



REMOCIÓN DE HIDROCARBUROS DE PETRÓLEO DE UN SUELO DE BAJA PERMEABILIDAD: BIORREMEDIACIÓN Y ELECTORREMEDIACIÓN

REMOVAL OF PETROLEUM HYDROCARBONS FROM A LOW PERMEABILITY SOIL: BIOREMEDIATION AND ELECTROREMEDIATION

M.A. Martínez-Prado*, C.E. Soto-Álvarez

TNM-Instituto Tecnológico de Durango. Blvd. Felipe Pescador # 1830 Ote. Col. Nueva Vizcaya, C.P. 34080, Durango, Dgo., México.

Recibido: 15 de Abril de 2017; Aceptado: 24 de Junio de 2017

Resumen

Se evaluó el efecto conjunto de la combinación de dos variables: (1) la aplicación de una corriente de baja intensidad para la desorción de un compuesto orgánico presente en el suelo y su migración a la fase líquida (ER) y (2) la acción de los microorganismos autóctonos en la degradación de dicho compuesto (BR); en el tratamiento de un suelo contaminado con hidrocarburos en una celda experimental con recirculación. Se construyó una celda electrocinética la cual contaba con un par de electrodos (ánodo-cátodo) de acero inoxidable para la aplicación de corriente de baja intensidad, se usó SMM como fuente de nutrientes y agitación para garantizar condiciones aeróbicas. Se aislaron dos microorganismos autóctonos del suelo contaminado (*Aspergillus* sp y *Flavobacterium* sp), seleccionados por su alto potencial de degradación del diésel y empleados en pruebas de biorremediación en reactores batch. Se demostró que la corriente suministrada, la adición de nutrientes y la presencia de oxígeno aceleró el crecimiento de los microorganismos nativos en la EBR ($6.13 \pm 1.22 \times 10^{13}$ UFC/mL) superior al de BR ($4.57 \pm 0.80 \times 10^{13}$ UFC/mL); con una mayor remoción de los hidrocarburos (EBR: $86.67 \pm 2.23\%$ vs BR: $73.18 \pm 3.16\%$) a 190 horas de tratamiento.

Palabras clave: biorremediación, celda electrocinética, electrorremediación, suelo contaminado con hidrocarburos, nutrientes.

Abstract

This research evaluated the combined effect of two variables: (1) the application of a low intensity current for the desorption of an organic compound present in the soil and its migration to the liquid phase (ER) and (2) the action of autochthonous microorganisms in the degradation of the organic compound (BR), in the treatment of a soil contaminated with hydrocarbons in an experimental unit with recirculation. An electrokinetic unit was built which included a pair of stainless steel electrodes (anode and cathode) to apply a low potential gradient, MSS was used as source of nutrients and mixed to ensure aerobic conditions. Two indigenous microorganisms were isolated from the contaminated soil (*Aspergillus* sp and *Flavobacterium* sp), selected because of their high diesel degradation potential and used in batch reactor bioremediation tests. It was demonstrated that electric current applied, addition of nutrients, and oxygen accelerated the microbial growth of native microorganisms in EBR experiments ($6.13 \pm 1.22 \times 10^{13}$ CFU/mL) and were higher than in BR tests ($4.57 \pm 0.80 \times 10^{13}$ CFU/mL); and a higher hydrocarbons removal efficiency (EBR: $86.67 \pm 2.23\%$ vs BR: $73.18 \pm 3.16\%$), after 190 hours of treatment.

Keywords: bioremediation, electrokinetic unit, electroremediation, hydrocarbon contaminated soil, nutrients.

1 Introducción

El suelo es considerado como un recurso indispensable y no renovable del planeta y es fuente de nutrientes minerales de todo organismo terrestre (Luo and Zhou, 2006). Los hidrocarburos totales de petróleo (HTP) es un término empleado para describir una familia de miles de compuestos de hidrocarburos originados de petróleo crudo e incluyen compuestos alifáticos

(acíclicos) y aromáticos (cíclicos); sus propiedades fisicoquímicas (baja solubilidad y alta hidrofobicidad) son las responsables de su persistencia en la matriz del suelo por tiempos prolongados, afectando la flora y la fauna de los diferentes ecosistemas. Principalmente se definen como cadenas de carbono que caen dentro del rango de C6 a C35 (gasolina, diésel y aceite) y dado que existen muchos compuestos químicos en el petróleo crudo no es práctico su análisis individual, de aquí que su cuantificación como

* Autora para la correspondencia. E-mail: adriana.martinez@orst.edu

HTP es comúnmente aceptada (ATSDR, 2017). Los accidentes derivados principalmente de la extracción, transporte y fugas de hidrocarburos son algunas de las fuentes antropogénicas típicas y la causa principal de contaminación del suelo; por lo que se requiere de prácticas adecuadas en el manejo de estos compuestos para evitar su derramamiento al medio ambiente, así como de alternativas de solución convenientes para la remoción de dichos contaminantes (Kim y col., 2005).

Dada la alta recurrencia de derrames de diferentes tipos de contaminantes y lo imperante que es la protección y preservación del medio ambiente, se ha incrementado el interés por el desarrollo de tecnologías emergentes que involucran procesos biológicos y físico-químicos o la combinación de ambos, para la remediación de suelos contaminados (Virkyute y col., 2002; Yuan and Weng, 2004; Lynch y col., 2007; Martínez-Trujillo y García-Rivero, 2012; Cisneros-de La Cueva y col., 2014; Martínez-Prado y col., 2014; Cisneros-de La Cueva y col., 2016), entre las que destacan la biorremediación (BR), la remediación electrocinética (ER) y la electrobiorremediación (EBR).

1.1 Biorremediación (BR)

La biorremediación se describe como un proceso biológico donde los contaminantes orgánicos son oxidados, degradados y/o transformados a dióxido de carbono, agua y material celular (biomasa), por la acción sinérgica de diversos microorganismos, principalmente bacterias y hongos. La BR es una técnica de bajo costo de operación y mantenimiento, además de ser considerada ambientalmente amigable y sustentable para la regeneración de sitios contaminados. El grado de remoción de un contaminante depende de varios factores (presencia de sustrato/fuente de carbono/donador de electrones, aceptor de electrones, macro y micro nutrientes, microorganismos con capacidad de degradación, condiciones ambientales, etc.) incluidos en diferentes procesos como a continuación se detalla: (1) Bioatenuación: proceso natural de degradación; (2) Bioestimulación: estimulación intencional de los microorganismos mediante la adición de nutrientes, agua y donadores/aceptores de electrones; y (3) Bioaumentación: aumento de la población microbiana capaz de degradar y transformar el contaminante de interés. Dichas técnicas de remediación pueden y han sido empleadas solas o combinadas, *in-situ* o *ex-situ*, dependiendo del tipo y grado de contaminación del suelo a tratar (Gomes y col., 2012).

Otro aspecto importante que ha sido estudiado es el uso de surfactantes, como auxiliar en la técnica de BR, promoviendo la biodisponibilidad de contaminantes orgánicos al reducir la tensión superficial. La hidrofobicidad que los hidrocarburos poseen les confiere una baja solubilidad en la fase acuosa, lo que aumenta su tendencia de adsorción a la matriz del suelo. Se ha encontrado que el uso de surfactantes contribuye a la desorción y solubilización del contaminante, lo cual promueve la transferencia de masa y su degradación por parte de los microorganismos autóctonos del suelo; pero pueden a su vez ocasionar toxicidad e inhibir el proceso de degradación (Riojas-González y col., 2010).

1.2 Remediación electrocinética o Electrorremediación (ER)

Esta tecnología aprovecha las propiedades conductivas del suelo y está basada en la descarga de una corriente directa de baja intensidad (mA/cm^2) a través de una masa de suelo saturado con líquido como medio conductor, distribuido apropiadamente entre los electrodos (ánodo y cátodo), provocando cambios fisicoquímicos e hidrológicos en el suelo, con el fin de remover contaminantes orgánicos e inorgánicos o mezclados (Torres y col., 2003). La variación del pH (frente ácido en el ánodo y básico en el cátodo) ocurre debido a la electrólisis que se produce en el efluente bajo la acción del campo eléctrico. El potencial de óxido reducción (POR) influye en los microorganismos y su metabolismo, se requieren valores positivos de POR para la reproducción de microorganismos aeróbicos y valores negativos para los anaeróbicos. La conductividad eléctrica y los sólidos disueltos totales están íntimamente relacionados, una alta conductividad eléctrica facilita el paso de la corriente eléctrica al reducir la resistencia entre el suelo y el fluido; así pues al aplicar corriente eléctrica los compuestos presentes en el suelo migrarán a la fase líquida por efectos de desorción (Martínez-Prado y col., 2014).

