

## Biorremediación mejorada con preoxidación química de suelos arcillosos contaminados con petróleo

Marcia Eugenia Ojeda-Morales<sup>1</sup>, Irma Elisa Juárez-Palacios<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>División Académica de Ingeniería y Arquitectura, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Cunduacán, C. P. 86690, Tabasco, México

<sup>2</sup>Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, Cárdenas, C.P. 86500, Tabasco, México

\*juarez.irma@colpos.mx

---

### Resumen

Las actividades de la industria petrolera en Tabasco tienen un alto impacto ambiental debido a fugas y derrames de petróleo, ya que han dañado parte considerable de los ecosistemas, principalmente los suelos de la región. Un proceso utilizado con frecuencia en la descontaminación de suelos es la biorremediación, sin embargo, el tiempo que implica tal proceso es largo, por lo que es conveniente la combinación con otras técnicas como la oxidación química. Por lo que, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la oxidación química con tres condiciones ( $H_2O_2 + H_2SO_4$ ,  $H_2O_2 + CH_3COOH$ ,  $H_2O_2$ ) y un testigo sin oxidación; seguida por una biorremediación con tres consorcios microbianos, arreglados en un diseño experimental de 12 tratamientos con tres repeticiones. El tratamiento que generó mayor remoción de petróleo (71%) fue el de bacterias extremófilas + oxidación química con  $H_2O_2$  sin agentes reductores de pH.

*Palabras claves: Biorremediación, Oxidación química, Petróleo crudo, Suelo*

### Abstract

The activities of the oil industry in Tabasco have a high environmental impact due to oil leaks and spills, since they have damaged a considerable part of the ecosystems, mainly the soils of the region. A process frequently used in soil decontamination is bioremediation, however, the time involved in such a process is long, so it is convenient to combine it with other techniques such as chemical oxidation. Therefore, the objective of this investigation was to evaluate the effect of chemical oxidation with three conditions ( $H_2O_2 + H_2SO_4$ ,  $H_2O_2 + CH_3COOH$ ,  $H_2O_2$ ) and a control without oxidation; followed by a bioremediation with three microbial consortia, arranged in an experimental design of 12 treatments with three repetitions. The treatment that generated the greatest oil removal (71%) was that of extremophilic bacteria + chemical oxidation with  $H_2O_2$  without pH reducing agents.

*Keywords: Bioremediation, chemical oxidation, oil, soil*

---

Recibido: 12 de mayo de 2019. Aceptado: 31 agosto 2019. Publicado: 1 de diciembre de 2019.

### 1. Introducción

La contaminación derivada por las actividades relacionadas con la industria petrolera representa un gran desafío en las regiones productoras, pues los suelos contaminados con petróleo y sus derivados son un grave problema ambiental en todo el mundo. En México, según la Procuraduría Federal de Protección al

Ambiente (PROFEPA), durante el periodo del 2000 al 2012 se reportaron 1331 derrames de petróleo en el país, el 34% de estos derrames ocurrieron en los suelos del estado de Tabasco, debido al déficit en las actividades de exploración, explotación y transporte del petróleo, procesos de refinación, instalaciones de extracción en campo, los equipos de distribución y almacenamiento de combustibles líquidos, el transporte de productos petrolíferos así como a las tomas clandestinas en las tuberías [1-3].

Los derrames de petróleo tienen un impacto destructivo en los suelos debido a su alta toxicidad, asociada al contenido de productos químicos peligrosos como el benceno, tolueno, etilo benceno, xileno y naftaleno; los cuales pueden ser dañinos para las plantas, animales y hasta para la salud humana. Además, la presencia de petróleo reduce la concentración de oxígeno en el suelo y consecuentemente aumenta la anaerobiosis que afecta directamente las funciones de las raíces de las plantas, así como al desarrollo de las comunidades microbianas [4-5].

La contaminación del petróleo es tratada por métodos físicos, químicos y biológicos. Los primeros dos métodos tienen limitaciones tales como altos costos, ineficacia y alteraciones naturales ecosistema. En los últimos años, se han estado empleando bacterias degradadoras de hidrocarburos para remediar suelos contaminados con petróleo que convierte los desechos tóxicos en no tóxicos. Esta técnica ha reducido los efectos nocivos sobre la salud y en el medio ambiente. Además, proporciona la capacidad de realizar tratamiento in situ sin perturbar demasiado los ecosistemas nativos, en comparación a métodos de remediación física y química [6-7].

Los métodos biológicos utilizados para la remediación a gran escala de sitios contaminados con petróleo, como la mejora en la degradación microbiana, resulta un método prometedor y rentable. La bioestimulación (es decir, la biorremediación mejorada con nutrientes) es un enfoque prometedor, que se ha demostrado que aumenta la biodegradación las tasas de hidrocarburos de petróleo entre otros orgánicos contaminantes proporcionando nutrientes limitantes (por ejemplo, nitrógeno y fósforo) para la actividad de microorganismos degradantes endógenos en el suelo. Otra alternativa es la bioaumentación, la cual consiste en la introducción de un grupo de cepas microbianas naturales o una variante genéticamente modificada para tratar suelos contaminados [8]. Sin embargo, el lapso para los métodos biológicos es a menudo largo y las técnicas son menos eficientes en sitios altamente contaminados y con presencia de contaminantes más pesados [7]. Por lo tanto, encontrar nuevos enfoques para mejorar la eficiencia de la biorremediación es deseable [9].

