

Remediación de suelos contaminados: fundamentos y casos de estudio







Remediación

de suelos contaminados:
fundamentos y casos de estudio





Autores

José Alejandro Martínez Sepúlveda
Juan Manuel Sanchez-Yañez
Tania Volke-Sepúlveda
Victoria Eugenia Vallejo Quintero
Lina María Perez Junco
Paola Andrea Duarte Bautista
Merly Umbacía
Liliana Márquez-Benavides
José Villaseñor Camacho
Luis Felipe Castañeda García
Miguel Reinaldo Casallas



ean®

Ediciones

Catalogación en la fuente: Biblioteca Universidad EAN

Martínez Sepúlveda, José Alejandro

Remediación de suelos contaminados: fundamentos y casos de estudio / José Alejandro Martínez Sepúlveda, Juan Manuel, Sanchez-Yañez, Tania Volke Sepúlveda, Victoria Eugenia Quintero, Lina María Pérez Junco, Paola Andrea Duarte Bautista, Merly Umbacía, Liliana Márquez- Benavides, José Villaseñor Camacho, Luis Felipe Castañeda García, Miguel Reinaldo Casallas.

Descripción: 1a edición/Bogotá: Universidad EAN, 2019.

189 páginas

9789587566116 (Electrónico, 2019)

1. Descontaminación de suelos 2. Biorremediación 3. Livixación de suelos 4. Contaminación de suelos 5. Recuperación de suelos 6. Vitrificación de suelos.

I. Sanchez-Yañez, Juan Manuel II. Volke-Sepúlveda, Tania, Vallejo III. Quintero, Victoria Eugenia IV. Pérez Junco, Lina María, V. Duarte Bautista, Paola Andrea VI. Umbacía, Merly VII. Márquez-Benavides, Liliana VIII. Villaseñor Camacho, José IX. Castañeda García, Luis Felipe X. Casallas, Miguel Reinaldo

628.55 CDD23

Edición

Gerencia de Investigaciones

Gerente de Investigaciones

H. Mauricio Diez Silva

Coordinadora de Publicaciones

Laura Cediél Fresneda

Revisión de estilo

Juan Carlos Velásquez

Diagramación

Cesar Augusto Rubiano Moreno

Diseño de Carátula

César Augusto Rubiano Moreno

Publicado por Ediciones EAN 2019.

Todos los derechos reservados.

ISBNe: 9789587566116

Universidad EAN, Carrera 11 No. 78-47 Bogotá D.C., Colombia, 2019

© Prohibida la reproducción parcial o total de esta obra sin autorización de la Universidad EAN

Producido en Colombia

Contenido

	Pag.
Prólogo	9
PARTE I	
REMEDIACIÓN Y BIORREMEDIACIÓN	11
Capítulo 1.	
Mecanismos convencionales de remediación	13
Introducción	13
1.1 Tratamientos biológicos	16
1.2 Tratamientos fisicoquímicos	26
1.3 Tratamientos térmicos	30
Referencias	35
Capítulo 2.	
Mecanismos no convencionales de remediación de suelos contaminados	39
2.1 Sistemas no convencionales de remediación de suelos contaminados	39
2.2. Mecanismos no convencionales de biorremediación de suelos contaminados	44
Referencias	49
Capítulo 3.	
Técnicas de biorremediación	51
Resumen	51
3.1 Introducción	52
3.2 Desarrollo histórico de la biorremediación	54
3.3 Fundamentos de la biodegradación	56
3.4 Biorremediación	57
3.5 Métodos de biorremediación	58
3.6 La contaminación de suelos	75
3.7 Conclusiones	78
Referencias	81

PARTE II
NUEVAS TENDENCIAS EN REMEDIACIÓN DE SUELOS
Y CASOS DE ESTUDIO **85**

Capítulo 4.
Remediación y biorremediación de suelos con HC **87**

Resumen	87
4.1 Compuestos orgánicos contaminantes: el petróleo y sus derivados	88
4.2 Estrategias de biorremediación	92
4.3 Casos de estudio: bioestimulación para la remediación de suelos contaminados con TPH y HPA	96
4.4 Monitoreo biológico en biorremediación –énfasis: técnicas moleculares y actividades enzimáticas–	102
Referencias	110

Capítulo 5.
Lixiviación bacteriana: un método ecológico para la extracción de metales **121**

Resumen	121
5.1 Introducción y antecedentes	119
5.2 Bacterias para lixiviar minerales sulfurados refractarios de baja ley (Misurebal)	124
5.3 El género <i>thiobacillus</i> y otros grupos procariotes que lixivian Misurebal	125
5.4 Fuente de carbono, energía y nitrógeno para <i>thiobacillus</i> spp en la lixiviación de Misurebal	127
5.5 La lixiviación de pirita (Fe ₂ S ₃) por <i>thiobacillus</i> ferrooxidans y otros grupos	129
5.6 Aspectos importantes de la lixiviación bacteriana de Misurebal	130
5.7 Mecanismo directo de lixiviación de <i>thiobacillus</i> en Misurebal	131
5.8 Mecanismo indirecto para lixiviación del <i>thiobacillus</i> en Misurebal	133
5.9 Temperatura adecuada para la lixiviación del <i>thiobacillus</i> en CuFeS ₂	134
5.10 Factores en <i>thiobacillus</i> que afectan la lixiviación de Misurebal	135



5.11 Archeobacterias hipertermofílicas ácidofílicas y <i>thiobacillus</i> temperatura para la lixiviación de Misurebal	136
5.12 En <i>thiobacillus</i> importancia del tamaño de la partícula y el área superficial de los Misurebal	136
5.13 Conclusión	137
Referencias	139
Capítulo 6.	
Aplicación de barreras reactivas permeables para la eliminación de hidrocarburos en suelos contaminados	143
Introducción	143
6.1 Breve estado del arte	144
6.2 Las biobarreras en el mundo actual de la remediación de suelos	148
6.3 Variables que afectan a las biobarreras	150
6.4 Métodos utilizados en las BRP	152
6.5 Construcción de barreras reactivas	155
6.6 Instalaciones de las barreras reactivas	157
6.7 Consideraciones de construcción	159
6.8 Ventajas e inconvenientes	161
6.9 Evaluación de los costos	164
6.10 Conclusiones	166
Referencias	167
Capítulo 7.	
Electrorremediación de suelos contaminados con nitratos, fosfatos y arseniatos	169
Introducción	169
7.1 Contaminación del suelo por nitratos, fosfatos y arseniatos	170
7.2 Generalidades de la electrorremediación de suelos contaminados	173
7.3 Electrorremediación de suelos contaminados con nitratos	180
7.4 Electrorremediación de suelos contaminados con fosfatos	183
7.5 Electrorremediación de suelos contaminados con arsénico	185
7.6 Consumo de energía eléctrica	186
Referencias	189





Prólogo

a la obra

El rápido aumento de la población mundial, aunado al incremento en diversas actividades antropogénicas, ha conducido a la descarga de enormes cantidades de residuos orgánicos e inorgánicos en el ambiente, generando graves problemas ambientales, el deterioro de diversos ecosistemas y una serie de riesgos para la salud humana. En respuesta a la necesidad cada vez mayor de hacer frente a la contaminación del medio ambiente, se ha desarrollado una serie de tecnologías de remediación para tratar suelos, lixiviados, aguas residuales y aguas subterráneas contaminadas.

Esta obra compila una detallada revisión de las principales tecnologías de remediación fisicoquímicas y biológicas utilizadas para el tratamiento de suelos contaminados por diferentes tipos de contaminantes. Aunque actualmente existen varias publicaciones en el tema de la remediación de suelos, la mayoría se encuentra disponible solamente en inglés. Este escrito ofrece una actualización de las cuestiones fundamentales y nuevas aplicaciones de las tecnologías de remediación; contribuye además a la comprensión de tecnologías tanto tradicionales como de reciente desarrollo, presentando sus principios básicos y revisando algunos casos de estudio. Los capítulos de este libro están escritos en un nivel accesible, de manera que puedan ser consultados fácilmente como una guía, tanto por estudiantes como por científicos calificados.

La información es presentada en dos partes generales. La primera parte consta de una revisión de las principales características, ventajas y desventajas, así como de los sistemas de tratamiento empleados en las tecnologías de remediación más comerciales hasta hoy. Posteriormente se revisan tecnologías novedosas, de

reciente desarrollo, que buscan ampliar o mejorar la eficiencia de las opciones de tratamiento más comunes. Entre estas se presentan estrategias cuyo potencial para la remediación de suelos ha sido demostrado, como la electrorremediación y la fitorremediación asistida por endófitos, así como la aplicación de biorreactores y humedales artificiales, las cuales permiten acelerar y mejorar los procesos convencionales de remediación. En la segunda parte, se presenta una reseña sobre sistemas de remediación de eficacia demostrada, pero aún utilizados con ciertas limitantes. Se revisan algunas técnicas utilizadas para el monitoreo de contaminantes y casos particulares de estudio sobre temas como la biorremediación y la aplicación de barreras reactivas para el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos. En los capítulos siguientes, se detallan los principios, mecanismos de control y principales aplicaciones de la electrorremediación y de la biolixiviación de minerales para la recuperación de metales de valor comercial.

Es así que el contenido de este libro puede servir como una guía detallada y completa acerca de las tecnologías de remediación disponibles para el tratamiento de suelos contaminados con contaminantes orgánicos e inorgánicos que, muchas veces, se encuentran dispersos en enormes áreas, generando graves problemas en distintos ecosistemas. Los autores de esta obra son científicos expertos en sus campos y los capítulos fueron revisados de forma crítica por al menos dos revisores externos. Agradecemos tanto a los autores de cada capítulo como a los revisores, sin cuya intervención la conclusión de este libro no habría sido posible.

Tania Volke Sepúlveda



PARTE I

REMEDIACIÓN Y BIORREMEDIACIÓN





◆ — Capítulo 1 — ◆

Mecanismos convencionales de remediación

José Alejandro Martínez S.
Miguel Reinaldo Casallas O.

Introducción

El suelo es un recurso que ha sido usado con el fin de solventar diversas necesidades a través de diferentes actividades de origen antropogénico, como la extracción de minerales, obtención del petróleo, ganadería extensiva, producción agrícola, entre otros. La matriz suelo es muy importante, ya que sirve de soporte mecánico para las especies vegetales y es fuente de alimento para todos los seres vivos, es por ello que se está haciendo evidente la necesidad de realizar distintos análisis de impacto ambiental que aporten resultados importantes para tomar medidas tendientes a la disminución de los impactos negativos en esta matriz, así como a la mitigación y recuperación de los impactos ya ocasionados o no evitables.

La remediación consiste en un conjunto de técnicas que tienen como objetivo hacer la recuperación de suelos o cuerpos de agua contaminados, lo anterior con miras a restaurar las características de ciertas propiedades de la matriz ambiental, de tal modo que se conserven o se mejoren sus características, manteniendo el equilibrio ecosistémico y evitando que se genere un peligro para animales, plantas y seres humanos; en algunos casos se debe realizar un tren de tratamientos para alcanzar el objetivo principal de la remediación.

Para llevar a cabo la remediación de un suelo, es necesario conocer las condiciones que tiene, pues estas varían de acuerdo a la zona en que se encuentre localizado, además de aspectos

climáticos y meteorológicos tales como: pluviosidad, radiación solar, etc., variables que son relevantes para caracterizar la zona que se va a intervenir, así como las condiciones de los procesos que se van a usar, también es importante conocer el contaminante a tratar, ya que esto es significativo teniendo en cuenta que no todos poseen las mismas características fisicoquímicas y es preciso saber sobre el comportamiento de este frente al medio en el que se presenta la contaminación u afectación, una vez culminada esta fase de análisis preliminares de condiciones del territorio y de características de la sustancias, se puede tomar la decisión del método de remediación adecuado. La efectividad del tratamiento empleado se encuentra ligada tanto a las características del suelo como a las del contaminante, por ello es conveniente caracterizarlos al iniciar una intervención (Volke y Velasco, 2002).

Los tratamientos a emplear se pueden clasificar en tres tipos: tratamientos biológicos, fisicoquímicos y térmicos. Los tratamientos de índole biológico se refieren al empleo de organismos entre los que se encuentran plantas, hongos y bacterias, estos tratamientos buscan destruir o convertir el contaminante en sustancias más simples, de tal modo que el tratamiento para esa nueva sustancia sea más fácil o que se convierta en un compuesto menos contaminante. La segunda clasificación busca el empleo de las propiedades químicas o físicas del medio para contener, separar o destruir la contaminación presente en esta clase de tratamientos, el objeto de los tratamientos físicos es cambiar de matriz el contaminante, por ejemplo, si este se encuentra en la matriz suelo por medio del arrastre por vapor hay que cambiarlo a la matriz aire. Finalmente, los tratamientos térmicos se refieren a separar o inmovilizar los contaminantes, lo anterior se logra por medio de la destrucción del contaminante presente en el suelo, desarrollando una oxidación térmica completa.

Los tratamientos de remediación también se pueden clasificar de acuerdo a si son convencionales o no convencionales; los primeros se refieren a aquellos tratamientos que han sido probados fuera de los laboratorios y plantas piloto, además estos poseen en sus procedimientos un grado de tecnificación y se encuentran disponibles en la región en la cual se requieren, los tratamientos no convencionales son aquellos cuyas bases se encuentran en los

fundamentos teóricos de los convencionales, pero estos buscan aumentar las eficiencias de remoción y disminuir los tiempos de remoción frente a los tratamientos convencionales.

Por otro lado, los tratamientos se pueden efectuar tanto *in situ*, es decir, directamente en el sitio, o *ex situ*, que significa fuera del área problema.

A continuación, en la tabla 1, se mencionan algunas ventajas y desventajas de los tratamientos biológicos, fisicoquímicos y térmicos.

Tabla 1. Ventajas y desventajas de las tecnologías de remediación.

	Ventajas	Desventajas
Tratamientos biológicos	Efectividad en cuanto a costos.	Mayores tiempos de tratamiento.
	Tecnologías más benéficas para el ambiente.	Necesaria la verificación de la toxicidad de intermedios y productos.
	Generalmente los contaminantes son destruidos.	No pueden emplearse si el suelo no favorece el crecimiento microbiano.
	Se requiere un mínimo de o ningún tratamiento posterior.	
Tratamientos fisicoquímicos	Son efectivos en cuanto a costos.	Los residuos generados por técnicas de separación, deben tratarse o disponerse: aumento en costos y necesidad de permisos.
	Pueden realizarse en periodos cortos.	Los fluidos de extracción pueden aumentar la movilidad de los contaminantes: necesidad de sistemas de recuperación.
	El equipo es accesible y no se necesita de mucha energía ni ingeniería.	
Tratamientos térmicos	Ventajas	Es el grupo de tratamientos más costoso.

Fuente. Adaptado de Volke y Velasco, 2002.

Dentro de los tratamientos biológicos convencionales se encuentran técnicas como el *landfarming* y el compostaje, dentro de los fisicoquímicos se encuentran: absorción por vapor, arrastre por vapor, oxidación química y electrocinética, por parte de los térmicos se hallan la incineración, desorción térmica y pirólisis, entre otros.

1.1 Tratamientos biológicos

1.1.1. Generalidades.

Según algunos autores, la biorremediación surge de la necesidad de disminuir el impacto ambiental negativo causado por derrames de hidrocarburos en los diferentes ambientes –agua y suelo– usando microorganismos, plantas o enzimas de manera estratégica, con el fin de restaurar la calidad ambiental, de acuerdo con las necesidades y dimensiones del problema (Pardo, Perdomo y Benavides 2004). Sin embargo, la biorremediación en la actualidad es ampliamente usada para tratar otro tipo de sustancias diferentes a los hidrocarburos, como pesticidas, PCB e incluso metales pesados en bajas concentraciones; en Cervantes *et al.*, (2006) se citan autores que han logrado la remoción del pesticida 1,1,1-Tricloro-2,2'BIS (P-Clorofenil) Etano (DDT), alcanzando eficiencias del 94 %; de la misma forma, contaminantes como los metales pesados pueden ser tratados también mediante la biorremediación como lo muestra un estudio de Cervantes *et al.*, (2006).

Valderrama (2002) argumenta que:

La biorremediación ha demostrado ser complemento costeable y benéfico para ser usado en combinación con métodos químicos y físicos tradicionales como el composteo, la incineración y la extracción con solventes, en el tratamiento de desechos y en la descomposición del medio ambiente (párr. 14).



A continuación, en la tabla 2 se mencionan algunas tecnologías de remediación de suelos contaminados.

Tabla 2. Tecnologías de remediación de suelos contaminados.

Remediación biológica	Remediación química
Biorremediación de suelos	Electroquímica
Bioventilación de suelos	Lavado de suelos
Fitorremediación de suelos	Estabilización
Fitoacumulación	Oxidación química
Fitodegradación	
Fitoestabilización	
Humedales artificiales	
Reactores aerobios	
Reactores anaerobios	
Remediación física	Remediación térmica
Mezcla	Incineración de suelos
Excavación	Vitrificación

Fuente. Adaptado de Kusic, 2012, citado por Medjimurec, 2014.

1.1.2. Factores relevantes para la biorremediación.

Típicamente los procesos de biorremediación se realizan mediante técnicas que tienen características en común, como el compostaje y el *landfarming*, pero aun cuando son similares estas tienen una diferencia que radica en la estimulación de la actividad biológica, ya que en el caso del compostaje esto se hace por medio de la adición de residuos, ya sean de origen animal o vegetal –estiércol, restos de madera, desechos orgánicos, entre otros– de tal manera que estos propicien una porosidad óptima y un equilibrio en la relación carbono-nitrógeno, mientras que la segunda se desarrolla mediante la adición de nutrientes, minerales y en algunos casos de la inoculación de otros microorganismos. Otro factor que diferencia estas dos técnicas es el hecho de que el compostaje, además de remover o eliminar el contaminante, busca emplear el suelo tratado para la recuperación de otro, mientras que el objetivo del *landfarming* es únicamente eliminar el contaminante.

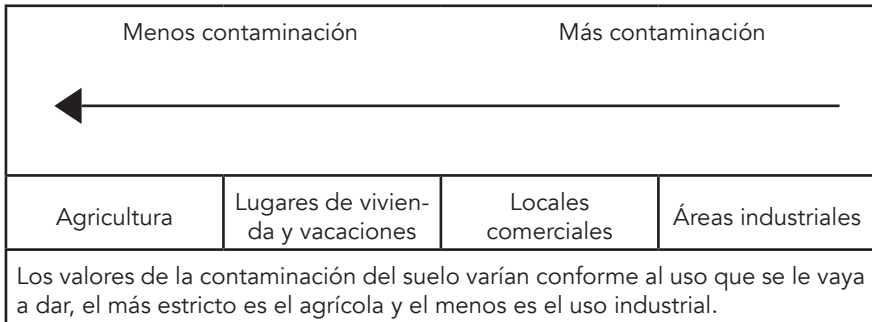
De esta forma, el compostaje y el *landfarming* son tratamientos que han sido empleados desde hace varios años de forma masiva, podrían considerarse como una «primera generación» de procesos de biorremediación, a la cual se podrían unir otros procesos que se han desarrollado a partir de esas bases teóricas y que podrían denominarse como de «segunda generación», en el marco de estas últimas, se encuentran por ejemplo los reactores aerobios y anaerobios, sistemas que son usados para la degradación de la materia orgánica, los humedales artificiales, unidades especiales para el tratamiento de aguas residuales e hidrocarburos, entre otros, todos orientados a incrementar la capacidad o la eficiencia de remoción o disminuir los tiempos de tratamiento y operación de los sistemas convencionales.

En suelos, la biorremediación consiste en la descontaminación de la matriz por medio de los microorganismos, ya que debido a la capacidad degradadora que tengan, se van a llevar a cabo distintos procesos, los microorganismos emplean los compuestos contaminantes como sustrato o alimento, con el fin de transformarlo en productos inocuos (Vila et al., 2014).

Una de las alternativas para desarrollar procesos de biorremediación no convencionales, es el uso de humedales construidos (HC), los cuales son empleados para el desarrollo de tratamientos de aguas superficiales, residuos de aguas municipales, aguas residuales domésticas, efluentes de refinería, drenaje de minas o lixiviados de vertedero (EPA, 2001).

Un factor relevante al momento de llevar a cabo un proceso de descontaminación en un suelo es tener claro el uso que se le va a dar a este una vez se lleve a cabo la recuperación, el suelo se debe «limpiar» conforme a diferentes requerimientos, dentro de ellos se encuentran los estipulados en la figura 1, la cual enseña los principales. Esta tabla nos muestra que el grado de contaminación varía conforme al uso que se le vaya a dar, pues no es lo mismo emplear un suelo para la agricultura que para hacer construcciones debido a que las condiciones que debe cumplir son distintas.

Figura 1. Valores de la contaminación de acuerdo con el uso del suelo.

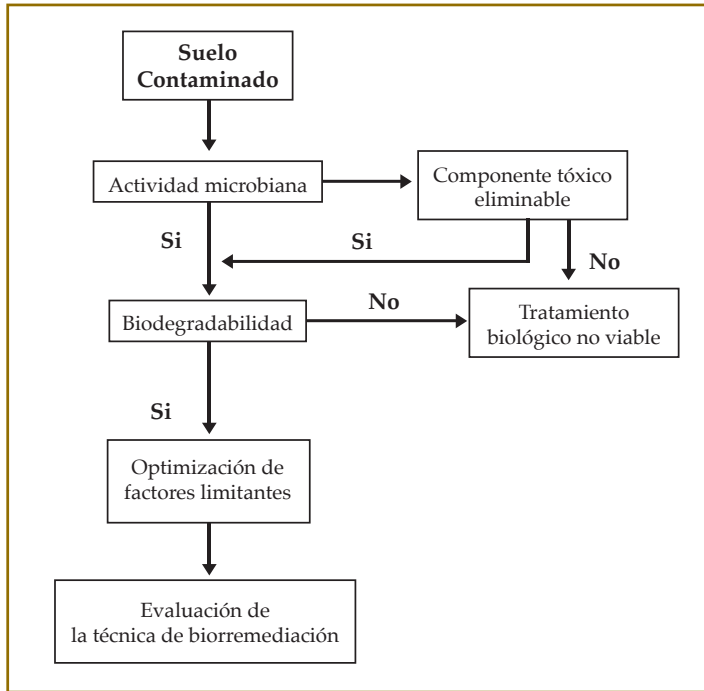


Fuente. Adaptado de Kistic, 2012, citado por Medjimurec, 2014.

Para desarrollar un proceso de biorremediación, antes se deben realizar unos pasos en los cuales hay cabida para distintas disciplinas, como lo son: químicos ambientales, microbiólogos, ingenieros e hidrogeólogos; los profesionales en estas áreas, deben hacer un trabajo mancomunado (Viñas, 2005). Los pasos a seguir son los siguientes (Figura 2):

- a. Identificar el contaminante a tratar, tipo de suelo, es decir, características físicas y químicas, estudio geotécnico e hidrogeológico.
- b. Montaje de ensayos escala de laboratorio.
- c. Montaje de pruebas de laboratorio.
- d. Implementación de la tecnología de biorremediación elegida.

Figura 2. Diagrama de flujo de los pasos previos necesarios para la implementación de la biorremediación de un suelo contaminado.



Fuente. Viñas, 2005.

Se debe realizar una prueba microbiológica con el fin de cuantificar la población de microorganismos presentes y de esta manera determinar la proporción con respecto a la cantidad de microbiota heterótrofa endémica del suelo a tratar, por otro lado, es necesario identificar si los microorganismos presentes son metabólicamente activos o podrían llegar a serlo en escenarios de bioestimulación. Luego de que hayan sido caracterizados el suelo, el contaminante y los microorganismos, es pertinente realizar ensayos de biodegradabilidad, en caso de que el contaminante sea biodegradable realizar la evaluación de los factores físicos, químicos y biológicos que afectan la degradación por medio de microcosmos (Viñas, 2005).



Factores que afectan la biorremediación

La biodegradación de un contaminante se encuentra sujeta a diversos factores como lo son: presencia de microorganismos potencialmente activos, estructura molecular del contaminante, concentración, biodisponibilidad, pH, temperatura, humedad del suelo y existencia de nutrientes (N Y P) (Viñas, 2005).

Biodisponibilidad

Esta depende de la capacidad de transporte, del metabolismo que tenga la población bacteriana y de la transferencia de masas; la relación de los factores antes mencionados se conoce como biodisponibilidad. La transferencia de masas resulta ser una limitante para efectos de la biodegradación, dado que los microorganismos que están expuestos a un sinnúmero de contaminantes orgánicos suelen poseer grandes capacidades degradativas. Un factor que afecta de manera negativa la biodegradación es el envejecimiento o *ageing*, término que se refiere a pérdida de la biodegradabilidad a lo largo del tiempo (Viñas, 2005).

pH

Las fluctuaciones en el pH del suelo pueden afectar seriamente la actividad biológica que se desarrolle, además puede influir en la solubilización del contaminante en la matriz. Romero *et al.* (2008) afirman que el pH afecta la biodisponibilidad de las fuentes de carbono y energía, por otro lado manifiestan que a un pH extremadamente alcalino o ácido la degradación puede ser lenta.

Temperatura

Es un factor ambiental importante, ya que afecta en gran medida tanto la actividad biológica como la tasa de degradación, procesos de biorremediación pueden llevarse a cabo en un rango de 20 a 40 °C, sin embargo, para climas tropicales es mejor manejar una temperatura de 30 a 35 °C (Romero *et al.*, 2008).

Según un estudio realizado por Pardo *et al.* (2004), quienes trabajaron con la adición de fertilizantes inorgánicos con el objeto de degradar petróleo en el suelo, la temperatura más apropiada para desarrollar procesos de biorremediación se encuentra dentro del rango 30 a 40 °C, a este nivel la actividad enzimática es incrementada, lo que genera unos altos procesos de degradación.

Humedad

La biodegradación se puede ver afectada en gran medida a causa de la humedad, especialmente en suelos que se ven altamente afectados por oscilaciones en cuanto a contenido de agua se refiere, no obstante, el contenido de humedad requerido varía conforme al suelo a emplear, además del tipo de contaminante y si la degradación es bajo condiciones aerobias o anaerobias (Viñas, 2005).

Para los microorganismos, el agua es un factor importante debido a que opera como medio de transporte de oxígeno y nutrientes; sin embargo, para el género de *pseudomonas spp* por ejemplo, se requiere poca humedad para su crecimiento y un exceso es perjudicial para la biodegradación.

Nutrientes

Nutrientes como el fósforo y el nitrógeno son limitantes para el crecimiento bacteriano, pues son importantes para el metabolismo, incremento y actividad de los microorganismos como la *pseudomonas spp*, por lo anterior, estos deben estar disponibles para ser asimilados y sintetizados; cabe resaltar que las concentraciones también deben ser monitoreadas, pues elevadas cantidades pueden llegar a disminuir la eficiencia y el desarrollo adecuado de la biorremediación (Romero *et al.*, 2008).



1.1.3. *Landfarming*.

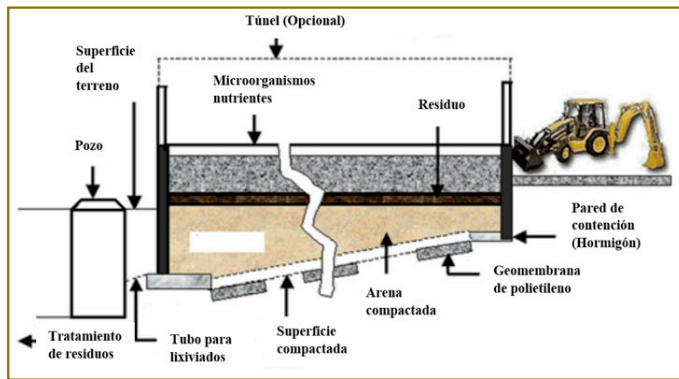
Es una técnica de índole biológica, que se practica desde hace un siglo, empleada comúnmente para la reducción de la concentración de hidrocarburos de petróleo y desechos de la industria petrolera. El método involucra la excavación y extensión del suelo contaminado en una capa que no sobrepase los 1.5 m, el objetivo es incrementar la actividad biológica por medio de la aireación, adición de nutrientes y minerales, además de agua. La aireación del suelo se realiza por medio del arado, en ocasiones de manera manual (Universidad de Alcalá, 2007).

Es común que para aumentar la actividad biológica se lleven a cabo introducciones de bacterias degradadoras autóctonas, para lo cual se debe hacer una identificación de las que se encuentran presentes en el suelo objeto de estudio, debido a que las que son halladas tienen la capacidad metabólica de desarrollarse bajo las condiciones fisicoquímicas, por lo tanto tendrán un mejor desempeño (Vargas, Cuéllar y Dussán, 2004).

La técnica *landfarming* requiere que el suelo se encuentre muy bien mezclado, de tal modo que la superficie de contacto con los microorganismos y los compuestos orgánicos sea directa, adicionalmente es necesario poseer una oxigenación adecuada, de manera que la degradación se desarrolle en condiciones aerobias (Universidad de Alcalá, 2007).

A continuación se muestra un modelo común de un tratamiento por el método *landfarming* y la secuencia que se sigue para desarrollarlo (Figura 3).

Figura 3. Unidad *landfarming* de tratamiento típica *ex situ*.



Fuente. Rebel, s.f.

1.1.4. Compostaje.

Se emplea para elaborar procesos de recuperación de suelos teniendo en cuenta condiciones de humedad, temperatura, pH, aireación y relación carbono nitrógeno (C/N) (Farías, Ballesteros y Bendeck, 1999). El compostaje es una metodología que consiste en estimular la actividad degradadora aerobia y anaerobia, que busca transformar compuestos orgánicos tóxicos en sustancias inocuas (Universidad de Alcalá, 2007).

Existe un compostaje denominado cerrado en el que se alcanzan temperaturas mayores a 70 °C, con el objetivo de eliminar patógenos. El sistema debe ser supervisado por controladores, lo cual permite que condiciones como la humedad, la temperatura y las mezclas sean monitoreadas permanentemente con miras a incrementar la actividad biológica y la degradación de contaminantes. El compostaje tiene dos objetivos dentro de la biorremediación: el primero de ellos es maximizar la eliminación del contaminante; el segundo es producir un compost capaz de restaurar suelos (Ñustez, 2012).

En la figura 4 se observa una pila de compost con el respectivo tubo de aireación, este se encuentra ubicado en un invernadero para controlar condiciones como: temperatura, humedad, entre otras; más adelante se muestra el proceso y los pasos requeridos para llevar a cabo un proceso de compostaje (Figura 5).

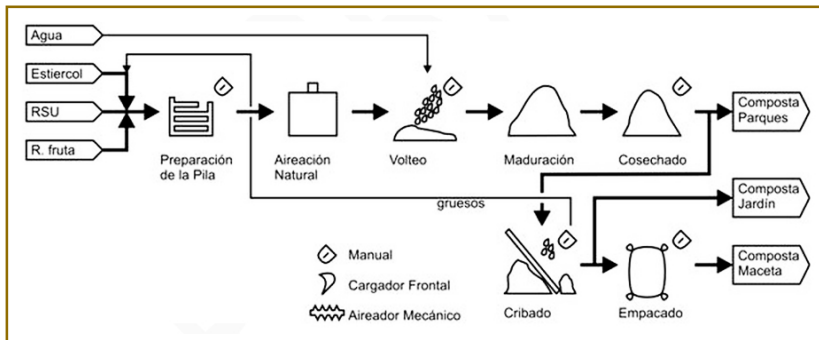


Figura 4. Pila de compost



Fuente. UESP, 2010.

Figura 5. Proceso de operación manual para la elaboración de compost.



Fuente. Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, s.f.

La diferencia entre la técnica *landfarming* y el compostaje radica en que el primero además de usar microorganismos autóctonos emplea también microorganismos que son adicionados o introducidos al suelo a tratar, mientras que el compostaje solo utiliza los microorganismos presentes en el suelo, otra diferencia resaltable es el hecho de que el compost busca además de eliminar el contaminante del suelo, emplear el producto resultante del compostaje para la recuperación de otros suelos contaminados, mientras que el tratamiento *landfarming* solo busca la eliminación del contaminante.

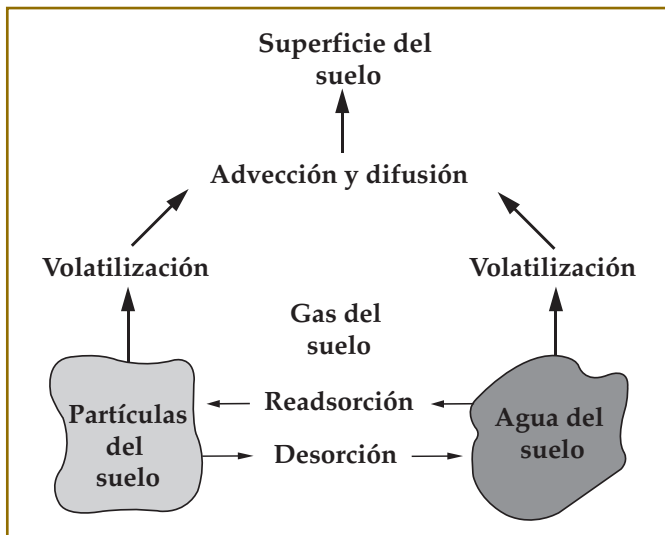


1.2 Tratamientos fisicoquímicos

1.2.1. Absorción por vapor del suelo.

Técnica empleada para la eliminación de Compuestos Orgánicos Volátiles (COV), se desarrolla en la zona insaturada del suelo, la cual se encuentra sobre el nivel freático o de suelos que han sido perturbados producto de excavaciones. La extracción por vapor consiste en hacer que una corriente de aire caliente o de vapor pase por el suelo, de tal modo que el contaminante pase de la matriz suelo a la matriz aire hasta que llegue a un nivel de saturación de la corriente gaseosa, como se puede ver en a continuación (Lagrega, Buckingham y Evans, 1996).

Figura 6. Modelo esquemático de la extracción por vapor.

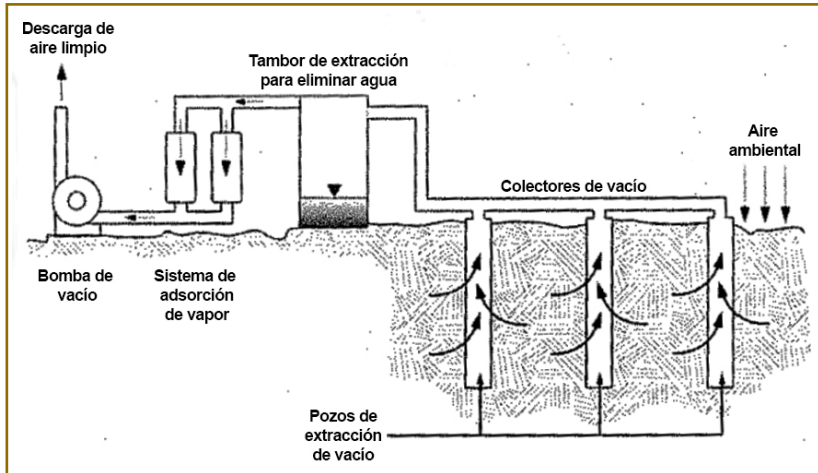


Fuente. Lagrega et al.,1996.

Cabe resaltar que este método tiene variaciones conforme si se emplea *in situ* o *ex situ*, ya que varían condiciones como espacio disponible y facilidad de instalación. Comúnmente, antes de efectuar la disposición del vapor a la atmósfera, se lleva a cabo una extracción de la humedad de los gases presentes en el suelo

y un tratamiento a la fase vapor posterior (Lagrega et al., 1996). En la figura 7 se muestra el modelo esquemático de un sistema de absorción por vapor.

Figura 7. Esquema de un sistema de absorción por vapor.



Fuente. Lagrega et al., 1996.

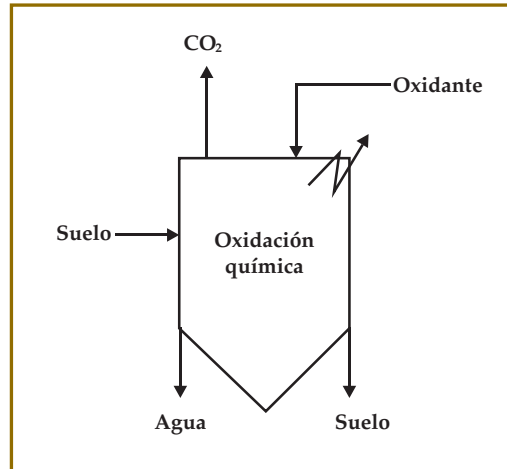
1.2.2. Oxidación química.

Este método consiste en hacer una transformación al contaminante por medio de la adición de un oxidante, el producto resultante de la implementación de la oxidación química (OQ) podrá ser tratado posteriormente mediante métodos biológicos. La oxidación química es útil para hacer la modificación de una amplia gama de moléculas orgánicas tales como: COV clorados, mercaptanos, fenoles y moléculas inorgánicas como cianuro Lagrega et al. (1996).

Típicamente esta tecnología es usada para tratar aguas residuales y residuos peligrosos líquidos, aunque también puede ser empleada para suelos contaminados. Los suelos pueden ser excavados y tratados *ex situ*, pero dado el costo que implica la movilización y el traslado, la mayoría de estos tratamientos se llevan a cabo *in situ*. El éxito de la oxidación química en suelos radica en la capacidad de contacto entre el contaminante y el suelo, pues

ello se encuentra en función de propiedades específicas como la permeabilidad más que de un proceso químico (Lagrega *et al.*, 1996). A continuación se muestra el esquema de un dispositivo para llevar a cabo la oxidación química.

Figura 8. Esquema de un dispositivo para la oxidación química.



Fuente. Elaboración propia.

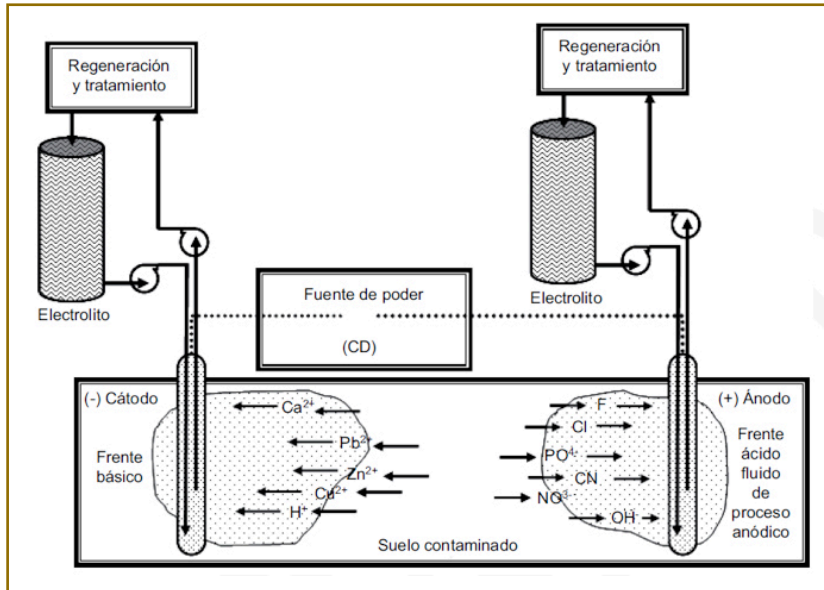
1.2.3. Electrocinética.

En este método se aplica una carga al suelo de baja intensidad y se introducen electrodos que favorecen la movilidad del agua, iones y pequeñas partículas cargadas. La oxidación causada al agua contribuye a la generación de protones H^+ , que se movilizan hacia el cátodo creando un frente ácido, lo cual beneficia la desorción de cationes del suelo y ocasiona la disolución de contaminantes precipitados, como por ejemplo carbonatos e hidróxidos, por otro lado, los iones OH^- ocasionan la precipitación de los metales (Universidad de Alcalá, 2007).

Durante la electrocinética, los contaminantes pueden ser transportados por: electromigración, electroósmosis, electrolisis y electroforesis. La técnica resulta útil para suelos que presentan una permeabilidad baja y es precisa para metales solubles o complejados

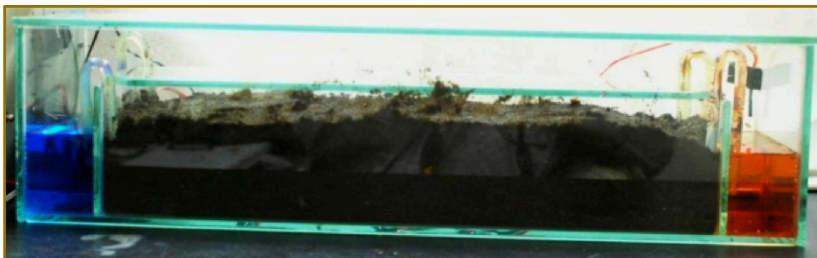
en forma de hidróxidos, óxidos y carbonatos (Universidad de Alcalá, 2007). En la figura 9 se presenta un esquema básico de un sistema de electroremediación, y en la figura 10 se enseña un sistema de electroremediación puesto en marcha.

Figura 9. Esquema básico de la electroremediación.



Fuente. De la Rosa, Teutli y Ramírez, 2007.

Figura 10. Suelo en proceso de electroremediación.



Fuente. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, s.f.