Las principales ventajas de la ER son: (1) alta eficiencia en el tratamiento de suelos de baja permeabilidad hidráulica; (2) reducción en el tiempo de remediación; y (3) reducción en los costos, comparado con otras tecnologías tradicionales de remediación para el tratamiento por tonelada o metro cúbico de suelo contaminado (Jackman y col., 2001).

Los principales mecanismos de transporte que toman lugar en esta técnica de remediación, son la electroósmosis, electroforesis-electromigración y

electrólisis del agua (Rahner y col., 2002; De la Rosa-Pérez y col., 2007; Wick y col., 2004). La electroósmosis (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), y electroforesis (arrastre mecánico de coloides y microorganismos tales como bacterias) son definidos como el movimiento del fluido, partículas o coloides, inducidos por un campo eléctrico. La electromigración es el movimiento de especies iónicas disueltas en el fluido, donde su velocidad es proporcional a la fuerza del campo eléctrico. Debido a estos mecanismos de transporte se llevan a cabo reacciones de óxido-reducción (OR) en los electrodos y en todas las interfaces entre el suelo y el agua; éstas pueden ser inducidas dentro de una matriz sólida, si el suelo contiene partículas con propiedades conductoras (microconductores) (Jin and Fallgren, 2010).

1.3 Electrobiorremediación (EBR)

La electrobiorremediación (EBR) emplea la acción sinérgica de los fenómenos electrocinéticos y microbiológicos, resultado de combinar la BR y ER, para la orientación, el transporte y el aumento en la eficiencia de degradación biológica de los contaminantes o sus derivados (Li y col., 2012). En los últimos años se ha estudiado la integración de ambos procesos (biorremediación y electrorremediación) con la finalidad de acelerar la degradación de contaminantes orgánicos, aromáticos, herbicidas, etc. Esta tecnología puede ser empleada *in-situ* o *ex-situ* y es particularmente efectiva para suelos de baja conductividad hidráulica (Huang y col., 2013). En el caso de un proceso *ex-situ* y fuera de las instalaciones (*off-site*) típicamente se lleva a cabo con la finalidad de realizar investigación científica bajo condiciones controladas, para recolectar información valiosa que permita la optimización del mismo. Mientras que a nivel campo, por cuestiones prácticas, es común que el tratamiento *ex-situ* se efectúe en las mismas instalaciones (*on-site*), esto con la finalidad de tratar un mayor volumen, a las condiciones actuales del lugar en donde ocurrió la contaminación, sin la necesidad de trasladar el material y a un bajo costo. Para ello se debe realizar una excavación para remover el suelo contaminado y posteriormente someterlo a remediación, en donde se haya acondicionado la instalación del sistema de tratamiento, establecida de acuerdo a la metodología desarrollada en la etapa experimental y con el conocimiento de las

condiciones en que debe ser aplicada la técnica de remediación, o bien mediante la contratación de los servicios de empresas que ofrecen esta tecnología de remediación (De la Rosa-Pérez y col., 2007). Al combinar dichas tecnologías se aprovechan las ventajas que ambas ofrecen: (a) con la ER y como resultado de la aplicación de la corriente eléctrica se presenta una desorción del contaminante de la matriz del suelo (fase sólida) el cual migra a la fase líquida, aumentando así la concentración del sustrato en el medio. (b) la BR es llevada a cabo por los microorganismos autóctonos presentes en el suelo, los cuales utilizan dicho sustrato (contaminante que migró a la fase líquida) como donador de electrones-fuente de carbono y energía, siempre y cuando se cuente con la presencia de oxígeno (aceptor de electrones, respiración aeróbica) y los nutrientes necesarios para un metabolismo adecuado; requerimientos indispensables para el acoplamiento de la reacción de óxido-reducción, obteniendo así la energía necesaria para promover su reproducción (biomasa). De esta manera se puede lograr un tratamiento integral al remover el contaminante adherido a la matriz del suelo y lograr su degradación en la fase líquida por los microorganismos autóctonos presentes en el sistema (Martínez-Prado y col., 2014).

El estado de Durango se ha caracterizado por ser tradicionalmente minero, cuenta con aproximadamente 29 empresas nacionales y extranjeras con actividades de explotación en aproximadamente 60 minas en el estado; ocupa el segundo lugar en la producción de oro y plata y destaca además en la producción de plomo, cobre y zinc (SGM, 2016). Sin embargo, esta gran derrama económica ha acarreado fuertes problemas atmosféricos, paisajísticos, hidrológicos, edáficos, faunísticos y florísticos; ocasionando la eliminación o alteración de los hábitats de muchas especies, la ruptura de las cadenas tróficas, así como la introducción de sustancias nocivas en la biosfera.

Una de las instalaciones del corporativo minero *Goldcorp México*, ubicada en el municipio de San Dimas en Tayoltita, Durango, ha enfrentado el problema de contaminación de suelo durante varios años. La detección de dicha contaminación fue resultado de una auditoría ambiental realizada a la empresa, ocasionada principalmente por derrames accidentales de hidrocarburos (diésel, gasolina y aceite) por el mantenimiento a su maquinaria y flota vehicular. Como compromiso hacia la comunidad y respeto al medio ambiente la empresa se apegó al programa de Industria Limpia; con base en

el cumplimiento de las regulaciones ambientales establecidas en la normatividad vigente (NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012), la cual establece los límites máximos permisibles (LMP) de las distintas fracciones de hidrocarburos de acuerdo al uso predominante del suelo (SEMARNAT, 2012).

El presente trabajo tuvo como objetivo principal evaluar la combinación de los procesos de biorremediación y electrorremediación para dar tratamiento a un suelo contaminado con hidrocarburos (cuantificados como HTP) procedente de dicha mina. La eficiencia del tratamiento se determinó con base en la cinética de reproducción de los microorganismos derivada de la degradación de los hidrocarburos, en donde el contaminante fue empleado como sustrato (donador de electrones-fuente de carbono y energía) en un proceso aeróbico (O_2 , aceptor de electrones), la evaluación del comportamiento de los principales parámetros que influyeron en el tratamiento: concentración del ion hidronio (pH), conductividad eléctrica (CE), biomasa microbiana, sólidos disueltos totales (SDT) y potencial zeta (Pzeta) y un balance de masa de los hidrocarburos en el sistema.

2 Materiales y métodos

2.1 Suelo a tratar: Procedencia y muestreo

El suelo contaminado sometido a tratamiento provino de un almacén de confinamiento de la empresa *Goldcorp México*, Unidad Minera San Antonio, la cual se dedica a la explotación de vetas de oro y plata. El complejo minero se localiza en las quebradas de la sierra madre occidental, en la localidad de Tayoltita, perteneciente al municipio de San Dimas, Durango, México. El muestreo se efectuó *in-situ* por personal calificado de la empresa, empleando el método de cuarteo para obtener una muestra compuesta que fuera representativa del suelo a tratar, siguiendo lo recomendado por la normatividad. Todos los experimentos realizados en la presente investigación se efectuaron con muestras procedentes del mismo lote de suelo contaminado.

2.2 Biorremediación

Se realizaron pruebas a nivel laboratorio en reactores batch (Wheaton 400 vidrio borosilicato transparente con tapa de rosca fenólica) de 740 mL de capacidad.

Los reactores comprendieron una fase líquida de 100 mL de solución de medio mineral (SMM) como fuente de macro y micro nutrientes, una fase sólida de 50 gramos de suelo contaminado y el resto del volumen fue aire para garantizar la presencia de oxígeno (aceptor de electrones en el proceso de degradación aeróbica de los hidrocarburos). La SMM constó de: 1.5 g/L K_2HPO_4 , 1.5 g/L KH_2PO_4 , 2 g/L NH_4NO_3 , 0.5 g/L $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1 g/L NaCl y 1 mL de una solución de $FeSO_4$ con EDTA ($C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$) (Martínez-Prado & Williamson, 2011). Se incluyeron dos controles: el primero (C1) fue formulado con 100 mL de agua destilada (ausencia de micro y macro nutrientes) y 50 g de suelo contaminado. El segundo control (C2) constó de 100 mL de SMM (presencia de micro y macro nutrientes) y 50 g de suelo esterilizado (ausencia de microorganismos). Los reactores se mantuvieron a 30°C en una incubadora (Shel Lab), mezclados a 150 revoluciones por minuto (rpm) y fueron monitoreados a lo largo de 190 horas. La evaluación de la presencia y reproducción de los microorganismos autóctonos se determinó a través de la cuantificación de las unidades formadoras de colonia (UFC) por el método de recuento en placa.

