



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA

**EFFECTO DEL CONTENIDO DE MATERIA ORGÁNICA Y AGUA EN LA REMOCIÓN
DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN SUELOS**

T E S I S

**QUE PARA OPTAR EL GRADO DE:
DOCTOR EN INGENIERÍA
(Ambiental)**

**PRESENTA:
LILIA CORONA RAMÍREZ**

**TUTOR:
DRA. ROSARIO ITURBE ARGÜELLES
INSTITUTO DE INGENIERÍA, UNAM**

**COMITÉ TUTOR:
DRA. SILKE CRAM HEYDRICH, INSTITUTO DE GEOGRAFÍA, UNAM
DRA. ANNE M. HANSEN HANSEN, UNAM - IMTA**

Ciudad Universitaria, CD. MX. noviembre 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado Asignado:

Presidente: Dra. Silke Cram Heydrich

Secretario: Dra. Anne M. Hansen Hansen

1er. Vocal : Dr. Luc Dendooven

2do. Vocal: Dra. Frida M. León Rodríguez

3er. Vocal: Dra. Rosario Iturbe Argüelles

El trabajo experimental se realizó en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la UNAM.

TUTORA DE TESIS:

DRA. ROSARIO ITURBE ARGÜELLES

Contenido

Resumen	1
Abstract	3
Capítulo 1. Introducción	5
Capítulo 2. Objetivos e Hipótesis	13
2.1 Objetivos	13
2.2 Hipótesis	13
Capítulo 3. Antecedentes	14
Capítulo 4. Marco Teórico	24
4.1 El suelo y su microbiología.....	24
4.2 Compuestos orgánicos en el suelo	29
4.3 Biodisponibilidad de los HAP	31
4.4 Degradación de los HAP	33
4.5 Variables que influyen en la biodisponibilidad y degradación de los HAP	37
4.5.1 Materia orgánica	38
4.5.2 Contenido de agua en el suelo	40
Capítulo 5. Metodología.....	41
5.1 Muestreo de los suelos y su clasificación.....	42
5.2 Caracterización de los suelos.....	43
5.3 Materiales utilizados en los Experimento 1, 2 y 3 (E1, E2 y E3)	44
5.4 Experimento 1 (E1): Biodisponibilidad de los HAP	45
5.5 Experimentos 2 y 3 (E2 y E3): Remoción de los HAP	46
5.5.1 Experimento con bajas concentraciones de BA y DBA (EBC): Remoción de los HAP	48
5.6 Análisis de la muestra.....	48
Capítulo 6. Resultados y Discusión	51
6.1 Caracterización de los suelos	51
6.2 Método de extracción con microondas, para el BA y DBA	56

6.3 Experimento 1 (E1): Biodisponibilidad de los HAP.....	57
6.3.1 Recuperación y concentración inicial del BA y DBA en los suelos contaminados.....	57
6.3.2 Concentración biodisponible de BA y DBA	58
6.4 Experimentos de Remoción de HAP	62
6.4.1 Recuperación y concentración de BA y DBA en los suelos contaminados	62
6.4.1.1 Experimentos 2 y 3 (E2 y E3)	62
6.4.1.2 Experimentos con bajas concentraciones de HAP (EBC)	63
6.4.2 Remoción del BA y DBA en los suelos	63
6.4.2.1 Experimentos 2 y 3 (E2 y E3)	63
6.4.2.2 Experimentos con bajas concentraciones de HAP (EBC)	67
6.4.3 Eficiencias de remoción de BA y DBA	71
6.4.4 Bacterias aerobias en los suelos	75
6.4.4.1 Bacterias aerobias en los suelos en relación con la remoción de HAP	81
6.4.5 Actividad microbiana en los suelos.....	82
Capítulo 7. Conclusiones y Recomendaciones	88
Anexos.....	90
Referencias.....	137

Índice de Tablas

Tabla 3-1 Frecuencia de aparición de los 16 HAP considerados por la USEPA como prioritarios en sesenta crudos a nivel mundial.....	22
Tabla 3-2 Límites máximos permisibles para hidrocarburos específicos en suelo	22
Tabla 4-1 Comparación del tamaño de partícula, número de partícula y área superficial por gramo de arena, limo y arcilla	25
Tabla 4-2 Especificaciones de la resina de Tenax.TA	33
Tabla 4-3 Propiedades fisicoquímicas del Benzo(a)antraceno (BA) y Dibenzo(a,h)antraceno (DBA) ..	37
Tabla 5-1 Condiciones establecidas en los tres experimentos, en los tres suelos.....	42

Tabla 5-2 Análisis realizados en los 3 experimentos (E1, E2-C2, E3-C3, EBC).....49

Tabla 6-1 Caracterización de los suelos: Tabasco, Morelos y Veracruz 51

Índice de Figuras

Figura 1-1 Dispersión de los HAP 6

Figura 1-2 Interacciones entre los contaminantes orgánicos, el suelo y los microorganismos que determinan la biodisponibilidad de los compuestos en el suelo..... 11

Figura 4-1 Estructura del suelo, con agua y aire en espacios porosos y distribución de colonias de bacterias.....26

Figura 4-2 Clasificación de los contaminantes 30

Figura 4-3 Factores abióticos y bióticos que afectan la degradación de los HAP en el suelo.....35

Figura 5-1 Submuestras del experimento 1 (E1: Biodisponibilidad de los HAP)46

Figura 5-2 Submuestras de los experimentos 2 (E2) y 3 (E3) (Remoción de los HAP)46

Figura 6-1 Experimento 1 (E1): Concentración máxima de BA en la resina de Tenax-TA y disuelta en el agua, en los suelos contaminados: Tabasco, Morelos y Veracruz, con adición de inhibidor, durante 39 días.....59

Figura 6-2 Experimento 1 (E1): Concentración máxima de DBA en la resina de Tenax-TA y disuelta en el agua, en los suelos contaminados: Tabasco, Morelos y Veracruz, con adición de inhibidor, durante 39 días.....60

Figura 6-3 Experimentos 2 y 3 (E2 y E3): Remoción de BA en los suelos de a)Tabasco, b)Morelos y c)Veracruz, y en los suelos inhibidos en d)Tabasco, e)Morelos y f)Veracruz. El suelo se incubó aeróbicamente durante 39 días, con el 30%, 50% y 90% CC.....65

Figura 6-4 Experimentos 2 y 3 (E2 y E3): Remoción de dibenzo(a,h)antraceno (DBA) en los suelos de a) Tabasco, b) Morelos y c) Veracruz y en los suelos inhibidos en d) Tabasco, e) Morelos y f) Veracruz. El suelo se incubó aeróbicamente a 30%, 50% y 90% CC, durante 39 días...66

Figura 6-5 Experimento con bajas concentraciones de HAP (EBC): Remoción de benzo(a)antraceno (BA) en los suelos de a) Tabasco, b) Morelos y c) Veracruz y dibenzo(a,h)antraceno (DBA)

en los suelos de d) Tabasco, e) Morelos y f) Veracruz. El suelo se incubó aeróbicamente durante 39 días con el 30%, 50% y 90% CC	68
Figura 6-6 Remoción de BA y DBA en los suelos de Tabasco, Morelos y Veracruz, En los experimentos 2, 3 y con bajas concentraciones (E2, E3 y EBC) incubados aeróbicamente con el 30%, 50% y 90% CC, durante 39 días	73
Figura 6-7 Controles de los experimentos 2 y 3 (C2, C3): Bacterias aerobias heterótrofas (UFC/g) en los suelos sin contaminar, sin inhibidor de bacterias a) Tabasco, b) Morelos y c) Veracruz y en los suelos sin contaminar e inhibidos d) Tabasco, e) Morelos y f) Veracruz, con el 30%, 50% y 90% CC.....	76
Figura 6-8 Experimentos 2 y 3 (E2 y E3): Bacterias aerobias heterótrofas (UFC/g) en los tres suelos contaminados sin inhibidor de bacterias a) Tabasco, b) Morelos y c) Veracruz y en los suelos contaminados e inhibidos d) Tabasco, e) Morelos y f) Veracruz, con el 30%, 50% y 90% CC.....	77
Figura 6-9 Experimento con bajas concentraciones (EBC): Bacterias aerobias heterótrofas (UFC/g) en los suelos contaminados e inhibidos de crecimiento bacteriano a) Tabasco, b) Morelos y c) Veracruz, con el 30%, 50% y 90% CC	80
Figura 6-10 Controles de los experimento 2 y 3 (C2, C3): Producción de CO ₂ acumulado, en los suelos sin contaminar, sin adición de inhibidor de bacterias a) Tabasco, b) Morelos y c) Veracruz y en los suelos inhibidos d) Tabasco, e) Morelos y f) Veracruz, con el 30%, 50% y 90% CC	83
Figura 6-11 Experimentos 2 y 3 (E2 yE3): Producción de CO ₂ acumulado en los suelos contaminados sin adición de inhibidor de bacterias a) Tabasco, b) Morelos y c) Veracruz y en los suelos inhibidos, d) Tabasco, e) Morelos y f) Veracruz, con el 30%, 50% y 90% CC	84
Figura 6-12 Experimento con bajas concentraciones (EBC): Producción de CO ₂ acumulado en los suelos contaminados con bajas concentraciones, con adición de inhibidor de bacterias a) Tabasco, b) Morelos y c) Veracruz, con el 30%, 50% y 90% CC.....	86

Resumen

Actualmente existe la problemática de contaminación en los suelos, en donde la acción humana contribuye en gran medida debido a las distintas actividades que se realizan, ocasionando daños en él. Es por ello, la importancia que se ha dado al impacto del hombre, influyendo el uso de suelo en cada sitio, condiciones y su entorno.

El uso desmedido de los compuestos orgánicos en distintos sectores ha provocado un aumento considerable de suelos contaminados por estos contaminantes. Dentro de estos se encuentran los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) considerados compuestos prioritarios por ser tóxicos, cancerígenos y mutágenos de acuerdo con la USEPA.

Debido a la presencia constante de HAP en suelos, en este trabajo se estudió la remoción de dos de ellos, el benzo(a)antraceno (BA) y dibenzo(a,h)antraceno (DBA).

Se seleccionaron tres suelos con diferentes características, ubicados en diferentes estados de la República Mexicana (Tabasco, Morelos y Veracruz). El estudio se realizó a escala laboratorio. Se determinó la concentración biodisponible y la remoción de los dos HAP en los suelos con tres distintos contenidos de agua (30%, 50% y 90% de acuerdo con su capacidad de campo, CC), la dinámica de las bacterias aerobias y su actividad microbiana en suelos con y sin inhibidor de crecimiento bacteriano.

En el experimento de biodisponibilidad, se obtuvo mayor concentración de HAP adsorbidos en los tres suelos que la desorbida de ellos, tal y como se esperaba por efecto de la materia orgánica. Ya que el suelo de Morelos, con mayor contenido de materia orgánica (506 g/kg) presentó menor desorción de los compuestos, en comparación con los suelos de Tabasco y Veracruz.

A su vez, se obtuvo más del 90% de remoción de los HAP en los tres suelos, independientemente de los contenidos de agua probados (30%, 50% y 90% CC) y la materia orgánica de cada uno (149 g/kg en Tabasco, 506 g/kg en Morelos y 5 g/kg en Veracruz).

Sin embargo, el contenido de agua en los suelos si tuvo un efecto significativo sobre las bacterias heterótrofas aerobias (30% > 50% > 90%).

Abstract

Currently there is the problem of soils contamination, where human action contributes greatly due to the different activities carried out, causing damage to it. Due to this, the importance that has given to the impact of man, influencing soil use in each site, conditions and their environment.

The excessive use of organic compounds in different sectors has caused a considerable increase in soils contaminated by these pollutants. Among these are the polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) considered priority compounds because they are toxic, carcinogenic and mutagens by the USEPA.

Due to constant presence of PAH in soils, in this work we studied the removal of two of them, benz(a)anthracene (BA) and dibenz(a, h)anthracene (DBA).

Three soils with different characteristics were select, located in different states of the Mexican Republic (Tabasco, Morelos and Veracruz). The study was carry out at a laboratory scale. The bioavailable concentration and removal of the two PAHs were determined with three different water contents (30%, 50% and 90% according to field capacity, CC), the dynamics of aerobic bacteria and their microbial activity in soils with and without bacterial growth inhibitor.

In the bioavailability experiment, higher concentration of PAH adsorbed in the three soils was obtained than desorbed from them, as expected by effect of organic matter. The Morelos soil, with higher content of organic matter (506 g / kg) had lower desorption of the compounds, compared to Tabasco and Veracruz soils.

At the same time, more than 90% of PAH removal was obtained in the three soils, independently of the water content tested (30%, 50% y 90%) and organic matter of each one (149 g/kg Tabasco, 506 g/kg Morelos and 5 g/kg Veracruz).

However, the soil water content had a significant effect on aerobic heterotrophic bacteria (30%> 50%> 90%).

Capítulo 1

Introducción

En la actualidad existe una gran problemática ambiental, como es el caso de la contaminación de los suelos, ya sea considerado como Emergencia Ambiental o como Pasivo Ambiental, como lo clasifica la Dirección de Restauración de Sitios Contaminados (DRSC) de la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT 2013).

El creciente uso de compuestos orgánicos por el sector industrial, manufacturero y agrícola, además de la distribución y uso de materiales tóxicos o potencialmente tóxicos por el público en general, ha ocasionado mayor número de casos de contaminación de suelos (Morril *et al.*, 1982). Por tal motivo, en los últimos años ha aumentado la preocupación sobre el destino de los compuestos tóxicos en los suelos.

Dentro de la clasificación de los compuestos orgánicos se encuentran los HAP, considerados como compuestos prioritarios, por ser tóxicos, cancerígenos y mutágenos (Keith y Telliard 1979; ASTDR 2005, 2009; U.S. EPA 2013; Das 2014) basándose en la amplia distribución, concentración potencial en el ambiente y por consecuencia en su toxicidad (Sparling 2016). Por lo que su presencia en aguas subterráneas, arroyos, suelo y sedimentos puede constituir un peligro crónico para la salud humana (Gad y Gad 2014).

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) también son conocidos como hidrocarburos poliaromáticos. Son un gran grupo de compuestos orgánicos, que están conformados en su estructura por átomos de carbono e hidrógeno (Ma *et al.*, 2015).

Estos hidrocarburos son compuestos complejos clasificados por sus diferencias químicas y están formados por dos o más anillos bencénicos en arreglo lineal, angulares o anidados que difieren por el número y/o la posición de los anillos (Cerniglia 1992; Bamforth y Singleton 2005; Maish y Lal 2014).

Están formados por procesos naturales y se pueden encontrar en la mayoría de los ecosistemas (Haramaya 1997) (Fig. 1-1). Siendo el suelo el depósito ambiental más importante, ya que estos contaminantes entran en el suelo por deposición seca y húmeda una vez liberado en la atmósfera, por lo que pueden ser adsorbidos por las partículas del suelo y acumularse en ellos (Chen 2013).

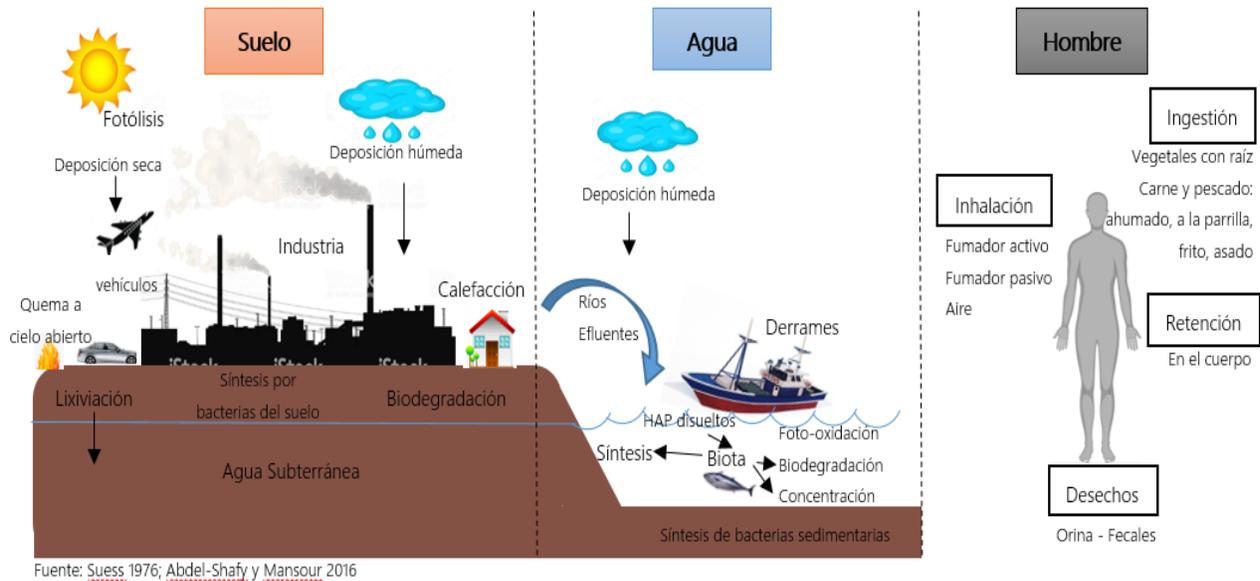


Figura 1-1 Dispersión de los HAP

Del mismo modo se originan de fuentes antropogénicas, que se clasifican en dos tipos: petrogénicos, que son los ocasionados por fugas de la extracción y procesamiento de petróleo crudo y sus productos, y los originados de la combustión incompleta a altas temperaturas y pirólisis (exposición de moléculas orgánicas a elevadas temperaturas) de combustibles fósiles, así como sus homólogos alquil y los sustituidos con azufre o nitrógeno (Wolska *et al.*, 2012; Abdel-Shafy y Mansour 2016; Falciglia *et al.*, 2016).

Son compuestos no polares o muy débilmente polares. Tienen una solubilidad relativamente baja en agua y una alto k_{ow} , lo que ocasiona que su acumulación en suelos y sedimentos esté por encima de las concentraciones acuosas (Gad y Gad 2014). Sin embargo, son muy solubles en solventes orgánicos debido a que son lipofílicos.

La mayoría de HAP con baja presión de vapor en el aire se adsorben en partículas (WHO 2000).

Se conocen 100 tipos diferentes de HAP, ya que existe una elevada cantidad de isómeros. La especial distribución de electrones en los anillos aromáticos les proporciona una gran estabilidad, característica que los hace resistentes a la oxidación química y biológica (Izquierdo 2013).

Los HAP de peso molecular más ligero son volátiles o semivolátiles y se encuentran en estado gaseoso. Los HAP volátiles son particularmente sensibles a la luz ultravioleta y puede durar solo unas pocas horas antes de descomponerse o fotodegradarse; ya que el proceso resulta en la pérdida de electrones del HAP (oxidación), conocido como foto-oxidación.

Estos compuestos pueden eliminarse mediante procesos físicos (volatilización, fotólisis, adsorción y acumulación), químicos (oxidación química, fotocatalisis), o mediante procesos biológicos naturales (bioacumulación y biodegradación) (Cerniglia 1992; Weissenfels *et al.*, 1992; Nadarajah *et al.*, 2002). Las características físicas y químicas de los HAP, como el número de anillos y su posición, definen la tasa de eliminación y, en consecuencia, su distribución y efecto sobre el medio ambiente (Dragun 2001).

A su vez, las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, controlan la biodisponibilidad de los HAP y la actividad microbiana (Li *et al.*, 2009). Según Lanno *et al.*, (2004) la biodisponibilidad es una medida del potencial de una sustancia química para entrar en receptores biológicos, donde los contaminantes presentes en el suelo interactúan con propiedades específicas del suelo de manera dinámica, lo que hace que cierta concentración del contaminante secuestrado sea no disponible por interacción con receptores biológicos.

Reichenberg y Mayer (2006) sugieren que la biodisponibilidad de los contaminantes depende de dos factores, su biodegradabilidad y/o bioaccesibilidad, mismos que ayudan a determinar la fracción de compuestos orgánicos que se absorben de forma débil o reversible, lo que hace que puedan desorberse rápidamente de la fase sólida a la fase acuosa.

Stokes *et al.* (2006) refiere al término de biodisponibilidad como la fracción de un químico en el suelo que puede ser liberado o transformado por organismos vivos, o el grado en el cual un compuesto es libre para moverse dentro o fuera de un organismo.

