

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



**EVALUACION DE PRETRATAMIENTOS FISICOQUIMICOS EN LA
BIODEGRADACION DE HIDROCARBUROS DE PETRÓLEO EN SUELO
DE LA EX – REFINERIA 18 DE MARZO AZCAPOTZALCO MEXICO D.F..
P O R**

CÉSAR CASTELLANOS GONZÁLEZ

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER

EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN PROCESOS AMBIENTALES

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.

DICIEMBRE DE 2010

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISION DE CARRERAS AGRONOMICAS

EVALUACIÓN DE PRETRATAMIENTOS FISICOQUIMICOS EN LA BIODEGRADACION DE HIDROCARBUROS DEL PETRÓLEO EN SUELOS DE LA EX REFINERÍA 18 DE MARZO, AZCAPOTZALCO, MÉXICO, D. F.

TESIS DEL C. CESAR CASTELLANOS GONZALEZ, QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL COMITÉ PARTICULAR DE ASESORÍA Y APROBADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN PROCESOS AMBIENTALES

APROBADA POR:

ASESOR PRINCIPAL:


DR. HÉCTOR MADINAVEITIA RÍOS

COASESOR :


MC. MIGUEL ANGEL URBINA MARTINEZ

COASESOR:


MC. EDGARDO CERVANTES ALVAREZ

COASESOR:


DR. JOSE LUIS REYES CARRILLO


M. C. VICTOR MARTÍNEZ CUETO


Coordinación de la División de Carreras Agronómicas

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

TORREÓN, COAHUILA

DICIEMBRE DE 2010

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISION DE CARRERAS AGRONOMICAS

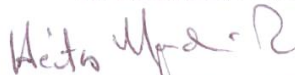
EVALUACIÓN DE PRETRATAMIENTOS FISICOQUIMICOS EN LA BIODEGRADACION DE HIDROCARBUROS DEL PETRÓLEO EN SUELOS DE LA EX REFINERÍA 18 DE MARZO, AZCAPOTZALCO, MÉXICO, D. F.

TESIS DEL C. CESAR CASTELLANOS GONZALEZ, QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACION DEL H. JURADO EXAMINADOR Y APROBADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:

INGENIERO EN PROCESOS AMBIENTALES

APROBADA POR:

PRESIDENTE:



DR. HÉCTOR MADINAVEITIA RÍOS

VOCAL:



MC. MIGUEL ANGEL URBINA MARTINEZ

VOCAL:



MC. EDGARDO CERVANTES ALVAREZ

VOCAL:



DR. JOSE LUIS REYES CARRILLO



M.C. VÍCTOR MARTÍNEZ CUETO



Coordinación de la División de Carreras Agronómicas

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

AGRADECIMIENTOS

A Dios: Primeramente, creador del universo y dueño de mi vida que me permite construir otros mundos mentales posibles. Antes y sobre todas las cosas, por darme salud, por cuidar y guiarme por buen camino. Además haberme permitido llegar hasta este momento tan especial de mi vida, para lograr mis objetivos.

A mis padres: aquellos incansables padres que desde que era pequeño me han guiado y acompañado en los momentos en que más los he necesitado.

A mis hermanos (as): que son mis ojos y no puedo sino darle las gracias por el tiempo, por entender las veces en que no pude estar con ellos, pero sobre todo por el inmenso amor que siento de su parte.

A mi Universidad “ALMA TERRA MATER”: que siempre llevaré su nombre en alto, por la oportunidad que me brindó en formarme como profesionalista al culminar satisfactoriamente mis estudios.

Con todo respeto al Dr. Héctor Madinaveitia Ríos, por su disposición permanente e incondicional en aclarar mis dudas y por sus substanciales sugerencias durante la redacción de esta tesis, ya que su esfuerzo y dedicación, sus conocimientos, sus orientaciones, su manera de trabajar, su persistencia, su paciencia y su motivación han sido fundamentales para mi formación como profesionalista.

Al:MC, Edgardo Cervantes Álvarez por su cariño y buena voluntad, pero sobre todo por su valiosa y fundamental ayuda y colaboración..

Dr. José Luis Reyes Carrillo., por su apoyo que me brindó, sus consejos, su amistad y sobre todo por el hecho de compartir sus conocimientos y su valiosa participación en este trabajo.

Al MC, Miguel Ángel Urbina Martínez por su amistad, consejos y por su participación y apoyo incondicional, así como en sus observaciones críticas en la redacción de este trabajo.

También me gustaría agradecer los consejos recibidos a lo largo de toda la carrera por otros profesores que de una u otra manera han aportado su granito de arena para mi formación, en especial a los del departamento de Biología

A todos ellos les agradezco su trato humano y su visión crítica de muchos aspectos cotidianos de la vida, que ayudan a formarnos como persona y como profesionalistas.

Agradezco también a mi gran amigo **Celedonio Cipriano Bautista Fabián**, por su gran amistad, apoyo, y consejos que en todo momento me brindó; de igual manera a mi novia por su exigencia, ayuda y admiración.

A mis amigos (as) Merari, Lucia, Maximino, Carina y Apolo por su amable confianza e incondicional apoyo que me brindaron durante el lapso de la realización de esta tesis.

DEDICATORIAS

En especial a mí madre querida, **Esperanza Castellanos González** y mi **abuelito Pedro Juan Castellanos González**, desde la niñez me estuvieron enseñando como era el mundo y por todos los buenos deseos, consejos y apoyo que me brindaron y que siempre lo harán, me han enseñado a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi perseverancia, mi empeño y todo ello con una gran dosis de amor y sin pedir nunca nada a cambio; ellos me llenaron por dentro para conseguir un equilibrio que me permitió dar al máximo de mí, GRACIAS PAPÁS, “los quiero con todo mi corazón”, todo mi trabajo va dedicado a ustedes.

Amís Hermanos(as).

Jhoni, Rodolfo, Serafín, Yaneth, América, Ivon, Belem, Macaria y Patricia por su comprensión, por su paciencia y el gran apoyo que me dieron siempre los voy a querer en las buenas y en las malas.

INDICE

AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIAS.....	iii
INDICE DE CUADROS Y FIGURAS.....	vi
RESUMEN.....	vii
1.- INTRODUCCION.....	1
2. JUSTIFICACION.....	3
3. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	4
3.1. Objetivo general.....	4
3.2. Objetivos específicos.....	4
3.3. Hipótesis.....	4
4.- REVISION DE LITERATURA.....	5
4.1. Tecnologías para la remediación de suelos.....	5
4.2. El proceso de composteo.....	7
4.3. Etapas de composteo.....	8
4.4. El composteo aplicado a la biorremediación de suelos.....	9
4.5. Condiciones del proceso del composteo.....	11
4.6. Ventajas y desventajas del composteo.....	12
4.7 Suelos intemperizados y pretratamientos.....	16
5. MATERIALES Y METODOS.....	20
5.1 Ubicación del área de estudio.....	20
5.2 Preparación del suelo.....	20
5.3 Pretratamientos fisicoquímicos.....	20
5.4. Formulación de la composta.....	22
5.5. Preparación de las unidades experimentales (biopilas).....	23
5.6. Variables evaluadas.....	24
5.7 Humedad.....	24
5.8. Actividad del agua.....	25
5.9. pH.....	25

5.10 Conductividad eléctrica.....	25
5.1.1. Determinación de cenizas.....	25
5.1.2. Determinación de hidrocarburos totales de petróleo (HTP)	26
5.1.3 Análisis respirométrico.....	27
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
6.1. Actividad del agua y humedad.....	28
6.2. pH.....	29
6.3. Conductividad eléctrica.....	30
6.4. Cenizas.....	31
6.5. Respirometría	32
6.6. Degradación de hidrocarburos	34
7. CONCLUSIONES	36
8 RECOMENDACIONES	37
9. BIBLIOGRAFIA CITADA.....	38

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadros		Paginas
Cuadro 1	Parámetros a considerar y sus rangos óptimos durante un proceso de composteo para el tratamiento de suelos contaminados por compuestos orgánicos	11
Cuadro 2	Aditivos e inóculo utilizados para la degradación de HAP.	15
Cuadro 3	Aporte de nutrientes por aditivo adicionado para cada biopila	22
Cuadro 4	Cantidad de aditivos por biopila	23
	Consumo total de oxígeno después de 100 días de tratamiento y velocidades iniciales de consumo de oxígeno con los diferentes tratamientos	33
Figuras		Paginas
Figura 1	Representación esquemática de la celda de vidrio utilizada para el tratamiento electroquímico	21
Figura 2	Sistema experimental (biopilas)	24
Figura 3	Demostración de una biopila antes de ser el tratamiento por composteo	24
Figura 4	Cinéticas de humedad de las biopilas durante el proceso de composteo	28
Figura 5	Actividad de agua para las biopilas durante el composteo	28
Figura 6	Valores de pH registrados en las biopilas durante 100 días	30
Figura 7	Cambios en la conductividad eléctrica (CE) en función de los pretratamientos durante el proceso de composteo	30
Figura 8	Contenido de sales en las unidades experimentales durante 210 días	32
Figura 9	Cinéticas de consumo de oxígeno de las biopilas durante 100 días de tratamientos	33
Figura 10	Velocidades de consumo de oxígeno durante 100 días de tratamiento biológico	33
Figura 11	Biodegradación de HTP después de 207 días de composteo (tratamiento biológico) en función de los diferentes tratamientos de suelos	35

RESUMEN

En el estado de México, la ex – refinería 18 de Marzo Azcapotzalco México D. F. donde la empresa mexicana PEMEX (Petróleos Mexicanos), donde se llevó a cabo el proceso, se almacenaban millones de toneladas de petróleo crudo, el derramamiento de estos derivados del petróleo afectaron al suelo.

El abandono de sitios históricamente contaminados por hidrocarburos, provoca que los contaminantes se vuelvan inaccesibles (no biodisponibles) para los microorganismos. Estos suelos son conocidos como suelos intemperizados, los cuales se caracterizan por la acumulación y persistencia de los contaminantes. Para biorremediar este tipo de suelos, es necesario favorecer previamente la desorción de los contaminantes mediante la aplicación de uno o varios pretratamientos fisicoquímicos.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de diferentes pretratamientos fisicoquímicos sobre la biodegradación de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) en un suelo.

Fueron 36 kg de suelo contaminado con HTP ($52,000 \pm 5,000$ mg/kg), fue dividido en 4 partes; de éstas una se utilizó como control sin tratar y a las tres restantes se les aplicó diferentes tratamientos para desorber los HTP: (i) surfactante (Tween 80, 0.83 g tween/Kg de suelo, 24 horas); (ii) tolueno (4.3g de tolueno/Kg de suelo, 24 horas); (iii) electroquímico (1.75 mA/cm², 6 horas). Posteriormente, con el fin de obtener un balance de nutrientes apropiado y para favorecer la biodegradación se composteó, para ello cada parte de suelo tratado fue adicionada con compuestos orgánicos de fácil asimilación y agentes de volumen (bagazo de caña, bagazo de zanahoria, estiércol de caballo, y composta estable), para construir 4 biopilas (25 kg). Las biopilas se mantuvieron a temperatura ambiente durante 7 meses, y cada 20 días se analizó la concentración de HTP, la humedad, la conductividad, el pH y las cenizas.

