

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO "**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**



**BIORREMEDIACIÓN II. APLICACIÓN DE ESTIERCOL EN  
SUELOS CONTAMINADOS CON DIFERENTES CANTIDADES  
DE GASOLINA.**

***POR:***

**GUMERCINDO DURAN DE LEON ROBLERO**

***TESIS:***

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

**INGENIERO EN PROCESOS AMBIENTALES**

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.**

**MARZO DE 2007.**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**

**TESIS**

**BIORREMEDIACIÓN II. APLICACIÓN DE ESTIERCOL EN  
SUELOS CONTAMINADOS CON DIFERENTES CANTIDADES  
DE GASOLINA.**

**PRESIDENTE DEL JURADO**



**DR. HÉCTOR MADINAVEITIA RÍOS**

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**



**MC. VÍCTOR MARTÍNEZ CUETO**



Coordinación de la División  
de Carreras Agronómicas

**TORREÓN, COAHUILA MÉXICO.**

**MARZO DE 2007.**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

TESIS  
PRESENTADA POR:

GUMERCINDO DURAN DE LEON ROBLERO

Elaborada bajo la supervisión del comité de asesoría y  
aprobada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN PROCESOS AMBIENTALES

Aprobada por:

ASESOR PRINCIPAL:

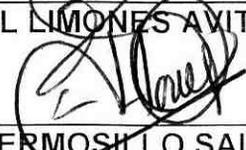


DR. HÉCTOR MADAVEITIA RÍOS

ASESOR:

  
ING. JOEL LIMONES AVITIA

ASESOR:

  
DR. LUÍS J. HERMOSILLO SALAZAR

ASESOR:

  
DR. JOSÉ LUÍS REYES CARRILLO

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE  
CARRERAS AGRONÓMICAS

  
MC. VICTOR MARTÍNEZ CUETO

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.

MARZO DE 2007.

Coordinación de la División  
de Carreras Agronómicas

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

TESIS  
PRESENTADA POR:

GUMERCINDO DURAN DE LEON ROBLERO

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de  
asesoría y aprobada como requisito parcial para obtener el  
título de:

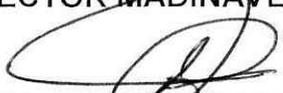
INGENIERO EN PROCESOS AMBIENTALES

Aprobada por:

PRESIDENTE:

  
DR. HÉCTOR MADINAVEITIA RÍOS

VOCAL:

  
ING. JOEL LIMONES AVITIA

VOCAL:

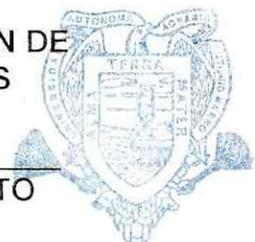
  
DR. LUÍS J. HERMOSILLO SALAZAR

VOCAL SUPLENTE:

  
DR. JOSÉ LUÍS REYES CARRILLO

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE  
CARRERAS AGRONÓMICAS

MC. VICTOR MARTÍNEZ CUETO



## AGRADECIMIENTO:

*Especialmente a mi Padre DIOS por darme ese privilegio de gozar de su infinita misericordia, de su amor por permitirme conocer una pequeña parte de su maravillosa creación, por haberme permitido culminar satisfactoriamente mis estudios, por todas las bendiciones que me ha dado durante todos los días de mi vida, por darme la dicha y la felicidad de vivir y gozar de todas las maravillas de su obra, por darme fuerzas para salir adelante y superar cada día mis errores, por darme la fortuna de tener unos padres maravillosos y una gran familia, por gozar de sus promesas, gracias por que nunca podré pagar todas sus bendiciones es por eso que la honra y la gloria es para ti padre celestial desde ahora y para siempre (así sea).*

### **A MIS PADRES: DOGAVIER DE LEON HERNANDEZ. ANGELINA ROBLERO LOPEZ.**

*A quienes les debo la vida, quienes han depositado siempre en mi su confianza y que lograron que no desistiera en mi camino; quienes no escatimaron esfuerzos para lograr mi formación profesional, dándome todo a cambio de nada; además por sus sabios consejos, valores y principios inculcados en mi para andar por el buen camino, por enseñarme que jamás es tarde para realizar los sueños anhelados, quienes depositaron en mi una buena semilla, de la cual tarde o temprano verán crecer nuevos frutos, y han logrado con buena perseverancia darme la herencia mas valiosa que un padre puede ofrecer a sus hijos "una profesión" para ellos con mi más grande amor, admiración y respeto les dedico esta tesis, DIOS me los siga bendiciendo padres (así sea)*

***A mis hermanos del alma: Noemí Cielo, Mirna Roció, Edgar Dogavier, Wilber Roberto, Tania M. Y Héctor Miguel (mi chunco) DE LEON ROBLERO.***

*Por que son parte importante en mi vida personal y en mi formación profesional, en ellos nunca faltaron palabras y gestos de ánimo, motivación y esfuerzo con tal de verme lograr esta meta, apoyándome siempre en los momentos más críticos de mi vida. Para todos y cada uno de ellos con mucho cariño, amor y respeto.*

***A mi hermano Wilber;*** que ha estado conmigo en las buenas y malas, que me ha apoyado, gracias por tus consejos, eres y has sido siempre de bendición para mi y sin duda alguna eres el orgullo de la casa papa...***(¡Va por todos ustedes Hnos.!).***

*A mis compañeros de la generación por todos los momentos que vivimos.*

*A mis amigos: James Briones, Alberto Castro, Ronel, y a todos aquellos que no los menciono por falta de espacio.*

**A MI ALMA MATER**, por recibirme en su seno y cobijarme durante mi carrera, por darme la oportunidad de cultivar mis conocimientos y formar parte importante de este y tan anhelado sueño.

**Al Dr. Héctor Madinaveitia Ríos**, Por brindarme desinteresadamente gran parte de su valioso tiempo en el asesoramiento, supervisión y desarrollo del presente trabajo: así como su amistad incondicional que siempre me ha demostrado, reconociendo su capacidad profesional en el tema y de antemano le reitero mis más sinceros agradecimientos.

**Al ING. Joel Limones Avitia, Al Dr. Luís Javiér Hermosillo Salazar, Al Dr. José Luís Reyes Carrillo** por compartirme de sus valiosos conocimientos, reconociendo su capacidad profesional, por formar parte del miembro del jurado, pero ante todo por ser un amigo.

**A las laboratoristas: I.I.Q. Margarita Aguilar Medrano y la Q.F.B. Norma Lydia Rangel Carrillo** que me ayudaron a realizar esta tesis, el asesoramiento, supervisión y desarrollo del presente trabajo en el laboratorio de antemano le reitero mis más sinceros agradecimientos.

**A la familia Díaz Martínez, Maria de los Ángeles Macias viuda de cano, que me apoyaron y me abrieron la puerta de sus casas incondicionalmente, gracias Dios me los bendiga ahora y siempre.**

# ÍNDICE

	Página.
ÍNDICE.....	i
ÍNDICE DE CUADROS.....	ii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ii
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	4
Objetivo general.....	4
Objetivo específico.....	4
REVISION DE LITERATURA.....	5
Alternativas de remediación de suelos contaminados.....	6
Tipos de tratamientos.....	7
Ventajas y desventajas de los tipos de tratamientos.....	7
Estrategias de remediación.....	9
Lugar de realización del proceso de remediación.....	10
Ventajas y desventajas de las tecnologías de remediación.....	10
Biorremediación.....	11
Mecanismos de biorremediación.....	14
Bacterias utilizadas en la degradación de hidrocarburos en el suelo.....	17
Factores que afectan el crecimiento bacteriano para la biorremediación de suelos.....	19
Factores intrínsecos.....	19
Factores extrínsecos.....	22
Factor implícito.....	23
Hidrocarburos en el suelo.....	23
Propiedades del suelo afectadas por hidrocarburos.....	24
Características de los hidrocarburos.....	26
Política Ambiental.....	28
Marco Jurídico y Normatividad Vigente.....	29
Importancia de la biorremediación ambiental.....	31
Situación actual de la biorremediación en México.....	32
Situación actual de la biorremediación a nivel Mundial.....	34
MATERIALES Y METODOS.....	35
RESULTADOS Y DISCUSION.....	37
CONCLUSIÓN.....	41
RECOMENDACIONES.....	42
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	43

