



## Diagnóstico de la contaminación por hidrocarburos en playas de Veracruz y biorreactores airlift como propuesta de remediación

### Diagnostic hydrocarbon pollution in Veracruz beaches and airlift bioreactor as suggestion of remediation

E.J. Sandoval-Herazo<sup>1</sup>, V. Saucedo-Rivalcoba<sup>1</sup>, B. Gutiérrez-Rivera<sup>1</sup>,  
R. Hernández-Martínez<sup>3</sup>, M. A. Lizardi-Jiménez<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto Tecnológico Superior de Tierra Blanca. Avenida Veracruz S/N esq. Calle Héroes de Puebla, Pemex, Tierra Blanca, Veracruz C.P. 95180, México.

<sup>2</sup>CONACyT-Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Sierra Leona 550, 2da. Sección, San Luis Potosí, San Luis Potosí C. P. 78210, México.

<sup>3</sup>CONACyT-Colegio de Postgraduados, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México.

Received: September 10, 2019; Accepted: January 11, 2020

#### Resumen

El trabajo de investigación se realizó muestreando playas aledañas al puerto de Veracruz en los meses de mayo y julio del 2018. En las muestras analizadas, se encontró eicosano ( $0.24 \pm 0.01 \text{ mg L}^{-1}$ ) y el benzo(a)pireno ( $2.05 \pm 1.02 \text{ mg L}^{-1}$ ). Una vez determinada la presencia de hidrocarburos, se procedió a la evaluación de la remediación utilizando un biorreactor airlift, que contenía agua de mar,  $\text{NaNO}_3$  como fuente de nitrógeno y una concentración inicial de diésel de  $1.5 \text{ g L}^{-1}$ . Un consorcio conformado por *Xanthomonas* sp. *Acinetobacter bouvetii*, *Shewanella* sp. y *Defluviobacter lusatiensis* fue usado como inóculo ( $0.8 \text{ g L}^{-1}$ ). Los resultados de la remediación indicaron que los sólidos suspendidos aumentaron ( $1.95 \pm 0.02 \text{ g L}^{-1}$ ) en el biorreactor airlift, asimismo, la concentración de diésel disminuyó un 98% ( $1.47 \text{ g L}^{-1}$ ). Por otro lado, la actividad emulsificante fue de  $1.07 \pm 0.01 \text{ AE mL}^{-1}$  y redujo el tamaño de gota de  $1283.83 \pm 76.02 \text{ nm}$  a  $677.63 \pm 20.28 \text{ nm}$ . Un cultivo fue llevado a cabo en ausencia de nitrógeno con el objetivo de conocer el efecto del nitrógeno en el consumo de diésel. Los resultados mostraron que los sólidos suspendidos descendieron hasta  $0.02 \pm 0.01 \text{ g L}^{-1}$ , la concentración de diésel disminuyó solo un 10%, la actividad emulsificante expresada fue de  $1.42 \pm 0.06 \text{ AE mL}^{-1}$  y redujo el tamaño de gota de  $1361.54 \pm 7.55 \text{ nm}$  a  $974.32 \pm 14.18 \text{ nm}$ . La comparación entre los biorreactores airlift trabajados con y sin nitrógeno confirmó que la presencia de nitrógeno es esencial para la capacidad del consorcio microbiano de degradar hidrocarburos.

*Palabras clave:* Hidrocarburos, biorreactor airlift, remediación, Golfo de México, fuente de nitrógeno.

#### Abstract

Research work was carried out sampling nearby beaches to the port of Veracruz in the month of May and July 2018. In the analyzed samples, eicosane ( $0.24 \pm 0.01 \text{ mg L}^{-1}$ ) and benzo(a)pyrene ( $2.05 \pm 1.02 \text{ mg L}^{-1}$ ) were found. Once hydrocarbons presence was determinate, bioremediation evaluation was carried out, using an airlift bioreactor, containing seawater and  $\text{NaNO}_3$  as a nitrogen source and initial diesel concentration of  $1.5 \text{ g L}^{-1}$ . A consortium composed of *Xanthomonas* sp. *Acinetobacter bouvetii*, *Shewanella* sp. and *Defluviobacter lusatiensis* was used as inoculum ( $0.8 \text{ g L}^{-1}$ ). Bioremediation results indicate that suspended solids increased ( $1.95 \pm 0.02 \text{ g L}^{-1}$ ) in the airlift bioreactor, furthermore, diesel concentrations decreased by 98% ( $1.47 \text{ g L}^{-1}$ ). Moreover, emulsifying activity was of  $1.07 \pm 0.01 \text{ AE mL}^{-1}$  and decreased initial droplet size of  $1283.83 \pm 76.02 \text{ nm}$  to  $677.63 \pm 20.28 \text{ nm}$ . A batch culture was carried out in absence of nitrogen sources with the aim to know the effect of nitrogen on the diesel uptake. The results showed that suspended solids diminishing until  $0.02 \pm 0.01 \text{ g L}^{-1}$ , diesel concentration decreased only 10%, emulsifying activity expressed was  $1.42 \pm 0.06 \text{ AE mL}^{-1}$  and decreased droplet size of  $1361.54 \pm 7.55 \text{ nm}$  to  $974.32 \pm 14.18 \text{ nm}$ . Comparison between airlift bioreactors working with and without nitrogen confirmed that nitrogen presence is essential for hydrocarbon uptake capacity of microbial consortium.

*Keywords:* Hydrocarbon, airlift bioreactor, remediation, Gulf of Mexico, nitrogen source.

\* Corresponding author. E-mail: [chamarripas@yahoo.com.mx](mailto:chamarripas@yahoo.com.mx)

<https://doi.org/10.24275/rmiq/Bio851>

issn-e: 2395-8472

## 1 Introducción

---

Las playas aledañas al puerto de Veracruz son parte del Parque Nacional Sistema Arrecifal Veracruzano (PNSAV), ubicado en el sudoeste del Golfo de México, este sistema posee la zona coralina más grande del Golfo de México, además, cuenta con una gran variedad de especies de coral (Rodríguez-Gómez y col., 2013). Su proximidad con el puerto comercial de Veracruz genera problemas de contaminación debido a la actividad humana (Rodríguez-Gómez y col., 2013). Los problemas ambientales documentados que generan mayor impacto están relacionados con la actividad portuaria; también las actividades de ampliaciones del puerto y la infraestructura construida para la protección costera en ejecución desde 2014 (Hayasaka-Ramírez y Ortiz-Lozano, 2014).

Con la ampliación del puerto se aumentará el número de buques que transitan en la zona, los cuales pueden generar problemas ambientales en los ecosistemas acuáticos del PNSAV. Los buques pueden contaminar las aguas con hidrocarburos de dos formas: contaminación aguda (producto de los derrames accidentales de petróleo) y contaminación crónica, producto de las descargas constantes de hidrocarburos al agua en menor concentración (gradualmente se acumulan en el ambiente) (Botello V. y Vélez Ponce, 2005). La contaminación crónica provocada por los buques se da por la liberación de aguas de sentina, que contienen hidrocarburos provenientes de combustibles, aceites lubricantes, aceites hidráulicos, compuestos orgánicos volátiles (Boran, 2017). Es importante destacar que los hidrocarburos son de los principales contaminantes de ecosistemas marinos costeros (Medina-Moreno y col., 2014; Tormoehlen y col., 2014) y pueden causar graves efectos sobre la salud humana (Jiménez-González y col., 2015). Según un estimado de Det Norske Veritas (DNV) los buques de carga liberan al mar hasta 50 L día<sup>-1</sup> de aguas de sentina, que son alrededor del 20% de las aguas residuales oleosas descargadas por los buques al mar anualmente (Tomaszewska y col., 2005). Se estima que los buques de carga deberían liberar no más de 1000 mg<sub>aceite</sub> día<sup>-1</sup>, para cumplir con el límite de descarga de menos de 15 mg<sub>aceite</sub> L<sup>-1</sup> de aguas de sentina, propuesto en el acuerdo de la convención internacional para la prevención de la contaminación por embarcaciones (MARPOL 73/74) (Tiselius y Magnusson, 2017).