Una muestra de cada biopila fue utilizada para cuantificar el consumo de O₂ en línea por respirometría. aunque la información sobre la biorremediación de suelos intemperizados es escasa, existen algunos estudios (UAM, 2001) que reportan valores de degradación de HTP entre 16 y 20 % en 60 días en un suelo con una concentración inicial de 80,000 ppm sin pretratar. En el caso de suelos no intemperizados se han reportado valores de degradación de HTP por composteo hasta de 60% (10,200 ppm) en 100 días.

En el presente estudio se obtuvieron niveles de degradación significativamente mayores en las biopilas tratadas fisicoquímicamente, con respecto al control. Lo que demuestra que uno de los fenómenos que limita la biorremediación de este tipo de suelos, es la baja biodisponibilidad de los contaminantes.

Se demostró que el uso de pretratamientos fisicoquímicos para la desorción de HTP en un suelo intemperizado, favorece significativamente su biodegradación por un proceso de composteo. Con base en la biodegradación de los HTP, el pretratamiento más eficiente después de 7 meses de composteo, fue el electroquímico, obteniéndose una degradación de 44%.

Palabras claves: Pretratamientos, fisicoquímicos, biopilas, composteo, intemperizado, respirometría, biorremediación.

1.- INTRODUCCION

En México hay un número considerable de sitios contaminados con hidrocarburos, esto como resultado de fugas o descargas accidentales de petróleo crudo, así como por la disposición de recortes de perforación, lodos aceitosos y aceites lubricantes gastados (Iturbe, *et al.*, 2002) la falta de solución a estos problemas provoca que haya un número considerable de suelos intemperizados, que son aquellos que pasan mucho tiempo contaminados sin tratamiento. Como consecuencia, los contaminantes son inaccesibles para los microorganismos es decir, se encuentran no biodisponibles.

Debido a la baja biodisponibilidad de estos contaminantes es necesario estudiar la aplicación de diferentes pretratamientos fisicoquímicos para incrementar la biodisponibilidad y poder así remediar el suelo (Guerin y Boyd, 1992).

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. Asimismo, con el propósito de establecer un control acerca de las tecnologías que se ofrecen y conocer sus posibilidades reales de éxito, se inició 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. Ello de conformidad con el acuerdo sectorial publicado en el Diario Oficial de la Federación (DOF) del 11 de abril de 1997. Posteriormente, se publicó 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 SEMARNAP 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 está centralizado.

Uno de los métodos de remediación de suelos contaminados con hidrocarburos, consiste en biorremediación con biopilas, que también se conocen como bioceldas, biomontículos o pilas de composteo. El proceso consiste en reducir las concentraciones de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) en los suelos a través de la biodegradación por la acción de diversos microorganismos nativos (Iturbe, *et al.*, 2002).

Un factor importante de la biorremediación, es asegurar que los productos generados no sean tóxicos. Para determinar la toxicidad de un suelo pueden realizarse bioensayos ecotoxicológicos que son una medida del impacto a los ecosistemas a través de las respuestas ocasionadas en los organismos ante su exposición a los agentes contaminantes, incluyendo alteraciones en el metabolismo, crecimiento, reproducción, mortalidad o daño genético. La información obtenida a partir de las pruebas ecotoxicológicas puede emplearse para evaluar la eficiencia de las tecnologías de remediación aplicada sobre el mismo (Sztern y Pravia, 1999).

2. JUSTIFICACION

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 HTP y los HAP, lodos 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 (SEMARNAT 2002).

En este trabajo se plantea la utilización de diferentes pretratamientos fisicoquímicos que serán utilizados para desorber los hidrocarburos totales de petróleo en un suelo intemperizado y de esta manera asegurar su biodisponibilidad para los microorganismos, permitiendo su biodegradación. Permitiendo evaluar el efecto de los diferentes pretratamientos fisicoquímicos sobre la degradación de los hidrocarburos de petróleo en un suelo intemperizado.

3. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

3.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de diferentes pretratamientos fisicoquímicos sobre la biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo presentes en un suelo intemperizado realizada en la ex – refinería 18 de Marzo Azcapotzalco México D.F.

3.2. Objetivos específicos

- ❖ Formular la composición de la composta
- ❖ Evaluar la biodegradación de los hidrocarburos totales de petróleo (HTP) en un suelo intemperizado por efecto de diferentes pretratamientos fisicoquímicos

3.3. Hipótesis

La aplicación de diferentes pretratamientos fisicoquímicos incrementan la biodegradación de HTP presentes en un suelo intemperizado.

4.- REVISION DE LITERATURA

4.1. Tecnologías para la remediación de suelos

El comportamiento de un contaminante en el suelo, así como la efectividad de una tecnología de remediación, están determinadas por una variedad de factores que interactúan de manera compleja y que dependen de las características propias del contaminante (Volke y Velasco, 2002). En México existe un total de 86 empresas con registro federal, autorizadas para la restauración de suelos contaminados. De las tecnologías que ofrecen las empresas que cuentan con permisos para remediar suelos contaminados, el 54 % son tecnologías de remediación biológicas (biorremediación), el 42 % son tecnologías fisicoquímicas y solo el 4 % son empresas que realizan otro tipo de tratamientos (SEMARNAT. 2003).

Las tecnologías fisicoquímicas estas tecnologías, utilizan las propiedades físicas y/o químicas de los contaminantes o del medio contaminado para destruir, separar o contener la contaminación. Dentro de estas tecnologías se encuentran: la remediación electrocinética, lavado de suelo, extracción de vapores, estabilización y la separación física

Las tecnologías térmicas Para los tratamientos térmicos, se utiliza calor para incrementar la volatilidad (separación), de los contaminantes en un suelo. Algunas de estas tecnologías que utilizan calor son desorción térmica, incineración, vitrificación y pirólisis. (Semple *et al.*, 2001).

El uso de tecnologías de biorremediación para el tratamiento de sitios contaminados es relativamente reciente y presenta varias ventajas respecto de los métodos físico-químicos tradicionales (Eweis *et al.*, 1998).

- 1.- bajos costos de instalación y operación;
- 2.- es una tecnología simple y de fácil aplicación;
- 3.- es un tratamiento seguro con un mínimo de riesgos a la salud
- 4.- es tecnológicamente efectivo.

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).

La aceptación de la biorremediación como una estrategia de limpieza viable depende, en muchos casos, 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. 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 estrategias más empleadas se encuentran:

- (i) Bioestimulación. Implica la adición de oxígeno y/o nutrientes al suelo contaminado con el fin de estimular la actividad de los microorganismos autóctonos y con ello la biodegradación de los contaminantes (Van Deuren *et al.* 1997)
- (ii) Bioaugmentación. Consiste en la adición de microorganismos vivos que tienen la capacidad de degradar el contaminante en cuestión y así promover su biodegradación o biotransformación (Riser-Roberts 1998)
- (iii) Biolabranza. El suelo contaminado se mezcla con agentes de volumen y nutrientes, y se remueve (labra) periódicamente para favorecer su aireación. Durante la biolabranza, el suelo contaminado se mezcla con suelo limpio (Van Deuren *et al.* 1997).
- (iv) Bioventeo. Consiste en estimular la biodegradación aerobia de un contaminante por medio del suministro de aire en el sitio contaminado (Van Deuren *et al.*, 1997)
- (v) Fitorremediación. Es un proceso que utiliza plantas para remover, transferir, estabilizar, concentrar y/o destruir contaminantes (orgánicos e inorgánicos)(Van Deuren *et al.*, 1997).
- (vi) Biorreactores. Es la tecnología más adecuada para casos en que los peligros potenciales de descargas y emisiones sean serios. Permite la combinación controlada y eficiente de procesos químicos, físicos y

biológicos, que mejoran y aceleran la biodegradación (Riser-Roberts 1998)

4.2. El proceso de composteo

El composteo es un proceso comúnmente utilizado para el tratamiento de residuos agrícolas, sólidos municipales y de lodos (Potter, 1999). Desde hace unos 5 años, investigaciones han demostrado que el proceso de composteo, así como el uso de composta madura, es una solución de bajo costo y tecnológicamente efectiva para la biorremediación de suelos contaminados por residuos orgánicos peligrosos como hidrocarburos totales de petróleo (HTP), solventes, explosivos, pesticidas, e hidrocarburos poliaromáticos (HAP) (Velasco y Volke, 2003).

El proceso de composteo se puede definir como una técnica donde es posible ejercer un control sobre los procesos de biodegradación de la materia orgánica. La biodegradación es consecuencia de la actividad de los microorganismos que crecen y se reproducen en los materiales orgánicos en descomposición. La consecuencia final de estas actividades vitales es la transformación de los materiales orgánicos originales en otras formas químicas menos tóxicas. Los productos finales de esta degradación dependerán del tipo de metabolismo y de los grupos microbianos que hayan intervenido (Sztern y Pravia, 1999).

En una pila de material en composteo, si bien se dan procesos de fermentación en determinadas etapas y bajo ciertas condiciones, lo deseable es que prevalezcan los metabolismos respiratorios de tipo aerobio, tratando de minimizar los procesos fermentativos y las condiciones anaerobias, ya que los productos finales de este tipo de metabolismos no son adecuados especialmente para una posible aplicación agronómica posterior y conducen a la pérdida de nutrientes.

Lo importante no es biodegradar, sino poder conducir esta biodegradación por rutas metabólicas que permitan la obtención de un producto final lo más apropiado posible, en el menor tiempo posible. El éxito de un proceso de composteo, dependerá entonces de aplicar los conocimientos de la

microbiología, manejando el proceso de composteo como un medio de cultivo (EPA 1998).

A lo largo de la historia, se han empleado distintos procedimientos en la producción de composta que han generado numerosas publicaciones de divulgación con diferentes enfoques, posiblemente debido al desconocimiento de los mecanismos íntimos del proceso. Actualmente, se conoce la base científica de este proceso, por lo que puede llevarse cabo de una forma controlada (Sztern y Pravia 1999).

4.3. Etapas de composteo

El composteo se caracteriza por el predominio de los metabolismos respiratorios aerobios y por la alternancia de etapas mesotérmicas (10-40°) con etapas termogénicas (40-75°), y con la participación de microorganismos mesófilos y termófilos respectivamente.

Las elevadas temperaturas alcanzadas, son consecuencia de la relación superficie/ volumen de las biopilas y de la actividad metabólica de los diferentes grupos fisiológicos participantes en el proceso, que a continuación se detallan (Dosoretz *et al.*, 2003).