Otros estudios han demostrado que la adición de surfactantes y peróxido de hidrógeno, así como los desechos orgánicos en los suelos contaminados con petróleo aumenta eficiencia de biorremediación; por lo que se puede considerar la combinación con una oxidación química in situ [10-14]. La oxidación química in situ es una tecnología efectiva para la remediación de suelo contaminado por un amplio rango de contaminantes orgánicos [15-16]. Este método implica la inyección de un oxidante, como permanganato [17], peróxido de hidrógeno [18], persulfato [19] u ozono [20], en el subsuelo para mineralizar los contaminantes de preocupación o, al menos, transformarlos en productos menos tóxicos. Entre las diferentes formulaciones propuestas hasta ahora, el proceso de Fenton involucra la reacción entre  $H_2O_2$  y un catalizador ferroso (sales de hierro), la cual produce el radical hidroxilo ( $OH^\cdot$ ) [21].

Convencionalmente, la reacción Fenton se realiza en un pH constante de 2.0~4.0 para favorecer el efecto de disociación del peróxido de hidrogeno. Sin embargo, el logro de un rango de pH tan estrecho implica la adición de agentes químicos que lo reduzcan, pues cualquier medio con pH inicial mayor a 4.0, por lo tanto, el ajuste de pH es un paso crítico para el proceso de oxidación. Para lograr esta disminución de pH se utilizan diversos agentes, como el ácido sulfúrico, ácido acético, ácido clorhídrico para pre-ajustes e hidróxido de sodio para el ajuste posterior a la reacción Fenton [22].

La combinación de oxidación química y la biorremediación in situ podría ser más eficiente que el solo aplicar la primera, pues la oxidación química reduce la concentración del contaminante a un nivel adecuado para la posterior degradación biológica de la contaminación residual; la toxicidad de los contaminantes disminuye propiciando el desarrollo de los microorganismos en el suelo; por otra parte, se proporcionan nutrientes, y se generan donantes y aceptores de electrones, promoviendo la biorremediación, aumentando la biodisponibilidad y biodegradación de los contaminantes. La combinación de estas dos técnicas requiere una selección cuidadosa de las condiciones de operación en la etapa de oxidación (por ejemplo, dosis de oxidante, agente para disminuir pH, número de adiciones secuenciales) [23,17].

Debido a esto, el objetivo de la presente investigación fue determinar el tratamiento que disminuya los niveles de contaminación de petróleo en un suelo contaminado, considerando la aplicación de una oxidación química Fenton, con el uso de diferentes agentes para disminución del pH, como previo a la bioaumentación con tres diferentes microorganismos, los cuales incluyen bacterias, hongos y el consorcio bacterias-hongos.

## 2. Metodología

### 2.1 Sitio de muestreo

Todo el experimento se realizó utilizando muestras de suelo contaminado con petróleo recolectadas en los alrededores de líneas de transporte de hidrocarburos que habían presentado derrames o fugas ubicadas en el Sitio Otates del área de Sánchez Magallanes dentro del Activo Cinco Presidentes, uno de lo más productivos en Tabasco (Fig. 1). La profundidad de muestro fue en la capa comprendida de los 0.30 a 1.50 metros.

El sitio de muestreo está dentro del paisaje geomorfológico de Planicie Fluviodeltaica Inactiva en donde predominan los suelos vertisoles, gleysoles, fluvisoles y cambisoles, los cuales presentan características de oxido reducción debido al movimiento del manto freático (calificador gléyico), además de presentar altas cantidades de arcillas [3]. Antes de su uso, el suelo contaminado fue tamizado para eliminar la fracción más gruesa ( $d > 1.0$  cm), homogeneizada mecánicamente en un recipiente de acero inoxidable.



Fig. 1. Polígono (verde) del área Sánchez Magallanes en donde se encuentra el sitio de muestreo (PEMEX, 2018).

## 2.2 Diseño experimental

Para llevar a cabo el proceso de biorremediación mejorada con el pretratamiento de oxidación química se propuso un diseño experimental factorial 3x4, en donde: el Factor A fue el microorganismo degradador de petróleo, con tres niveles; Bacterias, Hongos y Consorcio Bacterias-Hongos, mientras que el Factor B, el agente para oxidación química: Peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), Ácido Sulfúrico ( $H_2SO_4$ ), Ácido Acético ( $CH_3COOH$ ) y un tratamiento testigo, sólo con Bioaumentación. El total de tratamientos establecidos fue 12. De acuerdo con el diseño experimental se establecieron seis unidades experimentales con 3 kg del suelo por cada tratamiento.

Factor A: Microorganismo	Factor B: Agente de oxidación química			
	Bioaumentación (B)	$H_2O_2$ P	$H_2SO_4$ (S)	$CH_3COOH$ (A)
Bacterias	BB	BP	BS	BA
Hongos	HB	HP	HS	HA
Consorcio	CB	CP	CS	CA

Tabla 1. Diseño experimental

## 2.3 Caracterización inicial del suelo contaminado

Los análisis realizados al suelo contaminado fueron. Hidrocarburos Fracción Pesada, Hidrocarburos Fracción Media e Hidrocarburos Fracción Ligera por el método establecido en la NOM-138-SEMARNAT/SSA-2012; análisis microbiológico por el método de determinación de viables por el método en placa utilizando diluciones seriadas [24] para conocer la cantidad microorganismos endógenos que contenía el suelo, así como el pH y granulometría con base en las técnicas establecidas en la NOM-021-SEMARNAT-2001. Además, se realizó una caracterización química elemental por microscopía electrónica de barrido con espectroscopía de energía dispersiva de rayos X.