Actualmente para la remoción de los aceites (hidrocarburos) en el agua, se utilizan técnicas in situ que suelen ser muy limitadas. Por ejemplo, el método de barreras y absorbentes que suelen ser empleados en derrames de petróleo. No obstante, suelen ser poco eficientes y la disposición de los desechos son un problema (Alabresm y col., 2018). Otras alternativas pueden ser tóxicas y peligrosas para el ambiente, como es el caso de los dispersantes de hidrocarburos (Kleindienst y col., 2015). Sin embargo, existen también los métodos de remediación, donde los hidrocarburos son transformados de manera natural como parte del metabolismo de los organismos remediadores (Mary Kensa, 2011). En este proceso habitualmente se usan microorganismos aeróbicos porque su tasa de degradación suele ser mayor que en microorganismos anaeróbicos. Siendo posible el consumo de hidrocarburos gracias a la enzima monooxigenasa, la cual cataliza la incorporación de una molécula de oxígeno al sustrato (Fuentes y col., 2014). Un ejemplo, es el consorcio formado por *Xanthomonas* sp., *Acinetobacter bouvetii*, *Shewanella* sp. y *Deffluvibacter lusatiensis*, el cual puede subsistir consumiendo únicamente hidrocarburos (Dutta y col., 2018; Medina-Moreno y col., 2005; Medina-Moreno y col., 2013), puede crecer en biorreactores airlift (BAL) (Ortega-de la Rosa y col., 2018), y es halotolerante (Nápoles-Álvarez y col., 2017). También, las formas de consumo de los hidrocarburos influyen en la degradación, sea por contacto directo (gotas macroscópicas) o en forma emulsificada (gotas microscópicas); aunque pueden ser un sistema mixto donde predomina el consumo por contacto directo y la emulsificación ayuda a la reducción de las resistencias de transferencia de masa interna y externa (Medina-Moreno y col., 2013; Sánchez-Vázquez y col., 2017). De ahí que, muchos microorganismos utilizados en la remediación produzcan emulsificantes, que mejoran la solubilidad de los hidrocarburos (Hernández Martínez y col., 2019), como *Acinetobacter bouvetii* (Tzintzun-Camacho y col., 2018). Por lo cual, se evalúa la actividad emulsificante y el tamaño de gota. Además, para optimizar los procesos biológicos se utilizan biorreactores, que mantienen las condiciones idóneas para el crecimiento celular (Su, y col., 2019). Asimismo, entre los biorreactores, los airlift tiene ventajas sobre otros biorreactores como el de tanque agitado o el de columna de burbujas; porque reducen el daño celular, mejoran la transferencia de masa, la tasa de aireación, el flujo de los líquidos y gases, además, su construcción es económica y de bajo gasto energético, características que hacen a los BAL

ampliamente utilizados en procesos biológicos (Al-mashhadani, 2017; Lizardi-Jiménez y col., 2015), incluso a escalas industriales, como se ha demostrado desde hace años en la remediación de aguas residuales (Zuber y col., 1997). Por otro lado, los BAL para la remediación de hidrocarburos pueden ser operados usando microalgas, pero teniendo en cuenta criterios operativos distintos a los usados en BAL operados con bacterias; para el crecimiento celular de las microalgas el factor más importante es la disponibilidad de luz (Brar, y col., 2017; May-Cua y col., 2019; Wu y Merchuk, 2004), por lo cual, pueden ser más complejos y costosos que los BAL operados con bacterias.

Aunque en la literatura existe documentación de la contaminación por hidrocarburos en otras regiones del Golfo de México, tales como, Campeche; (Machain-Castillo y col., 2019) y el río Coatzacoalcos (Ruiz-Fernández y col., 2016). No es el caso del puerto de Veracruz, donde la información sobre hidrocarburos en las aguas aledañas es muy escasa, motivo por el cual se desconoce el impacto que las actividades portuarias y turísticas tienen sobre los ecosistemas marinos y la salud humana. Asimismo, emplear los resultados para el diseño de BAL de bajo costo. Además, se evaluó la degradación de hidrocarburos del consorcio empleando únicamente agua de mar, para determinar si el consorcio podría degradar hidrocarburos en condiciones naturales, sin nitrógeno que ayude a su crecimiento. El objetivo del presente trabajo de investigación fue diagnosticar e identificar los hidrocarburos en las aguas de las playas aledañas al puerto de Veracruz, asimismo, proponer el uso de BAL como alternativa de remediación.

## 2 Materiales y métodos

### 2.1 Coordenadas y método muestreo

Las muestras fueron tomadas con recipientes color ámbar, recolectadas de la parte superior de las aguas costeras a una profundidad promedio de 1.0 y 1.5 m. Las muestras fueron mantenidas a 4 °C en una hielera y transportadas al laboratorio para su análisis. Todas las muestras fueron recolectadas acorde con la norma oficial mexicana NOM-014-SSA1-1993 y el proyecto de norma mexicana PROY-NMX-AA-121/1-SCFI-2008.



Fig. 1. Ubicación de puntos de muestreo.

Los muestreos se realizaron en cinco playas turísticas aledañas al puerto de Veracruz (fig. 1), playa de Regatas (19°11'44.86"N 96°7'41.74"O), playón de Hornos (19°11'5.17"N 96°7'25.88"O), playa el Villa del mar (19°10'52.15"N 96°7'25.92"O), playa la Martí (19°10'32.45"N 96°7'12.04"O) y playa La Bamba (19°9'50.67"N 96°6'12.48"O). Las muestras se tomaron durante los meses de mayo y julio del año 2018.

### 2.2 Determinación de hidrocarburos

La cuantificación e identificación de los hidrocarburos presentes en las muestras de agua se realizaron por cromatografía de gases (Thermo Scientific™ modelo trace 1310) utilizando estándares de hidrocarburos alifáticos (ASTM D2887-12, entre C5 - C44) y aromáticos (pireno, fenantreno, benzo(a)pireno, naftaleno, azuleno, carbazol, antraceno, acenafteno, acenaftileno, criseno, pentaceno, coronano, rubreno). Las condiciones del método utilizado para la separación fueron temperaturas para el detector e inyector 290 °C y 300°C, respectivamente; temperaturas programadas de 120°C por 1 min; incrementando la temperatura cada 10°C min<sup>-1</sup> hasta 150°C (2 min); posteriormente 15° min<sup>-1</sup> hasta 170°C (1.5 min) (Lizardi-Jiménez y col., 2015). Se utilizó un detector de ionización de llama, columna TR-5 (30x0.00025m; J&W Scientific), y helio como gas acarreador.

### 2.3 Consorcio y condiciones de operación del biorreactor airlift

Para la operación de los BAL se utilizó un consorcio hidrocarbonoclasta aislado de la rizosfera de *Cyperus laxus* una planta autóctona de pantanos altamente

contaminados cerca de una refinera de petróleo al suroeste de México (Nápoles Álvarez y col., 2017). El consorcio consta de cuatro cepas microbianas: *Xanthomonas* sp. *Acinetobacter bouvetii*, *Shewanella* sp. y *Deffluibacter lusatiensis* (Tzintzun-Camacho y col., 2012). Las condiciones de operación del BAL fueron ajustadas a  $0.8 \text{ g L}^{-1}$  de inoculo,  $1.5 \text{ g L}^{-1}$  de diésel como fuente de carbono en un medio de agua de mar (recolectada en las coordenadas  $19^{\circ}11'44.86''\text{N}$   $96^{\circ}7'41.74''\text{O}$ , playa Regatas, Veracruz, México;  $\text{pH} = 8.4$ ,  $E^{\circ} = -68.2 \text{ mV}$ ,  $0.779 \text{ g L}^{-1}$  de  $\text{NaNO}_3$  como fuente de Nitrógeno, el pH fue ajustado a un valor de 6.5, a una velocidad superficial del gas ( $U_g$ ) de  $3.25 \text{ cm s}^{-1}$ , en un cuarto con temperatura controlada de  $28 \pm 1.7^{\circ}\text{C}$ . El BAL fue operado en presencia y ausencia de una fuente de nitrógeno.