1.3 Tratamientos térmicos

Los tratamientos térmicos podrían considerarse como un método físico-químico más, puesto que termina siendo una oxidación mediada por grandes cantidades de energía. La principal ventaja de los tratamientos térmicos es su rapidez, que va ligada al alto costo que tiene este tipo de técnicas debido al uso intensivo de energía, los costos, además, están vinculados a los equipos y a la mano de obra que se debe involucrar para llevar a cabo un proceso de esta índole, que incluyen la destrucción, separación e inmovilización del contaminante (Volke y Velasco, 2002). Los tratamientos térmicos son empleados para realizar la descontaminación de compuestos como aceites, hidrocarburos clorados, PCBs y dioxinas petróleo (Universidad de Alcalá, 2007).

1.3.1. Incineración.

Proceso de oxidación que se lleva a cabo a altas temperaturas, los residuos resultantes son la escoria y las cenizas. Los incineradores poseen una cámara que se denomina principal, en la cual se incineran los desechos y un posquemador que busca la eliminación máxima de los subproductos orgánicos, se mantiene a una temperatura de 1100 °C durante un tiempo de dos segundos (FAO, 1996).

Se realiza con el objetivo de quemar y volatilizar compuestos orgánicos y halogenados en presencia del oxígeno, la eficiencia de este tratamiento bajo operaciones adecuadas alcanzan el 99.9 %, pero en la gran mayoría de los casos los gases producto de la incineración requieren un tratamiento antes de ser emitidos al ambiente (Volke y Velasco, 2002).

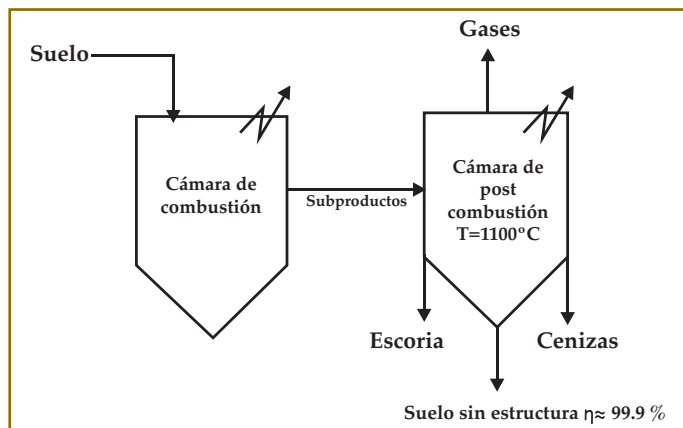
La incineración se emplea para tratar explosivos, gases de combustión, BPC y dioxinas (Universidad de Alcalá, 2007). La reutilización del suelo la mayoría de veces es casi imposible, puesto que esta clase de tratamientos destruyen la estructura del mismo (Volke y Velasco, 2002). En la tabla 3, se mencionan algunas ventajas y desventajas que se pueden tener conforme al tipo de incinerador que se emplee, y en la figura 11 se observa el esquema de un sistema de incineración.

Tabla 3. Ventajas y desventajas de acuerdo al tipo de incinerador.

	Tipo de incinerador			
	Cámaras múltiples	Aire controlado	Horno rotativo	Parrillas móviles
Ventajas	<ul style="list-style-type: none"> -Simples de operar. -Viables para pequeños generadores. -Eficaz para residuos variados. 	<ul style="list-style-type: none"> -Baja emisión de material particulado para ciertos residuos. -Requiere poco espacio. -Bajo costo inicial. 	<ul style="list-style-type: none"> -Muy versátil. -Operación simple. -Ajuste fácil del tiempo de residencia. -Buena reducción de masa. 	<ul style="list-style-type: none"> -Recuperación de energía. -Bajo costo inicial. -Puede generar poco material particulado.
Desventajas	<ul style="list-style-type: none"> -Mano de obra intensa. -No procesa líquidos ni lodos. -Alto desgaste del material. 	<ul style="list-style-type: none"> -Escasa generación de cenizas. -Sensible a variaciones en el residuo. 	<ul style="list-style-type: none"> -Alto costo inicial. -Generación de material particulado. -Elevado exceso de aire. 	<ul style="list-style-type: none"> -Inadecuado para residuos variados.

Fuente. CEMPRE Uruguay, 1998.

Figura 11. Esquema de la incineración.



Fuente. Elaboración propia.

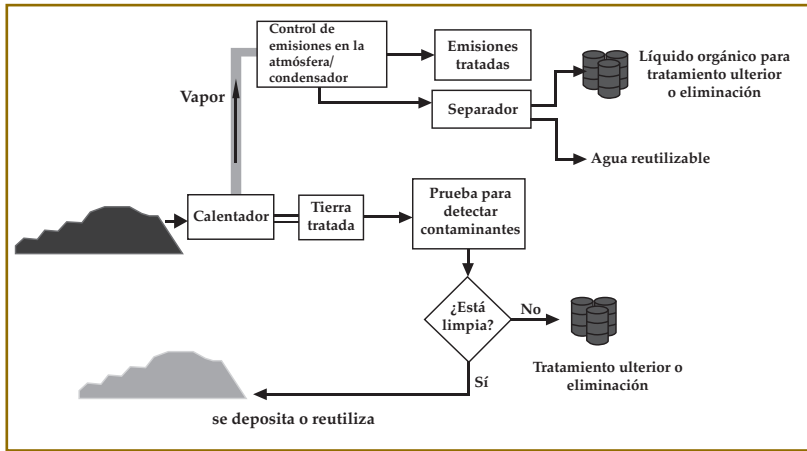
Uno de los problemas del uso de la incineración es la pérdida de actividad microbiana en el suelo, por lo que termina obteniéndose un material inerte y oxidado, que puede servir para los mismos fines que las cenizas industriales, pero que ve reducida la posibilidad de ser utilizado como suelo después de ser tratado.

1.3.2. Desorción térmica.

Consiste en someter el suelo objeto de estudio a una temperatura que puede oscilar entre 90 y 450 °C, con miras a vaporizar y por lo tanto separar los contaminantes orgánicos, la inyección de temperatura hace que se acelere la liberación y transporte de los contaminantes del suelo para que sean llevados a un sistema de tratamiento para vapores, con la ayuda de un gas acarreador o un sistema de vacío. El sistema para llevar a cabo una desorción térmica comúnmente cuenta con un horno cilíndrico que se calienta de manera directa o indirecta, los vapores producto del calentamiento son separados de los sólidos y tratados conforme lo requieran (Carrillo, 2012).

Carrillo (2012) indica que de acuerdo con la temperatura empleada la desorción térmica puede clasificarse en dos: la desorción térmica de alta temperatura y la desorción térmica a baja temperatura. En la primera la temperatura fluctúa entre los 320 y 560 °C y en ocasiones se puede combinar con la incineración, la desorción térmica de baja temperatura se desarrolla entre los 90 y 320 °C y se ha probado que es útil para tratar suelos con hidrocarburos. A continuación, se presenta un esquema del proceso de desorción térmica (figura 12).

Figura 12. Proceso de desorción térmica.



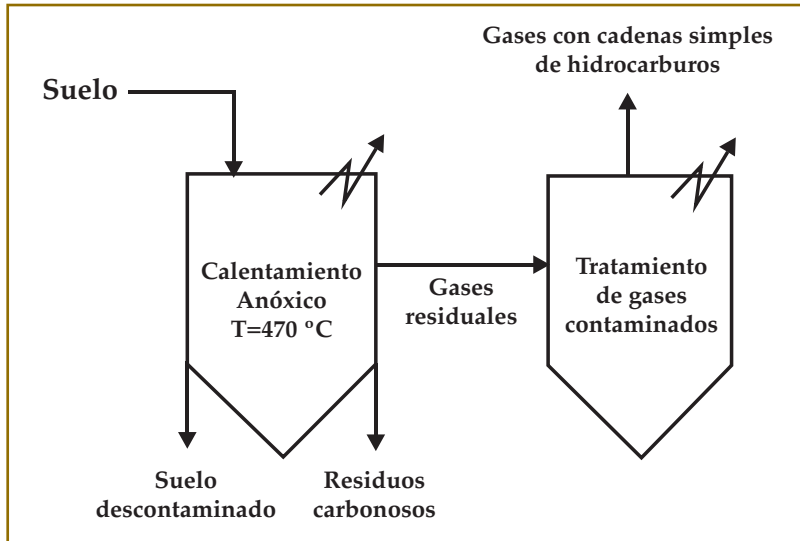
Fuente. Adaptado de www.millarium.com, s.f.

La ventaja de la desorción térmica a baja temperatura es que permite que algunas de las propiedades del suelo recuperado no se pierdan, pudiéndose recuperar también la productividad del mismo en términos de los servicios ambientales que prestaba, situación diferente a la expuesta con los suelos cuando son tratados por incineración.

1.3.3. Pirólisis.

Descomposición que se desarrolla bajo condiciones anóxicas –sin presencia de oxígeno–, regularmente esta clase de tratamientos se desarrolla bajo condiciones de presión y temperatura específicas de más de 430 °C, los hornos empleados para esta técnica son similares a los usados para la incineración, pero la diferencia radica en que son operados a una temperatura más baja y en ausencia de oxígeno (figura 13). Algunos productos que se obtienen como resultado de la pirólisis de compuestos orgánicos son: gases residuales, condensados grasos y residuos carbonosos. La pirólisis se emplea para tratar suelos contaminados con sulfuro de carbonilo (COSs), puede usarse en PCBs, dioxinas, alquitranes y desechos de pinturas e hidrocarburos (Instituto Nacional de Ecología, s.f.).

Figura 13. Esquema de la pirólisis.



Fuente. Elaboración propia.

Al igual que con los suelos tratados por incineración o desorciones a altas temperaturas, el producto no puede ser utilizado para las principales funciones o servicios ambientales de la matriz suelo, si bien el material recuperado puede tener otras aplicaciones.



◆ Referencias ◆

- Carrillo, M. (2012). *Recuperación de los hidrocarburos presentes en los residuos y pasivos ambientales generados por las actividades propias de la industria petrolera por medio de desorción térmica*. (Tesis de especialización). Bogotá, Colombia: Universidad Industrial de Santander.
- Cervantes, C., Espinosa, A., Acevedo, F., León, I., Rivera, M., Ávila, M., Wróbel, K., Wróbel, K., Gutiérrez, C., Rodríguez, J., y Moreno, R. (2006). Interacciones microbianas con metales pesados. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 48(2), 203-210. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2006/mi062v.pdf>
- Cempre. (1998). *El manual de gestión integral de residuos sólidos urbanos*. Recuperado de http://www.cempre.org.uy/docs/manual_girsu/parte_4_incineracion.pdf
- De la Rosa, D., Teutli, M., y Ramírez, M. (2007). Electrorremediación de suelos contaminados, una revisión técnica para su aplicación en campo. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 3(1), 129-138.
- EPA. (2001). *Phytoremediation of contaminated soil and ground water at hazardous waste sites*. Recuperado de https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-06/documents/epa_540_s01_500.pdf
- FAO. (1996). Eliminación de grandes cantidades de plaguicidas en desuso en los países en desarrollo. *Colección FAO: eliminación de plaguicidas*. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/w1604s/w1604s00.htm#-Contents>
- Farías, D., Ballesteros, M., y Bendeck, M. (29 de marzo de 1999). Variación de parámetros fisicoquímicos durante un proceso de compostaje. *Revista Colombiana de Química*, (28), 75-86.
- Instituto Nacional de Ecología. (s.f.). *Tecnologías de remediación*. Recuperado de <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/372/tecnolog.html>
- Lagrega, M., Buckingham, P., y Evans, J. (1996). *Gestión de residuos tóxicos tratamiento, eliminación y recuperación de suelos*. Madrid: McGraw-Hill.

Medjimurec, G. (2014). Handbook of research on advancements in environmental engineering. Igi Global. Recuperado de <https://books.google.com.co/>

Ñustez, D. (2012). *Biorremediación para la degradación de hidrocarburos totales presentes en los sedimentos de una estación de servicio de combustible*. (Tesis de maestría). Pereira, Colombia: Universidad de Pereira.

Pardo, J., Perdomo, M., y Benavides, J. (2004). Efecto de la adición de fertilizantes inorgánicos compuestos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con petróleo. *Nova*, 2(2), 1-108.

Responsiblebusiness.eu (s.f.). Landfarming, ex situ. Recuperado de: <http://www.responsiblebusiness.eu/display/rebwp8/Landfarming>

Romero, S., Gutiérrez, D., Marín, A., Hernández, C., Casallas, M., y Mantilla, P. (2008). Factores bióticos y abióticos que condicionan la biorremediación por pseudomonas en suelos contaminados por hidrocarburos. *Nova, publicación científica en Ciencias Biomédicas*, 6(9), 76-84.

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2007). *Planta municipal de compostaje*. Recuperado de <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/499/planta.html>

UESP. (2010). *Programa para la gestión de los residuos sólidos orgánicos para la ciudad de Bogotá*. Recuperado de http://www.institutodeestudiosurbanos.info/dmdocuments/cendocieu/coleccion_digital/Metabolismo_Socioecologico_Norte/Programa_Gestion_Residuos-UAESP-2010.pdf

http://www.madrimasd.org/informacionidi/biblioteca/publicacion/doc/VT/vt6_tecnicas_recuperacion_suelos_contaminados.pdf

Valderrama, B. (2002). Microbiología del petróleo y sus derivados. Universidad Nacional Autónoma de México. Consultado 09 de febrero de 2015 <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap2/>

Volke, T. L., & Velasco, J. A. (2002). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados*. Instituto Nacional de Ecología - Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (INE-SEMARNAT), (p. 64). ISBN 968-817-557-9. México.



Vargas, P., Cuéllar, R., y Dussán, J. (2004). Biorremediación de residuos del petróleo. Ecopetrol. Hipótesis. *Apuntes Científicos Uniandinos*, (4). Colombia.

Vila, J., Urbizo, M., Grifoll, M., Bosch, M., Nilsson, J., Mundó, B., y Piñuela, P. (2014). Técnicas de biorremediación para el saneamiento del subsuelo. *Industria Química*, (13), 20-27.

Viñas, M. (2005). *Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos: caracterización microbiológica, química y ecotoxicológica*. (Tesis de doctorado). Barcelona: Universidad de Barcelona.







◆ — Capítulo 2 — ◆

Mecanismos no convencionales de remediación de suelos contaminados

José Alejandro Martínez S.
Miguel Reinaldo Casallas O.

2.1 Sistemas no convencionales de remediación de suelos contaminados

Así como existen tecnologías que están disponibles comercialmente para la remediación o biorremediación de suelos contaminados, se han desarrollado nuevas tecnologías bien por empresas especializadas o bien por centros de investigación, que buscan ampliar o complementar las opciones de tratamiento existentes.

2.1.1. Oxidación avanzada.

Las tecnologías avanzadas de oxidación conocidas también como AOT –por sus siglas en inglés– son técnicas efectivas para la oxidación química y poseen un papel importante para el tratamiento de agua. Existen unas reacciones que se presentan en las AOT, las cuales ofrecen una vía específica y que en muchos casos contiene la formación de radicales hidroxilo, estos son altamente reactivos y abordan con frecuencia moléculas de tipo orgánico, los radicales formados contribuyen a la eliminación de los contaminantes más perjudiciales. Dentro de los productos generados se encuentran el agua (H₂O), dióxido de carbono (CO₂) y conforme a la estructura química del compuesto se pueden generar otra clase de sustancias, como por ejemplo el Nitrato y Cloruro (Anipsitakis, 2005).

Algunos ejemplos de AOT incluyen ozonización, entre ellas: UV/ H_2O_2 , sonólisis, el reactivo del Fenton (Fe_2^+ / H_2O_2), reacciones tipo Fenton (Fe^{3+}/H_2O_2 con y sin radiación de luz UV), entre otras. Los radicales hidroxilos se forman de manera espontánea, pero de manera paulatina en los sistemas naturales (Anipsitakis, 2005).

- **Fenton**

Esta clase de tratamiento se fundamenta en la formación de radicales libres que degradan los contaminantes orgánicos presentes; la reacción requiere de la adición de peróxido de hidrogeno diluido (H_2O_2) a una solución desgasificada de hierro ferroso, aunque también se aplica a sistemas abiertos a la atmosfera. Los radicales hidroxilos se generan conforme a las siguientes reacciones (Anipsitakis, 2005):

2.1.2. Barreras biológicas para potenciar electroremediación.

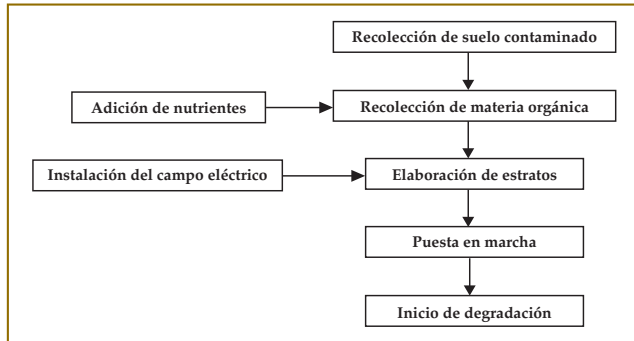
Con el objeto de incrementar por porcentajes de remoción obtenidos en los procesos de electroremediación, se han elaborado estudios en los cuales se hace una mezcla entre barreras biológicas y el campo eléctrico para llevar a cabo procesos de remediación en suelos.

- **Bioelectrocínética**

La finalidad de esta técnica es aumentar la degradación de contaminantes de tipo orgánico, por medio de la introducción de bacterias y nutrientes, de tal modo que el campo eléctrico generado facilite la asimilación de los contaminantes por parte de los microorganismos o se establezcan fruto de reacciones metabolitos-contaminante. En los procesos de bioelectrocínética se presentan procesos denominados «lasagna» los cuales consisten en elaborar capas o estratos de materia orgánica y suelo, el objetivo de los primeros es absorber los contaminantes que son liberados por el suelo y que migran por acción del campo eléctrico, una vez los contaminantes llegan a la materia orgánica comienza el proceso de

degradación (De la Rosa, Teutli y Ramírez, 2007). A continuación se describen brevemente los pasos que implica un proceso de bioelectrocínética.

Figura 1. Pasos requeridos para llevar a cabo la bioelectrocínética.

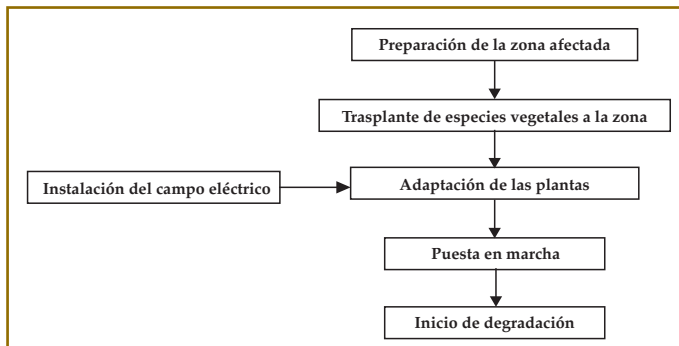


Fuente. Elaboración propia.

- **Eléctrocínética-Fitorremediación**

Consiste en generar un campo eléctrico que haga mover los contaminantes por medio de un sitio cultivado con plantas que sean capaces de transformar los contaminantes o inmovilizarlos en su fisiología. Una de las desventajas de esta técnica es el tiempo que tardan las plantas en crecer y ser aptas para llevar a cabo el proceso (De la Rosa et al., 2007). A continuación se hace una breve descripción de los pasos necesarios para desarrollar un proceso de electrocínética-fitorremediación (Figura 2).

Figura 2. Pasos requeridos para llevar a cabo la electrocínética-fitorremediación.



Fuente. Elaboración propia.

2.1.3. Nanotecnología.

Es un área que se encuentra en auge en el campo de la biorremediación, se emplea para contaminantes orgánicos e inorgánicos, dicha técnica ha despertado gran interés debido a la efectividad de sus resultados, emplea nanopartículas de entre 1 y 100 nm, las cuales son producidas en formas de óxidos de metales, metales, carbono, polímeros semiconductores, entre otros. Este tipo de nanopartículas, que son producidas naturalmente por microorganismos, juegan un papel importante dado que por medio de ellas contribuyen al transporte, biodisponibilidad y transformación de sustancias de relevancia para el ambiente (Parmar y Singh, 2013; Mpouras, Panagiotakis, Dermatas y Chrysochoou, 2014).

2.1.4. Ultrasonidos.

La técnica por ultrasonidos favorece la migración de los contaminantes presentes en el suelo y elimina la generación de efectos como: incremento en la energía cinética del fluido, causando aumento en la temperatura y volumen; aumento en el movimiento moléculas de los contaminantes, lo que conlleva a la desintegración y movilización de los contaminantes que son absorbidos por las partículas superficiales del suelo; cavitación en el líquido de los poros del suelo, desencadenando aumento en la porosidad y conductividad hidráulica del suelo (Yeunga y Gub, 2011).

El ultrasonido se basa en el fenómeno de cavitación para eliminar los contaminantes, los elementos que pueden ser tratados con esta tecnología son PCB, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y organoclorados (Gomes, Dias y Ribeiro, 2012).

Yeunga y Gub (2011) mencionan un estudio que usó esta técnica para la remoción de fenantreno y Pb en arcilla, y obtuvieron un incremento en la remoción de 85 % a 90 % en cuanto al primer contaminante, y un aumento de 88 % al 91 % con respecto al segundo.



2.1.5. Fenómenos moleculares: fitorremediación asistida con endófitas.

De acuerdo con Contreras, Rodríguez, Montes y Pérez (2010), la rizorremediación o fitorremediación o fitorremediación asistida con endófitas, es una técnica que busca la simbiosis entre los microorganismos presentes en las raíces y la planta, con lo cual se busca favorecer la tolerancia al estrés. Las endófitas son bacterias que se encuentran en los tejidos de las plantas y que no causan daño alguno a su huésped, al establecer una relación simbiótica plantas-endófitas se logran alcanzar grandes beneficios como: mejora en los procesos de fitorremediación, control biológico, crecimiento vegetal entre otros (Pérez y Chamorro, 2013).

Conforme a lo reportado por Weyens, Van Der Lelie, Taghavi y Vangronsveld (2009) y Ma, Prasad, Rajkumar y Freitas, 2011, citado por Pérez y Chamorro (2013) las plantas hiperacumuladoras junto con las bacterias endófitas están siendo empleadas en la remoción y extracción de metales, lo anterior por medio de tres mecanismos: aumento en la raíz y pelos radicales, incremento en la disponibilidad de metales y aumento en la transferencia de metales desde la rizosfera hasta la planta.

En un estudio citado por Pérez y Chamorro (2013), la *pseudomonas Burkholderia cepacia*, favorece el incremento de la tolerancia de algunas especies vegetales al tolueno, otro estudio reportado citado en la misma obra, referencia a Zhang, He, Chen, Zhang, Wang y Qian (2011), en donde se dice que las endófitas toleran distintas concentraciones de plomo, además reduce la enzima ACC en la *Allysum serpyllifolium* por medio de la síntesis de etileno endógeno que es segregado por la planta a causa del estrés.

2.1.6. Ingeniería genética en asocio con fitorremediación.

Con miras a incrementar la eficiencia de remoción en procesos de fitorremediación, se está empleando la ingeniería genética con el fin de modificar las plantas para incrementar su eficiencia; se realiza insertando un gen acumulador de plantas seleccionadas y añadiéndolo en otras para aumentar la producción de biomasa

(Hakeem, Sabir, Ozturk y Mermut, 2014). La ingeniería genética desempeña en la actualidad un papel importante en cuanto a producción de plantas transgénicas para tratar suelos contaminados con metilmercurio, ejemplos de genes que poseen la capacidad de remover mercurio en suelos conforme a Rugh *et al.* (1996), citado por Hakeem, Sabir, Ozturk y Mermut (2014) son el *merB* y *merA*, los cuales se encuentran en la planta de tabaco y la *Arabidopsis*, el gen *merB* posee la capacidad de generar protonólisis en el enlace carbono-mercurio y de esta manera liberar Hg^{2+} y el primero convierte Hg^{2+} en Hg^0 , elemento volátil tóxico que se libera a la atmósfera.

2.2. Mecanismos no convencionales de biorremediación de suelos contaminados

Un mecanismo no convencional de remediación de suelos contaminados es una nueva alternativa para llevar a cabo procesos de remediación en suelos, la cual se encuentra orientada a optimizar: operación, eficiencias de remoción y tiempos de tratamiento; muchas tecnologías como arcos de plasma o similares manejan la destrucción del contaminante, manejando el suelo como un material con características peligrosas, y por ello, buscando su eliminación y generando su desnaturalización –como sucede también con los tratamientos térmicos a altas temperaturas–; en este apartado se presentarán los mecanismos no convencionales de remediación de suelos contaminados, que permiten que las principales características de los suelos no se pierdan, sino que simplemente se retire el contaminante presente sin afectar los potenciales servicios ambientales que podría prestar el suelo, de esta forma, muchas remediaciones biológicas vienen desarrollándose a nivel de laboratorio y seguramente ya se encuentran disponibles para pequeñas cantidades o procesos puntuales de descontaminación de suelos.

La biorremediación más allá del compostaje y el *landfarming*, puede llevarse a cabo por medio de humedales construidos (HC) y las distintas interacciones que se desarrollan dentro de las unidades, lo anterior puede involucrar la fitorremediación y sus diferentes clases conforme al tipo de contaminante que se desee tratar. Entre

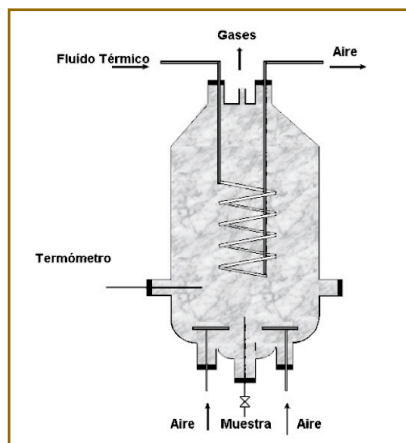
las variables a tener en cuenta para llevar a cabo un exitoso proceso de biorremediación se deben tener en cuenta variables como: pH, temperatura, concentración de nutrientes, entre otros.

Dentro de los llamados tratamientos no convencionales de remediación, bajo los elementos descritos al inicio del presente capítulo, se encuentran los humedales construidos y sus respectivas clases, los procesos de fito y rizorremediación y los reactores ya sean estos de tipo aerobio o anaerobio, estos volverán a ser mencionados según su finalidad en el capítulo 3 del presente libro.

2.2.1. Reactores aerobios.

Los reactores aerobios son sistemas de gran utilidad para el tratamiento de materia orgánica, esta clase de sistemas pueden tener una velocidad de reacción hasta diez veces el de los sistemas anaerobios, lo cual representa un menor tamaño y por ende, una minimización en costos de construcción y mantenimiento, además de poder estar en exteriores. La desventaja más relevante de esta clase de reactores radica en que la mayor proporción de materia orgánica se irá a crecimiento biológico, tasa que es aproximadamente cuatro veces más de lo que producen los organismos aerobios (Morales, 2005). Un esquema de esta clase de reactores se muestra a continuación.

Figura 3. Esquema de un reactor aerobio.



Fuente. Tecnologíaslimpias.org, s.f.

Los reactores aerobios que poseen lecho fluidizado, emplean la biomasa activada aglutinada a la biopelícula, reteniendo una concentración empleando un pequeño espacio, logrando remover en un solo reactor tanto la materia carbonácea como nitrogenada, la circulación ocurre a causa de la diferencia de presión hidrostática producida por la introducción de aire en el tubo de subida (Sánchez, Teixeira, Santos de Araújo, Dall y Matsumoto, 2010).

A continuación se presenta la fórmula que corresponde a la respiración celular empleando materia orgánica como sustrato.



Ecuación 1. Respiración celular empleando materia orgánica como sustrato.

2.2.2. Reactores anaerobios.

Los procesos de digestión anaerobia, consisten en la descomposición biológica de la materia orgánica, esto se lleva a cabo bajo ausencia de oxígeno y con ayuda de un grupo de bacterias, los productos que se obtienen fruto de la descomposición son unos gases o «biogás», entre los que se encuentran: CH_4 , CO_2 , H_2 , H_2S entre otros. El «biogás» obtenido posee un gran porcentaje de metano (CH_4), por ello es apto para ser aprovechado para el uso energético por medio de la combustión ya sea en motores, calderas o turbinas, de manera independiente o en conjunto (IDAE, 2007).

La digestión anaerobia desarrollada en condiciones controladas es de gran utilidad para minimizar los gases de efecto invernadero, aprovechar los residuos orgánicos para uso energético (IDAE, 2007). En la figura 4 se muestran distintas clases de reactores anaerobios.

- **Beneficios de la digestión anaerobia**

Algunos de los beneficios obtenidos producto de la digestión anaerobia conforme el IDAE (2007) son:

- Reducción de los malos olores.
- Mineralización.
- Sustitución de fuentes de energía fósil.
- Producción de una energía renovable.
- Minimización de gases de efecto invernadero producidas por la reducción de emisiones incontroladas de CH_4 .

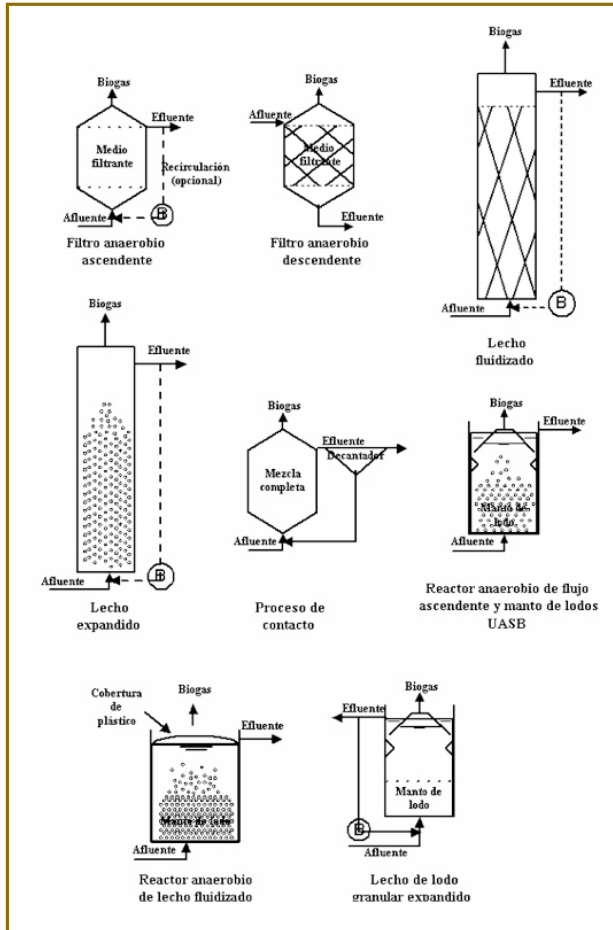
A continuación se presentan algunas ventajas y desventajas de los reactores anaerobios.

Tabla 1. Ventajas y desventajas de los reactores anaerobios.

Ventajas	Desventajas
Volumen de reactor para cargas altas.	Sensibilidad frente a: pH y carga.
Requiere poca área y estructura.	Regularmente se requiere proporcionar un tratamiento al efluente antes de que sea vertido.
Consume poca energía.	Periodo prolongado de puesta en marcha.
Producción de biogás.	Potenciales problemas de olores.
Costos reducidos de disposición.	Se necesitan efluentes de alta concentración.
Limitada adición de nutrientes.	
Mínima generación biológica de CO_2 (si se emplea como combustible).	

Fuente. Tecnologíaslimpias.org, s.f.

Figura 4. Sistemas anaerobios modernos para el tratamiento de aguas residuales.



Fuente. Elaboración propia.



◆ Referencias ◆

- Anipsitakis, G. (2005). *Cobalt/oxymonosulfate and related oxidizing reagents for water treatment*. (Tesis de doctorado). EE. UU.: University of Cincinnati.
- Betancurt, B. (2007). *Biorremediación de suelo contaminado con el pesticida 1,1,1- tricloro-2,2'bis(p-clorofenil)etano (DDT) mediante protocolos de bioestimulación y adición de surfactante*. (Tesis de maestría). Medellín: Universidad Nacional.
- Contreras, A., Rodríguez, M., Montes, S., y Pérez, S. (2010). Evaluación de la promoción del crecimiento de *Cynodon Dactylon* L. por rizobacterias productoras de fitohormonas aisladas de un suelo contaminado con hidrocarburos derivados del petróleo. *Polibotánica*, 29, 131-147.
- De la Rosa, D., Teutli, M., y Ramírez, M. (2007). Electrorremediación de suelos contaminados, una revisión técnica para su aplicación en campo. *Revista Internacional Contaminación Ambiental*, 23(3), 129-138.
- Gomes, H., Dias, C., & Ribeiro, A. (2012). Electrokinetic remediation of organochlorines in soil: Enhancement techniques and integration with other remediation technologies. *Chemosphere*, 87, 177-190.
- Hakeem, K., Sabir, M., Ozturk, M., y Mermut, A. (2014). *Soil remediation and plants: Prospects*. Recuperado de https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=FmdzAwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA131&dq=modern+trends+of+remediation+soil&ots=-8zVrVY9zn&sig=dQvtbGTr0V5USG61h63XWMIeX_0#v=onepage&q=modern%20trends%20of%20remediation%20soil&f=false
- IDAE. (2007). *Biomasa: digestores anaerobios*. Recuperado de http://www.idae.es/uploads/documentos/documentos_10737_Biomasa_Digestores_Anaerobios_A2007_0d62926d.pdf
- Miliarium. (s.f.). *Depuración de agua a través de sistemas UASB*. Recuperado de <http://www.miliarium.com/Proyectos/Depuradoras/manuales/tesis/uasbll.asp>

- Morales, P. (2005). *Digestión anaerobia de lodos de plantas de tratamiento de aguas y su aprovechamiento*. (Tesis de licenciatura). Puebla: Universidad de las Américas Puebla.
- Mpouras, T., Panagiotakis, I., Dermatas, D., & Chrysochoou, M. (2014). Nano-zero valent iron: An emerging technology for contaminated site remediation. *Geo-Congress 2014*, 2206-2215.
- Parmar, N., & Singh, A. (2013). Geomicrobiology and biogeochemistry. Recuperado de https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=Fm dzAwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA131&dq=modern+trends+of+remediation+soil&ots=-8zVrVY9zn&sig=dQvtbGTr0V5USG61h63XWMIeX_0#v=onepage&q=modern%20trends%20of%20remediation%20soil&f=false
- Pérez, A., y Chamorro, L. (2013). Bacterias endófitas: un nuevo campo de investigación para el desarrollo del sector agropecuario. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 5(2), 439-462.
- Rodríguez, C. (2003). Humedales construidos. *Ingeniería hidráulica y ambiental*, 24(3), 44-48.
- Sandoval, J. J., & Peña, M. (2007). Performance analysis of SSF wetlands in tropical regions based on first order kinetic models for the removal of organic matter. 2.nd International Symposium on Wetland Pollutant Dynamics and Control. *WETPOL 2007*, 1, 268-270. Tartu, Estonia.
- Sandoval, J. (2009). *Evaluación del desempeño de humedales horizontales subsuperficiales para el tratamiento de aguas residuales domésticas: aplicación de modelos macrocinéticos*. (Tesis de maestría). Cali: Universidad del Valle.
- Sánchez, I., Teixeira, G., Santos de Araújo, L., Dall, M., y Matsumoto, T. (2010). Reactores aerobios de lecho fluidizado trifásico con circulación interna: caracterización hidrodinámica y del soporte. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, (56), 68-77.
- Tecnologíaslimpias.org (s.f.). Tecnologías limpias. Recuperado de <http://ww12.tecnologiaslimpias.org/>
- Yeunga, A., & Gub, Y. (2011). A review on techniques to enhance electrochemical remediation of contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials*, 100, 11-29.



◆ — Capítulo 3 — ◆

Técnicas de biorremediación

Lina María Pérez
Paola Andrea Bautista Duarte
Editor: José Alejandro Martínez S.

Resumen

Actualmente la biotecnología es considerada un campo importante de la ciencia y la tecnología. Debido al incremento de actividades industriales que impactan de diferentes formas al medio ambiente y aumentan los contaminantes que llegan a este, la biotecnología ambiental se ha convertido en una alternativa para mitigar los impactos generados por contaminantes, aprovechando las cualidades de diferentes organismos. Una de las principales estrategias de interés dentro de la biotecnología ambiental es la biorremediación, como alternativa sustentable que permite reducir los contaminantes de manera eficiente; en las últimas décadas se han realizado trabajos a nivel mundial donde se evidencia los beneficios de la biorremediación.

El presente capítulo complementa lo mencionado en el capítulo dos acerca de la biorremediación, describiendo los fundamentos y principios biológicos de la biorremediación de ecosistemas contaminados, proporciona una breve introducción a las diferentes técnicas, así como sus limitaciones y beneficios en procesos de la reducción de contaminantes. Diferentes estudios han demostrado algunas ventajas que posee la biorremediación como su bajo costo, facilidad de uso, aprovechamiento de recursos, que garantiza la reducción de los contaminantes *in situ* y *ex situ*. Sin embargo, se han presentado inconvenientes con el uso de esta tecnología, incluida la lentitud de los procesos biológicos y la incapacidad

de los microorganismos para degradar todos los contaminantes. En general, se puede concluir que los beneficios derivados de la biorremediación son mayores que sus limitaciones. Las diferentes técnicas de biorremediación proporcionan una variedad de opciones para recuperar ambientes contaminados.

3.1 Introducción

Se estima que la superficie de la Tierra tiene unos 14.477 millones de hectáreas, de las cuales más de 3.000 millones de hectáreas han sido expuestos a la contaminación química. Los tipos de suelos son diferentes en términos de geología, hidrología, clima, fertilidad y otras características físico-químicas y biológicas; estas características físicas y químicas de los suelos son muy importantes en la determinación del destino de los contaminantes. Al intensificarse la contaminación del suelo y el agua en las dos últimas décadas, últimamente se ha prestado gran atención a la biotecnología ambiental, ya que tiene un enfoque multidisciplinario donde se integra la ciencia y la ingeniería para utilizar el potencial bioquímico de microorganismos en la reducción de los contaminantes en diversos ecosistemas.

Uno de los principales logros de la biotecnología ambiental es la biorremediación de agua y control de las contaminaciones del suelo. Las cuestiones económicas han convencido a los científicos de aplicar los procesos biológicos en la degradación de los materiales contaminantes. Los primeros intentos para eliminar los contaminantes se dirigieron principalmente hacia métodos físicos y químicos. Sin embargo, se encontró que el uso de estos métodos actuando de manera independiente genera altos costos y en ocasiones son poco efectivos. Aparte de la incineración, los métodos biológicos, incluyendo la biorremediación, se convierten en una solución práctica para completar la descomposición de materiales orgánicos. La biorremediación es una técnica que implica el uso de microorganismos para desintoxicar y degradar la contaminación ambiental (Khoji, Farmohammadi, Noori y Padash, 2013).



La biorremediación se ha centrado en la explotación de la diversidad genética y versatilidad metabólica que caracteriza a las bacterias para transformar contaminantes en productos inocuos, o en su defecto, menos tóxicos y que pueden integrarse en los ciclos biogeoquímicos. No obstante, existen otros estudios donde se aprovechan las habilidades de otros organismos, como por ejemplo los hongos para la degradación de hidrocarburos poliaromáticos, algas y más recientemente, las plantas –fitorremediación–. Para que la biorremediación sea eficaz, los contaminantes deben ser susceptibles al ataque microbiano –transformación metabólica–, los productos metabólicos deben ser inocuos, y el proceso no debe tener efectos secundarios adversos en los ecosistemas. Además, las condiciones ambientales deben permitir el crecimiento *in situ* de los agentes microbianos que llevan a cabo la biorremediación o la extracción del contaminante de manera que pueda biodegradarse *ex situ* en biorreactores.

Uno de los tratamientos más habituales que se realizan cuando se aborda la biorremediación de una zona contaminada es la introducción de una cepa o consorcio microbiano que posean las rutas degradativas necesarias para metabolizar el contaminante a reducir. El éxito de estas inoculaciones depende no solamente de factores abióticos como el pH, temperatura, potencial de reducción y la disponibilidad de agua y nutrientes, sino también de factores bióticos tales como la competencia microbiana, amensalismo, parasitismo y depredación que pueden limitar el crecimiento y desarrollo de las poblaciones inoculadas.

Gracias a su capacidad metabólica, los microorganismos pueden transformar una gran cantidad de contaminantes en compuestos menos tóxicos al ambiente, por lo cual juegan un papel importante en la degradación natural de muchas sustancias o elementos que alteran o afectan diferentes ecosistemas. Muchos ambientes están expuestos a la contaminación por diferentes tipos de sustancias, por ello es importante estudiar la participación ambiental y ecológica que juegan las bacterias en la biodegradación de sustancias xenobióticas, en el presente capítulo se hace una breve descripción sobre la actuación de los microorganismos en los diferentes procesos de degradación de contaminantes.

3.2 Desarrollo histórico de la biorremediación

El inicio del empleo de microorganismos en la biorremediación para reducir y tratar los contaminantes en el medio ambiente se remonta al año 600 a. C., se atribuye el nacimiento de la biorremediación a la manipulación de microorganismos para el tratamiento de aguas residuales aplicada desde tiempos ancestrales, los primeros reportes hacen referencia al uso dado por los romanos, quienes elaboraron planos arquitectónicos, diseñaron y construyeron sistemas de alcantarillado para la recolección de aguas residuales para su posterior tratamiento biológico dentro de tanques de almacenamiento, llegando por primera vez a evidenciarse la importancia del tiempo de retención del agua residual dentro de los tanques frente a la actividad metabólica de los microorganismos y frente a las sustancias presentes en el agua residual. Los sistemas actuales de tratamiento de aguas residuales se basan en los principios legados por los romanos, donde la degradación microbiana se lleva a cabo inicialmente dentro de un proceso aeróbico, posteriormente dentro de un proceso anaeróbico para el tratamiento de lodos (Rincón, 2004).