## 2.4 Pretratamiento por Oxidación química (Fenton)

La oxidación química Fenton se lleva a cabo de forma óptima a un pH de 3 a 4, debido a que esta condición es necesaria para activar el catalizador de sulfato ferroso, el agente más utilizado es el ácido clorhídrico (HCl). Sin embargo, el uso de agentes reductores de pH como el HCl provoca alteraciones en las características fisicoquímicas y biológicas, principalmente en el crecimiento de los microorganismos presentes en el suelo encargados de la atenuación natural de los contaminantes. Por lo que se aplicaron ácidos menos agresivos para reducir el pH del suelo, en el caso del ácido sulfúrico se utilizaron 400 mL de una solución al 2.5% en cada unidad experimental, mientras que el volumen utilizado de la solución al 80% de ácido acético fue de 300 mL por unidad experimental. Además del agente reductor de pH se adicionaron 100 mL de una solución de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) al 10%, para el caso del tratamiento sin reducción de pH, se agregaron 300 mL de esta solución de  $H_2O_2$ . Por esta razón se le dio seguimiento a la variable pH durante el experimento.

## 2.5 Preparación del inóculo

Para aplicar los tratamientos establecidos se consideró la inoculación de tres microorganismos, en donde se incluyen Bacterias extremófilas, Hongos extremófilos y el Consorcio Bacterias-Hongos. La producción del inóculo de estos tres tratamientos se realizó en biorreactores de 20 L de capacidad. El volumen de

cada inóculo fue de 12 litros de medio de cultivo líquido, con agua potable como base, más petróleo crudo, como única fuente de carbono, pues los microorganismos son hidrocarbonoclastas; además de 2 g de fertilizante comercial para aportar los macronutrientes necesarios (N, P, K y S) para del crecimiento de la comunidad microbiana (Fig. 2).



Fig. 2 Selección del fertilizante que permitiera el crecimiento óptimo de microorganismos degradadores de petróleo.

Después de preparar el medio se inocularon las cepas microbianas correspondientes a cada tratamiento y se mantuvo con aireación constante durante tres días (Fig. 3) para adicionarlos a los suelos ya oxidados químicamente. El volumen del inóculo en cada unidad experimental dependió del grado de humedad que presentaron después de la oxidación química; el volumen utilizado para cada tratamiento fue: 100 mL en los suelos oxidados por ácido sulfúrico, 400 mL en los suelos oxidados con ácido acético, 300 mL en los suelos con  $H_2O_2$  y 400 mL del inóculo en los tratamientos solo con bioaumentación

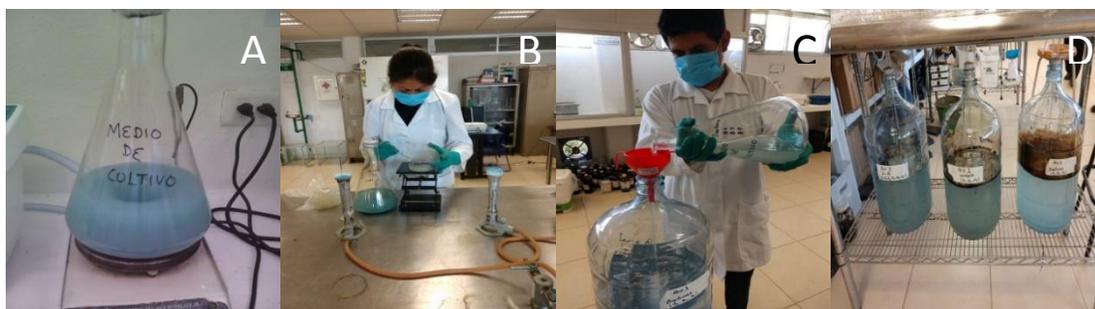


Fig. 4. A) Preparación del medio, B) Adición de los consorcios de microbianos, C) Llenado de los biorreactores, D) Ensamblado de los tres biorreactores.

## 2.6 Variables analizadas en las unidades experimentales

Las variables analizadas en las unidades experimentales son: Hidrocarburos Fracción Pesada, Hidrocarburos Fracción Media, Hidrocarburos Fracción Ligera con base en los métodos de determinación establecidos en la NOM-138-SEMARNAT/SAA1-2012, además de determinar el pH y el crecimiento

microbiano por el método de cuenta de unidades formadoras de colonias (UFC.mL<sup>-1</sup>). Cada variable fue medida de forma semanal para determinar el avance en la degradación de petróleo.

### 3. Resultados y discusión

#### 3.1 Caracterización inicial del suelo contaminado con petróleo

La muestra de suelo compuesta que se utilizó para establecer los tratamientos se caracterizó de forma inicial para tener una base para comenzar con el seguimiento del experimento. Los resultados de dicha caracterización se observan en la Tabla 2.