#### 2.4 Biorreactor airlift

Los BAL empleados fueron de vidrio con una geometría cilíndrica con la siguiente configuración: volumen operacional de 1 L, con un diámetro externo de 7 cm ( $D_1$ ) y altura de 27 cm ( $L_1$ ), con un tubo de aspiración de 4.6 cm de diámetro ( $D_2$ ) y 21 cm de altura ( $L_2$ ), ubicado 1.36 cm sobre el fondo (fig. 2). La aireación se realizó a través de un difusor de aire en forma de L (7 orificios, 1.0 mm diámetro, de  $\frac{1}{4}$  de pulgada de diámetro interno) (Lizardi-Jiménez y col., 2015). Relaciones geométricas:  $D_2/D_1 = 0.65$ ,  $L_2/L_1 = 0.77$ .

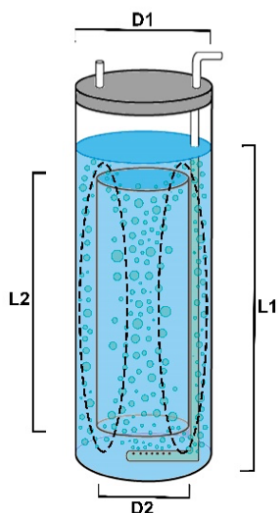


Fig. 2. Diseño geométrico del biorreactor airlift.  $D_1$ : diámetro externo,  $D_2$ : diámetro interno,  $L_1$ : altura externa,  $L_2$ : altura tubo concéntrico.

#### 2.5 Determinación de sólidos suspendidos

La determinación de sólidos suspendidos (SS) que incluyen el consorcio microbiano, se realizó para determinar el comportamiento de la biomasa durante la operación de los BAL. La determinación de SS se realizó tomando 10 mL de muestras del BAL cada 24 horas y se centrifugaron a  $4000 \times g$  durante 30 min a  $4^{\circ}\text{C}$ . Se separó el sobre nadante (fase acuosa) del precipitado (fase sólida) que se usó para medir los SS (incluyen el consorcio microbiano) pesándolos, luego de ser calentados a  $60^{\circ}\text{C}$  por 48 horas (Lizardi-Jiménez y col., 2015). Las muestras se analizaron por triplicado.

#### 2.6 Determinación de actividad emulsificante y tamaño de gota en función del tiempo de cultivo

La determinación de la actividad emulsificante (AE) y el tamaño de gota (TG) se realizó con la fase acuosa obtenida en la centrifugación de SS. La muestra fue mezclada con diésel en una proporción 6:1 v/v, respectivamente, se agitó vigorosamente por 2 min, dejándose en reposo por 24 horas para la separación de la fase oleosa y acuosa. Transcurrido el tiempo se determinó absorbancia a una longitud de onda de 400 nm con ayuda de un espectrofotómetro Thermo scientific Genesys 10s Uv-vis, se utilizó agua de mar con diésel como blanco; se evaluó el cambio en 0.01 unidades, multiplicado por el factor de dilución, que equivale a una unidad de actividad emulsificante por mililitro ( $\text{AE mL}^{-1}$ ) (García-Cruz y col., 2019; Sabnis y Juvele, 2016). Las muestras fueron analizadas también en un medidor de tamaño de partículas (NanoBrook 90 Plus PALS, Brookhaven Instruments, USA) en modalidad de dispersión de luz dinámica (DLS), para la medición del tamaño de gota del diésel en fase acuosa (García-Cruz y col., 2019).

#### 2.7 Análisis de modelos matemático

El crecimiento microbiano se describió empleando tres modelos primarios reparametrizados el de Gompertz (Ec. 1), logístico (Ec. 2) y Von Bertalanffy (Ec. 3) que explican “y” en términos de parámetros matemáticos a, b y c (Álvarez y col., 2017; Valdivia-Rivera y col., 2019), con el objetivo de identificar y escoger cual describía mejor los resultados experimentales. Los modelos se muestran a continuación:

$$y = a \exp(-\exp b - ct) \quad (1)$$

$$y = \frac{a}{[1 + \exp(b - ct)]} \quad (2)$$

$$y = [a^{1/3} - \exp(b - ct)] \quad (3)$$

Siendo  $y$  la variable dependiente, se define como la variación del logaritmo entre la población en un tiempo  $t(N)$  y la población inicial ( $N_0$ ) (Ec. 4):

$$y = \left( \frac{N}{N_0} \right) \quad (4)$$

donde la tasa máxima de crecimiento ( $\mu_{max}$ ), fase de latencia o lag ( $\lambda$ ) y tiempo de inflexión ( $Ti$ ) pueden determinarse con las siguientes ecuaciones:

$$\mu_{max} = \frac{ac}{e} \quad (5)$$

$$\lambda = \frac{b-1}{c} \quad (6)$$

$$Ti = \frac{b}{c} \quad (7)$$

Para elegir los modelos matemáticos más cercanos a los valores experimentales, se calculó el coeficiente de determinación  $R^2$ , gracias a que los datos poseían el mismo número de grados de libertad, donde se representaron los valores de “ $y$ ” predecibles por los modelos. Los valores más cercanos a 1 indicaron un mayor grado de ajuste al modelo (Maydeu-Olivares y Garcia-Forero, 2010).

### 3 Resultados y discusión

#### 3.1 Hidrocarburos contaminantes en playas aledañas al puerto de Veracruz

Durante el año 2018, se realizaron muestreos en los meses de mayo y julio, temporada turística baja y alta, respectivamente (fig.3) (DATATUR, 2018). En ambos meses los hidrocarburos encontrados fueron: eicosano, heneicosano, tetracosano, docosano benzo(a)pireno y azuleno. El azuleno es un isómero del naftaleno, el cual es considerado como tóxico por su naturaleza recalcitrante, además, bajo radiación ultravioleta puede producir rupturas en el ADN (Singh y Rathore, 2019). Sin embargo, es importante indicar que el azuleno solo fue encontrado en el mes de mayo. Los resultados indicaron que durante la temporada alta en el mes de Julio se observó una variedad de hidrocarburos menor que en la temporada baja en el mes de mayo, dichos resultados demuestran que la actividad turística no influye significativamente en la contaminación por hidrocarburos en el área estudiada.

Por otro lado, los hidrocarburos identificados en las playas aledañas al puerto de Veracruz se encuentran dentro del rango de hidrocarburos que componen al diésel (entre C9-C27), que es empleado como combustible de los buques (Martínez-Prado y Soto-Álvarez, 2017; Kar y col., 2018), siendo esta una probable fuente de contaminación por hidrocarburos.

Tabla 1. Concentración de hidrocarburos durante el mes de mayo del 2018 en playas aledañas al puerto de Veracruz.

Playa Regatas	Azuleno Benzo(a)pireno	3.68 ± 0.00 NC*
Playón de Hornos	Azuleno	12.70 ± 6.57
	Benzo(a)pireno	1.74 ± 0.00
Playa Villa del mar	Benzo(a)pireno	1.09 ± 0.00
	Azuleno	7.78 ± 3.89
	Eicosano	0.66 ± 0.46
Playa Martí	Heneicosano	0.30 ± 0.00
	Docosano	NC*
	Benzo(a)pireno	NC*
Playa La Bamba	Azuleno	4.65 ± 2.35
	Benzo(a)pireno	2.05 ± 1.02

\*NC: se identificó el hidrocarburo, pero no se pudo calcular su concentración.