La biodisponibilidad juega un rol distinto para cada área ambiental, ya sea agua, sedimentos, suelo o aire. Es un proceso complejo que incluye todo tipo de relaciones entre la concentración en el medio ambiente y la concentración que experimenta un organismo con respecto a la absorción (Sijm *et al.*, 2000) y puede constituir la base para la descripción de los riesgos que ocasionan los contaminantes en el medio ambiente y la salud humana; y a su vez poder determinar las opciones correctivas como la biorremediación, para reducir los riesgos de dispersión de contaminantes y toxicidad (Latawiec *et al.*, 2011; Harmsen *et al.*, 2013).

Por tal motivo, la biodisponibilidad predice la degradación que lleva a cabo la población microbiana del HAP en ambientes naturales, por tanto, inducir las vías de degradación también puede utilizarse como un indicador de la biodisponibilidad de un contaminante (Heitzer *et al.*, 1992).

La biodegradación se considera como uno de los procesos naturales más importantes que pueden influir en el destino de los contaminantes, tanto en entornos terrestres como acuáticos, donde las bacterias y hongos juegan un papel significativo en la biotransformación de los HAP (Wu *et al.*, 2010), además de ser una vía importante para su completa degradación (Li *et al.*, 2009; Yuan *et al.*, 2000; Moscoso *et al.*, 2015). Teniendo en cuenta que la eliminación de los HAP con 2 y 3 anillos (bajo peso molecular) es más rápida y más completa que la de los HAP con 4, 5 y 6 anillos (mayor peso molecular) (Li *et al.*, 2009). La velocidad y el grado de biodegradación en suelos contaminados con hidrocarburos aromáticos puede ser limitada, debido a su toxicidad, condiciones desfavorables para

el crecimiento microbiano y baja biodisponibilidad (Lorton *et al.*, 2001). Es primordial considerar la complejidad de la estructura del HAP a degradar, ya que mientras mayor sea su peso molecular, mayor dificultad para ser degradado, debido a que las propiedades físicas y químicas de los HAP son mucho más persistentes en el ambiente y a su vez, más tóxicos (Lundstedt *et al.*, 2007).

Debido a la alta hidrofobicidad y a sus coeficientes de distribución, los HAP tienden a interactuar con fases no acuosas y materia orgánica del suelo y, en consecuencia, se convierten en potencialmente disponibles para la degradación microbiana por bacterias que degradan los productos químicos sólo cuando ellos están disueltos en agua (Enell *et al.*, 2004; Abalos *et al.*, 2004).

Los compuestos orgánicos presentes en una matriz ambientalmente compleja, como el suelo, son menos biodisponibles que el mismo compuesto en solución, debido a la sorción del compuesto. Lo que ocasiona que solo una pequeña fracción del compuesto puede estar en la fase acuosa (Jacobs *et al.*, 1993). Estudios indican que solo la fracción disuelta en la fase acuosa está disponible para las bacterias (Bouwer *et al.*, 1993), además de considerar que la producción de biosurfactantes en caso de que se presenten, pueden aumentar la desorción, solubilización y la disolución de los contaminantes en la fase acuosa, lo que aumenta la biodisponibilidad en el metabolismo microbiano (Haritash y Kaushik, 2009; Gottfried *et al.*, 2010).

Algunos estudios han predicho por modelación el comportamiento de los contaminantes orgánicos en el suelo (Stokes *et al.*, 2006), sin embargo, llegan a la conclusión de que debido a la naturaleza compleja y heterogénea que presentan los suelos contaminados es muy difícil modelar con precisión o hacer predicciones sobre el destino de los compuestos contaminantes en el propio suelo. En dichos estudios se han utilizado las propiedades fisicoquímicas de los contaminantes de forma individual, considerando su solubilidad en agua, la presión de vapor y el coeficiente de distribución octanol-agua, y así es como se han obtenido predicciones muy sencillas acerca del destino que tiene el contaminante. De tal modo, observar una disminución o reducción de la biodisponibilidad con el tiempo no siempre es evidente, pues aún se desconocen las razones de la ausencia del efecto de biodisponibilidad, pero puede estar relacionado con algunas propiedades del suelo, tales como el

contenido de materia orgánica, abundancia de microporos, o en todo caso a las propiedades del compuesto, como su hidrofobicidad (Alexander 1995). Sin embargo, esto solo se ha considerado como un perfil básico del comportamiento complejo del compuesto en el suelo.

La materia orgánica es una de las propiedades más importantes de un suelo, ya que sirve como sustrato C para los organismos del suelo y, por lo tanto, afecta la biodegradación de compuestos tóxicos (Grosser *et al.*, 2000; Paton *et al.*, 2005).

La materia orgánica es un sorbente importante de compuestos hidrófobos (Chiou *et al.*, 1989; Haramaya 1997), por lo que se considera capaz de aumentar la adsorción de los contaminantes y reducir su biodisponibilidad (Chen *et al.*, 2015). Es por ello, que la biodisponibilidad de los compuestos hidrófobos está a menudo, directamente relacionada con el contenido de materia orgánica del suelo (Weissenfels *et al.*, 1992). Las partículas del suelo son muy importantes ya que determinan la superficie disponible como hábitat para microorganismos y controlan su actividad y la porosidad del suelo, que controla la aireación del suelo y el contenido de agua (Brady y Weil 2002).

A su vez, el contenido de agua en el suelo desempeña un papel importante en la determinación de la biodisponibilidad de contaminantes en el suelo (Yu *et al.*, 2018), ya que influye en la transferencia de gas, la toxicidad del contaminante y la actividad microbiana (Sumner 2000). Asimismo, existen otros factores que influyen en la biodisponibilidad, como la porosidad, ya que en estudios realizados por Yang *et al.* (2009) la porosidad reducida inhibió el secuestro en suelos con alto contenido de carbón orgánico.

La biodisponibilidad limitada de un contaminante se presenta cuando su tasa de degradación por microorganismos está afectada por una barrera fisicoquímica entre el contaminante y los microorganismos, es por ello que, el entendimiento de los factores que controlan la sorción, secuestro y biodisponibilidad son importantes para evaluar el riesgo o para diseñar un plan de remediación biológicamente eficiente debido a que son fenómenos interrelacionados que afectan el destino y transporte de los contaminantes orgánicos en el suelo y sedimentos (Lueking *et al.*, 2000). Por lo

tanto, para comprender el proceso de biodisponibilidad del compuesto es importante entender las interacciones entre el compuesto (contaminante), los microorganismos y las características de la matriz, en este caso el suelo (Fig. 1-2) (Mihelcic *et al.*, 1993), ya que solo los organismos pueden determinar si un contaminante es biodisponible (Lanno *et al.*, 2004).

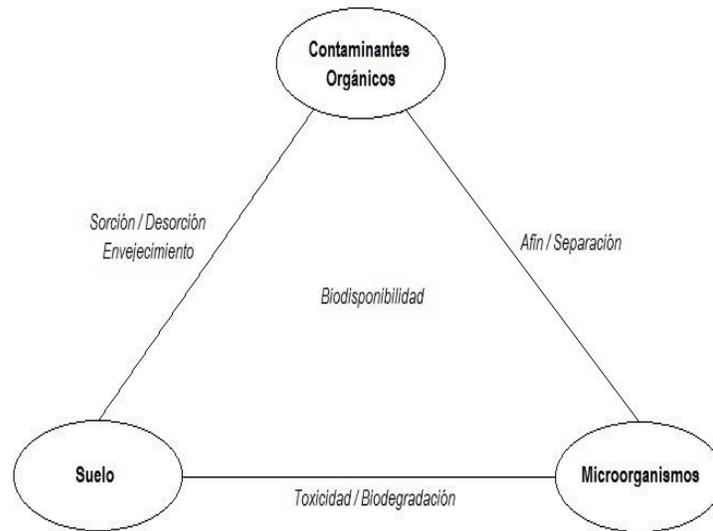


Figura 1-2 Interacciones entre los contaminantes orgánicos, el suelo y los microorganismos que determinan la biodisponibilidad de los compuestos en el suelo (Nam y Kim 2002)

La biodisponibilidad de ciertos compuestos orgánicos, como los HAP, cambia a medida que los compuestos residen en el suelo por algún tiempo (Alexander 1995), es decir, disminuye conforme a su envejecimiento en el suelo, lo que los hace persistentes y con el tiempo llegan a ser menos disponibles para la degradación (Chung *et al.*, 1999; Bielska *et al.*, 2014).

Los compuestos orgánicos que son metabolizados también presentan el proceso de retención en la fracción no metabolizada, lo que conduce a una pérdida de biodisponibilidad del contaminante en el suelo, que dependerá del tiempo. Bajo esta consideración se han realizado evaluaciones de riesgo de productos químicos tóxicos en el suelo sin preocuparse de la biodisponibilidad, ya que en estudios sobre la persistencia de los compuestos realizados en laboratorio y en campo, muestran que existe disminución de la disponibilidad de los contaminantes para los microorganismos (Alexander 1995).

Muchos mecanismos han descrito el envejecimiento de los productos químicos en el suelo y en los sedimentos, sin involucrar las reacciones que alteran la estructura de la molécula (Hatzinger y Alexander 1995), pues el envejecimiento y la resistencia a la desorción / retención, implica la lenta distribución de los compuestos hidrofóbicos en la materia orgánica o la lenta difusión en los microporos en donde las moléculas no son fácilmente accesibles (Kelsey *et al.*, 1997).

Debido a la complejidad que se presenta en la predicción de los contaminantes es que se desconoce la relación que hay entre un compuesto orgánico al ser depositado en el suelo y la biodisponibilidad que éste presenta en el mismo de acuerdo con sus propiedades, ya que cada suelo contaminado representa un caso particular debido a las condiciones del mismo. Además, las condiciones climáticas, el tipo de contaminante y las causas que originaron la contaminación son complicados para evaluar y determinar la solución más efectiva para la remediación de un suelo contaminado (DGGIMAR 2011).

Teniendo en cuenta que para lograr una biorremediación eficiente de suelos contaminados con HAP, es importante desarrollar métodos cuantitativos rápidos y específicos para estimar la biodisponibilidad de un compuesto en particular y la eficiencia del tratamiento para promover la biodegradación (Heitzer *et al.*, 1992).

Capítulo 2

Objetivos e Hipótesis

2.1 Objetivos

El objetivo general de este trabajo es conocer el efecto que tiene el contenido de materia orgánica y agua en tres suelos contaminados, en la biodisponibilidad y remoción de dos hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP).

Los objetivos específicos del trabajo son:

- Caracterizar las tres muestras de suelo y determinar la remoción del BA y DBA.
- Determinar la biodisponibilidad del BA y DBA en los tres suelos estudiados.
- Evaluar el efecto que tienen el agua y la materia orgánica en la remoción del BA y DBA.

2.2 Hipótesis

- La biodisponibilidad del benzo(a)antraceno (BA) y dibenzo(a,h)antraceno (DBA) disminuye a medida que la materia orgánica en el suelo es mayor.
- La remoción del benzo(a)antraceno (BA) y dibenzo(a,h)antraceno (DBA) es mayor en suelos con menor cantidad de materia orgánica y mayor contenido de agua.

Capítulo 3

Antecedentes

México es un país petrolero y desde la década de 1940 se han realizado actividades de extracción, producción y formulación de petróleo y sus derivados. Esto ha dado lugar a la existencia de muchos sitios contaminados con hidrocarburos en zonas de alta vulnerabilidad ecológica, por esta razón es que un gran número de actividades relacionadas con la remediación de sitios contaminados corresponden a instalaciones de empresas paraestatales en México.

La contaminación de suelos por hidrocarburos proviene de procesos de extracción del petróleo, los cuales contienen diversos tipos de cadenas de hidrocarburos de diferentes tamaños, también puede deberse a derrames y fugas en sistemas de almacenamiento o en ductos. Los hidrocarburos derramados tienen características diferentes de toxicidad, así como de ser susceptibles de biodegradación, y su manejo demanda considerar riesgos particulares en función de las propiedades de cada grupo, para determinar el grado de limpieza y la forma de atenderse considerando la salud de la población y los ecosistemas (Cortinas 2002).

De manera general, la combustión de carbono que contiene combustibles (madera, carbón, gasolina, diésel) como una fuente importante y relacionada con otras operaciones antropogénicas (procesos de fundición de metales) generalmente han aumentado la carga ambiental de HAP en los últimos años.

Durante varios años se han realizado diversas investigaciones sobre la degradación de estos compuestos por su persistencia en el ambiente y por las alteraciones que pueden ocasionar al equilibrio ecológico y a la salud humana (Grøn *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2010; Wu *et al.*,

2010; Lu *et al.*, 2011; Pactao *et al.*, 2012; Rosales *et al.*, 2012; Sun *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2013; Biache *et al.*, 2014).

Debido a que varias de las tecnologías han presentado un alto impacto negativo por alterar las propiedades del suelo, en la actualidad se ha optado por la aplicación de tecnologías de remediación biológicas para degradar contaminantes. Sin embargo, en caso de ser necesario se aplican tecnologías químicas o térmicas, dependiendo los factores antes mencionados. En caso necesario se aplica un tren de tratamiento, que involucra diferentes tecnologías aplicadas en serie, lo que también se conoce como remediación integrada por varios tratamientos.

Para lograr remediar un suelo deben considerarse muchos factores. Dentro de los principales está la complejidad en la predicción del contaminante, las condiciones climáticas del lugar y el tipo de suelo que se tiene, clasificando y caracterizándolo por sus propiedades físicas, químicas y biológicas, ya que la interrelación de sus propiedades determinará la calidad del suelo y su función (Gajda *et al.*, 2018).

En tecnologías biológicas se controlan varios parámetros físicos que hacen posible la remoción de los contaminantes, algunos de ellos son la materia orgánica y el contenido de agua que junto con la cantidad de aire representa una de las características más importantes para explicar el comportamiento del suelo y determinar las condiciones óptimas de agua para favorecer el crecimiento de los microorganismos y su actividad microbiana para que se lleve a cabo la degradación.

En varios estudios se considera a la materia orgánica como el factor de mayor influencia y dominio con mayor significancia para las interacciones con el suelo y el contaminante (Reid *et al.*, 2000; Hwang y Cutright 2003) controlando así la degradación (Grosser *et al.*, 2000), debido a que ocurre el secuestro de los contaminantes conforme incrementa el carbono orgánico en el suelo, siendo fuertemente adsorbidos los compuestos orgánicos (Yang *et al.*, 2010).

A su vez, Nam *et al.* (1998) determina importante correlación entre la materia orgánica y la fracción no-degradable de los HAP. Debido a que los HAP pueden formar complejos con la materia orgánica los hace menos disponibles para los microorganismos (Loser *et al.*, 1999), ya que su afinidad por la materia orgánica en sedimentos, suelos y biota es alta (Gad y Gad 2014).

Cornelissen (2005) indica que el área superficial de las partículas del suelo influye significativamente en la adsorción de los HAP. Un ejemplo de esto es lo que Amellal *et al.* (2001) determinó en un estudio donde se probó la degradación de HAP por microorganismos, obteniendo que fue mucho mayor en suelos arenosos, debido a que estuvieron más disponibles y accesibles los hidrocarburos, que en los suelos con partículas finas.

Hwang y Crtringht (2002) observaron que la adsorción del pireno y fenantreno está influenciada por la arcilla y la materia orgánica presente en el suelo y a su vez, está en función de que estén presentes ambos hidrocarburos.

En estudios se ha demostrado que la influencia de la materia orgánica es relevante en la remoción de contaminantes, obteniendo que en suelos con 0.23% de carbono orgánico incrementa la degradación de HAP y disminuye con un 7.1% de carbono orgánico después de 100 días de incubación (Yang *et al.*, 2010).

A su vez, el contenido de agua en el suelo es una de las propiedades físicas más importantes que sirven para identificar o clasificar un suelo cualitativamente. Es un factor importante para la elección de una tecnología de remediación debido a que, influye en la biodisponibilidad del contaminante, la aireación y temperatura del suelo, la transferencia de gases, el nivel efectivo de toxicidad del contaminante, el transporte de nutrientes, la etapa de crecimiento de los microorganismos y la distribución de especies (Suthersan 1997; Sumer 2000).

De acuerdo con estudios realizados, los porcentajes de agua en el suelo varían y se encuentran en el intervalo de 12% - 32% y 30% - 90%. Dentro de estos porcentajes, English y Loehr (1991) determinaron

que el contenido de agua cerca del 80% de su capacidad de campo o el 15% de agua (con base a su peso) es la cantidad óptima para la remediación en un suelo. Y debajo del 40% la tasa de bioremediación disminuye considerablemente. Es importante considerar que el agua en exceso impide la difusión de oxígeno (Lekshmi *et al.*, 2014; Skopp *et al.*, 2000).

Leahy *et al.* (1990) y Potin *et al.* (2004) determinaron que la biodegradación aerobia de los hidrocarburos en los suelos se da mejor en los rangos de 50% - 70% de su capacidad de campo y según Sihag *et al.* (2014) entre el 40% - 80% de su capacidad de campo.

Asimismo, se ha observado que un suelo con contenido de agua bajo puede limitar el movimiento de las bacterias hacia los nutrientes y verse afectada la degradación de los compuestos por parte de estos microorganismos, debido a la deficiencia de nutrientes. Sin embargo, en el caso de los hongos (*P. chrysosporium*) el contenido de agua aproximado al 20% favorece su crecimiento (Lamar *et al.*, 1993).

En mezcla de 14 de los HAP prioritarios, en muestras de suelo con el 2%, 8%, 20% y 40% de su capacidad de campo, se demostró que la desorción de naftaleno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno y pireno, es mejor con el 2% a una temperatura of 20°C (Hu y Aitken 2012).

Otra modalidad de bioremediación (remediación biológica) es la bioaumentación. Estudios han probado que en suelos contaminados con los HAP prioritarios, con un contenido de agua en el suelo ajustado al 60% e incubado a 28°C en la obscuridad, después de 56 días de incubación con adición del 10% y 20% de suspensión del consorcio bacteriano se obtuvo una remoción de HAP del 20% y 36% (Mao *et al.*, 2012).

Para saber si los HAP son fáciles de remover deberá determinarse su biodisponibilidad debido a que es uno de los principales parámetros que influyen en el alcance de la remoción de los contaminantes en el suelo (Riojas *et al.*, 2010). Y en varios casos, la presencia de altas concentraciones residuales de HAP es causada por la limitada biodisponibilidad de los mismos (Cuypers *et al.*, 2002).

Estudios realizados, en su mayoría han estado destinados a la investigación del comportamiento de los HAP con menor cantidad de anillos o al conjunto de los 16 HAP prioritarios, bajo condiciones aerobias. De estos estudios, ya se han obtenido las vías catabólicas de degradación para el naftaleno, fluoreno, fenantreno, fluoranteno y pireno y se han reportado las bacterias aisladas capaces de degradar los compuestos aromáticos prioritarios en medios líquidos, siendo específicamente *Mycobacterium sp.*, *Sphingomonas sp.*, *Pseudomonas fluorescens* y *Stenotrophomonas maltophilia* las bacterias capaces de degradar el BA (Schneider *et al.*, 1996; Juhasz *et al.*, 1996, 1997, 2000; Chen *et al.*, 1999; Jouanneau y Meyer 2006; Seo *et al.*, 2009).

De acuerdo con pruebas realizadas, se aisló la bacteria de *Sphingobium sp.* de un suelo contaminado con creosota y se demostró la biotransformación de varios HAP incluyendo el BA y DBA, entre otros, bajo distintas condiciones (Ye *et al.*, 1996).

En el caso del DBA se ha probado que, en incubación de medio líquido y utilizando el pireno como co-sustrato, la bacteria *S. maltophilia* (cadena VUN 10,003) es capaz de degradar el dibenzo(a,h)antraceno en aproximadamente 56 días, además de disminuir la mutagenicidad de los HAP después del metabolismo de dicha bacteria y hay biodegradación de HAP con cinco anillos durante el crecimiento de la cepa en presencia de fenantreno (Haramaya *et al.*, 2009).

A su vez, Vinas *et al.* (2005) y Mao *et al.* (2012) demuestran mediante pruebas moleculares (DGGE) que la especie *Proteobacteria* es capaz de degradar HAP de 4 y 5 anillos. Por lo pronto, Wu *et al.* (2010) encuentra que el hongo *Fusarium solani* es capaz de biodegradar el antraceno y benzo(a)antraceno de manera rápida y eficiente.