Etapas de latencia: es la etapa inicial, considerada desde la conformación de la pila hasta que se registran incrementos de temperatura, con respecto a la temperatura del material inicial. La duración de esta etapa es muy variable, y depende de numerosos factores

Etapas mesotérmicas¹ (10-40°C): en esta etapa, se destacan las fermentaciones facultativas de la microflora mesófila, así como las oxidaciones aeróbicas (respiración aeróbica). Mientras se mantienen las condiciones de aerobiosis, actúan actinomicetos (aerobios estrictos). La etapa mesotérmica es particularmente sensible al binomio óptimo humedad-aireación. La actividad metabólica incrementa paulatinamente la temperatura. La falta de disipación del calor produce un incremento aún mayor y favorece el desarrollo de la microflora termófila que se encuentra en estado latente en los residuos. La

duración de esta etapa es variable y depende también de numerosos factores (EPA 1998; Madigan *et al.*, 1998).

Etapa termogénica (40-75 °C): la microflora mesófila es sustituida por la termófila debido a la acción de bacilos y atinomicetos termófilos, entre los que también se establecen relaciones del tipo sintróficas. Normalmente en esta etapa, se eliminan todos los mesófilos patógenos, hongos y esporas.

Etapa mesotérmica 2 con el agotamiento de los nutrientes, y la desaparición de los microorganismos termófilos, comienza el descenso de la temperatura. Cuando la misma se sitúa aproximadamente a temperaturas iguales o inferiores a los 40°C, se desarrollan nuevamente los microorganismos mesófilos que utilizarán como nutrientes los materiales más resistentes a la biodegradación. Esta etapa se conoce generalmente como etapa de maduración. La temperatura descenderá paulatinamente hasta presentarse valores cercanos a la temperatura ambiente. En estos momentos se dice que el material se encuentra estable biológicamente y se da por culminado el proceso.

4.4. El composteo aplicado a la biorremediación de suelos

Los procesos de composteo pueden aplicarse para tratar suelos y sedimentos contaminados con compuestos orgánicos biodegradables. El composteo se ha usado con éxito, para la remediación de suelos contaminados con clorofenoles, gasolinas, HTP, HAP, y se ha demostrado también una reducción en la concentración y toxicidad de explosivos hasta niveles aceptables (Van Deuren, *et al.*, 1997; Semple *et al.*, 2001).

Existen varios sistemas de composteo para la biorremediación de suelos contaminados, no obstante el objetivo de todos es el mismo, la degradación de residuos contaminantes orgánicos o residuos peligrosos por la acción de diversos microorganismos presentes. Algunos de estos sistemas son:

Biopilas mezcladas

Es un sistema de composteo sencillo que consiste en largos montículos alineados en paralelo sobre una superficie predeterminada y expuesta hacia la superficie. Antes de iniciar los pretratamientos se adiciona a la biopila los nutrientes necesarios, mezclándose para lograr la homogeneidad que permita la degradación. Durante el proceso es importante mantener la temperatura interior generada por el calor metabólico, así como la distribución adecuada de aire, agua, nutrientes y contaminantes, para ello la composta se mezcla manual o mecánicamente dependiendo de la actividad microbiana (Eweis *et al.*, 1998).

Biopilas estáticas

A diferencia de las anteriores, las biopilas estáticas no necesitan mezclarse mecánicamente, ya que la aireación y homogeneización del calor en la composta se lleva a cabo por medio de un sistema de inyección (compresor) o extracción (vacío) de aire, mediante tubos colocados en la base alineados paralelamente a lo largo de la pila. En las biopilas estáticas, normalmente se emplea un sistema de extracción de aire, ya que ello permite la captura de los vapores de cierta fracción de compuestos orgánicos volátiles que llegan a ser removidos del suelo contaminado durante el proceso de aireación. Estos vapores son enviados a un sistema de biofiltración u oxidación catalítica para su tratamiento (Eweis *et al.*, 1998).

Reactores cerrados

Es el diseño que se emplea con menor frecuencia a pesar de sus notables ventajas en el control de procesos. La mezcla de la composta es adicionada dentro de un reactor donde se permite la aireación y la homogeneización constante. El reactor permite control de emisiones al aire en el caso particular de compuestos orgánicos volátiles y de los olores desagradables que pueden en algún momento reciclarse o tratarse separadamente. Otra característica importante de este tipo de biopila es que no está expuesta a la atmósfera y por tanto la disipación de calor es mínima, manteniendo temperaturas estables así como el contenido óptimo de humedad (Eweis *et al.*, 1998).

4.5. Condiciones del proceso del composteo

Usualmente, una biopila de composteo necesita agentes de volumen para mejorar la estructura de la biopila, incrementando la porosidad y permitiendo una mejor biodisponibilidad de oxígeno. Por esta razón es deseable el uso de agentes de volumen con la capacidad de retención de agua, los cuales mantienen un contenido de humedad adecuado (Eweis *et al.*, 1998), así como mantener los nutrientes necesarios para estimular la actividad microbiana.

Las condiciones óptimas y el éxito de un proceso de composteo depende de diversos parámetros, los cuales pueden resumirse en tres categorías: las características del suelo, las condiciones climáticas y las características de los contaminantes. Los parámetros que deben considerarse y controlarse para aumentar la eficiencia de un proceso de composteo se resumen en la Cuadro 1 (Velasco y Volke, 2003).

Cuadro 1. Parámetros a considerar y sus rangos óptimos durante el proceso de composteo para el tratamiento de suelos contaminados por compuestos orgánicos*.

Parámetro	Rango óptimo
Humedad	40 -85%; 50 - 80% de la capacidad de campo
pH	6- 8; con un óptimo de 7
Relación de nutrientes(C:N:P:K)(a)	100: (3.3-10): (0.5-1): (0.1-1)
Relación C/N; C/P; C/K (b)	10 - 30; 100 - 200; 100 – 1000
Relación suelo:aditivos(peso seco)	1.5:1 a 3:1
Temperatura	25-35°C
Contaminantes (s)	> 50,000 mg/kg
Metales tóxicos	>2,500 mg/kg
Cuenta bacteriana	>1,500 UFC © /g suelo seco

(a) C:N:P:K se refiere al contenido (en peso) de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K), en relación con 100 partes (en peso) de carbono (C)

(b) (b) C/N, C/P y C/K se refieren a las relaciones (en peso) de cada elemento relativas al carbono (c) UFC: unidades formadoras de colonias.*De acuerdo a Velazco y Volke (2003).

4.6. Ventajas y desventajas del composteo

La técnica del composteo puede aplicarse para tratar suelos y sedimentos contaminados por compuestos orgánicos biodegradables. Este tipo de sistemas se ha usado con éxito para la remediación de suelos contaminados por pentaclorofenol (PCP), gasolinas, HTP e HAP. Se ha demostrado también, que es posible reducir la concentración y toxicidad de algunos explosivos (TNT) hasta niveles aceptables (Van Deuren *et al.* 1997 Semple *et al.* 2001).

Ventajas.

Algunas de las principales ventajas que presentan los sistemas de composteo y en general las tecnologías de biorremediación

- ❖ Son sistemas económicamente factibles, comparados con las tecnologías térmicas y fisicoquímicas tradicionales..
- ❖ Son tecnologías relativamente simples, comparadas con la mayoría de las tecnologías tradicionales.
- ❖ El diseño y construcción de las biopilas son relativamente sencillos.
- ❖ Pueden considerarse estrategias efectivas y ambientalmente “amigables”, ya que biotransforman parcial o totalmente los contaminantes en biomasa y productos estables e inocuos.
- ❖ El objetivo del composteo es la biodegradación (destrucción) y detoxificación de contaminantes, mientras que otras tecnologías, como la adsorción en carbón activado, el lavado, el confinamiento y solidificación /estabilización, únicamente transfieren los contaminantes de un medio a otro. Una consecuencia común de la actividad microbiana es la destoxificación de químicos tóxicos.
- ❖ El suelo biorremediado con el uso de sistemas de composteo, no necesita ser confinado posteriormente.

Desventajas

- ❖ Está limitado a contaminantes orgánicos.
- ❖ Concentraciones muy altas de contaminantes pueden resultar tóxicas e inhibir la biodegradación. En el caso de hidrocarburos (HTP), es recomendable que la concentración no exceda 50,000 ppm. Por otra parte, concentraciones de metales pesados mayores a 2,500 ppm pueden inhibir el crecimiento microbiano.
- ❖ Una disminución en la actividad microbiana provoca una disminución en la degradación y aumenta el periodo del tratamiento. Por ello, el éxito del proceso depende de la capacidad para crear y mantener las condiciones ambientales necesarias para el crecimiento microbiano.
- ❖ Existe el riesgo de que ciertos compuestos originalmente inocuos, puedan ser convertidos en productos tóxicos para una u otra especie.
- ❖ Es necesario contar con un espacio adecuado para montar los sistemas.
- ❖ El suelo contaminado debe excavarse, lo que puede provocar la liberación de compuestos orgánicos volátiles.
- ❖ El arrastre de vapores durante el proceso de aireación requiere de tratamiento antes de descargar a la atmósfera.
- ❖ Existe un incremento volumétrico del material a tratar por la adición de los agentes de volumen. Sin embargo, este problema queda solucionado con el tiempo de tratamiento.
- ❖ En general, los procesos de biorremediación requieren mayor tiempo de tratamiento que los físicos y químicos.

Sin embargo, se tienen reportes de investigaciones a nivel laboratorio, piloto y a gran escala, en los que se ha demostrado que el proceso de composteo es efectivo para biorremediar suelos contaminados por residuos orgánicos peligrosos como HTP, solventes, explosivos, pesticidas, HAP (Eweis *et al.*, 1998; Semple *et al.*, 2001).

Iturbe *et al.*, (2002), biorremediaron por composteo un suelo in situ, contaminado por HTP, HAP y MTBE, de la refinería de una zona costera de México (Francisco I. Madero). La concentración de hidrocarburos presentes en este suelo era de 35 000 ppm., el proceso de composteo se llevó a cabo por medio de una biopila estática, con un sistema de aireación, los nutrientes se

aplicaron de manera que se cumpliera la relación carbono:nitrógeno:fósforo de 100:15:1. Encontraron que después de 22 semanas (154 días), la remoción promedio de los HTP fue de 81 %, mientras que los HAP no fueron detectados después de este periodo. Ellos concluyen que la biopila construida con suelo contaminado por HTP tuvo una buena remoción en poco tiempo. La aireación durante 20 minutos diarios así como las cantidades de nitrógeno y fósforo fueron las adecuadas. Por lo que ellos mencionan que las biopilas son un método técnico y económicamente adecuado para remediar suelos contaminados con hidrocarburos.

Chino *et al.*, (1999), compostearon un suelo contaminado por HTP, localizado en el desierto de Kuwait en quince meses. Utilizaron tres técnicas para la biorremediación de este suelo:

- a) “Landfarming”: con 1,500 m³ de suelo con una contaminación ligera de HTP (1.87 %).
- b) Pilas mezcladas: con 500 m³ de suelo con una contaminación moderada de HTP (3.94 %).
- c) Pilas estáticas: con 250 m³ de suelo con una contaminación ligera de HTP (1.87 %).