Sin embargo, después de la revolución industrial, la contaminación en el agua y el suelo aumentó por la falta de legislación ambiental existente en un principio al igual que los incipientes procesos de producción limpia. Las regulaciones ambientales fueron establecidas gradualmente mientras que el problema de la contaminación presentó un rápido incremento sin interrupción alguna. La comparación del desempeño de la aplicación de varios métodos para restaurar los ecosistemas afectados por diferentes tipos de contaminantes, así como la búsqueda de métodos económicos y sostenibles, conducen al desarrollo de los procesos de biorremediación (Khoyi et al., 2013).

Hoy en día, la estrategia de biorremediación ha surgido mediante la integración de la ingeniería y distintos métodos biológicos. El objetivo es utilizar un conjunto apropiado de poblaciones microbianas para establecer un consorcio y poder



optimizar sus características para acelerar las reacciones de descomposición de contaminantes. Sayler y Ripp (2000) realizaron una revisión para investigar la eficacia global y los riesgos asociados con microorganismos genéticamente modificados (MGM) al introducirlos en ecosistemas naturales.

Zouboulis y Moussas (2011) concluyeron que la biorremediación es considerada como una tecnología muy prometedora, con un gran potencial cuando se trata de ciertos tipos de sitios contaminados. Sin embargo, los autores consideran que los procedimientos específicos de control y los posibles riesgos de presentarse efectos adversos para la salud debido a la variabilidad de los contaminantes y su posible biotransformación hacia metabolitos no controlados es inminente.

Lin *et al.* (2010) presentaron un método biotecnológico innovador, la Tecnología de Biorremediación Sistemática Molecular Ambiental (SEMBT), que combina bioaumentación y bioestimulación con un monitoreo molecular usando micro arreglos biochip para mejorar la eficiencia de la biorremediación. Después de 28 días del proceso de biorremediación, fueron capaces de lograr una eficiencia de degradación de diesel (TPHC10-C28) y petróleo (TPHC10-C40) de hasta aproximadamente 70 % y 63 % respectivamente en las biopilas.

Durante los últimos años, la mayor parte de los estudios publicados sobre biorrecuperación se han referido al tratamiento de aquellos terrenos contaminados con compuestos derivados del petróleo. Lo anterior, debido a que la mayoría de los hidrocarburos derivados del petróleo son susceptibles a ser tratados mediante biorrecuperación, y en parte, al gran número de emplazamientos contaminados con hidrocarburos resultantes de fugas en depósitos de almacenamiento subterráneos. Durante los últimos 30 años, se ha venido utilizando con éxito la biorremediación en el tratamiento de terrenos contaminados con petróleo, por tal razón. es en este campo en donde hay mayor concentración de trabajos de investigación e innovación biotecnológica.

3.3 Fundamentos de la biodegradación

La biodegradación se define como un procedimiento natural, a lo largo del cual distintos microorganismos son capaces de eliminar los contaminantes orgánicos e inorgánicos de un determinado medio. La biodegradación se refiere al resultado de la actividad biológica que altera la estructura molecular del contaminante y es el grado de alteración el que determina si se ha producido biotransformación o mineralización; siendo entonces, la descomposición de un compuesto orgánico en otro similar no contaminante o menos tóxico, mientras que la mineralización es la descomposición a dióxido de carbono, agua y compuestos celulares.

La mayoría de los microorganismos son capaces de utilizar compuestos presentes en su entorno y transformarlos en precursores de sus constituyentes celulares, ya que obtienen de ellos la energía que necesitan para realizar los procesos biosintéticos. A causa de esta capacidad de adaptación, las bacterias del suelo y algunos hongos son capaces de metabolizar núcleos y radicales relativamente inertes y utilizarlos como fuente de carbono y energía para su crecimiento.

En ocasiones la degradación de un compuesto determinado puede realizarse sin que este compuesto sea el sustrato o fuente de energía para el microorganismo. En este caso, el microorganismo debe tener una provisión de un sustrato del cual toma carbono y una fuente de energía, es decir, se tiene un sustrato como fuente primaria de energía y paralelamente, metabolizan otro compuesto utilizando las enzimas que fueron sintetizadas para degradar el sustrato primario.

En términos generales, también se puede decir que la biodegradación es el resultado del metabolismo heterótrofo de algún microorganismo en particular en el que el residuo orgánico nocivo para el ambiente es su sustrato. La transformación puede ser realizada por acción directa de microorganismos sobre el contaminante, transformándolo en otro tipo de compuestos o mediante otros mecanismos como el cometabolismo o la cooxidación.



De aquí surge el interés sobre los microorganismos –levaduras, hongos o bacterias– en la transformación de productos de desechos tanto industriales como naturales. De esta forma se realiza la descontaminación ambiental de sustancias tóxicas y persistentes, además, se consigue la integración del carbono y del nitrógeno contenido en los compuestos de estructura inerte al ciclo biológico del suelo, con lo que se contribuye al mantenimiento del propio equilibrio biológico en la naturaleza y a la salud humana (Rincón, 2004).

3.4 Biorremediación

La biorremediación es el tratamiento biológico de los ambientes naturales contaminados, como el suelo o el agua. El proceso se basa en el uso de microorganismos o plantas para degradar o inmovilizar los contaminantes (Jorgensen, 2007). La biorremediación constituye un conjunto de técnicas que permiten aumentar la biomasa microbiana del suelo, estimulando la biodegradación de contaminantes. Bajo esta denominación se agrupan una variedad de procesos de biotratamiento que varían en sus mecanismos de acción, sobre todo los de mineralización, transformación parcial, humificación y alteración del potencial redox (Frioni, 1999).

Algunos de los problemas de contaminación ambiental pueden resolverse por estos mecanismos: cerca de 300 compuestos polucionantes del suelo se consideran factibles de biodegradación microbiana, por lo que la biorremediación se aplica en ambientes contaminados por:

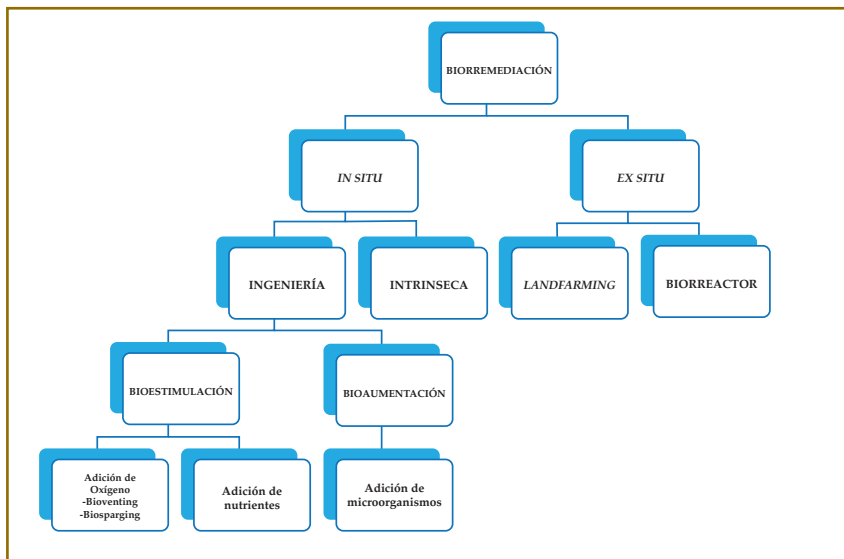
- Derramamiento de petróleo bruto e hidrocarburos derivados –benceno, xileno, tolueno, etc–
- Solventes diversos –acetona, butanol, etilenglicol, cloruro de metilo–.
- Metales pesados –cromo, mercurio, arsénico–.
- Otros: pentaclorofenol, TNT, halógenos, pesticidas –organoclorados, organofosforados–.

Para lograr una efectiva biodegradación, es necesaria la presencia de microorganismos o de asociaciones apropiadas y de condiciones ambientales adecuadas para la actividad biológica. Se requieren además, conocimientos de ecología microbiana y de bioingeniería para diseñar condiciones favorables para el desarrollo y actividad microbiana para descontaminar ambientes naturales (Álvarez, 2015).

3.5 Métodos de biorremediación

Los métodos comunes de biorremediación se clasifican en diferentes formas con base en el sitio de aplicación (*ex situ* o *in situ*), fase de aplicación –agua o el suelo– y la manipulación humana en la aplicación de esta tecnología –ingeniería o natural–. La siguiente figura muestra la clasificación de los métodos de biorremediación.

Figura 1. Clasificación de los métodos de biorremediación.



Fuente. Elaboración propia.



La primera clasificación de los métodos de biorremediación se basa en los sitios de aplicación, los cuales incluyen biorremediación *in situ* y *ex situ*.

3.5.1. Biorremediación *ex situ*.

La realización de este tipo de tecnologías requiere de excavación o cualquier otro proceso para remover el suelo contaminado, el cual es tratado en otro lugar. En este método, la perforación y el bombeo se aplican para el tratamiento de suelos y aguas contaminadas, respectivamente.

La biorremediación *ex situ* puede llevarse a cabo por los dos métodos siguientes:

- **Técnicas *farming***

Los métodos más comunes pertenecientes a estas técnicas son: *landfarming* y biopilas.

Método *landfarming*: los suelos contaminados se extienden sobre una superficie impermeable, después de haber sido excavado. La humedad del suelo y los nutrientes son controlados para acelerar las reacciones de degradación microbiana. Es uno de los métodos más comunes de biorremediación *ex situ*.

Biopilas: en este método, la tierra contaminada es recogida formando grandes masas o pilas; nutrientes líquidos, humedad y el aire se pasan a través de la biopila por medio de bombas de vacío.

- **Biorreactores**

En este método los contaminantes se eliminan al poner el suelo o el agua contaminada en un tanque grande o biorreactor. Mediante la adición de nutrientes y la inyección continua de oxígeno, se proporcionan las condiciones óptimas para que se lleven a cabo las reacciones de degradación.

3.5.2. Biorremediación *in situ*.

Implica tratar el material contaminado en el sitio, mientras que *ex situ* implica eliminar el material contaminado en otra parte. Los bajos costos de operación están entre las ventajas más importantes de este método, sin embargo, el proceso es lento y difícil de controlar. La biorremediación *in situ* puede realizarse de dos maneras, dependiendo de la posible participación humana en su implementación.

3.5.2.1. Biorremediación *in situ* mediante la aplicación de medidas de ingeniería.

En este método, los procesos microbianos son acelerados mediante la aplicación de procedimientos de ingeniería específicos. Dentro de este método existen dos tratamientos: la bioestimulación y la bioaumentación.

- Bioestimulación: involucra la estimulación de la población microbiana mediante la adición de nutrientes y oxígeno. Se incorporan nutrientes como fuentes de nitrógeno y fósforo, los cuales pueden incorporarse con agua de riego, en caso de suelos contaminados.

El *bioventing* o bioventilación es uno de los procedimientos de ingeniería empleados en la aplicación de métodos de biorremediación. Se agregan estimulantes gaseosos al suelo, como O_2 , CH_4 , pasivamente o en forma forzada para estimular la actividad microbiana. Requiere dispositivos especiales, de tipo industrial, por lo cual en ocasiones los sitios contaminados se transportan y depositan en estructuras del tipo de los biodigestores, con las instalaciones adecuadas para la entrada pasiva o forzada de gases.



- Bioaumentación: se trata de la inoculación de microorganismos a un lugar contaminado. El inoculante puede tener un microorganismo natural o modificado genéticamente –solos o en consorcio–, seleccionados por su capacidad degradativa.

Una de las aplicaciones prácticas de la biorremediación es el de desarrollar inóculos para tratamientos de bioaumentación de ambientes contaminados. Este es uno de los aspectos que más se han investigado en este campo, sin embargo, su utilidad se encuentra aún en discusión. Se han reportado algunos casos en donde la inoculación de microorganismos ha tenido un efecto estimulador en la remoción de los hidrocarburos del suelo (Mohn *et al.*, 2001; Kuyukina y Ivshina 2010, Jiang *et al.*, 2014). Sin embargo, en otros casos la inoculación de bacterias degradadoras en ambientes naturales contaminados no ha tenido el efecto esperado (Jorgensen 2007).

Las causas del escaso éxito de la bioaumentación para la remoción de los contaminantes en el ambiente pueden ser variadas, entre las que se podrían mencionar la incapacidad de las células inoculadas para ser transportadas hacia el contaminante, de adherirse al mismo, de sobrevivir a eventuales predadores, de competir exitosamente por los nutrientes disponibles y de crecer y mantener sus capacidades degradadoras en las condiciones imperantes. Esta situación determina que la relación costo/eficiencia de este procedimiento no siempre sea favorable desde un punto de vista comercial o económico (Álvarez, 2015).

Diversos estudios de degradación realizados en diferentes ambientes, incluyendo los suelos del Ártico y la Antártida, han demostrado que por lo general, las comunidades microbianas nativas son capaces de degradar hidrocarburos del petróleo cuando las condiciones del sistema son manipuladas y optimizadas (Mohn *et al.*, 2001; Coulon *et al.*, 2005; Ruberto *et al.*, 2003). Estos trabajos demuestran que en el ambiente aun en condiciones extremas existe un potencial natural para eliminar las sustancias contaminantes.

En este contexto, la bioestimulación constituye una alternativa para la biorremediación de ambientes contaminados basada en la capacidad degradadora de las comunidades microbianas indígenas, luego del agregado de agua, nutrientes y la oxigenación del sistema. Este procedimiento produce un incremento en el potencial de degradación sin aumentar la diversidad genética del suelo. Por otro lado, el tratamiento de bioestimulación de suelos contaminados parece ser beneficioso también desde el punto de vista económico, además del ecológico. Es importante la conformación de un grupo de trabajo interdisciplinario que pueda integrar las diferentes áreas del conocimiento necesarias para el planeamiento, ejecución y monitoreo de los tratamientos de biorremediación.

Mientras tanto, la bioaumentación podría ser útil principalmente para la eliminación de los contaminantes más recalcitrantes o cuando la biorremediación intrínseca o la bioestimulación no funcionan debido a una población microbiana insuficiente o inadecuada, o cuando la concentración del contaminante o el ambiente es tóxico para las comunidades nativas. En la Patagonia semiárida se han aislado bacterias autóctonas relacionadas con los géneros *rhodococcus* y *shingobium* con capacidad de degradar un amplio rango de hidrocarburos, con el fin de analizar su efectividad para procesos de biorremediación en la región, sus mecanismos de adaptación a las condiciones de aridez y otros factores ambientales típicos de la zona. Una de las características más interesantes de estas bacterias es su capacidad para tolerar la desecación, de mantenerse activas en un amplio rango de condiciones ambientales y de acelerar los procesos de biorremediación de suelos luego de su inoculación (Madueño *et al.*, 2011; Madueño *et al.*, 2014).

Biorremediación intrínseca o natural: la biorremediación ocurre naturalmente por acción de los microorganismos nativos. Esta es la más frecuente estrategia de degradación de contaminantes, a pesar de que el proceso puede ser muy lento si las condiciones no son las adecuadas.



Fitorremediación: es un conjunto de tecnologías que reducen *in situ* o *ex situ* la concentración de diversos compuestos a partir de procesos bioquímicos realizados por las plantas y microorganismos asociados a ellas (Delgadillo, González, Prieto, Villagómez y Acevedo, 2011). Es un proceso que utiliza plantas para remover, transferir, estabilizar, concentrar o destruir contaminantes –orgánicos e inorgánicos– en suelos, lodos y sedimentos. Supone así, una alternativa a los métodos fisicoquímicos que se han utilizado tradicionalmente para solventar los problemas de contaminación ambiental, la fitorremediación puede darse de dos maneras: directa, es decir, donde las plantas y hongos actúan sobre el compuesto; indirecta donde simplemente estos son empleados para la estimulación del crecimiento de los microorganismos en la rizosfera (Vargas, Cuéllar y Dussán, 2004; Alvarado, Dasgupta, Ambriz, Sánchez y Villegas, 2011).

Mientras que los métodos convencionales pueden alterar de manera irreversible las propiedades del suelo, el agua y de los seres vivos que viven en ellos, suelen ser muy costosos y tienen una limitada eficacia, la fitorremediación se presenta como una alternativa sustentable, de bajo costo y con una alta aplicabilidad para la rehabilitación de ambientes afectados por contaminación natural y antropogénica.

La fitorremediación puede emplearse para la eliminación de contaminantes orgánicos e inorgánicos y metales, lo cual se logra por medio de procesos fisicoquímicos y biológicos, ya sea en la matriz suelo o agua. En la gran mayoría de los casos, se lleva a cabo una simbiosis entre las especies vegetales y los microorganismos presentes en la zona de la rizosfera, los microorganismos además pueden en ocasiones disminuir la toxicidad para las plantas, lo cual se logra a través de las enzimas hasta lograr convertirlos en ácidos, alcoholes dióxido de carbono y agua (Dietz y Schnoor, 2001).

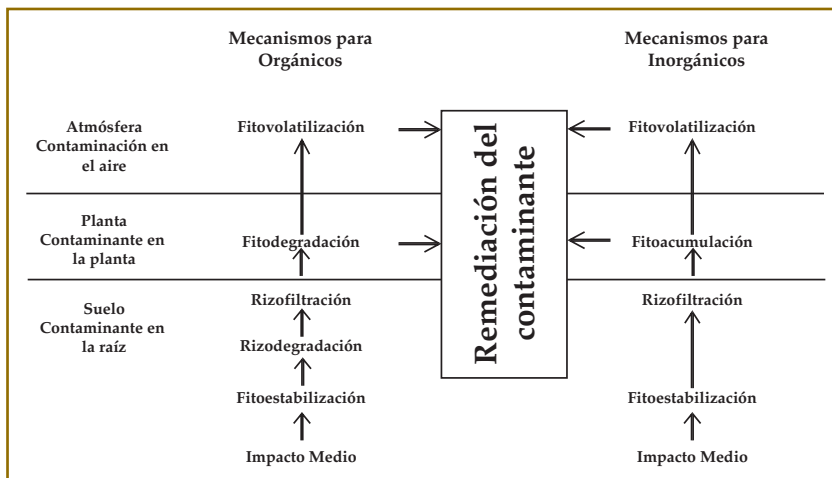
Se debe destacar que la fitorremediación no es simplemente trasplantar unas especies ya sea de hongos o plantas en un suelo determinado y dejar que ellas lleven a cabo un proceso, pues esta

técnica posee algunas desventajas como que los contaminantes pueden estar a una profundidad mayor a la que alcanza la raíz, el tiempo para el desarrollo de un tratamiento como este puede ser prolongado, entre otras (Suthersan, 2001). Otras desventajas que se evidencian de esta técnica son, por ejemplo, la generación de sustancias tóxicas para hongos, plantas, microorganismos y la eventualidad de que los contaminantes se incorporen a la cadena alimenticia (Cubillos, 2011).

La ventaja más relevante de la fitorremediación es el bajo costo, pues este mecanismo se basa principalmente en el riego y fertilización para garantizar el crecimiento de las plantas u hongos empleados (Suthersan, 2001).

Existen los contaminantes orgánicos y los inorgánicos, para cada uno de ellos existe un determinado tipo de fitorremediación, esto se observa en la siguiente figura, la cual describe la ruta de descontaminación seguida por el compuesto contaminante o donde se puede acumular, luego de llevarse a cabo los distintos procesos que involucra cada tipo de fitorremediación.

Figura 2. Tipos de fitorremediación.



Fuente. Suthersan, 2001.



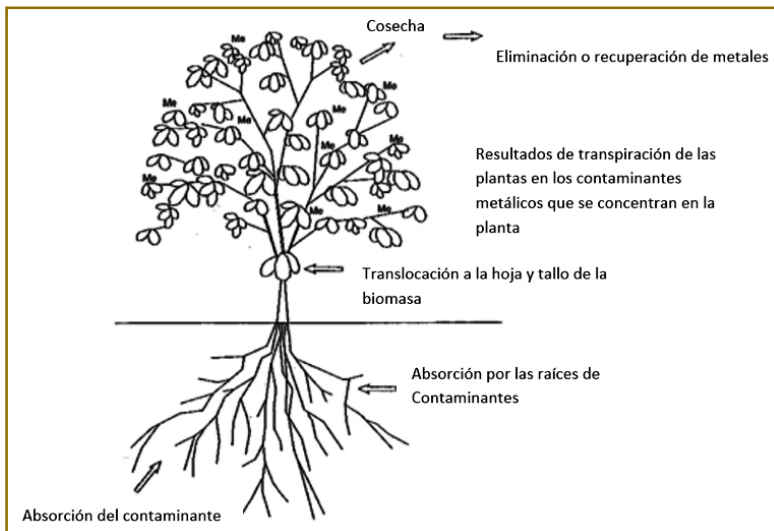
Existen seis métodos diferentes de fitorremediación que se agrupan en dos conjuntos, los que se utilizan como medio de contención –rizofiltración, fitoestabilización y fitoinmovilización– y los que se utilizan como medio de eliminación –fitodegradación, fitoextracción y fitovolatilización–. Dependiendo del tipo de contaminante y su cantidad, así como del medio en el que se encuentre dicho contaminante, se elige un método de fitorremediación u otro, siendo los más utilizados la fitoestabilización para la contención de contaminantes y la fitoextracción para su eliminación.

- **Fitoestabilización o fitoinmovilización:** se define como el uso de la vegetación para contener contaminantes *in situ*, ya sea en el suelo o en el agua por medio de modificaciones a la estructura química, condiciones biológicas y físicas. Una de las ventajas de esta técnica es que la vegetación empleada contribuye a la reducción de la erosión hídrica y eólica de los suelos, lo que conlleva a una disminución en la dispersión de los contaminantes fruto de la escorrentía o emisiones fugitivas de polvo y llega a reducir y prevenir la generación de lixiviados (EPA, 2001).

Esta metodología, ayuda a reducir la movilidad de los contaminantes e impide la migración de las aguas subterráneas o de aire. La fitoestabilización se emplea para regenerar la cubierta vegetal en espacios donde se ha perdido debido a las concentraciones elevadas de metales (Suthersan, 2001). Los mejores candidatos para implementar la fitoestabilización son metales como el plomo, cromo y el mercurio, pero puede existir potencial para tratar contaminantes de tipo orgánico, ya que algunos compuestos de este origen o subproductos metabólicos de estos contaminantes pueden ser incorporados a la lignina de las plantas (EPA, 2001).

- **Fitoextracción:** este método de fitorremediación, también conocido como fitoacumulación, consiste en la absorción de metales contaminantes mediante las raíces de las plantas y su acumulación en tallos y hojas. Una vez que se ha producido el desarrollo vegetativo de la planta, se corta y se procede a su incineración, trasladando las cenizas a un vertedero de seguridad. es viable para tratar compuestos como metales pesados: Ag^+ , Cd^{+2} , Co^{-3} , Cr^{3+} , Cu^+ , Hg^{2+} , Mn^{2+} , Mo , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{+2} , metaloides como: As y Se; este tipo de tratamientos no es útil para compuestos orgánicos o nutrientes tomados por la planta, esto obedece a que pueden llegar a ser metabolizados o se volatilizan, lo cual impide la acumulación del contaminante en la planta (EPA, 2001). Las plantas consideradas hiperacumuladoras o que hacen procesos de fitoacumulación, tratan suelos donde los contaminantes no estén a una gran profundidad, este método puede ser llevado a cabo hasta 24 pulgadas de profundidad máxima (Suthersan, 2001). En la siguiente figura se muestran los procesos que se llevan a cabo en un proceso de fitoacumulación.

Figura 3. Procesos que se desarrollan en la fitoacumulación de metales pesados.



Fuente. Suthersan, 2001.



- **Rizofiltración:** se utiliza para la eliminación de contaminantes del medio hídrico a través de las raíces de las plantas. Cuando el sistema radicular de las plantas está bien desarrollado se introducen las plantas en el agua contaminada donde las raíces absorben los metales y los acumulan. Cuando las raíces se saturan, las plantas se cosechan y se disponen para su tratamiento.
- **Rizodegradación:** en las raíces de las plantas es donde se da la mayoría de procesos en cuanto a la degradación de los contaminantes, teniendo en cuenta la alta actividad microbiana relacionada a los ciclos biogeoquímicos y que en la mayoría de ocasiones se presenta especialmente en el caso de los hidrocarburos; conforme a EPA (2001), la rizodegradación es el mejor método de origen natural, cuyo objetivo es hacer que los contaminantes presentes se desintegren en el suelo por medio de la actividad biológica, los microorganismos, consumen y transforman sustancias orgánicas para usarlas como nutrientes; los exudados secretados por las raíces, tales como alcoholes y azúcares, poseen carbono, un elemento que ayuda a las poblaciones microbianas a incrementar su población y estimular su actividad. El suelo que se ubica adyacente a la raíz, posee una gran población de microorganismos que en otras zonas se han hallado bacilos cortos gramnegativos, especialmente de *pseudomonas*, *flayobacterium* y *alcaligens*, los exudados ofrecidos por las plantas benefician el hábitat y el crecimiento de las poblaciones microbianas, la población microbiana típica en la rizosfera comprende: 5×10^6 bacterias, 9×10^5 actinomicetos y 2×10^3 hongos por gramo de suelo seco aire (Suthersan, 2001).

La presencia de las plantas y sus raíces favorece la creación de microambientes favorables para la actividad de los mismos, lo que resulta siendo una ventaja frente a los tratamientos con microorganismo pero que no usan plantas (EPA, 2001). Una desventaja de la rizodegradación es la falta de contacto entre las raíces con el suelo, en un momento determinado, pues

a medida que transcurre el tiempo las raíces van muriendo y tardarán un tiempo en volver a crecer y tener nuevamente contacto con el suelo afectado. Otra desventaja radica en las altas concentraciones, pues estas disminuyen la incursión de las raíces en el suelo, lo que desencadena que existan zonas del suelo que no tienen contacto con estas (EPA, 2001).

- **Fitovolatilización:** a medida que las plantas y árboles van creciendo, absorben agua junto con contaminantes orgánicos e inorgánicos y algunos de ellos pueden llegar a las hojas y evaporarse o volatilizarse a la atmósfera.
- **Fitodegradación:** en este método se desarrollan procesos de absorción, metabolización y descomposición de contaminantes al interior de la planta mediante procesos metabólicos internos o la ruptura de contaminantes externos a la planta, por medio de enzimas producidas por la misma hasta productos inofensivos. Los compuestos contaminantes que son degradados y usados como nutrientes son incorporados a los tejidos, en ocasiones los productos resultantes o intermedios son liberados al ambiente en función del agente contaminante y la planta que se haya usado (Suthersan, 2001).

Las vías por las cuales las especies vegetales logran transformar un contaminante son muchas y de diferente índole, estas obedecen, entre otras cosas, a la especie y el tipo de tejido que posean. Las plantas pueden metabolizar una gran variedad de compuestos entre los que se incluyen CE, trinitrotolueno (TNT) y el herbicida atrazina (EPA, 2001).

- **Fitoestimulación:** las raíces de las plantas estimulan que los microorganismos presentes en la zona de la rizosfera degraden los contaminantes.

A continuación, se mencionan procesos de fitorremediación y los contaminantes que pueden ser tratados por medio de estos (Tabla 1).



Tabla 1. Procesos de fitorremediación aplicados a diferentes contaminantes.

PROCESO	CONTAMINANTE	PLANTA
Fitoextracción	Metales pesados, compuestos hidrofóbicos.	Pastos, plantas freáticas –sauces, álamos–.
Rizodegradación	Compuestos orgánicos biodegradables –BTEX, HTP, HAP, PCB, pesticidas–, metales, compuestos hidrofóbicos, radionucleóticos.	Pastos, plantas freáticas –sauces, álamos–, plantas acuáticas emergentes y subemergentes.
Fitoestabilización	Metales pesados, compuestos hidrofóbicos.	Pastos, plantas freáticas –sauces, álamos–.
Fitodegradación	Herbicidas, compuestos alifáticos clorinados, compuestos aromáticos, residuos de amino y nutrientes.	Pastos, plantas freáticas –sauces álamos–, leguminosas –alfalfa, trébol–.
Fitovolatilización	Metales –Se, As, Hg–, compuestos orgánicos volátiles –BTEX, MTBE–.	Plantas de humedales –juncos, canas, espadañas–.

Fuente. Adaptado de Dietz y Schooor, 2001.

Existen varias limitaciones que deben considerarse para su aplicación: el tipo de plantas utilizado, ya que determina la profundidad a tratar, altas concentraciones de contaminantes pueden resultar tóxicas, puede depender de la estación del año, la toxicidad y la biodisponibilidad de los productos de la degradación no siempre se conocen y pueden movilizarse o bioacumularse en animales.

Cuando las plantas han absorbido los contaminantes acumulados, pueden ser cosechadas y ser desechadas. Si los contaminantes químicos orgánicos se degradan en las moléculas como el dióxido de carbono, las plantas pueden no requerir ningún método especial de disposición. La incineración controlada es el método más común para disponer las plantas que han absorbido cantidades grandes de contaminantes. Este proceso produce cenizas que se pueden desechan en los sitios destinados para tal fin. Para las plantas que han absorbido los metales, la incineración controlada produce las cenizas con altos contenidos de metales (Agudelo, Macías y Suárez, 2005).

A pesar del gran número de ventajas que acompañan a este sistema, también existen algunas limitaciones, ya que solo se puede utilizar de forma eficiente en casos de contaminación más o menos superficial y de baja concentración de contaminante. Por tanto, es necesaria una mayor investigación sobre la fitorremediación para poder llevar a cabo este método de recuperación de forma más eficiente y extensa en otros supuestos de contaminación (Delgadillo et al., 2011).

Tabla 2. Ventajas y desventajas de la fitorremediación.

Ventajas	Desventajas
Menores costos comparados con métodos tradicionales.	Requiere tiempos prolongados.
Bajo volumen de residuos.	La profundidad efectiva de las raíces se encuentra limitada.
Tecnología verde.	El clima es una variable dependiente.
Aceptación pública.	La recolección de biomasa fruto de tratamientos a metales puede llegar a ser necesaria.
Control de la erosión.	
Reducción de emisiones de polvo.	
Reducir el riesgo de exposición al suelo.	

Fuente. Adaptado de Green y Hoffnogle, 2004, citado por Medjimurec, 2014.



3.5.2.2 Aplicación de fitorremediación: humedales artificiales o construidos¹.

Son sistemas depuradores de agua que se constituyen de canales o lagunas, son plantados con especies propias o endémicas de la zona, según Kadlec y Knight (1995), citado por Sandoval (2007), los humedales construidos han sido convertidos en métodos de tratamientos naturales de aguas residuales y que en países de Europa y en Estados Unidos han sido catalogados como una tecnología efectiva y económica para la descontaminación de cuerpos de agua desde la década de los 70.

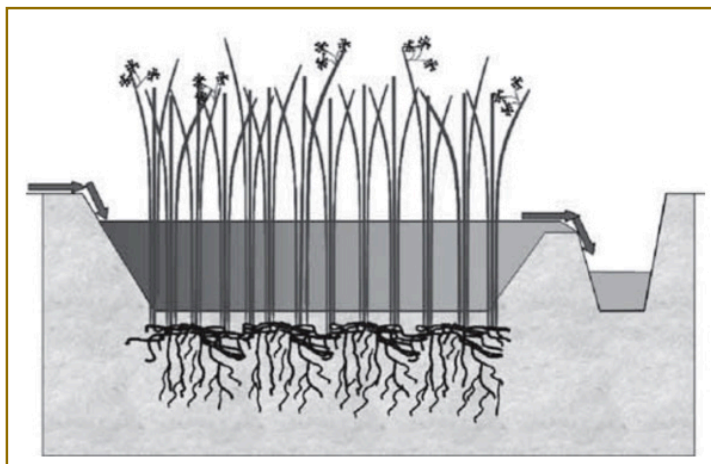
Existen diferentes clases de humedales entre los que encontramos: humedales superficiales de flujo horizontal, humedales de flujo horizontal subsuperficial, humedales verticales y humedales con plantas flotantes.

- **Humedales de flujo superficial**

Generalmente son unidades cuya profundidad oscila entre los 0.4 - 0.6 m y son ampliamente pobladas por una variedad de plantas enraizadas, flotantes, emergentes o subemergentes. Esta clase de humedales son empleados a gran escala; condiciones tales como: tipo de vegetación, factores hidrológicos e hidráulicos, altura de la columna de agua, son vitales para la operación, pues definen el dinamismo y funcionamiento del ecosistema de los humedales superficiales (Sandoval, 2009). En la siguiente figura se muestra un humedal de flujo superficial (Figura 4).

¹ Complemento del capítulo realizado por el editor (N. del E.).

Figura 4. Humedal de flujo superficial.

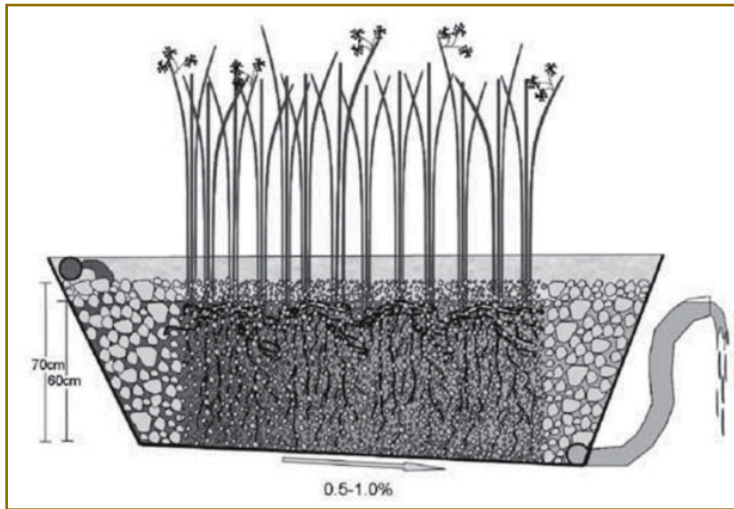


Fuente. Delgadillo, Camacho, Pérez y Andrade, 2010.

- Humedales Flujo horizontal subsuperficial

Esta clase de sistemas son llamado en inglés como *subsurface flow constructed wetlands*, comúnmente son estanques que poseen el fondo relativamente impermeable, rellenos con un medio poroso el cual cuenta con plántulas de especies vegetales emergentes; el medio poroso a menudo es suelo o grava y el agua que ingresa al humedal lo hace por un extremo y sale por el extremo opuesto. Generalmente la especie que es empleada en esta clase de tratamientos es la planta acuática *phragmites australis*, pero se debe hacer la aclaración que en algunos humedales se emplean plantas autóctonas de los sitios donde se realice el trabajo (Rodríguez, 2003). En la siguiente figura se enseña un humedal de flujo horizontal (Figura 5).

Figura 5. Humedal de flujo horizontal subsuperficial.

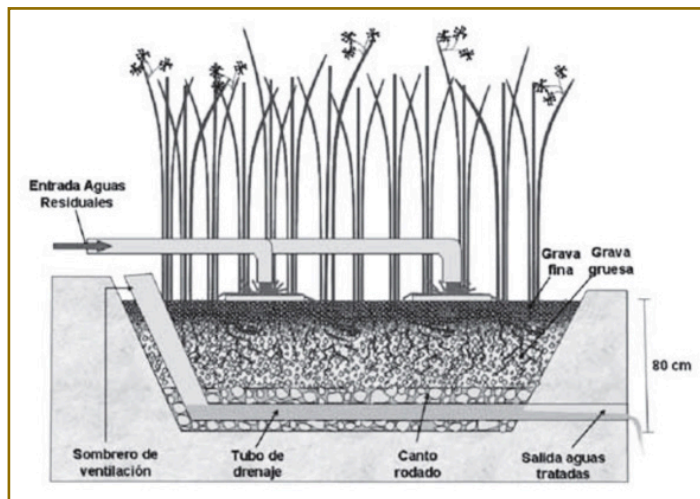


Fuente. Delgadillo et al., 2010.

- Humedales verticales

A esta clase de humedales el agua es aplicada uniformemente sobre la superficie y el afluyente es drenado por medio de la base del mismo, la idea en estos sistemas es hacer que el agua pase por cada uno de los medios y que las raíces tengan contacto con el agua problema (figura 6). Los humedales verticales operan de modo discontinuo o *batch*, es decir, con periodos de llenado y drenajes intermitentes, con lo cual se busca favorecer la entrada de oxígeno; esta situación genera la ventaja más relevante de este tipo de sistemas frente a los sistemas horizontales de flujo subsuperficial, por cuanto las condiciones aerobias del drenaje permiten el incremento en la velocidad de remoción de parámetros como demanda biológica de oxígeno (DBO) y nitrógeno amoniacal (Rodríguez, 2003).

Figura 6. Humedal vertical de flujo subsuperficial.



Fuente: Delgadillo et al. (2010).

- Humedales con plantas flotantes

Los humedales con plantas flotantes usualmente emplean especies vegetales acuáticas flotantes o plantas emergentes, de tal modo que las raíces se arraiguen a los sedimentos o a la matriz del suelo, el objetivo es que el agua pase por la zona de la raíz –flujo subsuperficial– o entre los tallos de las plantas –flujo superficial–. Los humedales de esta clase, son unidades que usan plantas vegetales que se desarrollan como una red de raíces que flotan por debajo de la superficie del agua (Cubillos, 2011).

Como lo indica Cubillos (2011), la base de la fitorremediación es el uso de plantas y su medio de soporte –medio filtrante-suelo–, que junto con los microorganismos localizados en la rizosfera hacen una simbiosis para lograr remover, transformar, secuestrar o degradar compuestos de origen orgánico e inorgánico que se ubiquen en suelos, sedimentos o aguas, ya sean superficiales o subterráneas; es por ello que los HC se han venido implementando en los últimos años.



3.6 La contaminación de suelos

Consiste en una degradación química que provoca la pérdida parcial o total de la productividad del suelo como consecuencia de la acumulación de sustancias tóxicas en unas concentraciones que superan el poder de amortiguación natural del suelo, y que modifican negativamente sus propiedades. Esta acumulación se realiza generalmente como consecuencia de actividades humanas exógenas, aunque también se puede producir de forma natural o endógena cuando los procesos de edafización liberan elementos químicos contenidos en las rocas y los concentran en el suelo alcanzando niveles tóxicos. Un ejemplo de esto último lo tenemos en suelos muy evolucionados, formados sobre rocas serpentinizadas con altos contenidos en metales pesados como el Cr, Ni, Cu y Mn, entre otros, que se concentran en los suelos a medida que la intensa edafogénesis produce el lavado de otros constituyentes esenciales como el Ca, Mg e incluso el Si. Conforme se desarrolla esta concentración residual metálica, estos elementos, que inicialmente eran constituyentes no asimilables de los minerales primarios, pasan a formas más activas, solubles y biodisponibles que influyen negativamente sobre la actividad biológica (Ortiz, Sanz, Dorado y Villar, 2007).

A la hora de abordar el estudio de la contaminación de un suelo no basta solo con detectar la presencia de la sustancia o sustancias contaminantes, sino que su concentración debe superar la carga crítica o máxima cantidad permitida en el suelo, sin que se produzcan efectos nocivos que no puedan ser contrarrestados por el poder de amortiguación del suelo. De esto se deduce que distintos suelos van a reaccionar de forma diferente ante la presencia de un mismo contaminante o de una misma cantidad de contaminante. Esta reacción estará condicionada por factores como la vulnerabilidad específica de cada suelo, que representa el grado de sensibilidad de este frente a la agresión de los agentes contaminantes y que está muy relacionada con el poder de amortiguación del suelo, de forma que cuanto menor sea esta capacidad de amortiguación del impacto del contaminante, mayor será su vulnerabilidad.

Así, el grado de vulnerabilidad de cada suelo frente a la contaminación depende de la intensidad de la contaminación y de la velocidad con que se producen los cambios negativos en las propiedades del suelo en respuesta a esa contaminación. Además, el grado de contaminación de un suelo no puede ser estimado exclusivamente a partir de los valores totales de los contaminantes frente a determinados valores guía, sino que es necesario considerar la biodisponibilidad del contaminante o su posible asimilación por los organismos del suelo, determinada por la competencia entre el sistema radicular de la planta, la solución del suelo y la fase sólida; la movilidad, que regulará su distribución y transporte en el suelo o a otros medios; la persistencia, que controlará la duración de su efecto pernicioso en el suelo. Todos estos conceptos permiten evaluar los riesgos potenciales de determinadas actividades contaminantes y planificar actuaciones de acuerdo con el tipo de suelo, aunque es necesario recalcar que la propia heterogeneidad del suelo puede dificultar en muchos casos la caracterización de estos parámetros (Álvarez, 2015).

La habilidad de las poblaciones nativas de bacterias para degradar hidrocarburos constituye uno de los mecanismos principales con el que cuentan determinados ambientes para mitigar el impacto causado por la presencia del petróleo crudo y sus derivados, y es el principal mecanismo natural por el cual son removidos de ciertos ambientes dependiendo de sus características (García y Aguirre, 2014).

El petróleo puede ingresar al ambiente de manera natural a través de afloramientos naturales mejor conocidos como chapopoterías o por derrames y accidentes ocasionados por el hombre, lo cual es tal vez, una de las causas más importantes. Las consecuencias ecológicas, sociales y económicas, debido a estos accidentes han sido severas, ya que algunos hidrocarburos contenidos en el petróleo pueden causar mortandad en peces y en otros organismos, afectando principalmente las actividades de la industria pesquera, así como las cadenas tróficas de las zonas costeras y terrestres, lo que conlleva a graves problemas ecológicos.