Tabla 2. Concentración de hidrocarburos durante el mes de julio del 2018 en playas aledañas al puerto de Veracruz.

Puntos de muestreo	Hidrocarburo	Concentración (L <sup>-1</sup> )
Playa Regatas	Tetracosano	NC*
Playón de Hornos	Tetracosano	NC*
	Eicosano	0.24 ± 0.00
	Heneicosano	0.05 ± 0.00
Playa Villa del mar	Tetracosano	NC*
	Eicosano	0.24 ± 0.01
	Heneicosano Docosano	0.06 ± 0.01
	Tetracosano	NC*
Playa Martí	Tetracosano	NC*
	Benzo(a)pireno	NC*
		0.42 ± 0.00
Playa La Bamba	Tetracosano	NC*
	Benzo(a)pireno	NC*

\*NC: se identificó el hidrocarburo, pero no se pudo calcular su concentración.

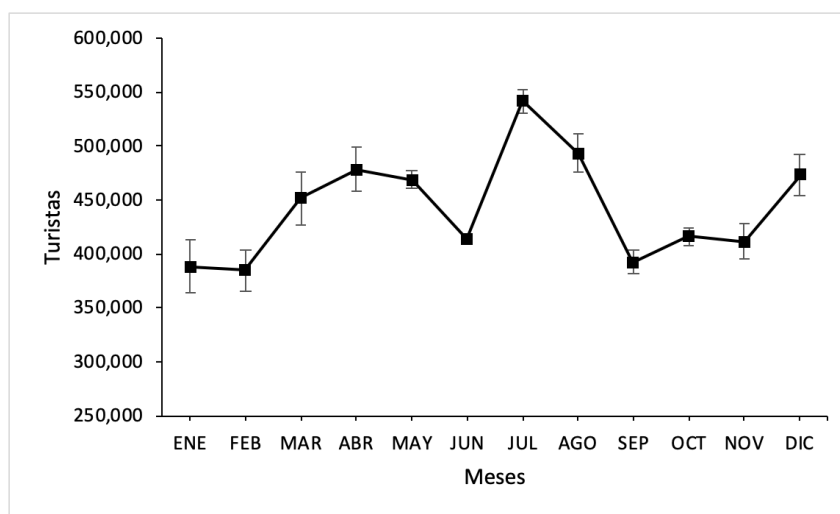


Fig. 3. Afluencia turística promedio en Veracruz de 2015-2017. Fuente: DATATUR, 2018.

El benzo(a)pireno (Tablas 1 y 2) es un hidrocarburo aromático tóxico en concentraciones de 300 mg L<sup>-1</sup> (Fuentes y col., 2014), potencialmente mutagénico, carcinogénico y teratogénico; además es peligroso también por su persistencia en el ambiente (más de 20 años), prevalencia en ecosistemas y es bioacumulable (Igwo-Ezike y col., 2010; Huang y col., 2012; Ortiz-Salinas y col., 2012; Yang y col., 2019). De esta manera, se ha demostrado que la exposición crónica a hidrocarburos afecta el metabolismo, estructura y función celular o aumenta las mutaciones cromosómicas de los corales; la contaminación crónica de pequeñas concentraciones como las observadas en el presente trabajo a menudo son consideradas de efectos más graves que las

provocadas por la contaminación aguda de los derrames (Turner y Renegar, 2017). Asimismo, Joye y colaboradores en 2016 evaluaron el efecto del derrame de Deepwater Horizon durante 6 años desde 2010; encontraron que los hidrocarburos y dispersantes generan problemas en el desarrollo y funciones cardíacas de las larvas, y desprendimiento de tejidos y producción excesiva de mucosa sobre los corales profundos, microbiota y peces pelágicos.

Las concentraciones de los hidrocarburos en el mes de mayo fueron: eicosano 0.66 ± 0.46 mg L<sup>-1</sup>, heneicosano 0.30 mg L<sup>-1</sup>, azuleno con concentraciones entre 3.68-12.70 ± 6.57 mg L<sup>-1</sup> y fue encontrado en todas las playas a excepción de Villa del mar, y el benzo(a)pireno varío entre 1.09

-  $2.05 \pm 1.02 \text{ mg L}^{-1}$ . Durante el mes de julio se observaron los mismos hidrocarburos alifáticos que, en el mes de mayo, además se encontró el tetracosano, aunque en concentraciones menores con respecto a los datos obtenidos en el mes de mayo, sus concentraciones variaron entre  $0.05 - 0.24 \pm 0.01 \text{ mg L}^{-1}$ . Con relación al tetracosano, es un hidrocarburo con baja concentración en el diésel y puede darse el caso que se rompa por efecto de la pirolisis, lo que explicaría su ausencia en el muestreo del mes de mayo (Kar y col., 2018). En cuanto a los hidrocarburos aromáticos encontrados durante el mes de julio en las playas aledañas al puerto de Veracruz, el benzo(a)pireno también fue encontrado en playa Martí y playa La Bamba, con una concentración máxima de  $0.42 \pm 0.00 \text{ mg L}^{-1}$ . Las concentraciones máximas encontradas de benzo(a)pireno fueron menor a las reportadas en Quintana Roo, en el mes de julio (temporada alta) de 2014 ( $9.01 \pm 0.01 \text{ mg L}^{-1}$ ) y en el mismo periodo, pero de 2015 ( $1.33 \pm 0.07 \text{ mg L}^{-1}$ ) (León-Borges y Lizardi-Jiménez, 2017). El benzo(a)pireno encontrado probablemente fue producto de la combustión en los motores de diésel de las embarcaciones (Khalili y col., 1995; Tancell y col., 1995).

Es pertinente mencionar que en algunos trabajos realizados en el PNSAV se observó que entre más cerca se está al puerto comercial, mayor es la concentración de hidrocarburos presentes en las especies de peces *Haemulon aurolineatum* y *Ocyurus chrysurus* que viven en los arrecifes de coral (Gold-Bouchot y col., 2017). Confirmando la probabilidad de que la contaminación por hidrocarburos en el área está relacionada con la actividad portuaria.

### 3.2 Cultivos en biorreactor airlift empleando un medio de agua de mar en ausencia de fuente de nitrógeno

Se evaluó la degradación de hidrocarburos del consorcio empleando únicamente agua de mar, para determinar si el consorcio podría crecer en condiciones naturales, sin nitrógeno que ayude a su crecimiento. Los resultados indicaron que en ausencia de una fuente de nitrógeno el diésel se redujo un 10% (fig.4) de su concentración inicial ( $1.5 \text{ g L}^{-1}$ ). Por otro lado, la concentración de SS presentó valores próximos a su concentración inicial ( $0.8 \text{ g L}^{-1}$ ) hasta el día final del cultivo, donde disminuyó hasta  $0.02 \pm 0.01 \text{ g L}^{-1}$ ; ocasionado por la baja concentración de nitrógeno en el agua de mar (entre  $8.2$  y  $9.2 \mu\text{M}$ ) (Avenidaño y col., 2019), que provoca que los microorganismos no puedan crecer y consumir la fuente de carbono (Chu y Alvarez-Cohen, 1998). Estos resultados indican que los componentes disueltos en el agua de mar son insuficientes para el desarrollo del consorcio si no se agrega una fuente de nitrógeno.

Los resultados de la fig. 5 muestran el comportamiento de la AE y el TG durante el cultivo. Estos parámetros son muy relevantes, ya que se relacionan con el consumo de hidrocarburos; debido a que las formas emulsificadas del hidrocarburo se consideran la forma principal de consumo (Melgarejo-Torres y col., 2017). La AE tuvo valores constantes aproximados a  $1.10 \text{ AE mL}^{-1}$  a excepción del día 3 cuando se observó su valor máximo de  $1.42 \pm 0.06 \text{ AE mL}^{-1}$ .

