente y amplia toxicidad carcinogénica (García *et al.*, 2006).

Los hidrocarburos de la gasolina representan el 70 % o más, entre los que están la n-alcano (butano, pentano, etc.) y los isoalcanos (isooctano, isoparafinas), que son los dominantes; le siguen los cicloalcanos (ciclobutano, ciclopentano, ciclohexano, cicloheptano, ciclooctano, ciclonoano y ciclodecano) y los compuestos aromáticos. Entre los compuestos aromáticos están el benceno, tolueno, y xilenos (conocidos como BTX's. Los BTX's abarcan el 24% en peso de la gasolina. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) están en muy pequeñas cantidades en la gasolina, debido a su alto peso molecular y elevado punto de ebullición; la excepción la constituye el naftaleno, que puede estar presente en un 0,5% en peso. Entre los aditivos están los éteres oxigenados: éter metil-terbutílico (MTBE), éter etil-terbutílico (ETBE), éter metil-teramílico (TAME), éter di-isopropil (DIPE), y alcoholes (ej. etanol, alcohol ter-butílico ó butanol, metanol) (Celis, 2009).

Hay dos clases de hidrocarburos aromáticos: los de bajo peso molecular que tienen de 2 a 3 anillos aromáticos como el naftaleno, fenantreno, antraceno y

derivados, y los de alto peso molecular que tienen de 4 a 7 anillos aromáticos como el criseno y venzo (Iturbe *et al.*, 2005).

El BTX's incluyen los hidrocarburos aromáticos benceno, tolueno y xileno que forman parte de la gasolina, las propiedades y toxicidad de cada uno de ellos.

**El benceno** ( $C_6H_6$ ) es un líquido volátil, incoloro e inflamable, con un característico olor dulce en pequeñas concentraciones y desagradable e irritante a altas concentraciones, es también un excelente disolvente. La concentración del benceno en la fase de vapor de la gasolina es menor que su concentración en el líquido. Químicamente es bastante estable, pero bajo condiciones favorables, uno o más átomos de hidrógeno de la molécula pueden ser sustituidos por átomos de halógenos, o por grupos de ácidos como nítricos o sulfúricos.

**Tolueno** ( $C_7H_8$ ) es de menor peso molecular. La sustitución del radical alquilo cambia las características físicas, su adsorción, partición y características metabólicas. Es un líquido claro, incoloro, no corrosivo e inflamable, con un olor dulce y penetrante parecido al del benceno. La toxicidad en exposiciones humanas crónicas el tolueno se manifiesta como un tóxico moderado.

**Xileno.** Los xilenos o dimetilbencenos son isómeros  $C_8$  del benceno con forma molecular ( $C_8H_{10}$ ). Se da en varios productos petrolíferos, en el carbón de nafta, y como una impureza en petroquímicos, al igual que el benceno y el tolueno. Los isómeros del xileno son considerados como líquidos muy inflamables. Los xilenos muestran una moderada toxicidad. Los estudios en animales muestran que el xileno es más tóxico que el tolueno. A pequeñas dosis de xileno se producen efectos tóxicos umbrales; a altas dosis, el xileno es más tóxico que el tolueno, produciendo efectos pulmonares y dermatológicos (Álvarez *et al.*, 2001).

Respecto a su procedencia existen tres clases de gasolinas:

*Gasolinas naturales:* es aquella que se produce por separación del gas natural o gas de cabeza de pozo, el contenido en hidrocarburos es mas bajo que la gasolina en destilación.

*Gasolinas en destilación directa:* Fracción que se obtiene al destilar el crudo de petróleo a presión atmosférica. No contiene hidrocarburos no saturados de moléculas complejas aromático nafténicas, presenta punto de ebullición más alto que el límite superior del intervalo de ebullición de la gasolina.

*Gasolina de cracking o refinado:* sale a partir de una fracción de corte alto que se somete a otro proceso (cracking), donde se rompen las moléculas mas grandes en otras mas pequeñas obteniendo moléculas que entran dentro de la fracción de la gasolina, la composición no va hacer tan homogénea como en las dos anteriores.

Según su utilización la gasolina se divide en gasolinas de automoción y gasolinas de aviación. La de automoción se emplea en los motores de automóviles, de 4 tiempos, encendido por chispa, válvula de trabajo y carburador de aire. También se usa en motores de 2 tipos y con otro tipo de válvula. (textoscientificos.com, 2006).

### **Características de un suelo contaminado y sus efectos en el ambiente**

Los tipos de suelos afectados son de zonas bajas con altos contenidos de materia orgánica y arcilla y los menos afectados, son por lo general los más aptos para la agricultura por poseer texturas menos finas y alta fertilidad. Los sitios que se encuentren en la planicie costera, son los que más preocupan en caso de contaminación por el impacto que puede tener sobre los acuíferos, debido a su alta permeabilidad (Benavides *et al.*, 2006).

Por otra parte, en suelos contaminados por largos períodos, conocidos como suelos intemperizados, los compuestos contaminantes llegan a ser inaccesibles para los microorganismos nativos debido a las fuertes interacciones que se producen entre dichos compuestos y la materia orgánica del suelo (De Jonge y col., 1997; citado por Volke y Velasco, 2003).

La mezcla de solventes químicos son componentes de la gasolina y representan un riesgo ambiental por su toxicidad (Acuña *et al.*, 2006). Diferentes estudios han determinado el efecto de la contaminación con hidrocarburos en la germinación y crecimiento vegetativo de diferentes especies de pastos sometidos a diferentes concentraciones de hidrocarburo, y aun marcado retrasó en el crecimiento de todas las plantas (Benavides *et al.*, 2006); además el contacto directo con las plantas origina quemaduras y la reducción de la fotosíntesis debido al recubrimiento de las hojas y tallos con petróleo (Trujillo *et al.*, 2005).

Así mismo estudios evaluaron el efecto de los hidrocarburos poliaromáticos (PHA) en ecosistemas forestales y plantas madereras, demostrando un efecto de necrosis foliar y reportando que aproximadamente 3200 hectáreas son afectadas por los derrames y el 90 % de estos son pantanos o zonas inundables aledañas a plantas con tuberías corroídas por tener mas de 50 años de antigüedad, al igual que se emplean pozos sin crudo para almacenamiento de los cuáles un 30% están contaminados con desechos aceitosos (Benavides *et al.*, 2006).

### **Efectos de la contaminación de hidrocarburos en el ser humano**

La contaminación producida por hidrocarburos está determinada por sus características mutagénicas, carcinogénicas y tóxicas. Además, su propiedad de escasa solubilidad dificulta aún más la biodegradación natural (Molina *et al.*, 2007). Muchos de los efectos nocivos observados después de la exposición a la gasolina se deben a los productos químicos individuales; en la mezcla de gasolina, tales como benceno, al inhalar o tragar grandes cantidades de gasolina es irritante

a los pulmones, estómago también y a la piel puede causar la muerte. Respirar altos niveles de gasolina por períodos breves o ingerir grandes cantidades también puede producir efectos al sistema nervioso incluyen mareo y dolores de cabeza, coma e inhabilidad para respirar (Rivera *et al.*, 2004).

Estudios han comprobado que el benceno es un agente cancerígeno en humanos (Mazari, 2007). Por su parte, el petróleo en el suelo causa problemas ecotoxicológicos, debido al potencial tóxico, carcinogénico y mutagénico de los hidrocarburos que lo componen (Rivera *et al.*, 2004).

### **Factores que influyen en la permeabilidad de los suelos.**

La permeabilidad se ve afectada por diversos factores inherentes tanto al suelo como a características del fluido circulante. Los principales son: fuerzas de superficie, la porosidad, la tortuosidad de los vacíos del suelo, la relación de vacíos del suelo, la temperatura del fluido y suelo, la viscosidad del fluido en movimiento, la estructuración del suelo, la humedad del suelo (Álvarez *et al.*, 2002).