## INDICE DE CUADROS

CUADRO		Pagina
1	VALORES DE LOS PARAMETROS EVALUADOS (TEXTURA, NITROGENO (N), CARBONO (C), pH y CONDUCTIVIDAD ELECTRICA (CE) EN SUELO SIN GASOLINA, SUELO CON GASOLINA Y ESTIERCOL CON SUELO. UAAAN UL. JULIO DE 2005	37
2	VALORES DE C (%), N (%) Y RELACION C/N A LOS 32, 62, 110 Y 146 DIAS ENCONTRADAS EN LAS C <sub>1</sub> , C <sub>2</sub> , C <sub>3</sub> Y T, A LOS QUE SE LES APLICÓ 80 KG DE ESTIERCOL VACUNO. UAAAN UL. 20005	38
3	DEGRADACION DE HIDROCARBUROS A LOS 32, 62, 110 Y 146 DIAS LOGRADA EN LAS C <sub>1</sub> , C <sub>2</sub> Y C <sub>3</sub> , MEDIANTE LA APLICACIÓN DE ESTIERCOL VACUNO. UAAAN UL. 2005	39

## INDICE DE FIGURA

FIGURA		Pagina
1	Diseño experimental establecido en el área de estudio. C <sub>1</sub> = 5 litros de gasolina +80 kg de estiércol vacuno, C <sub>2</sub> = 10 litros de gasolina +80 kg de estiércol vacuno, C <sub>3</sub> = 15 litros de gasolina +80 kg de estiércol vacuno y T= 0 litros de gasolina + 80 kg de estiércol vacuno.	35

## INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la industria petrolera en México, se convirtió en una de las principales productoras mundiales de hidrocarburos y sus derivados, si bien ha sido el sustento de la economía nacional, también hay que señalar que ha provocado la alteración de los ecosistemas mediante la contaminación del aire, agua y suelo, principalmente debida a la insuficiente información y la poca investigación que existe sobre la contaminación del suelo por hidrocarburos y sus derivados como el diesel y la gasolina entre otros.

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 lenta y difícil para su degradación. En la actualidad existe un gran numero de técnicas para disminuir la contaminación por hidrocarburos en el suelo, sin embargo, la biorremediación es una de las mejores opciones para la recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos, debido a su bajo costo y el uso de microorganismos para la degradación de las sustancias toxicas convirtiéndolas, en dióxido de carbono, agua y sales inocuas.

Las propiedades físicas del suelo más afectadas por derrames de hidrocarburos son: la estructura del suelo debido a la ruptura de los agregados, de aumento de la retención

del agua en la capa superficial y el potencial hídrico. Probablemente el componente más importante del suelo en relación con la persistencia de sustancias tóxicas es la arcilla. La persistencia aumenta cuanto más pequeñas son las partículas debido a que aportan una gran área superficial para la absorción de los productos químicos. Las propiedades químicas del suelo más afectadas por un derrame de hidrocarburos son: aumento del carbono orgánico ya que el 75 % del carbono del petróleo crudo es oxidable, la disminución del pH, debido a la acumulación del carbono orgánico y generación de ácidos orgánicos, el aumento del manganeso y hierro intercambiable y el aumento del fósforo disponible. Los efectos tóxicos de los hidrocarburos en el ambiente dependen de la cantidad y composición del petróleo, la frecuencia y tiempo de exposición, el estado físico del derrame, las características del sitio donde sucedió el derrame, las variables ambientales como temperatura, humedad y oxígeno, el uso de dispersantes químicos (esta restringido su uso) y la sensibilidad de la biota específica del ecosistema impactado.

La biorremediación es una de las mejores alternativas por sus diversas ventajas como son: posibilidad de aplicarse *in situ* o *ex situ*, bajo costo de operación, como subproducto se obtiene un suelo útil para la agricultura debido a la adición de nutrientes y no requiere de equipamiento especializado para su aplicación. Sus desventajas fundamentales es: el tiempo de proceso largo, aplicación efectiva a suelos con concentraciones de hidrocarburos inferior al 30 % y contaminantes no tóxicos para los microorganismos.

La biorremediación tiene un costo estimado entre el 30 y 50% más bajo que otras técnicas convencionales de limpieza. Hay también otro importante factor ambientalmente hablando: La biorremediación ofrece una mejor solución en la limpieza efectiva y completa de residuos contaminantes que el simple transporte a otro lugar de las tierras afectadas o la liberación de las sustancias tóxicas a la atmósfera.

El tratamiento biológico de suelos contaminados involucra el uso de microorganismos y/o vegetales para la degradación de contaminantes orgánicos. La actividad biológica altera la estructura molecular del contaminante y el grado de alteración determina si se ha producido biotransformación o mineralización. La biotransformación es la descomposición de un compuesto orgánico en otro similar no contaminante o menos tóxico, mientras que la mineralización es la descomposición a dióxido de carbono, agua, y compuestos celulares.

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. El pH del suelo se ajusta a un valor entre 7 y 8, o el valor práctico más cercano, mediante caliza agrícola.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la biorremediación de suelos contaminados con distintas cantidades de gasolina mediante la aplicación de estiércol vacuno.

### **OBJETIVO ESPECÍFICO**

Medir el grado de reducción de contaminación dada por las distintas concentraciones de gasolina mediante la adición de estiércol vacuno.

## REVISION DE LITERATURA

Los mayores problemas a que se enfrenta el mundo industrializado es la contaminación del aire, agua y suelo, solamente en Europa del Oeste se encuentran contaminados más de 350, 000 sitios. Muchos de los suelos contaminados en México han sido resultado de un manejo inapropiado del transporte y almacenaje del petróleo y sus derivados (Bojórquez *et al.*, 1995).

Por la importancia económica que representa el petróleo para México y, ante la demanda del mercado exterior, a pesar de las fluctuaciones de su precio, se ha intensificado su explotación lo cual representa el renglón más fuerte en la captación de divisas (PEMEX, 2000). México es el cuarto productor de petróleo en el mundo, con una producción diaria de 3 millones de barriles, exportando 1.4 millones de barriles diarios. Este producto se exporta a Canadá, Estados Unidos, Centroamérica, España, Francia, Yugoslavia, Japón e Israel (Ayllon *et al.*, 1994).

Tomando en cuenta las estadísticas de la Procuraduría Federal de Protección al ambiente cada año se presentan en México un promedio de 550 sitios contaminados con materiales y residuos peligrosos. Dentro de los compuestos peligrosos más comúnmente involucrados se encuentran el petróleo y sus derivados (gasolinas, combustóleo, diesel), agroquímicos, gas, LP y natural, entre otros (PROFEPA, 1999).

## **Alternativas de remediación de suelos contaminados**

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

“Tecnología de tratamiento” este término implica cualquier operación unitaria o serie de operaciones unitarias que altera la composición de una sustancia peligrosa o contaminante a través de acciones químicas, físicas o biológicas de manera que reduzcan la toxicidad, movilidad o volumen del material contaminado (Sellers, 1993).

Las tecnologías de remediación pueden clasificarse de diferentes maneras, en base a los siguientes principios (Sellers, 1993):

- ❖ Tipo de tratamiento.
- ❖ Estrategia de remediación.
- ❖ Lugar en que se realiza el proceso de remediación

Es importante mencionar que cada una de estas agrupaciones proporciona diferente información acerca de las tecnologías de remediación. A continuación se describen con más detalle las clasificaciones anteriores.

## **Tipos de tratamiento**

Esta clasificación se basa en el principio de la tecnología de remediación y se divide en tres tipos de tratamiento (EPA 1994):

- ❖ **Tratamientos biológicos (biorremediación):** Aquí se utilizan las actividades metabólicas de ciertos organismos (plantas, hongos, bacterias) para degradar (destrucción), transformar o remover los contaminantes a productos metabólicos inocuos.
- ❖ **Tratamientos fisicoquímicos:** Estos tipos de tratamientos, utiliza las propiedades físicas y/o químicas de los contaminantes o del medio contaminado para destruir, separar o contener la contaminación.
- ❖ **Tratamientos térmicos:** Aquí se utiliza el calor para incrementar la volatilización (separación), quemar descomponer, o fundir (inmovilización) los contaminantes en un suelo

## **Ventajas y desventajas de los tipos de tratamientos**

Las ventajas y desventajas de los tipos de tratamientos son los siguientes (EPA, 1994):

- ❖ **Ventajas de los tratamientos biológicos:** son efectivos en cuanto a costos, son tecnologías más benéficas para el ambiente, los contaminantes

generalmente son destruidos y se requiere un mínimo o ningún tratamiento.

(Nota: aquí falta más ventajas)

- ❖ **Desventajas de los tratamientos biológicos:** requieren mayores tiempos de tratamiento, es necesario verificar la toxicidad de intermediarios y/o productos, no pueden emplearse si el tipo de suelo no favorece el crecimiento microbiano.
- ❖ **Ventajas de los tratamientos fisicoquímicos:** son efectivos en cuanto a costos, pueden realizarse en periodos cortos, el equipo es accesible y no se necesita de mucha energía ni ingeniería.
- ❖ **Desventajas de los tratamientos fisicoquímicos:** los residuos generados por las técnicas de separación, deben tratarse o disponerse: aumento en costos o necesidad de permisos, los fluidos de extracción pueden aumentar la movilidad de los contaminantes: son necesarios los sistemas de recuperación.
- ❖ **Ventajas de los tratamientos térmicos:** permiten tiempos rápidos de limpieza.
- ❖ **Desventajas de los tratamientos térmicos:** Es el grupo de tratamientos más costoso, los costos aumentan en función del empleo de energía y equipo, son intensivos en mano de obra y capital.