2.2.1 Aislamiento del consorcio microbiano y degradación de diésel

Cabe destacar que estas pruebas se realizaron tomando como consideración que la contaminación en las instalaciones de la mina fue ocasionada en su mayoría por derrames de diésel, sustentada con información del personal de la empresa así como de investigaciones paralelas (Salinas-Martínez y col., 2008; Martínez-Prado y col., 2014). Esta etapa se realizó con la finalidad de identificar los microorganismos autóctonos del suelo contaminado con capacidad de metabolizar los hidrocarburos, para ello se llevó a cabo el aislamiento, conservación y medición de las cinéticas de crecimiento y la degradación del diésel de la biota microbiana como a continuación se especifica. Para la reproducción de los microorganismos se empleó un reactor batch de 1 L (Wheaton 400 vidrio borosilicato transparente con tapa de rosca fenólica): 100 mL de SMM, 1 g de suelo contaminado, 1 mL de diésel (referidos como HTP, término aceptado para su cuantificación) como fuente de carbono y energía (donador de electrones, de^-) y 900 mL de fase gaseosa (21% de O_2) para garantizar condiciones aerobias a lo largo de todo el proceso. Para el aislamiento de los microorganismos se empleó

la técnica de cultivo puro mediante el método de siembra en placa, las cajas Petri se incubaron a 30°C por un periodo de 7 días.

Las pruebas de degradación se realizaron empleando reactores batch de la misma capacidad: 100 mL de SMM, 1 mL de diésel como fuente de carbono y energía (donador de electrones, de^-), 1 mL de inóculo de los microorganismos aislados del suelo contaminado y presencia de oxígeno en la fase gaseosa. Los reactores se incubaron a 30°C y se mezclaron a 150 rpm para garantizar una concentración homogénea. El diésel empleado para los experimentos de degradación fue proporcionado por PEMEX (Petróleos Mexicanos) cuya composición era: alcanos (42.7%), ciclo-alcanos (33.4%) y aromáticos (23.9%), de acuerdo a su hoja de datos de materiales y seguridad.

2.3 Electrobiorremediación (EBR)

2.3.1 Unidad experimental

Se diseñó y construyó un prototipo experimental hecho de acrílico (1/8"), con dimensiones de 35 cm de largo, 25 cm de alto y 15 cm de ancho. La unidad experimental constó de tres compartimentos, su diseño, distribución y dimensiones se detallan en la Fig. 1, su funcionamiento se describe a continuación:

1. En el compartimento A (4.3 L) se bombeó la solución acuosa (SMM) mediante una bomba

peristáltica a flujo constante de 8 mL/min.

2. En el compartimento B (4 L) se llevó a cabo el proceso electrocinético, constó de dos placas rectangulares (10 x 15 cm) de acero inoxidable (ánodo y cátodo) separados a 13 cm de distancia entre sí y con capacidad de confinar 1.5 kg de suelo contaminado. Los electrodos estaban dispuestos en posición horizontal y fueron perforados con broca de 1/8"; las perforaciones permitieron el flujo vertical de la solución acuosa en dirección ascendente, permitiendo el arrastre del contaminante (cuantificado como HTP).
3. En el compartimento C (3.2 L) se recolectó el extracto acuoso el cual era homogenizado (elutriado) con un agitador (Heidolph modelo RZR-2020, 27 watts), el flujo de salida era regulado por medio de una válvula que se encontraba conectada a un tanque cerrado de almacenamiento.
4. Tanque cerrado de almacenamiento (2 L) equipado con un agitador magnético (Carlo Erba) para garantizar la homogenización de la solución para su posterior recirculación a la sección A de la celda electrocinética, a un flujo constante de 8 mL/min empleando una bomba Varistaltic (Monostat modelo 72-310-000, 210 watts).

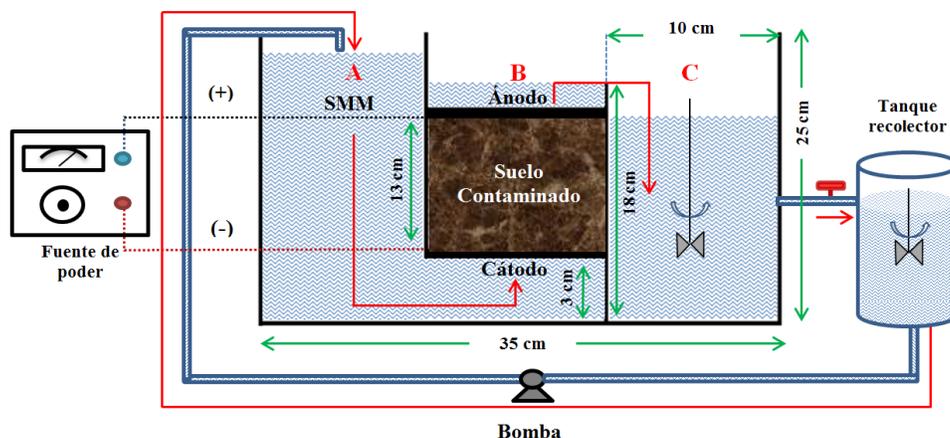


Fig. 1. Unidad experimental electrocinética con recirculación y flujo vertical ascendente. Tres compartimentos para el tratamiento de 1.5 kg de suelo contaminado con hidrocarburos de petróleo (cuantificados como HTP). Las flechas rojas indican la dirección del flujo.

El campo eléctrico se creó conectando a las placas una corriente directa a voltaje constante, para ello se empleó una fuente de poder Variac (0-140 VAC y salida de 10 amps); conectada a un transformador de AC/DC (corriente alterna a corriente directa). Se aplicó al sistema un voltaje constante de 12.5 volts (V) cuyo gradiente de voltaje eléctrico fue de 0.96 V/cm. Cabe destacar que la desorción de los hidrocarburos ocurre en el compartimento B, por ser en donde se encuentra el suelo a tratar confinado entre los dos electrodos y a través de los cuales se aplica la corriente de baja intensidad.

Para el tratamiento del suelo se prepararon 12 L de solución de medio mineral (SMM), como fuente de nutrientes, para la bioestimulación de los microorganismos autóctonos presentes en el suelo contaminado, la corrida experimental se llevó a cabo con el bombeo continuo de la solución a través de la celda y con una duración de 190 horas. La degradación de los hidrocarburos tuvo lugar en mayor proporción en el compartimento B, donde la concentración de los hidrocarburos y carga de microorganismos nativos del suelo es mayor, y en menor medida en el resto de la celda pues el efluente fue recirculado a un flujo constante.

2.4 Medición de parámetros

Se evaluó el comportamiento de los parámetros clave a través del muestreo de la fase líquida del compartimento C, por ser la sección que recibía el efluente después de llevarse a cabo el proceso de remediación (BR y ER): concentración del ion hidronio (pH), potencial de óxido reducción (POR) y temperatura (T) con un medidor multi-paramétrico (Membrana pH-meter Hanna, No. HI 8314); conductividad eléctrica (CE) y sólidos disueltos totales (SDT) con un medidor Waterproof Hanna, No. HI 98311; potencial zeta (Pzeta) con medidor Zeta-Meter 3.0 + Microscope Hitachi; y las unidades formadoras de colonias (UFC) por recuento en placa.

2.5 Preparación de muestras y cuantificación de HTP

2.5.1 Muestra acuosa

En un vial VOA (Volatile Organic Analysis, por sus siglas en inglés) de 40 mL de capacidad se recolectaron 10 mL de fase acuosa, a dicha muestra

se le adicionó ácido sulfúrico grado HPLC (High Performance Liquid Chromatography) hasta lograr un pH < 2, inmediatamente después fue refrigerada a una temperatura de -12°C. Dicho tratamiento era requerido para el almacenamiento y conservación de las muestras hasta por 14 días, para su posterior análisis cromatográfico de acuerdo a lo establecido por la técnica de cuantificación de HTP (TNRCC, 2001).

2.5.2 Muestra sólida

Previo al análisis, las muestras de suelo se dejaron secar a temperatura ambiente por 24 horas; enseguida, para retirar la totalidad de la humedad se adicionó sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄) y se dejó reposar por un periodo de 8 días. Una vez seco, se tomaron 10 g de suelo y se le adicionaron 10 mL de pentano grado HPLC y se dejó reposar 1 día para extraer los hidrocarburos (cuantificados como HTP), para posteriormente analizar las muestras de acuerdo al método ya especificado.