Los derrames y las fugas de gasolina desde estanques subterráneos plantean un mayor riesgo a los recursos de agua subterránea respecto de los BTEX, debido a la mayor solubilidad de los éteres y su baja adsorción a las partículas del suelo, permitiendo que viajen más lejos y más rápidamente en el agua subterránea (Shih *et al.*, 2004).

La restauración de un suelo contaminado, se inicia con la desorción del contaminante de la fase sólida en la que se encuentra alojado, dicha desorción de contaminantes, en suelos intemperizados, se ha resuelto mediante la incorporación de surfactantes sintéticos y biológicos (Volke y Velasco, 2003).

## **Biodegradación de la gasolina mediante estiércol**

La biodegradabilidad de un compuesto orgánico se debe a que es utilizado por los microorganismos como fuente de carbono. No todos los compuestos se degradan con la misma facilidad (Ercoli *et al.*, 2001).

Los compuestos alifáticos de cadena lineal (parafínicos) se degradan fácilmente, pero cuando se incluyen como sustituyentes alcanos de cadena larga, se forman estructuras ramificadas estéricamente inaccesibles para la degradación (Ercoli *et al.*, 2001).

Los compuestos aromáticos simples se degradan por diferentes aperturas del anillo. También se pueden degradar los compuestos aromáticos policlorados como los policlorobencenos cuya biodegradabilidad disminuye al aumentar el número de átomos de Cloro en la molécula.

Los compuestos nitrogenados y azufrados se degradan lentamente, los compuestos más resistentes al ataque microbiano son las fibras sintéticas, aunque se están aislando microorganismos capaces de degradar estos compuestos (Ercoli *et al.*, 2001).

Cuando la concentración de contaminante es alta puede ocurrir que se produzca inhibición del desarrollo microbiano y disminuya su capacidad de metabolización o si es muy alta que intoxique a los microorganismos. Los microorganismos pueden degradar hidrocarburos y otras sustancias contaminantes en forma de cultivos puros (especie única) o cultivos mixtos (varias especies que mantienen una relación simbiótica). Cuando se trata de este último caso, el tratamiento biológico implica una compleja interacción de especies microbianas. La velocidad de crecimiento y la utilización de sustratos es generalmente superior en cultivos mixtos que en cultivos puros. En una mezcla de poblaciones los consumidores primarios inician el proceso de degradación y los consumidores secundarios utilizan los productos metabólicos de los primeros para degradarlos (Ercoli *et al.*, 2001).

Se recomienda implementar este novedoso método como medida de saneamiento de ciertas áreas del terreno del complejo, ya que representa una alternativa sencilla y de bajo costo (Mallia *et al.*, 2002).

### **Estiércol de caballo y sus características**

Estiércol es el nombre con el que se denominan a los excrementos de los animales, se emplean principalmente los desechos de oveja, de ganado vacuno, de caballo, de gallina. Se usa en la agricultura ecológica por su valor ya que no sólo proporcionan nutrientes al suelo sino que aportan materia orgánica y favorecen la presencia de microorganismos del suelo, el estiércol es la base del compost (Corso *et al.*, 2009), es un abono orgánico, que mejora las condiciones del suelo haciéndolo menos compacto, más poroso y en consecuencia con mejor retención de agua y de aire (Semple *et al* 2001). Es efectivo para remediar suelos contaminados por residuos orgánicos peligrosos como los HTP, solventes, explosivos, pesticidas e HAP (Semple *et al.*, 2001).

Las características del estiércol de caballo, cuando el tamaño del animal es de 1000 Lbs, con producción diaria 45 Lbs/día, contenido de agua de 79.5 %, densidad de 60 Lbs/pie<sup>3</sup>, contenido de sólidos totales de 9.4 Lbs/día y contenido de sólidos volátiles de 7.5 Lbs/día. El contenido de nutrientes: los elementos del estiércol son nitrógeno y fósforo (Andriulo, A. 2003). Nitrógeno 0.27 Lbs/día, Fosfato 0.105 Lbs/día, Potasa 0.205 Lbs/día (Allen *et al.*, 2001).

### **Microorganismos que degradan la gasolina**

La degradación microbiana constituye el principal proceso de descontaminación natural (Torres y Zuluaga, 2009). Existen diversos microorganismos (bacterias, hongos) que son capaces de biodegradar diferentes contaminantes bajo diferentes condiciones. Muchos contaminantes son utilizados como alimentos por parte de los microorganismos, sin embargo, algunos pueden

ser degradados mejor cuando los organismos utilizan algunas cosas mas añadidas a su alimentación principal (NICOLE, 2007).

Algunas bacterias, pueden utilizar los hidrocarburos como alimento y fuente de energía ya que estos compuestos contienen carbono, hidrógeno, azufre, nitrógeno, y oxígeno, ya que son los elementos necesarios para el desarrollo de cualquier organismo. Los microorganismos aislados en suelos poseen actividades de peroxidasas y oxigenasas llevando acabo la descomposición, oxidando el petróleo a dióxido de carbono, agua y energía (Fernández *et al.*, 2008). Los microorganismos que normalmente participan en este tipo de proceso, son parte de la flora natural de los sustratos orgánicos, así como de los microorganismos nativos del suelo (Volke y Velasco, 2003); que prolifera por la presencia de fósforo y nitrógeno y que degrada los residuos. Para acelerar el proceso se adiciona más nutriente, con lo que se logró eliminar más de 80 por ciento de los hidrocarburos en menos de 60 días (Valente, 2003).

Existen varias clases de microorganismos: mohos, levaduras, bacterias, actinomicetos, protozoos, algas, virus que muestra el tamaño comparativo de algunos microorganismos:

*Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Vibrio*, *Acinetobacter*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium* y *Flavabacterium*. Por su diversidad, las bacterias se encuentran regularmente en comunidades heterogéneas; algunas especies son degradadores primarios, es decir, ellas inician la degradación de la materia orgánica en el suelo; otras crecen en compuestos resultantes de la degradación parcial de complejos orgánicos o productos residuales de degradadores primarios. Las bacterias tienen dos apariencias físicas generales, esféricas (cocos) y forma de bastones (bacilos) (Torres y Zuluaga, 2009). La degradación del bifenil policlorinado PCBs y otros hidrocarburos por microorganismos como *Comamonas acidovorans*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Achromobacter* sp. *Pseudomonas* sp. *Flavobacterium devorans*,

*Bacillus lentus*, *Bacillus mascerans* y *Bacillus thuringensis* ha sido aplicada con buenos resultados para el tratamiento de los mismos (Jizhong, *et al.*, 2001).

Otro género estudiado dentro de las técnicas de biorremediación es:

**Las Pseudomonas.** Son bacterias Gram negativas, obicuas, que pertenecen a la subclase gamma de las Proteobacterias. Productoras de biosurfactantes como los ramnolipidos involucrados en procesos de remoción de aceites y productos relacionados, contienen además enzimas degradadoras de hidrocarburos en la membrana citoplasmática (Torres y Zuluaga, 2009).

**La *Pseudomonas aeruginosa*.** Es otro de los microorganismos más usado y estudiado en biorremediación, se 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 (Torres y Zuluaga, 2009).

***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.

***Rhodococcus*.** Es uno de los géneros bacterianos más explotados en bioprocesos no convencionales, consistente en microorganismos que presentan una gran diversidad metabólica, capaz de transformar, biodegradar y utilizar como única fuente de carbono compuestos hidrófobos (Benavides *et al.*, 2006). Este microorganismo 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 utilizando el dibenzotiofeno (DBT) como única fuente de azufre, el DBT y sus derivados son los órganoazufrados más abundantes en el diesel (Torres y Zuluaga, 2009). 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 (Eriksson, 2003).