HFP (mg.kg <sup>-1</sup> )	HFM (mg.kg <sup>-1</sup> )	HFL (mg.kg <sup>-1</sup> )	pH	Bacterias (UFC.mL <sup>-1</sup> )	Granulometría
5 163.24	31.05	ND	6.4	30x10 <sup>5</sup>	Arena Fina

Tabla 2. Variables analizadas en el suelo original contaminado con petróleo

El suelo original registró una concentración de Hidrocarburos Fracción Pesada (HFP) de 5 163.24 mg.kg<sup>-1</sup>, la concentración de los Hidrocarburos Fracción Media fue de 31.05 mg.kg<sup>-1</sup>, mientras que se registró la ausencia de los Hidrocarburos Fracción Ligera, todas las fracciones se encuentran por debajo de los límites máximos permisibles establecido por la Norma Oficial Mexicana que refiere a suelos contaminados con petróleo [25].

Por otra parte, el pH inicial del suelo fue de 6.4 y la cantidad de microorganismos presentes en el suelo fue de 30x10<sup>5</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>, resultados que concuerdan ya que estas condiciones de pH el crecimiento microbiano es bueno.

La caracterización del tamaño de partícula arrojó una granulometría de tipo Arena fina. Sin embargo, los resultados de la caracterización química elemental del suelo por microscopía electrónica de barrido y espectroscopía de energía dispersiva registraron la presencia de aluminio y silicio (3.79 y 5.54 % masa, respectivamente); lo cual puede indicar la presencia de arcillas silicatadas y una alta capacidad de intercambio catiónico [26]. Cabe destacar, que no se detectó ningún elemento anómalo, sin embargo, el contenido de Carbono (41.71 % masa) es elevado, lo que puede indicar un enriquecimiento por la presencia del petróleo (Fig. 4).

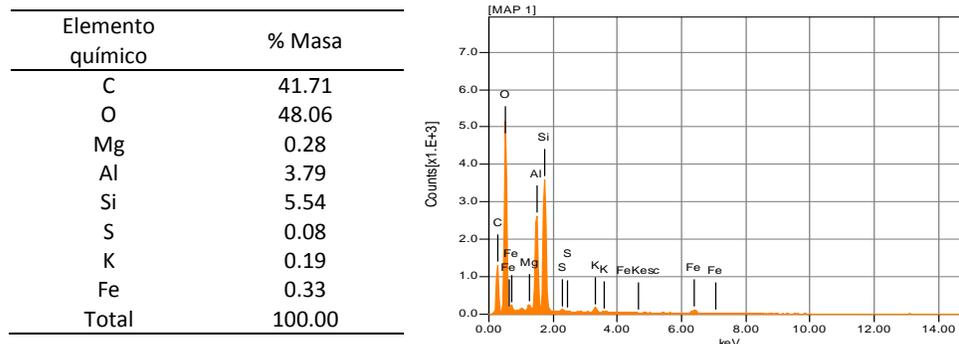


Fig. 4 Composición elemental química del suelo contaminado

### 3.2 Seguimiento de las variables a analizar durante el experimento

#### 3.2.1 Determinación de pH

En el presente experimento se evaluó la eficiencia de los tratamientos establecidos respecto a la variable pH, importante en la activación del catalizador involucrado en la reacción de oxidación química. En la Tabla 3, se observa el comportamiento de esta variable en cada uno de los tratamientos.

Tratamiento		pH					
		Semana 0	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Bacterias	4.00	3.00	4.00	3.50	4.50	4.50
	Hongos	4.00	3.00	3.50	3.00	4.00	4.00
	Consortio	5.00	5.50	5.00	5.50	5.50	5.50
CH <sub>3</sub> COOH	Bacterias	6.00	5.00	5.50	5.00	6.00	5.50
	Hongos	4.00	3.00	3.50	3.50	4.00	4.00
	Consortio	4.00	3.50	3.50	3.50	3.00	4.00
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Bacterias	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.50
	Hongos	6.00	5.00	5.50	5.50	5.50	6.00
	Consortio	4.00	3.60	3.50	3.50	4.50	4.50
Bio aumentación	Bacterias	4.00	3.00	3.50	3.00	4.00	4.00
	Hongos	5.00	4.50	5.50	5.50	4.50	5.50
	Consortio	6.00	5.00	5.50	5.00	3.50	5.00

Tabla 3. Mediciones de pH en los tratamientos establecidos al final de la oxidación química Fenton a partir de la semana 0 (enseñada de la inoculación de los microorganismos) hasta la semana 5.

Los tratamientos con ácidos débiles redujeron el pH del suelo en un intervalo de 3 a 5, generando condiciones óptimas para la oxidación química de acuerdo con lo que se expresa en la literatura. Mientras que los tratamientos sin presencia de ácidos, es decir, el de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y el de Bioaumentación, mantuvieron un pH entre 4 y 6, considerado moderadamente ácido. En comparación con el pH inicial del suelo, después de la oxidación y la adición del inoculo microbiano, el pH de las unidades experimentales disminuyó, sin embargo, se mantuvieron estables durante la prueba.