2.6 Cuantificación de HTP y balance de masa

La cuantificación de los hidrocarburos, en las muestras sólidas y acuosas, se realizó empleando un cromatógrafo de gases (CG) Agilent modelo 6890, adaptado a un detector de ionización de flama, con inyector no fraccionado y columna capilar. Las condiciones fueron implementadas (Tabla 1) de acuerdo a la técnica 1005 establecida por el Texas Natural Resource Conservation Commission (TNRCC, 2001).

El balance de masa y la eficiencia de remoción se determinó para cada proceso evaluado: BR (reactores batch) y EBR (celda electrocinética), Fig. 2. Para dicha estimación se consideró el volumen de la fase acuosa comprendida por la solución de medio mineral (SMM) y empleada como fuente de macro y micro nutrientes (BR: 100 mL y EBR: 11.5 L), la masa del suelo a tratar como la fase sólida (BR: 50 g y EBR: 1.5 kg), así como la concentración de hidrocarburos (cuantificados como HTP) en el suelo contaminado a tratar (t = 0), en el suelo tratado (t = 190 h) y en el efluente líquido (BR: reactor batch y EBR: compartimento C), haciendo uso de la Ec. (1).

$$R_{HTP} = HTP_o - (HTP_f)_{Suelo} - (HTP_f)_{Efluente} \quad (1)$$

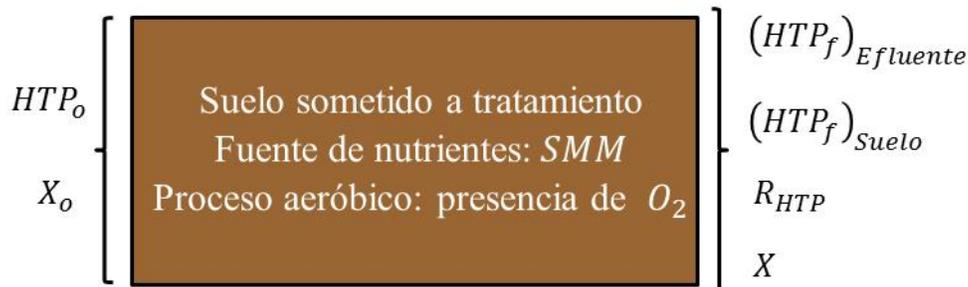


Fig. 2. Balance de masa en el sistema: Hidrocarburos presentes @ $t = 0$ (HTP_o); Biomasa inicial (X_o) y final (X) de microorganismos autóctonos; Hidrocarburos al final del tratamiento ($t = 190$ h) en la fase líquida (HTP_f)_{Efluente} y en el suelo tratado (HTP_f)_{Suelo}; Remoción de hidrocarburos (R_{HTP}). Solución de medio mineral (SMM).

Tabla 1. Condiciones cromatográficas para la cuantificación de hidrocarburos de petróleo

Horno	Temperatura inicial: 40°C durante 3 min Rampa 1: 15°C/min hasta 300°C, mantener 4 min Rampa 2: 15°C/min hasta 315°C
Columna	Capilar 30 m x 320 μ m x 0.25 μ m nominal HP-5 5% Phenyl Methyl Siloxano Gas acarreador: Helio Flujo inicial: 3.5 mL/min, durante 24.33 min Rampa 1: 3 mL/min hasta 6 L/min durante 5.67 min

2.7 Análisis de resultados

Las pruebas se realizaron por triplicado en todos los casos (BR y EBR), se tomaron muestras a diferentes tiempos a lo largo del experimento para monitorear los cambios que ocurrieran en los parámetros evaluados, así como un balance de masa de hidrocarburos en el sistema; los resultados son expresados en promedio \pm desviación estándar. Se empleó un ANOVA para la diferencia de medias a un intervalo de confianza del 95%.

3 Resultados y discusión

3.1 Caracterización del suelo

Las características físicas de un suelo contaminado son básicas para la selección y diseño del proceso de remediación a emplear. Se enviaron muestras del suelo contaminado a un laboratorio certificado (Herat Tech México S.A. de C.V.) para evaluar sus propiedades

Tabla 2. Características físicas del suelo a remediar, procedente de la mina de Tayoltita, Durango

Potencial hidrógeno (pH)	9.05
Conductividad (mmhos/cm)	2.13
Capacidad de campo (g H ₂ O/100 g)	38.79
% de Arcilla	43.08
% de Arena	38.72

físicas, los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 2.

Con base en los resultados el suelo nativo procedente de la mina se clasificó como residuo industrial, por ser alcalino con un pH > 9 (EPA, 2009); la CE (>1 mmhos/cm) correspondió a la de un suelo ligeramente salino y con 38.72% de permeabilidad (% de arena). Por consiguiente este suelo es considerado de baja permeabilidad hidráulica, por la composición de arcilla en su estructura sólida (43.08%) y estar conformada por una gran cantidad de microporos, permitiendo una lenta velocidad de

absorción o infiltración de agua (Luo y Zhou, 2006). Las propiedades físicas del suelo hacen que éste sea adecuado para ser sometido a tratamiento de biorremediación y electroremediación.

3.2 Aislamiento e identificación de microorganismos

El uso de una gran diversidad de microorganismos procarióticos (bacterias) y eucarióticos (hongos), en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, han dado resultados positivos en pruebas experimentales a diferente escala (Zanaroli y col., 2010; Pernía y col., 2012). En la presente investigación se realizaron pruebas con la finalidad de identificar las especies nativas encargadas de la degradación de los hidrocarburos. Con base en los resultados obtenidos, los principales microorganismos responsables de la degradación aeróbica (oxígeno como aceptor de electrones, ae^-) de los hidrocarburos presentes en el suelo contaminado, en su mayoría diésel (fuente de carbono y donador de electrones, de^-) fueron un hongo y una bacteria: *Aspergillus* sp y *Flavobacterium* sp, respectivamente. La identificación de los microorganismos se llevó a cabo de acuerdo a las características morfológicas y taxonómicas descritas y reportadas en un estudio previo (Salinas-Martínez y col., 2008) realizado para la misma compañía minera. La eficiencia de remoción del sustrato (degradación del diésel) fue mayor en el cultivo bacteriano (*Flavobacterium* sp) con un $57.14 \pm 1.78\%$; mientras que para el cultivo fúngico (*Aspergillus* sp) solo se alcanzó un $43.55 \pm 2.95\%$, bajo las mismas condiciones experimentales.

Pernía y col. (2012) presentó una revisión exhaustiva de investigaciones realizadas en los últimos 50 años referente a la diversidad fúngica y su capacidad hidrocarbonoclastica; dentro de las especies aisladas de sitios contaminados con crudo y sus derivados, encontrándose que el género *Aspergillus* fue uno de los de mayor frecuencia (17%), con remociones del $52 \pm 3.53\%$ de hidrocarburos de petróleo. Mientras que por su parte el género *Flavobacterium* destaca, dentro de los microorganismos procarióticos heterotróficos, como uno de los más importantes degradadores de hidrocarburos; por poseer la capacidad metabólica para efectuar dicha transformación, obteniendo como productos moléculas inocuas que pueden ser incorporadas a los ciclos biogeoquímicos naturales. Así mismo se reporta con frecuencia que el uso de consorcios bacterianos ofrece mayor porcentaje de

remoción que si se emplearan cultivos puros (Arrieta-Ramírez y col., 2012).

3.3 Análisis de los parámetros

La interpretación en la variación de los parámetros evaluados (pH, POR, CE, SDT, Pzeta y UFC) es importante por ser indicativa del progreso en el proceso de remediación. Cabe destacar que la electroósmosis, electroforesis, electromigración y mecanismos de transporte de masa y energía, son los principales fenómenos que intervienen en la evaluación de los parámetros monitoreados a lo largo del proceso y serán discutidos según se aborde cada parámetro.