Observaron que la tasa de degradación en el sitio donde se utilizó la técnica de “Landfarming” fue la más alta, en comparación con las otras dos técnicas utilizadas (pilas), considerando solamente los meses iniciales. Después de 15 meses, cerca del 80 % del total de los HTP fueron degradados por la técnica de “Landfarming”, mientras que en el caso de las pilas (estáticas y mezcladas), se degradó un 75 %. Aunque los hidrocarburos alifáticos y aromáticos fueron degradados, las resinas y asfáltenos permanecieron sin degradación. Los análisis cromatográficos mostraron una disminución en los alifáticos saturados principalmente; mientras que los HAP de 3 anillos fueron degradados, los de 4 a 5 anillos fueron degradados después de 6 semanas y 50 % de los HAP de 6 anillos fueron degradados después de los 12 meses.

De los tres métodos utilizados, el “Landfarming” resultó un método que requiere de más tiempo así como de una mayor cantidad de agua. En el caso de las biopilas mezcladas, que resultó el método más costoso, el costo se generó por la remoción del suelo; la pila estática tiene un costo “bajo” en comparación, pero solo se puede aplicar a suelos con concentraciones de HTP moderadas.

Potter *et al.*, (1999), compostearon un suelo contaminado con HAP, provenientes de Reilly y de una empresa química en el parque de San Luis, Minnesota. Utilizaron 10 reactores (208 litros (L)) de acero inoxidable, controlados para mantener las condiciones requeridas (relación C:N:P de 100:5:1, aireación de 10 L/min), para llevar a cabo un estudio de tratabilidad en los suelos contaminados. La concentración inicial de HAP fue entre 17,000 y 45,000 ppm. Cada reactor contenía aproximadamente 100 Kg de una mezcla de suelo:aditivos 70:30. Se propusieron 5 diferentes mezclas de aditivos (Tabla 2).

Cuadro 2. Aditivos e inóculos utilizados para la degradación de HAP (Potter *et al.*, 1999).

Mezcla de aditivos	Inoculo	Degradación de HAP (%)
Nutrientes + maíz	Estiércol de vaca 1%	57.5 ± 1.2
Nutrientes modificados + maíz	Estiércol de vaca 1%	73.5 ± 0.8
Nutrientes + maíz	Lodos activados 1%	62.1 ± 0.7
Nutrientes + maíz	Lodos activados 5%	59.8 ± 11.8
Nutrientes + maíz	Lodos activados estériles 5%	66.5 ± 8.8

Los reactores se muestrearon durante la 1, 2, 4, 8 y 12 semanas del experimento, los resultados que se obtuvieron al realizar los análisis mostraron que ninguno de los tratamientos son significativamente diferentes. Ellos mencionan que con el composteo los niveles de HAP pueden ser reducidos, a través de cualquiera de los pretratamientos ya que reflejan la efectividad del composteo, y de no ser significativamente diferentes entre ellos. Este grupo plantea que es necesario incrementar la remoción de HAP de 5 y 6 años, así como aumentar la remoción total de las HAP:

Abiola *et al.*, (1997), remediaron un sitio contaminado con HTP (20,000 ppm) por composteo, durante 100 días. Utilizaron materia orgánica y surfactantes, para disminuir los niveles de concentración de HTP usando dos técnicas: pilas estáticas y pilas mezcladas. Ellos obtuvieron la mayor remoción de HTP en las pilas mezcladas tratadas con surfactante (72 %), y la menor degradación se obtuvo en la biopila mezclada control (43 %). Los autores concluyen que la adición de surfactante ayuda a la remoción de HTP.

Beaudin *et al.*, (1996), biorremediaron por composteo un suelo contaminado por hidrocarburos proveniente de la compañía Imperial Oil, en Sarnia, Ontario, Canadá. El suelo contaminado con hidrocarburos con una concentración inicial de 17,000ppm de los cuales el 40 % correspondía a compuestos alifáticos, 32 % a compuestos polares y 28 % a compuestos aromáticos. Se colocó en reactores de 8 L, se utilizó como fuente de carbono alfalfa y hojas de maple, con el fin de facilitar el crecimiento microbiano y como agente de volumen. La proporción que utilizaron los autores de materia orgánica fue de: 35.4 % de alfalfa, 20.2 % de hojas y 5 % de inoculo (composta estable de 90 días). Los autores obtuvieron 60 % de degradación en aproximadamente 100 días.

Todos los artículos mencionados muestran lo efectivo que puede ser el proceso de composteo para la reducción de la concentración de los hidrocarburos presentes en los suelos contaminados.

4.7 Suelos intemperizados y pretratamientos

En suelos contaminados por largos períodos (suelos intemperizados), los contaminantes llegan a ser inaccesibles (no biodisponibles) para los microorganismos que se desarrollan entre los contaminantes y la materia orgánica del suelo (García *et al.*, 2002). La biodisponibilidad, y por tanto la velocidad de degradación, frecuentemente están limitados por procesos fisicoquímicos, como la sorción y desorción de los contaminantes hacia y desde la matriz de suelo, la difusión en la fase sólida y la disolución de contaminantes en la fase líquida (Bosma *et al.*, 1997). El efecto negativo de estos fenómenos es la acumulación y persistencia de los contaminantes, y depende del tipo y calidad del suelo contaminado (Guerin y Boyd, 1992).

En suelos intemperizados, es necesario facilitar la desorción de los contaminantes mediante la aplicación de uno o varios pretratamientos antes de realizar un proceso de biorremediación (Pollard *et al.*, 1994). Entre las tecnologías más aplicadas para desorber los contaminantes de suelos intemperizados destacan: el uso de solventes no polares (ej. tolueno), el uso de surfactantes no iónicos (Brij 30, Tween 80, Triton X-100, etc.), Extracción de vapores (remoción de volátiles y semivolátiles) y la aplicación de tratamientos electroquímicos (Volke y Velasco 2002; García *et al.*, 2002; Laha *et al.*, 1992; Ko *et al.*, 2000). A continuación se detallan estos pretratamientos:

Tratamiento con surfactantes

El uso de surfactantes no iónicos, es una de las prácticas más comunes y efectivas empleadas en la desorción de compuestos orgánicos hidrofóbicos (COH) (Kotterman *et al.*, 1998; Ghosh, 1997; Guha *et al.*, 1996; Laha, *et al.*, 1992). El objetivo principal del uso de surfactantes, es incrementar la solubilidad de los COH, por medio de una fase micelar (hidrofilica/hidrofobica) que se dispersa en agua, la cual propicia la desorción de los contaminantes del suelo hacia la fase líquida, lográndose un incremento en la biodisponibilidad de los contaminantes. La solubilidad de los contaminantes se lleva a cabo solamente cuando se forma la fase micelar, la cual se crea cuando se tiene una concentración de surfactante por arriba de la concentración micelar crítica (CMC) (Stelmack *et al.*, 1999; Ko *et al.*, 1998).

La eficiencia de desorción de un surfactante, depende del tipo de surfactante, de la dosis empleada, de la hidrofobicidad del contaminante, de la interacción surfactante-suelo y del tiempo de contacto surfactante-suelo (Guha *et al.*, 1996). Sin embargo, la mejor eficiencia de desorción, no está siempre relacionada con la mejor eficiencia de degradación, debido principalmente a que el empleo de una alta concentración de surfactante, puede resultar tóxica para los microorganismos (Laha *et al.*, 1992). Stelmack *et al.*, (1999), demostró, que el uso de surfactantes reduce la adhesión de las bacterias en la superficie hidrofóbica, dando como consecuencia una baja actividad de biodegradación. Sin embargo, para solucionar este tipo de problema, algunos investigadores

recomiendan el uso de surfactantes que sean fácilmente degradables por los microorganismos (Brij 30, Brij 35 y Tween 80) (Ghosh, 1997).

Tratamientos con solventes

La aplicación de solventes se emplea para incrementar la solubilidad de los COH (Catherine *et al.*, 1993). Uno de los solventes que ha recibido más atención es el tolueno. Una de las características principales del tolueno es que es un excelente solvente de compuestos polares y de asfaltenos (Fenistein, *et al.*, 1998) además de ser un compuesto que puede ser asimilado por microorganismos nativos del suelo (Ortiz *et al.*, 2003; García *et al.*, 2002). García *et al.*, (2002), demostraron que la adición de tolueno en suelos intemperizados, tiene un efecto positivo en la desorción de HTP y en la biodegradación de estos compuestos. De acuerdo a sus resultados la adición de 14,000 mg de tolueno/Kg de suelo, incrementó la velocidad de degradación de los HTP de un suelo contaminado con una alta concentración de hidrocarburos (292,000 mg/kg), hasta tres veces más que la del suelo sin tolueno. En 30 días de tratamiento determinaron un 45 % de degradación de HTP en el suelo tratado con tolueno.

Tratamientos electroquímicos

Esta tecnología en los últimos años ha recibido una atención significativa porque involucra los principios de electrocinética para la remediación *in-situ* de sitios contaminados con residuos peligrosos (Shapiro *et al.*, 1993). considerándose una técnica ingenieril emergente para la remediación de suelos contaminados. Se realiza aplicando una corriente eléctrica directa, de baja intensidad a los suelos contaminados para separar y extraer contaminantes orgánicos e inorgánicos del suelo (Jackman *et al.*, 2001). Se ha empleado para mejorar la biorremediación de suelos limosos poco permeables, y favorece el movimiento de bacterias, agua y nutrientes a través del suelo, incrementando así la eficiencia de la biodegradación (Riser-Roberts, 1995). De acuerdo con Jackman, *et al.*, (2001), la aplicación de una densidad de corriente de 3.72 A/m² favorece la migración de los compuestos orgánicos y a su vez estimula el

metabolismo de los microorganismos para la biodegradación de estos compuestos. Loo (1994), estudió un tratamiento biológico in situ, mejorado por un proceso electrocinético, para tratar suelos contaminados con gasolina, diesel y keroseno, el tratamiento consistió en calentar el suelo (38 °C) para promover la biodegradación in situ, al mismo tiempo que se adicionó una solución de nutrientes que se distribuyó en la fracción arcillosa del suelo con el uso del proceso electrocinético. En menos de 6 meses, la concentración de HTP de 2,294 m³ de suelo se redujo hasta 100 ppm.

5. MATERIALES Y METODOS

5.1 Ubicación del área de estudio

La Ex – Refinería 18 de Marzo Azcapotzalco México D.F., se encuentra ubicada en el distrito federal con las coordenadas de 19° 28` 10`` latitud norte y 99° 11` 53`` longitud oeste, a una altura de 185 metros sobre el nivel del mar.

Se empezó a trabajar desde las primeras semanas de julio donde se llevaron a cabo todo el trabajo de experimentación y el proceso que se iba dando en la degradación de los contaminantes.