#### 3.2.2 Determinación de viables por método en placa utilizando diluciones seriadas (UFC.mL<sup>-1</sup>)

Otra variable importante en el seguimiento del experimento es la cantidad de unidades formadoras de colonias microbianas presentes en el suelo, pues se realizó una bioaumentación con microorganismos degradadores de petróleo probados con anterioridad. Un factor importante en el crecimiento de los microorganismos es el pH del suelo, pues de este dependerá la disponibilidad de nutrientes.

El conteo de viables entre la semana cero, justo después de la inoculación de los microorganismos, en comparación con el conteo después de una semana de inoculación va en aumento y esta fue la tendencia que se observó durante las cinco semanas de evaluación en la mayoría de los casos (Fig. 5). Los microorganismos que menos se vieron afectados con la disminución del pH fueron las bacterias, sin embargo, se observa un mejor crecimiento en el tratamiento sin agentes oxidantes, alcanzando hasta 5.90E+06 UFC.mL<sup>-1</sup> en los tratamientos con solo bacterias y 3.00E+06 UFC.mL<sup>-1</sup> de bacterias en el consorcio (Fig. 5a y 5b). Sin embargo, el comportamiento del crecimiento bacteriano fue estable durante las cinco

semanas de evaluación en los demás tratamientos, pues no se vio afectada la comunidad bacteriana (UFC. mL<sup>-1</sup>) en gran medida, logrando mantener los valores iniciales.

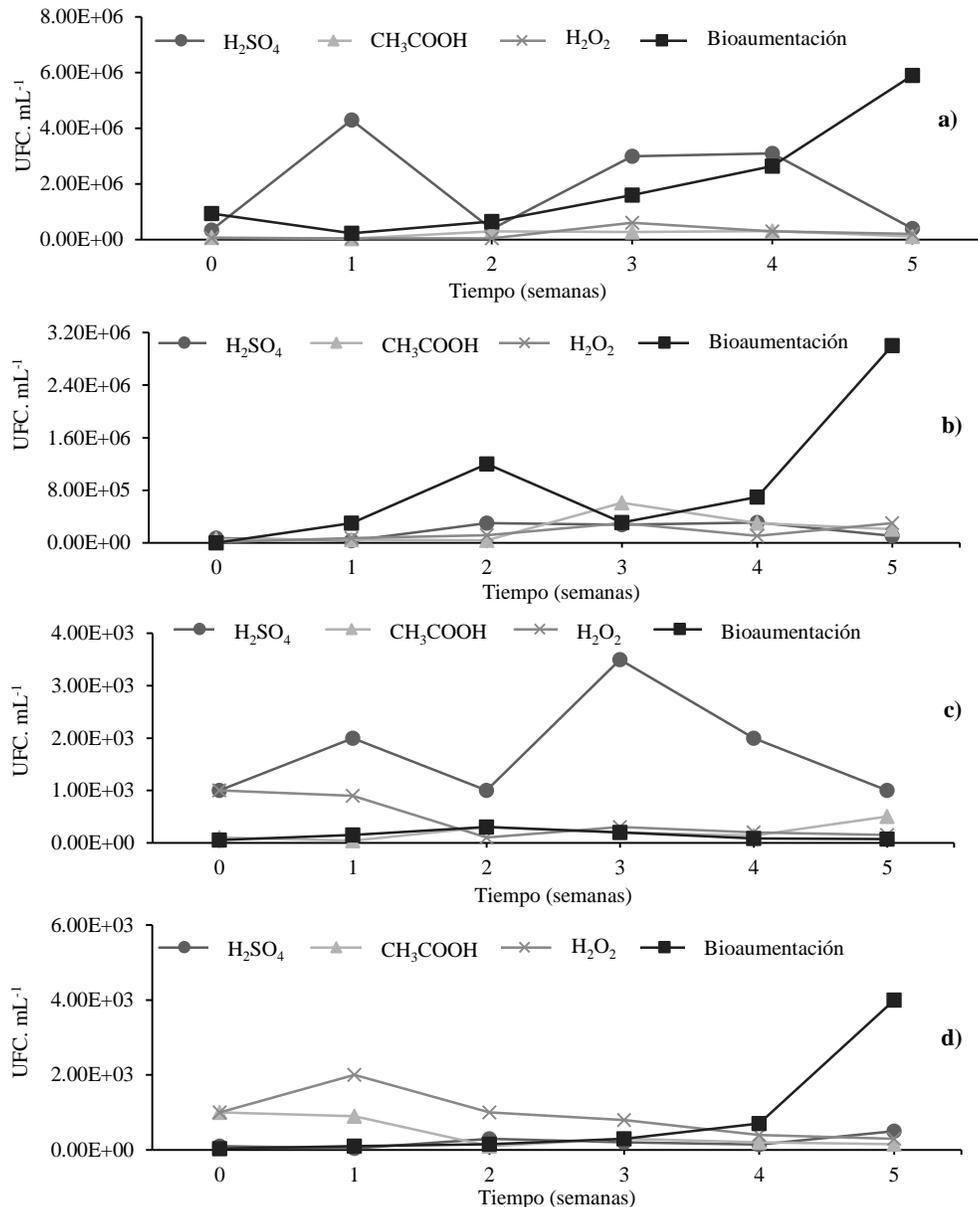


Fig. 5 Gráficos de crecimiento microbiano de a) Bacterias, b) Bacterias en consorcio, c) Hongos y d) Hongos en consorcio, en cada tratamiento: Bioaumentación, Oxidación química con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + Bioaumentación, Oxidación química con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + Bioaumentación y Oxidación química con CH<sub>3</sub>COOH + Bioaumentación, a partir de la semana 0 hasta la semana 5.