3.3.1 Comunidad microbiana

La comunidad heterotrófica autóctona presente en el suelo contaminado fue capaz de reproducirse al metabolizar los hidrocarburos en ambos procesos evaluados. La mineralización aeróbica de compuestos orgánicos deriva en la producción, transformación y posible acumulación de metabolitos intermedios para posteriormente producir bióxido de carbono como producto final, dependiendo de la estructura del compuesto. En esta investigación se cuantificó la degradación de los hidrocarburos en función de la disminución de la concentración de los HTP mediante cromatografía de gases, asociado a la síntesis celular o reproducción de los microorganismos nativos del suelo contaminado, expresada como biomasa en unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/mL). En la biorremediación (BR) se alcanzó una concentración máxima de $4.57 \pm 0.80 \times 10^{13}$ UFC/mL con una tasa de utilización máxima de 0.015 ± 0.002 1/h. En el caso de la electrobiorremediación (EBR) la concentración máxima que se alcanzó fue de $6.13 \pm 1.02 \times 10^{13}$ UFC/mL con una tasa de utilización máxima de 0.097 ± 0.004 1/h; dichas estimaciones fueron determinadas en la fase de crecimiento exponencial en ambos casos (ER y BR). El experimento que combinó la biorremediación y la electroremediación mostró una mayor concentración celular y una mayor tasa de utilización de sustrato que en el caso de la biorremediación; sustentado con un ANOVA en el cual se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$) en ambos casos.

Estos resultados demuestran que (a) la corriente de baja intensidad aplicada promovió la desorción de los hidrocarburos (sustrato: fuente de carbono y donador de electrones) del suelo hacia la fase

acuosa aumentando su disponibilidad y (b) la adición de nutrientes (SMM) estimuló el crecimiento microbiano permitiendo la degradación aeróbica de los hidrocarburos al acoplar la reacción de óxido-reducción con la presencia del oxígeno (aceptor de electrones). Cabe destacar que la electroósmosis y electromigración son los mecanismos que tienen mayor influencia en el transporte del contaminante, favoreciendo la desorción de los hidrocarburos ante la presencia de la corriente eléctrica aplicada al suelo a través de los electrodos y su migración hacia la fase acuosa. Dichos mecanismos de transporte fueron generados por la diferencia de potencial que se forma entre los electrodos; además de que la presencia de sales minerales (SMM) mejoró la conductividad eléctrica, requiriendo el suministro de un mejor voltaje. La electroósmosis es más eficiente en suelos de grano fino y altos contenidos de agua; es el mecanismo predominante en sustancias no iónicas, representa la movilización del poro del fluido cerca de la superficie de un campo eléctrico y es quizás el proceso de transferencia que supera a los otros mecanismos en matrices de suelo con baja permeabilidad (Wick y *col.*, 2007).

Varios estudios han confirmado que los microorganismos pueden ser estimulados electrocinéticamente a través del suelo y continuar con actividad en el proceso de biorremediación (Kim y *col.*, 2005; Shi y *col.*, 2008; Martínez-Prado y *col.*, 2014). La investigación realizada por Lear y *col.* (2004) sustenta como viable la remediación electrocinética; observando que en general la comunidad bacteriana mostró muy poca respuesta al proceso electrocinético al aplicar una corriente de 3.14 A/m^2 , con excepción del área cercana al ánodo, en donde se detectó una zona de pH bajo (< 4). En la presente investigación, y con base en los resultados obtenidos al combinar la biorremediación y la remediación electrocinética, la corriente eléctrica aplicada sí estimuló la desorción del contaminante y la actividad microbiana, lo que se vio reflejado en la aceleración de la degradación de los hidrocarburos aumentando la eficiencia de remoción al compararse con el proceso de biorremediación.

3.3.2 Potencial de óxido-reducción (POR)

El POR es un parámetro que influye en el comportamiento de los microorganismos, en el caso de los que practican respiración aeróbica se requieren valores positivos de POR para su desarrollo, mientras que en la anaeróbica se requieren valores negativos.

Mientras menos positivo sea el valor del POR, mayor será la tendencia a donar electrones; es decir que ocurrirá una mayor oxidación de los hidrocarburos en el proceso. Los datos obtenidos en la experimentación indicaron que los hidrocarburos fueron oxidados en ambos procesos de remediación, obteniéndose valores positivos de POR. Posterior a las 43 horas se obtuvieron valores de oxidación mucho más altos y por tiempos más prolongados (> 100 milivolts) en el proceso bioelectrocínético (EBR), apreciándose como evidencia el desarrollo de biomasa en la fase exponencial de la cinética de crecimiento de los microorganismos; de igual manera se pudo apreciar que después de las 140 horas se presentó un decremento en los valores de POR y biomasa. Un comportamiento similar fue reflejado para el proceso de biorremediación, pero con valores mucho menores. Como ya se mencionó, los microorganismos aerobios son metabólicamente activos a potenciales redox positivos; sin embargo, valores positivos bajos de POR son resultados de una respiración aeróbica intensa y secreción de sustancias reductoras, producto del metabolismo microbiano (Mn^{++} , Fe^{++} , H_2O , etc.).

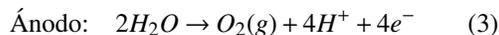
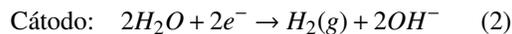
3.3.3 Conductividad eléctrica (CE) y sólidos disueltos totales (SDT)

La CE y los SDT están relacionados de manera directamente proporcional; una disminución en la CE es ocasionada por una baja concentración de iones (aniones y cationes) en el efluente, reflejándose un descenso en el transporte de la corriente eléctrica a través del efluente. Una disminución de los SDT indica el consumo de sales por parte de los microorganismos o la migración de las especies (positivas o negativas) hacia los electrodos. Ambos parámetros reflejaron un comportamiento similar durante toda la fase experimental en los dos procesos (BR y EBR), dada la dependencia en la concentración y migración de iones. Durante las primeras 22 horas se apreció un aumento en dichas cifras; posiblemente ocasionado por la migración de iones en el efluente, provenientes del suelo contaminado. Los valores promedio al final del experimento (190 h) en el compartimento C fueron de $9,465 \pm 166 \mu\text{S/cm}$ (CE) y $4,282 \pm 308 \text{ mg/L}$ (SDT).

3.3.4 Potencial zeta (Pzeta) y pH

En el proceso electroosmótico se lleva a cabo la electrólisis del agua, bajo las reacciones de óxido-

reducción establecidas en las Ecs. (2) y (3):



La oxidación del agua ocurre en el ánodo y genera iones hidronio (H^+) que se mueven hacia el cátodo, la reducción del agua ocurre en el cátodo y genera iones hidroxilo (OH^-) que se mueven hacia el ánodo, generando un frente ácido y básico respectivamente; donde el transporte de los iones H^+ es más rápido que el de los iones OH^- (Acar y col., 1995; Reddy y col., 2006).

El potencial zeta determina la velocidad de desplazamiento de las partículas al ser sometidas a un campo eléctrico. El Pzeta puede disminuir por la presencia de iones de la misma carga, el cual provoca una menor repulsión y disminuirá la capacidad del efluente por acarrear partículas; mientras que un aumento indica que hay una mayor estabilidad en la solución y su capacidad de acarrear partículas en el efluente aumentará. Bajo este criterio, se analizaron los valores de pH y potencial zeta, ya que ambos están inducidos principalmente bajo el proceso electroosmótico. Una disminución en el pH es indicativo de la presencia de hidrocarburos en el medio y del desarrollo de los microorganismos, en especial del *Aspergillus* que metaboliza el sustrato generando como producto ácido salicílico. Mientras que un aumento en el pH se manifiesta por la disminución de la concentración de los hidrocarburos y la disminución de la síntesis celular.