### **Respuesta de las poblaciones microbianas a la biorremediación**

Los microorganismos presentes en el suelo son vitales para su fertilidad, para la degradación de materia orgánica, contaminantes en suelos y sedimentos. Las comunidades microbianas presentes en suelos contaminados tienden a estar dominadas por aquellas bacterias que pueden sobrevivir a la toxicidad presente en el ambiente siendo capaces de utilizar al contaminante para crecer (Contreras y Herrera, 2005).

Los microorganismos pueden degradar hidrocarburos y otras sustancias contaminantes en forma de cultivos puros o cultivos mixtos. Cuando se trata de cultivos mixtos el tratamiento biológico implica una compleja interacción de especies microbianas, la velocidad de crecimiento y la utilización de sustratos son generalmente superiores. En una mezcla de poblaciones los consumidores primarios inician el proceso de degradación y los consumidores secundarios utilizan los productos metabólicos de los primeros para degradarlos (Ercoli *et al.*, 2001).

Los microorganismos ingieren contaminantes y mediante procesos metabólicos, transforman los contaminantes en sustancias menos tóxicas. Se precisan organismos específicos para cada contaminante (Álvarez *et al.*, 2001). Cuando la concentración de contaminante es alta puede ocurrir que se produzca inhibición del desarrollo microbiano disminuya su capacidad de metabolización (Ercoli *et al.*, 2001).

Investigaciones realizadas demostraron la eficiencia de bacterias del género *Pseudomonas* en la degradación del ácido 3-Phenoxybenzoico en suelos. Las

bacterias resultan ser efectivas en todos los casos; sin embargo, las bacterias modificadas genéticamente tienen una mayor capacidad para sobrevivir a factores ambientales adversos. Esto es alentador, dado que uno de los factores que muchas veces impide la biorremediación de suelos *in situ* son las condiciones ambientales desfavorables para el crecimiento bacteriano. Otra especie de bacteria que ha sido usada para la degradación de hidrocarburos es *Sphingomonas wittichii* RW1, la cual en condiciones anaeróbicas es capaz de transformar el 2,7 diclorobenceno, produciendo el metabolito 4 clorocatenol (Torres, 2003).

Otros microorganismos, menos estudiados pero que también contribuyen a la degradación de agentes contaminantes en el suelo, son las cianobacterias; se a estudiado el papel de las especies *Phormidium* y *Oscillatoria* sobre la degradación de hidrocarburos (Torres, 2003).

### **Legislación ambiental de suelos contaminados con hidrocarburos**

La Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente (LGEEPA) mencionan las actividades que pueden causar desequilibrio ecológico particularmente para las actividades petroleras debido a obras hidráulicas, vías de comunicación, oleoductos, gasoductos y barbotuctos. La LGEEPA en 1996 establece cuatro artículos los aspectos para atender la contaminación del suelo:

Art. 134. Menciona los criterios de la prevención y control de la contaminación; párrafo I. Corresponde al estado y la sociedad prevenir la contaminación del suelo. II. Deben controlarse los residuos en tanto que constituyen la principal fuente de contaminación del suelo; IV. Se establece que en los suelos contaminados por la presencia de materiales o residuos peligrosos, deberán llevarse a cabo acciones necesarias para recuperar o restablecer sus condiciones, de tal manera que puedan ser utilizados en cualquier tipo de actividad prevista por el programa o de ordenamiento ecológico que resulte aplicable.

Art. 136. Los residuos que se acumulen o puedan acumularse y se depositen o infiltren en los suelos deberán reunir las condiciones necesarias para prevenir o evitar: I. Contaminación del suelo, II Las alteraciones nocivas en el proceso biológico de los suelos; III. Las alteraciones en el suelo que perjudiquen su aprovechamiento, uso o explotación y; IV. Riesgos y problemas de salud.

Art. 139. Toda descarga, depósito o infiltración de sustancias o materiales contaminantes en los suelos se sujetará a lo que disponga esta ley, la ley de Aguas Nacionales, sus disposiciones reglamentarias y las Normas Oficiales Mexicanas que para tal efecto expida la Secretaría.

Art. 140. La generación, manejo y disposición final de los residuos de lenta degradación deberá sujetarse a la que establezca en las Normas Oficiales Mexicanas que al respecto expida la Secretaría, en coordinación con la Secretaría del Comercio y Fomento Industrial (Ortiz, 2001).

En México, la PROFEPA ha manejado criterios de limpieza para la restauración de suelos contaminados. Estos criterios se encuentran en la norma emergente NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 Límites Máximos Permisibles de Hidrocarburos en Suelos y las Especificaciones para su Caracterización y Remediación (Ortíz *et al.*, 2003). La NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 establece los límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación. Límites máximos permisibles por lo que se refiere a los productos asociados a los derrames de hidrocarburos. Los límites máximos permisibles de estas sustancias se deben sujetar a los tipos de suelo que establece la Norma.

**Límites máximos permisibles para fracciones de hidrocarburos en suelo.** Uso de suelo predominante 1 (mg/kg base seca): Cuando la fracción del hidrocarburo es ligera en suelo agrícola y residencial el límite máximo permisible es de 200 mg/kg, en suelos industriales el límite es 500 mg/kg. Cuando la fracción de hidrocarburo es media en suelos agrícolas y residencial el límite máximo

permisible es 1,200 mg/kg, en suelo industrial el límite máximo permisible es 5,000 mg/kg. Y cuando la fracción de hidrocarburos es pesado en suelo agrícola y residencial el límite máximo permisible es 3,000 mg/kg y en suelo industrial es 6,000 mg/kg.

**Los límites máximos permisibles para hidrocarburos específicos en suelo.** Son mostrados en seguida y están determinados por la NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 que además establece las especificaciones para su caracterización y remediación.

Hidrocarburos específicos	Uso de suelo predominante 1 mg/kg base seca).		
	Agrícola	Residencial	Industrial
Benceno	6	6	15
Tolueno	40	40	100
Etilbenceno	10	10	25
Xilenos (suma de isómeros)	40	40	100
Benzo[a]pireno <sup>4</sup>	2	2	10
Dibenzo[a,h]antraceno <sup>4</sup>	2	2	10
Benzo[a]antraceno <sup>4</sup>	2	2	10
Benzo[b]fluoranteno <sup>4</sup>	2	2	10

## MATERIALES Y METODOS

Este trabajo se realizó en el período de mayo-diciembre de 2009 en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, ubicada en carretera a Santa Fe y Periférico, de la ciudad de Torreón Coahuila, México, con coordenadas latitud Norte 25° 33' 25", longitud Oeste de 103° 21' 57" y una altitud de 1130 msnm. El clima que predomina es semidesértico, con una precipitación media anual inferior los 200 mm. En esta localidad se seleccionó el área en la parte noreste al final de los terrenos de la Universidad. Se hizo un diseño experimental de bloques al azar con preprueba y pospruebas con un grupo control, con tres repeticiones.