5.2 Preparación del suelo

Se colectó suelo contaminado con hidrocarburos de petróleo en la (Ex – Refinería 18 de Marzo Azcapotzalco México DF.). El suelo recolectado se tamizó con una malla de N° ocho y se dejó seco a temperatura ambiente. Se determinó la concentración de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) mediante el método EPA 3540 C (extracción sólido-líquido de compuestos orgánicos semivolátiles y no volátiles en suelos y sedimentos USEPA, 1986).

5.3 Pretratamientos fisicoquímicos

El suelo tamizado y seco se dividió en cuatro partes iguales (nueve kilos) y se sometió a diferentes tratamientos fisicoquímicos (electroquímico, tolueno y surfactante y el control).

Pretratamiento electroquímico: los nueve kilos de suelo seco se humedeció con una solución de sulfato de amonio 0.1M hasta humedad del 30 %. El tratamiento electroquímico se realizó en la celda de vidrio (Figura 1), provista de una placa de acero inoxidable recubierta con una capa de titanio. El tratamiento se realizó haciendo pasar una corriente constante de 1.75 mA/cm² durante 6 horas, manteniendo el pH entre 5 y 7.

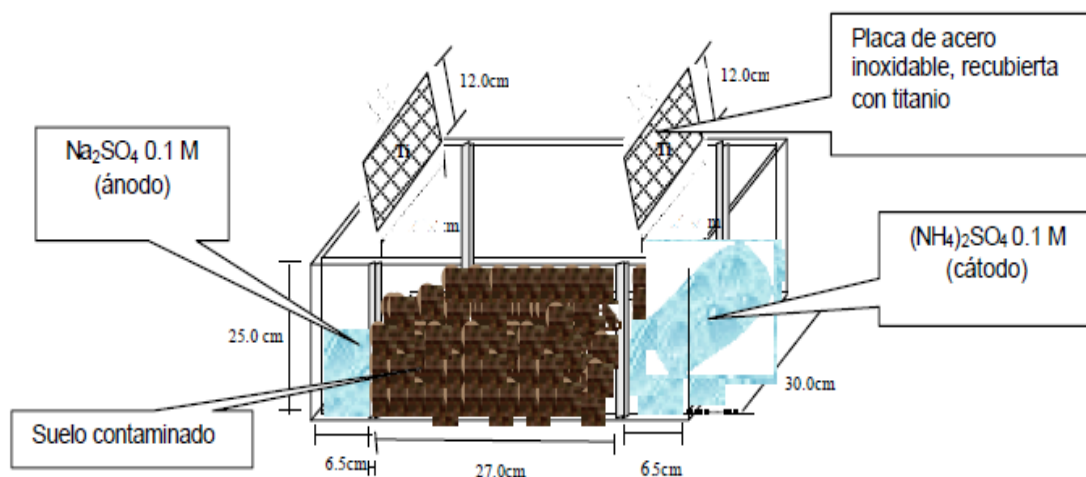


Figura 1. Representación esquemática del la celda de vidrio utilizada para el tratamiento electroquímico.

Para el tratamiento, se utilizó una solución de sulfato de amonio 0.1 M (en el cátodo) y una solución de sulfato de sodio 0.1 M (en el ánodo), para favorecer la migración de los compuestos orgánicos del ánodo hacia el cátodo. Posteriormente el suelo se retiró de la celda, dejándose secar a temperatura ambiente.

Pretratamiento con tolueno. Para llevar a cabo el pretratamiento con tolueno, el suelo se depositó en una bolsa de plástico, para posteriormente adicionar tolueno a una concentración de 0.5 % (v/peso seco). Una vez adicionado el tolueno al suelo, este se homogenizó y se mantuvo dentro de la bolsa durante 24 horas.

Pretratamiento con surfactantes. Se utilizó un surfactante no iónico (Tween 80). Este tratamiento se realizó colocando el suelo contaminado en un recipiente, adicionando una solución de Tween 80 disuelto en agua (2.5 g/L) hasta llegar a una humedad del 30 %. El suelo se mezcló perfectamente con el surfactante y se dejó reposar por 24 horas. Posteriormente el suelo tratado se dejó secar a temperatura ambiente.

5.4. Formulación de la composta

Para mejorar las propiedades físicas del sistema de composteo (porosidad y capacidad de retención de agua), así como para favorecer el balance de nutrientes necesarios para el crecimiento de microorganismos biodegradadores, se adicionó al suelo una mezcla de compuestos orgánicos de fácil degradación como agentes de volumen (aditivos), de esta manera se eligieron los siguientes: a) estiércol de caballo (fuente de microorganismos y sales), b) bagazo de zanahoria (fuente de vitaminas y azúcares), c) composta estable (fuente de microorganismos especializados) y d) bagazo de caña (fuente de porosidad y retención de agua). Además de los aditivos mencionados, se adicionó azúcar a las biopilas con el objeto de ajustar la relación C/N a un valor de 28.

Cuadro 3. Aporte de nutrientes por aditivo adicionado y para cada biopila.

Compuesto	Composición por aditivo (%)				Composición por biopila (g)			
	C	N	P	K	C	N	P	K
Suelo	2.5	0.25	-	-	221.3	22.1	-	-
HTP (50 g/kg)	85	-	-	-	391.2	-	-	-
Composta	30	1.1	1	1.25	337.5	12.4	11.3	14.1
Estiércol de caballo	43	1.6	0.4	2.43	483.8	18.0	4.5	27.3
Bagazo de zanahoria	35	1.9	0.4	-	393.8	21.4	4.5	-
Bagazo de caña	46	1.4	1.23	0.92	517.5	15.8	13.8	10.4
Azúcar	42	-	-	-	176.4	-	-	-
Total (kg)					2521	89.6	34.1	51.8
Balance de nutrientes teóricos (por biopilas).					C/N28; C/P 74: C/K 50			
Balance de nutrientes recomendada.					C/N30: C/P 100:C/K 200			

En el Cuadro 3 se muestra la cantidad teórica de nutrientes aportados por cada agente de volumen adicionado a las unidades experimentales (control, electroquímico, tolueno y surfactante). Cabe mencionar que los porcentajes de cada uno de los aditivos fueron teóricos.

5.5. Preparación de las unidades experimentales (biopilas)

Cada biopila se preparó con aproximadamente 9 kilogramos de suelo seco pretratado y con aproximadamente 4.5 kilogramos (peso seco) de una mezcla de los aditivos antes mencionados (relación suelo:aditivos, 2:1). La mezcla se homogenizó y se colocó en recipientes de plástico, las cuales se identificaron de acuerdo al pretratamiento realizado, i) pretratamiento electroquímico, ii) pretratamiento con surfactante, iii) pretratamiento con tolueno y iv) control (sin pretratamiento). Posteriormente se le agregó agua a cada biopila hasta una humedad de 55 %, homogenizando perfectamente. En el Cuadro 4 se resume la composición y peso final de cada biopila. (Eweis *et al.*, 1998).

Cuadro 4. Cantidad de aditivos por biopilas.

Compuesto	MS (kg)	H (%)	MH (kg)
Suelo	8.85	2	9.03
Composta	1.125	11	1.26
Estiércol de caballo	1.125	66	3.31
Bagazo de zanahoria	1.125	84	7.03
Bagazo de caña	1.125	34	1.70
Azúcar	0.420	0	0.420
Total (kg)	14.2		28.2

MS: Peso del componente en base seca

MH: Peso del componente en base húmeda

H: Porcentaje de humedad.

Las biopilas se mantuvieron en el área de composteo de la Ex- refinería 18 de Marzo Azcapotzalco México D.F. (Figura 2).



Figura 2. Sistema experimental (biopilas).



Figura 3. Demostración de una biopila antes de ser el tratamiento por composteo

5.6. Variables evaluadas

A lo largo del proceso se cuantificó la humedad, actividad de agua, pH, conductividad eléctrica, cenizas, HTP, respirometría. Cada una de las variables se analizó por triplicado. A continuación se describe el procedimiento utilizado para cuantificar cada una de las variables de respuesta.

5.7 Humedad

La humedad se determinó en una termobalanza Ohaus modelo MB45, por diferencia de peso entre el material húmedo y el material seco. Una cantidad

conocida de muestra húmeda (3 a 3.5 gramos), se colocó en charolas de aluminio, y se secaron a 130 °C hasta peso constante.

5.8. Actividad del agua

La actividad de agua (A_w), se mide como la relación entre la presión de vapor de agua de una muestra y la presión de vapor de agua pura a la misma temperatura. Se utilizó un equipo Aqualab, modelo CX-2. La muestra se colocó en una celda para determinar la actividad de agua, y la determinación se realizó directamente en el equipo.

5.9. pH

A 1 g de suelo seco y se adicionaron 10 mL de agua destilada, la suspensión se agitó durante 10 minutos. Se tomó la lectura de pH en el sobrenadante con un potenciómetro digital (Conductronic pH 20).

5.10 Conductividad eléctrica

La conductividad eléctrica se determinó con un conductivímetro (conductronic Modelo CL30). Para determinar la conductividad eléctrica, a 1 g de muestra seca se le adicionaron 10 mL de agua destilada (1:10 suelo:agua [p/v]). Las muestras se mantuvieron en agitación (10 minutos), y se determinó la conductividad eléctrica a temperatura ambiente.

5.1.1. Determinación de cenizas

Esta prueba se llevó a cabo gravimétricamente por diferencia de pesos. Se colocaron 3 g de muestra seca en crisoles de porcelana a peso constante, posteriormente fueron sometidos a calcinación (800°C) en una mufla (Fisher Scientific) durante 24 horas. Finalmente se registró el peso del crisol con la muestra calcinada.

Para llevar a cabo la corrección de biodegradación de los HTP respecto a las cenizas, se utilizó la siguiente fórmula

$$\frac{\text{Cenizas}}{\text{HTP } t=0} = \text{HTP teóricos}$$

Cenizas t=0

Donde:

$$\text{HTP corregidos} = \text{HTP teóricos} - \text{HTP } t=x$$

Esta fórmula relaciona la concentración de cenizas en el tiempo cero ($t=0$), las cenizas en el transcurso del tiempo ($t=x$) y la cuantificación de HTP en el $t=0$, para obtener la concentración de HTP en el $t=x$.

5.1.2. Determinación de hidrocarburos totales de petróleo (HTP)

Los hidrocarburos presentes en la muestra fueron extraídos por Soxhlet, es un aparato de laboratorio que sirve para extraer muestras con diclorometano como agente de extracción y cuantificados gravimétricamente.

Para cuantificar gravimétricamente los compuestos solubles en diclorometano de la muestra, se utilizó el método EPA 3540C (extracción sólido-líquido de compuestos orgánicos semivolátiles y no volátiles en suelos y sedimentos USEPA, 1986).