El consumo de petróleo por microorganismos como única fuente de carbono y energía se conoce desde fines de los 40. Es esta capacidad metabólica de consumir los hidrocarburos que se aprovecha para la biorremediación de ambientes terrestres y acuáticos. Actualmente la biorremediación consiste en el uso de diferentes métodos para favorecer la tasa de consumo del petróleo (tabla 3) y con eso mitigar el efecto nocivo en el ambiente. Entre los métodos utilizados están: la aplicación de enzimas, nutrientes y el uso de microorganismos previamente adaptados al consumo de petróleo, entre otros (Salleh, Ghazali, Rahman y Basri, 2003).

Tabla 3. Diferentes tratamientos de biorremediación.

Tratamientos de biorremediación			
Tratamiento	Descripción	Aplicaciones	Ventajas
Bioestimulación	Adición de oxígeno agua y nutrientes	Agua superficial, mantos freáticos y suelo.	Ayuda a acelerar el crecimiento de las bacterias presentes.
Bioaumentación	Aplicación directa de microorganismos previamente aislados o modificados genéticamente	Agua superficial, mantos freáticos y suelo	Se considera una de las técnicas más efectivas. Las bacterias adaptadas se pueden aplicar para remediar químicos específicos en condiciones ambientales específicas
Surfactantes	Aplicación de surfactantes sintéticos o biológicos utilizados para disminuir la tensión superficial e incrementar la solubilidad de los hidrocarburos	Para alifáticos sólidos y líquidos e hidrocarburos aromáticos	Permiten que estén biodisponibles los hidrocarburos para las bacterias
Aplicación de fertilizantes	Estimula el metabolismo microbiano al modificar la relación C:N:P	Sedimentos y mantos acuíferos entre otros	Incrementa la actividad bacteria en zonas deficientes de nutrientes

Fuente. Salleh, Ghazali, Rahman y Basri, 2003.

A diferencia de los métodos químicos de uso frecuente –como dispersantes–, los procesos de biorremediación ofrecen varias ventajas como, un bajo costo, un manejo seguro, además de que no generan impacto ambiental. Durante el derrame ocurrido en el 2010 por la plataforma *Deepwater Horizon*, se aplicaron alrededor de 6.6 millones de litros de dispersantes químicos (Corexit 9500) para mitigar la contaminación por petróleo. No obstante, debido a que estos compuestos están formulados con compuestos como el propanol, se puede incrementar la toxicidad del petróleo en los organismos marinos, además de tener un efecto letal en las

comunidades microbianas. Por lo tanto, su uso aún se encuentra en debate por la comunidad científica internacional, ya que faltan más estudios sobre toxicidad a diferentes niveles –microorganismos y organismos superiores–, para evaluar si existen efectos secundarios tomando en cuenta los probables escenarios que se generan por su uso y la presencia del petróleo.

3.7 Conclusiones

A pesar de que se han llevado a cabo diversos estudios para identificar las comunidades microbianas, hace falta realizar más trabajos relacionados con las nuevas técnicas en biología molecular para generar bibliotecas metagenómicas y así generar estudios más completos en ecología microbiana, para identificar bacterias que son de interés ecológico y biotecnológico, bacterias que degradan hidrocarburos, que por técnicas convencionales no se pueden detectar, a su vez identificar las de interés industrial, como son aquellas que producen biosurfactantes o enzimas como las celulasas y lipasas, las cuales tienen una amplia aplicación industrial.

La biorremediación es un proceso complejo que depende de múltiples factores microscópicos y macroscópicos; de factores físicos, químicos, biológicos y geológicos. Por tales razones, el análisis y la gestión de la biorremediación demandan un enfoque multidisciplinario e interdisciplinario para poder ser llevado a cabo con éxito, incluyendo la interacción de ingenieros agrónomos, geólogos, hidrogeólogos, microbiólogos, bioquímicos, ingenieros químicos y personal técnico, entre otros. La aplicación del tipo de tratamiento de biorremediación a utilizar –bioestimulación o bioaugmentación– y las manipulaciones del sistema a realizar, deberían surgir después de un análisis detallado de las características y propiedades intrínsecas del ambiente a remediar, ya que no existen recetas establecidas para aplicar en las diferentes situaciones ambientales.



Al igual que cualquier otra tecnología, la técnica de biorremediación tiene también sus propias ventajas y desventajas que fueron discutidas brevemente en este capítulo, la aplicación de los métodos de biorremediación presenta numerosos beneficios. Esta técnica proporciona la posibilidad de restaurar *in situ* ambientes contaminados, por lo tanto, no existe la necesidad de trasladar o transportar desechos tóxicos por lo que perturbación o impacto al sitio será mínima.

En consecuencia, los costos de transporte del suelo contaminado disminuirán y el contacto directo de los trabajadores con desechos tóxicos será también disminuido. La técnica asegura la eliminación permanente de contaminantes, de manera que no habrá necesidad de reanudar la operación después de emplearla una sola vez. La técnica de biorremediación es tan fácil de usar debido los costos tan bajos de operación, el rendimiento adecuado a temperatura ambiente y la eliminación simultánea de suelo y contaminaciones de aguas subterráneas.

Los métodos de biorremediación ayudan a degradar los contaminantes transformándolos en materiales inofensivos. A pesar de las enormes ventajas de los métodos de biorremediación, hay algunos inconvenientes que se deben tomar en cuenta al momento de seleccionar la técnica más eficaz. Los microorganismos que se encuentran comúnmente en los sitios contaminados no tienen la capacidad de degradar todos los contaminantes presentes en el medio ambiente. Hay algunos microorganismos en la naturaleza que son resistentes a la degradación microbiana. El proceso de biorremediación es difícil de controlar. Por otra parte, la lentitud de los procesos biológicos ocasiona que se requiera de tiempo para lograr resultados, especialmente cuando el tiempo necesario para completar las operaciones de limpieza es importante. Como conclusión general, se puede decir que la biorremediación es un proceso sitio-específico que requiere de estudios previos de viabilidad para que su aplicación a gran escala sea exitosa.

Requisitos para lograr éxito en la biorremediación:

- Los contaminantes deben estar biodisponibles, es decir no adsorbido en un residuo inaccesible (arcillas, humus).
- Los microorganismos degradadores apropiados deben estar presentes en el suelo, agua o disponibles para la inoculación
- Los compuestos recalcitrantes: no son degradados a velocidad razonable, ejemplos de compuestos naturales recalcitrantes: humus, artificiales (pesticidas, plásticos).
- Los organismos deben degradar el contaminante a velocidad tal que permita llevar su concentración a estándares regulares.
- Deben reunirse condiciones ambientales favorables para el desarrollo microbiano: temperatura del suelo, pH, aireación, humedad.
- Puede requerirse fertilización (N, P, K, etc.) para estimular procesos degradativos.
- El costo del tratamiento debe ser menor que el de las otras tecnologías disponibles.



◆ Referencias ◆

- Alvarado, C., Dasgupta, N., Ambriz, E., Sánchez, J., y Villegas, J. (2011). Hongos micorrízicos arbusculares y la fitorremediación de plomo. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 27(4), 357-364.
- Agudelo, L., Macías, K., y Suárez, A. (2005). Fitorremediación: la alternativa para absorber metales pesados de los biosólidos. *Revista lasallista de Investigación*, 57-60.
- Álvarez, H. (2015). Biorremediación de ambientes contaminados con hidrocarburos: un proceso complejo que involucra múltiples variables. *Química Viva*, (1), 18-25.
- Coulon, F., Pelletier, E., Gourhant, L., & Delille, D. (2005). Effects of nutrient and temperature on degradation of petroleum hydrocarbons in contaminated subantarctic soil. *Chemosphere*, 58, 1439-1448.
- Cubillos, J. (2011). *Evaluación de la fitorremediación como alternativa de tratamiento de aguas contaminadas con hidrocarburos*. (Tesis de maestría). Pereira, Colombia: Universidad Tecnológica de Pereira.
- Delgadillo, O., Camacho, A., Pérez A. y Andrade, M. (2010). *Depuración de aguas residuales por medio de humedales artificiales*. Cochabamba: Universidad Mayor de San Simón.
- Delgadillo, A., González, C., Prieto, F., Villagómez, J., y Acevedo, O. (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14, 597-612.
- Dietz, A., & Schnoor, J. (2001). *Advances in phytoremediation. Environmental health perspectives*, (p. 109). Iowa, EE. UU.: Department of Civil and Environmental Engineering, University of Iowa.
- EPA. (2001). Phytoremediation of Contaminated Soil and Ground Water at Hazardous Waste Sites. Recuperado de <https://www.epa.gov/remedytech/phytoremediation-contaminated-soil-and-ground-water-hazardous-waste-sites>
- Froni, L. (1999). *Procesos microbianos*. Río Cuarto, Argentina: Fundación Universidad Nacional de Río Cuarto.

- García, N. U., y Aguirre, M. L. (2014). Biodegradación de petróleo por bacterias: algunos casos de estudio en el Golfo de México. *Contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias*, 641-652.
- Jiang, Q., Zhou, C., Wang, Y., Zhou, Y., Chen, B., Zhao, Y., & Xiao, M. (2014). *Pseudomonas stutzeri* strain possessing a self-transmissible TOL-like plasmid degrades phenol and promotes maize growth in contaminated environments. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172, 3461-3475.
- Jorgensen, K. (2007). In situ bioremediation. *Advances in applied microbiology*, 61, 285-305.
- Khoyi, J., Farmohammadi, S., Noori, A., & Padash, A. (2013). Bioremediation: A nature-based approach towards having a healthier environment. *Global Journal of Plant Ecophysiology*, 3(2), 70-73.
- Kuyukina, M., & Ivshina, I. (2010). Application of rhodococcus in bioremediation of contaminated environments. In H. Alvarez (Ed). *Microbiology monographs series Springer Verlag*, 91-108. Heidelberg, Germany.
- Lal, R. (2004). Soil carbon sequestration to mitigate climate change. *Geoderma*, 123, 1-22.
- Lin, T-Ch, P-T, P., & Sh-Sh, C. (2010). Ex situ bioremediation of oil-contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, 176(1-3), 27-34.
- Madueño, L., Álvarez, H., & Morelli, I. (2014). Autochthonous bioaugmentation to enhance phenanthrene degradation in soil microcosms under arid conditions. *International journal of environmental science and technology*. DOI: 10.1007/s13762-014-0637-5.
- Madueño, L., Coppotelli, B., Álvarez, H., & Morelli, I. (2011). Isolation and characterization of indigenous soil bacteria for bioaugmentation of PAH contaminated soil of semiarid Patagonia. *Argentina International biodeterioration & biodegradation*, 65, 345-351.
- Mohn, W., Radziminiski, C., Fortin, M., & Reimer, K. (2001). On site bioremediation of hydrocarbon-contaminated Arctic tundra soils in inoculated biopiles. *Applied microbiology and Biotechnology*, 57(1), 242-247.



- Ortiz, I., Sanz, J., Dorado, M., y Villar, S. (2007). *Técnicas de recuperación de suelos contaminados*. Círculo de Innovación en Tecnologías Medioambientales y Energía (CITME). Madrid: Elecé Industria Gráfica.
- Rincón, M. C. (2004). *Estudio de la biorremediación como una alternativa en la mitigación de la contaminación ambiental*. (Tesis de especialización). Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander.
- Ruberto, L., Vazquez, S., Lobalbo, A., & MacCormack, W. (2003). Psychrotolerant hydrocarbon degrading rhodococcus strains isolated from polluted Antarctic soils. *Antartic Science*, 17, 47-56.
- Salleh, A., Ghazali, F., Rahman, R., & Basri, M. (2003). Bioremediation of petroleum hydrocarbon pollution. *Indian Journal of Biotechnology*, 2, 411-425.
- Sandoval, J. J., & Peña, M. (2007). Performance analysis of SSF wetlands in tropical regions based on first order kinetic models for the removal of organic matter. 2.nd International Symposium on Wetland Pollutant Dynamics and Control. *WETPOL 2007*, 1, 268-270. Tartu, Estonia.
- Sandoval, J. (2009). *Evaluación del desempeño de humedales horizontales subsuperficiales para el tratamiento de aguas residuales domésticas: aplicación de modelos macrocinéticos*. (Tesis de maestría). Cali: Universidad del Valle.
- Sayler, G., & Ripp, S. (2000). Field applications of genetically engineered microorganisms for bioremediation. *Current Opinion in Biotechnology*, 11(3), 286-289.
- Suthersan, S. (2001). *Natural and enhanced remediation systems*. In S. Suthersan (Ed.). Boca Ratón: CRC Press LLC.
- Vargas, P., Cuéllar, R., y Dussán, J. (2004). Biorremediación de residuos del petróleo. Hipótesis. *Apuntes Científicos Uniandinos*, (4). Colombia.
- Zouboulis, A., & Moussas, P. (2011). Groundwater and soil pollution: Bioremediation. *Encyclopedia of Environmental Health*, 1037-1044.





PARTE II

**NUEVAS TENDENCIAS EN
REMEDIACIÓN DE SUELOS Y CASOS
DE ESTUDIO**





◆— Capítulo 4 —◆

Remediación y biorremediación de suelos con HC

Victoria Eugenia Vallejo Quintero

Resumen

El petróleo crudo y sus derivados son productos que representan un alto riesgo de contaminación en ecosistemas acuáticos y terrestres. Dentro de los compuestos que se encuentran en el petróleo están los hidrocarburos totales de petróleo (TPH) y los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA), siendo estos últimos contaminantes prioritarios dado su alta toxicidad, como consecuencia de sus propiedades mutagénicas, teratogénicas y carcinogénicas.

Debido a lo anterior, se hace necesario la búsqueda, evaluación e implementación de tecnologías ambientales, efectivas y sostenibles, tales como la biorremediación, que permitan la recuperación de ambientes contaminados con dichos compuestos. Sin embargo, su principal desventaja radica en que, en ciertas ocasiones, se requiere de largos periodos de tiempo para remediar el ambiente contaminado. No obstante, existe la bioestimulación, la cual incrementa las tasas de biodegradación y el porcentaje de remoción del contaminante, a través de la estimulación de los microorganismos degradadores nativos por medio de la adición de algún factor limitante, generalmente nutrientes. En el presente capítulo se plantearán conceptos actuales y casos de estudio asociados a la biorremediación de hidrocarburos (TPH y PHA), haciendo énfasis en el empleo de la bioestimulación, así como en el empleo de herramientas biológicas que permitan la evaluación y monitoreo de dicho tratamiento, bien sea a través de técnicas dependientes o independientes de cultivo.

4.1 Compuestos orgánicos contaminantes: el petróleo y sus derivados

La contaminación del suelo derivada de actividades industriales y agrícolas ha generado gran preocupación en los últimos años (Ha et al., 2014; Ming et al., 2015). Diferentes tipos de contaminantes –por ejemplo, petróleo y productos relacionados, pesticidas, clorofenoles, metales pesados, entre otros– ingresan a los cuerpos del agua –superficial y subterránea– o el suelo, representando una grave amenaza para la salud humana y el ecosistema natural (Gallego et al., 2001; Hu et al., 2013). Dentro de dichos contaminantes, se destaca el petróleo, el cual se considera una mezcla extremadamente compleja de compuestos químicos orgánicos, cuyas características y proporción varían de acuerdo con su origen geológico y geográfico (Souza et al., 2014).

La contaminación de suelos y aguas subterráneas por dicho compuesto y sus derivados, se ha convertido en un foco de gran interés, tanto en países industrializados como en países en vía de desarrollo, debido a su amplia distribución ambiental. La mayoría de compuestos que constituyen el petróleo son hidrocarburos (HC), los cuales varían de acuerdo con su peso molecular y estructura, constituidos principalmente por cadenas lineales y ramificadas, anillos sencillos, condensados o aromáticos. Así mismo, el petróleo puede contener bajas concentraciones de azufre, nitrógeno, oxígeno y constituyentes metálicos (Manahan, 2007). En Colombia, a diferencia de otros países como Estados Unidos o México donde existe una rigurosa reglamentación y normatividad en términos de protección ambiental en lo que respecta a la contaminación con petróleo crudo o sus derivados, no se cuenta aún con un estricto control de esta situación.

El petróleo puede ingresar al ambiente de manera natural a través de afloramientos naturales –chapopoteras–, o por liberación accidental o intencionada. Así mismo, todas las operaciones relacionadas con la actividad petrolera en sus diferentes etapas –por ejemplo, explotación, transporte, prospección, procesos de



embarque y desembarque de crudo en los puertos, refinamiento, entre otros— son responsables de una buena parte de la contaminación por hidrocarburos (Vallejo y Roldán, 2005; Souza *et al.*, 2014). Los derrames de crudo y sus derivados son debidos principalmente a su transporte, bien sea marítimo, terrestre o por oleoductos. Los contaminantes vertidos al suelo y al agua subterránea aumentan cada año paralelamente con el crecimiento de la industria y la demanda de energía. En términos generales, cualquier ingreso de dicho contaminante, genera una pérdida de la biodiversidad, disminución o pérdida de calidad de aguas, suelos y aire, ocasionando graves consecuencias sociales, ambientales, ecológicas y económicas (Chen *et al.*, 2015).

Los HC son compuestos orgánicos que contienen diferentes combinaciones de carbono e hidrógeno, presentándose en la naturaleza como gases, líquidos, grasas y sólidos. Los dos grupos principales de hidrocarburos aromáticos son los monocíclicos, el benceno, tolueno y xileno (BTEX) y los hidrocarburos policíclicos (HPA) tales como el naftaleno, antraceno y fenantreno (Marco *et al.*, 2015; Xu *et al.*, 2009). Debido a que son muchos los compuestos que forman el petróleo, no es práctico medirlos individualmente, resultando más útil medir la cantidad total de HC que se encuentran en una muestra particular de suelo, agua o aire. A este grupo así medido de compuestos que forman parte del petróleo se les denomina hidrocarburos totales del petróleo (TPH) (Pinedo *et al.*, 2013).

Los TPH describen un grupo de varios cientos de sustancias químicas derivadas originalmente del petróleo crudo, formados en su mayoría únicamente de hidrógeno y carbono. Algunas de las sustancias químicas que pueden encontrarse en los TPH incluyen: el hexano, los combustibles de aviones de reacción, los aceites minerales, el benceno, tolueno, xileno, la naftalina y el fluoreno, como también otros productos de petróleo y componentes de gasolina (ATSDR, 2015; Weisman, 1998). La cuantificación de TPH se realiza con el fin de determinar la cantidad total de HC presentes en el medio ambiente —suelo y agua—. El análisis de TPH por sí

solo no es un indicador directo de toxicidad, debido a que solo indican la presencia de contaminación sin determinar el compuesto específico que cause mayor riesgo toxicológico y ambiental (Vallejo y Roldán, 2005). Por esta razón, no son empleados para estimar riesgos asociados con la salud humana, para lo cual se podrían determinar los compuestos de manera individual (por ejemplo, PAH o BTEX). Sin embargo, por muchos años los TPH han sido empleados como un indicador de toxicidad por agencias regulatorias (por ejemplo, EPA, ASTDR) (Weisman, 1998). Debido a que los TPH incluyen muchas sustancias, este parámetro es seleccionado para llevar a cabo una primera aproximación de la contaminación, comparando el o los valores estimados con los valores límites máximos establecidos en regulaciones nacionales (Pinedo et al., 2013).

Por su parte, el grupo de los HC alifáticos que hacen parte del petróleo, se caracterizan por presentar cadenas lineales o ramificadas y se diferencian en el tipo de enlace que posean entre carbonos: alcanos o saturados –enlaces sencillos–, alquenos y alquinos o no saturados –enlaces dobles y triples, respectivamente–. Dentro de los alifáticos encontramos los cicloalcanos, los cuales tienen estructuras ramificadas o cíclicas, como los naftenos o las cicloparafinas (Manahan, 2007). Los HC aromáticos son aquellos que tienen uno o múltiples anillos de benceno, estos últimos conocidos como HC policíclicos aromáticos o HPA (Andreoni y Gianfreda 2007).

Los HPA son compuestos ubicuos en la naturaleza y se encuentran en sustancias como el petróleo crudo, el carbón, la creosota y el alquitrán, aunque unos pocos se usan en medicamentos o para fabricar tinturas y pesticidas (ATSDR, 2015). Si bien estos se generan a partir de actividades naturales –biogénicas y geoquímicas–, su fuente principal son las actividades antropogénicas. Los HPA se forman por pirólisis o combustión incompleta de materia orgánica que contiene carbono e hidrógeno. Los HPA son compuestos de especial interés ambiental y son considerados por la agencia de protección ambiental de los Estados Unidos y la Comunidad Euro-



pea como contaminantes prioritarios dada su alta toxicidad, esta última derivada de sus propiedades mutagénicas, teratogénicas y carcinogénicas; principalmente aquellos con alto peso molecular –4 o más anillos condensados– (Andreoni y Gianfreda 2007).

Los HAP pueden acumularse en la cadena trófica y presentan toxicidad por inhalación, contacto o ingestión. Su baja hidrosolubilidad los convierte en altamente liposolubles, favoreciendo su absorción a través del tracto intestinal de mamíferos y su rápida distribución en los tejidos, preferentemente en el adiposo (Twiss *et al.*, 1999). De todos los HPA, la U.S. EPA (U.S. Environmental Protection Agency), ha identificado 16 como prioritarios ambientalmente, por ser altamente contaminantes. Estos son el naftaleno, acenafteno, acenaftileno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno, benzo (g,h,i)perileno e indenol (1,2,3,cd) pireno.

La mayoría de estos compuestos son altamente persistentes en los ecosistemas en formas químicas poco alteradas y no fácilmente degradables debido a su baja solubilidad en agua, estabilidad química y recalcitrancia (Bamforth y Singleton 2005). Por lo tanto, sitios contaminados con HPA representan una fuente de contaminación a largo plazo y un grave riesgo para la salud humana y el medio ambiente. De esta forma, la presencia de dichos contaminantes generan degradación y pérdida de calidad de ecosistemas acuáticos y terrestres, dada su gran persistencia, bioacumulación y toxicidad.

Las características fisicoquímicas de los HPA son las que condicionan su comportamiento en el ambiente. Las dos más importantes son: la hidrofobicidad y la recalcitrancia; ambas aumentan con el incremento en el número de anillos bencénicos presentes en la estructura del HC. Debido a sus propiedades hidrofóbicas, los HPA tienden a adsorberse a las superficies, hecho que dificulta su degradación (Venkata *et al.*, 2006). Los

HPA son biodegradables en condiciones aerobias y anaerobias; los compuestos de 2 a 4 anillos son fácilmente degradados por los microorganismos, y aquellos que contienen mayor cantidad de anillos (>4) y que posean un gran número de sustituyentes aquilos son resistentes a la biodegradación, debido a su complejidad y baja solubilidad –por ejemplo, benzopireno y benzoantraceno– (Haritash y Kaushik, 2009).

Es así como resulta fundamental promover y plantear alternativas para la recuperación de suelos contaminados con TPH y HPA. Si bien, estos pueden ser removidos o atenuados a través de tratamientos fisicoquímicos, estos generalmente involucran procedimientos de alta complejidad resultando altamente costosos y difícilmente sostenibles en el tiempo. Por otra parte, la biorremediación se ha convertido en una de las mejores alternativas para la eliminación de este tipo de contaminantes dada su relativa simplicidad de implementación, bajo costo, seguridad y limitado impacto en el ambiente.

Los estudios realizados en torno a la evaluación de la biorremediación como tratamiento para la recuperación de suelos contaminados con TPH y PHA han aumentado considerablemente los últimos años. Generalmente, la degradación biológica es el principal mecanismo para que la mayoría de contaminantes se eliminen del ambiente. Sin embargo, la densidad y actividad de los microorganismos degradadores depende de muchos factores que incluyen: la biodisponibilidad del contaminante, la concentración, su toxicidad, la movilidad, la relación de nutrientes –C:N:P–, las enzimas activadas, así como de muchas características fisicoquímicas del ambiente contaminado (Venkata *et al.*, 2006).

4.2 Estrategias de biorremediación

Actualmente existen diferentes tecnologías para la recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos, sin embargo, la biorremediación se ha convertido en una de las mejores alternativas para



la eliminación de este tipo de contaminantes. Lo anterior se deriva de las ventajas que esta ofrece frente a las tecnologías fisicoquímicas, específicamente vale la pena destacar su relativa simplicidad de implementación, bajo costo, seguridad y limitado impacto en el ambiente (Fátima *et al.*, 2005). Una de las principales ventajas de la biorremediación es su bajo costo comparado con técnicas convencionales; por lo tanto, resulta de gran interés, debido a que el costo de las tecnologías convencionales en diferentes sitios contaminados de EE. UU se estima puede alcanzar los 1,7 trillones de dólares. Por otra parte, se considera costo-efectiva, representando una solución permanente, que puede conllevar a la completa mineralización del contaminante; además de ser no invasiva, dejando intacto el ecosistema (Perelo , 2010).

En la biorremediación se aprovecha o potencializan las características de ciertos microorganismos y especies vegetales para degradar, remover o disminuir la concentración de una amplia variedad de compuestos orgánicos, entre estos, los hidrocarburos (Perelo, 2010). No obstante, una de las limitaciones que esta presenta respecto a las técnicas físico-químicas es el tiempo prolongado requerido para remediar el ambiente contaminado. Por otra parte, durante la biorremediación se puede generar una disminución en las tasas de biodegradación, ya sea por el enriquecimiento de componentes recalcitrantes, por una disminución en la biodisponibilidad de los contaminantes o por la presencia de algún factor limitante. A medida que los niveles de contaminación disminuyen, la velocidad de degradación se reduce y los microorganismos cambian, pudiendo adoptar otras fuentes de energía o detener su crecimiento por completo. En tal caso, la biorremediación podría no ser suficiente como tratamiento y sería necesario el uso de otras tecnologías o estrategias de tratamiento. Es importante resaltar que para garantizar el éxito de cualquier proceso de biorremediación debe demostrarse que la remoción del contaminante fue debido a la biodegradación como agente primario, y que la velocidad de degradación es mayor que la tasa natural de descontaminación (Fátima *et al.*, 2005).

Estudios previos han demostrado que la naturaleza puede mitigar los daños ambientales inducidos por el contaminante, a través de diferentes procesos de atenuación natural, siempre y cuando las condiciones ambientales sean favorables (Perelo, 2010). Por lo tanto, las estrategias o tecnologías de biorremediación de suelos contaminados fueron desarrolladas para acelerar el proceso natural de la recuperación de suelos. Este efecto es logrado mediante la optimización de la capacidad natural de microorganismos para degradar un contaminante, proporcionando condiciones óptimas para su crecimiento y actividad, mejorando la biodisponibilidad del contaminante y reduciendo el estrés abiótico sobre los microorganismos nativos (Vidali, 2001).

Antes de iniciar la biorremediación, es importante evaluar el potencial de los microorganismos nativos para degradar el material contaminante y valorar los factores limitantes a ser controlados durante el tratamiento. Adicionalmente, factores tales como la temperatura, la limitación de nutrientes y la disponibilidad de humedad, reducen la biodegradación de hidrocarburos. Por lo tanto, identificar, hacer seguimiento y controlar estos factores limitantes es entonces de gran importancia para favorecer las tasas de biodegradación del contaminante (Borrasen y Rike, 2007).

Hoy en día se pueden implementar dos estrategias que han demostrado mejorar la eficiencia del proceso de biorremediación: la bioestimulación y la bioaumentación. En la bioestimulación se realiza una estimulación intencional de la población de microorganismos degradadores nativos a través de la adición de agua, nutriente, donantes y aceptores de electrones o cosustratos. Para el caso de los hidrocarburos, esta ha consistido principalmente en la incorporación de nitrógeno, fósforo y potasio en el suelo contaminado para adecuar la relación C:N:P del mismo (Infante et al., 2010; Vallejo y Roldán 2005).

Por su parte, la bioaumentación consiste en la adición de microorganismos especializados –nativos o comerciales– al medio con el fin de potenciar la remediación. Sin embargo, se ha recomenda-



do por diversos autores el uso de microorganismos nativos, ya que estos se encuentran adaptados a las condiciones ambientales y a la presencia del contaminante. En la bioaumentación se emplean consorcios microbianos, que se refieren a la unión o combinación de múltiples microorganismos degradadores, generando de esta forma una representación y acercamiento a los modelos naturales. Sin embargo, numerosos estudios muestran que factores bióticos y abióticos influyen en la adaptación de los microorganismos introducidos y por lo tanto, en el proceso de biorremediación.

A pesar de que la bioaumentación sigue siendo una fuente de controversia dentro de la microbiología ambiental, es considerada como una vía o estrategia que permite ampliar la capacidad genética presente en un determinado sitio, generando así un aumento en la reserva de genes y en la diversidad genética del lugar (Dejonghe et al., 2001). En este contexto, la supervivencia a largo plazo de los microorganismos introducidos no representa el principal cuello de botella en procesos de bioaumentación. No obstante, la determinación del éxito potencial de dicha estrategia requiere de una comprensión de la biodisponibilidad del contaminante, la supervivencia y actividad de los microorganismos adicionados o de su material genético, así como de las condiciones ambientales generales que controlan las tasas de biorremediación en suelos. Con las técnicas genéticas disponibles, la comprensión del éxito de los microorganismos añadidos y de los parámetros críticos para el diseño de bioaumentación procesos se puede lograr (Andreoni y Gianfrenda, 2007).

La heterogeneidad y complejidad de las propiedades fisicoquímicas y biológicas de los suelos pueden reducir o inhibir las poblaciones introducidas de microorganismos degradadores a través de relaciones antagónicas –bióticos–, como la predación y competencia con la población de microorganismos nativos, así como la liberación de compuestos orgánicos por raíces. De la misma forma, el estrés causado por factores abióticos como el pH, la disponibilidad de agua y aire, la temperatura y en el caso especial de algunos HC, la disponibilidad del carbono y una fuente de energía, también

afecta el éxito de la bioaumentación (Semple et al., 2006). Se ha demostrado que el empleo de cepas microbianas nativas, debido a que estos microorganismos están bien adaptados, permite incrementar su densidad en procesos de biorremediación. Por su parte, el tratamiento de suelos contaminados y aguas subterráneas con poblaciones microbianas alóctonas posee muchas desventajas, ya que algunas poblaciones no resultan eficaces en diferentes regiones de aplicación (Suja et al., 2014).

4.3 Casos de estudio: bioestimulación para la remediación de suelos contaminados con TPH y HPA

La biorremediación tuvo un punto de partida histórico a través de la aplicación a gran escala en la limpieza de las playas de Alaska, tras el accidente del buque Exxon Valdez (1989), que vertió en sus aguas aproximadamente 42 millones de litros del crudo. Dicha catástrofe ecológica y ambiental sirvió de base para el desarrollo de numerosas investigaciones enfocadas a la recuperación de las áreas afectadas tras el derrame, en donde se evaluaron y compararon estrategias de bioaumentación y bioestimulación. Esta última se convirtió en la tecnología más eficiente a través de la aplicación de nutrientes oleofílicos –Inipol EAP 22, compuesto de urea, laurilfosfato y ácido oleico– y granulares de liberación lenta –superficial + sub-superficial–, que permitieron incrementar las tasas de biodegradación de 2 a 4 veces (Bragg et al., 1994).

Es así como estudios previos en biorremediación de suelos y aguas contaminadas con TPH y HPA han hecho especial énfasis en el empleo de la bioestimulación, la cual potencializa la acción degradadora microbiana a través del suministro de factores limitantes –por ejemplo, nutrientes, aceptores de electrones, humedad y cosustratos–. Se ha evidenciado que dichos ambientes presentan un exceso de carbono proveniente del contaminante, mientras que elementos como el nitrógeno y el fósforo se encuentran en bajas concentraciones para mantener un balance óptimo de nutrientes (C:N:P), limitando el proceso de biodegradación (Vallejo y Roldán,



2005). Por lo tanto, es necesario la adición y comparación de distintas fuentes de N y P, las cuales generalmente tienen un efecto positivo sobre la densidad y actividad de las poblaciones microbianas, y consecuentemente, sobre las tasas de biodegradación de hidrocarburos en suelos contaminados (Chaîneau *et al.*, 2003). Las proporciones molares de C:N:P descritas en la bibliografía, respecto al contenido de carbono a degradar son muy variadas. La EPA recomienda utilizar proporciones C:N de 100:10 a 1000:10 para la biodegradación de suelos contaminados por hidrocarburos (EPA, 1995). Sin embargo, a pesar de que la adición de dichos nutrientes al suelo resulta en la mayoría de los casos beneficiosa para los procesos de biodegradación, el uso excesivo de nutrientes inorgánicos también puede inhibir los procesos de biodegradación (Margesin y Schinner, 1997).

Numerosos estudios se han enfocado en evaluar el efecto de la bioestimulación en suelos contaminados con hidrocarburos empleando distintas relaciones de C:N:P –por ejemplo, 100:20:2, 100:10:1, 100:5:0,5, 100:0,4:0,2, entre otras–, a través de fertilizantes orgánicos e inorgánicos, tales como el compostaje, la gallinaza, la urea, los fertilizantes inorgánicos compuestos (FIC) como el triple 15 N:P:K y las sales inorgánicas –por ejemplo, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4NO_3 , KH_2PO_4 – (Vallejo y Roldán, 2005; Cerqueira *et al.*, 2014; Abdulsalam y Omale, 2009; Acuña *et al.*, 2012; Taccari *et al.*, 2012; Xu & Lu, 2010).

Sin embargo, a pesar de muchas aplicaciones recientes citadas en la literatura referente a la bioestimulación, esta no ha sido comprendida en su totalidad. La mayor parte de los estudios reportados se han desarrollado en países con estaciones y características ambientales diferentes a las de zonas tropicales como Colombia (Antizar-Ladislao *et al.*, 2006; Fountoulakis *et al.*, 2009; Giraud *et al.*, 2001; Liebeg y Cutright, 1999; Machate *et al.*, 1997). Por ejemplo, se ha establecido que uno de los principales factores en la biodegradación de HPA es el grado en que estos se encuentran disponibles para la toma y asimilación por parte de los microorganismos degradadores. Dicha disponibilidad está

directamente asociada con el tipo de HPA y las características y potencialidades de los microorganismos, pero además se ve influenciada por los factores ambientales y las propiedades fisicoquímicas del medio (Haritash y Kaushik 2009). Esto hace esencial que la investigación de estos procesos se adelante considerando estos factores y su interacción bajo las condiciones ambientales propias del sistema objeto de estudio.

Estudios en Colombia realizados por Vallejo *et al.* (2015) concluyeron que la adición de nutrientes: FIC y Urea más K_2HPO_4 (U) estimularon la densidad de microorganismos heterótrofos y degradadores, lo cual optimizó el proceso de biodegradación de suelos contaminados con alquitrán, evidenciado por una disminución significativa en la concentración de TPH en los tratamientos. Durante el estudio, se evaluó el efecto de la bioestimulación en la biorremediación de un suelo contaminado con alquitrán generado durante la producción de carbón vegetal artesanal. Para lo cual se empleó suelo contaminado con alquitrán ($\sim 15,000$ mg TPH/kg_{ps}) proveniente de Soacha, Cundinamarca y se montaron ocho mesocosmos ($n=2$), simulando condiciones de biolabranza bajo por un periodo de 60 días. Se evaluaron dos tratamientos: FIC y Urea más K_2HPO_4 (U) y dos controles: atenuación natural y abiótico. Los estudios demostraron un mayor porcentaje de remoción de TPH en el tratamiento con FIC (28 %), seguido del tratamiento con U (24 %), por último el control de Atenuación Natural -6 %-. Similarmente, estudios realizados por García *et al.* (2011), evaluaron el proceso de bioestimulación utilizando FIC (N:P:K 28:12:7) y sales inorgánicas simples (SIS) NH_4NO_3 y K_2HPO_4 en suelos contaminados con hidrocarburos utilizando respirometría. El suelo fue contaminado con lodos aceitosos a una concentración 40.000 mgTPH/kg_{ps}. En este estudio, las SIS por encima del FIC estimularon la población degradadora de HC, lo cual se reflejó en las mayores tasas de respiración obtenidas en OXITOP. Por otro lado, factores como tiempo y presencia de HC de alto peso molecular fueron limitantes durante el estudio.



Marco *et al.* (2015) en su estudio compararon la bioestimulación con un producto comercial –Micropan™– que contenía una mezcla de nutrientes derivados de fuentes vegetales –40 % C orgánico, 1 % de N orgánico y 1 % de fósforo– y la bioaumentación –inoculación con el hongo *trichoderma sp.*– durante la biorremediación de un suelo de bosque quemado y contaminado por hidrocarburos tóxicos en el norte de Italia. Los estudios demostraron que se alcanzó una mayor reducción de HC de alto peso molecular a los 60 días en el tratamiento de bioestimulación, tiempo en el cual se redujo aproximadamente el 70 % de su concentración inicial. Por su parte, el tratamiento con bioaumentación obtuvo el 55 % de degradación y la atenuación natural solo el 45 % de la fracción C-12-40 de los HC iniciales. Los estudios demuestran que la bioestimulación redujo significativamente el tiempo necesario para la remediación, debido a un incremento de la degradación microbiana como consecuencia del balance o equilibrio de los nutrientes presentes en el suelo.

Estudios realizados por Suja *et al.* (2014) evaluaron el éxito de la biorremediación –en campo y laboratorio– de TPH en suelos contaminados por aceite crudo proveniente de una instalación de aceite y gas en Malasia. Los autores compararon la bioestimulación –medio de sales minerales MSM y NPK– combinada con bioaumentación –consorcios microbianos MC1, MC y MC3– frente a la estimulación con aire –suministro de oxígeno a través de compuestos liberadores de oxígeno–. En las unidades experimentales en tanques con microcosmos la combinación de bioaumentación –10 % del inóculo de MC3– y la bioestimulación con MSM produjo la degradación más alta de TPH –79 %–. En los experimentos de columna, la mayor degradación de los TPH se obtuvo combinando la bioaumentación y la adición de nutrientes, mientras que en el suelo del fondo, la degradación de los TPH fue mayor en las columnas que combinan bioaumentación con la adición de ambos nutrientes y compuestos liberadores de oxígeno. Se concluyó que las constantes cinéticas tanto en laboratorio y campo, fueron mejores para el sitio contaminado donde se implementó una combinación de la bioaumentación con el consorcio MC3 y la bioestimulación.

Cerqueira *et al.* (2014) evaluaron la atenuación natural, la bioestimulación y bioaumentación en suelos contaminados con dos concentraciones de lodos aceitosos –1.5 y 6.0 %– en microcosmos abiertos y cerrados por un periodo de 90 días. Los resultados mostraron que las mayores tasas de biodegradación fueron obtenidas en los suelos contaminados con un 6 % de dichos lodos en condiciones de microcosmos. La adición de consorcios microbianos y nutrientes en diferentes concentraciones demostró que la mayor tasa de biodegradación de TPH se obtuvo bajo bioaumentación y bioestimulación frente a la atenuación natural. Los suelos tratados en microcosmos cerrados mostraron una tasa de remoción mayor –84 %– cuando se contaminó al 6 % y se adicionaron bajas concentraciones de consorcios microbianos y nutrientes. En microcosmos abiertos, el suelo contaminado al 6 % con mayores cantidades de nutrientes –100:10:1– presentó la mayor tasa de biodegradación –79 %–. Los resultados demuestran que la aplicación de consorcios microbianos y nutrientes favorece la biodegradación de TPH presentes en lodos aceitosos, indicando sus aplicaciones potenciales para el tratamiento de suelos impactados con estos importantes residuos peligrosos.

Tahseen *et al.* (2011) evaluaron y compararon la degradación de varios HPA –fluoreno, el fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno– presentes en un suelo, a través de bioestimulación y bioaumentación. La degradación de HPA –concentración inicial: 1g HPA/Kg_{ps} suelo– fue comparada y evaluada a partir de la bioaumentación con el hongo de podredumbre blanca: *trametes versicolor* y la bioestimulación usando compostaje de fracciones orgánicas seleccionadas de residuos sólidos municipales y alimento para conejos como cosustratos orgánicos. Los análisis demostraron que el *T. versicolor* no mejoró significativamente la degradación de los HPA. Sin embargo, la bioestimulación sí fue capaz de incrementar significativamente la degradación los HPA, el 89 % de estos se degradó en un periodo de 30 días comparado con el control sin nutrientes: 29.5 %. Los resultados indicaron que el compostaje tiene un mayor potencial de degradación de estos compuestos en comparación con cosustratos no estables como la comida de



conejo. De la misma forma, Straube et al. (2003) compararon la bioestimulación –adición de cascaras de arroz molido como agente de volumen y sangre seca como una fuente de liberación lenta de N– y la bioaumentación –*pseudomonas aeruginosa* strain 64– de un suelo proveniente de un sitio contaminado –Popile Inc.– con 13,000 mg/kg HPA y 1,500 mg/kg de pentaclorofenol. Después de 11 meses, el control tuvo una remoción del 23 % de los HPA totales y un 48 % de HPA tóxicos (BaP-Benzopireno), la bioestimulación un 34 % y un 57 %, respectivamente; mientras que la bioestimulación + bioaumentación removieron alrededor del 87 % de los HPA y el 67 % de los BaP. Los resultados demostraron que la adición de fertilizantes de liberación lenta y agentes de volumen tienen un gran potencial para mejorar la remoción de HPA en suelos bajo biolabranza.