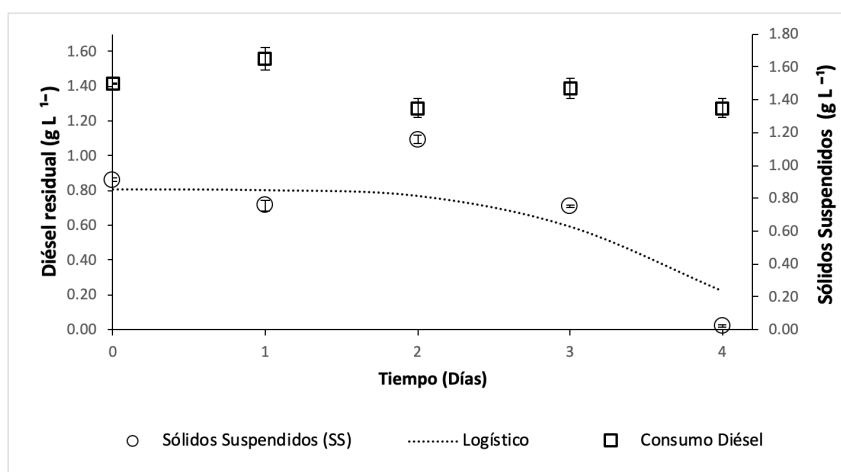


Fig. 4. Sólidos suspendidos (SS) y consumo de diésel residual en cultivo en ausencia de fuente de nitrógeno.

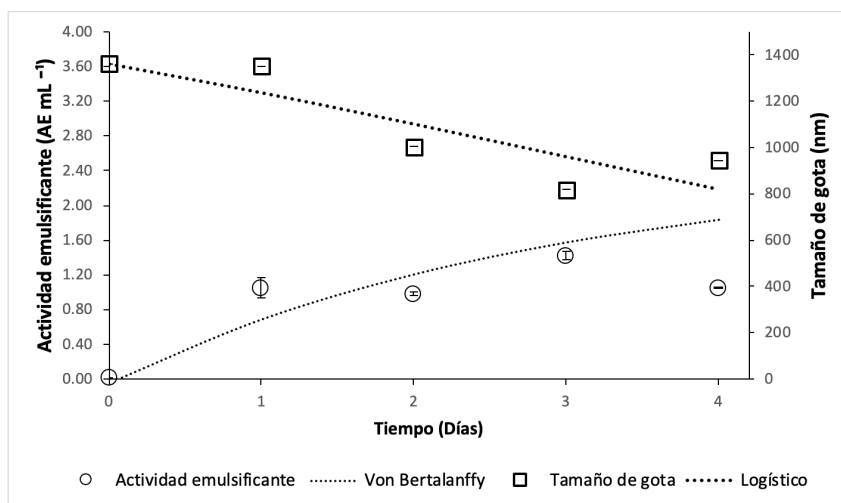


Fig. 5. Actividad emulsificante (AE) y tamaño de gota (TG) en cultivo en ausencia de fuente de nitrógeno.

Por otra parte, el TG tuvo un valor inicial de  $1361.54 \pm 7.55$  nm y el TG final fue de  $974.32 \pm 14.18$  nm. García-Cruz y col., en 2019 reportaron que en un biorreactor de columna de burbujas que contenía  $13 \text{ g L}^{-1}$  de diésel como fuente de carbono, mantenido por 6 días con un consorcio con presencia de bacterias del género *Marinobacter* y *Alcanivorax*, su actividad emulsificante ( $7.0 \text{ AE mL}^{-1}$ ) fue mayor al observado en este trabajo y el tamaño de gota pasó de 1600 nm a 600 nm, menor al conseguido en el presente trabajo. Por lo cual, favoreció mucho más el consumo de diésel en forma emulsificada.

La biomasa del consorcio microbiano (medida en SS) utilizado en el presente trabajo no aumentó, sin embargo, presentó AE en ausencia de nitrógeno, algo que contrasta con lo reportado en otro trabajo donde se asegura que la producción de emulsificante depende del crecimiento (Ortega-de la Rosa y col., 2018). Aunque, esto puede deberse a que las bacterias no tienen el suficiente nitrógeno para producir biomasa y al someterse a una situación de estrés emplea el carbono disponible para producir emulsificante.

### 3.3 Cultivos en biorreactor airlift empleando un medio de agua de mar con fuente de nitrógeno

Los resultados de los BAL con agua de mar y fuente de nitrógeno (fig. 7) muestran una relación inversamente proporcional entre el consumo de diésel y la concentración de SS, la concentración de los sólidos suspendidos aumenta, mientras que la concentración

de diésel disminuye. Los sólidos suspendidos alcanzaron una concentración máxima de  $1.95 \pm 0.02 \text{ g L}^{-1}$  y el diésel residual se redujo hasta una concentración de  $0.03 \pm 0.00 \text{ g L}^{-1}$ . El BAL presentó un rendimiento promedio de  $0.38 \pm 0.21 \text{ gss g}_{\text{diésel}}^{-1}$ , con base a una prueba t student se pudo determinar que no hubo diferencia significativa con el rendimiento promedio reportado por Valdivia-Rivera y col., 2019 ( $0.42 \pm 0.02 \text{ gss g}_{\text{aceite}}^{-1}$ ), con el mismo consorcio y usando aceite de papaya como fuente de carbono; el diésel y el aceite de papaya son mezclas complejas de hidrocarburos y de ácidos grasos, respectivamente (Kar y col., 2018; Valdivia-Rivera y col., 2019). Probablemente, mostraron rendimientos sin diferencias significativas debido a que ambas fuentes de carbono son degradadas a través de la beta oxidación (Houten y col., 2016; Varjani, 2017). Sin embargo, fue mayor que el obtenido en otro trabajo que tuvo un rendimiento promedio de  $0.214 \text{ (mgss mg}_{\text{diésel}}^{-1})$ , donde se emplearon dos cepas *Pseudomonas aeruginosa* y *Bacillus subtilis*, en un cultivo por lote y en condiciones operativas distintas (Whang y col., 2008).

La fig. 8 muestra que la actividad emulsificante del cultivo con fuente de nitrógeno se incrementó hasta  $1.07 \pm 0.01 \text{ AE mL}^{-1}$  y que el tamaño de sus gotas se redujo de  $1283.83 \pm 76.02$  nm hasta  $677.63 \pm 20.28$  nm. Dado que, existe una relación inversamente proporcional entre el AE y el TG, entre mayor sea la concentración del emulsificante menor será el tamaño de gota (Noboa y col., 2017). Al contrastar con los resultados del cultivo en ausencia



de fuente de nitrógeno, encontramos que en el cultivo con fuente de nitrógeno el TG fue menor, aun cuando su AE promedio fue mayor. Además, el cultivo con fuente de nitrógeno si presentó un aumento de los sólidos suspendidos y consumió la mayor parte de la fuente de carbono. Por tanto, el tamaño de gota menor en el cultivo con fuente de nitrógeno se puede explicar teniendo en cuenta que la cantidad de diésel a emulsionar fue menor al pasar los días. Porque, la absorción del emulsificante en la interfase aumenta cuando su concentración aumenta en el medio; por lo cual, al disminuir la concentración de diésel aumenta la concentración del emulsificante con respecto al medio y se disminuye más de la tensión superficial, provocando una mayor reducción del tamaño de gota (Zeppieri y col., 2009). Por tanto, el TG disminuye al disminuir la concentración del hidrocarburo (Attwood y col., 1992).

### 3.4 Modelamiento matemático

Los datos experimentales de sólidos suspendidos (SS) y diésel residual de los cultivos se ajustaron a los modelos de Gompertz, Logística y Von Bertalanffy. Para los SS el valor más cercano a 1 de  $R^2$  entre los 3 modelos fue el  $R^2$  del modelo Logístico, en ambos los cultivos. El diésel residual del cultivo con fuente de nitrógeno se ajustó al modelo de Von Bertalanffy, mientras que el cultivo en ausencia de fuente de nitrógeno no tuvo un ajuste significativo con ninguno de los modelos (Tabla 3).