Además de las clasificaciones anteriores, las tecnologías de remediación pueden clasificarse en base al tiempo que llevan en el mercado y al grado de desarrollo en el que se encuentran, en tecnologías innovadoras y en tecnologías tradicionales (EPA, 1994):

❖ **Tecnologías innovadoras:** Son tecnologías propuestas mas recientemente, que pueden encontrarse en diferentes etapas de desarrollo (investigación, escala piloto o gran escala). Su limitado número de aplicaciones genera la falta de datos acerca de sus costos y eficiencias. En general, una tecnología de tratamiento se considera novedosa si su aplicación a gran escala ha sido limitada.

❖ **Tecnologías tradicionales:** Estas tecnologías son utilizadas comúnmente a gran escala, cuya efectividad ha sido probada. La información disponible acerca de costos y eficiencia es de fácil acceso. Entre las tres tecnologías tradicionales usadas con mayor frecuencia, se encuentran: la incineración *in situ* y *ex situ*, la solidificación/estabilización, la extracción de vapores y la desorción térmica.

### **Estrategias de remediación**

Son estrategias básicas que pueden usarse separadas o en conjunto, para remediar la mayoría de los sitios contaminados (Sellers, 1993):

❖ **Destrucción o modificación de los contaminantes:** este tipo de tecnología busca alterar la estructura química del contaminante.

❖ **Extracción o separación:** los contaminantes se extraen y/o separan del medio contaminando, aprovechando sus propiedades físicas o químicas (volatilización, solubilidad, carga eléctrica).

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

### **Lugar de realización del proceso de remediación**

En general se distinguen dos tipos de tecnologías (Eweis *et al.*, 1998):

- ❖ **In situ:** son las aplicaciones en las que el suelo contaminado es tratado, o bien, los contaminantes son removidos del suelo contaminando, sin necesidad de excavar el sitio. Es decir, se realizan en el mismo sitio en donde se encuentra la contaminación.
- ❖ **Ex situ:** la realización de este tipo de tecnologías, requiere de excavación, dragado o cualquier otro proceso para remover el suelo contaminando antes de su tratamiento que puede realizarse en el mismo sitio o fuera de el.

### **Ventajas y desventajas de las tecnologías de remediación**

Las ventajas y desventajas de las tecnologías *in situ* y *ex situ* son las siguientes (Eweis *et al.*, 1998):

- ❖ **Ventajas *in situ*:** permiten tratar el suelo sin necesidad de excavar ni transportar y es muy económica.

- ❖ **Ventajas *ex situ*:** menor tiempo de tratamiento, son más seguros en cuanto a uniformidad, es posible homogeneizar y muestrear periódicamente.
  
- ❖ **Desventajas *in situ*:** mayores tiempos de tratamiento, pueden ser inseguros en cuanto a uniformidad: heterogeneidad en las características del suelo y dificultad para verificar la eficacia del proceso.
  
- ❖ **Desventajas *ex situ*:** necesidad de excavar el suelo, aumento en costos e ingeniería para equipos, debe considerarse la manipulación del material y la posible exposición al contaminante.

## **Biorremediación**

La biorremediación es una técnica innovadora que se ha desarrollado en la década de los 80's y 90's, la cual ha sido aplicada exitosamente en el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos. La biorremediación es considerada como la más deseable aproximación a la remediación de suelos contaminados en contraste a alternativas más costosa y de menor aceptación pública como la incineración. Los tratamientos biológicos de degradación en suelos pueden ser eficientes y económicos si las condiciones de biodegradación son optimizadas. (Alvarez, 2001; Belloso, 1998; Cursi, Calleja, 2001).

El término biorremediación se utiliza para describir una variedad de sistemas que utilizan organismos vivos, plantas, hongos, bacterias, entre otros) para degradar,

transformar o remover compuestos orgánicos tóxicos a productos metabólicos inocuos o menos tóxicos. Esta estrategia biológica depende de las actividades catabólicas de los organismos, y por consiguiente de su capacidad para utilizar los contaminantes como fuente de alimento y energía (Van Deuren et al., 1997).

Las técnicas de tratamiento de residuos sólidos consisten en la aplicación de procesos químicos, biológicos o físicos a desechos peligrosos o materiales contaminados a fin de cambiar su estado en forma permanente. Estas técnicas destruyen contaminantes o los modifican a fin de que dejen de ser peligrosos, además pueden reducir la cantidad del material contaminando presente en el lugar, retirar el componente de los desechos que los hace peligrosos o inmovilizar el contaminante en los desechos (Flores, 2001)

Las efectividades de esta metodología dependen de innumerables factores, entre ellos, las características agronómicas, topográficas y microbianas del suelo receptor, características y composición de los residuos aplicados, condiciones climáticas, etc. (Di Paola y Cantero, 2000).

Para la biorremediación de los suelos contaminados con hidrocarburos se han utilizados diversas estrategias de compost aprovechando la versatilidad algunos microorganismos para catabolizar moléculas recalcitrantes. Las matrices de composteo son ricas en microorganismos xenobioticos, incluyendo bacterias, actinomicetos y hongos lignoticos que pueden lograr de la degradación de

contaminantes hasta compuestos inocuos como dióxido de carbono y agua, o transformarlos en sustancias menos tóxicas (Semple *et al.*, 2001).

La biorremediación puede emplear organismos propios del sitio contaminado (autóctonos) o de otros sitios (exógenos), puede realizarse *in situ* o *ex situ*, en condiciones aerobias (en presencia de oxígeno) o anaerobias (sin oxígeno) (Eweis *et al.*, 1998). Aunque no todos los compuestos orgánicos son susceptibles a la biodegradación, los procesos de biorremediación se han usado con éxito para tratar suelos, lodos y sedimentos contaminados con hidrocarburos del petróleo (HTPs), solventes (benceno y tolueno), explosivos (TNT), clorofenoles (PCP), pesticidas (2,4-D), conservadores de madera (creosota) e hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) (Van Deuren *et al.*, 1997).

Las técnicas de biorremediación generalmente son aplicadas en suelos con concentraciones de hidrocarburos totales del orden del 5 a 8 %, extendiéndose estos valores a rangos mayores para suelos fácilmente aireables; debe destacarse que la determinación cuantitativa de hidrocarburos en suelo es compleja ya que la mayor parte de las técnicas se basan en la extracción de las diversas fracciones por solventes, según sea el método utilizado para determinación de hidrocarburos se obtendrán valores diferentes, que para determinados tipos de suelos e hidrocarburos pueden ser muy marcados. De esto surge la importancia de especificar el método analítico a utilizar. (Eecolli *et al.*, 2001).

Las afectividades de esta metodología dependen de innumerables factores entre ellos se encuentran: Tipo y concentración de contaminante, concentración de microorganismos, concentración de nutrientes, aireación, condiciones macroambientales, presencia de inhibidores, biodisponibilidad del contaminante, características agronómicas, topográficas y microbianas del suelo receptor, etc. (EPA; Ercolli *et al.*, 2001).

### **Mecanismos de biorremediación**

La biodegradación es un termino genérico que se ha cuñado para referirse a la actividad metabólica que llevan acabo todos los seres vivos, microorganismos, plantas y animales, para asimilar o modificar todo tipo de sustancias presentes en el medio ambiente. Aunque generalmente se aplica a compuestos de naturaleza orgánica, también puede referirse a sustancias orgánicas. Los procesos biodegradativos mas frecuentes se llevan acabo en presencia de oxígeno (biodegradación aeróbica), pero algunos microorganismos también son capaces de degradar compuestos en ausencia de oxígeno (biodegradación anaeróbica). Se denomina mineralización a la biodegradación de una sustancia orgánica para dar compuestos de naturaleza inorgánica (agua, óxidos, sales, etc.). A veces los compuestos no se mineralizan, si no que se transforman en otros diferentes (biotransformación) que pueden ser incorporados por el propio organismo que los transforma o secretados al medio ambiente. En otras ocasiones los compuestos contaminantes no se degradan, pero se acumulan en una forma inerte en el interior del organismo (bioacumulación), disminuyendo su toxicidad. Es el caso de muchos

metales pesados que los microorganismos pueden inmovilizar mediante precipitación o formación de complejos insolubles.

La mayoría de los compuestos orgánicos naturales (aquellos que no derivan de la actividad industrial del hombre) pueden ser mineralizados rápidamente por diversos seres vivos.