El mayor crecimiento poblacional microbiano fue en los tratamientos con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. En la Fig. 5a el crecimiento bacteriano se reflejó a las 504 h (X=6.9x10<sup>6</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>), en la Fig. c se registró el mayor crecimiento fúngico (X=4.0x10<sup>3</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>) a las 672 h de inoculación, mientras que, en las Fig. 5b y 5d, el mayor crecimiento poblacional se registró a las 840 h en el tratamiento con bioaumentación (3x10<sup>6</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>).

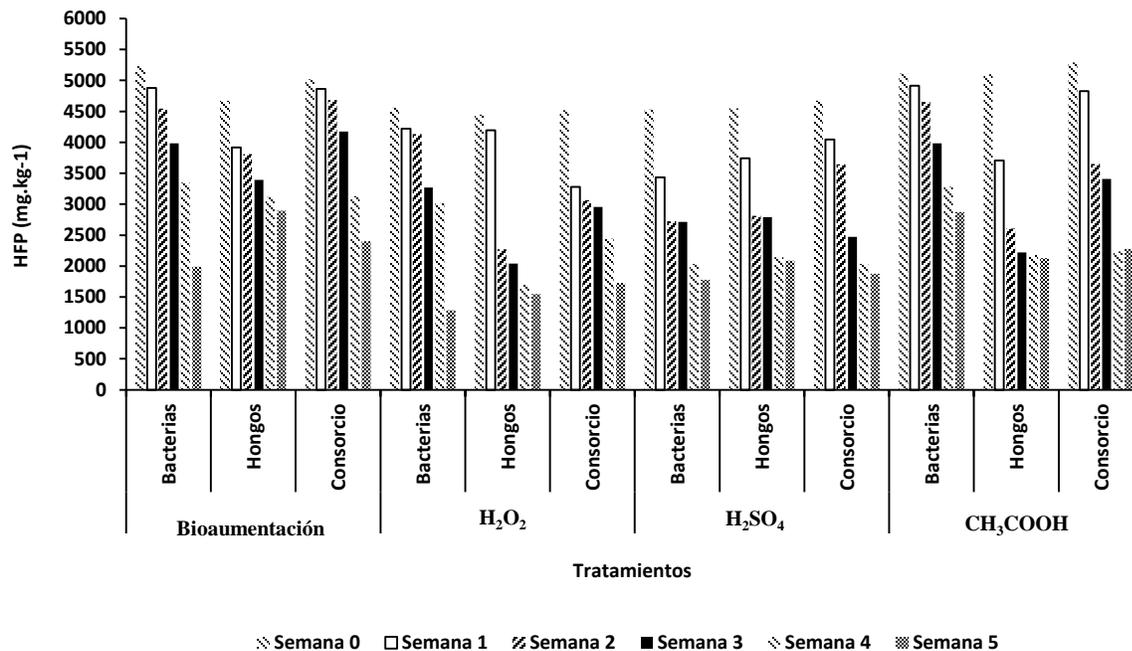
El hecho de que el menor crecimiento poblacional bacteriano se haya registrado en el tratamiento con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al final del experimento, puede ser debido a la agresividad de este ácido. La acidificación con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> es considerada por muchos técnicos una mala práctica agronómica debido a que atenta contra la vida del suelo, sin embargo, bajo ciertas condiciones, el H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> existe naturalmente en el suelo a concentraciones

muy bajas. El  $\text{H}_2\text{SO}_4$  se debe diluir en el agua de riego y ser aplicada a un determinado pH ya que al ingresar al suelo lo modificará gradualmente [27]. Por otra parte, las cepas bacterianas se reprodujeron mejor en los tratamientos con  $\text{H}_2\text{O}_2$ , de acuerdo a [28] menciona que el  $\text{H}_2\text{O}_2$  tuvo poco efecto negativo en las bacterias debido a la descomposición completa del  $\text{H}_2\text{O}_2$ , sin embargo, se observó un daño significativo de las bacterias debido al tiempo largo y lento de descomposición del  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

### 3.2.3 Degradación de Hidrocarburos Fracción Pesada (HFP)

Los resultados obtenidos del análisis de Hidrocarburos Fracción Pesada (HFP) muestran una disminución en la concentración de HFP desde la semana cero, justo después de la oxidación química, pues el suelo original de Otates reportó  $5\,163.24\text{ mg.kg}^{-1}$ . Los tratamientos en donde sólo se realizó la bioaumentación con los microorganismos, se registraron porcentajes de remoción aceptables en el caso de las bacterias (61.87%) y el consorcio (52.15%), mientras que los hongos no tuvieron tanta actividad al degradar solo un 37.89% de la HFP (Fig. 6a).

En el caso de los tratamientos con oxidación con peróxido, sin disminución de pH, se registró hasta un 71.81% de remoción con la adición de bacterias, mientras que los hongos solo ayudaron a reducir en un 65% el petróleo. El consorcio Hongos-Bacterias, en este tratamiento logró una remoción de hasta 61.77% de HFP (Fig. 6b).