A lo largo del proceso de biorremediación y durante las primeras 43 horas del proceso de electrobiorremediación, el pH no varió significativamente. Posterior a las 43 horas (EBR) se observó una reducción drástica de los valores de pH, ocasionada quizás por la posible precipitación de sales. En las horas siguientes se presentó un aumento gradual de los niveles de pH, donde hay que considerar que la dirección de flujo ascendente del efluente en la celda experimental jugó un rol importante, interviniendo en las velocidades de los iones; este flujo ascendente ocasiona una velocidad opuesta de los iones H^+ ocasionando una disminución de su velocidad y un aumento en la velocidad de los iones OH^- apoyado por la atracción electromagnética que tienen hacia el ánodo. Este mismo comportamiento se ve reflejado en el Pzeta, donde el pH y la fuerza iónica

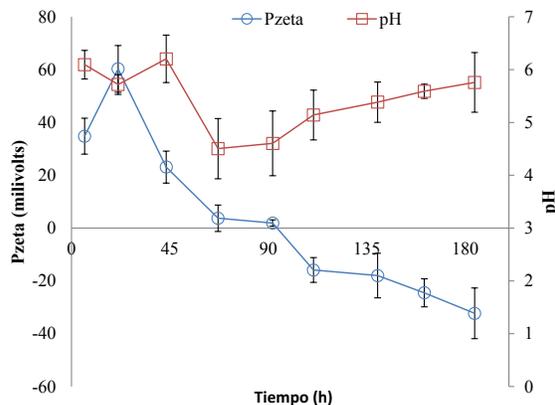


Fig. 3. Tratamiento de un suelo minero contaminado con hidrocarburos. Comportamiento del pH y Pzeta en el proceso de biorremediación electrocinética (EBR), a un flujo constante de 8 mL/min, con un gradiente de voltaje eléctrico de 0.96 V/cm y la aplicación de 12.5 volts.

del fluido intervienen en los valores del Pzeta. En las primeras horas ocurrió el fenómeno de transferencia de masa, ocasionando un aumento brusco del parámetro; posteriormente se observó un descenso progresivo hasta la parte final de la fase experimental. El Pzeta decrece linealmente a medida que el pH tiende a aumentar; soluciones ácidas generan valores menos negativos del Pzeta en el ambiente (Fig. 3). Se observó que entre las 67-90 horas el pH y potencial zeta permanecieron constantes; mientras que posterior a las 92 horas y hasta el final de la etapa experimental se apreció un comportamiento cónico, es decir el aumento en el pH fue proporcional a la disminución del Pzeta; dicho comportamiento es inducido por el proceso electroosmótico y el flujo ascendente del efluente. Yeung (1990) reportó eficiencias óptimas de remoción de compuestos orgánicos cuando el Pzeta se encuentra en el rango de -10 y -100 milivolts, misma situación observada en la presente investigación.

3.4 Remoción de HTP

Se dio seguimiento a experimentos de BR y EBR para evaluar el efecto de la aplicación de una corriente eléctrica de baja intensidad, en un suelo procedente de una empresa minera de la región, y la degradación aeróbica de los hidrocarburos por el consorcio microbiano nativo. Cabe hacer notar que los experimentos se realizaron con suelo de un mismo lote, sin embargo existió variación en la concentración de hidrocarburos en el material

empleado en la experimentación (38,000 a 75,000 mg de hidrocarburos/kg suelo). Lo anterior se pudo deber a que la empresa minera confina el suelo contaminado (procedente de diferentes áreas) en un almacén especial, se presume que aún y cuando se realizó un muestreo adecuado para obtener una muestra representativa existió variación en la concentración y esto se reflejó al caracterizar el suelo al inicio de los experimentos, aún y cuando el material del lote de suelo a tratar fue homogenizado; esto se puede atribuir a que existían áreas con mayor concentración de hidrocarburos, lo cual es muy cercano a la realidad en los sitios contaminados en especial para fuentes puntuales. Para el proceso de BR se obtuvo una degradación máxima del orden de $73.18 \pm 3.16\%$, mientras que para el proceso de EBR se obtuvo un promedio de $86.67 \pm 2.23\%$; observándose que los porcentajes de remoción fueron del mismo orden en las réplicas, independientemente de la concentración inicial. Aunque la escala a la que se realizaron las pruebas no fue la misma las condiciones experimentales si lo fueron, por lo que la diferencia en la remoción de hidrocarburos ($13.49 \pm 0.65\%$) se atribuye a la aplicación de la corriente de baja intensidad; sustentado de manera complementaria con resultados y comportamiento en experimentos paralelos que se desarrollaron como parte del mismo proyecto realizado a la empresa minera (Martínez-Prado y col., 2014). La aplicación de la corriente eléctrica promovió la migración de los hidrocarburos del suelo hacia la fase acuosa, dicha masa de hidrocarburos (fuente de carbono y donador de electrones, de^-) estuvo disponible para que los microorganismos efectuaran su metabolismo aeróbico. Dicha degradación ocurrió pues hubo disponibilidad de oxígeno (aceptor de electrones, ae^-) gracias a que existió transferencia de éste, de la atmósfera hacia la fase acuosa, por ser un sistema abierto; además de que la unidad contaba con agitación (compartimento C y tanque recolector). Cabe destacar que la oxidación de los hidrocarburos tuvo lugar en mayor proporción en el compartimento B, donde la concentración de los hidrocarburos y carga de microorganismos nativos del suelo era mayor, y en menor medida en el resto de la celda pues el efluente fue recirculado a un flujo constante.

Los controles (C1 y C2) incluidos en el experimento de BR no presentaron cambios abióticos significativos, respaldando la hipótesis de que los nutrientes presentes en la SMM estimularon a los microorganismos autóctonos presentes en el suelo contaminado y que la degradación de los

hidrocarburos se atribuye a la acción de los microorganismos. El análisis de varianza (ANOVA) indicó la existencia de diferencias significativas en la degradación de hidrocarburos al comparar los dos procesos evaluados (BR y EBR) a un intervalo de confianza del 95%. Al término de la fase experimental se contaba con una carga microbiana elevada así como la presencia de nutrientes, por lo que la degradación de los hidrocarburos pudiese continuar vía atenuación natural, hasta alcanzar niveles de concentración de hidrocarburos muy por debajo del LMP; comportamiento observado en otra investigación realizada para la misma empresa minera (Martínez-Prado y col., 2011).

El proceso de EBR depende de varios factores importantes como química y estructura del suelo, interacción entre suelo y contaminante, contenido de agua, posición de los electrodos, comunidad microbiana, aceptor de electrones (ae^-) y disponibilidad de nutrientes, así como gradiente de voltaje aplicado. A continuación se presentan algunos hallazgos de diferentes investigaciones recientes a manera de comparación con el presente trabajo. Li y col. (2010) reportó que aplicar al suelo un campo eléctrico apropiado permitió que el consorcio bacteriano se comportara de manera uniforme a lo largo del tratamiento (100 días) con una máxima eficiencia de remoción del 45.5%. La electrobiorremediación dio mejores resultados en la degradación de los alcanos, la cual fue 1.6 veces mayor comparada con la BR. Guo y col. (2014) trabajó con 25 electrodos cilíndricos de grafito distribuidos en una matriz en un reactor con suelo y los resultados positivos de las pruebas estuvieron directamente relacionados con la intensidad de la electricidad aplicada; la máxima degradación (42%) se logró cerca de los electrodos después de 100 días de tratamiento. Martínez-Prado y col. (2014) utilizaron una unidad experimental con tres compartimentos conteniendo el suelo contaminado a tratar (con un par de electrodos en cada compartimento) obteniendo un $68.6 \pm 3.8\%$ de degradación en EBR en un periodo de 360 h y un máximo de 89% a 700 h. En la presente investigación se empleó una celda experimental con recirculación, con un compartimento para el tratamiento del suelo y flujo vertical en dirección ascendente, lográndose un $86.67 \pm 2.23\%$ de degradación en el proceso de EBR en un periodo de 190 h. Cabe destacar que el gradiente de voltaje aplicado en todas las investigaciones discutidas fueron muy similares, en un rango de 0.96 - 1.25 V/cm.

Tabla 3. Balance de masa de hidrocarburos en los tratamientos de EBR y BR (triplicado). Expresada en gramos y su equivalencia en porcentaje, así como la estimación de la remoción (degradación + pérdidas) en el sistema

Suelo		Efluente		Remoción		
Inicio	Final	Final		Final		
g	g	%	g	%	g	%
Electrobiorremediación (EBR)						
111.62	9.6	8.6	3.08	2.76	98.94	88.64
55.74	3.35	6.01	3.83	6.87	48.56	87.12
78.5	8.1	10.32	4.26	5.43	66.14	84.25
Promedio		8.31	—	5.02	—	86.67
Desv. Estd.		2.17	—	2.09	—	2.23
Biorremediación (BR)						
39.93	8.09	20.26	2.82	7.07	29.02	72.68
45.87	8.17	17.81	2.58	5.63	35.12	76.56
51.57	12.19	23.64	3.12	6.05	36.26	70.31
Promedio		20.57	—	6.25	—	73.18
Desv. Estd.		2.93	—	0.74	—	3.16