Estos compuestos llevan presentes en la naturaleza cientos de millones de años, lapso de tiempo suficientemente largo como para que muchos microorganismos hayan podido desarrollar la capacidad de utilizarlos como fuente de carbono y energía. Sin embargo, existen varios compuestos naturales que poseen una estructura química muy estable y que, por tanto, son muy difíciles de biodegradar. Su degradación completa suele requerir largos periodos de tiempo; un ejemplo de este tipo de compuesto es la lignina, un polímero muy abundante en la naturaleza que confiere la rigidez a las plantas. La biodisponibilidad está determinada por las propiedades fisicoquímicas del compuesto, principalmente por su solubilidad en líquidos, o su capacidad para absorberse a sustancias sólidas o para volatilizarse. Sustancias volátiles o fuertemente absorbidas a partículas sólidas no van a estar al alcance de muchos seres vivos, lo que reduce su potencial de toxicidad. La asociación de una sustancia a componentes sólidos del suelo como arcilla o materia orgánica, así como su solubilidad en líquidos no acuosos, limita su biodisponibilidad. La biodisponibilidad de una sustancia tóxica en el ambiente suele disminuir con el tiempo, proceso que se ha denominado “envejecimiento”. Una baja biodisponibilidad constituye una de las principales limitaciones de la recuperación de suelos y sedimentos contaminados por

hidrocarburos, pesticidas y explosivos, dado que provoca que las tasas de biodegradación sean más lentas de lo deseado. Algunos organismos son capaces de aumentar la biodisponibilidad de un compuesto tóxico, por ejemplo adhiriéndose al mismo, o produciendo agentes tensioactivos-detergentes (biosurfactantes). Por otro lado, dado que una baja biodisponibilidad reduce mucho la toxicidad de un compuesto, en algunas ocasiones se recurre a la disminución de la biodisponibilidad como método para remediar un suelo contaminado. Muchos organismos han desarrollado diversas estrategias para poder captar los hidrocarburos insolubles más eficientemente. Las más comunes son la excreción al medio de moléculas que facilitan la solubilidad o la dispersión de estos compuestos en el agua (biosurfactantes), o el desarrollo de superficies celulares hidrófobas que permiten al microorganismo adherirse a la interfase entre el agua y el petróleo, captando así los hidrocarburos directamente sin necesidad de que se disuelvan previamente en el agua. Un tercer factor que limita la biodegradación del petróleo es la relativa toxicidad de muchos de sus componentes. Moléculas como el benceno, el xileno, y todos sus análogos son bastantes tóxicas y normalmente sólo se degradan bien si están en concentraciones moderadas. Asimismo, muchos compuestos poliaromáticos tienen actividad mutagénica. Finalmente, la biodisponibilidad de oxígeno es también muy importante. La biodegradación de petróleo en suelos contaminados es relativamente eficiente en la zona más superficial, en la que hay oxígeno, pero es muy lenta en capas más internas (a más de 10 centímetros de profundidad), donde el oxígeno escasea. Aunque existen microorganismos capaces de degradar hidrocarburos en ausencia de oxígeno (anaeróbicamente), crecen más lentamente que los microorganismos aeróbicos, y el proceso biodegradativo es menos eficiente. Por lo

tanto, la inyección de aire (oxígeno) en el subsuelo de zonas contaminadas por hidrocarburos (petróleo o gasolinas, por ejemplo), o la aireación del terreno por otros métodos mecánicos, acelera sustancialmente la biodegradación (Anónimo).

Los suelos tienen propiedades físicas y químicas muy diferentes, pero además están sometidos a distintas variaciones en la humedad, el pH y las condiciones redox. El problema es que cuando un espacio se encuentra contaminado afecta a varios medios como el aire, las aguas superficiales, las aguas subterráneas, el suelo y los receptores potenciales. Además, es una contaminación dinámica porque al moverse los contaminantes en el terreno a través de las capas mas permeables se facilita su dispersión y esto hace que aumente el área afectada (Lihue, 2003).

### **Bacterias utilizadas en la degradación de hidrocarburos en el suelo**

Por definición, una bacteria, pertenece al grupo de organismos procarióticos, unicelulares, pertenecientes al reino Monera, por lo general se multiplican por fisión binaria, cada célula en la colonia es fisiológicamente independiente, a un cuando este influida por los cambios del medio, producidos por las células vecinas (Alexander, 1971).

**Streptomyces sp:** Las bacterias del genero *Streptomyces* son Gram-positivas, aerobias estrictas, catalasa-positivas y quimioorganotrófica, son microorganismos filamentosos saprofitos, se encuentran principalmente en los suelos de pH mayor de

7, aunque también existen especies acuáticas. Existen cerca de 500 especies reconocidas. Los filamentos suelen tener un Diámetro de 0.5 a 1.0 milimicras), y de longitud variable, pueden formar filamentos aéreos abundantes llamados esporóforos, las esporas son llamadas conidios que se producen por la formación de septos transversales. Los conidios y esporóforos generalmente son pigmentados y con colores característicos. Algunos de estos microorganismos son productores de antibióticos (*estreptomicina*, *Neomicina*, *nistatina*, *cloramfenicol* y otros), otras son productoras de vitaminas (*Streptomyces olivaceus*). Se les considera agentes patógenos productores de infecciones sistémicas, sin embargo aún no está bien definido su papel de agente patógeno. La identificación de estas bacterias sigue siendo difícil, y aún hoy en día su diagnóstico y clasificación principalmente se basa en el estudio de las características morfológicas (macro y microscópicas), en las quimiotaxonómicas y en las bioquímicas. Sus características de la composición química son las siguientes: GC:% 69 A 78 % (guanina-citosina). **Tipo de pared y perfil de composición química de la pared celular:** Pared tipo I; contiene ácido diaminopimélico (L-DAP), glicina, ausencia de polisacáridos o ácidos micólicos. La composición en L-DAP es específica en los géneros *Streptomyces*, *Nocardioide*s e *intrasporangium*. **Menaquinona predominante:** tipo MK-9 (4) (Williams, et al., 1989).

**Pseudomonas sp:** Las bacterias del género *Pseudomonas* son Gram-negativos estrictamente aerobios, se mueven mediante un flagelo polar, poseen un citocromo inusual en su cadena de electrones detectable en las colonias por un método

calorimétrico: el test de la oxidasa, son oxidasa positivas, producen ácidos orgánicos e inorgánicos como principal mecanismo microbiológico para solubilizar el fósforo en el suelo, tornando los fosfatos insolubles a formas solubles. Son un componente importante de la comunidad bacteriana de la rizósfera por poseer un periodo de latencia reducido y una rápida velocidad de crecimiento. Tiende a disminuir el pH del medio que los circunda metabolizando azúcares de los exudados de las raíces, produciendo pigmentos fluorescentes con capacidad inhibidora de bacterias y hongos fitopatógenos al sintetizar antibióticos como la pirrolnitrina. Una especie de *Pseudomonas* es un importante patógeno humano: *Pseudomonas aeruginosa*, el patógeno oportunista por excelencia causa principal de las infecciones intrahospitalarias.

## **Los factores que afectan el crecimiento bacteriano para la biorremediación de suelos**

### **Factores intrínsecos**

Los factores intrínsecos son aquellos que tienen que ver con la alimentación de los microorganismos. Dentro de este grupo está el pH, actividad de agua, potencial de Oxido reducción, cantidad de elementos nutritivos y degradación biológica (EPA, 1994)

- ❖ **pH:** El pH del suelo es importante para el desarrollo de los microorganismos degradadores, siendo los más adecuados los comprendidos

entre 6 y 8. Cuando el pH excede de 8 se debe disminuir el mismo mediante adición de azufre al suelo. Si es menor de 6 se puede incrementar mediante la incorporación de carbonato de calcio o hidróxido de calcio al suelo.

❖ **Actividad del agua:** como actividad de agua se conoce la cantidad de agua libre disponible para el crecimiento microbiano y para los procesos químicos y enzimáticos, la actividad de agua a la cual crecen las bacterias Gram negativas es de 0.97 y las Gram positivas de 0.90.

❖ **Oxidación:** la oxidación se presenta en el suelo afectando a muchos compuestos químicos aromáticos experimentado una oxidación de radical libre, por ejemplo, benceno, bencidina, etilbenceno, naftaleno y fenol.

❖ **Reducción:** La reducción es definida en términos de transferencia de electrones, involucra a compuestos orgánicos en sistemas de agua arcilla. El afecto se acelera al aumento de agua sugiriendo la existencia del mecanismo de transferencia de un electrón donde la arcilla actúa como un aceptor. En general, uno puede esperar que un químico orgánico puede experimentar una reducción química si el potencial del suelo es menor que el compuesto orgánico en cuestión.