A partir de los modelos matemáticos se obtuvieron parámetros cinéticos como la tasa específica de crecimiento y tasa específica de consumo máximo

(Tabla 4). La tasa específica de crecimiento máximo ( $\mu_{max}$ ) en el cultivo en ausencia de nitrógeno describió en este caso la mortandad, porque el cultivo no presentó un incremento en los sólidos suspendidos si no un descenso en el día 4. En el cultivo con fuente de nitrógeno el valor de la tasa específica de consumo máximo ( $Q_{max}$ ) fue de  $0.11 \text{ d}^{-1}$  y su  $\mu_{max}$  fue  $0.51 \text{ d}^{-1}$ . El consorcio en el cultivo con fuente de nitrógeno en poco tiempo empezó a consumir el diésel (1.10 d) y alcanzó su velocidad máxima casi al segundo día (1.82 d). además, el crecimiento del consorcio empezó en el primer día (0.90 d) y alcanzó su velocidad máxima cerca del cuarto día (3.65 d). El crecimiento del consorcio se mantuvo bajo por la concentración de sal en el medio, ya que las bacterias halotolerantes reducen su metabolismo entre mayor sea la concentración de sal (Nápoles Álvarez y col., 2017; Li y col., 2019). Sin embargo, las condiciones de cultivo siguen siendo viable para la degradación de diésel. El cultivo en ausencia de fuente de nitrógeno tuvo una tasa específica de mortandad máxima ( $0.59 \text{ d}^{-1}$ ) mayor a la  $\mu_{max}$  del cultivo con fuente de nitrógeno. Además, los SS se empezaron a disminuir a partir del tercer día (3.01 d) y alcanzó su velocidad máxima de mortandad no mucho tiempo después (3.51 d). Por otra parte, los modelos no pudieron describir el consumo de diésel del cultivo en ausencia de fuente de carbono, probablemente porque fue relativamente bajo. Los resultados sustentan el análisis inferido de las mediciones de SS y diésel residual de ambos cultivos, donde se afirmó que la ausencia de nitrógeno afectó el crecimiento y consumo del consorcio.

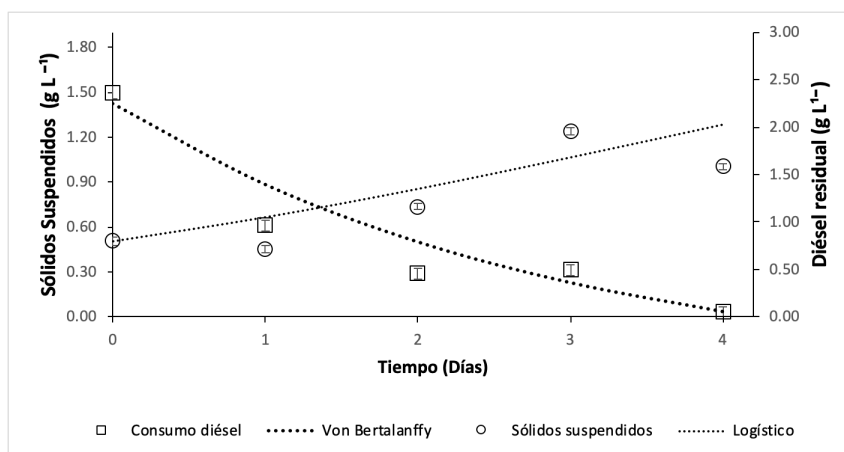


Fig. 6. Producción sólidos suspendidos (SS) y consumo de diésel residual en cultivo con fuente de nitrógeno.

Tabla 3. Coeficiente de determinación ( $R^2$ ) para el ajuste al modelo de Gompertz, Logístico y Von Bertalanffy para los datos experimentales.

Datos	Fuente de nitrógeno	Gompertz ( $R^2$ )	Logístico ( $R^2$ )	Von Bertalanffy ( $R^2$ )
Consumo de diésel	Si	0.9006	0.8767	0.9151
	No	0.2606	0.3745	0.3598
Sólidos suspendidos	Si	0.9099	0.9103	0.9038
	No	0.8559	0.9017	-
Actividad emulsificante	Si	0.5119	0.4793	0.6276
	No	0.6606	0.6749	0.7027
Tamaño de gota	Si	0.4773	0.5244	-
	No	0.7252	0.758	-

Tabla 4. Tasa específica de crecimiento máximo ( $\mu_{max}$ ), tasa específica de degradación ( $Q_{max}$ ), tiempo de intercepción ( $t_i$ ) y fase lag ( $\lambda$ ) obtenidas del mejor ajuste al modelo (Gompertz, Logístico o Von Bertalanffy) para los datos experimentales.

Datos	Fuente de nitrógeno	Mejor ajuste al modelo	$\mu_{max}$ o $Q_{max}$ ( $\text{día}^{-1}$ )	$\lambda$ (día)	$t_i$ (día)
Consumo de diésel	Si	Von Bertalanffy	0.11	1.1	1.82
	No	-	-	-	-
Sólidos suspendidos	Si	Logístico	0.51	0.9	3.65
	No	Logístico	0.59	3.01	3.51

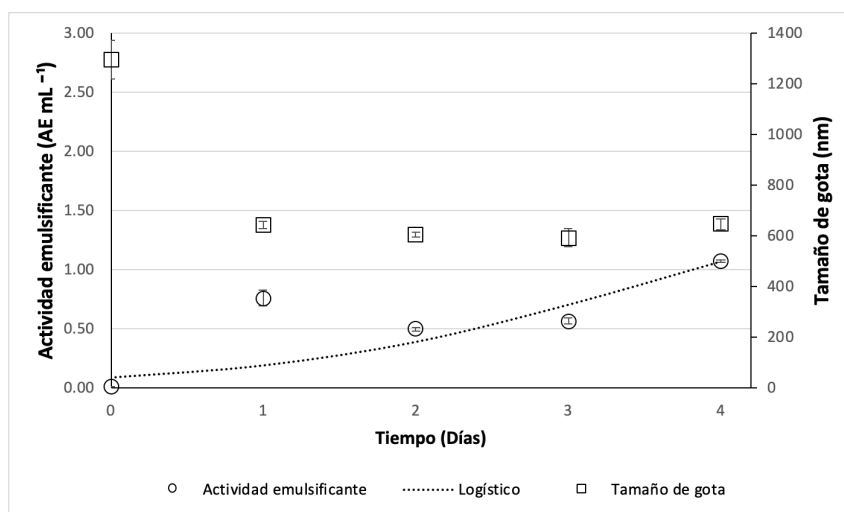


Fig. 7. Actividad emulsificante (AE) y tamaño de gota (TG) en cultivo con fuente nitrógeno.

## Conclusiones

Las playas aledañas al puerto de Veracruz están contaminadas con hidrocarburos alifáticos: docosano, eicosano, heneicosano y tetracosano e hidrocarburos aromáticos teratogénicos, carcinogénicos y bioacumulables como el benzo(a)pireno. Usando un BAL operado con agua de mar y una fuente de nitrógeno se logró degradar el 98% del diésel, de modo que es viable para la remediación de los hidrocarburos hallados en los monitoreos de las playas Regatas, Villa del mar, Bomba, Martí y el playón de Hornos en la ciudad de Veracruz. Además, se demostró que el consorcio necesita por lo menos nitrógeno para crecer y degradar eficientemente hidrocarburos en agua de mar.

## Agradecimientos

El primer autor agradece el apoyo al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para cursar la Maestría en Ciencias de los Alimentos y Biotecnología dentro del programa de maestría del tecnológico superior en tierra blanca y al apoyo del proyecto FAI UASLP(C19-FAI-05-49.49).