- ❖ Se colocaron aproximadamente 10 g de muestra seca más sulfato de sodio anhidro (~10 g) en un cartucho de celulosa (135 x 80 mm).
- ❖ Los cartuchos se colocaron en un equipo de extracción Soxhlet (250 mL), con 160 mL de diclorometano.
- ❖ Cada muestra se mantuvo en extracción continua con reflujo durante 8 h a 70 °C.
- ❖ Posteriormente el solvente se evaporó de los matraces de vidrio (peso constante) y se determinó la concentración de HTP por diferencia de peso.

5.1.3 Análisis respirométrico

Esta variable, a diferencia del resto, se realizó por duplicado durante los tres primeros meses de la investigación. Para lo cual 50 g de suelo húmedo fueron colocados en reactores de 500 g. Las muestras se colocaron en un respirómetro (Comput-OX 244) y se cuantificó el consumo de O₂ en línea durante 100 días a 28 °C.

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis estadístico.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para determinar que tan favorable fue utilizar pretratamientos fisicoquímicos (tolueno, surfactante y electroquímico) para desorver los HTP del suelo y así asegurar su biodegradación, fue necesario llevar un registro de las variables de respuesta como: las concentraciones de los HTP, pH, cenizas, conteo en placa de microorganismos, entre otras, éstas son variables importantes ya que dependiendo de los resultados obtenidos a lo largo del proceso de composteo, fue como se determinó la eficacia de los tratamientos fisicoquímicos utilizados en la degradación de los HTP presentes del suelo intemperizado.

A continuación se muestran las variables de respuesta que fueron registradas antes del proceso de composteo (suelo original) y después del proceso de composteo (207 días) en las cuatro biopilas

6.1. Actividad del agua y humedad

A lo largo del proceso de composteo, las unidades experimentales mantuvieron una humedad entre 43 y 53 % (Figura 5). Cerca de los 120 días se registró una disminución de la humedad, debido a que en este tiempo se aplicó un segundo pretratamiento al material, por lo que fue necesario dejar secar un poco las biopilas (se detalla más adelante). Sin embargo, como puede observarse en la Figura 6 la actividad de agua se mantuvo constante, durante todo el proceso (0.997 – 0.999), aunque en un inicio la A era baja (0.894 – 0.935).

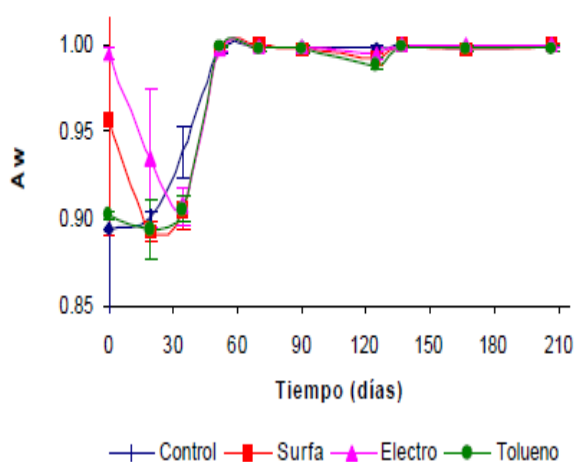


Figura 4. Cinéticas de humedad de las biopilas durante el proceso de composteo.

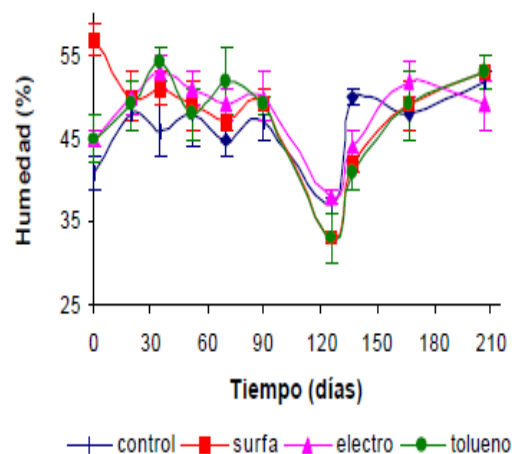


Figura 5. Actividad de agua para las biopilas durante el composteo.

Para tener una gran variedad de microorganismos, es recomendable mantener una actividad de agua entre 0.9–0.99. Para bacterias entre 0.85 y 0.99, levaduras entre 0.75 - £ 0.9 y hongos entre 0.6 y 0.9 (Madigan *et al.*, 1998; Atlas, 1991). Cuando la A_w disminuye por debajo de los valores reportados, la actividad metabólica de estos microorganismos puede verse afectada, además que el medio puede hacerse selectivo para ciertos microorganismos.

6.2. pH

Al iniciar el tratamiento de composteo, los valores de pH en las unidades experimentales, se encontraban entre 7.4 – 7.8, aunque entre los 20 y 42 días se observó un incremento del pH, entre 8.9 y 9.2 (Figura 7). El incremento del pH pudo deberse a una inadecuada aireación de las unidades experimentales, provocando condiciones anóxicas, y esto se ve reflejado en el aumento del pH. Debido a este aumento, se adicionó a las biopilas periódicamente una solución de ácido fosfórico (0.5%), con la finalidad de reducir gradualmente el pH. Esta adición se suspendió cuando se registró una disminución (~ 1 unidad) manteniendo las biopilas en un rango entre 6 y 8, que es el rango en el cual se ve favorecido el crecimiento de la gran mayoría de los grupos microbianos. Valores de pH inferiores a 6 (ácidos) inhiben el crecimiento de la gran mayoría de los grupos microbianos, lo mismo pasa con valores mayores de 8 (alcalinos).

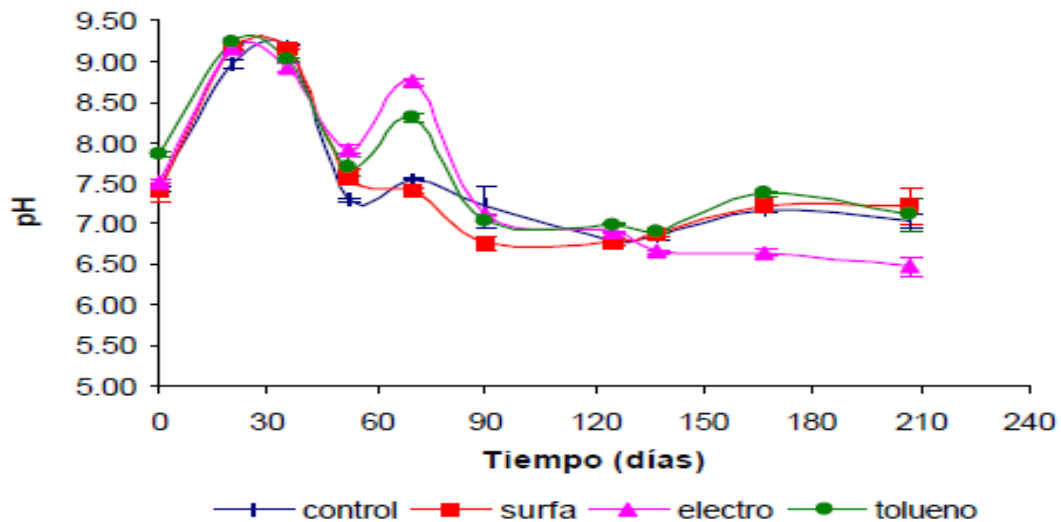


Figura 6. Valores de pH registrados en las biopilas durante 10 días.

6.3. Conductividad eléctrica

Como se puede observar en la Figura 8, la conductividad eléctrica (CE) tuvo una disminución de aproximadamente una unidad, durante los primeros 90 días durante el proceso de composteo en las cuatro biopilas, aunque las biopilas con pretratamientos (electroquímico, tolueno y surfactante), registraron valores por encima de la biopila control, como se había mencionado anteriormente. Después de los 90 días del proceso de composteo se observó un incremento en la conductividad eléctrica en todas las biopilas (hasta de 1.2 unidades).

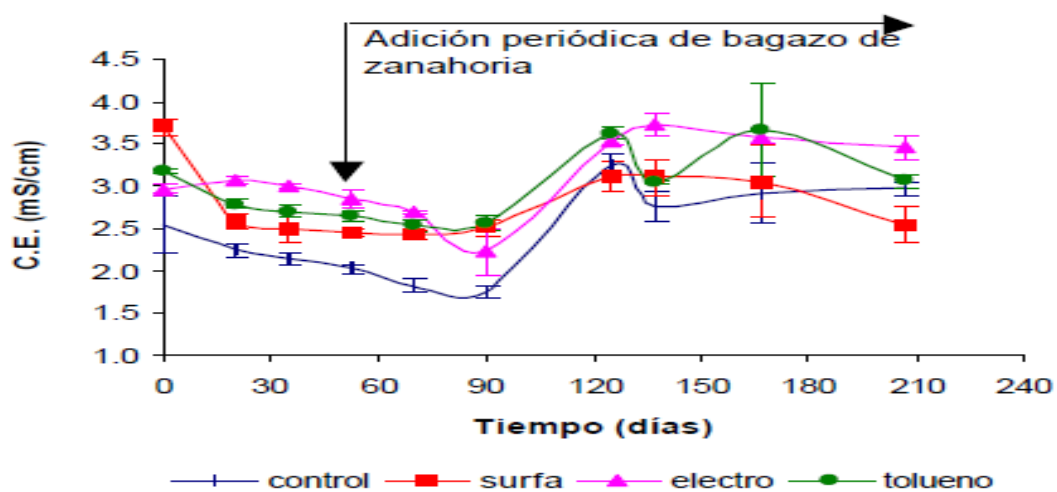


Figura 7. Cambios en la conductividad eléctrica. (CE) en función de los pretratamientos, durante el proceso de composteo.

Es importante recalcar que la conductividad eléctrica es una medida de sales disueltas en el medio, por lo que puede suponerse que al inicio del proceso la disminución en la CE, se debe a la asimilación de las sales por efecto de la acción de los diversos microorganismos presentes en las biopilas. El aumento observado a partir de los 90 días sugiere una concentración de las sales en las biopilas, esto quizá también se deba a la adición periódica de bagazo de zanahoria (1.5 Kg base húmeda) a partir del día 52 del proceso de composteo (se detalla más adelante).

El valor de CE en un suelo es importante para establecer valores críticos de salinidad, ya que de esta manera se puede determinar la concentración de sales que puede dañar a las plantas y/o microorganismos (CE crítica). En investigaciones realizadas con procesos de composteo y vermicomposteo se demostró que valores mayores a 8 mS/cm puede provocar efectos negativos en lombrices y poblaciones microbianas así como en la biotransformación de compuestos orgánicos (Santamaría *et al.*, 2001)

6.4. Cenizas

La determinación de cenizas es una medida indirecta del consumo de la materia orgánica. Esta determinación se realizó con el objetivo de hacer correcciones a lo largo del proceso de composteo, con respecto a la degradación de hidrocarburos.

Como se observa en la Figura 9, la concentración de cenizas se mantuvo en ascenso hasta los 52 días, lo que indica una biodegradación de materia orgánica, después de este tiempo la concentración de cenizas comenzó a ser constante, lo que sugiere una disminución en la biodegradación de materia orgánica.