Finalmente, Alessandra et al. (2012), quienes evaluaron la remoción de HPA en un suelo arcilloso tropical contaminado con diesel, indicaron que la eficiencia en la eliminación de los HPA totales difirió de las eficiencias en la remoción de compuestos de HPA individuales; lo cual es dependiente del tipo de HPA de las condiciones locales, así como de la estructura y composición de los microorganismos nativos y el tipo de suelo. Durante el estudio se utilizaron tres tratamientos de biorremediación: biolabranza, bioestimulación y bioestimulación con bioaumentación. En el caso de los HPA totales, los valores de remoción obtenidos al finalizar el periodo de experimentación –129 días–, fueron del 87 %, 89 % y 87 % para la biolabranza, la bioestimulación y la bioestimulación + bioaumentación, respectivamente. De esta forma se demostró que la remoción del contaminante no fue mejorada por la adición de nutrientes y microorganismos. En cuanto a los 16 HPA prioritarios evaluados individualmente, los resultados variaron dependiendo del tratamiento de biorremediación utilizado y del tipo de HPA. En general, compuestos de pocos anillos aromáticos fueron mejor removidos con bioestimulación o bioestimulación con bioaumentación, mientras que aquellos de más de 4 anillos fueron removidos más efectivamente con la biolabranza.



Es importante resaltar que se ha evidenciado que la biorremediación de HPA's en suelos es un fenómeno complejo. Lo anterior debido a la naturaleza tóxica e hidrófoba de estos compuestos, la composición del suelo, la heterogeneidad del ambiente microbiano y la distribución del contaminante, así como por numerosos factores ambientales que controlan el proceso de biorremediación y la presencia de altas concentraciones de otros contaminantes. Algunos factores alteran la velocidad de toma del contaminante por parte de los microorganismos, así como su metabolismo –actividad intrínseca de la célula– y otros factores, cambian la tasa de transporte del contaminante a los microorganismos –biodisponibilidad– (Semple *et al.*, 2006; Tang *et al.*, 2005).

4.4 Monitoreo biológico en biorremediación –énfasis: técnicas moleculares y actividades enzimáticas–

El conocimiento de las comunidades microbianas presentes en suelos contaminados, así como su evolución y comportamiento durante la biorremediación, es todavía muy limitado. Por tal motivo, resulta prioritario aumentar nuestra comprensión sobre los microorganismos existentes en diferentes ambientes contaminados, así como de las interacciones que se establecen entre ellos. El conocimiento de la fisiología y genética de las dichas comunidades permitirá un mejor planteamiento de futuras investigaciones, basado en la información sobre qué tipo de microorganismos son capaces de adaptarse a estos hábitats, pudiendo explotar así sus capacidades. Por otra parte, el estudio del componente microbiano es fundamental para evaluar y comprobar la eficacia de estrategias de bioestimulación o bioaumentación durante la biorremediación de distintos tipos de contaminantes tales como los TPH y PHA.

Es así como en los últimos años se han desarrollado una serie de metodologías, con el objetivo de estudiar y lograr una mayor representatividad de la diversidad microbiana presente en sistemas naturales contaminados y no contaminados (Amann *et al.*, 1995;



Head *et al.*, 1998). Estas metodologías no necesitan pasos previos de cultivo de la muestra ambiental y se basan en el estudio directo de la muestra a diferentes niveles. Existen métodos que analizan los ácidos grasos de los fosfolípidos de membrana de la comunidad microbiana (PLFA), estudios por microscopía –epifluorescencia– y mayoritariamente, métodos que analizan ácidos nucleicos existentes en la comunidad: PCR (reacción en cadena de la polimerasa) y clonación, gel con gradiente desnaturante químico o térmico (DGGE o TGGE respectivamente), polimorfismos de la longitud del fragmento terminal de restricción (T-RFLP), y técnicas de hibridación *in situ* (FISH), entre otros (Gupta *et al.*, 2015).

Los estudios convencionales de diversidad microbiana, basados únicamente en el aislamiento y recuento de microorganismos, representan una parte minoritaria de la diversidad real existente (Amann *et al.*, 1995), aunque siguen siendo muy útiles para realizar el seguimiento de procesos de biorremediación (Vallejo y Roldán, 2005). Por su parte, las nuevas técnicas de biología molecular, nos ofrecen nuevas y atractivas posibilidades para analizar la estructura, composición y cambio poblacional de las comunidades microbianas del suelo durante procesos de biodegradación. Sin embargo, es importante tener en cuenta que cada uno de estos métodos cuentan con diferentes poderes de resolución, con ventajas y desventajas, las cuales necesitan ser consideradas a la hora de seleccionar la metodología más adecuada para una investigación en particular (Grayston *et al.*, 2004; Juwarkar *et al.*, 2010).

4.4.1. Técnicas dependientes de cultivo.

Las estimaciones de la diversidad bacteriana se han basado, de forma tradicional, en métodos dependientes de cultivo. En este grupo se incluyen el aislamiento y el cultivo en medio sólido o en medio líquido, como el número más probable (NMP) u otros que incluyen baterías de pruebas de utilización de sustratos –una o varias fuentes de carbono– como el método Biolog[®], que permite estudiar las comunidades microbianas con base a su perfil fisiológico. A pesar de las limitaciones, las técnicas dependientes



de cultivo presentan ciertas ventajas y todavía son de uso habitual en los laboratorios de microbiología ambiental. La principal de sus ventajas es poder obtener cultivos puros, útiles para posteriores estudios y para caracterizar actividades metabólicas de interés. Por último, si se es consciente de las limitaciones que presentan, pueden ser útiles en estudios comparativos (Blaise *et al.*, 2011).

El NMP es una alternativa al recuento en placa para conteo de organismos viables, en la cual se hace uso del cultivo en líquido en microplacas, de diluciones seriadas de una muestra, conteo basado en modelos de distribución estadística binaria –distribución de *Poisson*– del número probable de organismos en una muestra. Con la técnica del NMP se han comparado el uso de diferentes fuentes de HCs por ejemplo, kerosene, diesel, gasolina, hidrocarburos policíclicos aromáticos-PAH y crudo– en placas de 24, 60 y 96 pozos en estudios de biorremediación. Adicionalmente, se han empleado diferentes formas para visualizar la actividad metabólica de los microorganismos, como C14 radioactivo, pruebas de reducción con sales de tetrazolio o simplemente la aparición de turbidez en las diluciones (Wrenn y Venosa, 1996; Haines *et al.*, 1996; Vallejo y Roldán, 2005).

Las sales de tetrazolio permiten medir la actividad respiratoria asociada a la cadena transportadora de electrones. Estas sales presentan la ventaja de ser reducidas por la mayoría de los sistemas de deshidrogenasas, y de requerir cortos periodos de tiempo para su reducción y consecuente cambio de color (Gabrielson *et al.*, 2002). Una de las sales más empleadas en estudios de biorremediación ha sido el INT, quien compite con el O₂ en la cadena transportadora de electrones y en su forma reducida –INT-formazán– genera un precipitado rosado-rojo (Haines *et al.*, 1996; Wrenn y Venosa, 1996). Sin embargo, el empleo de esta sal en estudios de biorremediación ha generado inconvenientes relacionados con la interpretación de los resultados, debido a la generación de formazán insoluble, lo cual podría subestimar la actividad del sistema transportador de electrones o causar un aumento en la lisis de las células bacterianas debido a un excesivo depósito de cristales intracelulares. Por esta



razón se han desarrollado sales solubles o también llamadas de nueva generación como el XTT (McCluskey *et al.*, 2005; Vallejo y Roldán, 2005).

4.4.2. Técnicas independientes de cultivo.

Una de las metodologías moleculares más empleadas para el estudio de CM en ambientes contaminados y no contaminados ha sido el DGGE –electroforesis en gel en gradiente desnaturante, por sus siglas en inglés– (Muyzer y Smalla, 1998; Singh *et al.*, 2006; Wallis *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2009). El DGGE separa mezclas de productos de PCR, que son de la misma longitud o tamaño pero que difieren en su secuencia, después de ser sometidos a una electroforesis en gel de poliacrilamida bajo condiciones de desnaturación progresiva –urea y formamida–.

El poder de separación de este tipo de electroforesis se basa en el comportamiento de desnaturación del ADN, el cual está determinado por la secuencia de nucleótidos. Al correr el ADN en el gel, la molécula se mantiene como doble cadena hasta que alcanza la concentración desnaturante reduciendo su movilidad en el gel, lo cual es dependiente del porcentaje G:C (Atlas y Bartha, 2002; Maier *et al.*, 2001). Esta técnica, provee un perfil representativo de la diversidad genética de las CM abundantes de un ambiente específico, con una alta versatilidad, reproducibilidad y fiabilidad (Marzorati *et al.*, 2008). En estos perfiles se evalúa el número, posición (ausencia o presencia de bandas particulares) e intensidad relativa de las bandas, donde cada una de ellas representa un OTU diferente y su intensidad es tomada como un reflejo de la abundancia de ese organismo en la comunidad (Fromin *et al.*, 2002; Schäfer y Muyzer, 2001a).

La principal ventaja que tiene el DGGE frente a los otros tipos de técnicas de huella genética –por ejemplo, RISA, T-RFLP– es que se puede realizar la identificación de los OTU. Lo anterior se lleva a cabo a través de la amplificación, purificación y secuenciación de bandas seleccionadas y cortadas del DGGE, lo cual permite revelar la afiliación filogenética de los miembros dominantes de la comunidad (van Elsas y Boersma, 2011).



Como todos los métodos moleculares, el DGGE presenta limitaciones relacionadas con la selección adecuada del método de extracción, asociado con la eficiencia en la fase de liberación de las partículas de suelo y subsecuente lisis celular, la remoción de compuestos inhibitorios de la PCR presentes en las muestras ambientales –por ejemplo, ácidos húmicos, compuestos fenólicos y exopolisacáridos bacterianos–, la purificación del ADN, los altos costos en equipos y reactivos requeridos para su ejecución y el empleo de insumos químicos muy tóxicos para el operario como la formamida (Felske y Osborn, 2005; Prosser, 2002; van Elsas y Boersma, 2011).

Así mismo, otras de sus desventajas son los largos periodos de tiempos requeridos para la extracción de un gran número de muestras, la incapacidad para identificar y detectar OTU poco dominantes, conocidos como especies raras, y la posibilidad de que un organismo genere más de una banda, como consecuencia de la presencia de múltiples copias del gen ribosómico en los genomas bacterianos, lo cual sobrestimaría la diversidad (Gilbride et al., 2006; Kirk et al., 2004; Nakatsu, 2007). Finalmente, comunidades muy complejas –por ejemplo suelos– que comprenden numerosas poblaciones –>100 y posiblemente 108– en proporciones relativamente equivalentes, resultan en bandas difusas, poco definidas, dificultando la identificación de los OTU y por lo tanto, la confiabilidad del análisis del patrón de bandas obtenido, siendo esto muy común cuando se realizan estudios de la comunidad bacteriana total con el 16S rRNA (Casamayor et al., 2002; Muyzer y Smalla, 1998; Nakatsu, 2007).

Una metodología que ha tenido bastante auge en los últimos años para el estudio de las CM edáficas en ambientes contaminados son los PLFA (Acosta-Martínez et al., 2010; Allison et al., 2005; Fernández et al., 2011). Los fosfolípidos son componentes esenciales de las membranas de todas las células vivas y representan una proporción relativamente constante de la biomasa microbiana edáfica, debido a que no se encuentran en células muertas o productos de almacenamiento, además se caracterizan por tener



una rápida tasa de recambio en el suelo (Romaniuk *et al.*, 2011; Zelles *et al.*, 1992; Zelles, 1999b). Los PLFA están encargados de mantener la fluidez celular, permitir el transporte de nutrientes dentro de la célula y eliminar los productos metabólicos de desecho (Ponder y Tadros, 2002). Este tipo de lípidos anfipáticos varían en su composición química entre procariotas y eucariotas, así como entre los diferentes grupos de procariotas (Hinojosa *et al.*, 2005). Por ejemplo, contrario a lo que se encuentra en las procariotas, los eucariotas en su mayoría no presentan ácidos grasos ciclopropanos ni cadenas ramificadas, siendo estos típicos de bacterias (Green y Scow, 1999). Adicionalmente, debido a que la abundancia relativa de ciertos PLFA difieren considerablemente entre grupos específicos de microorganismos, los perfiles de PLFA proveen una descripción de la estructura y composición de la CM (Zelles, 1999b).

4.4.3. Actividades enzimáticas.

Las enzimas son proteínas que catalizan un amplio rango de procesos biológicos en el suelo, actuando sobre sustratos específicos y transformándolos en productos necesarios para los ciclos biogeoquímicos (Ochoa *et al.*, 2004). En términos generales, las enzimas son moléculas de naturaleza proteínica producidas por los seres vivos y que se encargan de acelerar reacciones químicas o hacer posibles aquellas reacciones que de otra manera no se producirían.

La actividad enzimática del suelo es importante porque refleja el estado en el que se encuentran sus poblaciones microbianas y su relación con la biología del suelo, la producción de biomasa, la degradación de contaminantes y la conservación de ecosistemas (Gianfreda y Ruggiero, 2006). En la agricultura, la actividad enzimática y otros indicadores biológicos como la biomasa microbiana, se emplean como un indicador del impacto del manejo agropecuario sobre la calidad edáfica (García-Ruiz *et al.*, 2008); en el análisis ambiental como un indicador de contaminación y en la biotecnología como medida de la eficiencia de los tratamientos biológicos para remediar suelos impactados por diferentes



contaminantes, incluyendo los HC (Margesin *et al.*, 2000). El estudio y evaluación biológica del suelo –por ejemplo, respiración del suelo, biomasa microbiana, actividad enzimática, recuentos microbianos– proporciona información sobre la presencia de microorganismos viables, así como de la intensidad, tipo y la duración de los efectos de los contaminantes en la actividad metabólica edáfica, y por lo tanto, son adecuadas para medir el impacto de la contaminación sobre la salud del suelo (Ochoa *et al.*, 2004).

En términos generales, las actividades enzimáticas proveen tres tipos de información: a) actúan como indicadores de actividad microbiana potencial y por lo tanto, se correlacionan significativamente con otros indicadores de actividad –por ejemplo respiración del suelo, contenido de ATP y biomasa microbiana– (Acosta-Martínez *et al.*, 2007; Dick *et al.*, 1994; Kandeler y Dick, 2005); b) proveen información sobre la capacidad metabólica del suelo para transformar nutrientes, de esta manera, proporcionan indicios acerca de su disponibilidad o limitación, por lo cual han sido consideradas como índices biológicos de fertilidad edáfica (Caldwell, 2005); c) se consideran como importantes indicadores de calidad del suelo, debido a que proveen indicios tempranos –1-2 años– en relación a otras propiedades –por ejemplo C orgánico total– de la trayectoria de su calidad como consecuencia de los cambios en el manejo o uso del suelo, así como de otros factores naturales y antropogénicos (Dick y Kandeler, 2005). Es importante tener en cuenta que la medida de una única actividad enzimática no es útil para determinar la calidad del suelo, debido a que las enzimas actúan sobre sustratos específicos y además experimentan una gran variabilidad temporal y espacial (Gil-Sotres *et al.*, 2005).

El estudio de las enzimas del suelo es cada vez mayor debido al papel que ellas desempeñan en la degradación de la materia orgánica. Algunas de las enzimas que han sido más analizadas son las hidrolasas y las oxidoreductasas. Muchas de ellas están relacionadas a los ciclos biogeoquímicos como el del N (ureasa y proteasa), P (fosfatasas), C (β -glucosidasa) y S (arilsufatasa). La utilidad de varios parámetros enzimáticos depende de la composición y

concentración de los HC, así como de otros factores tales como la edad de la contaminación y las características fisicoquímicas del suelo. Mientras algunas enzimas resultan adecuadas para monitorear las primeras etapas de la biorremediación o la mayoría de fases activas de biodegradación, otras son indicadores de bajas concentraciones de HC.

Por ejemplo, las lipasas son enzimas ubicuas que se encuentran en prácticamente todos los seres vivos. Juegan un papel esencial en la digestión, el transporte y el procesamiento de los lípidos –triglicéridos, ceras, grasas y aceites–. Los HC están clasificados dentro del grupo de los lípidos simples, por lo que teóricamente pueden ser hidrolizados por enzimas lipolíticas. La medición de la actividad de la lipasa ha resultado útil para monitorear la biorremediación de suelos contraminados con hidrocarburos de petróleo, en particular con diesel (Margesin *et al.*, 1997; Margesin *et al.*, 2000). Esta actividad aumenta con el incremento inicial del contenido de aceites pesados, debido a que es inducida por los productos liberados durante la biodegradación y que actúan de sustrato para las diferentes enzimas hidrolasas, incluidas las lipasas. Esta inducción es atribuida a la aparición de productos liberados de la biodegradación de HC, los cuales se convierten en sustratos para las hidrolasas, incluyendo las lipasas-esterasas.

◆ Referencias ◆

- Abdulsalam, S., y Omale, A. (2009). Comparison of biostimulation and bioaugmentation techniques for the remediation of used motor oil contaminated Soil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 52, 747-754.
- Acosta-Martínez, V., Cruz, L., Sotomayor-Ramírez, D., & Pérez-Alegría, L. (2007). Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. *Applied Soil Ecology*, 35(1), 35-45.
- Acosta-Martínez, V., Bell, C. W., Morris, B., Zak, J., & Allen, V. G. (2010). Long-term soil microbial community and enzyme activity responses to an integrated cropping-livestock system in a semi-arid region. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 137, 231-240.
- Acuña, A. J., Tonín, N. L., Díaz, V., Pucci, G. N., y Pucci, O. H. (2012). Optimización de un sistema de biorremediación de hidrocarburos a escala de laboratorio. *Ingeniería, investigación y tecnología*, 13, 105-112.
- Allison, V. J., Miller, R. M., Jastrow, J. D., Matamala, R., & Zak, D.R. (2005). Changes in soil microbial community structure in a tallgrass prairie chronosequence. *Soil Science Society American Journal*, 69(5), 1412-1421.
- Amann, R. I., Ludwig, W., & Schleifer, K. H. (1995). Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev.*, 59, 143-169.
- Andreoni, V., & Gianfreda, L. (2007). Bioremediation and monitoring of aromatic-polluted habitats. *Applied microbiology and biotechnology*, 76(2), 287-308.
- Antizar-Ladislao, B. (2008). Environmental levels, toxicity and human exposure to tributyltin (TBT)-contaminated marine environment. A review. *Environment international*, 34(2), 292-308.
- Asha, A., Juwarkar, K., Singh, A. M. (2010). A comprehensive overview of elements in bioremediation. *Environ Sci Biotechnol*, 9, 215-288.



- Atlas, R. M., Bartha, R. (2002). *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. Pearson Educación.
- ATSDR. Agencia para sustancias tóxicas y registro de enfermedades. (2015). *ToxFAQs™ Hidrocarburos totales de petróleo (total petroleum hydrocarbons)*. Recuperado de http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts123.html
- Bamforth, S. M., & Singleton, I. (2005). Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: Current knowledge and future directions. *Journal of Chemical Technology Biotechnology*, 80(7), 723-736.
- Borrassen M., y Rike, A. (2007). Effects of nutrient content, moisture content and salinity on mineralization of hexadecane in an Arctic soil. *Cold Regions Science and Technology*, 48, 129-138.
- Bragg, J. R., Prince, R. C., Harner, E. J., & Atlas, R. M. (1994). Effectiveness of bioremediation for the Exxon Valdez oil spill. *Nature*, 368, 413-418.
- Caldwell, B. A. (2005). Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review. *Pedobiología*, 49(6), 637-644.
- Casamayor, E. O., Massana, R., Benlloch, S., Øvreås, L., Díez, B., Goddard, V. J., Gasol, J. M., Joint, I., Rodríguez, F., & Pedrós, C. (2002). Changes in archaeal, bacterial and eukaryal assemblages along a salinity gradient by comparison of genetic fingerprinting methods in a multipond solar saltern. *Environmental Microbiology*, 4, 338-348.
- Cerqueira, V. S., Maria do Carmo, R. P., Camargo, F. A., & Bento, F. M. (2014). Comparison of bioremediation strategies for soil impacted with petrochemical oily sludge. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 95, 338-345.
- Chagas, A. C., Kato, M. T., de Lima, E. S., & Gavazza, S. (2012). Bioremediation of a tropical clay soil contaminated with diesel oil. *Journal of Environmental Management*, 113, 510-516.
- Chaineau, C. H., Rougeux, G., Yepremian, C., & Oudot, J. (2003). Effects of nutrient concentration on the biodegradation of crude oil and associated microbial populations in the soil. *Soil biology and biochemistry*, 37, 1490-1497.



- Chioma, B. C., Gideon, Ch. O., Blaise, O. C. (2011). Monitoring of microbial hydrocarbon remediation in the soil. *Biotech.* 1, 117-138.
- Dejonghe, W., Boon, N., Seghers, D., Top, E. M., & Verstraete, W. (2001). Bioaugmentation of soils by increasing microbial richness: missing links. *Environmental Microbiology*, 3(10), 649-657.
- Dick, R. P. (1994). Soil enzyme activities as indicators of soil quality. Defining soil quality for a sustainable environment, (definingsoilqua), 107-124.
- Dick, R. P., Kandeler, E. (2005). Enzymes in soils. In H. Daniel (Ed). *Encyclopedia of Soils in the Environment*, (pp. 448-456). Oxford, U.K.: Elsevier Ltd.
- Fátima, M., & Bento, A., Flavio, A. O., Camargo, A., Benedict, C., Okeke, W. T. (2005). Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. *Bioresource Technology*, 96, 1049-1055.
- Felske, A., Osborn, A. M. (2005). DNA fingerprinting of microbial communities. In Osborn, A. M., Smith, C. J. (Eds.). *Molecular Microbial Ecology*, (pp. 65-96). New York, EE. UU.: Taylor & Francis Group.
- Fernández, M. F., Barreto, A. C., Mendes, I. C., & Dick, R. P. (2011). Short-term response of physical and chemical aspects of soil quality of a kaolinitic kandiuclafs to agricultural practices and its association with microbiological variables. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 142(3-4), 419-427.
- Fountoulakis, M. S., Terzakis, S., Kalogerakis, N., & Manios, T. (2009). Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons and linear alkylbenzene sulfonates from domestic wastewater in pilot constructed wetlands and a gravel filter. *Ecological engineering*, 35(12), 1702-1709.
- Fromin, N., Hamelin, J., Tarnawski, S., Roesti, D., Jourdain, K., Forestier, N., Teyssier, S., Gillet, F., Aragno, M., & Rossi, P. (2002). Statistical analysis of denaturing gel electrophoresis (DGE) fingerprinting patterns. *Environmental Microbiology*, 4(11), 634-643.
- Gabrielson, J., Hart, M., Jarelöv, A., Kühn, I., Mckenzie, D., Möllby, R. (2002). Evaluation of redox indicators and the use of digital scanners and spectrophotometer for quantification of microbial growth in microplates. *J. Microbiol Meth*, 50(1), 63-73.



- Gallego, J. L. R., Loredó, J., Llamas, J. F., Vázquez, F., & Sánchez, J. (2001). Bioremediation of diesel-contaminated soils: Evaluation of potential in situ techniques by study of bacterial degradation. *Biodegradation*, 12, 325–335.
- García, R., Ochoa, V., Hinojosa, M. B., & Carreira, J. A. (2008). Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(9), 2137–2145.
- Gianfreda, L., & Ruggiero, P. (2006). Enzyme activities in soil. In P. Nannipieri, K. Smalla (Eds.). *Nucleic acids and proteins in soil*. Springer Berlin Heidelberg, 257–311.
- Gil, F., Trasar, C., Leirós, M. C., & Seoane, S. (2005). Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. *Soil Biology and Biochemistry*, 37(5), 877–887.
- Gilbride, K. A., Lee, D. Y., & Beaudette, L. A. (2006). Molecular techniques in wastewater: Understanding microbial communities, detecting pathogens, and real-time process control. *Journal of Microbiological Methods*, 66(1), 1–20.
- Giraud F, Guiraud P, Kadri M, Blake G, Steiman R (2001) Biodegradation of anthracene and fluoranthene by fungi isolated from an experimental constructed wetland for wastewater treatment. *Water Res* 35,4126–4136
- Grayston, S. J., Campbell, C. D., Bardgett, R. D., Mawdsley, J. L, Clegg, C. D., Ritz, K., Griffiths, B. S., Rodwell, J. S., Edwards, S. J., Davies, W. J., Elston, D. J., & Millard, P. (2004). Assessing shifts in microbial community structure across a range of grasslands of differing management intensity using CLPP, PLFA and community DNA techniques. *Applied Soil Ecology*, 25, 63–84.
- Green, C. T., & Scow, K. M. (2000). Analysis of phospholipid fatty acids (PLFA) to characterize microbial communities in aquifers. *Hydrogeology Journal*, 8(1), 126–141.
- Ha, H., Olson, J., Bian, L., & Rogerson, P. A. (2014). Analysis of heavy metal sources in soil using kriging interpolation on principal components. *Environ. Sci. Technol.*, 48, 4999–5007.



- Haritash, A. K. & Kaushik, C. P. (2009). Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. *Journal of Hazardous Materials*, 169(1-3), 1-15.
- Head, I. M., Saunders, J. R., & Pickup, R. W. (1998). Microbial evolution, diversity, and ecology. A decade of ribosomal RNA analysis of uncultivated microorganisms. *Microbiol Ecol.*, 35, 1-21.
- Haines, J., Wrenn, B., Holder, E., Strohmeier, K., Herrington, R., & Venosa, A. (1996). Measurement of hydrocarbon-degrading microbial populations by a 96-Well plate most-probable-number procedure. *J. Ind. Microbiol. Biot.*, 16(1), 36-41.
- Hinojosa, M. B., Carreira, J. A., García, R., & Dick, R. P. (2005). Microbial response to heavy metal- polluted soils: Community analysis from phospholipid-linked fatty acids and ester-linked fatty acids extracts. *Journal of Environmental Quality*, 34(5), 1789-1800.
- Hu, G., Li, J., & Zeng, G. (2013). Recent development in the treatment of oily sludge from petroleum industry: A review. *J. Hazard. Mater.*, 261, 470-490.
- Infante, C. et al. (2010). Efecto del potasio en la biorremediación de un suelo contaminado con un crudo liviano. *Bioagro*, 22(2).
- Kirk, J. L., Beaudette, L. A., Hart, M., Moutoglis, P., Klironomos, J. N., Lee, H., Trevors, J. T. (2004). Methods of studying soil microbial diversity. *Journal of Microbiological Methods*, 58(2), 169-188.
- Liebeg, E. W., & Cutright, T. J. (1999). The investigation of enhanced bioremediation through the addition of macro and micro nutrients in a PAH contaminated soil. *International biodeterioration & biodegradation*, 44(1), 55-64.
- McCluskey, C., Quinn, J., Mcgrath, J. (2005). Evaluation of three new-generation tetrazolium salts for the measurements of respiratory activity in activate sludge microorganisms. *Microb. Ecol.*, 49(3), 379-387.
- Machate, T., Noll, H., Behrens, H., & Kettrup, A. (1997). Degradation of phenanthrene and hydraulic characteristics in a constructed wetland. *Water Research*, 31(3), 554-560.



- Manahan, S. E. (2007). *Química ambiental*. México D. F.: Editorial Reverté, S. A.
- Maier, R., Pepper, I., & Gerba, C. (2001). *Environmental microbiology*. EE. UU.
- Marco, A., Silvia, L., Pierlorenzo, B., & Giovanni, V. (2015). Bioaugmentation and biostimulation as strategies for the bioremediation of a burned woodland soil contaminated by toxic hydrocarbons: A comparative study. *Journal of Environmental Management*, 153, 121-131.
- Margesin, R., & Schinner, F. (1997). Bioremediation of diesel-oil contaminated alpine soils at low temperatures. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 47, 462-468.
- Margesin, R., Walder, G., & Schinner, F. (2000). The impact of hydrocarbon remediation (diesel oil and polycyclic aromatic hydrocarbons) on enzyme activities and microbial properties of soil. *Acta Biotechnologica*, 20, 313-333.
- Marzorati, M., Wittebolle, L., Boon, N., Daffonchio, D., & Verstraete, W. (2008). How to get more out of molecular fingerprints: Practical tools for microbial ecology. *Environmental Microbiology*, 10(6), 1571-1581.
- Ming, P. X., Guangming, Z., Chunping, Y., Danlian, H., & Jiachao, Z. (2015). Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavy metals by composting: Applications, microbes and future research needs. *Biotechnology Advances*, 33, 745-755.
- Muyzer, G., Smalla, K. (1998). Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. *Antonie van Leeuwenhoek*, 73, 127-141.
- Nakatsu, CH. (2007). Soil microbial community analysis using denaturing gradient gel electrophoresis. *Soil Science Society of America journal*, 71, 562-570.
- Ochoa, V., Hinojosa, B., Gómez, B., y García, R. (2007). *Actividades enzimáticas como indicadores de calidad del suelo en agroecosistemas ecológicos*. *Iniciación a la investigación*, 2, 1-10.
- Perelo, L. W. (2010). Review: In situ and bioremediation of organic pollutants in aquatic sediments. *Journal of hazardous materials*, 177(1-3), 81-9.



- Pinedo, J., Ibáñez, R., Lijzen, J. P. A., & Irabien, Á. (2013). Assessment of soil pollution based on total petroleum hydrocarbons and individual oil substances. *Journal of Environmental Management*, 130, 72-79.
- Ponder, F., & Tadros, M. (2002). Phospholipid fatty acids in forest soil four years after organic matter removal and soil compaction. *Applied Soil Ecology*, 19(2), 173-182.
- Potter, T., & Simons, K. (1998). Total petroleum hydrocarbon criteria working group series. *Composition of petroleum mixtures*, 2, 101. University of Massachusetts.
- Prosser, J. I. (2002). Molecular and functional diversity in soil micro-organisms. *Plant and Soil*, 244(1), 9-17.
- Romaniuk, R., Giuffré, L., Costantini, A., & Nannipieri, P. (2011). Assessment of soil microbial diversity measurements as indicators of soil functioning in organic and conventional horticulture systems. *Ecological Indicators*, 11(5), 1345-1353.
- Schäfer, H., & Muyzer, G. (2001). Denaturing gradient gel electrophoresis in marine microbial ecology. In Paul, J.H. (Ed.). *JP. Methods in Microbiology*, 425-468.
- Semple, K. T., Dew, N., Doick, K., & Rhodes, A. (2006). Can microbial mineralization be used to estimate microbial availability of organic contaminants in soil? *Environmental Pollution*, 140, 164-172.
- Shalini, G., Bhawana, P., & Fulekar, M. H. (2015). Molecular approaches for biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds: A review. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, 14, 241-269.
- Singh, J., & Kashyap, A. K. (2007). Contrasting pattern of nitrifying bacteria and nitrification in seasonally dry tropical forest soils. *Current Science*, 92, 1739-1744.
- Souza, E. C., Vessoni, T. Ch., & Pinheiro de Souza, R. (2014). Biosurfactant-enhanced hydrocarbon bioremediation: An overview. *International Biodeterioration & Biodegradation* 89, 88-94.



- Suja, F., Rahim, F., Taha, M. R., Hambali, N., Razali, M. R., Khalid, A., & Hamzah, A. (2014). Effects of local microbial bioaugmentation and biostimulation on the bioremediation of total petroleum hydrocarbons (TPH) in crude oil contaminated soil based on laboratory and field observations. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 90, 115-122.
- Straube WL, Nestler CC, Hansen LD, Ringleberg D, Pritchard PH, Jones-Meehan J. Remediation of polyaromatic hydrocarbons (PAHs) through landfarming with biostimulation and bioaugmentation. *Acta Biotechnol* 2003;23(2-3):179-96.
- Tang, Y., Qi, J. L., & Krieger, B. (2005). Evaluating factors that influence microbial hemanthrene biodegradation rates by regression with categorical variables. *Chemosphere*, 59, 729-741.
- Taccari, M., Milanovic, V., Comitini, F., Casucci, C., & Ciani, M. (2012). Effects of biostimulation and bioaugmentation on diesel removal and bacterial Community. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 66, 39-46.
- Tahseen, E. B., Caminal, G., & Montserrat, A. (2011). Bioremediation of PAHs-contaminated soil through composting: Influence of bioaugmentation and biostimulation on contaminant biodegradation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65, 859-865.
- Twiss, M. R., Granier, L., Lafrance, P., & Campbell, P. G. (1999). Bioaccumulation of 2, 2', 5, 5'-tetrachlorobiphenyl and pyrene by picoplankton (*Synechococcus leopoliensis*, cyanophyceae): Influence of variable humic acid concentrations and pH. *Environmental toxicology and chemistry*, 18(9), 2063-2069.
- Van Elsas, J. D., & Rutgers, M. (2006). Soil microbial diversity and community composition. In J.H. Bloem & D. W Benedetti (Eds). *Microbial Methods for Assessing Soil Quality. CAB International*, 183-211.
- Vallejo, V., Salgado, L., y Roldán, F. (2005). Evaluación de la bioestimulación en la biodegradación de TPHs en suelos contaminados con petróleo. *Rev. Colomb. Biotecnol.*, (2), 67-78.



- Vallejo, V. E., Sandoval, J., Garagoa, S. C., y Bastos, J. (2015). *Evaluación del efecto de la bioestimulación sobre la biorremediación de hidrocarburos en suelos contaminados con alquitrán provenientes de la fabricación artesanal de carbón vegetal*. (Acta agronómica).
- Venkata, S., Kisa, T., Ohkuma, T. K., Robert, A., & Shimizu, Y. (2006). Bioremediation technologies for treatment of PAH-contaminated soil and strategies to enhance process efficiency. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, 5, 347-374.
- Vidali, M. (2001). Bioremediation. An overview. *Pure and Applied Chemistry*, 73, 1163-1172.
- Wallis, P. D., Haynes, R. J., Hunter, C. H., & Morris, C. D. (2010). Effect of land use and management on soil bacterial biodiversity as measured by PCR-DGGE. *Applied soil ecology*, 46(1), 147-150.
- Weisman, W. (Ed.). (1998). *Analysis of petroleum hydrocarbons in environmental media. Total petroleum hydrocarbon criteria working group series. Massachusetts, EE. UU.:* Amherst Scientific Publishers, Amherst.
- Wrenn, B., & Venosa, A. (1996). Selective enumeration of aromatic and aliphatic hydrocarbon degrading bacteria by most probable number procedure. *Can. J. Microbiol.*, 42(3), 252-258.
- Xu, Y., Wang, G., Jin, J., Liu, J., Zhang, Q., & Liu, X. (2009). Bacterial communities in soybean rhizosphere in response to soil type, soybean genotype, and their growth stage. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(5), 919-925.
- Xu, Y., & Lu, M. (2010). Bioremediation of crude oil-contaminated soil: comparison of different biostimulation and bioaugmentation treatments. *Journal of hazardous materials*, 183(1), 395-401.
- Yaohui, X., & Mang, L. (2010). Bioremediation of crude oil-contaminated soil: Comparison of different biostimulation and bioaugmentation treatments. *Journal of Hazardous Materials*, 183, 395-401.

- Zelles, L., Bai, Q. Y., Beck, T., & Beese, F. (1992). Signature fatty acids in phospholipids and lipopolysaccharides as indicators of microbial biomass and community structure in agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 24(4), 317-323.
- Zelles, L. (1997). Phospholipid fatty acid profiles in selected members of soil microbial communities. *Chemosphere*, 35(1-2), 275-294.
- Zelles, L. (1999). Identification of single cultured micro-organisms based on their whole-community fatty acid profiles, using an extended extraction procedure. *Chemosphere*, 39(4), 665-682.







◆ — Capítulo 5 — ◆

Lixiviación bacteriana: un método ecológico para la extracción de metales

Juan Manuel Sánchez-Yáñez
Liliana Márquez-Benavides

Resumen

La extracción y purificación de los metales a partir de minerales sulfurados refractarios, es un proceso químico que causa contaminación ambiental por los productos químicos que se generan. Una alternativa ecológica son las bacterias quimilitotróficas del azufre que oxidan este elemento y sus formas reducidas para liberar ácido sulfúrico, el cual solubiliza los metales mezclados con el azufre. Este proceso se denomina lixiviación bacteriana (LB), representa una alternativa que se aplica como una opción excelente para evitar la contaminación ambiental en la industria minera. El propósito de esta breve revisión es señalar las principales ventajas de la LB, para la extracción y purificación de metales que contienen azufre y otros elementos, sin causar un impacto ambiental negativo.

5.1 Introducción y antecedentes

A finales del siglo XIX Sergio Winogradsky reportó géneros de quimiolitotróficos de diversos ambientes: agua, minas y suelo que crecen por oxidación de minerales con azufre mezclado con metales como: cobre (Cu), cobalto (Co), hierro (Fe), níquel (Ni) y otros metales radioactivos como: berilio (Be), radio (Ra), uranio (U) (Ahonen y Tuovinen, 1992; Alvarez y Jerez, 1990). Los géneros de quimiolitotróficas son autótrofos por su capacidad de fijar CO₂ o usar carbonatos CO₃⁼ como fuente de carbono (C). Así



como nitrógeno molecular (N_2) y generar sus principales formas inorgánicas de nitrógeno (N), las conocidas son el amonio (NH_4^+) y nitratos (NO_3^-) (Brieley y Brieley, 2001); por lo anterior, se les definió como «procariotes quimiolitotróficas» y se postuló que la energía derivada de la oxidación del ion ferroso (Fe^{2+}) a férrico (Fe^{3+}), o del azufre (S) que sirven para su crecimiento en la fijación del CO_2 (Boon y Heijnen, 1998; Brigmon, Bitton, Zam y O'Brien, 1995). A finales de 1979 se les conocían como bacterias autotróficas del Fe, previamente solo se habían reportado dos géneros: *ferrobacillus* con sus especies *F. ferrooxidans* y *F. sulfooxidans* además del género *thiobacillus thiooxidans* aislado de un suelo pobre en materia orgánica y de agua de una mina (Fowler y Crundwell, 1998).

La lixiviación bacteriana (LB) es un método biotecnológico para la solubilizar, concentrar y extraer de metales de valor económico a partir de minerales sulfurados refractarios de baja ley (Misurebal), así como de otros minerales metálicos preciosos y de naturaleza radioactiva (Amaro, Hallberg, Lindstrom y Jerez, 1994). En la hidrometalurgia la LB es considerada como una opción simple, barata y ecológica (Brieley y Brieley, 2001), dado que los productos de la LB no contaminan el ambiente (Golovacheva, Golyshina, Karavaiko, Dorofeev, Pivovarova, y Chernykh, 1992). Una de sus principales ventajas es la económica, porque permite explotar minas de Misurebal y de minerales radioactivos clasificadas dentro de ese tipo, puesto que la concentración del metal de valor comercial es mínimo: 10 mg/ton del mineral (Groudev y Groudeva, 1993) y porque la extracción por los métodos químicos convencionales no es económicamente rentable en consecuencia no se explotan (Ahonen y Tuovinen, 1992; Bronwyn, Shell y Rawling, 2000) a pesar de que algunos contienen metales preciosos: oro (Au), plata (Ag), cobre (Cu), e incluso radiactivos: Be, Ra, U, etc. (Brierley, 2008; Fowler y Crundwell, 1998).

En 1892 se publicó el primer informe sobre la LB de Misurebal con un género quimiolitotrófico hasta entonces desconocida (Brigmon, Bitton, Zam y O'Brien, 1995; Golovacheva et al., 1992). Esta investigación describió una estrategia biológica para la extracción



de metales como alternativa a bajo costo en la explotación de los Misurebal (Kanishi y Sataru, 1992), al igual que para los radiactivos (Brierley, 2008). Durante 30 años este informe se ignoró hasta el redescubrimiento del *T. ferrooxidans*, que es naturalmente tolerante a elevada concentración de metales pesados (g.L⁻¹): 10 de zinc (Zn) 72 de níquel (Ni), 30 de cobalto (Co), 55 de Cu y hasta 160 de Fe (Janssrn, Sleyster, van der Kaa, Jochemsen, Bontsema y Lettinga, 1996). La oxidación del S y solubilizar el metal de valor comercial son esenciales en este proceso (Lopezarchilla y Amils, 1993), dado el incremento del costo de fundición de minerales, lo que obliga a que Misurebal y los concentrados de Au y Ag se traten por LB (Kashefi, Tor, Nevin y Lovley, 2001; Lovley, 2000).

En general se describen tres métodos para la extracción de metales o radioactivos a partir de Misurebal u otra clase de minerales (Pradhan, Nathsarma, Srinivasaraao, Sukla, Mishra, 2008; Sukla, Kar y Panchanadikar, 1992):

- a) La lixiviación de sulfuros en autoclave o proceso denominado Sherrit-Gordon, que se realiza a elevada temperatura y presión del oxígeno (O₂) para oxidar y solubilizar el S y con ello su eliminación, como variante de la propuesta por Homestake en Nevada, EUA; mediante esta técnica el producto del autoclave es una solución ácida en la que los metales del mineral se solubilizan, en tanto un lodo atrapa las especies inertes como: las arcillas y el sílice; la siguiente etapa es la de agregar cianuro utilizada para separar: plomo (Pb), Cu y Zn. Esta técnica se emplea en yacimientos de minas de Au con o sin concentración de sulfuros. La desventaja de la técnica Sherrit-Gordon es el alto consumo de O₂, proporcional a la concentración del S en ese mineral, además de que los metales ahí contenidos deben ser resistentes a la biocorrosión (Tuovinen, Kelly y Groudev, 1991; Tuovinen, Bhatti, Bigham, Hallberg, Garcia y Lindstrom, 1994).