❖ **Elementos nutritivos:** Los elementos nutritivos 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 elementos minoritarios (microelementos). La fuente de carbono en este caso es el contaminante, y proporciona el carbono necesario para producir compuestos celulares, productos metabólicos ( $\text{CO}_2$ , agua, enzimas) y microorganismos (debido a la reproducción de los mismos). La

fuerza de nitrógeno proporciona el elemento necesario para la producción de aminoácidos y enzimas. Dado que la utilización de estos compuestos es muy rápida los suelos no alcanzan a cubrir todas las necesidades del proceso y deben ser incorporados bajo la forma de fertilizantes de uso agrícola como urea o sulfato de amonio. La fuerza de fósforo interviene en la formación de compuestos energéticos dentro de la célula que se utilizan en los procesos de reproducción y degradación. La fuerza 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 microorganismos y del proceso que se realiza. Las concentraciones de los mismos son muy pequeñas (menos de 1 ppm en total). Normalmente no se incorporan en los procesos de campo ya que el suelo provee estos elementos en cantidades suficientes a aunque en algunos casos es necesario incorporar algunos gramos por hectárea para tratar algún contaminante muy específico. También es necesario disponer de potasio en concentraciones bajas. Normalmente los suelos poseen potasio en cantidades suficientes. La dosificación de nitrógeno y fósforo se realiza en función de la concentración de contaminante de acuerdo a una relación que vincula C:N:P 100:10:1 a 100:2:0,2 Según la técnica con que se mida la concentración de hidrocarburo que se toma como referencia y que aporta un 80 % de su masa como carbono al proceso.

❖ **Degradación biológica:** Es importante notar la presencia de microorganismos nativos del suelo que tienen un papel fundamental en la ausencia y/o permanencia de compuestos orgánicos, siendo considerado como

una vía de pérdida de los compuestos orgánicos volátiles, llamada biodegradación; los compuestos químicos que poseen otras estructuras que los azúcares, aminoácidos y ácidos grasos, no pueden entrar inmediatamente dentro del metabolismo microbiano; esos compuestos requieren de una aclimatación definida en horas o meses, durante el cual poco o nada se degrada. El periodo de retraso generalmente es causado por: a) la transferencia de la información genética responsable de la degradación para una población, y b) la fase inicial de crecimiento exponencial de organismos capaces de degradar el compuesto, la alta solubilidad al agua que puede favorecer una rápida degradación, pero puede existir una acumulación a largo plazo de los productos de descomposición recalcitrante.

### **Factores extrínsecos:**

Los factores extrínsecos son los que tienen que ver con el ambiente donde se almacenan los alimentos. Entre ellos están la temperatura y la humedad (EPA, 1983).

- ❖ **Temperatura:** La temperatura influye en la velocidad de degradación marcadamente, dependiendo del tipo de microorganismos disponibles. Normalmente las temperaturas más adecuadas se encuentran entre 20 °C y 40 °C, (los microorganismos que trabajan se denominan mesófilos). La velocidad de degradación aumenta con la temperatura, por lo que un incremento de la misma es útil. Cuando supera los 40 °C se produce una disminución de la actividad microbiana, o bien se produce una rotación

poblacional hacia especies mas resistentes alas altas temperaturas, como ocurre en los procesos de compostaje en donde se alcanzan temperaturas de 65 ° C.

❖ **Humedad:** El agua es importante para el desarrollo de los microorganismos ya que actúa como medio de transporte de elementos nutritivos y oxígeno a la célula. Es conveniente mantener una humedad del orden del 70 % de la capacidad de campo, la cual se define como la masa de agua que admite el suelo hasta la saturación, que depende de cada tipo de suelo. Un exceso de humedad produce inhibición del proceso por anaerobiosis. Un déficit impide el desarrollo de los microorganismos.

### **Factor implícito:**

Dentro del factor implícito se encuentran lo siguiente (Tölgyessy, 1993).

❖ **Metabolismo:** No todas las bacterias tienen la capacidad de crecer en suelos contaminados por hidrocarburos, aún cuando encuentren condiciones optimas. Esto es debido al estado como se encuentran los diferentes componentes

### **Hidrocarburos en el suelo:**

El suelo y subsuelo constituyen un recurso natural difícilmente renovable que desempeña funciones entre las que destaca su papel como medio filtrante durante la

recarga del manto acuífero y la protección de los mismos, en el ocurren los ciclos biogeoquímicos, hidrológicos y las redes tróficas, además de ser el espacio donde se realizan las actividades agrícolas, ganaderas y soporte de la vegetación (Saval, 1995).

El comportamiento de los contaminantes orgánicos está en función de sus características físicas y químicas (densidad, solubilidad, polaridad, entre otras.), además de las características del medio como son la unidad de suelo, permeabilidad, estructura, tamaño de las partículas, contenido de humedad y de materia orgánica, así como la profundidad del manto freático. Factores climatológicos como la temperatura y la precipitación pluvial también tienen una gran influencia. Todas las variables en su conjunto definen el tamaño y la distribución tridimensional del frente de contaminación en una zona específica. Los compuestos orgánicos ligeros como las gasolinas, aceites y petróleo crudo tienden a formar una capa en forma de nata en el nivel freático y se mueven horizontalmente en dirección al flujo del agua subterránea. Los compuestos orgánicos densos, migran hacia la base del acuífero creando una columna a partir de la cual pueden moverse en dirección al flujo de agua subterránea, contaminando así el acuífero en toda su profundidad (Jury, 1989).

### **Propiedades del suelo afectadas por hidrocarburos**

Elías-Munguía y Martínez (1991) en Semarnat (1996), concluyeron que las propiedades físicas del suelo más afectadas por derrames de hidrocarburos son:

- ❖ La estructura del suelo debido a la ruptura de los agregados.

- ❖ Aumento de la retención del agua en la capa superficial.
- ❖ El potencial hídrico.

Las propiedades químicas del suelo más afectadas por un derrame de hidrocarburos son (Semarnat, 1996):

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

Los hidrocarburos se pueden encontrar de la siguiente forma en el suelo (Luthy et al., 1997)

- ❖ Líquida.
- ❖ Soluble en el agua del suelo.
- ❖ Adsorbidos por el suelo.
- ❖ En la atmósfera edáfica.

Los efectos tóxicos de los hidrocarburos en el suelo dependerán de (Luthy et al., 1997).

- ❖ La cantidad y composición del petróleo.
- ❖ La frecuencia y tiempo de exposición.
- ❖ El estado físico del derrame.

## **Características de los hidrocarburos:**

Los hidrocarburos son compuestos formados por átomos de carbono e hidrógeno, de gran abundancia en la naturaleza, presentes principalmente en el petróleo (Chapín, 1988).

Se considera a los hidrocarburos de petróleo como una mezcla líquida compleja de gases, líquidos y sólidos, existiendo pequeñas cantidades de mezclas de nitrógeno, oxígeno y azufre, además de contener compuestos de hierro, níquel, vanadio y otros metales, de manera general el petróleo tiene una proporción de 76 a 86 % de carbono, y de 10 a 14 % del hidrogeno. Son los compuestos orgánicos más simples y pueden ser considerados las sustancias principales de las que se derivan todas los demás compuestos orgánicos. Los hidrocarburos se clasifican en dos grupos principales, de cadena abierta y cíclica. En los compuestos de cadena abierta que contienen más de un átomo de carbono, los átomos de carbono están unidos entre sí formando una cadena lineal que puede tener una o más ramificaciones. En los compuestos cíclicos, los átomos de carbono forman uno o más anillos cerrados. Los dos grupos principales se subdividen según su comportamiento químico en saturados e insaturados (PEMEX, 1988).

Los hidrocarburos se clasifican de la siguiente forma, hidrocarburos biogénicos estos son sintetizados por casi todas las plantas, animales terrestres y marinos, incluyendo la microbiota, bacterias, plancton marino, diatomeas, algas y plantas superiores (Bedair y Al-Saad, 1992).

La síntesis de este tipo de hidrocarburos esta controlada por rutas metabólicas, lo cual trae como resultado mezclas de compuestos de limitada complejidad estructural relacionada directamente con la función biológica específica. Hidrocarburos antrópicos son aquellos que son introducidos como resultado de cualquier tipo de actividad humana. Los procesos de combustión industrial que constituyen con niveles mucho mas altos debido principalmente al humo generado por carbón, combustibles fósiles y petróleo refinado, las descargas de aguas municipales, las actividades de transporte y los derrames son algunas de las principales fuentes de estos contaminantes (Bidleman et al., 1990).