### Pre pruebas

En el área experimental se colectaron muestras de suelo, que fueron transportadas al laboratorio de suelos; donde se llevó a cabo los análisis del suelo y del estiércol, los parámetros físicos y químicos que se determinaron son: pH, CE estos análisis se realizaron a partir de la pasta de saturación por filtración de vacío para estos análisis y para la textura se utilizó la técnica del método del Hidrómetro de Bouyoucos (SARH, 1985). Otro de los parámetros que se determinó es el carbono y para esto primero se obtuvo el resultado de la materia orgánica por medio del método Walkley y Black Modificado (Etchevers *et al.*, 1971), a continuación se calculó el % de carbono por medio de ésta fórmula:

$$\% C = \frac{\% \text{Materia orgánica.}}{1.724.}$$

Para el proceso de determinación de nitrógeno se utilizó el método de Kjeldahl (Walkley y Black, 1934), con los datos obtenidos se calculó el % del nitrógeno por medio de la siguiente fórmula:

$$\% N \text{ Total} = \frac{(M1 \text{ NaOH Testigo}) - M1 \text{ NaOH Muestra) x N x (0.014 x 100)}}{\text{Gramos de suelo.}}$$

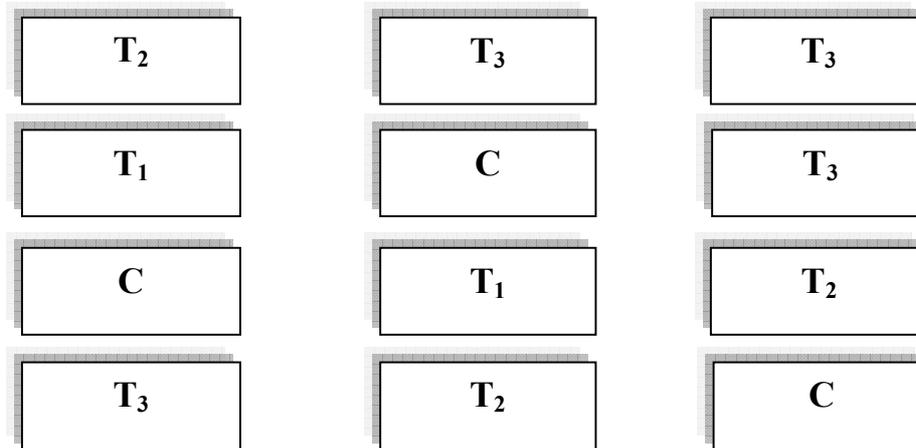
Estos análisis se realizaron en el mes de mayo de 2009.

## Diseño experimental

Se hizo un diseño experimental de bloques al azar con cuatro tratamientos y tres repeticiones. Los tratamientos fueron  $T_1 = 10$  Kg de estiércol de caballo;  $T_2 = 15$  Kg;  $T_3 = 20$  Kg, y el Control = 0 Kg, en una sola concentración de gasolina de 8 litros/m<sup>2</sup>, la determinación de que haya sido esta cantidad de gasolina fue dada según lo que menciona Atlas y Bartha (2002), las concentraciones de hidrocarburos por encima del 10 % inhiben claramente el proceso de biodegradación. Este límite se traduce en unos 100 000 litros de hidrocarburos por hectárea. Lo que equivale a que si se aplica una cantidad máxima de 10 litros a un m<sup>2</sup>, es posible que no se recupere el suelo, por esa razón se aplicaron 8 litros por m<sup>2</sup>.

Para el establecimiento del diseño se hizo lo siguiente: En la preparación del terreno primero se hizo una limpieza, con pala y azadón. Se delimitaron cada uno de los lotes de 1m<sup>2</sup> por cada repetición, en total fueron 12 lotes y para esto se utilizó cáñamo, y estacas. Se obtuvieron 135 Kg de estiércol de caballo en una explotación de equinos y fue trasladado al terreno donde se realizó el proceso del tratamiento. El día 15 de mayo del presente año se aplicaron 8 litros de gasolina en cada lote, a continuación se pesaron las cantidades de estiércol con balanza romana, y se aplicó en tres repeticiones, en el primera tratamiento se aplicó 10 Kg de estiércol de caballo, en el segundo tratamiento se aplicó 15 Kg y en el tercer tratamiento 20 Kg de estiércol; después de que se aplicó el estiércol y la gasolina se removió el suelo con el estiércol. En el control no se aplicó estiércol, pero si gasolina en tres repeticiones y no se removió. El establecimiento quedó como se muestra en la siguiente Figura.

Figura 1. Diseño experimental establecido en el área de estudio. T<sub>1</sub> = 8 litros de gasolina + 10 Kg de estiércol de caballo, T<sub>2</sub> = 8 litros de gasolina + 15 Kg de estiércol de caballo, T<sub>3</sub> = 8 litros de gasolina + 20 Kg de estiércol de caballo y Control = 8 litros de gasolina. UAAAN-UL. 2009.



Para mantener adecuadamente el sistema se removió y se regó con agua a cada uno de los lotes que se le aplicó estiércol, mínimo una vez a la semana durante los cuatro meses.

### Pos pruebas

Después de que se estableció el diseño experimental se llevó a cabo la obtención de muestras de suelo sacando un promedio de cada repetición, esto fue cada mes, durante 4 meses: la primera muestra se obtuvo el día 15 de junio, la segunda muestra es 15 de julio, la tercera muestra se obtuvo el 15 de agosto, y la última muestra el día 15 de septiembre. Las muestras se llevaron a analizar en el laboratorio de suelos para determinar las concentraciones de carbono (C%) y nitrógeno (N%), por medio de los métodos mencionados en el proceso de prepruebas.

La relación C/N es la clave para saber la eficiencia de la descontaminación de los suelos. Con el propósito de determinar la degradación de hidrocarburos, se utilizaron los resultados obtenidos de la relación C-N del testigo y de cada

tratamiento, para ello se restó la relación carbono-nitrógeno del testigo con cada uno de los tratamientos T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub>.

El criterio a seguir es que valores menores de 150 que presente cada tratamiento indicará que hubo degradación, entre menor sea el valor obtenido será mayor la degradación de hidrocarburos (Burmeier, 1988).

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis estadístico sacando la media, y el nivel de significancia de los tratamientos, así como también el coeficiente de variación, por medio del programa de Olivares (1993).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Pre pruebas

Cuadro 1. Parámetros evaluados de textura, nitrógeno (N), carbono (C), pH y conductividad eléctrica (CE) del suelo, suelo con gasolina y del estiércol de caballo en la UAAAN-UL. 2009.

Mes	Textura	pH	CE (ms/cm)	C %	N %	Relación C/N
Mayo						
Suelo sin gasolina	Migajón	8-06	1.12	0.96	0.11	8.72
Suelo con gasolina	Migajón arenoso	8.05	1.64	1.11	0.11	10.09
Estiércol de caballo	Migajón Arcillo Arenoso	8.18	24.7	12.92	4.65	2.77

En el Cuadro 1 se observan las características de los suelos donde se estableció el experimento, indican que el suelo sin gasolina es migajón, mientras que el suelo con gasolina es migajón arenoso, ambas texturas son típicas de una zona árida, Salazar y Beltrán (2003) dicen que el clima en Torreón Coahuila es árido y tienen un pH de 7.2 a 8.8 el pH es alcalino, lo cual concuerda con los suelos de zonas áridas, la CE no es elevada, se puede decir que no hay problema de sales ya que Ibáñez (2008) considera salinos a los suelos cuya conductividad eléctrica es mayor de 4 mS/cm y sódicos en caso contrario. García *et al.*, (1998) dicen que la concentración de carbono y nitrógeno son bajos debido a que hay pocos restos vegetales, restos de animales, y humus, en zonas áridas, por lo tanto se puede observar que concuerdan los resultados, ya que en la concentración de dichos elementos son bajos. Al adicionar la gasolina al suelo se observa que aumentó la concentración de carbono y nitrógeno ya que la gasolina también contiene dichos elementos, por lo tanto el suelo que contiene gasolina es el que mayor valor de relación C/N presenta, siguiéndole el suelo sin gasolina y el que menor valor presenta es el estiércol. Aunque cabe mencionar que la concentración de carbono y nitrógeno se elevó considerablemente en el estiércol.

## Pos pruebas

Cuadro 2. Concentración de C (%), N (%), relación C/N y degradación de gasolina en terrenos de la UAAAN-UL. Mes de junio. Mayo – Junio de 2009.