- b) La tostación es un método industrial de extracción de metales a partir de Misurebal, en la conversión de sulfuros en sulfatos solubles en solución ácida acuosa, lo que facilita el empleo de cianuro después de lavar los residuos; infortunadamente la tostación genera dióxido de azufre (SO_2), que no es recuperable en pequeña o mediana escala y lo causa contaminación ambiental, en consecuencia, las normas de protección ecológica restringen su aplicación (Suzuki, Travis, Takeuchi, Yuthsastrakosol y Key, 1990).
- c) La LB es una técnica biológica conocida desde la antigüedad, pues ya los árabes, los españoles, los fenicios y los romanos la describieron para la extracción de Cu en el agua de minas. En 1947 por primera vez *T. ferrooxidans* se aisló del drenaje de una mina de carbón bituminoso (Brigmon, Bitton, Zam and O'Brien, 1995; Kashefi y Lovley, 2000; Kusano, Takeshima, Sugawara, Inouse, Yano, Fukimori, y Yamanaka, 1992). En 1950 en España se reportó que la LB era eficaz en la extracción de Misurebal de Cu en una mina del Río Tinto, aunque hasta 1970 se confirmó que la LB era derivada de la actividad de un género bacteriano como los géneros *thiobacillus* y *leptospirillum* que oxidan el S de Misurebal (Tuovinen, Bhatti, Bigham, Hallberg, Garcia y Lindstrom, 1994). Con el avance de la microbiología como ciencia aplicada se reportó que tanto las especies de *thiobacillus* como las archeobacterias hipertermófilas acidofílicas pueden ser clave en la recuperación de metales de valor comercial, a partir de minerales diversos, incluso los Misurebal. Actualmente existen patentes de la LB para toda clase de minerales, incluso los que contienen metales radioactivos (Ahonen y Tuovinen, 1992; Brierley, 2008).

5.2 Bacterias para lixiviar minerales sulfurados refractarios de baja ley (Misurebal)

El género *thiobacillus thiooxidans* es una bacteria gram negativa, cosmopolita quimiolitotrófica obligada; en la literatura existe amplia información sobre técnicas de aislamiento y biología



(Brigmon, Bitton, Zam y O'Brien, 1995), obviamente sobre su aplicación en la biohidrometalurgia, en la extracción de Misurebal de: Cu, Au, Ag, Radio y U (Lloyd and Macaskie, 2000), limitada por la alta concentración de estos metales al lixiviarse o solubilizarse (Bronwyn, Shell y Rawling, 2000). Otras especies de *thiobacillus* son inhibidas por la acidez extrema, ese es el ejemplo de *T. thioparus* y *T. novellus*, que no oxidan S elemental, pero sí algunas de sus sales (Lovley, 2000); además de que utilizan compuestos orgánicos de C como la glucosa; lo anterior muestra su versatilidad bioquímica y genética para adaptarse a ambientes naturales que contienen tanto formas orgánicas e inorgánicas de C (Lopezarchilla y Amils, 1993; Suzuki et al, 1990). En contraste *T. denitrificans* crece solo en anaerobiosis con utilización de NO_3^- como aceptor final de electrones. *T. novellus* es un quimiolitotrófico facultativo que se reproduce artificialmente en un pH óptimo de 7.0 (Olson, 1991). El valor específico del pH facilita separar cada especie de *thiobacillus* por ejemplo: *T. thiooxidans* y *T. ferrooxidans* crecen a pH de 2.0-3.5; *T. denitrificans*, *T. thioparus* y *T. novellus* solo entre 7.0-7.3 (Pradhan et al, 2008).

5.3 El género *thiobacillus* y otros grupos procariotes que lixivian Misurebal

Las técnicas de aislamiento para el *thiobacillus* y las actuales moleculares, indican que existe una diversidad de géneros bacterianos lixiviantes de Misurebal que contienen metales distribuidos heterogéneamente en minas y el suelo inorgánico (Lloyd y Macaskie, 2000). Existen otros procariotes: *acidiphillum cryotum leptospirillum ferroxidans, metallogenium sp* etc. (Golovacheva, 1992; Kashafi y Lovley, 2000) que lixivian Misurebal, radioactivos y metales preciosos en ambientes normales como extremos a temperatura superior de 70 u 80 °C (Lindstrom, Wold, ketteneh-Wold y Saat, 1993; Sukla et al, 1992). En una investigación sobre la ecología bacteriana de minas *in situ* en el mundo; donde se extrae Au, un género dominante puede ser el



thiobacillus (Tuovinen, Kelly y Groudev, 1991), que es nativo de minas, tolerante a concentraciones subletales del metal que lixivía, lo cual aumenta el rendimiento de ese metal que se extrae sin elevar el costo de producción del proceso. La LB se la clasifica con base a la temperatura en que lixivía minerales Misurebal. En general, se reporta la existencia de géneros bacterianos termófilos y mesófilos que lixivian minerales *in situ*, como en Sudáfrica en minas donde se extrae Au (Mossman, Reimer y Durstling, 1999; Pradhan, Nathsarma, Srinivasarao, Sukla, Mishra, 2008; Sand, Gehrke, Hallman, Rohde, Sobotke y Wetzein, 1993).

En la naturaleza es posible aislar *archeobacteria hipertermófilas* adaptadas a elevada temperatura de lixiviación de Misurebal que contienen: Au, Ag y Cu, pues la temperatura mesófila limita su extracción (Tuovinen, Bhatti, Bigham, Hallberg, Garcia y Lindstrom, 1994; Zagury, Narasiah y Tyagi, 1994). La tabla 1 muestra las principales propiedades fisiológicas y bioquímicas del *thiobacillus* y de otros grupos bacterianos necesarias para su explotación en la LB de minerales, en general como los Misurebal (Mossman, Reimer y Durstling, 1999), para estimular la actividad lixivante de cada especie de los diferentes géneros conocidos como *T. ferrooxidans* y en función del tipo de mineral (Olson, 1991), por ejemplo el *T. ferrooxidans* se reproduce al oxidar el ion Fe^{2+} , el S inorgánico reducido para generar $SO_4^{=}$, producto derivado de la disolución del ácido sulfúrico (H_2SO_4), *T. ferrooxidans* como todo el grupo quimilitoautótrofo fija CO_2 como fuente de C y su morfología microscópica que es similar al *T. thiooxidans* pero que no oxida el ion Fe^{2+} , ni lixivía Misurebal (Fowler y Crundwell, 1998; Janssrn, Sleyster, van der Kaa, Jochemsen, Bontsema y Lettinga, 1996).



Tabla 1. Principales condiciones recomendadas para el cultivo de *Acidiphillum sp*, *Leptospirillum*, *Sulfolobus thiobacillus* y algunas *Archeobacterias hipertermofílicas** adaptables a toda clase de minerales incluso los sulfurados concentrados refractarios de baja ley.

Variable	Valor recomendado
Temperatura	35 °C - 100 °C*
Potencial de hidrógeno (pH)	2, 4.5, 5, 5, 6.5, 2.0-6.5
Eh	-500 mV
Concentración del ion ferroso (Fe ²⁺)	10 g ⁻¹
Concentración del sulfuro metálico (%)	10-25
Densidad de inóculo bacteriano	5-7 % (v/v)
Fuente de nitrógeno (N)	(NH ₄) ₂ SO ₄ 3.0 g ⁻¹ (p/v), inclusive N ₂ (molecular)
Fuente de carbono (C)	CO ₂ 0.2 % (v/v), incluso CO ₃ = carbonatos
Fuente de oxígeno	O ₂ intensivo, directo
Fuente de energía o azufre	S mineral, con tamaño menor que 32 micras

Fuente. Basado en referencia: Brierley, 2008; Boon y Heijnen, 1998; Lindstrom, Wold, Ketteneh-Wold y Saat, 1993

5.4 Fuente de carbono, energía y nitrógeno para *thiobacillus* spp en la lixiviación de Misurebal

Las especies de *thiobacillus* utilizan una fuente de C: CO₂ o CO₃=, mientras la energía de división celular depende exclusivamente de la oxidación de compuestos reducidos de S, incluye el ion Fe²⁺ y además sales de Cu reducidas (Sand, Gehrke, Hallman, Rohde, Sobotke y Wetzlein, 1993).



5.4.1. Composición química de cultivo para especies de *thiobacillus spp* en la lixiviación de Misurebal.

Para suplir la demanda de C celular en este género se realiza la inyección de aire para proveer tanto de CO_2 como de O_2 , dado que *T. ferrooxidans* es autotrófico y $\text{CO}_3=$. La demanda de N de thiobacillus y de otros grupos de bacterias lixiviantes de minerales como los Misurebal, es posible satisfacerlo con N_2 (molecular), o bien con otras formas reducidas de N; como NH_4^+ o NO_3^- ; el resto de los componentes químicos del medio de cultivo son las sales minerales semejantes a la de una bacteria heterotrófica: fosfato monobásico de potasio (K_2HPO_4), fosfato básico de potasio (KH_2PO_4), cloruro de sodio (NaCl), sulfato de magnesio (MgSO_4) en concentración de 0.1 g/L (Ahonen y Tuovinen, 1992; Brieley y Brieley, 2001; Golovacheva et al, 1992).

5.4.2. El género *thiobacillus*: un modelo en la lixiviación de Misurebal

El género *thiobacillus* y otros grupos relacionados que lixivian minerales tales como el Misurebal poseen un sitio específico de la oxidación del ion Fe^{2+} a ion Fe^{3+} , aunque no se conoce con exactitud el lugar en la membrana de esas células, se especula que posee dos sitios distintos de transferencia de electrones localizados en la membrana celular: uno para el sistema de oxidación del S y otro para Fe (Boon y Heijnen, 1998); en este género se reporta un mecanismo de oxidación del ion Fe^{2+} que se inhibe con bloqueadores de electrones, los cuales actúan en la parte externa de su membrana celular, como la rusticianina que se controla con la composición química del medio de cultivo, cuando la concentración del ion Fe^{2+} elevada (Amaro, Hallberg, Lindstrom y Jerez, 1994). Por el contrario, el *T. ferrooxidans* se multiplica solo con S elemental como fuente de energía (Olson, 1991), lo anterior se apoya en que la rusticianina actúa en la primera etapa de la cadena transportadora de electrones, que involucra tres citocromos:



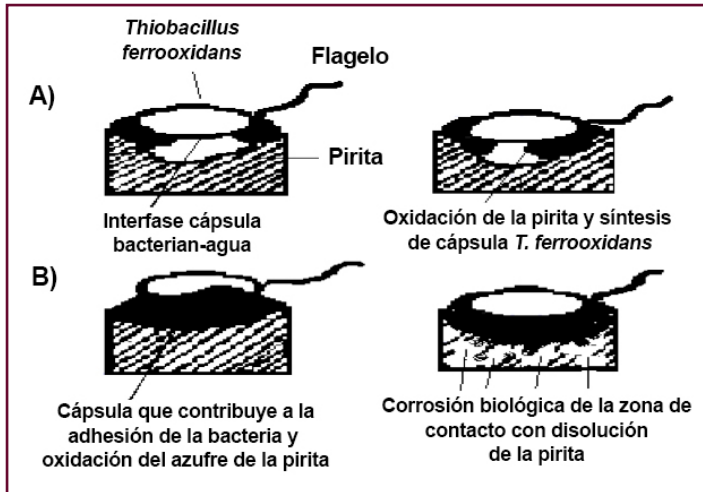
dos tipos C, uno de la clase Al y una coenzima Q, esta proteína depende de que el *thiobacillus* reduzca por asimilación el SO_4^{2-} ; esta acción despolariza su membrana, para que el ion Fe^{2+} se enlace a otros sitios en el transporte de la proteína; la rusticianina funciona como ligando en la síntesis de complejos minerales, susceptibles de oxidación a pH menor de 3.5, en consecuencia, la síntesis de rusticianina disminuye con rapidez a valor de pH superior de 2.2, esta síntesis es 500 veces más rápida que la oxidación química (Zagury, Narasiah y Tyagi. 1994); cuyo proceso requiere de un pH con valor menor de 3.5 para mantener el gradiente de protones en la membrana celular de *thiobacillus*, en el acoplamiento del ion Fe^{2+} con la fosforilación oxidativa (Tuovinen, Kelly y Groudev, 1991), para su reproducción bajo esa condición ambiental.

5.5 La lixiviación de pirita (Fe_2S_3) por *thiobacillus ferrooxidans* y otros grupos

Mientras que cuando el *T. ferrooxidans* se cultiva en un mineral de pirita como fuente de energía, se observa mediante un análisis de microscopio electrónico de transmisión, la unión entre la bacteria y las partículas de pirita con evidentes modificaciones de la superficie del mineral, al igual los cambios morfológicos de *T. ferrooxidans* sintetizan un mucopolisacárido para adherirse a la pirita, lo que favorece la oxidación del S en H_2SO_4 , para solubilizar los metales contenidos en el mineral, al mismo tiempo se detecta corrosión en el sitio de unión, debido a que ahí se concentra el S que la bacteria oxida a nivel de su membrana, lo anterior se detecta por los cambios en la topografía de la superficie de la pirita o sitio específico del ataque bacteriano. Investigación con técnicas de espectroscopía electrónica de fluorescencia de rayos X, demuestra la existencia de una capa de mucopolisacáridos que cubre la superficie del sulfuro, como se ilustra en la figura 1.



Figura 1. Mecanismo de interacción bacteria-azufre.



Fuente. Boon y Heijnen, 1998.

5.6 Aspectos importantes de la lixiviación bacteriana de Misurebal

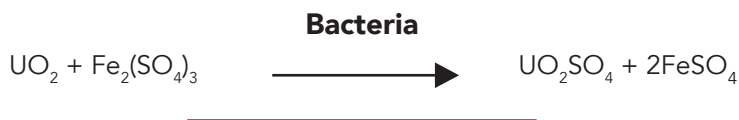
Los metales mezclados con minerales de azufre se liberan de este por solubilización con el ácido sulfúrico producido por la oxidación del azufre, en la membrana de *thiobacillus* y otros grupos de bacterias que lixivian minerales del tipo Misurebal, así como por la oxidación de Fe en minerales de U (Boon y Heijnen, 1998; Groudev y Groudeva, 1993) en aquellos donde los metales existen como óxidos insolubles.

A) Formación de una cápsula en la región de lixiviación porque contiene un transportado del azufre.

B) Corrosión del azufre en la capa orgánica de absorción, que disuelve el sulfuro del mineral, este es un complejo soluble de azufre que ingresa en la célula bacteriana (Tuovinen et al, 1994).



No se conoce en detalle el mecanismo de la LB, pero con el Misurebal que contienen U se supone que es similar a lo que sucede con la pirita, en donde el mineral se disuelve por la actividad indirecta de *thiobacillus* al formar sulfato férrico ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$), así como el sulfato de uranio ($\text{U}_2(\text{SO}_4)_3$) se recupera fácilmente de la solución lixivante que contiene H_2SO_4 por intercambio iónico con solventes orgánicos como se ilustra con la siguiente ecuación (Arredondo, García y Jerez, 1994; Golovacheva et al, 1992).



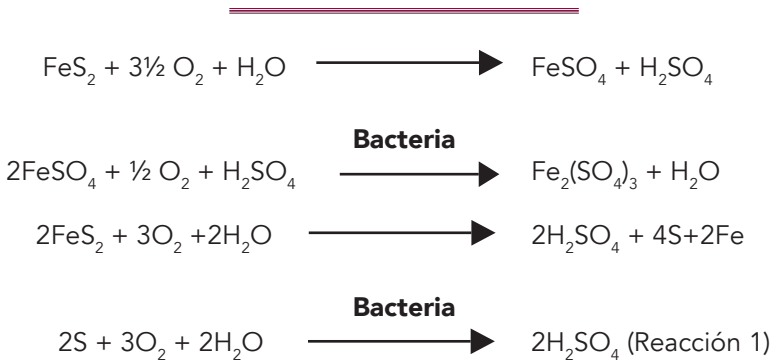
5.7 Mecanismo directo de lixiviación de *thiobacillus* en Misurebal

Está reportado por investigaciones hechas con microscopía electrónica de transmisión y de barrido que tanto el *thiobacillus spp* como otros géneros bacterianos quimiolitotróficos relacionados, se adhieren a las partículas de Misurebal, especialmente donde se concentra el S, para usarlo como fuente de energía, por lo que sintetizan un mucopolisacárido con el cual aseguran la unión física: cápsula bacteriana-Misurebal, para la oxidación del S inorgánico produce H_2SO_4 , en consecuencia se solubiliza el metal contenido en el mineral, ello contribuye a la desintegración de su estructura cristalina (Groudev y Groudeva, 1993; Sand, Gehrke, Hallman, Rohde, Sobotke y Wetzlein, 1993). El análisis de la LB del Misurebal por microscopía electrónica de transmisión y de barrido, demuestra que el *thiobacillus*, disuelve la superficie del cristal del mineral en la zona de mayor concentración del S, en donde este S se oxida, lo que causa corrosión o perforaciones en la superficie del cristal del Misurebal, cuya profundidad depende del tipo basado con su composición química.



- a) Para la síntesis de energía de división celular oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} (ferroso a férrico).
- b) Durante el crecimiento de *thiobacillus* se genera el H_2SO_4 al oxidar del S del mineral, entonces los metales se solubilizan de la superficie de este material.
- c) Unión directa del *thiobacillus* con la superficie del Misurebal.

La actividad del *thiobacillus* sobre la superficie en la piritita se explica en las siguientes reacciones:



Se reporta que el mucopolisacárido de la cápsula de *thiobacillus* es fundamental al atacar al Misurebal, durante esta acción simultáneamente oxida el Fe además hidróxidos metálicos por dos mecanismos: uno para solubilizar el Misurebal por un mecanismo que implica el ciclo férrico-ferroso o indirecto. El mecanismo directo de *thiobacillus* depende de su contacto físico con el cristal de Misurebal independiente del ciclo férrico-ferroso, el *thiobacillus* solubiliza el Misurebal por oxidación en ausencia del ion Fe^{2+} , o bien en aerobiosis estricta (Arredondo, García y Jerez, 1994; Brieley y Brieley, 2001). Una investigación reciente sugiere que el *thiobacillus* oxida paralelamente el S y el Fe reducidos, lo que lixivia los metales de interés. A continuación se muestra cómo el *thiobacillus* lixivia la calcopirita:



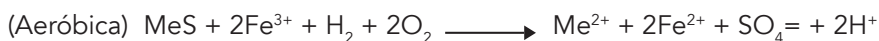
thiobacillus



El sulfuro (S=) producido por el *thiobacillus* durante la lixiviación de la piritita (reacción 2), en forma cíclica se oxida otra vez por la bacteria y se libera H_2SO_4 (reacción 1), este es el papel catalítico indirecto del Misurebal para que el *thiobacillus* oxide el S, requiere una densidad suficiente de la bacteria en la superficie del mineral.

5.8 Mecanismo indirecto para lixiviación del *thiobacillus* en Misurebal

Tuovinen et al. (1991) reportaron que el *thiobacillus* spp lixivía el Misurebal de manera indirecta cuando la concentración de $\text{Fe}_3(\text{SO}_4)$ y de O_2 son suficientes para ese proceso. Al igual que con otros minerales del mismo tipo como: la galena (PbS), la calcopirita (CuFeS_2), la bodrnita (Cu_5FeS_4), la esfalerita (ZnS), la marcasita (Fe_2S), la covelita (CuS), la calcocita (Cu_2S) y la molibdenita (MoS_2). En general, se supone que el *thiobacillus* spp necesita del Fe^{2+} (ion ferroso) solo o en mezcla, puesto que esta es la especie química más común para la lixiviación indirecta de Misurebal, en presencia el ion Fe^{3+} (ion férrico), generado al atacarlo. Las siguientes reacciones representan el mecanismo en las fases aeróbica/anaeróbica realizados por el *thiobacillus* spp en ambientes acuáticos de minas (Ahonen y Tuovinen, 1992).



Cuando el *thiobacillus* oxida el ion Fe^{2+} a Fe^{3+} lo hace por:

1. La interacción del ion Fe^{3+} con el Misurebal.
2. Por regeneración del ion Fe^{3+} a Fe^{2+} , a pH ácido por la oxidación del S del mineral que genera el H_2SO_4 responsable de la reducción química ion Fe^{3+} a ion Fe^{2+} , para mantener este ciclo en acidez extrema (Boon y Heijnen, 1998; Fowler y Crundwell, 1998).

5.9 Temperatura adecuada para la lixiviación del *thiobacillus* en CuFeS_2

El género de *thiobacillus* spp lixivia directa e indirectamente el Misurebal por reducción del ion Fe^{3+} , además de otros mecanismos químicos (Lopezarchilla and Amils, 1993; Tuovinen et al, 1994); en la naturaleza ambos mecanismos son simultáneos. Puesto que *T. ferrooxidans* lixivia el Cu monovalente, al oxidar el Fe^{2+} y S; mientras que el thiobacillus oxida directamente el S unido a ambos metales con la valencia reducida, al igual que el Fe^{2+} , del Fe_2SO_4 o el S elemental, en la fase inicial de la oxidación se consume el $\text{SO}_4=$, lo que aumenta el valor del pH y provoca la precipitación del $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ de la sal de Cu proveniente de la anterita y del $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, que se disocia en una reacción secundaria lenta, y el Fe^{2+} que produce de la jarosita con regeneración del $\text{SO}_4=$ de acuerdo con la siguiente reacción (Brieley y Brieley, 2001; Golovacheva et al, 1992):



Como se indica, el *T. ferrooxidans* lixivia calcopirita para extraer Cu en columna pobre en condición estática y una recuperación del 25 % en 60 días; de un 40 % en 70 días; del 60 % en 470 días.



Razell y Trussell recobraron un 45 % de Cu de la calcopirita en esa condición, en agitación obtuvieron un 35 % en 33 días, de un 72 % - 100 % en 12 días; de 59 % en 5 días; de 60 % en 4 días; de 79 % en 6 días y de 50 % -60 % en 4-6 días en un tanque con oxigenación continua, lo que demuestra que en biorreactor una elevada tensión de O₂ es necesaria para la máxima extracción de Cu cuando se aplica la LB (Amaro, Hallberg, Lindstrom y Jerez, 1994; Brigmon, Bitton, Zam y O'Brien, 1995).

5.10 Factores en *thiobacillus* que afectan la lixiviación de Misurebal

El género de *T. ferrooxidans* lixivia Misurebal en función de la concentración del ion Fe²⁺ soluble, que afecta el sistema de transporte de electrones en su membrana celular cuando la bacteria oxida el S elemental bajo un condición de pH ácido (Amaro, Hallberg, Lindstrom and Jerez, 1994; Brierley, 2008; Boon and Heijnen, 1998), un factor crítico dado que la acidez extrema es necesaria para que el metal se libere del Misurebal, un ejemplo de lo anterior es la lixiviación bacteriana de la calcopirita para que se disuelva, y con ello el metal de interés. Ya que cuando el thiobacillus oxida el S genera energía o ATP para su crecimiento, lo que depende de la concentración de este elemento en Misurebal como la calcocita y en la novelita (Tuovinen et al, 1994). En cuyo caso el *thiobacillus* libera energía en condición de acidez que permita la presencia de Fe²⁺, esta capacidad de *T. ferrooxidans* la comparte con el *T. thooxidans* y con algunos hongos filamentosos, levaduras y protozoarios del suelo que esta condición fisicoquímica ambiental permite la presencia de Fe²⁺ para la vida (Pradhan, Nathsarma, Srinivasaraoo, Sukla, Mishra, 2008; Sugio, De los Santos, Hirose, Inagaki y Tano, 1990).



5.11 Archeobacterias hipertermofilicas ácidofilicas y thiobacillus temperatura para la lixiviación de Misurebal

Existen dos factores críticos que afectan en *thiobacillus* y *leptospirillum thermoferrooxidans* (Goloacheva et al, 1992). El primero es el aumento de la temperatura derivada de su metabolismo al oxidar el S, que genera calor y que inhibe su actividad, pues el intervalo de temperatura que estimula a máxima actividad está en el intervalo de 25-35 °C (Ahonen y Tuovinen, 1992; Groudev and Groudeva, 1993). Para la mayor oxidación de ion ferroso a férrico, la temperatura no debe ser superior a 35 °C, ni menor de 5 °C porque muere (Kashefi y Lovley, 2000; Kusano et al, 1992)

Actualmente, por esa razón se usan archaeobacterias hipertermofilicas acidofilicas que usan Fe o S como fuente de energía de Misurebal a temperatura mayor de 80 °C, a la cual en la naturaleza son activas (Sand, Gehrke, Hallman, Rohde, Sobotke y Wetzlein, 1993; Sugio, De los Santos, Hirose, Inagaki y Tano, 1990), además se le asocia con la oxidación de compuestos inorgánicos de S elemental en zonas volcánicas marinas y terrestres (Brierley, 2008; Mossman, Reimer and Durstling, 1999), estas archeobacterias son una nueva alternativa para la explotación de Misurebal y otros minerales (Janssen, Sleyster, van der Kaa, Jochemsen, Bontsema y Lettinga, 1996).

5.12 En thiobacillus importancia del tamaño de la partícula y el área superficial de los Misurebal

En solución acuosa las partículas de Misurebal son una fuente de iones, la dimensión de esas partículas son clave para que el *thiobacillus* lo lixivie, por lo que una mayor área de contacto facilita la oxidación del S (Brierley y Brierley, 2001; Bronwyn, Shell y Rawling, 2000). Los Misurebal con dimensiones cercanas al tamaño de este género bacteriano son ideales para su disolución. Una investigación sugiere que el *thiobacillus* sintetiza mucopolisacáridos (Ahonen y Tuovinen, 1992; Arredondo, García y Jerez, 1994; Brierley, 2008)



necesarios para que se adhiriera al mineral, la relación entre la bacteria y el Misurebal es inversamente proporcional a la actividad lixiviante, a medida que la granulometría es menor, la velocidad de oxidación del S es mayor, en consecuencia, la extracción del metal es más rápida y eficaz (Janssrn, Sleyster, van der Kaa, Jochemsen, Bontsema y Lettinga, 1996; Kusano et al, 1992).

5.13 Conclusión

La extracción de metales de valor comercial por LB con bacterias quimiolitotróficas en Misurebal es de interés en biohidrometalurgia y en la explotación de menas de baja concentración del metal, que no se explotan con métodos fisicoquímicos convencionales. Aunque LB es aplicable a cualquier mineral que sea resistente a los métodos químicos establecidos que requieren un elevado gasto de energía, sin que necesariamente su rendimiento sea proporcional a la inversión. El potencial *thiobacillus* y de las archeobacteria para lixiviar Misurebal incluso radiactivos, abre prometedoras posibilidades para la optimización del recurso minero en la industria de la metalurgia extractiva, en especial si verdaderamente realizan acciones conjuntas entre la investigación de las universidad y la industria.



—◆ Agradecimientos ◆—

Al proyecto de CONACYT-México, n.º 0944P-A930 biolixiviación de concentrados minerales refractarios de oro y plata por el apoyo económico. Al proyecto 2.7 (2016) Coordinación de Investigación Científica - UMSNH, Morelia, Michoacán, México y Bionutra, S. A de CV, Maravatio, Michoacán, México.



◆ Referencias ◆

- Ahonen, L., & Tuovinen, O. H. (1992). Bacterial oxidation of sulfide minerals in column leaching experiments at suboptimal temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, 600-606.
- Álvarez, S., & Jerez, C. A. (1990). Molecular aspects of the stress response in thiobacillus ferrooxidans and other biomining microorganisms. In J. Salley, R. G. L. McCready, P. L. Wichlacz (Eds.) *Biohydrometallurgy*, 439-449. Ottawa, Ontario: Canada Centre for Mineral and Energy Technology.
- Amaro, A. M., Hallberg, K. B., Lindstrom, E. B., & Jerez, C. A. (1994). An immunological assay for detection and enumeration of thermophilic biomining microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60, 3470-3473.
- Arredondo, R., García, A., & Jerez, C. A. (1994). Partial removal of lipopolysaccharide from Thiobacillus ferrooxidans affects its adhesion to solids. *Applied and environmental microbiology*, 60(8), 2846-2851.
- Brierley, C. L. (2008). How will biomining be applied in future? *Transactions of non ferrous metal society of China*, 18, 1302-1310.
- Brierley, J. A., & Brierley, C. L. (2001). Present and future commercial application of biohydrometallurgy. *Hydrometallurgy*, 59, 233-239.
- Boon, M., & Heijnen, J. J. (1998). Chemical oxidation kinetics of pyrite in bioleaching processes. *Hydrometallurgy*, 48, 27-41.
- Brigmon, R. L., Bitton, G., Zam, S. G., & O'Brien, B. (1995). Development and application of a monoclonal antibody against thioxidans spp. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61, 13-20.
- Bronwyn, G. B., Shell, M. D., & Rawling, D. E. (2000). The chromosomal arsenic resistance genes of thiobacillus ferrooxidans have an unusual arrangement and confer increased arsenic and antimony resistance to escherichia coli. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 1826-1833.
- Fowler, T. A., & Crundwell, F. K. (1998). Leaching of zinc sulfide by thiobacillus ferrooxidans: Experiments with a controlled redox potential indicate no direct bacterial mechanism. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64, 3570-3575.



- Golovacheva, R. S., Golyshina, O. V., Karavaiko, G. I., Dorofeev, A. G., Pivovarova, T. A., & Chernykh, N. A. (1992). A new iron-oxidizing bacterium. *Leptospirillum thermoferrooxidans* sp. nov. *Mikrobiologiya*, 61, 744-750.
- Groudev, S. N., & Groudeva, V. I. (1993). Microbial communities in four industrial copper operations in Bulgaria. *FEMS Microbiol. Rev.*, 11, 261-268.
- Janssen, A., Sleyster, J. H. R., van der Kaa, C., Jochemsen, A., Bontsema, J., & Lettinga, G. (1996). Biological sulphide oxidation in a fed-batch reactor. *Biotechnol. Bioeng.*, 47, 327-33.
- Kanishi, Y., & Sataru, A. (1992). Bioleaching of zinc sulfide concentrate by *thiobacillus ferrooxidans*. *Biotechnol*, 12, 133-155.
- Kashefi, K., Tor, J. M., Nevin, K. P. & Lovley, D. R. (2001). Reductive precipitation of gold by dissimilatory Fe (III)-reducing bacteria and archaea. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67, 3275-3279.
- Kashefi, K., & Lovley, D. R. (2000). Reduction of Fe(III), Mn(IV), and toxic metals at 100 °C. *Pyrobaculum islandicum*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 1050-1056.
- Kusano, T., Takeshima, T., Sugawara, K., Inoue, C., Shiratori, T., Yano, T., ... & Yamanaka, T. (1992). Molecular cloning of the gene encoding *Thiobacillus ferrooxidans* Fe (II) oxidase. High homology of the gene product with HiPIP. *Journal of Biological Chemistry*, 267(16), 11242-11247.
- Lindstrom, E. B., Wold, S., Ketteneh-Wold, N., & Saat, S. (1993). Optimization of pyrite bioleaching using *Sulfolobus acidocaldarius*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 38, 702-707.
- Lopezarchilla, A. L, & Amils, R. (1993). Bioleaching and interrelated acidophilic microorganisms of Rio Tinto, Spain. *Geomicrobiol. J.*, 11, 223-233.
- Lloyd, J. R., & Macaskie, L. E. (2000). *Bioremediation of radionuclide containing wastewaters*, (pp. 277-327). In D. R. Lovley (Ed.). Washington, D. C.: Environmental microbe-metal interactions. American Society for Microbiology.
- Lovley, D. R. (2000). *Fe(III) and Mn(IV) reduction*. P. 3-30, (pp. 20-30). In D. R. Lovley (Ed.). Washington, D. C.: Environmental microbe-metal interactions. American Society for Microbiology.



- Mossman, D. J., Reimer, T., & Durstling, H. (1999). Microbial processes in gold migration and deposition: modern analogues to ancient deposits. *Geosci. Can.*, 26, 131-140.
- Olson, G. J. (1991). Rate of pyrite bioleaching by thiobacillus ferrooxidans: Results of an interlaboratory comparison. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 642-644.
- Pradhan, N., Nathsarma, K. C., Srinivasaraoo, K., Sukla, L. B., & Mishra, B. A. (2008). Heap bioleaching of chalcopyrite a review. *Minerals Engineering* 21, 355-365.
- Sand, W., Gehrke, T., Hallmann, R., Rohde, K., Sobotke, B., & Wentzien, S. (1993). In situ bioleaching of metal sulfides: the importance of *Leptospirillum ferrooxidans*. *Biohydrometallurgical Technologies.*, 1, 15-27.
- Sugio, T., De los Santos, T.S., Hirose, T., Inagaki, K., & Tano, T. (1990). The mechanism of copper leaching by intact cells of thiobacillus ferrooxidans. *Agric. Biol. Chem.*, 54, 2293-2298.
- Sukla, L. B., Kar, N. R., & Panchanadikar, V. (1992). Leaching of copper converter slag with *Aspergillus niger* culture filtrate. *Biomet.*, 5, 169-172.
- Suzuki, I., Takeuchi, T. L., Yuthasastrakosol, T. D., & Oh, J. K. (1990). Ferrous iron and sulfur oxidation and ferric iron reduction activities of *Thiobacillus ferrooxidans* are affected by growth on ferrous iron, sulfur, or a sulfide ore. *Applied and environmental microbiology*, 56(6), 1620-1626.
- Tuovinen, O. H., Kelly, B. C., & Groudev, S. N. (1991). Mixed cultures in biological leaching processes and mineral biotechnology. In G. Zeikus & E.A. Johnson (Eds.). *Mixed cultures in biotechnology*. New York: McGraw-Hill.
- Tuovinen, O. H., Bhatti, T. M., Bigham, J. M., Hallberg, K. B., García Jr. O., & Lindstrom, E. B. (1994). Oxidative dissolution of arsenopyrite by mesophilic and moderately thermophilic acidophiles. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60, 3268-3274.
- Zagury, G. J., Narasiah K. S., & Tyagi, R. D. (1994). Adaptation of indigenous iron-oxidizing bacteria for bioleaching of heavy metals in contaminated soils. *Environ. Tech.*, 15, 517-530.







◆— Capitulo 6 —◆

Aplicación de barreras reactivas permeables para la eliminación de hidrocarburos en suelos contaminados

José Alejandro Martínez S.
Merly Umbacía S.
José Villaseñor Camacho

Introducción

Las tecnologías convencionales para el tratamiento de aguas subterráneas contaminadas como el bombeo y posterior tratamiento tienen grandes inconvenientes debido a su elevado costo, especialmente cuando se trata de tratamientos prolongados, resultando difícil disminuir la concentración de los contaminantes hasta los niveles máximos permitidos. En consecuencia, se están desarrollando nuevas tecnologías *in situ* entre estas barreras reactivas permeables, las cuales han despertado un gran interés debido a su bajo costo y eficiencia.

Después de múltiples investigaciones, la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, por sus siglas en inglés), en la década del 90 propone el uso de las barreras reactivas permeables como una alternativa viable para la remediación de las aguas subterráneas contaminadas con sustancias procedentes de diferentes orígenes, debido a que su implementación resulta menos invasiva, de menor costo de instalación y funcionamiento en comparación con otros métodos de remediación, además de ser amigable con el medio ambiente, entre sus principales características. Sin embargo, para la puesta en práctica de esta tecnología, es indispensable la realización de estudios y pruebas, en primer lugar, a escala de laboratorio para identificar el o los



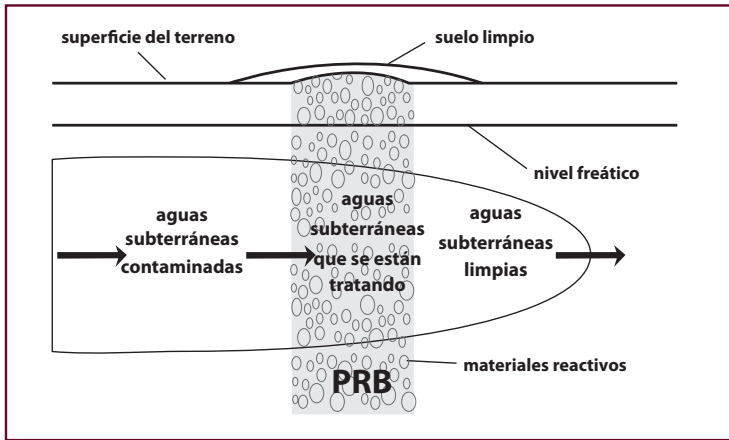
materiales de relleno que puedan ser utilizados, constituyéndose así en el principal componente para la instalación y funcionamiento de las barreras reactivas permeables (Archibold Lasso, 2010).

Las barreras biológicas activadas (BRP) son zonas locales que presentan una actividad especial para la biodegradación de compuestos orgánicos y una alta capacidad de inmovilización de los mismos; esta cualidad puede ser usada para proteger suelos, acuíferos y otros posibles receptores de la contaminación. Las barreras biológicas se basan en procesos completamente biológicos o en una combinación de procesos biológicos y físico-químicos.

6.1 Breve estado del arte

Una barrera biológica activada *in situ*, conocida como BRP, es una zona local en un medio poroso natural que presenta una mayor actividad para la biodegradación de compuestos orgánicos peligrosos, al tiempo que una alta capacidad de inmovilización y retención de los contaminantes. Por tanto, los contaminantes son eliminados del agua subterránea a medida que esta fluye a través de la pantalla –remediación–, bajo la influencia del gradiente hidráulico natural. En el proceso de formación de una barrera biológica se inyectan en el material portador células y una solución nutritiva gracias a la cual crecen, se reproducen y forman un *biofilm* que es el responsable de los procesos biológicos y físico-químicos producidos en la biobarrera. Estas pueden ser utilizadas simplemente como sistemas de contención en acuíferos porosos para reducir el flujo de agua contaminada a través de dichos materiales, o para inmovilizar compuestos tóxicos y peligrosos –metales, compuestos orgánicos– al interaccionar estos con el *biofilm* (figura 1).

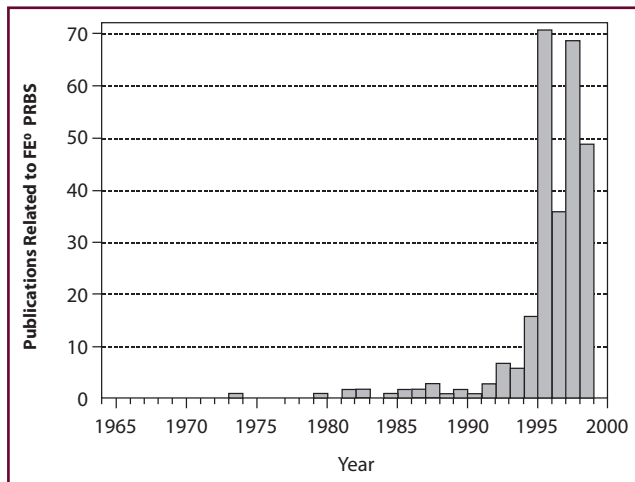
Figura 1. Perfil de una biobarrera reactiva impermeable.



Fuente. EPA, 1996.

En los últimos años, ha habido una explosión de actividad dirigida al desarrollo y la aplicación de Barreras Reactivas Permeables (BRP) que muestra un fuerte aumento reciente en el número de publicaciones relacionadas con las aguas subterráneas limpiadas con biobarreras (figura 2).

Figura 2. Número de publicaciones relacionadas con el hierro metálico y desarrollo BRP y aplicación desde 1964.



Fuente. Adaptado de la base de datos de referencias hierro mantenido. Instituto Universitario de Oregon, s.f.

El fuerte aumento del interés en las BRP fue durante la década de 1990, más de 20 barreras reactivas se han instalado en Estados Unidos desde 1994 a 1997, aproximadamente la misma cantidad en 1998. Se han desarrollado varias revisiones y críticas acerca de las tecnologías de BRP, las cuales se han publicado recientemente, estas críticas se han centrado básicamente en el diseño y ejecución de las BRP.

En 1997 varias publicaciones revisaron el estado de la tecnología de barrera reactiva permeable y se identificaron 124 proyectos que ya están utilizando o planeando instalar las biobarreras reactivas, los cuales manejan principalmente los grupos de contaminantes, como son: compuestos alifáticos (54 %) halogenados, metales pesados (30 %) y radionúclidos (12 %). Por otra parte, los contaminantes inorgánicos típicos son tratados también por las BRP, como son el cromo, plomo, molibdeno, el arsénico, el cadmio. La mayoría de los proyectos de BRP se encuentran todavía en la fase de laboratorio, el cual constituye un 58 %, las aplicaciones comerciales representan solo el 16 %, el hierro es el medio más frecuentemente utilizado, que representa aproximadamente el 45 % de la implementación de las BRP, sin embargo, hay una amplia variedad de otros materiales distinto al metal de hierro que han sido valuado para su uso en las tecnologías de barrera reactiva (Scherer, Ritcher, Valentine y Alvarez, 2010).

Por otra parte, a través de los diferentes medios de búsqueda como Google Científico, Scopus Document, ScienceDirect, SCIRUS for scientific information only, Jstor y EBSCOhost, se encontraron diferentes artículos científicos los cuales trataban acerca de la aplicación de las biobarreras, excepto en la base científica de SCIRUS for scientific information only, en donde se encontraron tres artículos científicos (Archibold, 2010; Cobas, 2013; Chi-Hui Ye et al, 2010), los cuales trataban acerca de la aplicación de las barreras permeables reactivas para descontaminar suelos con metales pesados, la mayor parte de los estudios publicados contiene información acerca de las pruebas y la aplicación a diferentes escalas como: laboratorio, piloto y escala completa, cada uno señalaban buenos



resultados en términos de eficiencia y eliminación de contaminantes, sin embargo, también se señalaba que debería implementarse el diseño de un sistema de remediación competente.