## Nomenclatura

AE	Actividad emulsificante, AE mL <sup>-1</sup>
E	Número de Euler
ln	Logaritmo natural
N <sub>0</sub>	Concentración inicial de microorganismos
N	Concentración de microorganismos
P	Medida de significación estadística
R <sup>2</sup>	Coefficiente de determinación
SS	concentración de sólidos suspendidos, g L <sup>-1</sup>
TG	Tamaño de gota, nm

## Símbolos griegos

$\lambda$	Fase lag, d
$\mu_{max}$	Tasa específica de crecimiento máxima, d <sup>-1</sup>
$Q_{max}$	Tasa específica de consumo máxima, d <sup>-1</sup>

## Referencias

Al-mashhadani, M. K. H. (2017). Heat transfer and hydrodynamic in internal jacket airlift bioreactor with microbubble technology. *Iraqi Journal of Chemical and Petroleum Engineering* 18, 35-45.

- Alabresm, A., Chen, Y. P., Decho, A. W. y Lead, J. (2018). A novel method for the synergistic remediation of oil-water mixtures using nanoparticles and oil-degrading bacteria. *Science of the Total Environment* 630, 1292-1297. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.277>
- Attwood, D., Mallon, C., Ktistis, G. y Taylor, C. J. (1992). A study on factors influencing the droplet size in nonionic oil-in-water microemulsions. *International Journal of Pharmaceutics* 88, 417-422. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(92\)90341-X](https://doi.org/10.1016/0378-5173(92)90341-X)
- Avendaño, O., Salas-Monreal, D., Anis, A., Salas-de-Leon, D. A. y Monreal-Gomez, M. A. (2019). Monthly surface hydrographical variability in a coral reef system under the influence of river discharges. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 222, 53-65. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2019.04.012>
- Boran, M. (2017). Pollution of marine environment by ship. *Cercetari Marine*, 244-248.
- Botello V., A. y Vélez Ponce, G. (2005). Niveles de hidrocarburos en el Golfo de México. Golfo de México, MakeLowercaseContaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias. Campeche. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2567.9206>
- Brar, A., Kumar, M., Vivekanand, V. y Pareek, N. (2017). Photoautotrophic microorganisms and bioremediation of industrial effluents: current status and future prospects. *3 Biotech* 7, 1-8. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0600-5>
- Chu, K. H. y Alvarez-Cohen, L. (1998). Effect of nitrogen source on growth and trichloroethylene degradation by methane-oxidizing bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 64, 3451-3457.
- DATATUR. (2018). Actividad Hotelera en Veracruz (mensual). viable en: [http://www.datatur.sectur.gob.mx/ITxEF/ITxEF\\_VER.aspx](http://www.datatur.sectur.gob.mx/ITxEF/ITxEF_VER.aspx). Accedido: diciembre 26, 2019.
- Dutta, A., Valdivia-Rivera, S. y Lizardi-Jiménez, M. A. (2018). Simultaneous diesel and oxygen transfer rate on the production of an oil-degrading consortium in an airlift bioreactor: high-dispersed phase concentration.

- International Journal of Chemical Reactor Engineering* 16, 1-9. <https://doi.org/10.1515/ijcre-2017-0206>
- Fuentes, S., Méndez, V., Aguila, P. y Seeger, M. (2014). Bioremediation of petroleum hydrocarbons: Catabolic genes, microbial communities, and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology* 98, 4781-4794. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5684-9>
- García-Cruz, N. U., Valdivia-Rivera, S., Narciso-Ortiz, L., García-Maldonado, J. Q., Uribe-Flores, M. M., Aguirre-Macedo, M. L. y Lizardi-Jiménez, M. A. (2019). Diesel uptake by an indigenous microbial consortium isolated from sediments of the Southern Gulf of Mexico: Emulsion characterisation. *Environmental Pollution* 250, 849-855. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.04.109>
- Gold-Bouchot, G., Rubio-piña, J., Montero-Muñoz, J., Ramirez-Miss, N., Echeverría-García, A., Patiño-Suarez, V. y Zapata-Pérez, O. (2017). Pollutants and biomarker responses in two reef fish species (*Haemulon aurolineatum* and *Ocyurus chrysurus*) in the Southern Gulf of Mexico. *Marine Pollution Bulletin* 116, 249-257. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.12.073>
- Hayasaka-Ramírez, S. y Ortiz-Lozano, L. (2014). Anthropogenic pressure indicators associated with vessel groundings on coral reefs in a marine protected area. *Ciencias Marinas* 20, 237-249. <https://doi.org/10.1590/S0080-623420140000500022>
- Hernández Martínez, R., Valdivia-Rivera, S., Betto-Sagahon, J., Coreño-Alonso, A., Tzintzun-Camacho, O. y Lizardi-Jiménez, M. A. (2019). Solubilization and removal of petroleum hydrocarbons by a native microbial biomass in a bubble column reactor. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 18, 181-189. <https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbi/revmexingquim/2019v18n1/hernandez>
- Houten, S. M., Violante, S., Ventura, F. V., & Wanders, R. J. A. (2016). The biochemistry and physiology of mitochondrial fatty acid  $\beta$ -oxidation and its genetic disorders. *Annual Review of Physiology* 78, 23-44. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021115-105045>
- Huang, W., Wang, Z. y Yan, W. (2012). Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments from Zhanjiang Bay and Leizhou Bay, South China. *Marine Pollution Bulletin* 64, 1962-1969. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.05.023>
- Igwo-Ezike, M. N., Gbenle, O. G., Ilori, M. O., Okpuzor, J. y Osuntoki, A. A. (2010). High molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons biodegradation by bacteria isolated from contaminated soils in Nigeria. *Environmental Sciences* 4, 127-137.
- Joye, S. B., Bracco, A., Özgökmen, T. M., Chanton, J. P., Grosell, M., MacDonald, I. R. y Passow, U. (2016). The Gulf of Mexico ecosystem, six years after the Macondo oil well blowout. *Deep-Sea Research Part II* 129, 4-19. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2016.04.018>
- Kar, Y., Dilek, S. y Yalman, Y. (2018). Characterization of light diesel fraction obtained from upgraded heavy oil. *Egyptian Journal of Petroleum*, 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2018.08.001>
- Khalili, N. R., Scheff, P. A. y Holsen, T. M. (1995). Source fingerprints for coke ovens, diesel and gasoline engines, highway tunnels, and wood combustion emissions. *Atmospheric Environment* 29, 533-542.
- Kleindienst, S., Paul, J. H. y Joye, S. B. (2015). Using dispersants after oil spills: Impacts on the composition and activity of microbial communities. *Nature Reviews Microbiology* 13, 388-396. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3452>
- León-Borges, J. A. y Lizardi-Jiménez, M. A. (2017). Hydrocarbon pollution in underwater sinkholes of the Mexican Caribbean caused by tourism and asphalt: Historical data series and cluster analysis. *Tourism Management* 63, 179-186. <https://doi.org/10.1016/j.tourman.2017.06.018>
- Li, X., Zheng, R., Zhang, X., Liu, Z., Zhu, R., Zhang, X. y Gao, D. (2019). A novel exoelectrogen from microbial fuel cell: Bioremediation of