Mes	C	N	C/N	Degradación de la gasolina (C-T <sub>x</sub> )
Junio	%	%	%	
Control	1.11	0.05	22.20	
T <sub>1</sub> 10 Kg de estiércol de caballo	1.16	0.14	8.28	2.68
T <sub>2</sub> 15 Kg de estiércol de caballo	2.71	0.16	16.93	1.31
T <sub>3</sub> 20 Kg de estiércol de caballo	3.10	0.17	18.23	1.21

En el Cuadro 2, se puede observar la variación del carbono con respecto a la cantidad de estiércol que se aplicó en cada tratamiento, viendo un incremento en el T<sub>3</sub> donde se le aplicó 20 Kg de estiércol. En el nitrógeno también se observó mayor incremento en el T<sub>3</sub>. En la relación C/N se observa que el T<sub>3</sub> tiene el mayor porcentaje, por lo tanto en este tratamiento existió mayor degradación de gasolina que en los demás tratamientos, aunque en los demás tratamientos también hubo degradación. Una razón por la cual ocurrió esto fue porque se le aplicó mayor cantidad de estiércol a ese tratamiento, y posiblemente se favoreció la proliferación de microorganismos que son capaces de biodegradar a la gasolina.

En el Cuadro 3, se puede observar la variación del carbono con respecto a la cantidad de estiércol que se aplicó en cada tratamiento, viendo un incremento en el T<sub>3</sub> donde se le aplicó 20 Kg de estiércol. En el nitrógeno también se observó mayor incremento en el T<sub>3</sub>. En la relación C/N se observa que el T<sub>2</sub> tiene el mayor porcentaje. En el T<sub>2</sub> existió más degradación de gasolina, que en los otros dos tratamientos, observando también que en los demás tratamientos hubo degradación. Una razón por la cual ocurrió esto fue por las condiciones

ambientales ya que en dicho mes llovió y por lo tanto favoreció las condiciones para desarrollo de los microorganismos.

Cuadro 3. Concentración de C (%), N (%), relación C/N y degradación de gasolina en terrenos de la UAAAN-UL. Mes de julio. Mayo – Julio de 2009.

Mes	C	N	C/N	Degradación de
Julio	%	%	%	la gasolina
				C-T <sub>x</sub>
Control	0.03	0.08	0.37	
T <sub>1</sub> 10 Kg de estiércol de caballo	0.64	0.13	4.93	0.07
T <sub>2</sub> 15 Kg de estiércol de caballo	1.93	0.15	12.86	0.02
T <sub>3</sub> 20 Kg de estiércol de caballo	1.95	0.19	10.26	0.03

En el Cuadro 4, se puede observar la variación del carbono con respecto a la cantidad de estiércol que se aplicó en cada tratamiento, viendo un incremento en el T<sub>3</sub> donde se le aplicó 20 Kg de estiércol. En el nitrógeno también se observó mayor incremento en el T<sub>3</sub>. En la relación C/N se observa que el T<sub>3</sub> tiene el mayor porcentaje, por lo tanto en el T<sub>3</sub> existió mayor degradación de gasolina que en los demás tratamientos, aunque en los demás tratamientos también hubo degradación ya que en este mes de agosto llovió y por lo tanto los tratamientos estuvieron más húmedos que favorecieron las mejores condiciones para el desarrollo de la actividad microbiana.

Cuadro 4. Concentración de C (%), N (%), relación C/N y degradación de gasolina en terrenos de la UAAAN-UL. Mes de agosto. Mayo – Agosto de 2009.

Mes Agosto	C %	N %	C/N %	Degradación de la gasolina C-Tx
Control	0.45	0.45	1	
T <sub>1</sub> 10 Kg de estiércol de caballo	1.23	0.23	5.34	0.18
T <sub>2</sub> 15 Kg de estiércol de caballo	2.29	0.58	3.94	0.25
T <sub>3</sub> 20 Kg de estiércol de caballo	3.58	1.29	2.77	0.36

Cuadro 5. Concentración de C (%), N (%), relación C/N y degradación de gasolina en terrenos de la UAAAN-UL. Mes de septiembre. Mayo – Septiembre de 2009.

Mes Septiembre	C %	N %	C/N %	Degradación de la gasolina C-Tx
Control	0.61	0.08	7.62	
T <sub>1</sub> 10 Kg de estiércol de caballo	1.29	0.12	10.75	0.70
T <sub>2</sub> 15 Kg de estiércol de caballo	2.58	0.13	19.84	0.38
T <sub>3</sub> 20 Kg de estiércol de caballo	3.23	0.14	23.07	0.33

En el Cuadro 5, se observa que el carbono (% C) varió con respecto a la cantidad de estiércol de caballo que se aplicó en cada tratamiento, viendo un incremento en el T<sub>3</sub> donde se le aplicó 20 Kg de estiércol; el nitrógeno (% N) se observa mayor incremento en el T<sub>3</sub>. En la relación C/N se observa que el T<sub>3</sub> tiene el mayor porcentaje. Se obtuvo mayor degradación de gasolina en el tratamiento

tres (T<sub>3</sub>) que en el tratamiento T<sub>2</sub> y T<sub>1</sub> donde existió menor degradación durante este mes, aunque en estos dos últimos tratamientos también hubo degradación. Una razón por la cual ocurrió esto fue porque se le aplicó mayor cantidad de estiércol a ese tratamiento, donde también influyeron las condiciones ambientales, por medio de la humedad, la disponibilidad del oxígeno por la remoción del suelo, que permite el desarrollo microbiano, favoreciendo la actividad de los microorganismos que son capaces de biodegradar la gasolina.

Cuadro 6. Degradación de gasolina por la aplicación de estiércol de caballo lograda durante cuatro meses, en los terrenos de la UAAAN-UL. Mayo-septiembre de 2009.

Meses	Degradación de la gasolina T <sub>1</sub> (10 Kg)	Degradación de la gasolina T <sub>2</sub> (15 Kg)	Degradación de la gasolina T <sub>3</sub> (20 Kg)	Media de degradación mensual
Junio	2.68 *NS	1.31 *NS	1.21*NS	1.73 **A
Julio	0.07 *NS	0.02 *NS	0.03 *NS	0.04 **B
Agosto	0.18 *NS	0.25 *NS	0.36 *NS	0.26 **B
Septiembre	0.70 *NS	0.38 *NS	0.33 *NS	0.47 **B
Media	0.90 *NS	0.49 *NS	0.48 *NS	
C. V. general tratamientos	132 %			C.V. 68 %

\*NS indica que no hay diferencia significativa. \*\*A y B indican que hubo diferencia (mayor de 0.05 %) entre tratamientos y Coeficiente de Variación (C. V.).

En el Cuadro 6, se puede decir que hubo buena biodegradación en todos los tratamientos y en todos los meses. Se puede observar que la mayor degradación se obtuvo en el T<sub>2</sub> del mes de julio, luego fue en el T<sub>3</sub> y en el T<sub>1</sub> del mismo mes, obteniendo una media de 0.04 esto es considerando mensualmente. Aunque existe poca variación entre los distintos tratamientos, en términos generales la mayor degradación, considerando las mismas cantidades de estiércol de caballo en los lotes se obtuvo en el T<sub>3</sub> donde se le aplicó 20 Kg de estiércol de caballo, obteniendo una media de 0.48, debido a que se le agregó mayor cantidad de estiércol. Los tratamientos en los cuales se observa menor degradación son el

tratamiento ( $T_1$ ) con un valor promedio de 0.90 y el tratamiento ( $T_2$ ) con un valor de 0.49). Se observó que no hubo diferencia significativas en los distintos tratamientos en los distintos meses, mientras que en la media de la degradación mensual de todos los tratamientos hubo diferencia significativa (mayor de 0.05%) entre el mes de junio con el resto de los meses muestreados.