Esto conduce a deducir que bajo ciertas circunstancias, el BA y DBA son biodisponibles y a su vez degradables y aunque se ha demostrado lo problemático que es la validación de métodos químicos para predecir las fracciones biodisponibles de los HAP mediante bioensayos, es importante considerar que las concentraciones acumuladas en los microorganismos presentes en el suelo no sólo depende de la fracción biodisponible, sino también de las propiedades de los contaminantes

(You *et al.*, 2007; Gomez-Eyles *et al.*, 2011), donde tiempos prolongados de contacto entre los contaminantes orgánicos y los suelos, disminuye la biodisponibilidad de estos compuestos que son asimilados por los microorganismos para su degradación, proceso referido a su envejecimiento (Belfroid *et al.*, 1995; Alexander 2000; Northcott y Jones 2001; Makkar y Rockne 2003).

En estudios sobre la disipación de HAP en suelos, con base en su biodisponibilidad y actividad microbiana se determinó que la degradación microbiana de los HAP es en gran parte responsable de la disipación de los mismos y que en estudios de envejecimiento, la presencia o ausencia de microorganismos fue el factor significativo (Mueller *et al.*, 2006). Sin olvidar que la sorción en la materia orgánica del suelo es probablemente el factor más importante que limita la biodisponibilidad de los compuestos orgánicos en el suelo, según Riding *et al.* (2013). El tamaño de partícula puede ser otro factor que afecte la biodisponibilidad de los contaminantes en los suelos y sedimentos (Mehler *et al.*, 2011b).

En la actualidad el interés en la biodisponibilidad de los HAP se ha incrementado y los factores que la afectan han sido estudiados mediante aproximaciones (Chung y Alexander 1998). Las medidas de biodisponibilidad pueden obtenerse por medidas biológicas directas (bioacumulación), indirectas (biomarcadores, reproducción) o mediante la extracción con solventes orgánicos (n-butanol, hexano, tolueno y tetrahydrofurano, THF), obteniendo mejores resultados con THF y no recomendado n-butanol para suelos contaminados con fenantreno (Riding *et al.*, 2013).

Otra modalidad es mediante medidas químicas indirectas de biodisponibilidad que ayudan a determinar la concentración soluble del contaminante en el suelo. Y según Lanno *et al.* (2004), en caso de utilizarse deben correlacionarse con alguna respuesta biológica.

Entre las técnicas utilizadas son la microextracción (SPME) y la extracción en fase sólida (SPE) mediante el uso de resinas como XAD-2 (Xia *et al.*, 2010), perlas de Tenax-TA o ciclodextrin (HPCD) (Cornelissen *et al.*, 1997; Mayer *et al.*, 2000; Reichenberg *et al.*, 2006; Oleszczuk 2008; Chen *et al.*,

2010; Wu *et al.*, 2013), logrando desorción con ambos métodos y con buenos resultados para el fenantreno con HPCD (Rhodes *et al.*, 2008, 2012).

Sin embargo, en algunos estudios de suelos se determinó que la fracción disponible de HAP en la resina de Tenax-TA representa menos del 1% del total de la concentración (Ouvrard *et al.*, 2011), como es el caso donde se obtuvo el 0.3-9.6% de la concentración extraíble de HAP en muestras de suelo (0.649 mg/kg y 0.075 mg/kg se lograron extraer del BA y DBA) (Bernhardt *et al.*, 2013). A diferencia de otros estudios en sedimentos, donde se ha logrado extraer del 19-52% de compuestos con 3 anillos, del 27% al 77% de compuestos con 4 anillos, del 2% al 14% en compuestos con 5 anillos, 0.8% a 8% de los compuestos con 6 anillos y de forma individual se logró extraer del 5% al 24% del benzo(a)antraceno (Oleszczuk 2009).

Otros estudios se han basado en la diferencia entre tipos de suelo ya que se ha determinado que, en suelos industriales contaminados, provenientes de plantas de gas manufacturado (MGP, por sus siglas en inglés) y suelos agrícolas, las concentraciones de HAP en los suelos son mucho mayores en los primeros que en los segundos; además de ser más estudiados. Sin embargo, estos dos tipos de suelos presentan diferencias en las fracciones de desorción rápida de HAP a causa de su textura, contenido de carbono orgánico y envejecimiento (Guo *et al.*, 2017).

Richardson and Aitken (2011) determinó la biodisponibilidad de HAP en tres suelos industriales (MGP), mediante extracción con Tenax-TA y la fracción de desorción rápida fue de 0.13-0.53. A su vez, Guo *et al.* (2017) obtuvo similares resultados en suelos industriales (0.18 - 0.54 y 0.14 - 0.53) como en suelos agrícolas (0.12 - 0.42). Y Barnier *et al.* (2014) determinó del 0.25% – 7.59% en suelos industriales.

Otros estudios se han enfocado en otros métodos de tratamiento para determinar la disponibilidad de los 16 HAP en suelos contaminados. Uno de ellos es mediante un precalentamiento a los suelos (Biache *et al.*, 2015), oxidaciones químicas (Cuypers *et al.*, 2000; Ferrarese *et al.*, 2008; Čvančarová *et al.*, 2013) para mejorar la disponibilidad, probaron H₂O₂ y Fenton, obteniendo buenos resultados a

diferencia del tratamiento con KMNO_4 que es eficaz para degradar HAP aun a pesar de que las muestras presenten baja disponibilidad (Ferrarese *et al.*, 2008; Valderrama *et al.*, 2009).

En estudios realizados específicamente para HAP con menor cantidad de anillos, tales como el naftaleno y fenantreno se ha demostrado que su degradación es controlada por la fracción disuelta del compuesto (Heitzer *et al.*, 1992). Además de encontrar que el antraceno es más recalcitrante que el pireno y el fenantreno (Mueller *et al.*, 2006).

Con base en lo anteriormente descrito, se hizo la selección de los HAP que se estudiaron en este trabajo, además de tomar en cuenta que los crudos de petróleo extraídos en diversas zonas geográficas del mundo contienen diferentes proporciones de HAP y que se han encontrado 60 crudos de diversos orígenes, de los cuales México produce tres tipos (IIE 1998). En la Tabla 3-1 se establece la frecuencia de detección de los 16 HAP prioritarios.

El trabajo se enfoca a dos HAP, el Benzo(a)antraceno (BA) y el Dibenzo(a,h)antraceno (DBA), con 4 y 5 anillos aromáticos, respectivamente; considerados por la USEPA como parte de los 16 más tóxicos y 7 de los más carcinogénicos; a su vez, referidos en la normatividad mexicana, en la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 (Diario Oficial 2013), en la cual establecen los Límites Máximos Permisibles (LMP) de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación (Tabla 3 de la norma), considerados a los HAP como hidrocarburos específicos en el suelo (Tabla 3-2). Hidrocarburos que, en relación con límites establecidos en distintos países, presentan una mayor flexibilidad de concentración máxima regulada.

Los criterios para los niveles aceptables de HAP en el suelo varían. Muchos países aún tienen que publicar valores de referencia del suelo (SVG, por sus siglas en inglés), basándose en una evaluación del riesgo que representan para la salud humana de la exposición al suelo contaminado, donde dichos valores finales dependen del uso del suelo (es decir, agrícola, residencial, industrial, etc). En algunas jurisdicciones, las directrices se refieren a la concentración acumulada de varios HAP, mientras que otros utilizan la concentración de los HAP cancerígenos (Doyle *et al.*, 2008).

Tabla 3-1 Frecuencia de aparición de los HAP prioritarios (US EPA) en 60 crudos a nivel mundial

HAP	No. Anillos	Concentración promedio de 60 crudos internacionales (mg/kg)			Frecuencia de detección (%)
		Mínima	Máxima	Promedio	
Naftaleno	2	1.2	3 700	422.9	100
Acenaftileno	3	ND	ND	ND	0
Acenafteno	3	ND	58	13.9	80
Antraceno	3	ND	17	3.4	40
Fenantreno	3	ND	916	176.7	98
Fluoreno	3	1.4	380	73.6	100
<i>Benzo(a)antraceno</i>	4	ND	38	5.5	67
Fluoranteno	4	ND	26	3.9	40
<i>Criseno</i>	4	4	120	28.5	100
Pireno	4	ND	82	15.5	97
<i>Dibenzo(a,h)antraceno</i>	5	ND	9.2	1.0	47
<i>Benzo(a)pireno</i>	5	ND	7.7	2.0	75
<i>Benzo(b)fluoranteno</i>	5	ND	14	3.9	100
<i>Benzo(k)fluoranteno</i>	5	ND	7	0.46	93
<i>Indeno(1,2,3-cd)pireno</i>	6	ND	1.7	0.006	7
Benzo(g,h,i)perileno	6	ND	9.6	1.53	63

Carcinogénicos: HAP en cursiva

Tabla 3-2 Límites máximos permisibles para hidrocarburos específicos en suelo

Hidrocarburos específicos	Uso de suelo predominante (mg/kg base seca)		
	Agrícola	Residencial	Industrial
Benceno	6	6	15
Tolueno	40	40	100
Etilbenceno	10	10	25
Xilenos (suma de isómeros)	40	40	100
Benzo(a)pireno	2	2	10
<i>Dibenzo(a,h)antraceno</i>	2	2	10
<i>Benzo(a)antraceno</i>	2	2	10
Benzo(b)fluoranteno	2	2	10
Benzo(k)fluoranteno	8	8	80
Indeno(1,2,3-cd)pireno	2	2	10

Fuente: NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012

Con base en distintos trabajos realizados en sitios contaminados con hidrocarburos en México, el BA y DBA son dos de los HAP que se encuentran frecuentemente en sitios contaminados, entre ellos: Terminales de Distribución y Almacenamiento (TAD) (Iturbe *et al.*, 2004), Terminales de Ferrocarriles Nacionales de México en Liquidación (Iturbe *et al.*, 2009), así como en Terminales Marítimas y Refinerías, ubicados en distintos estados de la República Mexicana.

Debido a la complejidad de degradación de los HAP, es que en el presente trabajo se pretende determinar el efecto que presenta la materia orgánica y el agua en la biodisponibilidad y remoción de la mezcla de los dos hidrocarburos (BA y DBA), considerados contaminantes con alto nivel de riesgo por su toxicidad, de acuerdo con las propiedades físicas, químicas y biológicas de los tres suelos considerados en el estudio. Ya que sus características son prioridad para conocer el destino de los HAP en el medio ambiente (Golobočanin *et al.*, 2004).

Además de considerar que, en diferentes formas, bajo distintas condiciones, técnicas y metodologías se han estudiado los HAP en mezcla de 16 o por separado de acuerdo con su peso molecular con respecto a la cantidad de anillos que tienen. En otros casos solo se han realizado estudios de algunos de los HAP según el interés y objetivo de la investigación, siendo prioridad los de menor cantidad de anillos aromáticos y el benzo(a)pireno con mayor número de anillos; sin embargo, hasta el momento no hay cita donde se referencie una mezcla de los hidrocarburos utilizados en este estudio, el BA y DBA.

Por tal motivo, con base en la biodisponibilidad del BA y DBA se puede determinar si la remoción se debe a un proceso biológico y a su vez, determinar cuál es la técnica de remediación óptima para suelos contaminados con este tipo de hidrocarburos aromáticos.

Capítulo 4

Marco Teórico

4.1 El suelo y su microbiología

En la actualidad existen diferentes definiciones sobre el suelo, debido a que están en función de las disciplinas que lo estudian; sin embargo, este recurso natural está cada vez más enfocado hacia una mayor perspectiva ambiental (Hartemink 2016).

El concepto de suelo se ha definido como *“material no consolidado compuesto por partículas inorgánicas, materia orgánica, agua, aire y organismos, que comprende desde la capa superior de la superficie terrestre hasta diferentes niveles de profundidad”* (NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012). Y de acuerdo con Iturbe (2014), en ingeniería se define como la porción de material no consolidado superficial y subsuperficial de roca intemperizada y material suelto que descansa sobre la roca sólida.

El suelo está formado por rocas a través de un proceso complejo de fuerzas físicas, químicas y biológicas. Los principales factores involucrados en la formación del suelo son el material parental, el clima, la topografía, su actividad biológica, el tiempo y las características biológicas del suelo varían según su localización y clima; además varía en profundidad, propiedades físicas, composición química y origen (Pelczar *et al.*, 1982).

Independientemente de los horizontes que tenga el suelo, éstos contienen proporciones variables de arcilla, limo y partículas de arena (Brady y Weil 2002). Las proporciones de los diferentes tamaños de partículas constituyen la textura del suelo (Tabla 4-1), propiedad muy importante para la ecología de los microorganismos debido a que describe el área superficial que está disponible como hábitat para

el crecimiento de los microorganismos. Es por tanto que, suelos con gran composición de arcilla tiene mucha más área superficial disponible para los microorganismos, a diferencia de un suelo con alto porcentaje de arena, debido a que las arcillas son partículas mucho más pequeñas que las arenas.

Tabla 4-1 Comparación del tamaño de partícula, número de partícula y área superficial por gramo de arena, limo y arcilla

Componente del suelo	Diámetro (mm)	No. de partículas/g	Área superficial (cm ² /g)
Arena	2.00 - 0.05	90	11
Limo	0.05 – 0.002	5.78 x 10 ⁶	454
Arcilla	0.002	9.03 x 10 ¹⁰	8 000 000

Fuente: Brady y Weil 2002

Los suelos contienen enormes y diversas comunidades microbianas (Atlas *et al.*, 1998). Son generalmente un hábitat favorable para la proliferación de microorganismos, con desarrollo de colonias sobre las partículas del suelo (Fig. 4-1). Un gran número de microorganismos se encuentran en el suelo, mucho mayor a los encontrados en cuerpos de agua dulce. Comúnmente se encuentran en un intervalo de 10⁶ - 10⁹ bacterias por gramo de suelo (Sihag *et al.*, 2014). Los microorganismos encontrados en el suelo incluyen virus, bacterias, hongos, algas y protozoo. Los suelos que presentan concentraciones de materia orgánica relativamente altas favorecen el crecimiento de microorganismos heterótrofos (Atlas *et al.*, 1998).

Es difícil atribuir una adaptación generalizada de la microbiota nativa del suelo, debido a que dicha matriz tiene muchos hábitats y en un área tan concreta no puede haber varias situaciones distintas de "microambiente" que favorezcan las diferentes poblaciones autóctonas del suelo.

De todos los microorganismos que conforman la población del suelo, las bacterias sobrepasan a todos los demás grupos de microorganismos, tanto en número como en variedad (Pelczar *et al.*, 1982). Las bacterias encontradas en los suelos pueden ser autótrofas, heterótrofas, mesófilas, termófilas, psicrófilas, aerobias, anaerobias o anaerobias facultativas, degradadoras de celulosa y oxidantes del azufre; fijadoras de nitrógeno, degradadoras de proteínas y otros tipos; y aunque no

es posible describir las características generales de las bacterias nativas del suelo, los parámetros abióticos de algunos suelos restringen las poblaciones microbianas que puedan desarrollarse en el mismo. Las bacterias comúnmente encontradas en el suelo son: *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Caulobacter*, *Cellulomonas*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Xanthomonas*. Las cuales se presentan en distintas proporciones en cada uno de los suelos.

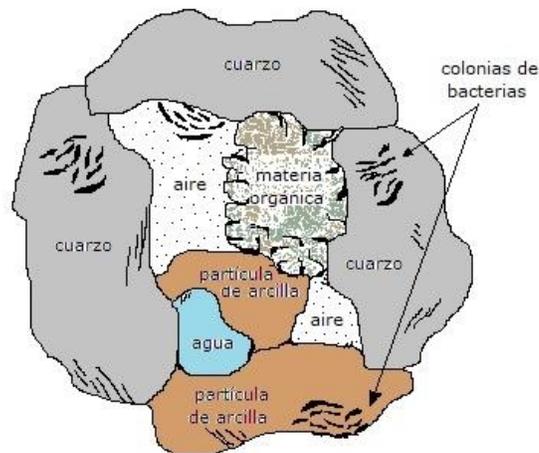


Figura 4-1 Estructura del suelo, con agua y aire en espacios porosos y distribución de colonias de bacterias (Baker y Herson 1994)

Es importante mencionar que los hongos constituyen una gran proporción de la biomasa microbiana en el suelo, en su mayoría como nativos, sin embargo, éstos se encuentran principalmente en la parte superior de la superficie del suelo, es decir, a 10 cm de profundidad, pues rara vez se encuentran por debajo de los 30 cm, siendo más abundantes en suelos ácidos y bien aireados. Los hongos que se presentan con mayor frecuencia en los suelos son especies de *Aspergillus*, *Geotrichum*, *Penicillium* y *Trichoderma*, así como ascomicetos y basidiomicetos que también se producen en grandes cantidades (Atlas *et al.*, 1998).

Es, por tanto, que la gran capacidad de la absorción del suelo y sus numerosos hábitats influyen fuertemente en las interacciones entre los hongos y bacterias del suelo.

El número de organismos en el suelo están influenciados principalmente por la cantidad y calidad de sustrato disponible, en este caso del contaminante contenido en el suelo. Por tal motivo, la biodegradación de los hidrocarburos es definida por las características biológicas del suelo (Betancur *et al.*, 2006). Aunque hay una gran diversidad de organismos capaces de degradar los HAP con menor cantidad de anillos, relativamente pocos se conocen como degradadores de HAP que contengan más de 4 anillos (Juhász *et al.*, 2000).

El suelo es un medio único que contiene una comunidad diversa de organismos que representa a muchos tipos de características morfológicas y fisiológicas. Sin embargo, es importante considerar el número y la actividad de cada consorcio al caracterizar un suelo, pues algunos organismos existen en niveles numéricamente bajos y representa una gran influencia en algunos procesos biológicos. Esto dependerá del proceso que se lleve a cabo, de la matriz contaminada y de los contaminantes presentes.

Los organismos en el suelo no son estáticos en cantidad o actividad, por lo tanto, el conteo de alguna población microbiana o de su actividad representa un punto en el tiempo para esa población en particular que está en equilibrio dinámico con su entorno físico, químico y biológico. La variación de la cantidad de microorganismos y su actividad puede presentarse de acuerdo a la profundidad y tipo de suelo (Page *et al.*, 1982). Algunos factores que afectan el número de organismos incluyen factores físicos, como la humedad y la temperatura; factores bióticos, como la depredación y competencia entre microorganismos; y las características químicas del suelo, por ejemplo, la acidez, nutrientes disueltos y salinidad (Brady y Weil 2002). Asimismo, la actividad microbiana está regulada por factores en común, tales como las condiciones nutricionales, la disponibilidad del agua, la temperatura y otros factores importantes que las afectan son las concentraciones de protones y la falta de suministro de oxígeno.

Los métodos utilizados para estudiar la diversidad microbiana presente en el suelo consisten en conocer la riqueza de especies, el número total de especies, la uniformidad de las especies y la

distribución de las mismas presentes en el medio (Trevors 1998b; Ovreas 2000). Sin embargo, determinar por completo la diversidad de la microbiota representa un obstáculo para calcular la población de una muestra de suelo (Pelczar *et al.*, 1982). Los métodos empleados pueden clasificarse en dos tipos: Técnicas Bioquímicas y Moleculares.

La identificación y caracterización de las comunidades microbianas en suelos contaminados, se ha limitado por muchos años a conocer los microorganismos presentes provenientes de una muestra de suelo, mediante técnicas cultivables, es decir, mediante técnicas bioquímicas, las cuales determinan solo una fracción representativa de los microorganismos involucrados en la biodegradación de los contaminantes presentes en la matriz, además de que estos métodos de cultivo sólo revelan los tipos fisiológicos y nutritivamente compatibles con el ambiente del medio de cultivo (Pelczar *et al.*, 1982).

Tradicionalmente se ha utilizado la técnica de cuenta en placa y cuenta directa viable. Estos métodos son rápidos, económicos y proporcionan una información sobre la población activa heterótrofa. Sin embargo, el uso de esta técnica presenta varias limitantes, como la dificultad que se presenta al garantizar que durante el procedimiento se extraigan todas las bacterias de las partículas del suelo, la selección correcta del medio de crecimiento a emplear (Tabacchioni *et al.*, 2000), las condiciones de crecimiento (temperatura, pH, luz), la incapacidad de cultivar gran número de especies bacterianas con técnicas actuales y el potencial de inhibición colonia-colonia o de propagación de la colonia microbiana (Trevors 1998b). Por tanto, se considera que estas limitantes influyen en la diversidad aparente de la comunidad microbiana.