Las características determinantes de los hidrocarburos en el ambiente son las siguientes; densidad se define como la relación entre la masa y una unidad de volumen determinando para una sustancia en particular. Los compuestos orgánicos se clasifican en dos grupos: compuestos orgánicos ligeros: son aquellos cuya densidad es menor que la del agua. Compuestos orgánicos densos: son aquellos que poseen una densidad mayor a la del agua. Polaridad se refiere a la existencia o no de una distribución equitativa de las nubes electrónicas que forman varios enlaces. Si no es equitativa, una parte de la molécula será más positiva y la otra será más negativa. Por tanto, la molécula se comporta como un dipolo o que es una molécula polar. Por otra parte, si las nubes electrónicas están igualmente distribuidas, decimos que la molécula es no polar. La polaridad depende de la electronegatividad de los átomos y la forma de la molécula, si no hay diferencia de electronegatividad de los átomos la molécula será no polar.

Todos los compuestos orgánicos contienen carbono y la mayoría también hidrógeno, debido a que existe una leve diferencia de electronegatividad entre el carbono y el hidrógeno; la mayoría de los compuestos son no polares (Chappin y Summerlin 1988).

En los sistemas de agua-suelo-sedimento, donde el contenido de materia orgánica es significativo, la absorción de los contaminantes orgánicos no polares ocurre principalmente por partición dentro de la materia orgánica. De acuerdo al coeficiente de distribución agua-suelo-sedimento de contaminantes no polares es fuertemente dependiente del contenido de materia orgánica del suelo o sedimento alternativamente del contenido de carbón orgánico del suelo/sedimento (Chiou et al., 1998)

## **Política Ambiental**

La integración de una Política Ambiental para la protección de los suelos y su remediación es un elemento fundamental enlace entre la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente (LGEEPA) que es el instrumento fundamental que introdujo la modificación en el régimen de las autorizaciones de obras o actividades “que pueden causar desequilibrios ecológicos o rebasar los límites y condiciones establecidos en las disposiciones aplicables para proteger el ambiente, preservar y restaurar los ecosistemas, a fin de evitar o de reducir al mínimo sus

efectos negativos sobre el ambiente. Y las diferentes partes que intervienen en el marco de la problemática ambiental.

Esta política busca establecer el marco institucional que permita proteger a los suelos entendiendo la problemática relacionada con su contaminación, con el fin de plantear las medidas preventivas y las relativas a su remediación. Para ello, es necesario que los diferentes actores consideren la naturaleza de los contaminantes, la actividad que les dio origen, su toxicidad, las concentraciones observadas, el ordenamiento ecológico o programas de desarrollo urbano que resulten aplicables, como también el riesgo toxicológico y ecotoxicológico derivado de la presencia de sustancias nocivas (Diario Oficial de la Federación, 1996).

### **Marco Jurídico y Normatividad Vigente**

La Protección de los elementos naturales del suelo queda alineada en el ámbito general de la LGEEPA, por o mismo, son aplicables sus instrumentos de control, la ordenación ecológica del territorio, la manifestación del impacto ambiental para obras y actividades petroleras, la adopción de medidas de protección en áreas naturales, a través del Instituto Nacional de Ecología (INE) y la PROFEPA, órganos desconcentrados de la secretaria de medio ambiente, Recursos Naturales y Pesca, en la inspección, vigilancia y aplicación de medidas para la conservación y preservación del ambiente (Díaz, 1995).

La LGEEPA en 1996 establece en cuatro artículos los aspectos para atender la contaminación del suelo:

❖ 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; V. 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 sujetara a lo que disponga esta ley, la ley de Aguas Nacionales, sus disposiciones reglamentarias y las Normas Oficiales Mexicanas.

- ❖ 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 secretaria, en coordinación con la secretaria de Comercio y Fomento Industrial.

### **Importancia de la biorremediación ambiental**

Constituye un riesgo potencial un suelo contaminado, aunque en lo inmediato no se perciban las consecuencias de dicha contaminación. Actividades mal planeadas, como cambio en el uso del suelo, trabajos de drenajes o de excavación realizados sobre un sitio contaminado, pueden hacer que este riesgo se vuelva significativo. Sitios contaminados por modos de producción y de consumo inadecuado que no son orientados hacia un desarrollo sustentable, no deben ser abandonados u olvidados, hipotecando su posible aprovechamiento. La remediación de un suelo contaminado no solo corrige la situación, sino también busca su revaporización, ecológica y económicamente viable. Es decir, volver a dar al suelo un uso máximo y reintegrarlo al ciclo del desarrollo sustentable. La biodegradación de hidrocarburos del petróleo (HP) por las poblaciones microbianas nativas representa uno de los principales mecanismos por el cual el petróleo y sus derivados (diesel) pueden disminuir considerablemente su presencia en el suelo (Gutiérrez, 1990).

## **Situación actual de la biorremediación en México**

En México el mercado ambiental, actualmente existe una cantidad considerable de empresas nacionales e internacionales que ofrecen diferentes tipos de tecnologías para la remediación de sitios contaminados. Asimismo, con el propósito de establecer un control acerca de las tecnologías que se ofrecen y conocer sus posibilidades reales de éxito, se inicio en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México el 18 de agosto de 1997, la aplicación obligatoria de la Licencia Ambiental Única (LAU), para todas aquellas empresas que realizan trabajos de remediación de suelos. De conformidad con el acuerdo sectorial publicado en el Diario Oficial de la Federación (DOF) del 11 de abril 1997. Posteriormente, se publico el acuerdo delegatorio respectivo en el DOF del 3 de diciembre de 1998, y a partir del 4 de enero de 1999 la LAU es emitida por las delegaciones federales de la Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) en los estados de Aguascalientes, Baja California, Coahuila, Chihuahua, México, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Nuevo León, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, sonora, Tamaulipas, Tlaxcala y Veracruz. Para el resto de los estados, el trámite de la licencia esta centralizado (SEMARNAT 2002).

De las tecnologías que ofrecen las empresas que cuentan con permisos para remediar suelos contaminados, todas están enfocadas exclusivamente a la remediación de sitios contaminados por compuestos orgánicos. Dentro de los contaminantes tratados con mayor frecuencia, se encuentran los Hidrocarburos Totales de Petróleo los (HTP) y los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP), los aceitosos, lodos de perforación y recortes de perforación. De un total de 57 empresas autorizadas, ninguna ofrece servicios para la restauración de suelos contaminados por metales. 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 (biorremediación, con 48%), 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). A pesar de que existe información acerca de las tecnologías de biorremediación que se emplean en México, se aprecian ciertas deficiencias en el manejo y conocimientos de estos procesos por algunas de las empresas dedicadas a esta actividad. Este hecho se debe, en parte, a que muchas de estas empresas no cuentan con profesionales en microbiología o biotecnología, debido a que su principal actividad para realizar los trabajos de biorremediación consiste en importar formulaciones (concentrados bacterianos o enzimáticos, agentes tenso activos y mezclas de elementos nutritivos, entre otros) para venderlas en México. Muchos de estos productos, además, carecen de información acerca del contenido y su eficiencia no se ha demostrado para las condiciones climáticas que predominan en el. La remediación de estos suelos requieren de aproximadamente 100 millones de dólares, ya que se estima que el precio promedio de remediación por  $m^3$  es del orden de 60 dólares para el caso de los residuos metálicos y 40 dólares para otros tipos de contaminantes como ácidos e hidrocarburos, cifra a la que se le sumaran las erogaciones de los trabajos de remediación de las zonas petroleras de México, de la cuales, se tendrá precisión tan pronto se concluyan los trabajos de diagnóstico que PEMEX está realizando (Saval 1998)

## **Situación actual de la biorremediación a nivel Mundial**

La aceptación de la biorremediación como una estrategia de limpieza viable, en muchos casos, depende de sus costos. Es decir, cuando el método biológico propuesto es menos costoso que los tratamientos físicos y químicos viables para el tratamiento de un sitio y de un contaminante en particular. A si mismo, muchas de las estrategias de biorremediación son competitivas en términos de costos y eficiencia sobre una matriz contaminada (Semple et al., 2001)

De acuerdo con estudios realizados en los Estados Unidos de América y el Reino Unido, el mercado de la biorremediación para el tratamiento de suelos contaminados se ha incrementado debido a que los costos pueden reducirse entre 65% y 80%, respecto de los métodos físico-químicos (Zechendorf, 1999).

## MATERIALES Y METODOS

### Ubicación del área de estudio.

Esta investigación se realizó del mes de julio a diciembre de 2005 en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna (UAAAN-UL) que esta ubicada en carretera a Santa Fe y Periférico, Torreón, Coahuila. Con coordenadas Latitud Norte  $25^{\circ} 33.281'$ ; Longitud Oeste  $103^{\circ} 22.397'$  y altitud 1130 m. en esta localidad se selecciono un área, en la cual se hizo un diseño experimental de bloques al azar con tres repeticiones, cada bloque fue de  $1 \text{ m}^2$ . Se aplicaron tres cantidades de gasolina,  $C_1=5$  litros;  $C_2=10$  litros,  $C_3$  15 litros y un testigo=0, y además se aplicaron 80 kg de estiércol vacuno que fue mezclado con el suelo (Figura 1).