**Fig. 6** Gráficos de la disminución de Hidrocarburos Fracción Pesada ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) de la semana 0, después de la inoculación, a la semana 5 en los tratamientos con a) Bioaumentación, b) Oxidación química con  $\text{H}_2\text{O}_2$  + Bioaumentación, c) Oxidación química con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  + Bioaumentación y d) Oxidación química con  $\text{CH}_3\text{COOH}$  + Bioaumentación.

Después de los tratamientos con peróxido, aquellos con la adición de ácido sulfúrico fueron los que presentaron los mejores porcentajes de remoción de hidrocarburos fracción pesada, las bacterias lograron reducir hasta un 60% de los contaminantes en condiciones de acidez, mientras que los hongos

se vieron un poco limitados al alcanzar apenas un 54% de remoción. La relación hongo-bacteria permitió que aún en condiciones ácidas se lograra un 59% de remoción de HFP.

En los tratamientos con ácido acético se reportaron los % de remoción menores, en el caso del tratamiento con bacterias apenas se logró un 43%, siendo los hongos quienes se adaptaron mejor logrando un 58% de remoción de HFP. En el caso de la oxidación sin agentes reductores de pH, la remoción de HFP es menos drástica en las primeras semanas, pero logró un mayor efecto al final de la prueba al alcanzar hasta un 71% de remoción.

Para hacer el cálculo de HFP se debe conocer el % de humedad presente en las muestras, pues el resultado se expresa en base seca. Este parámetro también se sigue para seguir humectando los suelos en las unidades experimentales con la finalidad de preservar la textura del suelo, pues el agua es necesaria para el transporte de los nutrientes dentro de la matriz del suelo. Al inicio de la prueba, el tratamiento de bioaumentación fue el que presentó menor porcentaje de humedad, sin embargo, el proceso de humectación semanal ayudó a mejorar y mantener los niveles de líquidos en las unidades experimentales oscilando entre el 21 y 30% (Tabla 5).

Tratamiento		% Humedad					
		Semana 0	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Bacterias	20.04	23.54	27.11	28.26	30.99	27.22
	Hongos	22.59	23.15	21.58	20.10	21.35	24.01
	Consorcio	21.52	23.30	35.84	28.78	24.47	24.32
CH <sub>3</sub> COOH	Bacterias	13.05	22.25	28.39	34.25	34.18	30.79
	Hongos	15.34	27.12	22.67	18.14	22.12	22.73
	Consorcio	14.73	23.72	24.60	27.73	24.79	25.07
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Bacterias	13.57	22.50	27.16	28.17	30.04	19.31
	Hongos	17.93	18.71	34.50	31.53	24.45	24.00
	Consorcio	13.57	23.72	31.97	31.16	33.18	26.19
Bioaumentación	Bacterias	6.93	17.16	28.22	28.41	32.08	24.93
	Hongos	5.99	19.09	28.83	23.07	23.67	25.05
	Consorcio	4.37	24.81	30.62	38.58	25.01	23.62

Tabla 5. Resultados del porcentaje de humedad (%Humedad) evaluados en los tratamientos establecidos desde la semana 0 (después de la oxidación química) a la semana 5.

#### 4. Conclusiones

Es importante analizar el efecto de la oxidación química previa a la bioaumentación en el resultado de la disminución en la concentración del petróleo en el suelo, lo cual podría indicar que la oxidación química en presencia de ácidos es más agresiva, permitiendo una caída rápida en la concentración de contaminantes, pero que reduce la remoción total del mismo al afectar al crecimiento microbiano. Los

microorganismos que generaron mayor remoción de petróleo en las unidades experimentales fueron las bacterias extremófilas, con la oxidación química con peróxido de hidrógeno sin agentes reductores de pH, esto se puede deber a el mantenimiento de las condiciones abióticas que permiten el crecimiento microbiano y su capacidad de degradación.