Se ha estimado que la comunidad microbiana en un gramo de suelo puede contener desde más de mil diferentes especies bacterianas hasta cuatro mil distintas especies (Torsvik *et al.*, 1990). Sin embargo, se ha observado que el crecimiento rápido de los organismos o cepas mejor adaptadas a un cultivo crecen preferentemente a las no adaptadas y por lo tanto, no representa con precisión la composición actual de la comunidad microbiana en ambientes contaminados (Rappé *et al.*, 2003; Gilbride *et al.*, 2006), es decir, que muchos de los microorganismos depositados en el medio

contaminante en muchas ocasiones no llegan a ser favorecidos y por tanto, no son detectados. Además de que, tampoco se garantiza que el 1% de muestra obtenida para su análisis sea representativa de la población bacteriana.

4.2 Compuestos orgánicos en el suelo

Los compuestos orgánicos, tales como plaguicidas e hidrocarburos, suelen moverse en una o más direcciones, como vaporización en la atmósfera sin cambio químico, pueden ser absorbidos por el suelo, pueden experimentar reacciones químicas dentro o sobre la superficie del suelo, cambiar su estructura por microorganismos que se encuentran en el suelo, lavarse en arroyos y ríos en la escorrentía superficial o adsorberse por plantas o animales del suelo y entrar a la cadena alimenticia. Por ello, el destino específico de estos productos químicos se determina por sus estructuras químicas, que son altamente variables.

Existen cientos de compuestos orgánicos que están de manera natural o antropogénica. Más de 1600 compuestos orgánicos han sido identificados en ambas formas, natural o en ambientes contaminados, los cuales son de interés por la contaminación superficial que, a su vez, son asociados con la refinación de productos del petróleo o con la ignición de combustibles fósiles (Suthersan 1997).

Por tal motivo, es esencial tener un conocimiento fundamental del tipo de contaminante y sus propiedades para entender su comportamiento en el suelo. Casi todos los contaminantes de interés ambiental que ocasionan preocupación pueden clasificarse en orgánicos o inorgánicos (Fig. 4-2), que por definición los compuestos orgánicos son aquellos que contienen carbón orgánico y los que no lo contienen son considerados como inorgánicos.

Dentro de la clasificación de compuestos orgánicos- hidrocarburos no clorados-no volátiles-no solubles se encuentran los HAP, considerados como compuestos complejos, formados por dos o más anillos aromáticos fusionados que pueden ser naturales o de origen antropogénico (Harayama 1997).

mayor toxicidad, aunque la vía de exposición y la presencia de otras sustancias tóxicas influye en los efectos toxicológicos. La mayoría de ellos son mutagénicos y cancerígenos (Mao *et al.*, 2012).

Se estima que la mayor parte de los hidrocarburos presentes en el medio ambiente (aproximadamente el 90%), se encuentran en los ecosistemas terrestres y más concretamente, en los 20 cm superiores del horizonte del suelo (Jones *et al.*, 1989; Maliszewska-Kordybach 1996, 1999). Se componen de mezclas de numerosos compuestos homólogos adheridos a las partículas del suelo y sedimentos, lo que restringe su disponibilidad para su biodegradación (Mao *et al.*, 2012).

Existen varios factores que afectan la estabilidad de los HAP por lo que es complicado determinar los tiempos de vida media de cada uno. Sin embargo, se ha determinado que los hidrocarburos aromáticos con menor cantidad de anillos tienen vidas medias de días o menos en la atmósfera, de semanas en el agua, de meses en suelos y años en sedimentos (Sparling 2016).

4.3 Biodisponibilidad de los HAP

El término biodisponibilidad en muchas de las ocasiones ha sido utilizado indistintamente de la fracción bioaccesible de un contaminante en el suelo, debido a que se considera que la biodisponibilidad representa la accesibilidad de una sustancia química del suelo con destino a la asimilación por los microorganismos y posible toxicidad.

Un compuesto biodisponible puede definirse como aquél que está libremente disponible para cruzar la membrana celular de un organismo a partir del medio donde habita el organismo en un momento dado. Y compuesto bioaccesible como aquél que está disponible para cruzar la membrana celular de un organismo del entorno, si el organismo tiene acceso al contaminante. Sin embargo, el producto químico puede ser eliminado físicamente del organismo o biodisponible sólo después de cierto tiempo (Semple *et al.*, 2004).

De acuerdo con la SEMARNAT (2006), la biodisponibilidad es una característica de las sustancias tóxicas que indica la facilidad de incorporarse a los seres vivos mediante procesos o mecanismos, inhalación, ingesta o absorción, y que están influenciados por diferentes parámetros como, las rutas de exposición, las características fisiológicas del receptor y las características químicas del compuesto.

Se considera como "procesos de biodisponibilidad" a las interacciones físicas, químicas y biológicas que determinan la exposición de los organismos a productos químicos asociados con los suelos y sedimentos (Ehlers y Luthy 2003)

La biodisponibilidad de los contaminantes orgánicos es el principal factor que determina su destino, la toxicidad y las pérdidas en el medio ambiente.

Bajo las condiciones reales de suelo contaminado, la tasa de crecimiento microbiano disminuye con el tiempo, ya sea debido al agotamiento del sustrato unido reversiblemente o como resultado de un aumento en la cantidad acumulada de sustrato consumido para el mantenimiento de biomasa. En este último caso, la población microbiana entra en la fase de crecimiento estacionario, a pesar de grandes existencias de sustrato hay tanta biomasa, que todo el sustrato que entra en la fracción biodisponible se consume para el mantenimiento de biomasa.

Si el contaminante se degrada por una comunidad microbiana, la vía metabólica se distribuye entre varias especies de microorganismos que pueden estar interconectadas por relaciones tróficas complejas. Por lo tanto, la tasa de degradación de contaminantes no está determinada por un solo microorganismo.

Todas las bacterias degradadoras de HAP son capaces de asumir el sustrato de la fase acuosa, sin embargo, la mayor parte del volumen de poros del suelo es inaccesible para las células bacterianas por razones de geometría. Van Gestel (2008) ha descrito cómo el análisis geométrico muestra que sólo una pequeña fracción de la superficie de las bacterias está en contacto directo con los

compuestos adsorbidos sobre la superficie del suelo y solo algunas bacterias liberan los HAP únicamente de la fase acuosa.

De acuerdo con Miller y Alexander (1991) se cree que los microorganismos solo pueden acceder a una porción de compuestos sorbidos, que según Bosma (1997) puede estar limitada por la cinética de transferencia de masa. De los distintos métodos que existen para medir la biodisponibilidad, lo que se pretende es la extracción de una parte de la concentración total del contaminante, que representa una medida del contaminante disponible (Barnier *et al.*, 2014).

Para ello, se ha utilizado agua para desorber los compuestos de los suelos o sedimentos, en conjunto con resinas como el Tenax-TA, y así determinar la fracción de desorción (Cui *et al.*, 2013).

En la Tabla 4-2 se presentan las especificaciones de la resina de Tenax-TA utilizada en este trabajo.

Tabla 4-2 Especificaciones de la resina de Tenax-TA

Propiedad	Resina de Tenax-TA
Estructura o nombre químico	Resina de polímero 2,6-óxido de difenileno
Límite de temperatura	350°C
Afinidad por el agua	Baja
Área de superficie específica	35 m ² /g
Volumen de poro	2.4 cc/g
Tamaño medio de poro	200 nm
Densidad	0.25 g/cc

Fuente: Scientific Instrument Services, Inc. (<https://www.sisweb.com/index/referenc/tenaxtam.htm#4>)

4.4 Degradación de los HAP

La degradabilidad de un compuesto está en función de la ocurrencia que tiene en la naturaleza y en algunos casos los compuestos con un alto peso molecular, particularmente aquellos que tienen estructuras complejas con anillos y compuestos halogenados se degradan con mayor lentitud que

los hidrocarburos simples que se encuentran en una cadena lineal o de menor peso molecular (Das 2014).

Situación que se presenta en la degradación de los HAP, que dependerá de la complejidad de la estructura química y el grado de adaptación enzimática. En estudios realizados (Gray *et al.*, 1994; Tsomides *et al.*, 1995) y de forma general se ha demostrado que los hidrocarburos con menos de 10 átomos de carbono o bien de 3 o menos anillos aromáticos (bajo peso molecular) tienden a ser fáciles y rápidos de degradar (Nam *et al.*, 2001).

Makkar y Rockne (2003) han determinado que prácticamente todos los HAP con menos de 5 anillos son parcialmente biodegradables por microorganismos aerobios y anaerobios. Y los hidrocarburos con cuatro, cinco o más anillos son altamente persistentes y son considerados recalcitrantes (Suthersan 1997).

Algunos HAP pueden degradarse biológicamente en la capa de suelo aeróbico, pero este proceso es lento, debido a la sorción en la fracción de carbono orgánico del suelo que reduce la biodisponibilidad. Por la misma razón, la lixiviación de HAP a través de la capa superficial del suelo a las aguas subterráneas se supone que es insignificante, lo que dependerá también del tipo de suelo presente.

Numerosos factores abióticos y bióticos afectan la degradación de los HAP en ambientes como el suelo (Fig. 4-3). El número de anillos aromáticos que tenga el hidrocarburo y sus propiedades químicas tienen un efecto importante en su destino ambiental, por lo que a los compuestos de mayor peso molecular se consideran persistentes por períodos más largos que sus homólogos de menor peso molecular.

Aunque los factores abióticos tales como pH, contenido de humedad, niveles de oxígeno y disponibilidad de nutrientes tienen influencia en la degradación de HAP, es evidente que los procesos

microbianos son en gran parte responsables de la mayor degradación (Bossert y Compeau 1995; Alexander 1999).

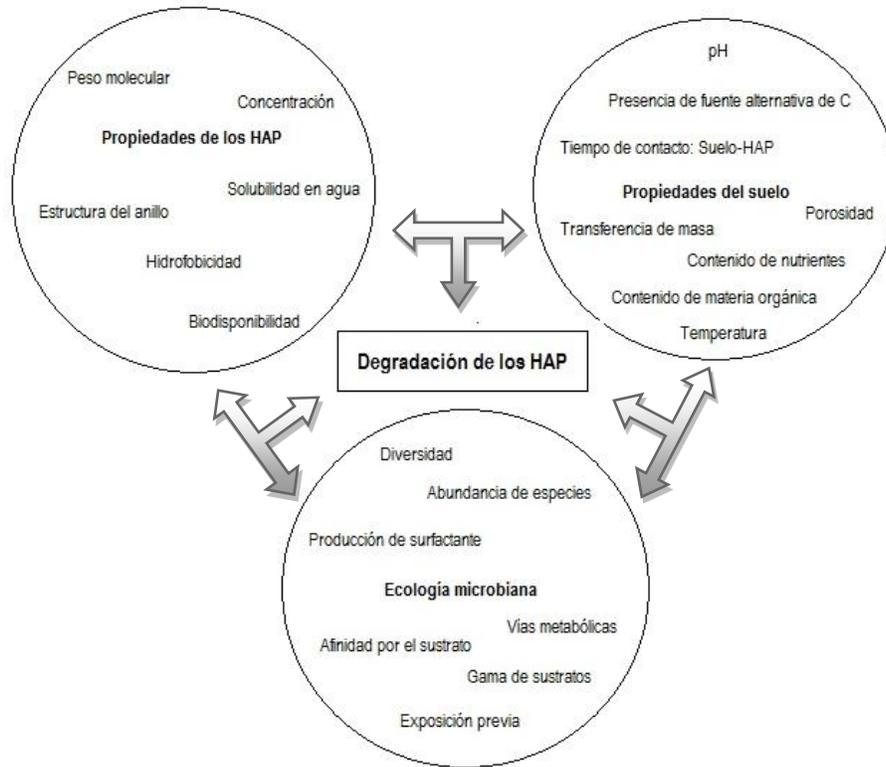


Figura 4-3 Factores abióticos y bióticos que afectan la degradación de los HAP en el suelo (Doyle *et al.*, 2008)

Con base en trabajos de investigación realizados para determinar la degradación de los HAP con dos y tres anillos, han sido ampliamente estudiados, sin embargo, hasta finales de los años 70's las investigaciones con HAP de 4, 5 y 6 anillos aromáticos, habían sido significativamente menores (Herbes *et al.*, 1978; Tabak *et al.*, 1981) debido a la complejidad de su degradación; aun a pesar del impacto que tienen en los efectos a la salud. En los últimos 10 años, la investigación sobre biodegradación por bacterias de HAP ha avanzado más, debido a la documentación de nuevos aislamientos que representan diversos tipos de bacterias que han sido aisladas de diferentes entornos y que poseen diferentes capacidades metabólicas (Kanaly *et al.*, 2010).

Uno de los factores importantes a considerar en estudios de degradación es la vida media del contaminante en el suelo. De acuerdo con estudios realizados en el laboratorio, Sims *et al.* (1988) determina que la degradación de los HAP con 2 anillos presentes en suelos arenosos es considerablemente alta, con una vida media de aproximadamente 2 días. La vida media de HAP con 3 anillos, como el antraceno y el fenantreno, es de 16 y 134 días, respectivamente y los HAP con 4, 5 y 6 anillos, generalmente presentan una vida media mayor a los 200 días. De forma similar, Heitkamp *et al.* (1987) determinan vidas medias menores de 10 días, menores de 100 días y mayores de 100 días para HAP con 2, 3 y mayores de 4 anillos, respectivamente.

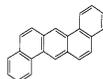
Los HAP son degradados microbiológicamente en una o dos vías, la que se lleva a cabo como única fuente de carbón y energía para los microorganismos, por cometabolismo (demostrada con HAP con más de 4 anillos aromáticos) o co-oxidación si la oxidación ocurre (Heitkamp *et al.*, 1988; Heitkamp *et al.*, 1988a, 1988b; Mueller *et al.*, 1990; Cookson 1995).

De hecho, el cometabolismo puede ser el único modo de metabolismo para la degradación del HAP con mayor cantidad de anillos. Y el enriquecimiento análogo del sustrato puede también ser útil para aumentar la degradación. Ya que la presencia de un sustrato análogo tal como el naftaleno, aumenta la degradación del pireno y muchos organismos. Bajo este modo del metabolismo, el sustrato análogo es el sustrato primario, y la producción enzimática conveniente llega a estar disponible para degradar el HAP más pesado como el sustrato secundario (Suthersan 1997).

Se ha observado que la co-oxidación aumenta la degradación de HAP con más de 4 anillos (Sims y Overcash 1983; Keck *et al.*, 1989). Mismos que presentan mayor degradación cuando están en mezclas que cuando están como compuestos puros en el suelo (Sims *et al.*, 1988) debido a su baja solubilidad, mayor estabilidad y, por tanto, los hace más recalcitrantes (Wilson y Jones 1993).

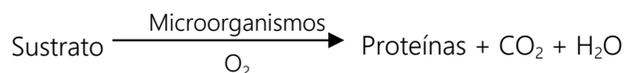
En la Tabla 4-3 se presentan las propiedades fisicoquímicas de los HAP que se estudiaron en este trabajo: Benzo(a)antraceno (BA) y Dibenzo(a,h)antraceno (DBA).

Tabla 4-3 Propiedades fisicoquímicas del Benzo(a)antraceno (BA) y Dibenzo(a,h)antraceno (DBA)

Nombre	Benzo(a)antraceno (BA)	Dibenzo(a,h)antraceno (DBA)
Estructura	 C ₁₈ H ₁₂	 C ₂₂ H ₁₄
Otros nombres	1,2 Benzantraceno	1,2,5,6 Dibenzantraceno
No. de anillos	4	5
Peso molecular (g)	228.3	278.36
Punto de ebullición (°C)	437.6	524
Constante de Henry (atm·m ³ /mol)	6.6x10 ⁻⁷	7.33x10 ⁻⁹
Coefficiente de distribución, Log K _{oc}	6.14	6.22
Coefficiente de distribución n-octanol/agua Log K _{ow}	5.61	6.36
Solubilidad en agua (mg/l)a 25°C	0.014	0.0005
Carcinogenicidad Relativa	Poco activo (< +)	Activo (+++)

Fuente: Montgomery y Welcom 1990; Futoma *et al.*, 1981

De forma general, la vía de degradación de los HAP se resume de la siguiente forma:



4.5 Variables que influyen en la biodisponibilidad y degradación de los HAP

Con base en lo descrito anteriormente, se sabe que son varios los factores que influyen en los procesos de biodisponibilidad y degradación de los HAP en los suelos, considerando a su vez la aclimatación requerida de los microorganismos.

De acuerdo con el trabajo realizado se describe en breve las variables monitoreadas en la remoción del BA y DBA.

4.5.1 Materia Orgánica

La materia orgánica está constituida por una amplia gama de sustancias orgánicas (carbonosas), las cuales incluyen a los organismos vivos presentes, es decir, la biomasa del suelo, los restos carbonosos de los organismos que ocuparon el suelo y compuestos orgánicos producidos por el metabolismo actual y pasado en el suelo. Con el tiempo la materia orgánica se pierde en el suelo como producción de dióxido de carbono por respiración microbiana (Brady y Weil 2002).

El material orgánico en el suelo se ha definido como la fracción orgánica del suelo, incluyendo plantas, animales y residuos microbianos, fresco y en todas las etapas de descomposición, así como el humus presente en el suelo. Sin embargo, la materia orgánica incluye solo los materiales orgánicos que acompañan a las partículas del suelo a través de un tamiz de 2 mm.

Es difícil estimar cuantitativamente la cantidad de materia orgánica presente en el suelo, debido a que los procedimientos que se han utilizado desde hace muchos años incluyen la determinación del cambio de peso de una muestra de suelo, resultado de la destrucción de los compuestos orgánicos por tratamiento mediante peróxido de hidrógeno (H_2O_2), dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) o por ignición a altas temperaturas, sin embargo, las tres técnicas están sujetas a error. El método con H_2O_2 no quita cuantitativamente la materia orgánica, el método de combustión húmeda (Walkley – Black 1934) con $K_2Cr_2O_7$ solo determina una parte del carbono orgánico y el método por ignición da una sobrestimación porque tanto los componentes orgánicos como inorgánicos pierden peso durante el calentamiento (La Manna *et al.*, 2007). Alternativamente, el contenido de materia orgánica de un suelo puede calcularse multiplicando la concentración de carbono orgánico por un factor constante basado en el porcentaje de carbón en la materia orgánica.

Por tanto, la cantidad de materia orgánica que contenga un suelo en un momento dado será la diferencia entre la biomasa total recibida y la biomasa mineralizada de forma relativamente rápida y el humus mineralizado de forma lenta.

Las principales acciones atribuidas a la materia orgánica y sus efectos asociados de acuerdo con Porta *et al.* (1994) y Stevenson (1994), son: La estructuración del suelo porque favorece la formación y estabilización de agregados, la aireación, resistencia al encostramiento, velocidad de infiltración, circulación de agua, entre otras. La adsorción e intercambio de iones que interviene en el ciclo biogeoquímico de nutrientes, controla la acidez y basicidad del suelo, además de permitir la formación de complejos y quelatos. La retención y suministro de agua, que interviene en el balance hídrico del suelo y la estimulación de la actividad biológica debido a que proporciona energía y nutrientes para la flora y la fauna del suelo.

La cantidad y el tipo de materia orgánica del suelo influye en casi todas las propiedades que contribuyen a la calidad del suelo y ha sido señalado como un indicador importante debido a su papel crucial en las propiedades químicas, físicas y biológicas del suelo (Chen *et al.*, 2008).

Se sabe que la materia orgánica del suelo afecta la remoción de los HAP de dos maneras distintas (Yang *et al.*, 2011). Por un lado, los contaminantes podrían unirse al material orgánico para que no se puedan degradar (Ortega *et al.*, 2013), debido a que la sorción de contaminantes orgánicos tiende a impedir el contacto directo entre microorganismos y los HAP, lo que es necesario para que la biodegradación ocurra (Zhang *et al.*, 1998).

Es decir, que la materia orgánica del suelo es capaz de mejorar la adsorción del contaminante y reducir su biodisponibilidad, por lo que disminuye la fracción disponible para los microorganismos y se pueda llevar a cabo la degradación (Chen 2015).