3.5 Balance de masa y migración de los hidrocarburos

Se realizó el balance de masa de los hidrocarburos (cuantificados como HTP) en el sistema para ambos procesos (EBR y BR) considerando los cambios existentes de concentración en el suelo y en el efluente, al inicio y al final del proceso para cada una de las réplicas. Se asume que la diferencia de masa de hidrocarburos en dicho balance correspondió a las posibles pérdidas y degradación efectuada por el consorcio microbiano. La distribución de la masa de los hidrocarburos y la eficiencia de remoción de ambos procesos se resume en la Tabla 3 y se discute a continuación, tomando en cuenta la fase acuosa (BR: 100 mL y EBR: 11.5 L), suelo a tratar (BR: 50 g y EBR: 1.5 kg) y concentración de hidrocarburos (suelo y efluente al inicio y al final del experimento). La aplicación de corriente de baja intensidad en el proceso de EBR promovió la desorción de los hidrocarburos adheridos a la matriz del suelo, gracias a los mecanismos de electroósmosis y electromigración; observándose que la remoción de los hidrocarburos del suelo correspondió a $91.69 \pm 2.17\%$. Al final del experimento la masa de hidrocarburos presente en el suelo correspondió a tan solo $8.31 \pm 2.17\%$ mientras que en la fase acuosa fue de $5.02 \pm 2.09\%$, estimándose que la degradación (más posibles pérdidas) fue de $86.67 \pm 2.23\%$. Referente al proceso

de BR, el balance de masa indicó que al final del experimento la masa de hidrocarburos presente en el suelo correspondió al $20.57 \pm 2.93\%$, mientras que en la fase acuosa fue de $6.25 \pm 0.74\%$, por lo que el $73.18 \pm 3.16\%$ correspondió a degradación por la acción de los microorganismos, respaldado con el hecho de que la transformación abiótica no fue significativa. De aquí que la diferencia en remoción (13.5%) entre ambos procesos representa la contribución del proceso de electrorremediación, al permitir la disponibilidad del contaminante en la fase acuosa para la subsecuente degradación aeróbica por el consorcio microbiano.

Conclusiones

El comportamiento observado en el consumo de hidrocarburos, como fuente de carbono-energía-donador de electrones, empleando al oxígeno como aceptor de electrones, fue indicativo de la remediación del suelo contaminado procedente de una mina ubicada en Tayoltita, Durango. Se realizaron pruebas experimentales de biorremediación y electrobiorremediación con resultados favorables, obteniendo una mayor eficiencia en la EBR ($86.67 \pm 2.23\%$) comparado con el proceso de BR ($73.18 \pm 3.16\%$); todas la réplicas se mantuvieron a las mismas condiciones y con una duración de experimentación de 190 horas. La baja solubilidad, alta hidrofobicidad y lipofilicidad de los hidrocarburos son propiedades importantes que afectan su migración a la fase acuosa. Los resultados permitieron concluir la importancia que tuvo la aplicación de la corriente eléctrica en el proceso de desorción del contaminante, permitiendo su migración de la matriz del suelo hacia la fase acuosa, dejando disponible la fuente de carbono y energía para ser metabolizada por los microorganismos nativos del suelo. De igual manera el uso de SMM (bioestimulación) fue determinante para que los microorganismos contaran con los requerimientos de macro y micro nutrientes necesarios para su óptimo desempeño, mismos que estimularon la actividad microbiana incrementando la tasa de utilización del sustrato; los controles C1 y C2 incluidos en la experimentación indicaron que la degradación fue atribuida a la acción de los microorganismos y que no existieron cambios abióticos significativos. Se identificó que la degradación fue llevada a cabo por un consorcio mixto formado por al menos dos géneros con potencial hidrocarbonoclastico: *Flavobacterium* sp (bacteria) y

Aspergillus sp (hongo); ambos reportados como de los microorganismos heterotróficos más importantes y frecuentes en el metabolismo de hidrocarburos. Es importante mencionar que la industria minera se debe apegar a la normatividad vigente, NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012, y cumplir con los límites máximos permisibles (LMP = 5,000 - 6,000 mg HTP/kg suelo seco) para suelo de uso industrial. En una de las réplicas se logró llegar por debajo del LMP (< 3,800 ppm), en la segunda muy cercana al LMP (7,000 ppm) y en la tercera por encima de los 12,000 ppm, dicha tendencia fue directamente proporcional a la concentración inicial de hidrocarburos presentes en el suelo contaminado; haciendo notar que el suelo sometido a tratamiento procedía del mismo lote y que dicha variación en concentración puede ser atribuida a la existencia de áreas con mayor concentración del contaminante. Al concluir la experimentación se contaba con nutrientes y una alta carga microbiana, por lo que se considera que la remoción de los hidrocarburos pudiese continuar por diferentes vías, atenuación natural, bioestimulación y bioaumentación, hasta alcanzar niveles de concentración de hidrocarburos que permitan cumplir con la normatividad vigente. Es importante mencionar que se realizaron pruebas a nivel reactor batch con el biosurfactante Ecoterra BS1 (resultados no incluidos) y se observó que el porcentaje de desorción de los HTP se incrementó de manera significativa al emplear una solución al 1% (v/v); sin embargo se sabe que los surfactantes tienden a inhibir la actividad microbiana, lo cual no fue evaluado en esta investigación. Por lo tanto se sugiere realizar experimentos de electrobiorremediación con la adición del biosurfactante y medio mineral, con el fin de evaluar si se obtendría una mayor degradación de los hidrocarburos por parte de los microorganismos y su comportamiento frente a una descarga eléctrica. Se recomienda para futuras investigaciones (a nivel reactor batch) la cuantificación de bióxido de carbono (mineralización total) y metabolitos intermedios claves, así como la estimación de las constantes biocinéticas que permitan determinar, en caso de existir, inhibición y a qué tipo corresponde. Con el balance de masa realizado se pudo confirmar la desorción y degradación de los hidrocarburos, debido a la variación de la concentración en el efluente y a que no hubo una tendencia acumulativa a lo largo del proceso. Esta investigación sustenta el hecho de que la electrobiorremediación es una tecnología eficiente en la regeneración de suelo contaminado con hidrocarburos a considerar por parte de la

industria minera que, como muchas otras, enfrenta este problema de contaminación.

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por el grupo minero Goldcorp México, como usuario directo del proyecto, a través del programa de Fondos Mixtos-Durango del Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Durango (COCYTED) con clave DGO-2006-CO1-44107, el Instituto Tecnológico de Durango, adscrito al Tecnológico Nacional de México y beca de posgrado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

Nomenclatura

CE	Conductividad eléctrica, $\mu\text{S}/\text{cm}$
Pzeta	Potencial zeta, milivolts
SDT	Sólidos Disueltos Totales, ppm
UFC	Unidades Formadoras de Colonia, UFC/mL
R_{HTP}	Remoción (degradación + pérdidas) de Hidrocarburos Totales de Petróleo en el sistema, masa en g.
HTP_o	Hidrocarburos Totales de Petróleo en el suelo contaminado @ $t = 0$, masa en g.
$(HTP_f)_{Suelo}$	Hidrocarburos Totales de Petróleo en el suelo al final del tratamiento ($t = 190$ h), masa en g.
$(HTP_f)_{Efluente}$	Hidrocarburos Totales de Petróleo en el efluente al final del tratamiento ($t = 190$ h), masa en g.

Referencias

-
- ATSDR (2017). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Total Petroleum Hydrocarbons TPH. Disponible en: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp123.pdf>. Accesado: 12 de febrero de 2017.
- Acar, Y.B., Gale, R.J., Alshwabkeh, A.N., Marks, R.E., Puppala, S., Bricka, M., and Parker, R. (1995). Electrokinetic remediation: basics and technology status.