En cuanto al coeficiente de variación más alto se obtuvo en todos los tratamientos de degradación y el menor fue en la media de la degradación total de gasolina. La degradación total se puede considerar que fue buena durante los cuatro meses que se muestreó, ya que el valor obtenido de acuerdo al criterio seguido por Burmeier (1988).

Estos resultados concuerdan con el estudio de Margesin y Schinder (2001), quienes demostraron que la fertilización en una relación C/N, incrementó significativamente la degradación de gasolina por parte de los microorganismos autóctonos del suelo, actividad que es mayor cuando se utiliza la inoculación de los microorganismos. Cárdenas (2007) hace mención que la fertilización favoreció el crecimiento de los microorganismos mostrando buena capacidad para degradar a la gasolina. Sin embargo, comprobó que el tratamiento más eficiente fue donde se utilizó cultivo mixto, estiércol de caballo y la adición de nutrientes, observándose una remoción de gasolina más eficiente, convirtiendo este tratamiento en la mejor alternativa de elección para la recuperación de suelos contaminados. Ya que el estiércol de caballo contiene mayor concentración del carbono y dicho elemento es un macro nutriente esencial y forma la mayor fuente de energía para los microorganismos y deberá de estar disponible para microbios que se concentran en grandes cantidades. La cantidad de nitrógeno necesaria por unidad de carbono varía con el tipo y concentración de microorganismos (Tchobanologous *et al.*, 1993).

Pardo y Perdomo (2004) mencionan que la adición de hidrocarburos al suelo aumenta la cantidad de carbono disponible en el medio para la actividad

metabólica de los microorganismos, si esto ocurre en lugares donde la concentración de nutrientes inorgánicos como N y P es baja, produce una relación C/N baja, debido a que la disponibilidad de N y P en el medio es un factor limitante en la degradación microbiana de hidrocarburos, se puede ajustar la proporción C/N/P mediante la adición al medio de urea-fosfato y sales de amonio logrando de esta manera acelerar el proceso de biodegradación. Dichos factores deben ser controlados al máximo para aumentar la eficiencia de biodegradación. Es reportado que la relación C: N de 25-30 es óptima para actividades microbianas durante el procesos de nitrificación (Alexander, 1961).

Velasco y Volke (2007) dicen que el material contaminado debe mezclarse con sustancias orgánicas sólidas biodegradables como aserrín, paja, bagazo, estiércol y desechos agrícolas. Estos materiales se utilizan en el proceso de composteo con tres finalidades básicas: asegurar la generación del calor necesario para el proceso, mejorar el balance y disponibilidad de nutrientes (C/N) para la actividad microbiana y aumentar la porosidad de la composta y con esto la aireación y capacidad de retención de agua. Es necesario optimizar cinco parámetros: la aireación, la temperatura, el contenido de humedad, la relación carbono/nitrógeno (C/N) y el pH. Al inicio del proceso se generan olores fuertes y desagradables, mientras que en la etapa final desaparecen y el olor es parecido al de tierra de jardín. Por su parte, la textura de la mezcla es mucho más homogénea que al inicio. Estos cambios en el olor y textura son el resultado de la biodegradación de la materia orgánica.

Cuadro 7. Media del carbono, nitrógeno y relación C/N en los T<sub>1</sub>(10 Kg), T<sub>2</sub> (15 Kg), T<sub>3</sub> (20 Kg) y T<sub>4</sub> (0 Kg) de estiércol de caballo, y el coeficiente de variación del carbono, nitrógeno y relación C/N. En terrenos de la UAAAN-UL durante los meses de Mayo – Septiembre de 2009.

Tratamientos	Media del Carbono	Media Nitrógeno	Media de la relación C/N
T <sub>1</sub> (10 Kg)	1.08 **B	0.40 *NS	7.327 *NS
T <sub>2</sub> (15 Kg)	2.37 **A	0.68 *NS	13.39 *NS
T <sub>3</sub> (20 Kg)	2.96 **A	1.02 *NS	13.75 *NS
T <sub>4</sub> (0 Kg).	0.55 **B	0.16 *NS	7.79 *NS
Coeficiente de variación	27.32 %	184.62 %	72.79 %

\*NS indica que no hay diferencia significativa. \*\*A y B indican que hubo diferencia (mayor de 0.05 %) entre tratamientos y Coeficiente de Variación (C. V.).

En el Cuadro 7, se observa la media de la concentración del carbono, nitrógeno y la relación C/N que se presentó en cada tratamiento durante los cuatro meses que se llevó a cabo el proceso de degradación. Mediante los análisis estadísticos en el carbono se observa que hubo diferencia significativa (mayor de 0.05 %) del T<sub>1</sub> y T<sub>4</sub> entre el T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub>. Mientras que en la media del nitrógeno y en la relación C/N no hubo diferencias significativas. En el coeficiente de variación se observa que el nitrógeno presentó en valor más alto, siguiendo la relación C/N y el más bajo fue el carbono.

## CONCLUSIONES

El estiércol de caballo mostró ser eficiente en la biodegradación de gasolina. Ya que al someter los datos estadísticamente se observó el nivel más alto de biodegradación en el tratamiento tres, donde se aplicó 20 Kg de estiércol de caballo, cabe mencionar que hubo poca diferencia significativa con los demás tratamientos y el nivel de biodegradación por meses fue el mes de julio donde se obtuvo mayor biodegradación probablemente porque llovió en mayor abundancia, tampoco hubo mayor diferencia entre los distintos meses.

En la media de la degradación mensual de todo los tratamientos hubo diferencia significativa (mayor de 0.05%) entre el mes de junio con el resto de los meses muestreados. El coeficiente de variación más alto se obtuvo en todos los tratamientos y el menor fue en la media de la degradación mensual.

Al someter los datos en análisis estadístico de la concentración del carbono, nitrógeno, relación C/N y el control que se presentó en todos los tratamientos, se observó que el carbono presentó una diferencia significativa (mayor de 0.05 %) del T<sub>1</sub> y T<sub>4</sub> entre el T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub>. Mientras que en la media de la relación C/N y en los otros parámetros no hubo diferencia significativa. En el coeficiente de variación se observa que el nitrógeno presentó en valor más alto, siguiendo la relación C/N y el más bajo fue el carbono.

La degradación de la gasolina no solo puede ser medida mediante el criterio de Burmeirer (1988), sino que también por la relación C:N. Al considerar la relación C:N en el tratamiento del control se puede decir que también presentó degradación de gasolina.

Mientras mayor fue el porcentaje de la relación C/N mayor degradación se obtuvo, y mientras mas bajo fue el porcentaje de la relación C/N menor fue la degradación.

## RECOMENDACIONES

Llevar acabo este proyecto con otros tipos de estiércol con la misma metodología y/o usar dos tipos de estiércol a la vez, de esta manera cuidar cada detalle los tratamientos para tener mejores resultados.

Analizar los tipos de microorganismos que se encuentran el los tratamientos durante el proceso de degradación de gasolina mediante la aplicación de estiércol de caballo.

Adicionar a los medio más nutrimentos como nitrógeno, sales de amonio, urea y fosfato ya sea por la adición de hojas podridas, como paja podrida, bagazo y aserrín, de esta manera lograr la recuperación del suelo en el menor tiempo posible.

Tomar datos de temperatura, humedad relativa y edáfica mínimamente.

Cercar el área del proyecto y de los lugares en los cuales ocurran derrames de gasolina.