Por tanto, el secuestro de los contaminantes dependerá de cómo esté conformado el suelo debido a que la relación de materia orgánica y la cantidad de arcilla presente en el suelo lo determinará (Chung y Alexander 1998). Pues Morrison *et al.*, (2000) reporta que los hidrocarburos que son adicionados al suelo mucho tiempo atrás, son mucho menos disponibles que los adicionados recientemente.

4.5.2 Contenido de agua en el suelo

El agua es de vital importancia en el funcionamiento ecológico de los suelos y es importante considerar el efecto que representa el contenido de agua en el suelo dependiendo su cantidad presente y el tamaño de poro. El contenido de agua del suelo se refiere a la cantidad de agua (masa o volumen) que se halla en cada posición de un suelo en un momento determinado (Porta *et al.*, 1994). Además de que ejerce gran influencia sobre la aireación y temperatura del suelo, ésta compite con el aire del suelo por la ocupación de poros e interfiere en la difusión de gases dentro y fuera del mismo. Se considera que el aire y el agua juntos ocupan el volumen de los espacios y usualmente conforman del 25% al 50% del volumen total (Volke y Velasco 2004).

El agua del suelo puede resistir cambios en la temperatura en virtud de su elevado calor específico y su alta energía de evaporación (Brady y Weil 2002).

El comportamiento físico del suelo está controlado por su contenido de agua, que influye en la consistencia, plasticidad, penetrabilidad, temperatura, etc. Cuando se tiene un contenido de agua muy bajo, el suelo se comporta como un sólido frágil; sin embargo, cuando el contenido de agua es muy alto, el suelo y el agua tienden a fluir como un líquido (Das 2004). Es por ello, que con base en este parámetro se clasifica el comportamiento del suelo en cuatro estados: sólido, semisólido, plástico y líquido.

A los límites líquidos y plástico se les conoce como límites de Atterberg o límites de consistencia, que representa la resistencia que tiene el suelo para cambiar de forma y estará en función del contenido de agua y de los minerales predominantes en el suelo (Budhu 2011; Lekshmi et al., 2014).

Con base en lo anterior puede determinarse la superficie específica de las partículas del suelo que se refiere a la relación del área superficial con respecto al volumen de masa (Iturbe 2014). Parámetro importante en la caracterización de un suelo ya que a mayor superficie específica, la capa de agua adsorbida al suelo será mayor.

Capítulo 5

Metodología

El estudio se dividió en 3 experimentos para determinar a escala laboratorio la disponibilidad del BA y DBA, y su remoción bajo distintas condiciones de agua y materia orgánica en tres suelos.

El experimento 1 (E1) se realizó para determinar la concentración disponible de los dos HAP, mediante la desorción de los hidrocarburos con el uso de la resina de Tenax-TA.

El experimento 2 (E2) se llevó a cabo para determinar la remoción de los dos HAP en tres suelos contaminados de manera artificial, con distintos contenidos de materia orgánica, incubados aeróbicamente, con tres porcentajes de contenido de agua. A la par, se tuvo un experimento control (C2), con iguales condiciones que E2 para observar el comportamiento microbiológico en los suelos sin contaminar.

El experimento 3 (E3), se llevó a cabo para determinar la remoción de los dos HAP, bajo las mismas condiciones que en E2, pero con adición de un inhibidor de crecimiento bacteriano. De igual forma, se tuvo un experimento control (C3), con iguales condiciones que E3, donde se monitoreo y controló la inhibición de crecimiento bacteriano, en los suelos sin contaminar.

Como parte de los experimentos para determinar la remoción de los HAP, de forma adicional se realizó un experimento con bajas concentraciones de los hidrocarburos (EBC), con los mismos tres porcentajes de agua y con adición de inhibidor de bacterias.

En la Tabla 5-1 se indican las condiciones establecidas en los experimentos:

Tabla 5-1 Condiciones establecidas en los experimentos (E1, E2-C2, E3-C3, EBC), en los tres suelos (Tabasco, Morelos y Veracruz)

Experimento	Condiciones en los suelos				
	Contaminado BA-DBA	Sin contaminar	Con inhibidor de crecimiento bacteriano	Sin inhibidor de crecimiento bacteriano	Control del contenido de agua (30, 50 y 90%)
E1	✓	-	✓	-	-
E2	✓	-	-	✓	✓
C2	-	✓	-	✓	✓
E3	✓	-	✓	-	✓
C3	-	✓	✓	-	✓
EBC	✓	-	✓	-	✓

E1: Biodisponibilidad de HAP en 2 g de suelo (Tabasco, Morelos y Veracruz) durante 39 días con inhibidor de crecimiento bacteriano

E2: Remoción de HAP en 30 g de suelo (Tabasco, Morelos y Veracruz), en incubación aerobia durante 39 días, con el 30%, 50% y 90% CC, sin inhibidor de crecimiento bacteriano

C2: Control del experimento E2 (suelos sin contaminar) en incubación aerobia durante 39 días, con el 30%, 50% y 90% CC, sin inhibidor de crecimiento bacteriano

E3: Remoción de HAP en 30 g de suelo (Tabasco, Morelos y Veracruz), en incubación aerobia durante 39 días, con el 30%, 50% y 90% CC, con inhibidor de crecimiento bacteriano

C3: Control del experimento E3 (suelos sin contaminar) en incubación aerobia durante 39 días, con el 30%, 50% y 90% CC, con inhibidor de crecimiento bacteriano

EBC: Remoción de HAP con bajas concentraciones, en 30 g de suelo (Tabasco, Morelos y Veracruz), en incubación aerobia durante 39 días, con el 30%, 50% y 90% CC, con inhibidor de crecimiento bacteriano

5.1 Muestreo de los suelos y su clasificación

Se eligieron suelos con diferentes contenidos de materia orgánica y distribución de tamaño de partícula, los cuales se colectaron de tres estados de la República Mexicana. Los suelos de Tabasco y Veracruz fueron colectados de áreas con gran actividad petrolera, por tanto, los hace suelos vulnerables a los problemas causados por contaminación de hidrocarburos (Palma & Cisneros 1996).

El primer sitio de muestreo se localizó en Huimanguillo, Tabasco. Las muestras de suelo se tomaron muy cerca de un área pantanosa. El sitio colinda con las instalaciones del Complejo Procesador de

Gas, La Venta en la región occidental del estado de Tabasco (N 18° 05' 17", W 94° 02' 44"). El segundo sitio de muestreo se localizó en el Parque Nacional de las Lagunas de Zempoala en el Corredor Ajusco Chichinautzin en Morelos (N 18° 53' 32", W 99° 51' 54"). El tercer suelo se tomó de un sitio localizado en Coatzacoalcos, Veracruz (N 18° 03' 00" W: 94° 13' 00").

El suelo de Tabasco es franco-arcillo-arenoso con contenido de materia orgánica medio (149 g/kg), está clasificado como Gleysol (Rivera *et al.*, 2002), color pardo oscuro, con alta porosidad. El suelo de Morelos es franco con alto contenido de materia orgánica (506 g/kg), clasificado como Andosol Úmbrico, mientras el suelo de Veracruz es una arena con un bajo contenido de materia orgánica (5 g/kg).

En cada sitio de muestreo se delinearon tres parcelas diferentes de 400 m², y se obtuvieron en una capa de suelo entre 0 y 15 cm. Las muestras de suelo de cada parcela se agruparon de manera que se obtuvieron nueve muestras de suelo, es decir, tres lugares y tres parcelas (Anexo 1). Previo a la toma de muestras de suelo se retiraron hierbas y piedras ajenas al propio suelo que se encontraba en la superficie. El suelo se colectó en costales, se etiquetó y selló previo a su traslado al Instituto de Ingeniería, posteriormente, se homogenizó cada una de las muestras, se disgregó y se hizo pasar por una malla del No. 10 (2 mm). Las muestras de suelo (n=9) se secaron a temperatura ambiente para poder ajustarlas a los diferentes contenidos de agua antes de la incubación aerobia.

5.2 Caracterización de los suelos

Se realizó la caracterización de los tres suelos (Tabasco, Morelos y Veracruz) considerando sus principales propiedades físicas, químicas y biológicas de acuerdo con métodos normados y estandarizados, con el objeto de determinar sus condiciones iniciales. Todas las determinaciones se hicieron por triplicado.

Los parámetros físicos que se determinaron fueron la capacidad de campo (CC) del suelo mediante el método gravimétrico (Alef y Nannipieri 1995), la superficie específica del suelo mediante el método

del cono (Wood y Wroth 1978), la distribución de partículas (ASTM D2487 2006) mediante el Sistema Unificado de Clasificación de Suelos (SUCS, por sus siglas en inglés) y la clasificación de los suelos establecido por el Departamento de Agricultura de los Estado Unidos (USDA, por sus siglas en inglés) (Díaz 2014).

Los parámetros químicos que se determinaron fueron: el pH, mediante la técnica de pasta saturada (ASTM D4972 2001), la conductividad eléctrica (SDSS 1993), la fracción de carbono orgánico (Walkley y Black 1934) y a su vez, el porcentaje de materia orgánica presente en el suelo.

Finalmente, la parte biológica se determinó en una muestra de suelo compuesta representativa, utilizando la técnica de diluciones seriales y conteo en agar nutritivo mediante cuenta en placa, expresado en unidades formadoras de colonias (UFC/g) de bacterias aerobias heterótrofas presentes en el suelo, con incubación a 37°C durante 24 h (Alef y Nannipieri 1995).

5.3 Materiales utilizados en los experimentos

En cada etapa experimental se realizó por triplicado la curva de calibración para cada HAP, el BA y DBA donde se interpoló para obtener la concentración de los hidrocarburos.

Se utilizaron soluciones estándar de BA y DBA Supelco (Kenilworth, NJ, U.S.A.), con una pureza de 99.5% para BA y del 99% para DBA. De acuerdo con las características especificadas en la hoja de datos de seguridad (HDS) se recomienda utilizar el equipo de protección personal necesario y extremar precauciones en el uso y manejo de los compuestos (Anexo 2).

Como disolventes se utilizaron el cloruro de metileno (grado HPLC, pureza del 99.9%) se obtuvo de Fermont (Monterrey, NL, México), acetona (grado HPLC, pureza 99.9%) y hexano (grado HPLC, pureza).

El cloruro de mercurio (HgCl_2 , grado reactivo) se obtuvo de Merck (Darmstadt, Alemania.). Y la resina utilizada fue Tenax-TA (malla 60-80; 177-250 μm) Supelco (Kenilworth, NJ, U.S.A.).

Las soluciones volumétricas valoradas de ácido clorhídrico (HCl 0.5N) e hidróxido de sodio (NaOH 0.5N) se obtuvieron de Hycl (Zapopan, Jalisco, México). El sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4 , grado reactivo) se obtuvo de J. T. Baker (Center Valley, PA, U.S.A.).

5.4 Experimento 1 (E1): Biodisponibilidad de los HAP

El experimento 1 (E1) se realizó para determinar la concentración de los HAP capaz de desorberse del suelo. Para ello, se utilizó un polímero poroso basado en el 2,6-difenil-p-óxido de fenileno, comercialmente llamado Tenax-TA. Resina adsorbente considerada como una de las más utilizadas.

Previo a su uso, se hicieron tres ciclos de lavado de la resina, utilizando acetona y hexano (grado HPLC). Después de los lavados se dejaron secar durante la noche a una temperatura de 75°C, posteriormente se mantuvieron en el desecador durante 1h para finalmente, pesar la cantidad necesaria a utilizar.

En total se trabajaron con 24 submuestras de 2g de cada suelo ($n=3$), se adicionaron a tubos de centrífuga de teflón con tapa de rosca, se contaminaron con una solución de BA y DBA, se mezclaron y dejaron en reposo durante 12 h de modo que el disolvente utilizado se volatilizara (Fig. 5-1). A cada submuestra se le adicionó cloruro de mercurio (HgCl_2) como inhibidor de bacterias, con las respectivas medidas de seguridad (Anexo 3)

A los tubos de centrífuga se les adicionaron 35 ml de agua ultrapura y 0.6 g de esferas de perlas de Tenax-TA (previamente lavadas). Se taparon los tubos y se agitaron de manera orbital a 100 rpm, durante 39 días, con un total de 8 muestreos ($t= 0, 4, 8, 13, 18, 25, 32, 39$ días). Después de haber agitado las muestras se centrifugaron a 2000 rpm, durante 30 minutos. Se extrajeron las perlas de

tenax, el sobrenadante (agua ultrapura) y el suelo para hacer la cuantificación de los HAP presentes en cada fase (Anexo 4).



Figura 5-1 Submuestras del experimento 1 (E1: Biodisponibilidad de los HAP)

5.5 Experimentos 2 y 3 (E2 y E3): Remoción de los HAP

Para los experimentos 2 y 3 (E2 y E3) se trabajaron con un total de 702 submuestras de 30 g (base seca) de cada suelo (n=3) se adicionaron a frascos de vidrio de 125 ml (Fig. 5-2). Se contaminaron 351 submuestras (E2=216; E3=135) con una solución estándar de BA y DBA.



Figura 5-2 Submuestras de los experimentos para determinar la remoción de los HAP (E2, E3, EBC)

Las concentraciones teóricas que se aplicaron fueron de 70 mg/kg de BA y 80 mg/kg de DBA, se mezclaron y dejaron en reposo durante 12 h de modo que el disolvente utilizado se volatilice. La otra mitad de submuestras (351), estuvieron sin contaminar y sirvieron de control (C2=216; C3=135) (Anexo 5).

A 270 submuestras (E3=135; C3=135) se les adicionó 2.4 mg de HgCl_2 / kg de suelo para inhibir las bacterias aerobias (Cornelissen *et al.*, 1997; Oleszczuk 2009), mientras que las otras 432 submuestras (E2=216; C2=216) permanecieron sin modificar.

Posteriormente a su contaminación, se aplicaron tres contenidos de agua diferentes a las submuestras de suelo contaminado, con sus respectivos triplicados. Para E2 se ajustaron 24 submuestras de cada suelo al 30% CC, 24 al 50% CC y 24 al 90% CC. Para el E3, fueron 15 submuestras al 30%, 15 al 50% y 15 al 90% para cada suelo. Como la CC de cada suelo es diferente, se aplicaron distintas cantidades de agua.

Los frascos de vidrio de 125 ml se colocaron por separado en recipientes de 1L que contenían 15 ml de agua para mantener constante el contenido de agua del suelo y un matraz con 15 ml de hidróxido de sodio (NaOH 0.5 N). Los recipientes de 1L se cerraron y se incubaron a temperatura ambiente ($20\pm 1^\circ\text{C}$) durante 39 días mientras se vigiló diariamente la temperatura en el área de incubación. Los frascos se abrieron durante 10 min para la toma de muestra de suelo para evitar condiciones anaerobias. El contenido de agua en el suelo se determinó en los mismos tiempos de la toma de muestra y se ajustó cuando fue necesario (Amellal *et al.*, 2001; Betancur *et al.*, 2006; Rivera y Dendooven 2007).

Durante ocho tiempos de muestreo para E2 (0, 4, 8, 13, 18, 25, 32 y 39 días) y cinco tiempos para E3 (0, 4, 13, 25 y 39 días) se cuantificó la concentración de HAP en los suelos, se determinó la cantidad de bacterias y se determinó el CO_2 atrapado, mediante titulación con una solución estándar de HCl y BaCl_2 (Alef y Nannipieri 1995).

La experimentación se realizó en una mesa del área de Experimental 3, ubicada en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental (LIA) del Instituto de Ingeniería de la UNAM.

5.5.1 Experimento con bajas concentraciones de BA y DBA (EBC): Remoción de los HAP

En este experimento, se contaminó el suelo con menores concentraciones que en E2 y E3, denominado como experimento con bajas concentraciones de HAP (EBC). Se trabajó con la misma cantidad de submuestras que en experimento E3. Se tuvieron 135 submuestras de 30 g (base seca) de cada suelo (n=3) y se adicionaron a frascos de vidrio de 125 ml (Fig. 5-2). Se contaminaron con una solución estándar de BA y DBA, con tres contenidos de agua (30%, 50% y 90% CC), siguiendo el mismo procedimiento del experimento E3 (punto 5.5).

De igual forma, se cuantificó la concentración de HAP en los suelos durante 5 tiempos (0, 4, 13, 25 y 39 días), se determinó la cantidad de bacterias aerobias presentes en cada suelo y se determinó la actividad microbiana, mediante la producción de CO₂ (Alef y Nannipieri 1995).

5.6 Análisis de las muestras

La toma de muestra se realizó después de haber homogeneizado el suelo en cada unidad experimental, misma que se desechó en cada caso.

Los datos obtenidos durante toda la experimentación y reportados en la tesis son el promedio de muestras realizadas por triplicado.

En la Tabla 5-2 se indican los análisis realizados en los suelos, en cada experimento.

Tabla 5-2 Análisis realizados en los experimentos (E1, E2-C2, E3-C3, EBC)

Experimento	Análisis en los suelos			
	Extracción-cuantificación HAP (BA-DBA)	Conteo de bacterias	Actividad microbiana	Contenido de agua
E1	✓	-	-	-
E2	✓	✓	✓	✓
C2 (control)	-	✓	✓	✓
E3	✓	✓	✓	✓
C3 (control)	-	✓	✓	✓
EBC	✓	✓	✓	✓

E1: Biodisponibilidad de HAP en 2 g de suelo (Tabasco, Morelos y Veracruz) durante 39 días con inhibidor de crecimiento bacteriano

E2: Remoción de HAP en 30 g de suelo (Tabasco, Morelos y Veracruz), en incubación aerobia durante 39 días, con el 30%, 50% y 90% CC, sin inhibidor de crecimiento bacteriano

C2: Control del experimento E2 (suelos sin contaminar) en incubación aerobia durante 39 días, con el 30%, 50% y 90% CC, sin inhibidor de crecimiento bacteriano

E3: Remoción de HAP en 30 g de suelo (Tabasco, Morelos y Veracruz), en incubación aerobia durante 39 días, con el 30%, 50% y 90% CC, con inhibidor de crecimiento bacteriano

C3: Control del experimento E3 (suelos sin contaminar) en incubación aerobia durante 39 días, con el 30%, 50% y 90% CC, con inhibidor de crecimiento bacteriano

EBC: Remoción de HAP con bajas concentraciones, en 30 g de suelo (Tabasco, Morelos y Veracruz), en incubación aerobia durante 39 días, con el 30%, 50% y 90% CC, con inhibidor de crecimiento bacteriano

Los HAP fueron extraídos del suelo por el método de microondas (CEM Corporation, Matthews, NC, USA, modelo M MARS X) (EPA 3546 2007), con 1200 watts a 110°C por 15 minutos usando una mezcla de disolventes diclorometano : acetona (1:1) en los experimentos E1, E2, E3 y EBC. En el experimento E1, extracción de HAP en el Tenax-TA, se utilizó una mezcla de acetona : hexano (1:1) (López-Ávila y Young 1998, López-Ávila 1999).

En el experimento 1 (E1) se hizo la separación de fases sólido-líquido (tenax-suelo-agua). Del sobrenadante se extrajeron las perlas de Tenax-TA, se decantó para separar el agua y posteriormente el suelo contaminado. Se realizó la extracción de los HAP en el Tenax-TA, en la fase sólida (suelo) y en la fase líquida (agua) mediante una extracción líquido-líquido, donde se utilizó únicamente hexano como disolvente.

Los extractos se dejaron sedimentar mientras ocurría el proceso de enfriamiento, cuando los vasos de teflón (donde está contenido el extracto) estuvieron completamente templados, se decantó cuidadosamente el sobrenadante y se adicionó a viales de 40 ml, a su vez, se les adicionó sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) para eliminar la humedad que presentaba cada extracto, debido al agua contenida en las muestras. Posteriormente, se obtuvo un volumen de 1.5 ml del extracto para determinar la concentración de BA y DBA en los suelos.

La cuantificación de HAP se realizó en un cromatógrafo de gases (GC/MS, model 7890A GC System, Agilent Technologies, Blvd. Santa Clara, CA, USA) con detector selectivo de masas (model 5975C MSD insert with Triple-Axis Detector, Agilent Technologies, Blvd. Santa Clara, CA, USA). Se usó una columna capilar de 30 m DB-5MS (0.250 mm I.D., 0.25- μm film). El volumen de inyección fue de 1 μL en el modo split-less. La temperatura del inyector se mantuvo en 280°C.