- marine petroleum hydrocarbon pollutants. *Journal of Environmental Management* 235, 70-76. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.01.007>
- Lizardi-Jiménez, M. A., Leal-Bautista, R. M., Ordaz, A. y Reyna-Velarde, R. (2015). Airlift bioreactors for hydrocarbon water pollution remediation in a tourism development pole. *Desalination and Water Treatment* 54, 44-49. <https://doi.org/10.1080/19443994.2013.876670>
- Machain-Castillo, M. L., Ruiz-Fernández, A. C., Gracia, A., Sanchez-Cabeza, J. A., Rodríguez-Ramírez, A., Alexander-Valdés, H. M. y Hollander, D. J. (2019). Natural and anthropogenic oil impacts on benthic foraminifera in the southern Gulf of Mexico. *Marine Environmental Research* 149, 111-125. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2019.06.006>
- May-Cua, E. R., Toledano-Thompson, T., Alzate-Gaviria, L. M. y Barahona-Pérez, L. F. (2019). A cylindrical-conical photobioreactor and a sludge drying bed. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 18, 1-11. <https://doi.org/https://doi.org/10.24275/uam/izt/dchi/revmexingquim/2019v18n1/May>
- Maydeu-Olivares, A. y Garcia-Forero, C. (2010). Goodness-of-fit testing author. *International Encyclopedia of Education* 7, 190-196.
- Medina-Moreno, S. A., Huerta-Ochoa, S. y Gutiérrez-Rojas, M. (2005). Hydrocarbon biodegradation in oxygen-limited sequential batch reactors by consortium from weathered, oil-contaminated soil. *Canadian Journal of Microbiology* 51, 231-239. <https://doi.org/10.1139/w04-130>
- Medina-Moreno, S. A., Jiménez-González, A., Gutiérrez-Rojas, M. y Lizardi-Jiménez, M. A. (2013). Hexadecane aqueous emulsion characterization and uptake by an oil-degrading microbial consortium. *International Biodeterioration and Biodegradation* 84, 1-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.05.018>
- Melgarejo-Torres, R., De la Concha-Gómez, A. D., Calva-Hernández, R. y Lizardi-Jiménez, M. A. (2017). Study of variation in droplet size of an aqueous-diesel emulsion formed by an oil-degrading microbial consortium. *Journal of Petroleum Science and Engineering* 157, 951-957. <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2017.08.011>
- Nápoles-Álvarez, J., Ábalos Rodríguez, A., Rodríguez Pérez, S., Sánchez-Vázquez, V. y Gutiérrez-Rojas, M. (2017). Airlift bioreactor using a bacterial mixed culture improves hydrocarbon degradation in contaminated salty water. *Desalination and Water Treatment* 86, 28-34. <https://doi.org/10.5004/dwt.2017.21307>
- Noboa, G., Márquez, L. y López, J.-C. (2017). Tamaño de gota: Factor determinante sobre la velocidad de clarificación de una emulsión o / w. *Ciencia e Ingeniería* 38, 259-264.
- Ortega-de la Rosa, N. D., Vázquez-Vázquez, J. L., Huerta-Ochoa, S., Gimeno, M. y Gutiérrez-Rojas, M. (2018). Stable bioemulsifiers are produced by *Acinetobacter bouvetii* UAM25 growing in different carbon sources. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 41, 859-869. <https://doi.org/10.1007/s00449-018-1920-5>
- Ortiz-Salinas, R., Cram, S. y Sommer, I. (2012). Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en suelos de la llanura aluvial baja del estado de Tabasco, México. *Universidad y Ciencia* 28, 131-144. <https://doi.org/10.19136/era.a28n2.21>
- Rodríguez-Gómez, C. F., Aké-Castillo, J. A. y Campos-Bautista, G. (2013). Productividad primaria bruta y respiración planctónica en el parque nacional sistema arrecifal veracruzano. *Hidrobiologica* 23, 143-153.
- Ruiz-Fernández, A. C., Betancourt Portela, J. M., Sericano, J. L., Sanchez-Cabeza, J. A., Espinosa, L. F., Cardoso-Mohedano, J. G. y Garay Tinoco, J. A. (2016). Coexisting sea-based and land-based sources of contamination by PAHs in the continental shelf sediments of Coatzacoalcos River discharge area (Gulf of Mexico). *Chemosphere* 144, 591-598. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.08.081>

- Sabnis, S. y Juvale, V. (2016). Enrichment and isolation of biosurfactant producers from marine environment. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 5, 730-740. <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.504.084>
- Sánchez-Vázquez, V., Shirai, K., González, I. y Gutiérrez-Rojas, M. (2017). Fungal biocatalyst activated by an electric field: Improved mass transfer and non-specificity for hydrocarbon degradation in an airlift bioreactor. *Journal of Hazardous Materials* 337, 62-71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.05.001>
- Singh, R. y Rathore, D. (2019). Impact assessment of azulene and chromium on growth and metabolites of wheat and chilli cultivars under biosurfactant augmentation. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 186, 109789. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109789>
- Su, R., Sujarani, M., Shalini, P. y Prabhu, N. (2019). A review on bioreactor technology assisted plant suspension culture. *Asian Journal of Biotechnology and Bioresource Technology* 5, 1-13. <https://doi.org/10.9734/ajb2t/2019/v5i330062>
- Tancell, P. J., Rhead, M. M., Trier, C. J., Bell, M. A. y Fussey, D. E. (1995). The sources of benzo[a]pyrene in diesel exhaust emissions. *Science of the Total Environment* 162, 179-186. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(95\)04453-8](https://doi.org/10.1016/0048-9697(95)04453-8)
- Tiselius, P. y Magnusson, K. (2017). Toxicity of treated bilge water: The need for revised regulatory control. *Marine Pollution Bulletin* 114, 860-866. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.11.010>
- Tomaszewska, M., Orecki, A. y Karakulski, K. (2005). Treatment of bilge water using a combination of ultrafiltration and reverse osmosis. *Desalination* 185, 203-212. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2005.03.078>
- Tormoehlen, L. M., Tekulve, K. J. y Nañagas, K. A. (2014). Hydrocarbon toxicity: A review. *Clinical Toxicology* 52, 479-489. <https://doi.org/10.3109/15563650.2014.923904>
- Turner, N. R. y Renegar, D. A. (2017). Petroleum hydrocarbon toxicity to corals: A review. *Marine Pollution Bulletin* 119, 1-16. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.04.050>
- Tzintzun-Camacho, O., Loera, O., Ramírez-Saad, H. C. y Gutiérrez-Rojas, M. (2012). Comparison of mechanisms of hexadecane uptake among pure and mixed cultures derived from a bacterial consortium. *International Biodeterioration and Biodegradation* 70, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.01.009>
- Valdivia-Rivera, S., Varela-Santos, E. del C., Quiñones-Muñoz, T. A., Hernández-Martínez, R. y Lizardi-Jiménez, M. A. (2019). Production of hydrocarbon-degrading microorganisms using agricultural residues of *Mangifera indica* L. and *Carica papaya* as carbon source. *3 Biotech* 9, 0. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1574-2>
- Varjani, S. J. (2017). Microbial degradation of petroleum hydrocarbons. *Bioresource Technology*, 223, 277-286. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.037>
- Vidali, M. K. (2011). Bioremediation - An overview. *Journal of Industrial Pollution Control* 27, 161-168. <https://doi.org/10.1351/pac200173071163>
- Whang, L. M., Liu, P. W. G., Ma, C. C. y Cheng, S. S. (2008). Application of biosurfactants, rhamnolipid, and surfactin, for enhanced biodegradation of diesel-contaminated water and soil. *Journal of Hazardous Materials* 151, 155-163. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.05.063>
- Wu, X. y Merchuk, J. C. (2004). Simulation of algae growth in a bench scale internal loop airlift reactor. *Chemical Engineering Science* 59, 2899-2912. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2004.02.019>
- Yang, S. dong, Tang, T., Tan, Y. meng, Wang, F. yun, Zhang, W. bing, Li, T. y Xia, M. zhu. (2019). Determination of benzo(a)pyrene in fried and baked foods by HPLC combined with vesicular coacervative supramolecular solvent extraction. *Journal of Food Science and Technology* 56, 428-435. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3504-4>

Zeppieri, S., Ramírez, Y., Molina, J. y De Ramos, A. L. L. (2009). Estudio experimental de la tensión interfacial transitoria para sistemas alcanos-agua-triton X-100 empleando la técnica de la

gota emergente. *Informacion Tecnologica* 20, 125-135. <https://doi.org/10.1612/inf.tecnol.4119it.08>