Los tres investigadores que se identificaron a través de la base de datos *SCIRUS for scientific information only*, manejan actualmente estudios de laboratorio con barreras reactivas impermeables para la eliminación de metales pesados, estas investigaciones dan como resultado que el carbón orgánico, el cual es un reactivo para las barreras reactivas permeables, puede ser eficaz para el tratamiento de agua subterránea contaminada por un conjunto de metales disueltos, incluyendo Ni, Pb, hidrocarburos, Co y Zn, otro de los resultados que se obtiene es la capacidad que tiene la barrera para seguir eliminando los metales en un futuro, el cual dependerá de la función del tiempo-reactividad, determinado por el monitoreo a largo plazo en el lugar del evento.

En relación con las técnicas de construcción de las biobarreras, la que más presenta eficacia es la técnica del embudo y la puerta, esto debido a las investigaciones efectuadas, en donde se demuestra que el sistema de puerta ha sido eficaz en el tratamiento de hidrocarburos de petróleo en el agua subterránea a poca profundidad en el sitio (Purswani, 2011).

Por otra parte, se han efectuado estudios (Richter, 2010; Reeter, 2002) utilizando como medio reactor *trichoderma longibrachiatum* y esponja de nylon para la eliminación de hidrocarburos aromáticos policíclicos, como resultado a esta investigación se creó un hongo, el cual formó una gran cantidad de biopelícula fuertemente adhesiva entre la esponja y el nylon. Después, la capacidad del medio de biorreactivo desarrollada fue probada para remediar hidrocarburos en medio acuoso y en el suelo. En medio acuoso, un 90 % de reducción de la concentración de hidrocarburo fue observada después de 14 días, sin embargo, la eliminación de contaminantes en el suelo anterior requiere la colonización de hongos y el nivel alcanzado fue de alrededor de 70 % después de 28 días, se concluye que los BRP con el *T. longibrachiatum* soportados sobre una esponja de nylon, pueden ser un método eficaz para el tratamiento de agua contaminada con hidrocarburos.



Por último, y de acuerdo con las investigaciones publicadas, se dice que las técnicas de las BRP están avanzando rápidamente, ya que el método de tratamiento gana popularidad como una alternativa a los sistemas de bombeo y tratamiento. De hecho, las barreras permeables se han convertido en toda una nueva clase de tecnologías y actualmente se está estudiando aplicar las BRP en los contaminantes, tales como disolventes, metales y radionúclidos.

6.2 Las biobarreras en el mundo actual de la remediación de suelos

Desde 1987 en los Estados Unidos de Norteamérica (EUA) se han aplicado técnicas de electrorremediación a nivel comercial para restaurar suelos contaminados con compuestos orgánicos e inorgánicos –residuos peligrosos y radioactivos, metales, solventes, entre otros–, así mismo se han realizado demostraciones a nivel piloto y de campo para determinar la efectividad de la técnica (EPA, 2002). Actualmente, en los EUA y en Europa existen compañías que ofrecen la remediación electrocinética dentro de su portafolio de tecnologías. Dentro de estas compañías de servicio de remediación de suelos contaminados se encuentran Electrokinetics Inc, Geokinetics International Inc. y Battelle Memorial Institute, entre otras. De estas compañías, Geokinetics Internacional ha efectuado proyectos de remediación de sitios contaminados utilizando la electrorremediación como base tecnológica (EPA, 1995), la totalidad de los proyectos está orientada a la remediación de sitios contaminados con metales. En los siguientes ejemplos se muestra el potencial de la tecnología de electrorremediación para remover diversos tipos de contaminantes:

- En 1995 Geokinetics International Inc. Reportó la remediación de un sitio de 213 m² y 1 m de profundidad, contaminado con Cd, Cu, Ni, Pb, y Zn, en 18 meses de electrorremediación, obteniendo eficiencias diferenciadas para cada elemento –desde el 75 % para el cobre hasta 99 % para el plomo– con un costo desde 300 hasta 500 dólares por yarda cúbica (EPA 1995).



- En 1996 se realizó una demostración de extracción de plomo de un campo de pruebas balísticas de la armada norteamericana. Los resultados mostraron una disminución del nivel de contaminación de 4500 mg/kg a menos de 300 mg/kg de plomo en 30 semanas de operación (EPA, 2002).
- En 1997 la empresa Environmental & Technology Services reportó la remediación de un sitio de 3700 m² y 21 m de profundidad, contaminado con compuestos orgánicos volátiles, BTEX e hidrocarburos totales derivados del petróleo en 12 meses. Se obtuvieron eficiencias mayores al 90 % con un costo entre 17 y 50 dólares por tonelada de suelo, como se menciona en Loo y Chilingar, 1997, citado en De la Rosa-Pérez, Teutli-León, Margarita y Ramírez-Islas (2007), A. (2007).
- Uno caso real de la implementación de biobarreras se presentó en Nueva Jersey, en donde se instalaron dos paredes, las cuales contenían hierro granular de tratamiento 5 a 15 m por debajo de la subfase del suelo. La primera pared era de 46 m de longitud y una segunda pared colocada aguas abajo de los primeros fue de 27 m de longitud. El segundo muro tenía por objetivo permitir una mayor concentración de COV en el medio de la pluma para degradar y para proporcionar un tiempo de residencia adicional. Los resultados preliminares de este proyecto indican que el método tuvo éxito.

Las BRP (Barreras Reactivas Permeables) han sido instaladas en más de 130 sitios en EE. UU., Canadá, Europa, Japón y Australia. Estas BRP han sido instaladas en antiguas bases militares, como parte de la reconstrucción en sitios sin actividad productiva, en varias industrias en funcionamiento, en antiguos lugares de tintorería y rellenos sanitarios.



Por último, la técnica de la aplicación de las BRP ha sido aplicada en Colombia en dos estaciones de servicio, a las cuales les fueron instaladas un sistema de tratamiento pasivo de paredes y se le aplicaron microorganismos existentes en el suelo agrícola, dando como resultado una disminución de las concentraciones del diesel en el agua subterránea.

6.3 Variables que afectan a las biobarreras

Los tiempos de residencia requeridos para conseguir los niveles de contaminación deseados pueden ser determinados a partir del tiempo de vida media de la degradación, y la concentración inicial de contaminante.

6.3.1. Tipos de barreras y material.

La tecnología de las biobarreras es un método de remediación que emplea tratamientos físicos, químicos o biológicos *in situ* usando medios reactivos o adsorbentes (tabla 1). La selección del medio reactivo se basa en el tipo y concentración de los contaminantes de las aguas subterráneas, las velocidades de las aguas, la calidad de los parámetros del agua y los mecanismos de reacción para eliminar los contaminantes.

6.3.2. Materiales reactivos en la utilización de las BRP.

a. Carbón activado

El carbón activado es un material químicamente estable y ampliamente considerada como adsorbente adecuado para *in situ* o fuera del sitio del tratamiento de aguas subterráneas contaminadas, este material presenta una alta capacidad de adsorción para muchos orgánicos e inorgánicos contaminantes, en gran parte debido a su alta área superficial –sobre 1000 m²/g– y la presencia de diferentes tipos de superficie y grupos funcionales –hidroxilo, carbonilo, lactona, carboxílico ácidos, etc.–, en forma granular, el



carbón activado parece ser altamente adecuado para su uso en barreras permeables (Thiruvengkatachari, Vigneswaran y Naidu, 2008), gracias a la absorción del contaminante por este material, ha sido implementado repetidamente en la técnica de las BRP.

b. Zeolita

Las zeolitas son aluminosilicatos con tectosilicatos tridimensionales, estructura que contiene moléculas de agua, alcalinos y metales de tierras alcalinas en su marco estructural, estos minerales tienen intercambio iónico muy alto, adsorción, catalítico, capacidades de tamizado molecular y los hacen potencialmente útiles como mineral de tratamiento para su uso en los BRP. Una zeolita natural, es un material potencial para remediación de soluciones acuosas, ya que demuestra la fuerte afinidad por varios metales pesados tóxicos y puede adsorber selectivamente; adicionalmente, otras sustancias como tensoactivos han sido probados en conjunto con zeolitas para eliminar simultáneamente agentes orgánicos y especies inorgánicas (Thiruvengkatachari et al, 2008).

Tabla 1. Tipos de material reactivo utilizados en las técnicas de las biobarreras.

Medio reactivo	% de aplicación
Hierro cero valente	45
Sulfuro de hidrógeno	2
Oxihidroxido férrico	4
Fijación geoquímica	5
Silicatos de surfactantes modificados	2
Fe cero valente y materiales sulfurosos	2
Cal	5
Aserrín	2
Zeolitas	6
Microorganismos	2
Turba	6
Moluscos Fossilizados	2
Otros	17

Fuente. Cardona, 2006.



Los diferentes materiales eliminan la contaminación empleando los siguientes métodos: reacciones redox, precipitación, adsorción y biodegradación estos métodos permiten que la pluma de contaminación se mueva pasivamente debido a que se da una precipitación, adsorción o bien una degradación de los contaminantes, a continuación se describe cada uno de los métodos.

6.4 Métodos utilizados en las BRP

6.4.1. Adsorción o retención.

Atrapa las sustancias químicas en las paredes de la barrera permeable. Por ejemplo, el carbono el cual tiene una superficie a la que se adsorben las sustancias químicas cuando las aguas subterráneas lo atraviesan.

La adsorción elimina los contaminantes a partir de una columna de agua subterránea, a través de la fase disuelta a un medio sólido, la absorción se define como la acumulación de sólidos en el agua interfaz sin la formación de una estructura tridimensional. La absorción implica que el contaminante se ha difundido a particiones dentro de la masa del sólido.

La adsorción ha recibido la mayor atención como un mecanismo viable para la eliminación de contaminantes en las BRP, siendo una combinación de tres mecanismos posibles: 1) la expulsión hidrófobo –de aversión agua–; 2) la atracción electrostática –cargas opuestas se atraen–; 3) la superficie de reacciones de coordinación –hidrólisis, formación de complejos de metal, intercambio de ligandos o hidrógeno unión–.

6.4.2. Precipitación.

Las sustancias químicas disueltas en el agua reaccionan con los contaminantes para formar productos insolubles. Por ejemplo, agentes precipitantes como la caliza, provocan la precipitación de



los compuestos nocivos en forma de sólidos que quedan retenidos en las paredes de la barrera. Otro ejemplo, el plomo es un contaminante común en los emplazamientos industriales donde se reciclan las baterías de automóviles. Una BRP de piedra caliza situada en el camino de las aguas subterráneas ácidas contaminadas con plomo neutraliza el ácido y hace que cambie a una forma sólida que queda retenida en la barrera.

6.4.3. Degradación.

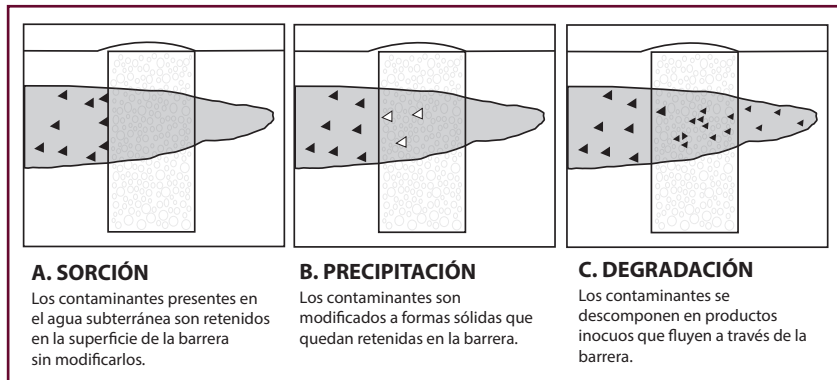
Transformando las sustancias dañinas mediante reacción química en compuestos inocuos o inofensivos. Por ejemplo, el hierro granulado puede transformar algunos tipos de disolventes que presenten compuestos clorados en sustancias químicas inofensivas. También se puede conseguir la degradación de los contaminantes estimulando el crecimiento de microorganismos que transforman en su metabolismo las sustancias perjudiciales en CO₂ y agua. Para ello las paredes de las barreras estarán rellenas de nutrientes y oxígeno.

Estas barreras son simples mecánicamente, pueden contener un catalizador metálico para degradar los contaminantes orgánicos, inmovilizar metales, nutrientes y oxígeno para microorganismos y así favorecer la biorremediación.

Las reacciones que tienen lugar en las barreras dependen de ciertos parámetros, como son: el pH, el potencial de oxidación/reducción, concentración de los contaminantes y la cinética. Una buena aplicación de la tecnología requiere la caracterización del contaminante, el flujo del agua subterránea y la geología del terreno subterráneo.



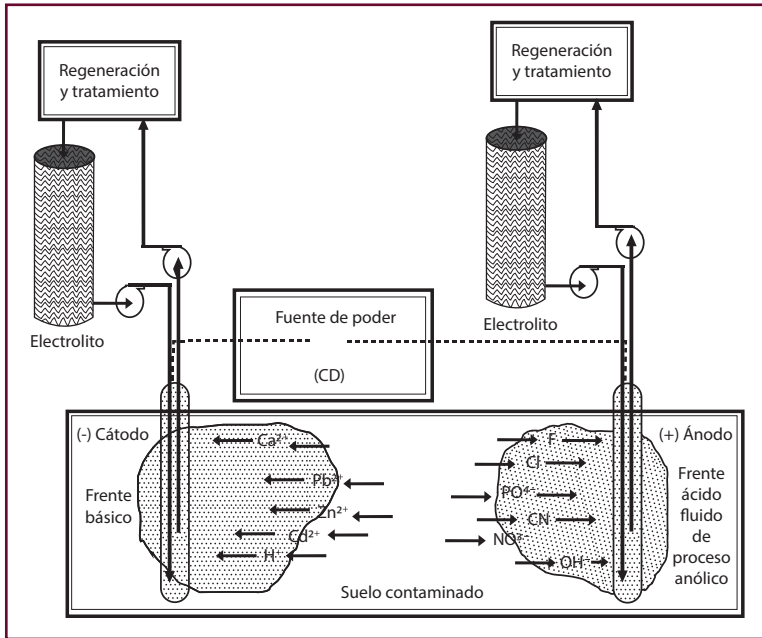
Figura 3. Métodos utilizados en la BRP.



Fuente. Díaz, Gorostiza, Susaeta, García, Zárate, Martín, y Muiña, 1999.

Otros medios que se están estudiando son las barreras electroquímicas que generan reacciones oxidación-reducción, esta técnica ha demostrado su capacidad de remover algunos contaminantes orgánicos como el tricloroetileno e hidrocarburos, esta es una tecnología para restaurar suelos contaminados que se basa en la generación de un campo eléctrico a partir de imponer corriente directa. Para la aplicación de una diferencia de potencial o una corriente directa, se requiere el empleo de electrodos –ánodo y cátodo– (figura 4), los cuales son colocados en pozos excavados en el suelo, usualmente estos se humectan con un electrolito para mejorar las condiciones de conducción del campo eléctrico. La acción del electrolito permite transportar el contaminante hacia los pozos en donde será extraído. Al contrario del arrastre de fluidos, esta técnica permite establecer una migración dirigida, la cual evita la dispersión del contaminante fuera de la zona de tratamiento. Los mecanismos principales por los cuales el campo eléctrico conduce los contaminantes hacia los electrodos son: electromigración, electroósmosis y electroforesis. Siendo los dos primeros los que ejercen la mayor influencia en el transporte del contaminante.

Figura 4. Esquema básico del proceso de electro remediación, las especies iónicas migran por la acción del campo eléctrico. El frente ácido se forma en el ánodo y migra hacia el cátodo.



Fuente. De la Rosa, Teutli y Ramírez, 2007.

6.5 Construcción de barreras reactivas

En primer lugar, es necesaria una completa caracterización del lugar para el correcto diseño e instalación de una barrera reactiva, que incluya una evaluación del comportamiento del suelo, así como determinación de la viabilidad del suelo para la instalación de la BRP. La modelización hidrológica y el monitoreo de la instalación permiten definir las dimensiones básicas de la pluma de contaminante, la dirección del movimiento de la pluma y la localización más apropiada de la barrera, así mismo se tendrán que conocer la localización y extensión de la pluma de contaminación, la dirección del flujo de agua subterránea y su velocidad y la concentración de los diferentes contaminantes. Además, para el diseño de la BRP, es útil conocer las posibles informaciones relativas a las variaciones de permeabilidad de los diferentes estratos y la geoquímica del

agua, otro de los aspectos a tener en cuenta es la estratigrafía y la litología del lugar, los cuales suelen indicar qué tipo de diseño para la BRP es el adecuado. Por ejemplo, es deseable que la parte más baja de la barrera se asiente sobre un terreno de baja permeabilidad para así prevenir la filtración del agua contaminada. Si esta situación no se da, será necesario un sistema artificial que evite estas filtraciones (evaluación a escala laboratorio de procesos de eliminación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAH) en suelos y aguas subterráneas: integración de procesos de adsorción).

En los sistemas tradicionales las barreras no se construyen para profundidades superiores a 20 metros, ya que los métodos de construcción tradicionales permiten la instalación de barreras reactivas, siempre que el límite de la capa freática no se encuentre a una profundidad superior a 20 metros.

Aunque una variedad de medios de tratamiento y estrategias están disponibles, la técnica más común es la de enterrar hierro granular en una zanja, de modo que el agua subterránea contaminada pasa a través de los materiales reactivos, los contaminantes se eliminan y el agua se convierte en «limpia». Las principales ventajas de esta técnica son la eliminación de bombeo, excavación masiva, la eliminación fuera del sitio y una reducción muy significativa de los costos. El uso de esta tecnología se está convirtiendo en la más conocida y aplicada.

Las consideraciones especiales de construcción deben hacerse cuando se planifica la instalación de barreras reactivas BRP para asegurar la vida útil de la instalación y para ser rentable. Técnicas geotécnicas tales como zanjas de suspensión, mezclar el suelo profundo y la inyección pueden ser usadas para simplificar y mejorar la instalación de materiales reactivos relativos a zanja y rellenos convencionales. Estas técnicas permiten reducir los riesgos a los trabajadores durante la instalación, reducir los residuos y reducir los costos para la mayoría de instalaciones.



Hasta la fecha, la mayoría de las barreras impermeables se han instalado a poca profundidad utilizando métodos de construcción, tales como zanjas abiertas o excavaciones apuntalado, aunque estos métodos son utilizables, son limitados a profundidades someras y más perturbadores para el uso normal del sitio. Técnicas geotécnicas son rápidamente instaladas y menos perjudiciales para las actividades del sitio y por lo tanto más eficaces. Recientemente, los estudios de laboratorio y los proyectos piloto han demostrado que las técnicas geotécnicas pueden ser utilizadas con éxito para instalar barreras reactivas.

Por otra parte, existen requerimientos básicos que deben cumplir una estructura de barrera, como es el reemplazo de los materiales reactivos o adsorbentes, la permeabilidad tiene que ser más elevada que la de los depósitos de agua de sus alrededores y el material debe tener una larga vida.

6.6 Instalaciones de las barreras reactivas

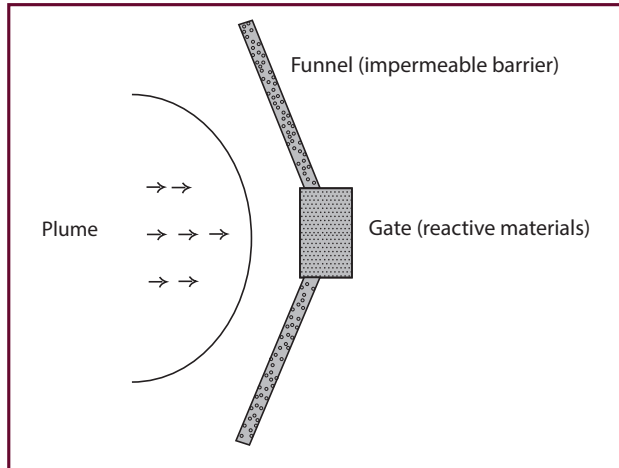
Los dos tipos más comunes de instalación para BRP son:

- Paredes continuas.
- Embudo y puertas.

Una pared continua permeable es generalmente el más simple de instalar y típicamente se extiende a través de la anchura y la profundidad de la columna, tiene el menor impacto en los actuales patrones de flujo de agua subterránea. El embudo y configuración de la puerta, permite que el agua subterránea contaminada sea canalizada o guiada por el impermeable, secciones o embudos permeable a puertas, que contienen los materiales reactivos. Se han utilizado para crear el embudo típicamente sustancias como lodo líquido en paredes de corte o estacas (Figura 5).



Figura 5. Ilustración del concepto de embudo y puerta.



Fuente. Day, S. et al., 1999.

Las barreras permeables mantienen el material de tratamiento y se pueden colocar dentro de cualquier ranura en la tierra o enterradas en zonas donde hayan reactivos; la longitud de estos sistemas deben ser significativamente más largos que el ancho de la pluma para asegurar la captura completa de los contaminantes. Típicamente, la relación de la longitud del conducto a la longitud de la barrera es menos de seis.

El agua subterránea debe estar en contacto con una zona inferior impermeable, a fin de asegurar que el flujo de agua subterránea no pasare a través de o debajo del material de tratamiento. Si la pared de barrera reactiva no está cubierta, entonces debe ser construido mucho más profundo que la pluma de contaminantes para permitir captura. Al canalizar el agua, la velocidad del agua subterránea se incrementa de 2 a 5 veces la velocidad natural, dependiendo el embudo a la relación de puerta. Sin embargo, ya sea en una pared continua o de un embudo, el volumen requerido de material reactivo requerido es similar debido al flujo de masa similar de contaminación a través del sistema. El espesor requerido de la zona de tratamiento en la dirección de flujo puede variar desde unas pocas decenas de centímetros a varios metros, dependiendo de la carga contaminada y el tiempo de residencia.



Un tipo especial de embudo y compuerta empleada es un recipiente enterrado para contener el material reactivo extraíble denominado «casete». El objetivo de los sistemas de casete es permitir la remoción y reemplazo regular de mantenimiento reactivo del sistema sin excavar y retirar el recipiente. La mayoría de estos sistemas proporcionan un mayor control sobre el flujo de las aguas subterráneas por medio de válvulas, tuberías y cañerías. Dado que la entrada de energía de las bombas es contraria a los objetivos del sistema pasivo, toda la tubería debe funcionar por gravedad y por lo tanto está enterrado cerca de la parte inferior de la creación de un sistema más difícil y costoso. Por lo tanto, los sistemas que se basan en tuberías enterradas deben ser evitados. Actualmente, el coste de la mayoría de los sistemas de casete es muchas veces el coste de una pared de barrera simple. Los sistemas complejos de casete también pueden implicar el mantenimiento continuo y la reparación, haciendo que los costos cada vez sean mayores.

Sin embargo, la idea del uso de los sistemas de casete parece ser prometedora. Uno de los sistemas de casetes que pueden resultar rentables es la combinación de contención con el tratamiento BRP, en el cual se rodea el área contaminada con una pared de lechada, proporcionando de ese modo la contención del contaminante. Este tipo de sistema podría ser utilizado para equipar a muchos sitios. Por ejemplo, vertederos, los cierres de instalaciones, etc., que actualmente dependen de bombeo y tratamiento para manejar los volúmenes pequeños de infiltración y aguas subterráneas que se acumulan en el interior del muro de contención.

6.7 Consideraciones de construcción

Una variedad de métodos se puede utilizar para instalar BRP en el subsuelo. La elección de los métodos depende de la profundidad y el espesor de la zona de tratamiento, consideraciones de seguridad, las condiciones geológicas del sitio y los costos de construcción. Con el fin de controlar los costos, el método de construcción debe, en primer lugar, mantener las dimensiones de la instalación para



evitar desperdicio de materiales reactivos costosos; en segundo lugar, evitar la deshidratación y el tratamiento posterior de las aguas subterráneas contaminadas durante la construcción; por último, asegurar una construcción más rápida y sencilla. Posteriormente se debe determinar el material de barrera, la profundidad, grosor y longitud del contaminante, el costo más importante y los factores de construcción son las condiciones del suelo y la seguridad. Para instalaciones superficiales menos de 4 metros con un suelo estable casi cualquier método puede ser útil, pero para instalaciones mayores, o en suelos con problemas, el costo de construcción puede variar ampliamente dependiendo el método, tipo de suelo y las condiciones de las aguas subterráneas.

Otra de las técnicas es la excavación de una parte del suelo y su reemplazo con material granulado revestido de microorganismos, es un método efectivo de construir, es una barrera biológica en casos en los que la contaminación no ha penetrado la superficie a gran profundidad, es decir, menos de 5 m. Los medios adecuados para construir una barrera biológica *in situ* son los medios porosos, con grano grueso, con alta capacidad de adsorción del contaminante y la agregación microbiana, como el carbón activado y la arena mezclada con compost. Estos materiales bioportadores deben ser preenvueltos o envueltos en condiciones *in situ* con microorganismos apropiados para obtener la actividad biodegradadora requerida.

Las condiciones idóneas para la correcta aplicación de las barreras biológicas *in situ* son similares a las descritas para otras tecnologías de contención mediante muros de tratamiento:

- Suelo arenoso poroso, que facilite la movilidad del oxígeno y nutrientes.
- Contaminado hasta una profundidad de 15 metros como máximo.



- Con una corriente de agua subterránea abundante y constante.
- Con una contaminación no muy antigua, puesto que en suelos envejecidos la adsorción de los contaminantes a la matriz es muy alta y, por tanto, no se encuentran disponibles para los microorganismos.
- Nivel freático no muy profundo.

6.8 Ventajas e inconvenientes²

La ventaja de las BRP es que inmovilizan o transforman los contaminantes *in situ*. También tratan componentes recalcitrantes como solventes clorados, metales pesados, componentes radionucleares. Las BRP son diseñadas, en general, para operar pasivamente durante décadas.

Una de las ventajas más importantes, es la forma de operar, porque pueden hacerlo durante largos periodos, los costes de mantenimiento son mínimos y no hay oportunidad de fracasos mecánicos que causen el cierre del sistema. Otras ventajas de las BRP respecto a otros sistemas tradicionales son:

- Las paredes reactivas pueden degradar o inmovilizar los contaminantes *in-situ* sin necesidad de llevarlos a la superficie.
- No requieren de energía continua, porque un gradiente natural del flujo de las aguas subterráneas arrastra los contaminantes hacía la zona reactiva.

² Evaluación a escala laboratorio de procesos de eliminación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) en suelos y aguas subterráneas: Integración de procesos de adsorción. Informe sobre el seguimiento de aplicación y rendimiento de barreras reactivas permeables para la remediación de aguas. EPA.



- Solo requieren un emplazamiento o sustitución de microorganismos o precipitantes periódicamente.
- No necesita estructuras sobre tierra.

Para plumas que contienen una mezcla de contaminantes, las BRP pueden ser construidas en series. Estos contaminantes pueden ser eliminados simultáneamente del agua.

Los inconvenientes de las BRP provienen de su limitación de diseño y monitoreo. El diseño corriente usa un método tipo flujo-pistón para estimar el tiempo de residencia de las aguas residuales en la BRP y una ecuación de primer orden para predecir el nivel de reducción del contaminante.

Otro inconveniente es que los métodos de construcción para profundidades más grandes de 30 metros no son eficaces económicamente.

Por último, otro inconveniente son los materiales reactivos usados, los cuales van perdiendo propiedades con el tiempo, de forma tal que van a requerir el reemplazo del medio reactivo, igualmente la permeabilidad puede disminuirse debido a la precipitación de sales metálicas y la actividad biológica o la precipitación química pueden limitar la permeabilidad de la pared de tratamiento pasivo.

6.9 Evaluación de los costos

Hasta la fecha, más de 40 barreras reactivas permeables (BRP) se han instalado en el campo para restaurar la calidad del agua subterránea, por esta razón las BRP están dentro de la lista de las tecnologías para la remediación. Con esta decisión se produce la necesidad de desarrollar medios efectivos para medir el costo de comparación del rendimiento de la técnica de las barreras reactivas permeables, con respecto a las otras tecnologías, como es el caso de la técnica de bombeo y tratamiento, la cual es la más utilizada.



Para calcular los costos de las BRP estos se dividen en cuatro categorías generales: 1) la caracterización del sitio; 2) el diseño; 3) la construcción; 4) la operación y mantenimiento. En relación con los costos de la tecnología de bombeo y tratamiento, no se dividen en categorías más allá del costo total y el costo anual de operación y mantenimiento.

La información de los costos que se menciona a continuación, fueron tomados del informe realizado por la EPA (2002): *Análisis económico de aplicación de barreras permeables reactivas para rehabilitación del agua subterránea contaminada*, en la cual cita:

Se han publicado informes que parecen indicar que los sistemas BRP no son más eficaces para reducir los costos de operación y mantenimiento, en una base por unidad de tratamiento, que los sistemas de bombeo y tratamiento. La comparación de las tecnologías fue basada en el volumen de agua tratada por unidad de tiempo.

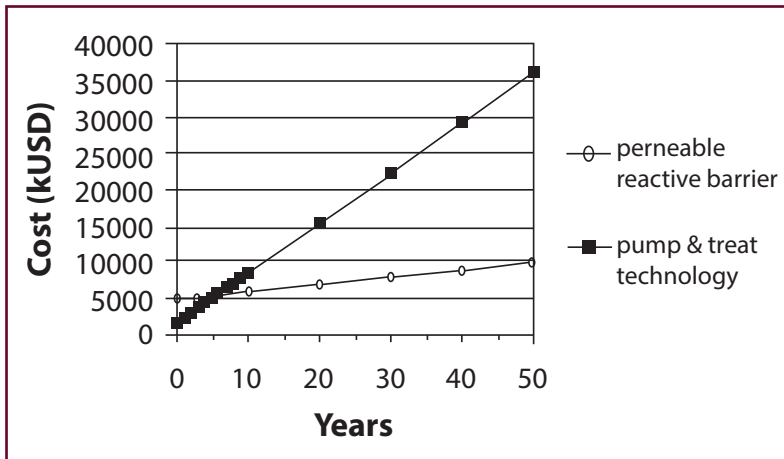
Se informa que un sistema de bombeo y operación cuesta aproximadamente \$500.000 dólares en relación con la operación y mantenimiento por año. Compararlo con un BRP que cuesta \$100.000 dólares en relación con la operación y mantenimiento por año. El sistema de bombeo y operación trata un 1 millón de galones por año (GPY), mientras que el BRP trata solo 100.000 GPY. Con base a lo anterior, el sistema de bombeo y operación solo costaría \$500/1.000 litros, mientras que el BRP costaría \$1.000/1.000 galones, o el doble del costo. Sin embargo, el BRP captura toda el agua que necesita tratar, mientras que el exceso de agua tratada por el sistema de bombeo y operación no es tratada totalmente. Por lo tanto, el valor del sistema de bombeo y operación debe calcularse utilizando el mismo volumen de agua que es tratada por el BRP, es decir, 100.000 galones por año. Esto resulta que los galones tratados por el sistema de bombeo y operación tiene un coste de \$5.000 dólares de operación



y mantenimiento por 1.000 galones contaminados de agua, un factor de cinco veces más caro que el BRP.

Lo anterior es representado en la siguiente figura.

Figura 6. Comparativa de costos BRP frente al bombeo y tratamiento.



Fuente. Lozano y Rovira, 2003.

El costo de instalación de las BRP depende de los factores de características y propiedades de los contaminantes, diseño del sistema y factores de operación, control de la fuente de contaminación, factores hidrogeológicos y extensión de la contaminación. A continuación se describe cada uno de estos factores, tomados de la evaluación a escala del laboratorio de procesos de eliminación de hidrocarburos aromáticos Policíclicos (PAH) en suelos y aguas subterráneas: integración de procesos de adsorción.

a. Características y propiedades de los contaminantes

Las propiedades de los contaminantes definen la facilidad de eliminación de estos del agua subterránea, y los pasos requeridos para tratarla. El tipo de contaminante determina tanto el costo de capital como el coste anual de operación.



b. Diseño del sistema y factores de operación

Teniendo en cuenta el tipo de tecnología de tratamiento y la adecuación del sistema diseñado para remediar el lugar, así como esfuerzos de optimización del sistema, la cantidad y tipo de monitoreo.

c. Extensión de la contaminación

El área y la profundidad de la pluma y la concentración de los contaminantes en esta afectan al coste de remediación. Una contaminación limitada en área y profundidad resulta más barata de remediar que una con la misma masa de contaminante, pero esparcida en un área mayor. Esta extensión afecta al tamaño del sistema de extracción y tratamiento y la complejidad del sistema.

La siguiente tabla representa los costos estimados –por unidad común de medida– para aplicar la tecnología de BRP o pared de tratamiento pasivo, en sitios de diferentes tamaños y complejidad.

Tabla 2. Costos por unidad de las BRP.

GW TECHNOLOGY	PASSIVE-REACTIVE TREATMENT WALLS			
	Scenario A	Scenario B	Scenario C	Scenario D
	Small Site		Large Site	
	Easy	Difficult	Easy	Difficult
Cost per Cubic Foot (of treatment Wall)	\$36	\$48	\$43	\$73
Cost per Cubic Meter (of treatment Wall)	\$1.267	\$1.681	\$1.503	\$2.580
Cost per Cubic Yard (of treatment Wall)	\$963	\$1.277	\$1.142	\$1.961
GW Treated (CY)	680,25	680,25	17,006,250	17,006,250
Cost per Cubic Yard (of GW Treated)	\$0.16	\$0.21	\$0.08	\$0.13

Fuente. De la Rosa-Pérez et al., 2007.



6.10 Conclusiones

- De acuerdo a la investigación, la mayoría de las instalaciones de barreras reactivas permeables han sido diseñadas e implementadas basándose en los resultados de estudios arrojados en laboratorio, con el fin de determinar el material reactivo y la cinética de eliminación del contaminante.
- Para llevar a cabo una adecuada selección del tipo de reactivo a utilizar en las BRP, es necesario en primer lugar efectuar un diagnóstico del tipo de contaminante, dimensiones de la contaminación y el uso futuro del lugar que fue contaminado.
- Si bien es cierto que el costo de las BRP depende de las características y propiedades de los contaminantes, diseño del sistema y factores de operación, control de la fuente de contaminación, factores hidrogeológicos y extensión de la contaminación, esto no afecta a que esta sea la técnica de remediación más económica con relación a las demás técnicas *in situ* aplicadas para la remediación de suelos contaminados.
- El medio más utilizado en la implementación de las BRP es el carbón activado, en relación con otros medios, como son los microorganismos y la electrorremediación, estas técnicas se encuentran todavía en fase probatoria.
- Actualmente en Colombia la técnica de las BRP se encuentra en proceso de investigación, no obstante esta ha sido aplicada experimentalmente en estaciones de servicio arrojando como resultados una eliminación eficiente del contaminante.
- A medida que el número de aplicaciones de campo de las BRP ha crecido, también lo ha hecho el número de técnicas de construcción disponibles comercialmente adaptadas a la instalación BRP.



◆ Referencias ◆

- Archibold Lasso, V. U. (2010). *Evaluación de tres materiales a escala de laboratorio para ser utilizados como material de relleno en barreras reactivas permeables* (Tesis de doctorado), Universidad de Concepción, Chile.
- Cobas, M. (2013). Development of permeable reactive biobarrier for the removal of PAHs by trichoderma lomgibrachiatum. *Chemosphere*, 91 (5), 711-716.
- Chi-Hui Yeh, Chi-Wen Lin, Chih-Hung Wu (2010). A permeable reactive barrier for the bioremediation of BTEX-contaminated groundwater: Microbial community distribution and removal efficiencies, *Journal of Hazardous Materials*, 178, 74-80, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.01.045>
- Day, S.; O'Hannesin, S. & Marsden, L. (1999). Geotechnical techniques for the construction of reactive barriers, *Journal of Hazardous Materials*, 67(3), 285-297. [https://doi.org/10.1016/S0304-3894\(99\)00044-8](https://doi.org/10.1016/S0304-3894(99)00044-8).
- De la Rosa-Pérez, D. A., Teutli-León, M., Margarita, M., & Ramírez-Islas, M. E. (2007). Electroremediación de suelos contaminados, una revisión técnica para su aplicación en campo. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 23(3), 129-138.
- Díaz, A., Gorostiza, I., Susaeta, I., García, I., Zárate, G., Martín, I., & Muiña, B. (1999). Recuperación de suelos contaminados mediante biobarreras. *Ingeniería Química*, 31(358), 157-163.
- EPA. (2002). *Economic analysis of the implementation of permeable reactive barriers for remediation of contaminated*, EPA/600/R-02/034/June.
- Lozano, A., y Rovira, T. (2004). *Evaluación a escala laboratorio de procesos de eliminación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) en suelos y aguas subterráneas: integración de procesos de adsorción* (Tesis de maestría). Universitat Politècnica de Catalunya, Barcelona, España.
- Scherer, M.; Ritcher, S.; Valentine, R. & Alvarez, P. (2010). Chemistry and Microbiology of Permeable Reactive Barriers for In Situ Groundwater Clean up. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 30(3), 364-366. <https://doi.org/10.1080/10643380091184219>



- Purswani, J. (2011). *Desarrollo y estudio biológico de un sistema de bajo costo para el tratamiento de aguas subterráneas contaminadas con compuestos oxigenados de gasolina*. (Tesis de doctorado). Universidad de Granada.
- Reeter, C. (2002). Advances in permeable reactive barrier technologies. *Tech Data Sheet Naval Facilities Engineering Command Washington, D.C.*
- Cardona, S. (2006). Sistemas de tratamiento pasivo de paredes para tratar aguas subterráneas contaminadas. II Congreso Colombiano de Hidrogeología. *Universidad Industrial de Santander UIS*.
- Thiruvengkatachari, R.; Vigneswaran, S. & Naidu, R. (2008). Permeable reactive barrier for groundwater remediation. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 14(2), 145-156. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2007.10.001>.





◆— Capítulo 7 —◆

Electrorremediación de suelos contaminados con nitratos, fosfatos y arseniatos³

Luis Felipe Castañeda García
José Alejandro Martínez S.

Introducción

La utilización extensiva de abonos nitrogenados, fosfatados y el uso de arsénico inorgánico como pesticida han contribuido a la dispersión de estos compuestos en la naturaleza. Los nitratos y fosfatos, pese a ser nutrientes necesarios para el desarrollo vegetal y biológico, se convierten en un problema cuando elevadas concentraciones alcanzan los cuerpos de agua, pudiendo generar el fenómeno de eutrofización y problemas de salud si han llegado al agua que se utiliza para el consumo humano. El arsénico es un elemento con propiedades altamente tóxicas y cancerígenas, su presencia en el suelo y en aguas subterráneas puede convertirse en una amenaza significativa para los humanos y los sistemas ecológicos.

En este trabajo se estudió la electroremediación, que tiene como principio la eliminación de contaminantes al aplicar una corriente continua de baja intensidad por medio de electrodos a suelos de poca permeabilidad, como técnica de tratamiento de suelos contaminados con fosfatos, nitratos y arseniatos. Cada contaminante se analizó de manera individual y las pruebas se

³ Este capítulo es una compilación y edición del trabajo de maestría *Electrorremediación de suelos contaminados con nitratos, fosfatos y arseniatos*, realizado para la UCLM por Luis Felipe Castañeda García (2010).



realizaron a tres diferencias de potencial (0,5 V cm⁻¹, 1,0 V cm⁻¹ y 1,5 V cm⁻¹), con el objetivo de conocer la relación entre la eficiencia en la eliminación y el potencial aplicado.

La importancia de este tipo de investigaciones radica en la necesidad del desarrollo continuo de técnicas eficientes y de bajo coste para la remediación de suelos contaminados. Al ser la electrorremediación un proceso que se puede llevar a cabo de manera *in situ*, la minimización del movimiento de suelos representa una disminución significativa en el coste global de la descontaminación. Las tres especies estudiadas en el presente caso son de especial interés dadas las consecuencias que implican su presencia en altas cantidades sobre los ecosistemas y la salud humana.

7.1 Contaminación del suelo por nitratos, fosfatos y arseniatos

Debido al ciclo del nitrógeno, la presencia de nitratos (NO₃⁻) en el ambiente se da de manera natural. Sin embargo, las actividades humanas modifican sus concentraciones y pueden hacer que estos compuestos sean potencialmente peligrosos para la salud humana, animal y vegetal.

Los nitratos en el suelo y en las aguas subterráneas se originan de la descomposición natural por microorganismos de materiales nitrogenados orgánicos, como las proteínas de las plantas, animales y excretas de humanos y de animales. Las fuentes antropogénicas más importantes son el uso de fertilizantes nitrogenados, la disposición de excretas y la disposición de desechos municipales e industriales. El riesgo para la salud debido a los nitratos y nitritos es función de la exposición, la existencia de condiciones favorables para la reducción de nitratos a nitritos y algunos factores inherentes al individuo.



El problema ambiental más importante a los nitratos es su acumulación en el subsuelo, pudiendo incorporarse a las aguas subterráneas por lixiviación o bien ser arrastrados hacia las aguas superficiales. En estos medios acuáticos, los nitratos también actúan de fertilizantes de la vegetación acuática, aunque pueden originar eutrofización del medio si se concentran demasiado.

Por otra parte, el ciclo del fósforo (P) en el suelo es un sistema dinámico y complejo que involucra la acumulación del elemento en la biomasa microbiana, materia orgánica y formas inorgánicas. El P en el suelo puede ser fraccionado en compartimentos que varían en su disponibilidad para las plantas y microorganismos. Una fracción pequeña se encuentra en forma soluble, la cual está en equilibrio con la fracción lábil que comprende el P orgánico fácilmente mineralizable y los fosfatos débilmente adsorbidos a las arcillas coloidales.