- Journal of Hazardous Materials* 40, 117-137. [https://doi.org/10.1016/0304-3894\(94\)00066-P](https://doi.org/10.1016/0304-3894(94)00066-P)
- Arrieta-Ramírez, O.M., Rivera-Rivera, A.P., Arias-Marin, L., Rojano, B.A., Ruiz, O. y Cardona-Gallo, S.A. (2012). Biorremediación de un suelo con diésel mediante el uso de microorganismos autóctonos. *Revista Gestión y Ambiente* 15, 27-40. <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/gestion/article/view/30815>
- Cisneros-de La Cueva, S., Martínez-Prado, M.A., Rojas-Contreras, J.A., Medrano-Roldán, H., and Murillo-Martínez, M.A. (2014). Isolation and characterization of a novel strain, *Bacillus* sp KJ629314, with a high potential to aerobically degrade diesel. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 13, 393-403. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v13n2/v13n2a6.pdf>
- Cisneros-de la Cueva, S. Martínez-Prado, M.A., López-Miranda, J., Rojas-Contreras, J.A., and Medrano-Roldán, H. (2016). Aerobic degradation of diesel by *Aspergillus terreus* KP862582. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 15, 347-360. <http://www.redalyc.org/pdf/620/62046829005.pdf>
- De la Rosa-Pérez, D.A., Teutli-León, M.M.M. y Ramírez-Islas, M.E. (2007). Electrorremediación de suelos contaminados, una revisión técnica para su aplicación en campo. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 23, 129-138. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v23n3/v23n3a3.pdf>
- Gomes, H.I., Dias-Ferreira, C., and Ribeiro, A.B. (2012). Electrokinetic remediation of organochlorines in soil: enhancement techniques and integration with other remediation technologies. *Chemosphere* 87, 1077-1090. http://www.nanodc.org/publications/2012-03%20EK%20review_Chemosphere.pdf
- Guo, S., Fan, R., Li, T., Hartog, N., Li, F., and Yang, X. (2014). Synergistic effects of bioremediation and electrokinetics in the remediation of petroleum-contaminated soil. *Chemosphere* 109, 226-233. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.02.007>
- Huang, D.N., Guo, S.H., Li, T.T., and Wu, B. (2013). Coupling interactions between electrokinetics and bioremediation for pyrene removal from soil under polarity reversal conditions. *Clean-Soil, Air, Water* 41, 383-389. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/clen.201200079/pdf>
- Jackman, S.A., Maini, G., Sharman, A.K., Sunderland, G., and Knowles, C.J. (2001). Electrokinetic movement and biodegradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in silt soil. *Biotechnology and Bioengineering* 74, 40-48. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bit.1093/full>
- Jin, S. and Fallgren, P.H. (2010). Electrically induced reduction of trichloroethene in clay. *Journal of Hazardous Materials* 173, 200-204. <http://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.08.069>
- Kim, S.J., Park, J.Y., Lee, Y.J., Lee, J.Y., and Yang, J.W. (2005). Application of a new electrolyte circulation method for the ex situ electrokinetic bioremediation of a laboratory-prepared pentadecane contaminated kaolinite. *Journal of Hazardous Materials* 118, 171-176. <http://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2004.10.016>
- Lear, G., Harbottle, M.J., Van der Gast, C.J., Jackman, S.A., Knowles, C.J., Sills, G., and Thompson, I.P. (2004). The effect of electrokinetics on soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 1751-1760. <http://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.04.032>
- Li, T., Guo, S., Wu, B., Li, F., and Niu, Z. (2010). Effect of electric intensity on the microbial degradation of petroleum pollutants in soil. *Journal of Environmental Sciences* 22, 1381-1386. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(09\)60265-5](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(09)60265-5)
- Li, F., Guo, S., and Hartog, N. (2012). Electrokinetics-enhanced biodegradation of heavy polycyclic aromatic hydrocarbons in soil around iron and steel industries. *Electrochimica Acta* 85, 228-234. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S001346861201345X>
- Luo, Y. and Zhou, Z. (2006). *Soil Respiration and the Environment*. Academic Press. Elsevier. Inc. California, USA. 333. <http://www.agrifs.ir/sites/default/files/Soil%20Respiration%20and%20the%20Environment%20%7BLuo%20Yiqi%7D%20%5B9780120>

887828%5D%20(Academic%20Press%20-%202006)_0.pdf

- Lynch, R.J., Muntoni, A., Ruggeri, R., and Winfield, K.C. (2007). Preliminary tests of an electrokinetic barrier to prevent heavy metal pollution of soils. *Electrochimica Acta* 52, 3432-3440. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013468606010139>
- Martínez-Prado, M.A. and Williamson, K.J. (2011). *Biodegradation of methyl tert-butyl ether (MTBE) and its breakdown products by propane and iso-pentane grown Mycobacterium vaccae and Graphium sp: Cometabolism, inhibition, kinetics and modeling*. Vol 1, First Edition. Lap Lambert Academic Publishing GmbH & Co. Kg. <https://www.amazon.com/Biodegradation-MTBE-Mycobacterium-vaccae-Graphium/dp/3846522732>
- Martínez-Prado, M.A., Pérez-López, M.E., Pinto-Espinoza, J., Gurrola-Nevárez, B.A., y Osorio-Rodríguez, A.L. (2011). Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos empleando lodos residuales como fuente alterna de nutrientes. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 27, 241-252. <http://www.redalyc.org/html/370/37020226009/>
- Martínez-Prado, M.A., Unzueta-Medina, J., and Pérez-López, M.E. (2014). Electrobioremediation as a hybrid technology to treat soil contaminated with total petroleum hydrocarbons. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 13, 113-127. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62031166010>
- Martínez-Trujillo, M.A. y García-Rivero, M. (2012). Revisión: Aplicaciones ambientales de microorganismos inmovilizados. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 11, 55-73. <http://www.redalyc.org/pdf/620/62024415005.pdf>
- Pernía, B., Demey, J.R., Inojosa, Y. y Naranjo-Briceño, L. (2012). Biodiversidad y potencial hidrocarbonoclastico de hongos aislados de crudo y sus derivados: Un meta-análisis. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental Algal* 3, 1-39. <http://www.ambientalex.info/revistas/vol3n11.pdf>
- Rahner, D., Ludwig, G., and Röhrs, J. (2002). Electrochemically induced reactions in soils—a new approach to the *in-situ* remediation of contaminated soils? Part 1: The microconductor principle. *Electrochimica Acta* 47, 1395-1403. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013468601008544>
- Reddy, K.R., Ala P.R., Sharma, S., and Kumar, S.N. (2006). Enhanced electrokinetic remediation of contaminated manufactured gas plant soil. *Engineering Geology* 85, 132-146. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013795206000755>
- Riojas-González, H.H., Torres-Bustillos, L.G., Mondaca-Fernández, I., Balderas-Cortes, J.J. y Gortáres-Moroyoqui, P. (2010). Efectos de los surfactantes en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. *Revista Química Viva* 9, 120-145.
- Salinas-Martínez, A., Santos-Córdova, M., Soto-Cruz, O., Delgado, E., Pérez-Andrade, H., Háuad-Marroquin, L.A., and Medrano-Roldan, H. (2008). Development of a bioremediation process by biostimulation of native microbial consortium through the heap leaching technique. *Journal of Environmental Management* 88, 115-119. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479707000679>
- SEMARNAT (2012). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Norma Oficial Mexicana: NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012. Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación. Disponible en: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5313544&fecha=10/09/2013. Consultado: 22 de marzo de 2017.
- SGM (2016). Servicio Geológico Mexicano. Panorama Minero del estado de Durango. Gobierno Federal. Disponible en: <http://www.sgm.gob.mx/pdfs/DURANGO.pdf>. Consultado: 20 de febrero de 2017.
- Shi, L., Müller, S., Loffhagen, N., Harms, H., and Wick, L.Y. (2008). Activity and viability of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading *Sphingomonas* sp. LB126 in a DC electrical field typical for electrobioremediation

- measures. *Microbial Biotechnology* 1, 53-61. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1751-7915.2007.00006.x/pdf>
- TNRCC (2001). Texas Natural Resource Conservation Commission. Method 1005 Total Petroleum Hydrocarbons, Revision 03. https://www.tceq.texas.gov/assets/public/compliance/compliance_support/qa/1005_final.pdf
- Torres, R.A., Torres, W., Peringer, P., and Pulgarin, C. (2003). Electrochemical degradation of substituted phenols of industrial interest on Pt electrodes: Attempt of a structure-reactivity relationship assessment. *Chemosphere* 50, 97-104. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653502004873>
- Virkutyte, J., Sillanpaa, M., and Latostenmaa, P. (2002). Electrokinetic soil remediation-critical overview. *Science of the Total Environment* 289, 97-121. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969701010270>
- Wick, L.Y., Mattle, P.A., Wattiau, P., and Harms, H. (2004). Electrokinetic transport of PAH degrading bacteria in model aquifers and soil. *Environmental Science and Technology* 38, 4596-4602. <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/es0354420>
- Wick, L.Y., Shi, L., and Harms, H. (2007). Electro-bioremediation of hydrophobic organic soil-contaminants: A review of fundamentals interactions. *Electrochimica Acta* 52, 3441-3448.
- Yuan, C. and Weng, C.H. (2004). Remediating ethylbenzene-contaminated clayey soil by a surfactant-aided electrokinetic (SAEK) process. *Chemosphere* 57, 225-232. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653504004084>
- Zanaroli, G., Di Toro, S., Todaro, D., Varese, G., Bertolotto, A., and Fava, F. (2010). Characterization of two diesel fuel degrading microbial consortia enriched from a non-acclimated, complex source of microorganisms. *Microbial Cell Factories* 9, 1-13. <https://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2859-9-10>