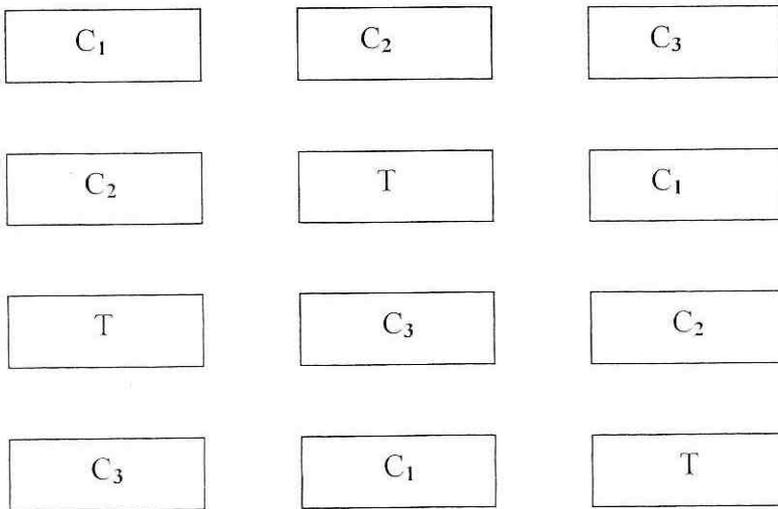


Figura 1 Diseño experimental establecido en el área de estudio.  $C_1= 5$  litros de gasolina +80 kg de estiércol vacuno,  $C_2= 10$  litros de gasolina +80 kg de estiércol vacuno,  $C_3= 15$  litros de gasolina +80 kg de estiércol vacuno y  $T= 0$  litros de gasolina + 80 kg de estiércol vacuno.

Se efectuaron cuatro fechas de muestreo: 7 de Julio, 9 de Agosto, 8 de septiembre, 27 de Octubre y 02 de diciembre del año 2005; en el primer muestreo (7 de Julio) se determinaron los siguientes parámetros: % de carbono, % de nitrógeno, relación carbono-nitrógeno (C-N), pH, textura, conductividad eléctrica (C. E.), mediante las técnicas de: método del hidrómetro de bouyoucos (SARH 1985), materia orgánica (walkley y black modificado 1934), método de Kjeldahl (Etchevers y *et al.*, 1971), extracto de la pasta de saturación (Jackson, 1964; Richards 1990).

En las demás fechas de muestreo solo se determinaron % de carbono, % de nitrógeno y la relación carbono-nitrógeno (C/N), 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 C/N del testigo con cada uno de los tratamientos (C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> y C<sub>3</sub>). El criterio seguido es el recomendado por Burmeier (1998) que dice que valores menores de 150 que presente cada tratamiento indicará que hubo degradación, entre menor sea el valor obtenido mas degradación de hidrocarburos se detectaran.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En el Cuadro 1 se presentan los datos de la fecha en que se puso en el campo el diseño experimental. Lo que sobresale en este Cuadro es que el % de nitrógeno (N) tanto en el suelo sin gasolina como en el suelo con gasolina están en la misma concentración, mientras que en el estiércol, la concentración de nitrógeno (N) es alta (4.62 %). En relación al carbono (C), en el estiércol es bastante elevado comparado tanto en el suelo con gasolina como en el suelo sin gasolina. En relación con el pH tanto el suelo como el estiércol son alcalinos, mientras, que la conductividad eléctrica en el estiércol es bastante elevada, lo que significa que el estiércol tiene elevada concentración de sales.

CUADRO 1 VALORES DE LOS PARÁMETROS EVALUADOS (TEXTURA, NITROGENO (N), CARBONO (C), pH y CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA (CE) EN SUELO SIN GASOLINA, SUELO CON GASOLINA Y ESTIÉRCOL CON SUELO. UAAAN UL. JULIO DE 2005

	Textura	C	N	pH	CE
		%	%		Ms/cm
Suelo sin gasolina	Migajon	.96	0.11	8.06	1.12
Suelo con gasolina	Migajon arenoso	1.17	0.11	8.05	1.64
Estiércol con suelo	Migajon arcillo arenoso	29.56	4.65	7.92	38.8

CUADRO 2 VALORES DE C (%), N (%) Y RELACION C/N A LOS 32, 62, 110 Y 146 DÍAS ENCONTRADAS EN LAS C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> Y T. A LOS QUE SE LES APLICÓ 80 KG DE ESTIÉRCOL VACUNO. UAAAN UL. 20005.

	A los 32 días			A los 62 días			A los 110 días			A los 146 días		
	C	N	C/N	C	N	C/N	C	N	C/N	C	N	C/N
	%	%		%	%		%	%		%	%	
C <sub>1</sub>	0.33	0.33	1.01	3.77	0.3	12.56	4.11	0.35	11.74	3.55	0.4	8.87
C <sub>2</sub>	0.43	0.14	3.07	4.14	0.09	45	4.05	0.38	10.65	3.30	.36	9.16
C <sub>3</sub>	0.29	0.06	4.83	4.35	0.06	72.5	3.53	0.39	9.05	3.8	1.09	3.48
T	0.43	0.23	1.86	3.49	0.26	13.42	2.97	0.42	7.07	2.6	0.36	7.22

C<sub>1</sub>= 5 litros de gasolina + 80 kg de estiércol vacuno.

C<sub>2</sub>= 10 litros de gasolina + 80 kg de estiércol vacuno.

C<sub>3</sub>= 15 litros de gasolina + 80 kg de estiércol vacuno.

T = 0 litros de gasolina + 80 kg de estiércol vacuno.

En el Cuadro 2 se puede ver que la variación del C de los 32 a los 62 días hubo incremento, después de los 110 a los 146 días no se observó incremento alguno en ninguno de los tratamientos. En relación a la variación del N en términos generales no se observó incremento alguno en las distintas fechas de muestreo, aunque en la C<sub>3</sub> hubo un ligero incremento a los 146 días. En cuanto a la relación C/N, la menor relación se obtuvo en la C<sub>1</sub> en el muestreo realizado a los 32 días, mientras que la mayor relación fue a los 62 días en las C<sub>3</sub> (72.5) y C<sub>2</sub> (45).

CUADRO 3 DEGRADACION DE HIDROCARBUROS A LOS 32, 62, 110 Y 146 DIAS LOGRADA EN LAS C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> Y C<sub>3</sub>, MEDIANTE LA APLICACIÓN DE ESTIÉRCOL VACUNO. UAAAN UL. 2005.

	Degradación de hidrocarburos a los 32 días	Degradación de hidrocarburos a los 62 días	Degradación de hidrocarburos a los 110 días	Degradación de hidrocarburos a los 146 días	Promedio
C <sub>1</sub>	5.34	6.21	5.39	2.52	4.86
C <sub>2</sub>	3.28	38.65	4.3	2.81	12.26
C <sub>3</sub>	1.52	66.15	2.7	2.84	18.30
Promedio	3.38	37	4.13	2.72	<b>11.80</b>

C<sub>1</sub>= 5 litros de gasolina + 80 kg de estiércol vacuno.

C<sub>2</sub>= 10 litros de gasolina + 80 kg de estiércol vacuno.

C<sub>3</sub>= 15 litros de gasolina + 80 kg de estiércol vacuno.

T = 0 litros de gasolina + 80 kg de estiércol vacuno.

En el Cuadro 3 se puede observar el grado de degradación de los hidrocarburos, la mayor degradación se obtuvo en la C<sub>3</sub> a los 32 días, luego fue a los 146 días en los que aparentemente hubo una estabilización en la degradación, ya que en las tres cantidades de gasolina aplicadas fue muy semejante. En términos generales la mayor degradación, considerando las tres cantidades de gasolina aplicada se obtuvo a los 146 días, mientras que en la C<sub>1</sub> fue en la que hubo mayor degradación promedio considerando el total de días en que se muestreo. Las cantidades de gasolina en las que se detectó menor degradación fueron en las C<sub>2</sub> y C<sub>3</sub> en el muestreo realizado a los 62 días. La degradación total se puede considerar que fue buena hasta los 146 días en que se muestreo, ya que el valor obtenido de acuerdo al criterio seguido fue mucho

menor a los 150. Al analizar la biodegradación obtenida en la C<sub>3</sub>, se observó que a los 32 días hubo mucha degradación, luego a los 62 días fue menor, después a los 110 y 146 días mejor bastante la biodegradación, la C<sub>2</sub> tuvo un comportamiento semejante. Estos datos indican que posiblemente hubo factores (temperatura, humedad entre otros) no controlados que influyeron de esa manera.