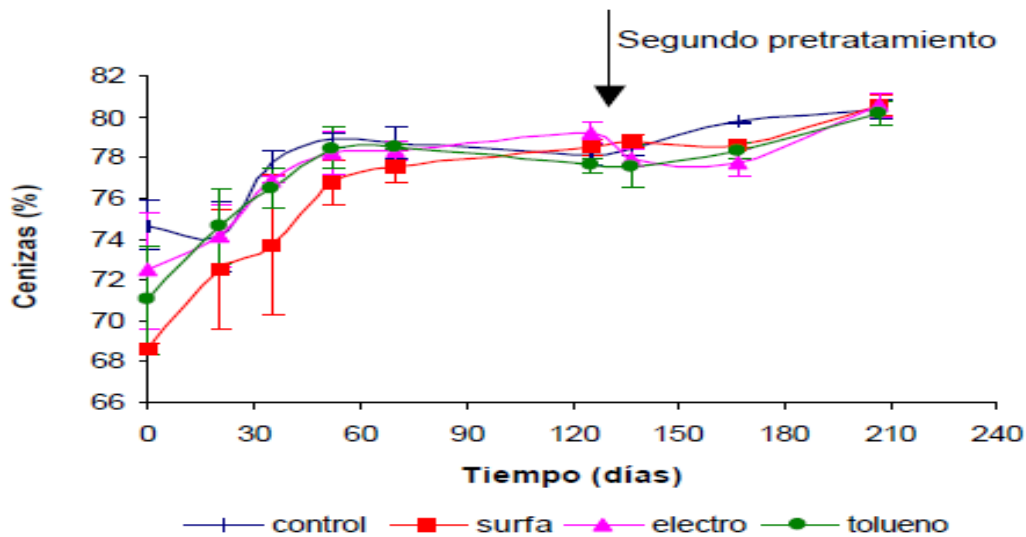


Figura 8. Contenido de sales en las unidades experimentales durante 210 días.

6.5. Respirometría

Se estima que para oxidar un gramo de petróleo, se requieren 0.333 gramos de O_2 (Iturbe *et al.*, 2001). En las Figuras 10 y 11, se muestra el consumo y velocidad de consumo de O_2 en las biopilas durante los primeros 100 días de pretratamiento.

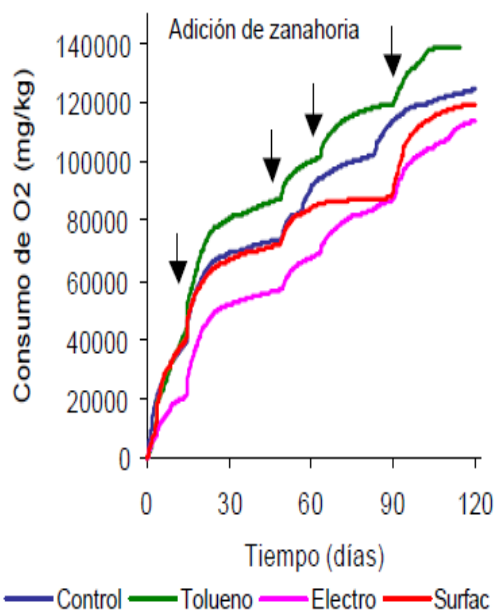


Figura 9 Cinéticas de consumo de oxígeno de las biopilas durante 100 días de tratamiento

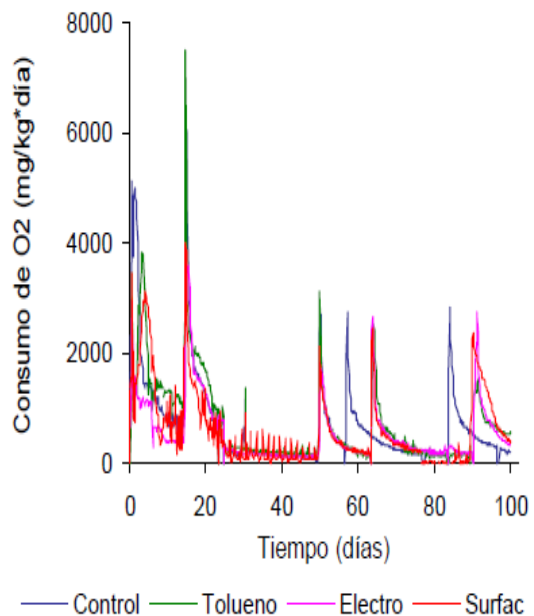


Figura 10 Velocidades de consumo de oxígeno durante 100 días de tratamiento biológico

La adición de bagazo de zanahoria a las biopilas se realizó en cada toma de muestra, a partir de los 52 días de tratamiento 52 días de tratamiento (1.5 kg de zanahoria base húmeda), se realizó con fin de mantener activa la microflora presentes en las biopilas. En la Figura 10 se muestra como el consumo de oxígeno aumenta en cada una de las adiciones de bagazo de zanahoria, lo que nos indica que la adición de la zanahoria estimula la actividad de los microorganismos, favoreciéndose un incremento en la población microbiana y de manera indirecta, la biodegradación de los HTP presentes en las biopilas.

Aunque los resultados muestran que la biopila pretratada con tolueno es la que tuvo el mayor consumo de oxígeno, seguida por el control, surfactante y finalmente la biopila con tratamiento electroquímico, hay que destacar que estos resultados no corresponden al orden de biodegradación obtenida para las biopilas, ya que la biopila que mayor biodegradación presentó fue la tratada electroquímicamente, siendo la de menor degradación la biopila control.

Las velocidades iniciales de consumo de oxígeno (Cuadro 7) que se observaron durante los 10 primeros días del tratamiento biológico, fueron menores para las biopilas pretratadas (~ 3 órdenes de magnitud) respecto al control, esto quizá se debió a la desorción de los hidrocarburos del suelo por efecto de los pretratamientos, produciendo un retraso en el arranque de la biodegradación por efecto de la mayor concentración inicial de HTP (Chino *et al.*, 1999)

En el Cuadro 7 se muestra el consumo de oxígeno total después de 100 días de tratamiento, donde se observa que la biopila tratada con tolueno fue la que presentó el mayor consumo de oxígeno. Sin embargo, las diferencias entre las tres biopilas restantes no es significativa.

Como se mencionó anteriormente, el consumo de oxígeno se determinó con el fin de evaluar, diferencias en la actividad respiratoria de las poblaciones microbianas presentes, en función de los diferentes pretratamientos del suelo y de la adición periódica de bagazo de zanahoria.

Cuadro 5. Consumo total de oxígeno después de 100 días de tratamiento y velocidades iniciales de consumo de oxígeno con los diferentes tratamientos.

MUESTRA	Consumo total de oxígeno (mg/kg)	Vel.inicial de consumo de oxígeno (mg/kg.dia)	R2
Control	119034	7850	0.999
Surfactante	112216	3197	0.991
Electroquímico	102382	2775	0.993
Tolueno	137057	3619	0.986

6.6. Degradación de hidrocarburos

De acuerdo a los resultados obtenidos después de 207 días de composteo, se observaron diferencias significativas en la biodegradación de hidrocarburos por efecto de los pretratamientos en todas las biopilas. En la Figura 11 se muestran las cinéticas de biodegradación de HTP en función de los pretratamientos.

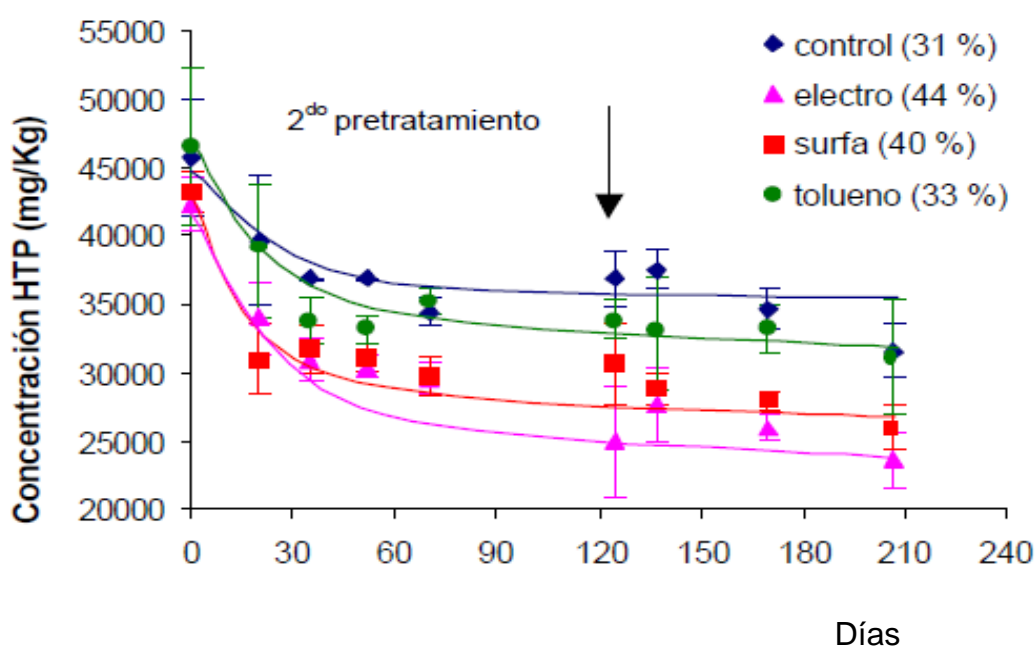


Figura 11. Biodegradación de HTP después de 207 días de composteo (tratamiento biológico), en función de los diferentes retratamientos de suelo.

Como puede observarse (Figura 11) las biopilas retratadas con surfactante y electroquímicamente, registraron niveles de biodegradación significativamente mayores (40 y 44 %, respectivamente) a los observados para la biopila con

tolueno y control (33 y 31 % respectivamente) después de 207 días de composteo.

Sin embargo es importante mencionar que la mayor biodegradación en las biopilas se llevó a cabo durante los 52 primeros días del proceso de composteo, siendo las de mayor biodegradación la biopsilla retratada con tolueno, seguida por las biopilas pretratadas electroquímicamente, con surfactante y finalmente la biopila control (29, 28, 28 y 19 %, respectivamente).

Entre los días 52 y 120 días del proceso se observó, en base a los resultados de cenizas (sección 7.5) y la biodegradación de los hidrocarburos (sección 7.8), que aparentemente ya no se estaba llevando a cabo la asimilación de los hidrocarburos presentes en el suelo, ya que los resultados se mostraban constantes (Figura 9 y 14), a partir de estos resultados surgieron las siguientes preguntas:

7. CONCLUSIONES

- ❖ Se demostró que el uso de pretratamientos fisicoquímicos para la desorción de HTP en un suelo intemperizado, favorece significativamente su biodegradación por un proceso de composteo.
- ❖ Con base en la biodegradación de los HTP, el pretratamiento más eficiente después de 7 meses de composteo fue el electroquímico obteniéndose una degradación de 44 %.
- ❖ El empleo de desechos orgánicos de fácil biodegradación como agentes de volumen son muy útiles y económicos en el proceso de composteo, mejorando la estructura de la biopila, incrementando la porosidad, permitiendo una mejor biodisponibilidad de oxígeno y un contenido de humedad adecuado, manteniendo activa las poblaciones microbianas.