Los análisis de conteo de bacterias, actividad microbiana y contenido de agua se realizaron en los experimentos E2, E3 y EBC, así como en los controles C2 y C3, durante toda la experimentación, de acuerdo con el número de muestreo establecido en cada experimento, tal como se describe en el punto 5.2.

Capítulo 6

Resultados y Discusión

6.1 Caracterización de los suelos

Como parte inicial de la experimentación se realizó la caracterización de los tres suelos: Tabasco, Morelos y Veracruz, la cual se estableció con base en los requerimientos necesarios para el desarrollo de este trabajo, incluyendo parámetros físicos, químicos y biológicos, de los que se obtuvieron los siguientes datos (Tabla 6-1):

Tabla 6-1 Caracterización de los suelos: Tabasco, Morelos y Veracruz

Parámetro	Tabasco	Morelos	Veracruz
Capacidad de campo (g/kg)	328 ^a ± 10 ^b	1349 ± 98	85 ± 7
Distribución de partículas (g/kg)			
Arena:	510 ± 15.7	390 ± 12.6	998 ± 10
Limo:	200 ± 4	460 ± 25	2 ± 0.1
Arcilla:	290 ± 21	150 ± 3	0
Clasificación de suelos USDA	Franco arcillo arenoso	Franco	Arenoso
Superficie específica (m ² /g)	60 ± 1.05	224 ± 2.25	ND ^c
pH	4.9 ± 0.02	4.8 ± 0.02	6.6 ± 0.16
Conductividad eléctrica (µS/cm)	143 ± 5.37	287 ± 5.04	151 ± 5.05
Materia orgánica (g/kg)	149 ± 6	506 ± 31	5 ± 0.3
Bacterias aerobias (UFC/g)	1 720 x 10 ² ± 230 x 10 ²	44 x 10 ² ± 7 x 10 ²	10 x 10 ² ± 20

^a Media de tres mediciones, ^b Desviación estándar de la media, ^c ND: No determinado

Con base en los resultados obtenidos en los tres suelos puede observarse de manera general que las propiedades físicas, químicas y biológicas son notoriamente distintas, mismas que se buscaron para hacer este estudio.

En cuanto a las propiedades físicas, se determinó la capacidad de campo en el suelo que de acuerdo con su distribución de partículas y clasificación de los suelos pueden relacionarse, ya que los suelos con mayor porcentaje de finos, es decir, de limo y arcilla (textura fina) tienen la capacidad de retener mayor cantidad de agua, como es el caso del suelo proveniente del estado de Morelos con una CC de 1349 g/kg, el cual presenta 610 g/kg de finos, entre limo y arcilla; seguido por el suelo proveniente del estado de Tabasco con un 328 g/kg CC con 490 g/kg de finos y el suelo del estado de Veracruz con una capacidad mucho menor de retener agua de 85 g/kg, con 2 g/kg de finos, lo que indica que un suelo conformado con un mayor porcentaje de arenas (textura gruesa) tiene un mayor espacio poroso y a su vez permite un rápido movimiento del agua, a diferencia de los suelos con mayor cantidad de finos, los cuales retienen más agua después de haberse humedecido sus capas internas, atribuyendo por tanto, que la capacidad de campo en el suelo de Morelos sea mucho mayor que en los suelos de Tabasco y Veracruz. Además de que el suelo se ve favorecido en algunos aspectos por la cantidad de agua en el suelo (transportar nutrientes solubles), también influye en los procesos bióticos del suelo debido a que afecta la temperatura y la aireación del suelo. Lo que trae como consecuencia en conjunto que en los suelos de Morelos y Tabasco se dificulte el tránsito de oxígeno, lo que puede favorecer el crecimiento de microorganismos anaerobios, en comparación con el suelo de Veracruz, donde la difusión del oxígeno es rápida por sus características.

En la caracterización se determinó la superficie específica con base en los límites de consistencia del suelo, también denominados límites de Atterberg, es decir, de la relación que existe entre el límite líquido y plástico de los suelos. El análisis se hizo para los suelos de Tabasco y Morelos, ya que son suelos con grandes cantidades de finos, en especial de arcilla, que por sus características tienen forma de placa microscópica, lo cual les confiere una gran superficie específica, lo que significa que tienen una capa de agua adsorbida más gruesa (Díaz 2014).

Debido a que la superficie específica presenta una relación con el tamaño de las partículas del suelo, es importante considerar que este parámetro está en función de las diferencias mineralógicas, composición orgánica y distribución de tamaño de partículas, que puede influir en el comportamiento de los HAP en estudio. Propiedades como la cantidad de agua en el suelo y adsorción de nutrientes

dependen de la superficie específica de cada suelo, debido a que de forma general, los suelos con grandes superficies específicas presentan permeabilidades altas y que a mayor finura de los suelos, mayor es la superficie eficaz presentada por sus partículas, como es el caso del suelo de Tabasco y Morelos, con superficies de 60 m²/g y 224 m²/g, respectivamente.

La materia orgánica en los suelos es un factor importante por ser la principal fuente de energía para la mayoría de los microorganismos y organismos que habitan en el suelo (Sumner 2000), además de tener relación e influencia con las demás propiedades consideradas en la caracterización, como la capacidad de campo, el pH, la presencia y comportamiento de las bacterias aerobias presentes en el suelo, mismas que se monitorearon durante la experimentación. Por lo tanto, los suelos se seleccionaron y clasificaron bajo esta propiedad. Se buscaron suelos con distintas características, basando los resultados de porcentaje de materia orgánica de acuerdo con la clasificación que establece la norma oficial mexicana, NOM-021-RECNAT-2000 (Diario Oficial 2002). Donde el suelo de Tabasco está clasificado como *alto*, el suelo de Morelos sobrepasa la máxima clasificación como *alto* y el suelo de Veracruz *muy bajo*.

El suelo de Morelos presenta 506 g/kg de materia orgánica, que por su composición presenta mayor cantidad de finos y a su vez mayor capacidad de campo en comparación con los otros dos suelos. Independientemente del origen del suelo, los suelos con textura fina comúnmente acumulan más materia orgánica que los de textura arenosa, debido a la adsorción de materiales orgánicos dentro de la estructura cristalina de ciertos tipos de arcillas, lo que justifica mayor capacidad para retener agua. Esta relación puede observarse mejor en los suelos de Tabasco y Morelos.

Debido a que la temperatura rige todos los procesos biológicos, es considerado un factor importante por la relación que tiene con las bacterias y a su vez con el pH, debido a la influencia que tiene en la actividad de los microorganismos para llevar a cabo la biodegradación ya que puede afectar la solubilidad y biodisponibilidad de los contaminantes y nutrientes (Lu *et al.*, 2011). Además, de considerar qué condiciones altamente ácidas o alcalinas tienden a inhibir muchas bacterias. Alexander (1980) considera que el valor óptimo es aquel que se encuentra muy cercano a la neutralidad, a

diferencia de Brady y Weil (2002) que menciona que la mayoría de las bacterias funcionan en un intervalo de pH entre 5 y 9.

Aunque el pH esté dentro de los intervalos anteriormente mencionados, no se garantiza una mineralización, debido a que los efectos de la materia orgánica presente pueden verse retardados en suelos ácidos, como en los suelos de Tabasco y Morelos, por la deficiencia de macronutrientes (como calcio, magnesio, potasio y sodio), además de ocasionar niveles tóxicos por hierro, manganeso y aluminio a diferencia de los suelos con pH cercano al neutral (Sadzawka *et al.*, 1993) ocasionando cambios cualitativos en la población nativa y a su vez en la actividad microbiana del suelo, inducidos por cambios en el pH.

Lo anterior se comprueba en los tres suelos. Los suelos de Morelos y Tabasco con mayor contenido de materia orgánica (506 g/kg y 149 g/kg) presentan un pH con tendencia ácida, menor al óptimo de crecimiento de bacterias, 4.8 y 4.9, respectivamente, a diferencia del suelo de Veracruz, con un pH de 6.63, muy cercano al neutro y con 5 g/kg de materia orgánica.

El tamaño de la comunidad bacteriana dependerá de la temperatura, lo que ocasiona efectos cuantitativos y cualitativos. Y con base en el intervalo de temperatura que se tenga será el desarrollo y comportamiento de los microorganismos presentes en el suelo, mismos que se encargarán de degradar a los dos HAP en estudio. Para este caso la temperatura en el área de la experimentación fue de $21 \pm 1^\circ\text{C}$, la cual se monitoreó 3 veces al día.

Las bacterias presentes en los tres suelos (UFC/g suelo) al inicio de la experimentación fueron menores a las esperadas en cada suelo. Siendo el suelo de Veracruz el que tiene menor cantidad de bacterias aerobias (10×10^2 UFC/g), en comparación con los suelos de Tabasco y Morelos ($1\ 720 \times 10^2$ y 44×10^2 UFC/g, respectivamente), mismos que presentan un pH con tendencia ácida, fuera del rango óptimo de crecimiento bacteriano; sin embargo, puede atribuirse que las bacterias nativas cuantificadas en los suelos están adaptadas y favorecidas por el alto contenido de materia orgánica que toman como fuente de energía.

Las propiedades del suelo que se enlistan en la Tabla 6-1 son las que se obtuvieron de la caracterización de los tres suelos previamente a su contaminación. Al finalizar los experimentos E2 y E3, se determinaron algunos de los parámetros contemplados en la caracterización, sin embargo, en algunos casos como el contenido de agua, bacterias presentes y la actividad microbiana se monitorearon durante la experimentación.

El contenido de agua en los tres suelos se mantuvo al inicio y al final de la experimentación al 30%CC, 50%CC y 90% CC, con una variación del 6%. La capacidad de campo en cada suelo no presentó variación al final de la experimentación.

En cuanto al pH, al final de la experimentación se observó poca variación entre los distintos contenidos de agua probados en cada uno de los suelos. En el suelo de Tabasco y Morelos se mantuvieron en un rango de pH moderadamente ácido (pH 4.9 - 5.8), a diferencia del suelo de Veracruz, que se mantuvo en un intervalo cercano al neutro (pH 6.6 - 6.9). Se observó que mientras la mezcla de hidrocarburos estaba presente en los suelos, el pH se mantenía en valores con tendencia más ácida (Tabasco y Morelos) y conforme los contaminantes se removían los valores de pH variaron un poco disminuyendo la acidez, manteniéndose el pH constante a partir del día 13 hasta los 39 días que duró la experimentación.

Por su parte, la presencia de bacterias aerobias en los suelos con mayor contenido de materia orgánica, Tabasco y Morelos disminuyeron 20×10^4 UFC/g y 80×10^4 UFC/g, respectivamente, de manera proporcional con la concentración de los HAP; esto se atribuye a la falta de sustrato. Sin embargo, el suelo de Veracruz, con menor contenido de materia orgánica presentó aumento en la población bacteriana del 50% a partir del día 13, cuando el suelo tenía concentraciones promedio de 20 mg/kg.

A su vez, la actividad microbiana medida por el CO_2 producido en los suelos, presentó variaciones hasta el final de la experimentación. El suelo de Tabasco presentó similar comportamiento con su población microbiana, debido a que disminuyó en su concentración 5 mg de CO_2 / kg de suelo y los

suelos de Morelos y Veracruz aumentaron 2 mg de CO₂, destacando que la concentración de CO₂ en el suelo de Morelos durante los 39 días fue 10 veces mayor que en el suelo de Veracruz.

La materia orgánica después de ser contaminado el suelo tiende a aumentar, debido a que el método utilizado (Walkey y Black) para determinarla es por medio de la oxidación con dicromato de potasio, el cual se consume para oxidar la materia orgánica; por tanto, al finalizar la experimentación, la materia orgánica del suelo contaminado es la suma de materia biogénica (descomposición de vegetales y animales) y materia petrogénica (por hidrocarburos) (Martínez y López 2001). En este caso, la concentración de hidrocarburos al final fue menor de 6 mg/kg, por lo que se obtuvo un pequeño cambio en comparación con la concentración de materia orgánica inicial.

6.2 Método de extracción con microondas, para el BA y DBA

Para la extracción de los compuestos se utilizó el método EPA 3546 (2007) mediante microondas. Es considerado como uno de los métodos disponibles para la extracción de HAP, con sistema automatizado, en muestras ambientales, matrices sólidas, con tiempos y volúmenes reducidos en el consumo de solventes utilizados en la extracción, en comparación con el método de extracción tradicional con Soxhlet, además de obtener altas eficiencias de recuperación a un menor costo con menor impacto en la contaminación debida a la generación de residuos en laboratorios analíticos (López-Avila *et al.*, 1994; Dean *et al.*, 1995; Li *et al.*, 1996; López-Avila 1999; Camel 2000; Sparr y Björklund 2000, Paré *et al.*, 2001).

Previamente a la experimentación se realizaron curvas de calibración por triplicado para el BA y DBA donde se obtuvieron R^2 (BA)= 0.9966 ±0.0021 y R^2 (DBA)= 0.9950 ±0.0034.

Se determinó la precisión del método analítico, mediante la desviación estándar relativa o coeficiente de variación (CV). Para determinar la repetibilidad se realizaron mediciones bajo las mismas condiciones (analista, tiempo, aparato, reactivos, laboratorio, etc.), mediante un análisis por sextuplicado de una misma solución estándar. Para determinar la reproducibilidad se hicieron

mediciones bajo diferentes condiciones (analista, tiempo), mediante un análisis de 12 mediciones en total para cada suelo; 3 mediciones con dos analistas diferentes, en dos días distintos (3 mediciones por día). A su vez, se determinaron las eficiencias de recuperación en los suelos con los HAP probados mediante la extracción con microondas.

Para el caso de la repetibilidad los datos obtenidos de los coeficientes de variación para el BA fueron de $0.90 \leq CV \leq 1.64$ y para el DBA de $1.52 \leq CV \leq 2.0$. Para el caso de la reproducibilidad los datos obtenidos de los coeficientes de variación para el BA fueron de $0.71 \leq CV \leq 1.69$ y para el DBA de $1.13 \leq CV \leq 1.8$.

Por tanto, se confirma que el método de extracción con microondas es aceptable para los HAP probados, por su recuperación. Bajo el criterio de aceptación para la reproducibilidad del método con un coeficiente de variación $CV \leq 2$, se concluye que la extracción con microondas del BA y DBA son reproducibles. Y considerando que el criterio de aceptación para la repetibilidad del método analítico con un coeficiente de variación $CV \leq 1.5$, se concluye que la extracción con microondas del BA es más repetible que la extracción del DBA.

6.3 Experimento 1 (E1): Biodisponibilidad de los HAP

6.3.1 Recuperación y concentración inicial de BA y DBA en los suelos contaminados

En el experimento los tres suelos se contaminaron de manera artificial. Las concentraciones iniciales de BA fueron de 43 mg/kg en el suelo de Tabasco, 54 mg/kg en el suelo de Morelos y 31 mg/kg en el suelo de Veracruz. Y las concentraciones iniciales de DBA fueron de 28 mg/kg para los suelos de Tabasco y Veracruz y de 38 mg/kg para el suelo de Morelos.

Las recuperaciones de BA fueron de 62% en el suelo de Tabasco, 77% en el suelo de Morelos y 44% en el suelo de Veracruz. A su vez, el DBA presentó recuperaciones menores a las del BA. Para los suelos de Tabasco y Veracruz se obtuvieron recuperaciones del 35% y 48% en el suelo de Morelos.

Los datos fueron obtenidos de muestras por triplicado y la desviación estándar de la recuperación fue menor del 1.5%.

Se obtuvieron recuperaciones muy bajas de los dos HAP, atribuyéndolo al poco volumen adicionado de la solución de los hidrocarburos y de suelo empleado en el experimento, lo que favoreció al disolvente (cloruro de metileno) reflejando una pérdida de los compuestos por volatilidad, bajo la consideración expuesta en algunas investigaciones donde se ha indicado que la pérdida por volatilización también es posible en HAP de alto peso molecular (Jury *et al.*, 1987). Sin embargo, puede observarse que el suelo que presentó mayor afinidad a los hidrocarburos, con base en su concentración inicial fue el suelo de Morelos, seguida por el suelo de Tabasco y finalmente Veracruz.

6.3.2 Concentración biodisponible de BA y DBA

Mediante el uso de la resina de Tenax-TA se realizaron pruebas para determinar la concentración de BA y DBA capaz de desorberse del suelo, mediante la transferencia de los contaminantes de todas las regiones inaccesibles para las bacterias, lo que los hace disponibles para los microorganismos.

Durante los días de experimentación bajo las condiciones descritas en el capítulo anterior, se encontró que, aunque la mayor concentración quedó adsorbida en los tres suelos, a excepción del DBA en el suelo de Tabasco, tanto el BA como el DBA tienen la capacidad de desorberse del suelo.

En la Fig. 6-1 se observa que la máxima concentración en la resina de Tenax-TA y disuelta en el agua, representan un bajo porcentaje de su concentración inicial. Las concentraciones se cuantificaron como se menciona en el Capítulo 5 (Metodología).

En el suelo de Tabasco se obtuvo una concentración de BA en la resina de Tenax-TA de 1.2% desde el primer día y hasta el día 13, se cuantificó la mayor concentración, que representa el 3.95% de su concentración inicial (43 mg/kg). Los días posteriores disminuyó la concentración en la resina.

En el suelo de Morelos los primeros 4 días no se encontró BA en la resina, fue en días siguientes que logró cuantificarse el hidrocarburo; sin embargo, hasta el día 25 se obtuvo la mayor concentración, de 1.6% de su concentración inicial (54 mg/kg) y de 0.1% la menor en los días siguientes hasta el día 39.

El suelo de Veracruz a pesar de ser el que menor concentración tuvo al inicio de la experimentación (31 mg/kg), presentó un comportamiento de desorción similar al que presentó el suelo de Tabasco. Ya que durante los primeros días si hubo presencia de BA en la resina de Tenax-TA, el 4.2% de su concentración inicial (31 mg/kg) y desde el día 8 hasta el día 13 se obtuvo la mayor concentración (12.6%), disminuyendo la concentración en la resina (3.5%), durante los siguientes días.

Las concentraciones de BA disueltas en el agua de los suelos de Tabasco y Veracruz fueron menores que las encontradas en la resina, de 3% y 4%, respectivamente. En el suelo de Tabasco logró cuantificarse durante los 18 y 25 días y en el suelo de Veracruz, dicha concentración se cuantificó desde el primer día hasta el día 25 de la experimentación. En el suelo de Morelos no se obtuvo concentración del hidrocarburo en ninguno de los días.

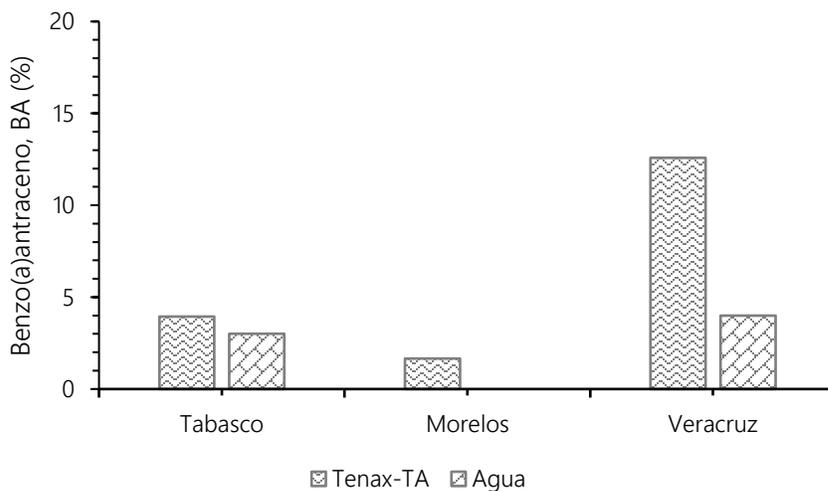


Figura 6-1 Experimento 1 (E1): Concentración máxima de BA en la resina de Tenax-TA y disuelta en el agua, en los suelos contaminados: Tabasco, Morelos y Veracruz; con adición de inhibidor ($HgCl_2$), durante 39 días

En el caso del DBA, en los tres suelos se obtuvo mayor desorción que del BA. Siendo mucho más alta la concentración encontrada en la resina de Tenax-TA, que la disuelta. (Fig. 6-2).

En el suelo de Tabasco hubo presencia del contaminante en la resina durante los primeros 13 días, siendo mayor la concentración en el día 8 con el 78.6% de su concentración inicial (28 mg/kg) y a partir del día 18 no hubo presencia del DBA en la resina.