## CONCLUSIÓN

Se rechaza la hipótesis nula ya que mediante la aplicación de estiércol vacuno, de acuerdo al criterio seguido, si es posible una biorremediación del suelo contaminado con gasolina.

El grado de degradación de los hidrocarburos, fue mayor, en promedio primero en la C<sub>1</sub>, luego en la C<sub>2</sub> y finalmente en la C<sub>3</sub>, lo cual va de acuerdo a lo afirmado por Atlas y Bartha (2001), al menos hasta la cantidad de 10 litros/m<sup>2</sup>, por lo tanto es posible que no se observe una buena biodegradación de hidrocarburos si la cantidad de hidrocarburos derramada en un sustrato es mayor a 15 litros/ m<sup>2</sup>.

Estos resultados pueden tener mayor validez si se toman datos de temperatura, humedad relativa y edáfica, intensidad de luz entre otros.

## RECOMENDACIONES

- ❖ Remover periódicamente las muestras, ya que al proporcionarle aire favorece la proliferación de los microorganismos y se reflejaría mayor la degradación de hidrocarburos.
- ❖ Proporcionarle agua periódicamente (cada semana) esto ayudaría también a proliferación de los microorganismos y claro a la degradación de hidrocarburos.
- ❖ Este mismo proyecto llevarlo acabo con otro tipo de estiércol (equino, avícola, etc.) o en su caso usar dos tipos de estiércol a la vez. De esta manera cuidar cada detalle, para tener mejores resultados.
- ❖ Cercar el área del proyecto y de los lugares en los cuales ocurran derrames de hidrocarburos.
- ❖ Tomar datos de temperatura, humedad relativa y edáfica mínimamente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Bojorquez, t. I. a. y García. 1995. Aspectos metodológicos de la auditoria ambiental. PEMEX: ambiente y energía los retos del futuro. Instituto de Investigaciones Jurídicas UNAM-PEMEX. Pp 59-72.
- Ayllón t. t. y j. f. Chávez. 1994. México: sus recursos naturales y su población. Segunda edición. Limusa, México.
- PROFEPA. 1999. Restauración de Suelos Contaminados. Grupo de trabajo sobre Restauración de Suelos Contaminados. Pagina Web. Méx.
- Sellers, k., t.a pedersen, y fan, c. 1993. Review of Soil Mound Technologies for the Bioremediation of Hydrocarbon Contaminate Soil. En: Hydrocarbon Contaminate Soil, Vol. iii. Lewis publishers.
- EPA. 1994. Remediation Technologies screening matrix and reference guide. Prepared by the dod environmental technology transfer committee. Segunda edición, octubre de 1994.
- Eweis, J.B, y Schroeder, E.D. 1998. bioremediation principles. McGraw-Hill International Editions. 296 pp.
- Alvarez, J. A, E. Ramos, B. Fernández, A. Núñez. 2001 a. Gestión de residuos sólidos petrolizados. Petróleo Internacional (en imprenta), EUA.

- Alvarez, J. A. 2001.. Caracterización de aguas y sedimentos del yacimiento Puerto Escondido. GEOMIN.
- Belloso 1998. XXVI Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Biodegradación de Suelos Contenidos en Terrarios.
- Cursi, E.; C C Calleja 2001, Biorremediación de Suelos Contaminados con Hidrocarburos. U.E. Mendoza, Argentina,.
- Van deuren, j., wang, z. y Ledbetter, j. 1997. Remediation Technologies Screening Matrix and Reference Guide. 3<sup>a</sup> ed. Technology Innovation Office, EPA. <http://www.epa.gov/tio/remed.htm>.
- Flores, N. y col. 2001. Utilización de lodos residuales en la restauración de suelos contaminados con hidrocarburos. VI Congreso Nacional de Ciencias Ambientales. Pachuca; México,
- Di Paola, M. y Cantero, J. 2000. Análisis y evaluación de parámetros críticos en biodegradación de hidrocarburos en suelo. Laboratorio de Bioprocesos; UN de Cuyo, Argentina,
- Semple, K. T., B. J. Reid y T. R. Fervor. 2001 Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. Environmental Pollution 112 (2): 269-283,.

- Ercolli, E. y J Gálvez,. 2001 Tratamiento biológico ex situ de residuos semisólidos de oleoductos. Laboratorio de Bioprocesos; Un. De Cuyo, Argentina,
- EPA2001 a. Guía del ciudadano: tecnología de restauración Ambiental, EUA,
- EPA2001 b. Guía del ciudadano: Descontaminación de suelos contaminados, EUA,
- Lihue Ingeniería, Diciembre 2003. Numero 32 – Abr/1997 de la Revista Gerencia Ambiental.
- Alexander, m. 1971. microbial ecology. j. Wiley y sons. USA.
- Williams, S.T. Goodfellow,m. and Alderson, g.: génes streptomyces waksman and henrici 1943, 339 al, 2452-2492. in: s. t. Williams, m. e. sharpe. j. g. holt (ed), bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 4. Williams y wilkins, Baltimore, 1989.
- EPA. 1983. Hazardous Waste land treatment. Municipal Environmental Research Laboratory . Office of Research and Development. U.S.A. Cincinnati, Ohio.
- Saval, b. s. 1995. Acciones para la remediación de suelos en México. Segundo minisimposio internacional sobre contaminantes del agua y suelo. Instituto de ingeniería. UNAM.

- Tölgyessy, j. 1993. Chemistry and Biology of Water, Air and Soil Environmental aspects. Elsevier. Czechoslovakia.
- Jury, W. A. 1989. Chemical Movement Through Soil. Vadose Zone Modeling of Organic Pollutants. Stephen C. Hern, Susan M.
- Chappin, R. G- y L. R. Summerlin. 1988. Química. Publicaciones Cultural. México.
- PEMEX. 1988. El Petróleo. Gerencia de Información y Relaciones Públicas. México.
- Bedair, H. M. y H. T. Al-Saad. 1992. Dissolved and Particulate Adsorbed Hydrocarbons in Water of Shatt Al-Arab River, Iraq. Water, Air, Soil Pollution. 61:397-408.
- Bidleman, T. F. ; A. A. Castleberry; W.T. Foreman; M.T. Zaransk & D. W. Wall. 1990. Petroleum Hydrocarbons in the Surface Water of Two Studies in the Southeastern United States. Est. Coast Shelf Science. 30:91-109.
- Chiou, C. T.; S. E. McGroddy y D. E. Kile. 1998. Partition Characteristics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons on Soil and Sediments. Environmental Science Technology. Vol. 32(2):264-269. Mexico.
- Gessner. G. Hawley. 1975. Diccionario de Química y de productos químicos. Ediciones. OMEGA, Barcelona.

Diario Oficial de la Federación. 1996. Decreto que reforma, adiciona y deroga diversas disposiciones de la Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente. Viernes 13 de diciembre: 5-36.

Díaz, D. M. 1995. El Régimen Jurídico Ambiental del Subsuelo en México.

Gutiérrez, E. M. 1990. Los residuos sólidos peligrosos: ¿ Un riesgo sin solución?.  
Ciencias. No. 20 UNAM

SEMARNAT, 2002. Comunicación Personal con Personal de la Dirección General de Manejo Integral de Contaminantes.

Saval, s. 1998. Biorremediación de suelos y acuíferos. Situación actual y perspectivas en México. Sociedad mexicana de biotecnología y bioingeniería, a.c. vol. 3, pp. 71-76.

Zechendorf, B. 1999. Sustainable Development: How Can Biotechnology Contribute?. Tibtech. 17, pp. 219-225.

Jackson, M. L. 1964. Análisis Químico de Suelos. Traducción al español de J. Beltrán. Omega Barcelona, España.

Richards. L. A. 1990. diagnóstico y rehabilitación de suelos salinos y sódicos. 6<sup>a</sup> ed.,  
departamento de Agricultura de Estados Unidos de América Limusa. México,  
D.F.

Burmeier H. 1998. bioremediation of soil. In kassem A. and P. naminpieri.  
Methods in applied soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press.  
London Inglaterra.

SEMARNAT, 1996. Los suelos de Tabasco Restauración, Conservación y Uso.  
Gobierno Constitucional del Estado de Tabasco.

Luthy, R. G., G. R. Aiken, M. L. Brusseau, S. D. Cunningham, P. M. Gschwend, J. J.  
Pignatello, M. Reinhard, S. J. Traina, W.J. Weber Jr. & J. C. Weatall. 1997.  
Sequestration of Hydrophobic Organic Contaminants by Geosorbents.  
Environmental Science & Technology. 31:3341-3347.

SARH, Subdirección de Agrología, 1985. Interpretaciones Agronómicas del Suelo s.  
23-24.

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

Etchevers, B. J. D., W. Espinosa G., E. Reiquelme. 1971 Manual de fertilidad y Fertilizantes. 2<sup>a</sup> ED. Corregida. Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía, Chillan, Chile.