La mayor parte está en formas insolubles o fijadas, principalmente como minerales primarios fosfatados, humus, fosfatos insolubles de Ca, Fe y Al, y fosfatos fijados por los óxidos y minerales silicatados (Choi *et al.*, 2010).

Los problemas ambientales más importantes son derivados del uso de tensoactivos y fosfatos en la fabricación de los detergentes y en la utilización de abonos fosfatados, estos últimos son mucho menos móviles que los abonos nitrogenados, por lo que el riesgo de que pasen a las aguas freáticas es mínimo. Este tipo de abonos solo pasa a las aguas superficiales mediante arrastre desde la superficie del suelo por escorrentía, cuando se producen fuertes lluvias. El riesgo que conlleva su paso a las aguas es el de la eutrofización. En la salud, los fosfatos pueden producir desordenes digestivos, daño en los riñones y descalcificación en los niños.



Generalmente aquellas arcillas que poseen gran capacidad de adsorción de aniones –debido a superficies cargadas positivamente–, tienen una gran afinidad por los iones fosfato. Por ejemplo, una fijación extremadamente alta es característica de las arcillas alófanas, que se encuentran típicamente en los andisoles y otros suelos asociados con cenizas volcánicas. Los óxidos de hierro y aluminio, tales como la gibsita y la goetita, también pueden atraer y retener fuertemente el fósforo. Entre las arcillas silicatadas, la caolinita tiene la mayor capacidad de fijación de fósforo (Palacios *et al.*, 1999).

El arsénico es un elemento que se distribuye extensamente en la corteza de la tierra. Ocupa la posición vigésima entre los elementos en abundancia en la corteza terrestre y es un componente importante de no más poco que 245 especies minerales. A pesar de su presencia universal, el arsénico se ha reconocido como tóxico desde épocas antiguas. Incluso a concentraciones bajas, la exposición a largo plazo de arsénico inorgánico puede llevar a una serie de enfermedades, incluyendo tumores de piel, la disfunción del hígado, la gangrena y el defecto de la audición (Yang *et al.*, 2007). Este elemento químico se encuentra presente en el subsuelo formando parte de muchos compuestos –sobre todo sulfuros metálicos–, entre los que cabe destacar la arsenopirita.

El arsénico ha sido ampliamente utilizado en medicina, cosmética, en la fabricación de pinturas, componentes electrónicos e incluso en la construcción de dispositivos láser. Todas estas aplicaciones han contribuido en gran medida a la dispersión de este contaminante en la naturaleza, pero probablemente la principal haya sido la utilización extensiva de varias formas inorgánicas de As como pesticidas en agricultura. Esta utilización se extendió desde el siglo XIX hasta el último tercio del siglo XX, llegándose incluso a observar respuestas fitotóxicas de algunos cultivos (Álvarez *et al.*, 2003).



7.2 Generalidades de la electroremediación de suelos contaminados

La electroremediación es una tecnología para restaurar suelos contaminados que se basa en la generación de un campo eléctrico, a partir de imponer corriente directa de baja intensidad. Para la aplicación de una diferencia de potencial, o una corriente directa, se requiere el empleo de electrodos –ánodo y cátodo–, los cuales son colocados en pozos excavados en el suelo, generalmente estos se humedecen con un electrolito para mejorar las condiciones de conducción del campo eléctrico. La acción del electrolito permite transportar el contaminante hacia los pozos donde será extraído. Al contrario del arrastre de fluidos, esta técnica permite establecer una migración dirigida, la cual evita la dispersión del contaminante fuera de la zona de tratamiento (De la Rosa et al., 2007).

Los mecanismos principales por los cuales el campo eléctrico conduce los contaminantes hacia los electrodos son: electromigración, electroósmosis y electroforesis. Siendo los dos primeros los que ejercen la mayor influencia en el transporte del contaminante. A continuación se describe cada uno:

- **Electromigración:** es un fenómeno en el cual los iones en disolución y los coloides que tienen carga eléctrica se mueven a través del campo eléctrico con una velocidad que es proporcional al producto de la fuerza del campo eléctrico y la movilidad del ion o partícula. Si el contaminante es un compuesto inorgánico y la fuerza iónica es grande, entonces los fenómenos de transporte son conducidos principalmente por este mecanismo (De la Rosa et al., 2007).
- **Electro-ósmosis:** es un fenómeno de transporte en el cual el líquido saturante junto con las sustancias que se suspenden en él –coloides con y sin carga eléctrica–, fluyen hacia uno de los electrodos –normalmente hacia el cátodo–. La tasa de este flujo es proporcional al producto de la fuerza del campo eléctrico aplicado y al potencial de la interface sólido-líquido.



Casagrande (1939) desarrolló una teoría macroscópica basada en la medida experimental del flujo electro-osmótico para diversos medios porosos, esta es análoga con la teoría de Darcy de la conductividad hidráulica. En esta teoría, Casagrande mostró que existe una relación lineal entre la velocidad electro osmótica y el gradiente de potencial eléctrico aplicado (Yeung, 1997).

- **Electroforesis:** este mecanismo se observa cuando hay partículas o coloides con carga eléctrica, de forma que los contaminantes ligados a este material particulado pueden ser transportados por el campo eléctrico (Virkytyte et al., 2002). En principio se espera que la aplicación de la electrorremediación en un sitio contaminado con metales sea sencilla debido al rápido transporte por electromigración, y a que no es afectada por las variaciones de potencial. En suelos contaminados con metales, la electromigración tiene un mayor impacto que la electro-ósmosis, para que un metal sea transportado por el fenómeno de electromigración debe estar en disolución y tener una carga eléctrica, la cual no debe de cambiar mientras migra hacia uno de los electrodos (De la Rosa et al., 2007).
- **Electrólisis:** incluye los procesos reactivos que ocurren sobre la superficie de los ánodos y cátodos que se han posicionado en el suelo, bien directamente o bien en el seno de una disolución de electrolito en contacto con el suelo. Los más importantes son la oxidación del agua sobre la superficie anódica y la reducción del agua o la electrodeposición de metales sobre la catódica.
- **Calentamiento eléctrico:** tiene como consecuencia una elevación de la temperatura en el suelo, más importante en las proximidades de los electrodos, y que es consecuencia de las caídas óhmicas generadas por las elevadas resistencias iónicas –baja conductividad iónica– del suelo. Este calentamiento originado por el efecto Joule-Thompson



es proporcional a la intensidad de corriente que circula externamente al suelo (entre ánodos y cátodos), provoca la desorción térmica de contaminantes orgánicos volátiles (Cañizares *et al.*, 2007).

7.2.1. Factores de la electroremediación de suelos contaminados.

La electroremediación, como otros procesos de remediación de suelos, tiene factores que afectan el rendimiento del proceso; entre ellos se pueden encontrar:

- a) **pH:** Los cambios de pH promueven reacciones de los metales con otras sustancias que se encuentran en el suelo de forma natural, este factor regula la movilidad de los contaminantes en el proceso de electroremediación (Acar y Alshawabken, 1993). La hidrólisis del agua produce una disociación que genera iones hidrógeno (H^+) en el ánodo e iones hidroxilo (OH^-) en el cátodo, liberando oxígeno e hidrógeno respectivamente.

La disociación genera un pH ácido cerca del ánodo y alcalino cerca del cátodo. Debido a la mayor movilidad del ion H^+ sobre el ion OH^- , el frente ácido viaja con mayor velocidad y por lo tanto el flujo electro-osmótico se dirige principalmente hacia el cátodo. En el caso de existir metales adsorbidos, estos son solubilizados por el frente ácido y transportados hacia el cátodo. Cuando no se aplica lavado en los pozos, el frente alcalino penetrará a una velocidad menor a la del frente ácido y cuando ambos frentes se encuentran se genera una zona en donde el pH cambia bruscamente –zona de transición–, dando como resultado una frontera con un marcado cambio de pH –de 2 a 13 en menos de 0,5 cm–, en esta zona los contaminantes se acumulan debido a que frecuentemente precipitan como hidróxidos metálicos (Hamed *et al.*, 1991). Después de un tiempo, se observa que el suelo se acidifica, excepto en la región cercana al cátodo,



existiendo algunas excepciones cuando: (i) el suelo es muy alcalino; (ii) cuando existen sustancias amortiguadoras como fosfatos y carbonatos; (iii) cuando los electrodos están hechos de materiales reactivos (electrodos de hierro).

Una eliminación exitosa dependerá de mantener el contaminante inorgánico en disolución evitando los cambios súbitos de pH, en el caso de algunos contaminantes orgánicos –como ácidos y fenoles, entre otros– las condiciones óptimas de eliminación serán aquellas en las que el pH logra desplazar el equilibrio de disociación de la sustancia hacia la forma disociada (De la Rosa et al., 2007). La extensión de los procesos electrolíticos es directamente proporcional a la intensidad de corriente que circula entre ánodos y cátodos en una celda electroquímica, pudiendo evaluarse la velocidad global de oxidación en el ánodo o la de reducción en el cátodo por medio de la expresión (4), donde I es la intensidad de corriente que circula entre el ánodo y el cátodo a través de un circuito externo, n es el número de electrones intercambiados en la reacción electródica, y F es la constante de Faraday (96500 c/mol) (Cañizares et al., 2007).

- b) **Contenido de agua:** el movimiento del electrolito por electroósmosis es función del contenido de agua; por lo tanto, el grado de saturación del suelo es un factor indispensable para llevar a cabo el proceso electrocinético. Una distribución irregular de humedad en el suelo contaminado puede observarse durante la electrorremediación, ya que el electrolito se mueve hacia uno de los electrodos, incrementando la humedad en este y disminuyéndola en el electrodo contrario. Dicha disminución está asociada con el desarrollo de poros de presión negativos, variaciones en el pH y por lo tanto en la fuerza del campo eléctrico, lo cual resulta en tasas de flujo electro-osmótico. Por tanto, es necesario mantener una humedad adecuada agregando electrolito a la misma tasa electro-osmótica a la que es drenado del sistema. Un contenido bajo de agua



puede generar la sequedad del suelo, debido a efectos de calentamiento o al desarrollo de algunas reacciones químicas exotérmicas (De la Rosa et al., 2007).

Para que el proceso funcione, el contenido de agua del suelo debe estar sobre un valor mínimo. Este contenido de agua mínimo se puede estimar del contenido de agua residual de un suelo, también llamado «agua inmóvil». Estudios indican que el contenido de agua óptimo del suelo para la electromigración es menor que el de saturación. Este valor puede estar entre 10 y el 20 % (ITRC, 1997).

- c) **Conductividad eléctrica:** la conductividad eléctrica es diferente para cada tipo de suelo y está definida como la capacidad de un medio o espacio físico de permitir el paso de la corriente eléctrica. Para conocerla, es necesario ponerlo en suspensión acuosa y medirla con un conductímetro. La medida obtenida (siemens) es el inverso de la resistencia a la conducción por centímetro de material, la cual tiene una relación empírica con la concentración de iones capaces de conducir la electricidad en disolución acuosa ($1\mu\text{S}/\text{cm} \approx 0,52$ a $0,64$ ppm de sales). En electroremediación, los cambios de pH del suelo modifican la conductividad global del medio, por lo que se forman perfiles de voltaje. En algunos experimentos con suelos industriales contaminados, la conductividad del suelo se incrementa con el tiempo, debido a la penetración de los frentes ácido y alcalino, así como por la solubilización de las especies iónicas, ya sea como resultado de los cambios de pH o por un aumento de temperatura (Acar y Alshwabken, 1996).
- d) **Potencial zeta (ζ):** es la medida que determina la carga de un coloide (volts.), en función de la superficie cargada y la naturaleza y composición del medio en el que está suspendido, las sales iónicas que pueden solubilizarse totalmente en medios acuosos no pueden ser clasificadas como coloides, ya que se encuentran en la fase continua y por



lo tanto su ζ es muy pequeño. En la mayoría de los suelos el potencial ζ es negativo debido a que la superficie del suelo generalmente tiene carga negativa. Con el incremento de la acidez ζ disminuye su negatividad. Estos cambios afectan la velocidad y dirección del flujo electro-osmótico, ya que se ha observado que la tasa de flujo decrece cuando el pH del electrolito se acerca a la neutralidad o se incrementa la alcalinidad y cambia de dirección hacia el ánodo cuando la acidez es muy baja (De la Rosa et al., 2007).

- e) **Naturaleza y química del suelo:** la electroremediación se ha probado exitosamente en ensayos de laboratorio con suelos de granulometría muy fina –limos y arcillas– y baja permeabilidad. También puede ser aplicada en suelos arenosos, siempre y cuando exista un horizonte impermeable debajo del suelo contaminado, el cual impedirá que el electrolito drene a estratos más profundos (Virkytyte et al., 2002). En la cinética de eliminación del contaminante influyen las siguientes características del suelo: la capacidad de adsorción, intercambio iónico y de amortiguamiento del pH; en el caso de suelos arcillosos y limosos, estos ofrecen mayor superficie de contacto, por lo que los metales y sustancias iónicas –sulfato, nitrato, amonio– pueden ser adsorbidos con mayor facilidad en sus superficies, lo cual dificulta su eliminación (Ravera et al., 2006).
- f) **Naturaleza del contaminante:** la especie química de los contaminantes es un factor que influye fuertemente sobre la eficiencia de la técnica. Los contaminantes pueden existir como sólidos precipitados, solutos disueltos, adsorbidos a partículas del suelo o sorbidos en materia orgánica. En la actualidad las especies químicas son evaluadas por extracción secuencial o lixiviación selectiva y se ha demostrado que las formas intercambiables migran con mayor rapidez que las absorbidas en la materia orgánica o en la fracción residual (Reddy y Chinthamreddy, 2001).



g) **Naturaleza y arreglo de los electrodos:** con la finalidad de evitar introducir contaminantes en el sistema para la fabricación de los electrodos, generalmente se eligen materiales inertes como titanio con cubierta electrocatalítica de varios óxidos. No obstante, también pueden elegirse materiales reactivos como el hierro o el grafito (Haran et al. 1996). La estructura de los electrodos debe ser porosa para establecer un buen contacto con los electrolitos y para poder liberar los gases producidos por la electrólisis del agua. El tamaño, forma y arreglo de los electrodos, así como la distancia entre ellos, afectan las tasas de eliminación de contaminantes. La principal limitación en la elección del tipo de electrodos es el coste, seguido de la facilidad de fabricación y su robustez, sin embargo, los estudios previos a la remediación a gran escala son determinantes en la selección y viabilidad del tipo de material a utilizar.

7.2.2. Costes asociados a la electroremediación de suelos.

El coste de cada proyecto de descontaminación depende del tipo y concentración del contaminante, el área contaminada, la profundidad y el tipo de suelo. Estos son factores que no se controlan. Los factores controlables son el coste de los electrodos, buen diseño de las estructuras, excavación, instalación, operación y control del proceso (Lageman et al., 2004).

La construcción de los electrodos representa un 40 % del coste total del proceso de electroremediación, el porcentaje restante se puede distribuir de la siguiente manera (Ho et al., 1997):

- 10-15 % para electricidad.
- 17 % mano de obra.
- 17 % otros materiales.
- Hasta 16 % para licencias y otros costes fijos.



La energía total consumida es directamente proporcional al tiempo requerido para que la migración alcance el nivel de la limpieza deseado. Los estudios en el campo y en plantas pilotos indican que el consumo de energía en la extracción de metales pesados de suelos puede ser aproximadamente 500 kilovatiohora/m³ o más en un espaciamiento del electrodo de 1,0-1,5 metros (USAEC, 1997).

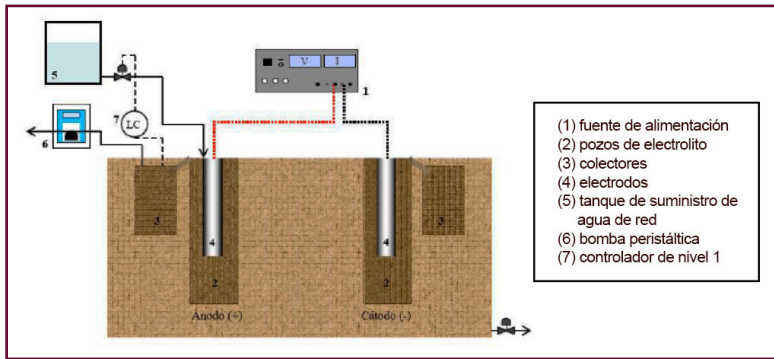
Las eficiencias alcanzadas en sistemas monodimensionales en laboratorio, probados con suelos contaminados intencionalmente con un solo elemento, son cercanas al 100 %. Sin embargo, de manera general las pruebas monodimensionales realizadas con muestras de campo, en las cuales existe una gran diversidad de elementos, presentan problemas para alcanzar eficiencias superiores al 30 % (Ravera *et al.*, 2006).

7.3 Electrorremediación de suelos contaminados con nitratos

En las pruebas realizadas en laboratorio se usó un esquema como el que se muestra en la figura 1, con electrodos de grafito de sección rectangular de 7 cm de largo y 1 cm de ancho marca POCOFOAM® que se ubicaron en pozos semipermeables de sección circular con un volumen de trabajo de 63 cm³, distanciados 24 cm de sus centros y con agua como electrolito.

Para simular un episodio de contaminación por nitratos se preparó una disolución con 150 ppm de NO₃⁻ a partir de nitrato de sodio (NaNO₃). El agua utilizada se tomó de la red, con conductividad de 400 µS/cm y una concentración de nitratos de 2,5 ppm para las pruebas de 0,5 V cm⁻¹ y 1,5 V cm⁻¹ y 6,07 ppm para la experimentación de 1,0 V cm⁻¹.

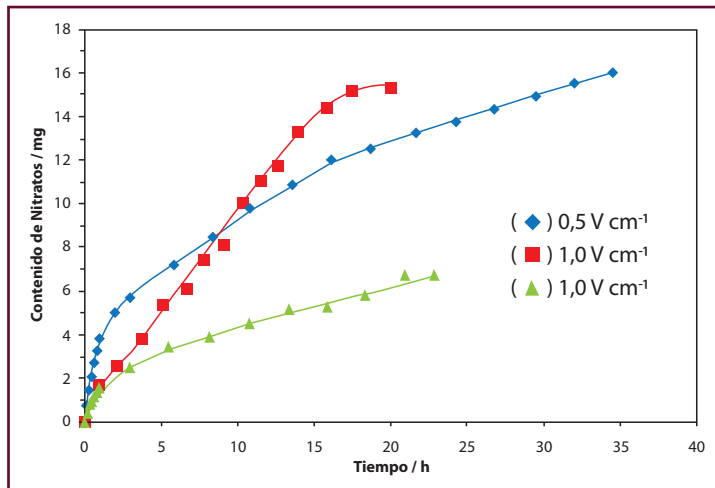
Figura 1. Esquema de instalación experimental usado.



Fuente. Adaptado de Castañeda, 2010.

La evolución en el tiempo de los miligramos de nitratos extraídos para cada diferencia de potencial aplicada se representa en la figura 2.

Figura 2. Evolución de los miligramos de nitratos extraídos al aplicar una diferencia de potencial.



Fuente. Adaptado de Castañeda, 2010.

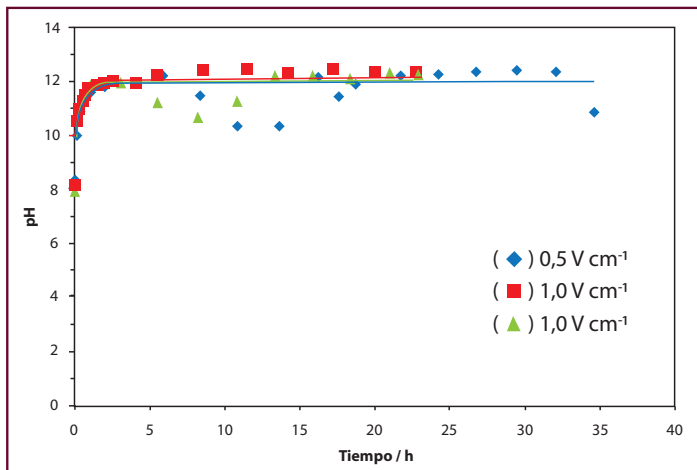
El total de nitratos introducidos inicialmente en el pozo del cátodo se extrajeron en 20 horas usando la diferencia de potencial de 1,0 V cm⁻¹. Para la menor diferencia de potencial aplicada (0,5 V cm⁻¹) la totalidad de nitratos se extrajo a las 35 horas de prueba,

en tanto que para la mayor diferencia de potencial ($1,5 \text{ V cm}^{-1}$) el tiempo de experimentación no fue suficiente para la extracción total de estos iones.

Tomando como referencia un tiempo de 20 horas de ensayo y la concentración inicial de 15 mg de nitratos (150 ppm) se obtuvieron eficiencias de eliminación de 87% para $0,5 \text{ V cm}^{-1}$, 100% para $1,0 \text{ V cm}^{-1}$ y 45% para $1,5 \text{ V cm}^{-1}$. Las dos diferencias de potencial aplicadas que presentaron mayores porcentajes de eliminación (87% para $0,5 \text{ V cm}^{-1}$ y 100% para $1,0 \text{ V cm}^{-1}$) coinciden con el rango recomendado para la electroremediación de suelos que es entre $0,1$ y $1,0 \text{ V cm}^{-1}$ (Cañizares *et al.*, 2007).

En la figura 3 se observa la evolución del pH en el pozo del cátodo para cada una de las diferencias de potencial aplicadas, en los tres ensayos el valor del pH ascendió rápidamente durante el periodo inicial, las caídas de pH en las curvas correspondientes a $0,5$ y $1,5 \text{ V cm}^{-1}$ se deben a la llegada del flujo electro-osmótico y el frente ácido al pozo del cátodo.

Figura 3. Evolución del pH en el pozo del cátodo al aplicar una diferencia de potencial.



Fuente. Adaptado de Castañeda, 2010.



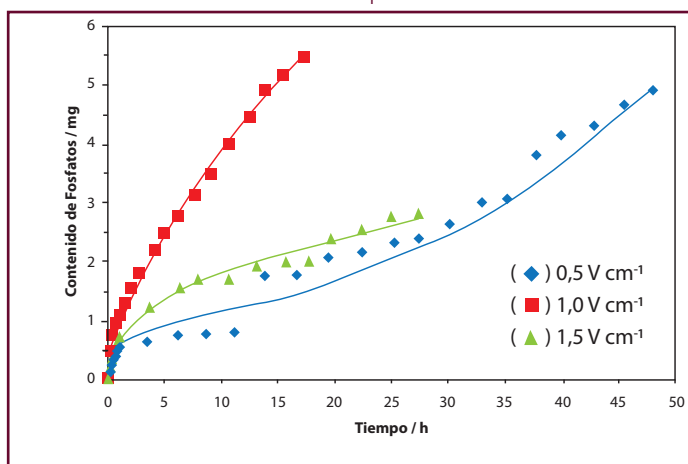
Como se mencionó anteriormente, el pH afecta al potencial zeta del suelo, valores muy ácidos en el ánodo como los obtenidos en el experimento de $1,5 \text{ V cm}^{-1}$, pueden cambiar la carga iónica de los coloides de la caolinita de negativo a positivo, favoreciendo la retención de los aniones de nitrato, y por tanto disminuyendo la eficiencia de la electroremediación por adsorción en la superficie de las partículas de caolinita.

7.4 Electroremediación de suelos contaminados con fosfatos

Se estudió el fenómeno de electroremediación para una concentración inicial de fosfatos (55 ppm, a partir de fosfato de sodio monohidratado $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y agua de red con $400 \mu\text{S cm}^{-1}$ y 6,04 ppm de fosfatos) aplicando tres diferencias de potencial ($0,5 \text{ V cm}^{-1}$, $1,0 \text{ V cm}^{-1}$ y $1,5 \text{ V cm}^{-1}$). Dada la carga negativa del ion fosfato (PO_4^{3-}), la concentración se introdujo en el pozo del cátodo (-) para que electromigrara hacia el pozo del ánodo (+).

En la figura 4 se representa la evolución de los miligramos de iones fosfatos extraídos en el pozo del cátodo para las tres diferencias de potencial estudiadas.

Figura 4. Evolución de los miligramos de fosfatos extraídos al aplicar una diferencia de potencial.



Fuente. Adaptado de Castañeda, 2010.



La extracción del total de fosfatos introducidos se dio de manera más rápida para la diferencia de potencial de $1,0 \text{ V cm}^{-1}$ (17,5 horas); para la menor diferencia de potencial aplicada ($0,5 \text{ V cm}^{-1}$) la totalidad de fosfatos se extrajo en 48 horas de experimentación y para la mayor diferencia de potencial ($1,5 \text{ V cm}^{-1}$) el tiempo de experimentación no fue suficiente para la extracción total de estos iones. Tomando como referencia un tiempo de 17,5 horas de ensayo y la cantidad inicial de 5,5 mg de fosfatos (55 ppm), las eficiencias de eliminación obtenidas son de 32 % para $0,5 \text{ V cm}^{-1}$, 100 % para $1,0 \text{ V cm}^{-1}$ y 32 % para $1,5 \text{ V cm}^{-1}$. Al igual que en la electrorremediación de nitratos, las diferencias de potencial aplicadas en los dos ensayos en los cuales los fosfatos fueron extraídos completamente ($0,5$ y $1,0 \text{ V cm}^{-1}$) coinciden con el rango recomendado para la electrorremediación de suelos que es entre $0,1$ y $1,0 \text{ V cm}^{-1}$.

En el colector del ánodo los valores más ácidos de pH se presentaron al aplicar la máxima diferencia de potencial ($1,5 \text{ V cm}^{-1}$) alcanzando en la primera hora de experimentación mínimos de 2,8. Esta acidez se mantuvo hasta después de las 15 horas, donde el pH ascendió para finalizar la experimentación en un valor de 5,24. Igualmente para $0,5 \text{ V cm}^{-1}$ un descenso rápido del pH ocurrió en la hora inicial, luego fue aumentando gradualmente hasta las 10 horas de ensayo desde donde se mantuvo en valores entre 5 y 6 hasta el final de la prueba.

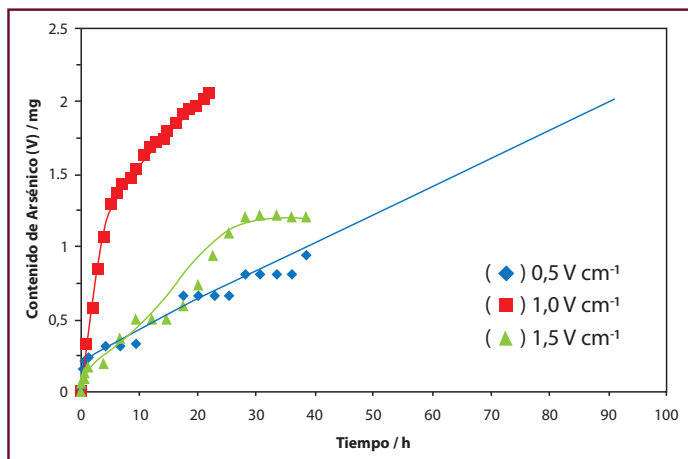
El pH afecta el potencial zeta del suelo, valores muy ácidos como los obtenidos en el experimento de $1,5 \text{ V cm}^{-1}$ pueden cambiar la carga iónica de los coloides de la caolinita de negativo a positivo, favoreciendo la retención de los aniones fosfato y por tanto disminuyendo la eficiencia de la electrorremediación, además se sabe que entre las arcillas silicatadas, la caolinita tiene la mayor capacidad de fijación de fósforo (Palacios *et al.*, 1999).



7.5 Electrorremediación de suelos contaminados con arsénico

Se ha estudiado el fenómeno de electrorremediación para una concentración inicial de 20 ppm de arsénico en estado de valencia +5 (As (V)), preparados a partir del compuesto di-sodio hidrógeno arseniato 7-hidrato ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), diluyendo en agua de red con $400 \mu\text{S cm}^{-1}$ y 0 ppm de arsénico. Dada la carga negativa del ion arseniato, la disolución se introdujo en el pozo semipermeable del cátodo (-), con el objetivo de que electromigrara hacia el pozo semipermeable del ánodo (+). En la figura 5 se representa la cantidad de miligramos de arsénico extraídos en función del tiempo de experimentación para cada diferencia de potencial aplicado.

Figura 5. Evolución de los miligramos de arsénico extraídos al aplicar una diferencia de potencial.



Fuente. Adaptado de Castañeda, 2010.

El arsénico se extrajo más rápidamente para la diferencia de potencial de $1,0 \text{ V cm}^{-1}$; en 22 horas se recolectó el total de estos introducidos inicialmente en el pozo del cátodo. Para la menor diferencia de potencial aplicada ($0,5 \text{ V cm}^{-1}$) la totalidad de arsénico se recolectaría en 90 horas. Para el ensayo de $1,5 \text{ V cm}^{-1}$ se alcanzó una extracción por encima del 50 % a las 25 horas de prueba, a partir de este tiempo se entró en fase estacionaria y no se recogió más arsénico. Tomando como referencia un tiempo de 22 horas



de ensayo y la concentración inicial de 2 mg de As (V), se tienen eficiencias de eliminación de 33 % para $0,5 \text{ V cm}^{-1}$, 100 % para $1,0 \text{ V cm}^{-1}$ y 47 % para $1,5 \text{ V cm}^{-1}$.

En suelos contaminados con metales, la electromigración tiene un mayor impacto que la electroósmosis, para que un metal sea transportado por el fenómeno de electromigración, debe estar en disolución y tener una carga eléctrica, la cual no debe de cambiar mientras migra hacia uno de los electrodos (De la Rosa *et al.*, 2007).

Al igual que con los resultados de nitratos y fosfatos , el flujo electro-osmótico tiene una relación directa con la diferencia de potencial aplicada, en la experimentación con arsénico también se observó que las mayores tasas de flujo electro-osmótico ocurrieron al aplicar la mayor diferencia de potencial ($1,5 \text{ V cm}^{-1}$), y para esta se obtuvo la menor eficiencia de eliminación, esto pudo haber sucedido por el retraso en la migración del arsénico al encontrarse con el flujo electro-osmótico que se desplazaba en dirección opuesta. Resultados similares fueron reportados por Kim *et al.* (2005) en su estudio: el flujo electro-osmótico obstruyó la electromigración del arsénico hacia el ánodo, dando como resultado bajas eficiencias de eliminación.

Los hidróxidos de hierro, aluminio y manganeso tienen propiedades de adsorbentes (Henke, 2009), aunque la caolinita tiene baja capacidad de intercambio catiónico, en el avance del frente ácido se pudieron haber intercambiado iones H^+ por cationes de aluminio presentes en el suelo, estos cationes formarían hidróxidos de aluminio con los OH^- que avanzaban en el frente básico, los hidróxidos metálicos pudieron haber adsorbido parte del arsénico que electromigraba hacia el ánodo, disminuyendo la eficiencia del proceso.

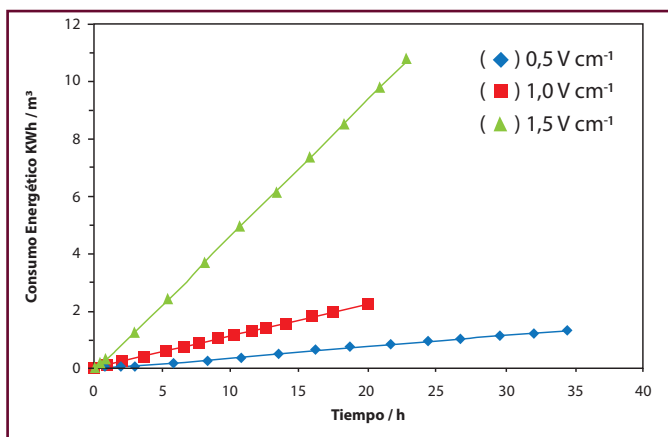
7.6 Consumo de energía eléctrica

Estudios sobre el efecto de los niveles de concentración de contaminante y la intensidad de corriente aplicada, han demostrado que el aumento de esta última no mejora las tasas

de eliminación del contaminante sino que aumenta el consumo energético (Yalcin *et al.*, 1995). Resultados similares se encontraron en este trabajo, en el cual el mayor consumo de energía eléctrica y la menor eficiencia de eliminación para los tres contaminantes estudiados se dio al aplicar la mayor diferencia de potencial ($1,5 \text{ V cm}^{-1}$). En las figuras 6, 7 y 8 se representa el consumo de energía eléctrica (KWh/m^3) de cada diferencia de potencial utilizado en las pruebas de electroremediación de nitratos, fosfatos y arsénico, respectivamente.

En las pruebas de electroremediación de nitratos al aplicar la mayor diferencia de potencial ($1,5 \text{ V cm}^{-1}$) se consumieron un total de 11 KWh/m^3 y no se recolectó la totalidad de nitratos introducidos inicialmente, para las otras dos diferencias de potencial en las cuales la recolección de la concentración inicial de iones nitrato fue del 100 % se observa que para $1,0 \text{ V cm}^{-1}$ el consumo de electricidad fue el doble que para $0,5 \text{ V cm}^{-1}$ y la extracción se dio en aproximadamente la mitad del tiempo que necesito este último.

Figura 6. Consumo de energía eléctrica (KWh/m^3) para la electroremediación de nitrato.

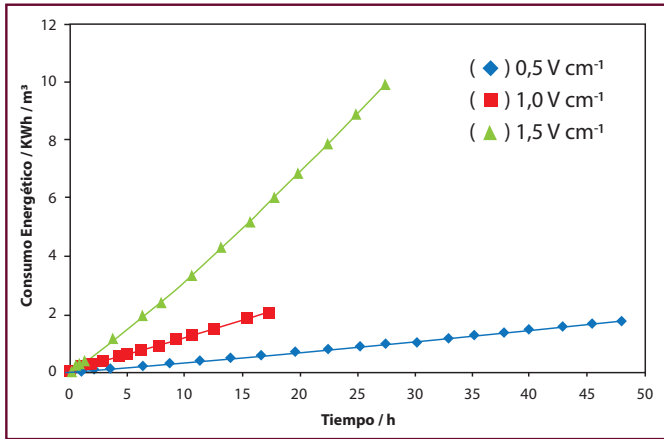


Fuente. Adaptado de Castañeda, 2010.

Para las pruebas con fosfatos el mayor consumo se dio para el experimento de $1,5 \text{ V cm}^{-1}$, pero en esta no se recogió la totalidad de los fosfatos introducidos; para $0,5 \text{ V cm}^{-1}$ y $1,0 \text{ V cm}^{-1}$ que recogieron todos los fosfatos iniciales, la diferencia de consumo eléctrico final entre ambas pruebas no es muy significativa.

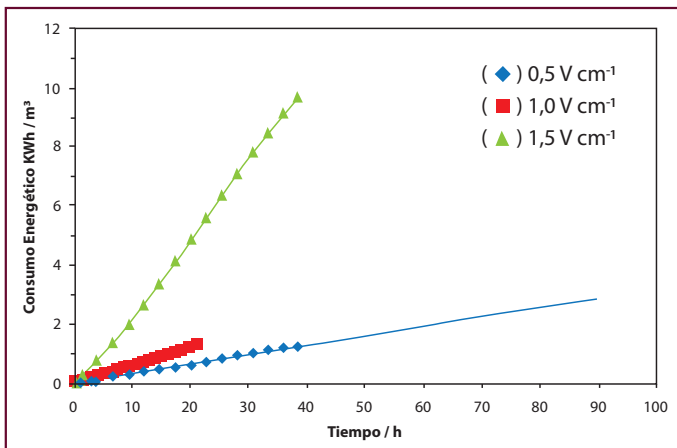
El tiempo de experimentación para la electroremediación de arsénico aplicando una diferencia de potencial de $0,5 \text{ V cm}^{-1}$ no fue suficiente para completar la extracción y se determinó que eran necesarias 90 horas para lograrlo, con este tiempo y con la tendencia de consumo eléctrico de esta diferencia de potencial, se tiene que el gasto de energía final es mayor que para el experimento de $1,0 \text{ V cm}^{-1}$.

Figura 7. Consumo de energía eléctrica (KWh/m3) para la electroremediación de fosfato.



Fuente. Adaptado de Castañeda, 2010.

Figura 8. Consumo de energía eléctrica (KWh/m3) para la electroremediación de arsénico.



Fuente. Adaptación de Castañeda, 2010.



◆ Referencias ◆

- Acar, Y. B., & Alshawabkeh, A. N. (1993). Principles of electrokinetic remediation. *Environ. Sci. Technol.*, 27, 2638-2647.
- Acar, Y. B., & Alshawabkeh, A. N. (1996). Electrokinetic remediation 1. Pilot scale test with Pb-spiked kaolinite. *J. Geotech. Eng.*, 122, 173-185.
- Álvarez-Benedí, J., Bolado-Rodríguez, S., Cancillo-Carro, I., & Calvo-Revuelta, C. (2003). Dinámica de adsorción-desorción de arsénico (v) en suelos de cultivo en Castilla y León. *Estud. Zona No Saturada Suelo*, 6, 331-338.
- Cañizares, P., Sáez, C., Romero, E., García, J., Lobato, J., y Rodrigo, M. A. (2007). Tratamiento de suelos mediante procesos electroquímicos. Parte 1. Fundamentos. *Afinidad*, 64(532), 663-670.
- Casagrande, L. (1939). Electro-ósmosis in soils. *Geotechn.*, 1(3), 159-177.
- Castañeda, L. F. (2010). *Electrorremediación de suelos contaminados con Nitratos, fosfatos y arseniatos*. (Trabajo de maestría). Universidad de Castilla La Mancha - UCLM.
- Choi, J., Maruthamuthu, S., Lee, H., Ha, T., Bae, J., & Alshawabkeh, A. (2010). Removal of phosphate from agricultural soil by electrokinetic remediation with iron electrode. *J. Appl. Electrochem.*, 40, 1101-1111.
- De la Rosa, D., Teutli, M., y Ramírez, M. (2007). Electrorremediación de suelos contaminados, una revisión técnica para su aplicación en campo. *Rev. Int. Contam. Ambient.*, 23(3), 129-138.
- Hamed, J., Acar, Y. B., & Gale, R. J. (1991). Pb(II) removal from kaolinite by electrokinetics. *J. Geotech. Eng.*, 117, 241-271.
- Haran, B. S., Popov, B. N., Zheng, G., & White, R. E. (1996). Development of a new electrochemical technique for decontamination of hexavalent chromium for low surface charged soils. *Environ. Progress*, 15, 166-172.
- Henke, K. (2009). *Arsenic: Environmental chemistry, health threats and waste treatment*. Kentucky: University of Kentucky Press.



- Ho, S. V., Athmer, C. J., Sheridan, P. W., & Shapiro, A. P. (1997). Scale-up aspects of the Lasagna™ process for in situ soil decontamination. *Journal of Hazardous Materials*, 55(1-3), 39-60.
- ITRC. (1997). Emerging technologies for the remediation of metals in soils: Electrokinetics.
- Kim, S., Kim, W., & Kim, K. (2005). Evaluation of electrokinetic remediation of arsenic-contaminated soils. *Environ. Geochem. and Health*, 27, 443-453.
- Lageman, R., Clarke, R., & Pool, W. (2004). Electro-reclamation, a versatile soil remediation solution. *Engin. Geol.*, 77, 191,201.
- Palacios, D., Gueorguievich, O., y Castro, D. (1999). Modelo de adsorción de iones fosfato por suelos y arcillas. *Ciencia*, 7(2), 181-191.
- Ravera, M., Ciccarelli, C., Gastaldi, D., Rinaudo, C., Castelli, C., & Osella, D. (2006). An experiment in the electrokinetic removal of copper from soil contaminated by the brass industry. *Chemosphere*, 63, 950-955.
- Reddy, K. R., & Chinthamreddy, S. (2001). Sequentially enhanced electrokinetic remediation of heavy metals in low buffering clayey soils. *J. Geotech. Geoenviron. Eng.*, 129, 263-277.
- USAEC. (1997). In situ electrokinetic remediation for metal contaminated soils. Innovative technology demonstration, evaluation and transfer activities, FY 96 annual report n.º SFIM-AEC-ETCR- 97013, (pp. 87-88). United States Army Environmental Center.
- Virkutyte, J., Sillanpää, M., & Latostenmaa, P. (2002). Electrokinetic soil remediation - Critical overview. *The Sci. Tot. Environ.*, 289, 97-121.
- Yalcin, A., Galeb, R., Alshwabkeh, A., Marks, R., Brickad, M., & Parkere, R. (1995). Electrokinetic remediation: Basics and technology status. *J. Hazard. Mater.*, 40, 117-137.
- Yang, L., Donahobe, R., & Redwine, J. (2007). In situ chemical fixation of arsenic-contaminated soils: An experimental study. *The Sci. Tot. Environ.*, 387, 28-41.
- Yeung, A., Hsu, C., & Menon, R. (1997). Physicochemical soil-contaminant interactions during electrokinetic extraction. *J. Hazard. Mater.*, 55, 221-237.



Remediación de suelos contaminados: fundamentos y casos de estudio

Esta obra compila una detallada revisión de las principales tecnologías de remediación fisicoquímicas y biológicas utilizadas para el tratamiento de suelos contaminados por diferentes tipos de contaminantes. Aunque actualmente existen varias publicaciones en el tema de la remediación de suelos, la mayoría se encuentra disponible solamente en inglés. Este escrito ofrece una actualización de las cuestiones fundamentales y nuevas aplicaciones de las tecnologías de remediación; contribuye además a la comprensión de tecnologías tanto tradicionales como de reciente desarrollo, presentando sus principios básicos y revisando algunos casos de estudio. Los capítulos de este libro están escritos en un nivel accesible, de manera que puedan ser consultados fácilmente como una guía, tanto por estudiantes como por expertos en la materia.