Emplear un método más eficiente que separe los efectos de la degradación física y química de la biológica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Álvarez J. M. y G. Campana, 2001. Contaminación del suelo debido a procesos industriales, Universidad Politécnica de Valencia. (En línea). <http://www.eco2site.com/informes/biorremediacion.asp> (consultado 06 de noviembre de 2009). p. 1-46.
- Acuña A. K., N. A. García G., M. A. Torre T., M. T. Garza G., A. García G. y J. M. Alfaro B. 2006. Evaluación de las cinéticas de la biodegradación de los componentes de mayor impacto de la gasolina. UANL. Monterrey, México, ISSN (Versión impresa): 1405-9177, año/vol. IX, número 004, p. 1-442.
- Álvarez G. J. y A. Núñez C. 2005. Biorremediación de suelos compactados por hidrocarburo, Tec. Gisela. Ciudad de la Habana, Cuba. (En línea) [www.monografias.com](http://www.monografias.com) (Consultado 02 de noviembre de 2009). p. 1-14.
- Álvarez M. A., J. P. Valadéz C., P. Garnica A. y G, E, Itandehui M. 2002. La permeabilidad de los suelos en los problemas de transporte de contaminantes. Aplicación en la infraestructura del transporte. Qro, México Publicación Técnica No. 195. (Consultado 04 de noviembre de 2009). p. 1-89.
- Alexander M. 1961. Introduction to soil microbiology. Toppan Company, Tokyo.
- AEMA-PNUMA. 2002. Con los pies en la Tierra la degradación del suelo y el desarrollo sostenible. Problemas medioambientales. Europa, (Consultado 07 de octubre de 2009). p. 1-34.
- API. 2004. Interactive LNAPL Guide. Version 2.0 The American Petroleum Institute. Environmental System y Technologies, Park City, Utah. EE.UU. (Consultado 13 de noviembre de 2009). p. 1-10.
- Andriulo A., C. Sasal., C. Amendola y F. Rimatori 2003. Impacto de un sistema intensivo de producción de carne vacuna sobre algunas propiedades del suelo y del agua. INTA, Argentina. 32(3). (Consultado 13/11/ 2009). p. 1-56.
- Allen D., M. Embleton., J. Don D., y Krause. 2001. Características del estiércol. Universidad de Purdue. (En línea). (Consultado 07/11/2009). <http://www.purdue.edu/envirosoft/manure/spanish/src/species3.htm>. p. 1-54.
- Atlas, M. R. y R. Bartha. 2002. Ecología Microbiana y Microbiología. 4ª. Edición. Addison – Wesley. Impreso en España. 677 p. 1-20.

- Bautista C. A., J. Etchevers B., R. F. Castillo, y C. Gutierréz. 2004. La calidad del suelo y sus indicadores. Alicante, España. (En línea) <http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?id=149>. p.1-97. (Consultado 06/10/2009).
- Benavides L. M., G. Quintero., A. Guevara V., D. C. Jaimes C. y S. M Gutiérrez R., J. Miranda G. 2006. Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. Universidad de La Salle. (Consultado 04 de noviembre de 2009) p. 1-9.
- Burmeier H. 1988. Biorremediation of soil. In Kassem A. and P. Naminpieri. Methods in applied soil microbiology and Biochemistry. Academic Press. London Inglaterra.
- Barillas E. M., Cosillo A., Rodríguez N. y S. Cruz J. Descubrimiento de una mancha de petróleo. 2005. Guatemala. <http://www.sociedadgeologicaguatemala.com/revista/Geonotas1.pdf> (Consultado 4/11/2009). p. 1-18.
- COM, 2002. Estrategia temática para la protección del suelo. Comisiones de las Comunidades Europeas. Bruselas. (Consultado 24 de noviembre de 2009). p. 1-39.
- Contreras A. P. y L. Herrera Z. 2005. Suelos contaminados con hidrocarburos: RNA 16S como indicador de impacto. Universidad de Chile. (En línea). <http://cabierta.uchile.cl/revista/26/articulos/pdf/rev6.pdf>. (Consultado 12 de junio de 2009). p.1-75.
- Corso. C. y Amadís A. 2009. Estiércol. (En línea) (Consultado el 07 de noviembre del 2009). <http://es.wikipedia.org/wiki/Esti%C3%A9rcol> p. 1-2.
- Cárdenas C., I. Araujo., N. Angulo. 2007. Biodegradación de ripsos de perforación, utilizando cultivo mixto, estiércol y fertilización. Venezuela. [http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/uruguay30/VE10170\\_Cardenas.pdf](http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/uruguay30/VE10170_Cardenas.pdf) (Consultado 15 de junio de 2009). p 1-6.
- Celis H. B. 2009. Contaminación de aguas subterráneas por hidrocarburos líquidos livianos en fase no acuosa. Universidad de Concepción, (Consultado el 06 de octubre de 2009). p. 1-10.
- Chobanoglous G., Theisen H. y Vigil S. 1993. Integrated Solid Waste Management Engineering Principles and Management Issues. McGraw-Hill, Inc. New York, New York.
- EPA, 2003. El Programa de "Brownfields": Movilizando el Cambio Número de Publicación 500-F-03-247. USA. (Consultado 13 de noviembre de 2009).

- Ercoli, E.; J. Gálvez. D. P. M., J. Cantero., S. Videla., M. Medaura. y J. Bauza. F. 2001. Análisis y evaluación de parámetros críticos en biodegradación de hidrocarburos en suelo. Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza (en línea) <http://www.eco2site.com/informes/biorremediacion.asp> (consultado 02/07/2009) p. 1-10.
- EPA, 2002. Métodos para Eliminar la Contaminación. (en línea) PERMIT NO. G-35, Office of Solid Waste and, 542-F-01-007S. (Consultado el 13 de noviembre de 2009).
- Eriksson M. S. E., Zhongtang y G. M. Dalhammar W. 2003. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons at low temperature under aerobic and nitrate-reducing. *Appl Environ Microbiol.* 69 (1): 275CE284. (Consultado 13 de noviembre de 2009).
- Etchevers, B. J. D., W. Espinoza G. y E. Reiquelme. 1971. Manual de Fertilidad y Fertilizantes. 2º Ed. Corregida. Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía. Chillan, Chile.
- FERNÁNDEZ C., M. Llobregat., B. Jimenez., V. A. L. y H. Labrador. 2008. Biodegradación de asfalteno y resinas por microorganismos presentes en suelo contaminado con hidrocarburo, *Revista de la Facultad de Ingeniería, Universidad de Carabobo, Valencia-Venezuela .U.C.V., Vol. 23, N° 4,* (Consultado el 14/10/2009) p. 1–15.
- García G. N. A., M. A. Torre T., M. T Garza G. y K. Acuña A. 2006. Biodegradación de los componentes de mayor impacto en la gasolina, *Revistas Científicas. CIENCIA UANL /VOL.IX,No.4, Monterrey, México ISSN (Versión impresa): 1405-9177.* (Consultado 13 de junio de 2009) p. 1-4.
- García M. G. 1998. Suelos, (en línea) El Rincón del Vago, en Salamanca (Consultado 24/11/2009) [http://html.rincondelvago.com/suelos\\_1.html](http://html.rincondelvago.com/suelos_1.html) p.1-5.
- Iturbe A. R. y L. Corona R. 2005. Atenuación natural en suelos contaminados con hidrocarburos. vol. VI, número 002. UNAM, México D.F. ISSN (Versión impresa): 1405-7743. (Consultado 14 de junio de 2009). p. 1-4.
- Ibáñez J. J. 04 de enero de 2008. Tipos de suelos salinos (en línea) <http://weblogs.madrimasd.org/universo/archive/2009/11/17/81822.aspx> (consultado 23 de noviembre del 2009) Desertificación CSIC-Universidad de Valencia p. 1-5.
- Jizhong Z. B., D. T, Wu L., R. N. Terry M., Anthony P. y M. James. 2001. Spatial and resource Factors Influencing High Microbial Diversity in soil. Environmental Sciences Division. Center for Microbial Ecology, Michigan State University, Michigan. (Consultado 8 de3 octubre de 2009).