## 5. Referencias

- [1] PROFEPA, Informe Anual de actividades PROFEPA 2012, Procuraduría Federal de Protección al Ambiente, 2015.
- [2] Sarma, H, Islam, N F, Borgohain, P, Sarma, A, Prasad, M N V, "Localization of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals in surface soil of Asia's oldest oil and gas drilling site in Assam, northeast India: Implications for the bio-economy", *Emerging Contaminants* 2, 2016, 119-127.
- [3] Zavala-Cruz, J, Gavi-Reyes, F, Adams-Schroeder, R H, Ferrera-Cerrato, R, Palma-López, D, Vaquera-Huerta, H, Domínguez-Ezquivel, J M, "Derrames de petróleo en suelos y adaptación de pastos tropicales en el Activo Cinco Presidentes, Tabasco, México", *Terra Latinoamericana*. 23 (3), 2005, 293-302.
- [4] Sugiyama, I, Williams-Jones, A E, "An approach to determining nickel, vanadium and other metal concentrations in crude oil", *Analytica Chimica Acta* 1002, 2018, 18-25.
- [5] García-López, E, Zavala-Cruz, J, Palma-López, D, "Caracterización de las comunidades vegetales en un área afectada por derrames de hidrocarburos", *Terra Latinoamericana*, 24 (1), 2006, 17-26.
- [6] Fernández-Álvarez, P, Vila, J, Garrido, J M, Grifoll, M, Feijoo, G, Lema, J M, "Evaluation of biodiesel as bioremediation agent for the treatment of the shore affected by the heavy oil spill of the Prestige", *J. Hazard. Mater.*, 147, 2007, 914-922.
- [7] Jinlan, X, Fanxing, K, Shaohua, S, Qianqian, C, Tinglin, H, Yiwei, C, "Effect of Fenton pre-oxidation on mobilization of nutrients and efficient subsequent bioremediation of crude oil-contaminated soil", *Chemosphere*. 180, 2017, 1-10.
- [8] Soleimania, M, Farhoudib, M, Christensen, J, "Chemometric assessment of enhanced bioremediation of oil contaminated soils", *J. Hazard. Mater.*, 2013, 372- 381.
- [9] Gong, X B, "Remediation of weathered petroleum oil-contaminated soil using a combination of biostimulation and modified Fenton oxidation", *International Biodeterioration & Biodegradation* 70, 2012, 89-95.
- [10] Kim, I, Lee, M, "Pilot scale feasibility study for in-situ chemical oxidation using H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solution conjugated with biodegradation to remediate a diesel contaminated site", *J. Hazard. Mater.* 241-242, 2012, 173-181.
- [11] Kulik, N, Goi, A, Trapido, M, Tuhkanen, T, "Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by combined chemical pre-oxidation and bioremediation in creosote contaminated soil", *J. Environ. Manag.* 78, 2006, 382-391.
- [12] Li, J, Wang, C, Wang, D, Zhou, Z, Sun, H, Zhai, S, "A novel technology for remediation of PBDEs contaminated soils using tourmaline-catalyzed Fenton like oxidation combined with *P. chrysosporium*", *Chem. Eng. J.* 296, 2016, 319-328.
- [13] Tsai, T T, Kao, C M, Yeh, T Y, Liang, S H, Chien, H Y, "Remediation of fuel oil-contaminated soils by a three-stage treatment system", *Environ. Eng. Sci.* 26, 2009, 651-659.
- [14] Valderrama, C, Alessandri, R, Aunola, T, Cortina, J L, Gamisans, X, Tuhkanen T, "Oxidation by Fenton's reagent combined with biological treatment applied to a creosote-contaminated soil", *J. Hazard. Mater.* 166, 2009, 594-602.
- [15] Pignatello, J J, Oliveros, E, MacKay, A, "Advanced Oxidation Processes for Organic Contaminant Destruction Based on the Fenton Reaction and Related Chemistry", *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 36 (1), 2006, 1-84.

- [16] Baciocchi, R, D'Aprile, L, Innocenti, I, Massetti, F, Verginelli, I, "Development of technical guidelines for the application of in-situ chemical oxidation to groundwater remediation", *J. Clean. Prod.* 77, 2014, 47-55.
- [17] Chen, K, Chang, Y, Chiou, W, "Remediation of diesel-contaminated soil using in situ chemical oxidation (ISCO) and the effects of common oxidants on the indigenous microbial community: a comparison study", *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 91, 2016, 1877-1888.
- [18] Laurent, F, Cebren, A, Schwartz, C, Leyval, C, "Oxidation of a PAH polluted soil using modified Fenton reaction in unsaturated condition affects biological and physico-chemical properties", *Chemosphere* 86, 2012, 659-664.
- [19] Sutton, N B, Kalisz, M, Krupanek, J, Marek, J, Grotenhuis, T, Smidt, H, de Weert, J, Rijnaarts, H H M, van Gaans, P, Keijzer, T, "Geochemical and microbiological characteristics during in situ chemical oxidation and in situ bioremediation at a diesel contaminated site", *Environ. Sci. Technol.* 48, 2014, 2352-2360.
- [20] Yu, D Y, Kang, N, Bae, W, Banks, M K, "Characteristics in oxidative degradation by ozone for saturated hydrocarbons in soil contaminated with diesel fuel", *Chemosphere* 66, 2007, 799-807.
- [21] Huling, S G, Pivetz, B, "In-situ Chemical Oxidation", 2006, EPA/600/R-06/072.
- [22] Neyens, E, Baeyens, J, "A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique", *J. Hazard. Mater.* 98, 2003, 33-50.
- [23] Polli, F, Zingaretti, D, Crognale, S, Pesciaroli, P, D'Annibale, A, Petruccioli, M, Baciocchi, R, "Impact of the Fenton-like treatment on the microbial community of a diesel-contaminated soil", *Chemosphere*, 191, 2018, 580-588.
- [24] Madigan, M, Martinko, M, Stahl Ay Clark D, "Brock Biology of microorganisms" 13a. Edición, 2012, Pearson Higher education. España. 1152 pp
- [25] NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012, Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y lineamientos para el muestreo en la caracterización y especificaciones para la remediación.
- [26] Ortíz, V B, Ortíz, S C A, "Edafología". Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México, 1980, 344 p.
- [27] Sierra, C. ¿Es recomendable la aplicación de ácido sulfúrico en el suelo? 03-07-19, de EL MERCURIO Sitio web: <http://www.elmercurio.com/Campo/Noticias/Analisis/2017/10/17/Esrecomendable-la-aplicacion-de-acido-sulfurico-en-el-suelo.aspx>.