En los suelos de Morelos y Veracruz se obtuvo con la resina de Tenax-TA, una desorción rápida en los primeros 4 días, que representa el 42% y 57%, respectivamente, de su concentración inicial (38 mg/kg y 28 mg/kg) y en los siguientes días no se encontró el hidrocarburo, es decir, ya no hubo desorción del compuesto.

En el suelo de Tabasco la concentración de DBA disuelta en el agua fue de 3.9% y de 4.2% en el suelo de Veracruz. En el suelo de Morelos, no hubo presencia del hidrocarburo.

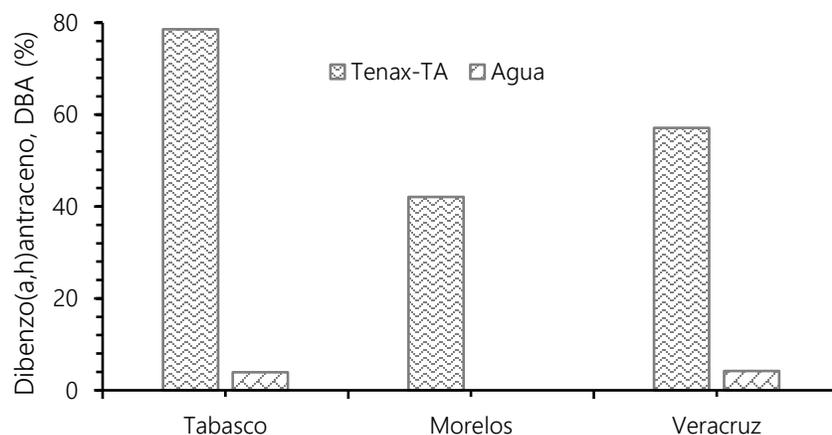


Figura 6-2 Experimento 1 (E1): Concentración máxima de DBA en la resina de Tenax-TA y disuelta en el agua, en los suelos contaminados: Tabasco, Morelos y Veracruz; con adición de inhibidor ($HgCl_2$), durante 39 días

Con base en los resultados obtenidos, se determina que mediante el método de extracción no exhaustiva utilizando la resina de Tenax-TA, la mezcla de hidrocarburos empleada en este estudio

(BA y DBA) puede desorberse de los tres suelos utilizados. Sin embargo, la diferencia que se obtuvo entre las concentraciones desorbidas de los tres suelos estuvo en función del tipo de suelo, sus características y propiedades.

Tal es el caso del suelo de Morelos, donde se observa que tanto el BA como el DBA, se desorben en menor concentración en comparación con los otros dos suelos. Además de ser el único suelo donde no se obtuvo concentración soluble, por lo que se refleja una mayor adsorción de los compuestos hacia las partículas del suelo o en su caso a la materia orgánica presente en él.

Aún con las diferencias de concentraciones, se obtuvo mayor concentración desorbida de DBA en los tres suelos, en una fase rápida (4 días), tal y como lo menciona Chen *et al.* (2010), donde la mayor concentración desorbida se presenta en los primeras horas o días, en una fase rápida y posteriormente una fase lenta, a diferencia de otras resinas existentes, como el HPCD que se lleva a cabo en menor tiempo (Bernhardt *et al.*, 2013). Situación que no sucedió con el BA, ya que durante los 39 días de la experimentación logró cuantificarse el hidrocarburo, presentando la mayor desorción en los días intermedios.

Con base en lo anterior, logró determinarse que la concentración de BA que es biodisponible para los microorganismos es muy baja en comparación con la que se queda adsorbida en los tres suelos. En los resultados se demostró la influencia que tiene la materia orgánica presente en cada uno de los suelos estudiados, ya que el suelo de Morelos fue el que menor concentración de BA disponible presentó, seguida por el suelo de Tabasco y finalmente, el suelo de Veracruz, quien presentó un mayor porcentaje de su concentración en la resina de Tenax-TA y disuelto en el agua (Morelos<Tabasco<Veracruz).

Para el caso del DBA se determinó que el suelo de Morelos tiene menor concentración disponible, seguida por el suelo de Veracruz y el suelo de Tabasco presentó mayor capacidad de desorción de este contaminante (Morelos<Veracruz<Tabasco).

Se considera que la materia orgánica es el factor más importante para que la adsorción ocurra, en ciertos casos la relación materia orgánica: arcilla, favorece el fenómeno de secuestro de los HAP (Xing y Pignatello, 1997). Tal como sucedió con el BA, en los suelos de Tabasco y Morelos, que tienen un alto contenido de materia orgánica y arcillas. Sin embargo, es importante considerar que la tasa de retención de los compuestos varía entre suelos (Chung y Alexander 1998; Hickman y Reid 2005).

6.4 Experimentos de Remoción de HAP

6.4.1 Recuperación y concentración de BA y DBA en los suelos contaminados

6.4.1.1 Experimentos 2 y 3 (E2 y E3)

En los experimentos 2 y 3 (E2 y E3) se contaminaron los suelos con una concentración teórica de 70 mg/kg de BA y 80 mg/kg de DBA, se seleccionaron tres muestras aleatorias en cada unidad experimental, para garantizar la homogeneidad de la mezcla de BA y DBA en el suelo, se hizo la extracción en microondas con la mezcla de disolventes (acetona : diclorometano) y se determinó la concentración por triplicado con una desviación estándar menor a 1.5, con eficiencias de recuperación mayores al 85% de la concentración adicionada a los suelos.

Se obtuvo una recuperación de BA del 93% \pm 0.9, 90% \pm 1.1 y 92% \pm 1.1 y de DBA del 91% \pm 1.7, 85% \pm 1.8 y 90% \pm 1.9 para los suelos de Tabasco, Morelos y Veracruz, respectivamente.

Se trabajó con una concentración experimental inicial promedio de 64 mg/kg de BA y 68 mg/kg de DBA en los tres suelos.

Las concentraciones obtenidas de BA y DBA (mg/kg) en los experimentos 2 (E2: suelos sin inhibidor) y 3 (E3: suelos inhibidos), en los tres suelos (Tabasco, Morelos y Veracruz) con el 30%, 50% y 90% CC, se muestran en los Anexos 6 y 7, respectivamente.

6.4.1.2 Experimentos con bajas concentraciones de HAP (EBC)

Se realizó un experimento el cual se denominó como: experimento con bajas concentraciones de HAP (Experimento EBC). En este experimento se pretendió determinar si la concentración de los hidrocarburos en el suelo tenía algún efecto en la remoción de los hidrocarburos, con base en las propiedades de los suelos probados.

De la misma forma que los experimentos E2 y E3 (Anexo 5) se contaminaron los suelos de manera artificial, utilizando concentraciones menores de BA y DBA.

Se obtuvo una recuperación de BA del 66% \pm 2.1, 94% \pm 1.4 y 80% \pm 1.6 y de DBA del 82% \pm 1.3, 93% \pm 0.9 y 72% \pm 2.2 para los suelos de Tabasco, Morelos y Veracruz, respectivamente.

La concentración experimental promedio de BA fue de 48 mg/kg y 16 mg/kg de DBA.

Las concentraciones obtenidas de BA y DBA (mg/kg) en el experimento realizado con bajas concentraciones (EBC), en los tres suelos (Tabasco, Morelos y Veracruz) con adición de inhibidor, con el 30%, 50% y 90% CC y obtenidas durante los 39 días de incubación se muestran en el Anexo 8.

6.4.2 Remoción de BA y DBA en los suelos

6.4.2.1 Experimentos 2 y 3 (E2 y E3)

La remoción de los HAP en los suelos se caracterizó por una fuerte caída de la concentración del BA y DBA en los primeros días de la incubación aeróbica con una remoción más lenta a partir de entonces, situación que se ha reportado con frecuencia (Couling *et al.*, 2010; Lors *et al.*, 2012).

La dinámica de la degradación de DBA (Fig. 6-4) siguió el mismo patrón que la de BA (Fig. 6-3).

Sin embargo, la disminución de DBA fue más rápida, aunque en el suelo de Tabasco se observó una fase de retardo en la disipación del HAP en el día 4, lo cual indica un retraso en la actividad metabólica para degradar el contaminante. De acuerdo con Li *et al.*, (2009) esta fase de retardo suele presentarse en la eliminación de HAP con 5 anillos en diferentes suelos.

De acuerdo con las Figs. 6-2 y 6-3, puede observarse, que se obtuvo mayor remoción de BA (entre el 97% - 99%) y de DBA (entre el 95% - 98%) los primeros días de la incubación aerobia. A su vez, Canet *et al.*, (2001) reporta una remoción del 91% de BA y el 72% de DBA en 25 g de suelo a 50% CC con una temperatura de 22°C, después de 32 semanas de incubación.

Como puede observarse, en todos los casos, los hidrocarburos presentaron una remoción eficaz en función del tiempo probado. Y el comportamiento que tuvieron los tres suelos durante la remoción de los hidrocarburos fue similar, asimismo, la concentración adsorbida en cada suelo, al final de la experimentación (>6.2 mg/kg)

El suelo de Veracruz, sin inhibidor de bacterias, con un contenido de agua del 90% CC presentó la mayor concentración de BA (2.6 mg/kg) en el día 39; y de los suelos inhibidos, el suelo de Morelos fue el que presentó mayor concentración al 50% CC (6.2 mg/kg).

Para el caso del DBA, el suelo de Tabasco, inhibido de crecimiento bacteriano, con el 90% CC fue el de mayor concentración (3.70 mg/kg), asimismo, con el 30% CC sin inhibidor (4.85 mg/kg).

Experimento 2 (E2): Suelo contaminado sin inhibidor

Experimento 3 (E3): Suelo contaminado con inhibidor

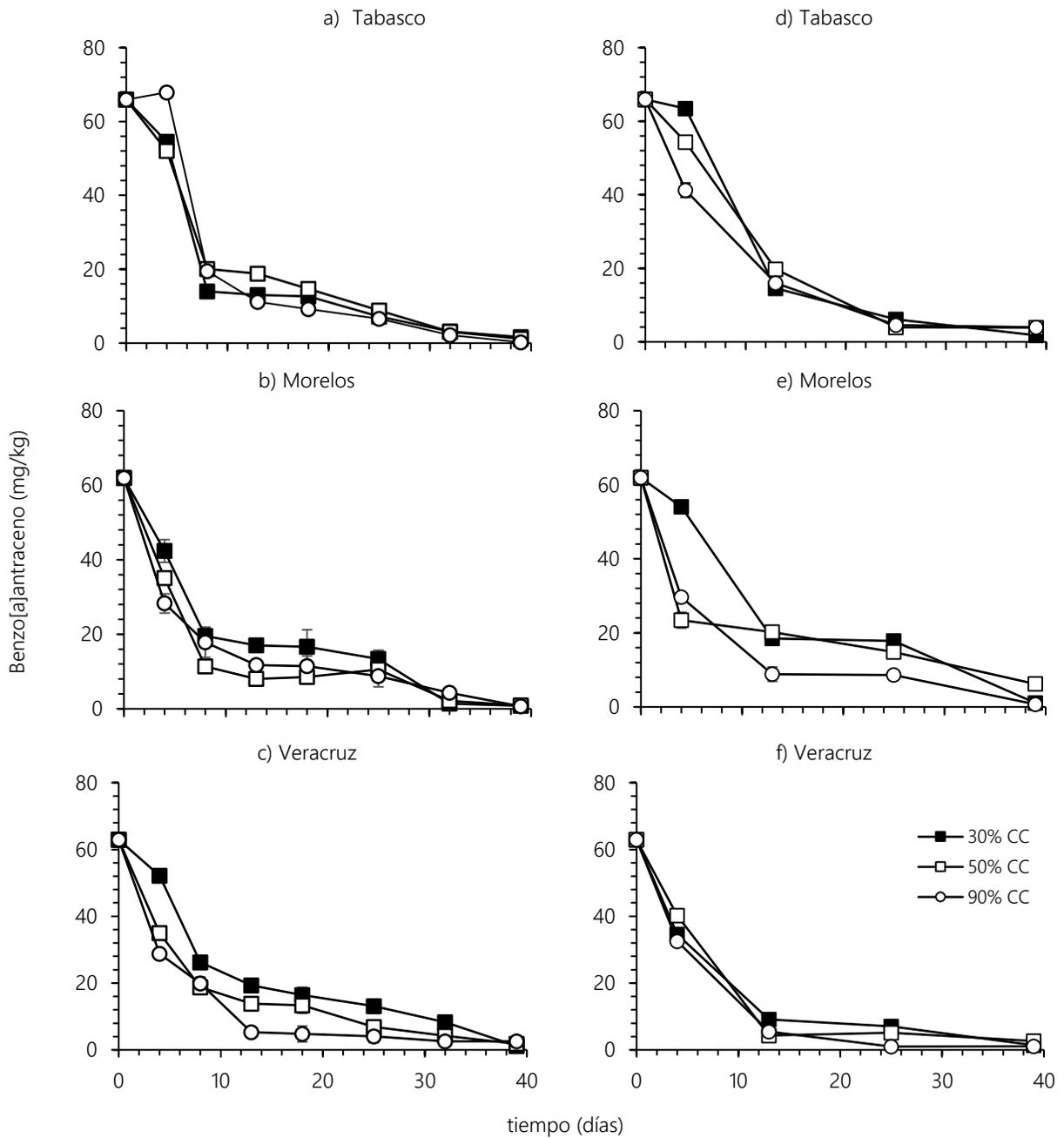


Figura 6-3 Experimentos 2 y 3 (E2 y E3): Remoción de benzo(a)antraceno (BA) en los suelos de a) Tabasco, b) Morelos y c) Veracruz y en los suelos inhibidos con cloruro de mercurio en d) Tabasco, e) Morelos y f) Veracruz. El suelo se incubó aeróbicamente durante 39 días, con el 30%, 50% y 90% CC

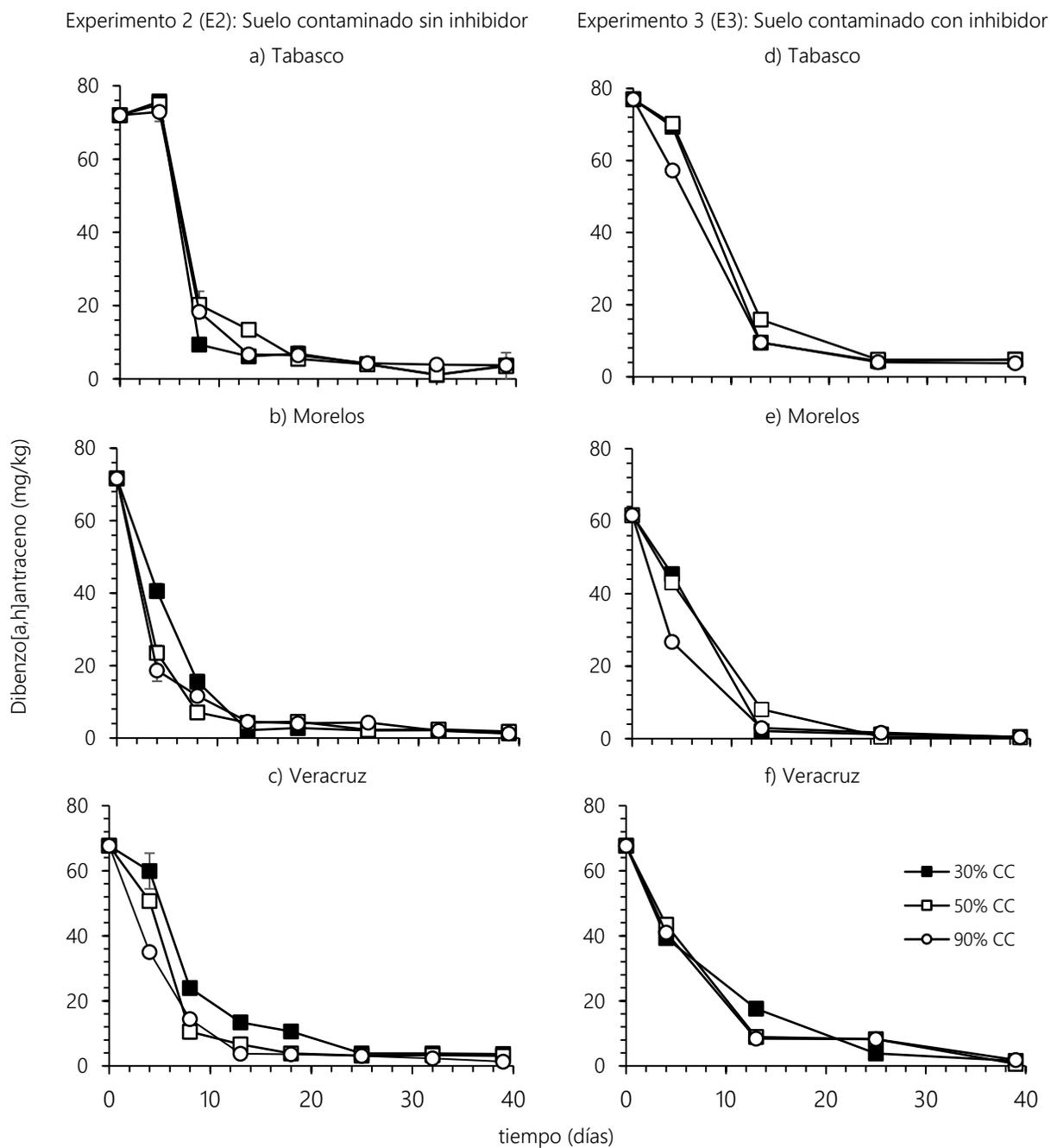


Figura 6-4 Experimentos 2 y 3 (E2 y E3): Remoción de dibenzo(a,h)antraceno (DBA) en los suelos de a) Tabasco, b) Morelos y c) Veracruz y en los suelos inhibidos con cloruro de mercurio en d) Tabasco, e) Morelos y f) Veracruz. El suelo se incubó aeróbicamente durante 39 días con el 30%, 50% y 90% CC

6.4.2.2 Experimentos con bajas concentraciones de HAP (EBC)

En el experimento probado, con suelos contaminados con bajas concentraciones (EBC) y con altas concentraciones (E3) de BA y DBA, inhibidos del crecimiento bacteriano, se obtuvieron distintas remociones al final de la experimentación (Fig. 6-5).

Se observa que cuando el suelo tiene una concentración menor, la remoción del BA en los suelos de Morelos y Veracruz puede presentar un retraso en su remoción desde el día 4 (primer tiempo de muestreo en este estudio), a diferencia del suelo de Tabasco, en el cual se observa una tendencia mayor a disminuir su concentración. Sin embargo, en ambos experimentos (EBC y E3) la mayor remoción sucede hasta el día 13, en donde se ha obtenido la mayor caída de concentración. Posteriormente, la remoción es más lenta a partir de ese día. Observando que la concentración removida a los 13 días en el suelo de Tabasco en E3, es la misma obtenida en EBC al final de la experimentación, es decir, 26 días después.

En el caso del DBA, se obtuvo que, a menor contaminación en los suelos, el suelo de Veracruz es el que presenta un retraso en su remoción desde el día 4, en comparación con los suelos que presentan mayor contaminación (E3). Y a partir del día 13 se obtiene la mayor remoción de DBA en todos los suelos. Sin embargo, aunque las concentraciones obtenidas sean similares a los 13 días en E3 y en EBC a los 4 días, la remoción no es la misma.

En el experimento con bajas concentraciones, se encontró en los tres suelos que la concentración final de BA se encuentra entre los 8-10 mg/kg. Obteniendo los valores más altos en el suelo de Morelos, suelo con alto contenido de materia orgánica y mayor cantidad de partículas finas. Y la concentración de DBA adsorbida en los tres suelos se presenta en un promedio de 5 mg/kg, sin presentar diferencias por el tipo de suelo. Por lo que puede decirse que mientras menor sea la concentración de DBA en los suelos, la adsorción en el suelo aumenta.