- Martínez S. J. y C. Pérez S. 2005. Environmental transfer of zinc in calcareous soils in zones near old mining sites with semi A. climate (en línea). (Chemospher. [www.tesisenxarxa.net/TESIS](http://www.tesisenxarxa.net/TESIS)) (Consultado 13 de noviembre de 2009). p. 1-227.
- Marc V. C. 2005, Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos caracterización microbiológica, química y ecotoxicológica. Barcelona España. (Consultado 14 de junio de 2009). p. 1-176.
- Margesin R. y F. Schinder. 2001. Bioremediation (Natural Attenuation and Bioestimulation) of Diesel-Oil-Contaminated Soil in an Alpine Glacier Skiing Area. *Applied and Environmental Microbiology* 67 (7): 3127-3133.
- Moraga, J. C. 2003. Remediación de Sitios Contaminados. MUYZER. Genetic fingerprinting of microbial communities-present status and future perspectives. Proceedings of the 8 th International Symposium on Microbial Ecology, Canada. (Consultado 13 de noviembre de 2009).
- Mallia M. A. D., M. E. Domínguez. y D. Sousa L. 2002. Evaluación del tratamiento de los suelos contaminados con fueloil empleando el proceso de biorremediación en un complejo termoeléctrico. Universidad de Carabobo. Cancún, México. (Consultado el 12 de junio de 2009). p. 1-6.
- Mazari M. 2007. Impactos ambientales: acuífero. (en línea) Instituto Nacional de Ecología, Coyoacán, México D. F. (Consultado 13 de noviembre de 2009). (<http://www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/libros/35/impactos.html>).
- Molina T. L., M. E. Corbella., M. Lopolito, F. S. Kabbas. y E. García., 2007) Biodegradación de hidrocarburos de petróleo y compuestos relacionados Buenos Aires, Argentina. (Consultado el 13 de junio de 2009). p. 1-4.
- NICOLE, 2007. Atenuación Natural. Network for Industrially Contaminated Land in Europe. Apeldoorn the Netherlands. (En línea) (Consultado 11/10/2009) <http://www.nicole.org>, p.1-8.
- Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2003, Límites Máximos Permisibles de Hidrocarburos en Suelos y las Especificaciones para su Caracterización y Remediación.
- Ortiz S. R. 2001. Aspectos en la contaminación del suelo por hidrocarburos en México. (en línea) (consultado 04 de noviembre de 2009) <http://www.monografias.com/trabajos7/hime/hime.shtml>. p. 1-24.
- Ortínez B. O., I. Ize L. y A. Gavilán G. 2003. La restauración de suelos contaminados con hidrocarburos en México; Gaceta Ecológica, número 069, Instituto Nacional de Ecología, ISSN (Versión impresa) (En línea) [gaceta@ine.gob.mx](mailto:gaceta@ine.gob.mx) (Consultado 15 de junio de 2009). p. 1-92.

- Olea C. y J. Figueroa. 1998. Biorremediación: Opción para disposición de residuos de perforación. Perú. INGEPET'99 EXPL-8-CO-10 (consultado 10 de junio de 2009). p 1.11.
- Olivares S. E. 1993. Paquete de diseños experimentales FAUANL. Versión 2.4. Facultad de Agronomía UANL. Marín, N. L.
- Pardo C. J. L., M. C. Perdomo R. y L. M Benavides. 2004. Efecto de la adición de fertilizantes inorgánicos compuestos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con petróleo. *Nova*, vol. 2, número 002. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Bogotá, Colombia. [revistanova@unicolmayor.edu.co](mailto:revistanova@unicolmayor.edu.co). (Consultado el 14/10/2009) p. 1-49.
- Rivera C. M., A. Trujillo N., M. A. Miranda C. y E. Maldonado C. 2004. Descontaminación de suelo con petróleo crudo mediante microorganismos autóctonos y pasto alemán (*Echinochloa polystachya* (H.B.K.) Hitchc.). *Agrociencia*. p.1-12.
- Real Decreto 9/2005, de 14 de enero, por el que se establece la relación de actividades potencialmente contaminantes del suelo y los criterios y estándares para la declaración de suelos contaminados. (Consultado 12 de noviembre de 2009). [www.conectapyme.com](http://www.conectapyme.com). p. 1-28.
- SEMARNAT, 2002. T. Volke S. y J. A. Velasco T. Las tecnologías de Biorremediación en México, México. (Consultado 09 de octubre de 2009).
- SARH, 1985. Subdirección de agrología, Interpretaciones Agronómicas de Suelos. p. 1-24.
- SEMARNAT, 2008. Remediación de Sitios Contaminados. Dirección General de Gestión Integral de Materiales y Actividades Riesgosas. (Consultado 10 de octubre de 2009).
- Shih, T., Rong, T., T. Harmon y M. Suffet. 2004. Evaluation of the impact of fuel hydrocarbons and oxygenates on groundwater resources. *Environ. Sci. Technol.* 38: p 1-48.
- Salazar S. E. y A. Beltrán M. 2003. Mineralización de nitrógeno en el suelo y producción de avena forrajera con tres sistemas de labranza. Universidad Autónoma Chapingo México. (Consultado 23/11/2009) (Red de revistas en línea) <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/573/57321412.pdf> p. 1-8.
- Semple K. T. y J. Reid B. 2001. Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. *Environ. Pollution*, 112: 269 - 283. (Consultado 11 de octubre de 2009).

- Textoscientificos.com. 2006 (en línea) <http://www.textoscientificos.com/energia/combustibles/gasolinas>. 2006. Gasolina. Composición y clasificación. (Consultado el 22 de mayo de 2009). p. 1-7.
- Torres D. K. y T. Zuluaga. M. 2009. Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos. Universidad nacional de Colombia, Medellín. INGEPET '99 EXPL-8-CO-10. (Consultado 19 de octubre de 2009). p. 1-92.
- Trujillo N. A., M. C. Rivera C., M. A. Miranda C. y E. Maldonado C. 2005. Evaluación toxicológica de suelos contaminados con petróleos nuevos e intemperizado mediante ensayos con leguminosas. Venezuela. (Consultado el 19 de octubre de 2009) p.1-12.
- Torres. R. D. 2003. El papel de los microorganismos en la biodegradación de compuestos tóxicos. Ecosistemas URL. (En línea) (Consultado 21 de octubre de 2009) <http://www.aeet.org/ecosistemas/032/informe1.htm>). p.1-5.
- Terra Nova, 2005. Antecedentes de los suelos contaminados una regulación largamente esperada. (Consultado 5 de octubre del 2009). <http://www.portaldelmedioambiente.com/articulos/714/>. p. 1-8.
- Vázquez S., R. Lucas., L. Balbo A. y M. Cormack. W. 2004 Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos utilizando bacterias antárticas sicrotolerantes. Buenos Aires, Argentina. (Consultado 11/10/2009) p. 1-5.
- Velasco T. J. y T. Volke S. SEMARNAT, 2007. El composteo: una alternativa tecnológica para la biorremediación de suelos en México D.F.C.P. 04530, (CENICA) del Instituto Nacional de Ecología (INE). (Consultado el 11 de octubre de 2009) p.1-12.
- Volke S. T. y J. Velasco T. 2003. Biodegradación de hidrocarburos del petróleo en suelos intemperizados mediante composteo. CENICA, INE. México. (Consultado 24 de mayo de 2009) p. 1-34.
- Valente. M. 2003, Bacterias degradan petróleo y temperatura en su desarrollo (en línea)<http://www.tierramerica.info/nota.php?lang=esp&idnews=2287&olt=23> Argentina (Consultado 01 de noviembre de 2009). p.1-3.
- Walkley y Black. 1934. An Examination of the Deftjapeff Method for Determining Soil Organic Matter and Proposed Modification of the Chromic Acid Titration Method. Soil SCI. 34:29-39.