8RECOMENDACIONES

Al finalizar con los trabajos de experimentación acerca de la tesis, utilizando la tecnología de la biorremediación, que se trabajo biorremediando a suelos contaminados de hidrocarburos totales de petróleo, el suelo también se puede tratar y eliminar a los contaminantes con la fitorremediación en el cual se pueden utilizar plantas que son capaces de absorber a estos contaminantes por la raíz, como son; el rabano, el jirafol, el huizache, entre otras plantas mas que son fitorremediadoras.

9. BIBLIOGRAFIA CITADA

- Abiola A. y Olenyk, M. 1997. Effects of amendment surfactants on bioremediation of hydrocarbon contaminated soil by composting. 34th. Annual Soil
- Alef, K. y Nannipieri, P. 1995. Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry, Academic Press, U.S.A..
- Atlas, R. 1991. Microbial hydrocarbon degradation-bioremediation of oil spills. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. 52: 149-156
- Atlas, R. M., 1984. Petroleum Microbiology, Edit. Macmillan Publishing Co., New York, pp. 5- 26.
- Beaudin, R., Caron, R. F., Legros, R., Ramsay, J., Lawolor, L., Ramsay, B. 1996. Cocomposting of weathered hydrocarbon-contaminated soil, Compost Science & Utilization Vol. 4, No. 2, pp. 37-45
- Bosma, T.; Middeldorp, P.; Schraa, G. y Zehnder, A. 1997. Mass transfers limitation of biotransformation: Quantifying bioavailability. Environ. Sci. Technol. 31: 248-252.
- Catherine, A. P. y Luthy, R. 1993. Coal tars dissolution in water-miscible solvents: experiment evaluation. Environ. Sci. Technol. 27: 2831-2843.
- Chino, H. Tsuji, H. Ishikawa, Y. Matsubara, T. Al-awadhi, M. Talaat Balba, R. y Aldaher, R. 1999. Bioremediation of oil-contaminated soil in Kuwait (Part 1): ex situ biological treatment technologies. The Fifth International in situ and on site Bioremediation Symposium. pp 249-256
- Chino, H. Tsuji, H. Ishikawa, Y. Matsubara, T. Al-awadhi, M. Talaat Balba, R. y Aldaher, R. 1999. Bioremediation of oil-contaminated soil in Kuwait (Part 2): ex situ biological treatment technologies. The Fifth International in situ and on site Bioremediation Symposium. pp 249-256

- Connell, D., Lam P., Richardson B. y Wu R. 1999 Introduction to Ecotoxicology. Blackwell Science Ltd. Great Britain. 170pp
- Cunningham, C. y Philip, J. 2000. Comparison of bioaugmentation and biostimulation in ex situ treatment of diesel contaminated soil. Land Contamination and Reclamation, 8(4). 261-269 pp.
- Deflaun F. M., Steffan, J. R., 2003., Encyclopedia of Environmental Microbiology. Envirogen, Inc., Lawrenceville, New Jersey
- Dosoretz G. C., Mandelbaum R. y Hadar Y., 2003, Compost: Biodegradation of toxic organic compounds., Encyclopedia of Environmental Microbiology.
- Escalante E. E., 2000., Estudio de ecotoxicidad de un suelo contaminado con hidrocarburos., Tesis, Maestría en Biotecnología.
- Eweis, J.B.; Ergas, S.J.; Chang, D.P y Schroeder, E.D. 1998. Bioremediation Principles. McGraw-Hill International Editions. 296 pp.
- Fenistein, D.; Barré, L.; Broseta, D.; Espinat, D.; Livet, A.; Roux, J. y Scarsella, M. 1998. Viscosimetric and neutron scattering study of asphaltene aggregates in mixed toluene/heptane solvent. Langmuir. 14: 1013-1020.
- García, R. M.; Saucedo, C.G.; Flores, H. S. y Gutiérrez, R. M. 2002. Mass transfer and hydrocarbon biodegradation of aged soil in slurry phase. Biotechnol. Prog. 18: 728-733.
- Gestel, Van C.A.M., y Wei-chun, Ma., 1990., An approach to quantitative structure activity relationships (QSARs) in earthworm toxicity studies., Chemosphere. Vol. 21. No. 8, pp. 1023-1033.
- Ghosh, M. M. 1997. Kinetic considerations in surfactant-enhanced bioavailability of soil-bound PAH. 1997. In Situ and On Site Bioremediation. 2: 575-580.

- Guerin, W. F y Boyd, S. A. 1992. Differential bioavailability of soil sorbed naphthalene to two bacterial species. *Appl. Environ. Microbiol.* Pag: 1142-1152.
- Guha, S. y Jaffé, P. R. 1996. Bioavailability of hydrophobic compounds partitioned into the micellar phase of nonionic surfactants. *30*: 1382-1391.
- Hyo-Sang L. y Lee K., 2001., Bioremediation of Diesel-Contaminated soil by bacterial Cells transported by electrokinetics., *Journal Microbiology and Biotechnology.*, 1038 –1045.
- Iturbe Argüelles R., Flores Torres C., Chávez López C., Roldán Martín A. 2002. Saneamiento de suelos contaminados con hidrocarburos mediante biopilas. *Ingeniería Investigación y Tecnología III. 1*, 25-35. Instituto de Ingeniería, UNAM.
- Jackman, A. S., Maini, G., Sharman, K. A., Sunderland, G., y Knowles J. C., 2001. Electrokinetic movement and biodegradation of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid in silt soil., *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 74 No. 1 pp.40-48
- Ko, S.-O.; Schlautman, M. A y Carraway, E. R. 2000., Cyclodextrin-enhanced electrokinetic removal of phenanthrene from a model clay soil.. *Environ. Sci. Technol.* 34: 1535-1541.
- Kotterman, M. J. J.; Rietberg, H.-J.; Hage, A. y field J. A. 1998. Polycyclic aromatic hydrocarbon oxidation by the white-rot fungus *Bjerkandera* sp. strain BOS55 in the presence of nonionic surfactents. *Biotechnology and Bioengineering.* 57(2); 220-227.
- Laha, S. y Luthy, R. G. 1992. Effects of nonionic surfactants on the solubilization and mineralization of phenanthrene in soil-Water systems.*Biotechnology and Bioengineering.* 40: 1367-1380
- Lau S.S.S., y Wong C.W.J., 2001., Toxicity evaluation of weathered coal fly ash-amended manure compost., *Water, Air, and Soil Pollution* 128: pp 243-254.

- Loo, W.W. 1994. Electrokinetic enhanced passive in-situ bioremediation of soil and groundwater containing gasoline, diesel and kerosene. Proc. 11th HAZMACON 94, Haz.Mater. Mgmt. Conf. Exhib. pp: 254-264.
- Madigan, M. T.; Martinko, J. M.; Parker, J. 1998. Brock: Biología de los Microorganismos. Prentice Hall. Octava Edición. pp 1064.
- Neuberger Cywiak L. 2002. La ecotoxicología como herramienta en las evaluaciones de riesgo ecológico. Universidad Nacional Experimental Marítima del Caribe
- Ortiz, I.; Auria, R.; Sigoillot J-C., Revah, S. 2003a. Enhancing phenanthrene biomineralization in a polluted soil using gaseous toluene as a cosubstrate. *Enviro. Sci. Technol.* ASAP Article 10.1021/es0260061 S0013-936X(02)06006-6 Web Release Date: January 15, 2003.
- Pollard, S. J. T; Hrudey, S. E y Fedorak, P. M. 1994. Bioremediation of petroleum and creosote contaminated soils: A review of constraints. *Waste Management & Research.* 12: 173-194
- Potter Carl L., Glaser John A., Chang Lina W., Meier John R., Dosani Majid A., Herrmann Ronald F., 1999. Degradation of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons under Bench-Scale Compost Conditions. *Environ. Sci. Technol* 33 pp 1717-1725
- Raymond C. L. Geotechnical practice for waste disposal en "Biorremediation of soils".Capítulo 22. 1993
- Registro de empresas autorizadas para la remediación de suelos contaminados. 2003 SEMARNAT.
- Riser-Roberts, E. 1998. Remediation of petroleum contaminated soils. Lewis Publishers. USA.
- Santamaría Romero S., Ferrera Cerrato R., Almaraz Suárez J. J., Galvis Spinola A., Boullard Barois I., 2001., Dynamics and relationships among microorganisms, C-Organic and N-Total during Composting and Vermicomposting., *Agrociencia* Vol 35 pp. 377-384.

- 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.
- Science Workshop. Alexander, M. 1981. Biodegradation of chemicals of environmental concern.
- SEMARNAT, 2002. Comunicación personal con personal de la Dirección General de Manejo Integral de Contaminantes.
- Semple, K.T.; Reid, B.J. y Fermor, T.R. 2001. Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. Environ. Pollution, 112: 269 - 283.
- Seprun, S. M., Kharkevich, E. S., Nogina, T. M., Parhkomenko, Yu. M., Zhdanova, N. N. And Donchenco, G. V. 2000. Perspectives on the use of hydrocarbon-oxidizing Micromycetes and Rhodococci for purification of oil-polluted soils. En Bioremediation of Contaminated Soils. Capítulo 28. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Shapiro P. Andrew., y Probst F. Ronald., 1993., Removal of contaminants from saturates clay by electroósmosis, Environ. Sci. Techno., pp. 283-291
- Stelmack L. P., Gray R. M., y Pickard A. M., 1999., Bacterial Adhesion to Soil contaminantes in the presence of surfactants. Applies and Environmental Microbiology., pp163-168.
- Sverdrup, E. L., Nielsen, T., y Krogh, H. P., 2002., Soil Ecotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons in relation to soil sorption, lipophilicity, and water solubility., Environmental Science & Technology. Vol 36. no. 11 pp. 2429-2435.
- Sztern D., Pravia A. M., 1999., Manual para la elaboración de compost bases conceptuales y procedimientos.

- UAM. 2001. Programa de investigación multidisciplinario: Estudios de tratabilidad para la remediación de suelos intemperizados contaminados con hidrocarburos.
- Van Deuren, J., Wang, Z. y Ledbetter, J. 1997. Remediation technologies screening matrix and reference Guide. 3ª Ed. Technology Innovation Office, EPA.
- Velasco, T. J. y Volke S. T., 2003., Composteo y biorremediación de suelos., Gaceta ecológica, INE-SEMARNAT No. 66
- Volke S. T. y Velasco T. J. 2002. Tecnologías de remediación para suelos contaminados., Instituto Nacional de Ecología (INE-SEMARNAT).