Experimento con bajas concentraciones de HAP (EBC): Suelo contaminado con adición de inhibidor

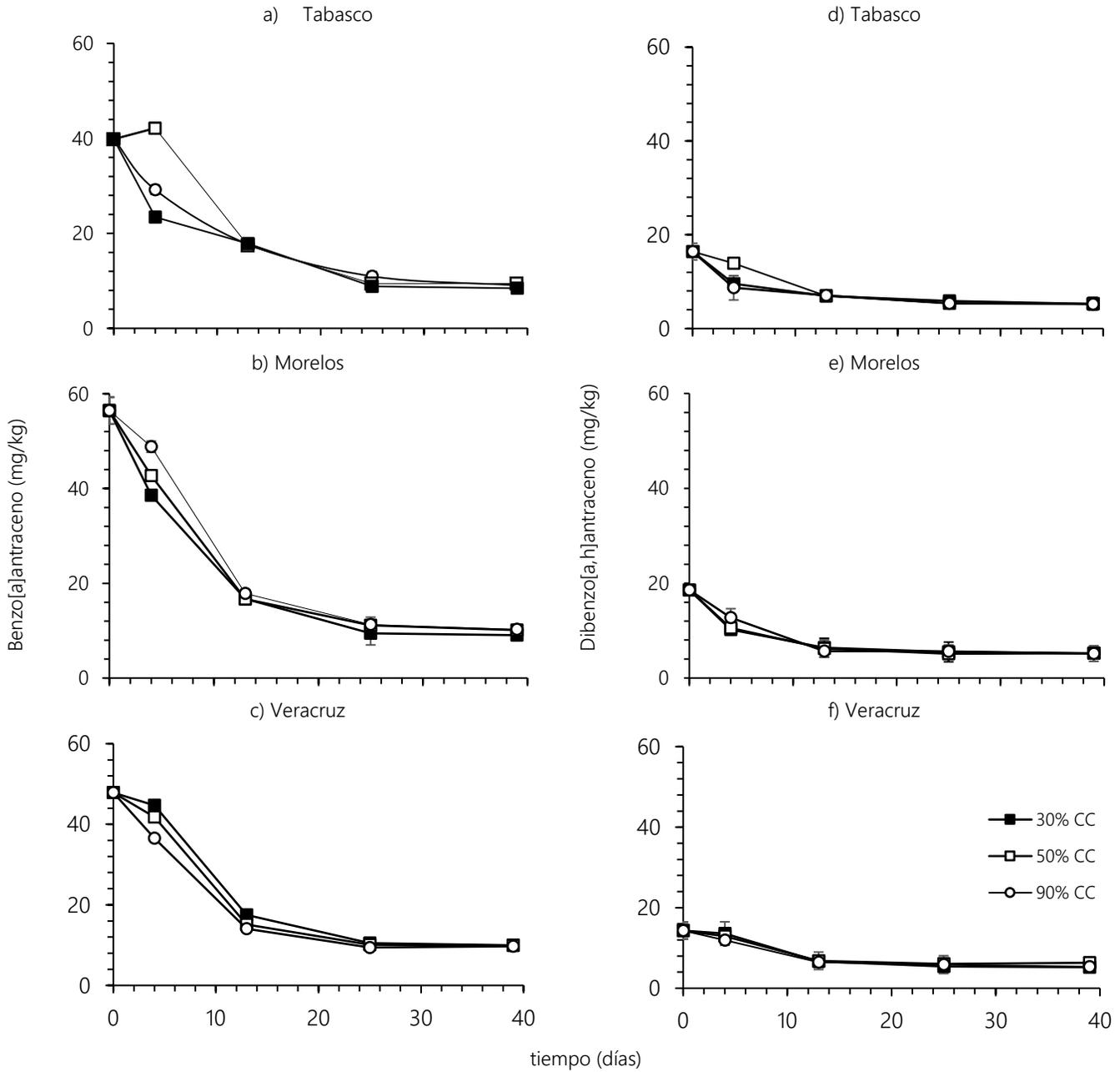


Figura 6-5 Experimento con bajas concentraciones de HAP (EBC): Remoción de benzo(a)antraceno (BA) en los suelos de a) Tabasco, b) Morelos y c) Veracruz y dibenzo(a,h)antraceno (DBA) en los suelos de d) Tabasco, e) Morelos y f) Veracruz. El suelo se incubó aeróbicamente durante 39 días con el 30%, 50% y 90% CC

Se considera que el conocimiento de las características fisicoquímicas de los suelos ayuda a determinar el motivo por el cual se puede disminuir un contaminante. Pues según Peláez *et al.* (2013), la remoción de HAP es más rápida en suelos caracterizados y clasificados como arenosos, que, en suelos arcillosos debido a que los contaminantes tienden a fijarse con mayor facilidad en las partículas de arcilla que en las partículas de arena; y la formación de agregados en un suelo arcilloso hace a los HAP no disponibles para la degradación microbiana (Amodu *et al.*, 2013; Sihag *et al.*, 2014). Debido a que en este estudio los suelos se tamizaron antes de la incubación aerobia y se destruyó la mayor parte de agregados, se considera que la fijación del BA y DBA en la matriz del suelo pudo ser limitada.

Con base en el conocimiento de que los hidrocarburos aromáticos seleccionados poseen características muy específicas en cuanto a su peso molecular, estabilidad, solubilidad, volatilidad y toxicidad, entre otras, se consideran compuestos persistentes, es decir, que son difíciles de remover del suelo. Por tanto, se consideró que la remoción de cada compuesto estaría en función de las distintas propiedades en los tres suelos, por lo que una de las hipótesis planteadas fue obtener remociones mayores de BA y DBA en los suelos con menor contenido de materia orgánica, esperando así, que el suelo de Veracruz presentaría mejores resultados de remoción, seguido por el suelo de Tabasco y Morelos, aunado a ello, la influencia de los contenidos de agua probados; y considerando que estudios realizados con anterioridad han demostrado que la biodegradación asistida es posible mediante bacterias aerobias (Juhász *et al.*, 1996, 1997, 2000; Chen *et al.*, 1999; Seo *et al.*, 2009; Ye *et al.*, 1996), hongos (Wu *et al.* 2010), o en su caso utilizando otro compuesto como co-sustrato (Haramaya *et al.*, 2009) pueden obtenerse buenos resultados de remoción.

Y aunque se sabe que la remoción de los HAP suele estar controlada o limitada por varios factores, como la actividad microbiana, características del contaminante, propiedades del suelo, etc., en este estudio ninguno de ellos afectó la remoción del BA y DBA. Por lo que, se atribuye a que no solo el contenido de materia orgánica en los tres suelos fue el factor dominante para remover a los contaminantes (Tabasco 149 mg/kg, Morelos 506 mg/kg y Veracruz 5 mg/kg).

En cuanto al contenido de agua, este no tuvo efecto en la disipación de BA, situación que se observó también con el DBA, cuando no se añadió inhibidor de bacterias (HgCl_2) (E2). Cuando se aplicó HgCl_2 (E3) la disminución de DBA fue más lenta al inicio de la experimentación en el suelo de Tabasco y Morelos con 30% y 50% CC.

Por lo que el contenido de agua no afectó la recuperación del BA y DBA en este estudio, se adjudica que la presión de vapor de los HAP en los suelos o una extracción incompleta podría explicar por qué cierta concentración de los dos hidrocarburos no fueron recuperados de los suelos justo después de la aplicación (Civilini 1994; Bao *et al.*, 2015).

Como se obtuvieron remociones rápidas al comienzo de la incubación aerobia en las unidades experimentales y a los 39 días los HAP fueron prácticamente removidos casi en su totalidad, se realizaron pruebas complementarias dentro de la experimentación para determinar la concentración atribuible a la pérdida de BA y DBA por efecto de la volatilidad y fotólisis, de lo que se obtuvo una pérdida aproximada del 10 %, datos similares a los reportados por Civilini (1994); confirmando que a medida que aumenta el número de anillos de los HAP la pérdida es menor (Antizar *et al.*, 2004).

Debido a que el comportamiento de los HAP fue similar aún con la diferencia de porcentajes de partículas finas (limo y arcilla) en los tres suelos (Morelos 61%, Tabasco 49% y Veracruz 0.20%), al final de la experimentación se realizó un estudio petrográfico al suelo de Veracruz (Anexo 9), que de acuerdo con su descripción microscópica y mineralogía, este suelo presenta algunos cristales de feldespato (17%) y plagioclasas (15%) en su mayoría, lo que ocasiona alteración a muscovita-sericita, ya que se aprecia como finos parches de reemplazamiento en ellos. A su vez, el suelo presenta cuarzo (9%), piroxeno (7%), y presencia de filosilicatos como la epidota (1%), clorita (1%) y la muscovita-sericita (1%). Por tal motivo, es probable la relación que hay entre el suelo de Veracruz con los otros dos suelos que tienen mayor cantidad de partículas finas, como el limo, ya que está constituido en su mayoría de cuarzo y feldespatos, aunque se encuentran en menor proporción en una arena.

A su vez, la fracción gruesa de una arcilla ($2.0 - 0.2 \mu \varnothing$) contiene generalmente algunos minerales primarios como el cuarzo, feldespato y mica (Besoain 1985), tal y como se obtuvo en el estudio petrográfico de la arena con la que se realizó el estudio. Debido a la presencia de estos minerales puede considerarse la similitud entre comportamientos de adsorción de los HAP, al final de la experimentación.

Además de considerar que algunos de los minerales se forman de los materiales de otros preexistentes y tienen por consiguiente un origen derivado o secundario, como sucede con las numerosas arcillas derivadas de las diversas especies de feldespatos que reaccionan con el agua (Iturbe 20104), considerándolo como un mineral relativamente inestable (Mitchel 2005). Y según Bernoala (1911) los primeros productos sólidos de la descomposición de los feldespatos, son las arcillas en un estado mayor o menor de pureza.

Asimismo, diferentes autores (Bernaola 1911; Langmuir 1997; Gallardo 2016), reportan que por efectos del tiempo de origen que tengan los minerales, al estar expuestos a variaciones en las condiciones del entorno (temperatura, cantidad de agua y contenido de diversos iones, incluido el grado de meteorización) conducen a la formación de minerales arcillosos.

6.4.3 Eficiencias de remoción de BA y DBA

De acuerdo con los resultados obtenidos en los tres experimentos (E2, E3 y EBC), puede observarse cierta similitud en las altas remociones del BA y DBA en los experimentos 2 y 3 (E2 y E3), aun estando inhibido este último (Anexo 10). Sin embargo, en el experimento realizado con bajas concentraciones (EBC) se observa que cuando la concentración inicial en los suelos es menor, la remoción de los hidrocarburos se ve afectada, con una diferencia considerable de remociones entre los HAP (Fig. 6-6).

Las remociones de BA obtenidas en los experimentos E2 y E3 fueron mayores al 90% y únicamente el suelo de Morelos con el 50% CC, en E2 alcanzó ese porcentaje.

En el experimento EBC, se observa que cuando la concentración de BA en el suelo es baja, tiende a disminuir de forma más rápida en el suelo de Tabasco. Su concentración máxima de remoción se presenta en los primeros 4 días, aproximadamente el 41% de su concentración inicial, con el 90% CC, sin embargo, es el suelo que presenta menor remoción al final de la experimentación (77.5% en promedio).

En el suelo de Morelos se obtuvo menor remoción al inicio de la experimentación, pues en comparación con E3 la remoción disminuyó el 19% con el 30% CC, 38% con el 50% CC y 39% con el 90% CC, sin embargo, se obtuvo misma concentración en E3 y EBC a los 13 días con un contenido de agua a 30% y 50% CC, a diferencia del suelo con el 90% CC en donde disminuye la concentración aproximadamente 10 mg/kg más cuando el suelo está más contaminado (E3). Al final, fue el suelo que presentó remociones mayores, entre el 81 y 83%.

En el suelo Veracruz se removió el 23% con el 90% CC en los primeros 4 días y se obtuvo el 79% en los tres contenidos de agua probados. En comparación con el experimento E3, a los 13 días alcanza hasta el 90% de remoción concentración no alcanzada ni al final de la experimentación cuando el suelo está menos contaminado (EBC).

En el caso del DBA se trabajó con una concentración inicial mucho menor que la de BA. Las remociones de DBA en los experimentos E2 y E3 disminuyeron un poco en comparación del BA. Para este caso, el suelo de Morelos fue el que presentó mayor remoción en los primeros 4 días, teniendo influencia en E3, el contenido de agua en Morelos al 90% CC, removiendo hasta el 62%, seguido por el suelo de Veracruz, con ligeras variantes de concentración en los contenidos de agua probados en los suelos alcanzando en promedio una remoción del 40%. El suelo de Tabasco presentó menor eficiencias de remoción en comparación con los otros dos suelos, sin embargo, presenta una remoción eficaz promedio del 94%, sin variaciones entre contenidos de agua.

En el experimento EBC se obtuvieron bajas remociones de DBA en comparación con las obtenidas en el BA. El suelo de Veracruz presentó diferencia de remociones por contenidos de agua en los

suelos, siendo el 50%CC el más bajo con el 56% de DBA removido, seguido por el suelo de Tabasco con el 68% y el suelo de Morelos con el 72% para los tres casos.

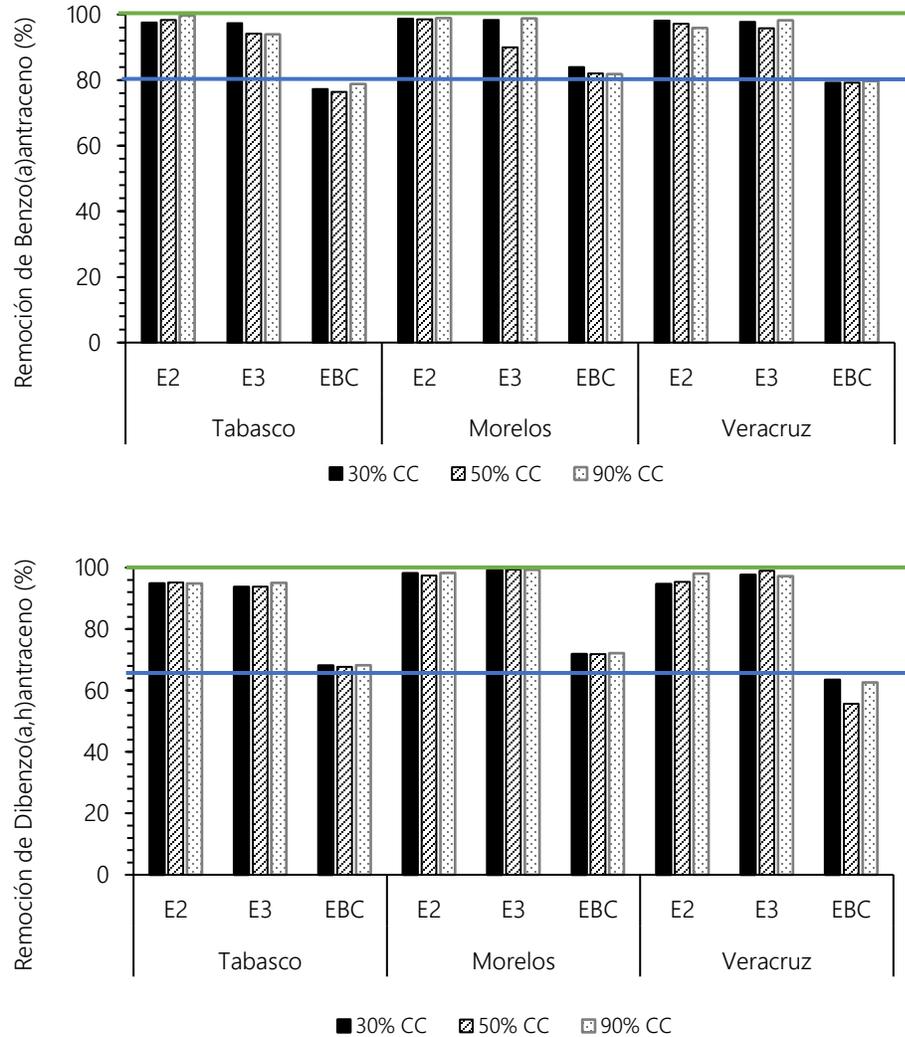


Figura 6-6 Remoción de benzo(a)antraceno (BA) y dibenzo(a,h)antraceno (DBA) en los suelos de Tabasco, Morelos y Veracruz, incubados aeróbicamente con el 30%, 50% y 90% CC, durante 39 días, en el experimento 2 (E2: suelos sin inhibidor de crecimiento bacteriano), experimento 3 (E3: suelos inhibidos) y el experimento con bajas concentraciones de HAP (EBC: suelos inhibidos)

Con base en estos resultados se determinó que la diferencia entre remociones de los experimentos se vio influenciada por la concentración inicial presente en cada suelo y la adición de un inhibidor. En

el caso del BA, en el suelo de Tabasco se obtiene el 21% de remoción más en un suelo contaminado con altas concentraciones, sin inhibidor de bacterias, que un experimento con las mismas condiciones con bajas concentraciones de los HAP. Y únicamente una diferencia de 3.35% al inhibir el suelo. Seguida por el suelo de Veracruz, quien presenta una diferencia del 17% debido a la concentración presente en los suelos y obtener concentraciones casi inalterables si se inhibe el crecimiento bacteriano. En el suelo de Morelos la diferencia de remociones disminuye en un 16% por efecto de las concentraciones en el suelo (altas o bajas) y un 3% por efecto de la adición de un inhibidor.

Situación que difiere del comportamiento del DBA en el caso de tener distintas concentraciones o inhibir el crecimiento bacteriano en el suelo. Ya que el suelo de Veracruz es el que presenta mayor diferencia en las remociones (35%) al disminuir la concentración en el suelo y los suelos de Tabasco y Morelos presentan un comportamiento muy similar al presentar una diferencia de remociones entre el 27% y 25%, respectivamente. Notando que la diferencia entre inhibir los suelos del crecimiento bacteriano solo afecta menos del 2%.

En general, el comportamiento de los hidrocarburos y su tendencia de disminución en los tres suelos durante la experimentación (EBC) fue muy similar, al igual que la concentración adsorbida en cada suelo al final de la experimentación, tal como sucede en los experimentos con mayores concentraciones, sin adición de inhibidor de crecimiento bacteriano (E2) y con adición de inhibidor (E3 y EBC).

Observando a su vez, que cuando los suelos presentan una contaminación menor, la remoción también es menor en comparación con los que tienen una contaminación mayor. Por tanto, la concentración adsorbida en el suelo al final de la experimentación tiende a ser mayor, que cuando la contaminación inicial es alta. Es decir, que presentan mayor adsorción y dificultad para ser removidos del suelo.

6.4.4 Bacterias aerobias heterótrofas en los suelos

Debido a la importancia de la microbiología en el suelo, para llevar a cabo la degradación de los hidrocarburos aromáticos probados, se realizaron pruebas para determinar la cantidad de bacterias presentes durante toda la experimentación, a la par con los muestreos realizados para conocer la concentración de HAP en cada suelo (capítulo metodología). Las determinaciones se realizaron en los suelos sin contaminar que sirvieron como control (C2 y C3) de los experimentos E2 y E3, asimismo, en los tres suelos contaminados de los experimentos E2, E3 y EBC. Los resultados se reportan como unidades formadoras de colonias (UFC), como se observa en las Figs. 6-7 y 6-8.

De acuerdo con los resultados obtenidos en la caracterización de los suelos, y al inicio de la experimentación se confirmó la presencia de bacterias aerobias en los tres suelos. Debido a que las UFC presentes fueron mayores a las colonias consideradas en un suelo contaminado (1×10^3 UFC/g) (Fanhenstock 1998), se consideró la posibilidad de que la degradación de los HAP ocurriera.

En los tres suelos sin contaminar- sin adición de inhibidor, utilizados como control del experimento E2 (C2, Fig. 6-7: a, b, c) se observó que el suelo de Tabasco tuvo mayor cantidad de bacterias (UFC/g) durante los primeros 18 días con un contenido de agua del 30% y 50% CC, comportamiento que no se reflejó durante la experimentación en el suelo con el mayor contenido de agua adicionado (90% CC). Situación similar se presentó en los suelos de Morelos (excepto con el 50% CC) y Veracruz, debido a que no se observó gran diferencia por contenidos de agua, permaneciendo constante la población microbiana.

En el caso del control del experimento E3 (C3, Fig. 6-7: d, e, f), los tres suelos mostraron inhibición de la población bacteriana, sin embargo, esta no fue completa. Y con base en la cantidad de bacterias en C2, puede decirse que el suelo de Tabasco fue el que presentó mayor efecto del inhibidor, debido a que disminuyó en mayor proporción las bacterias presentes, seguida por el suelo de Morelos, aunque la presencia de bacterias aumentó en los últimos días con el 90% CC, asimismo, en el suelo de Veracruz donde se observó ligero aumento de la población con el 50% y 90% CC.

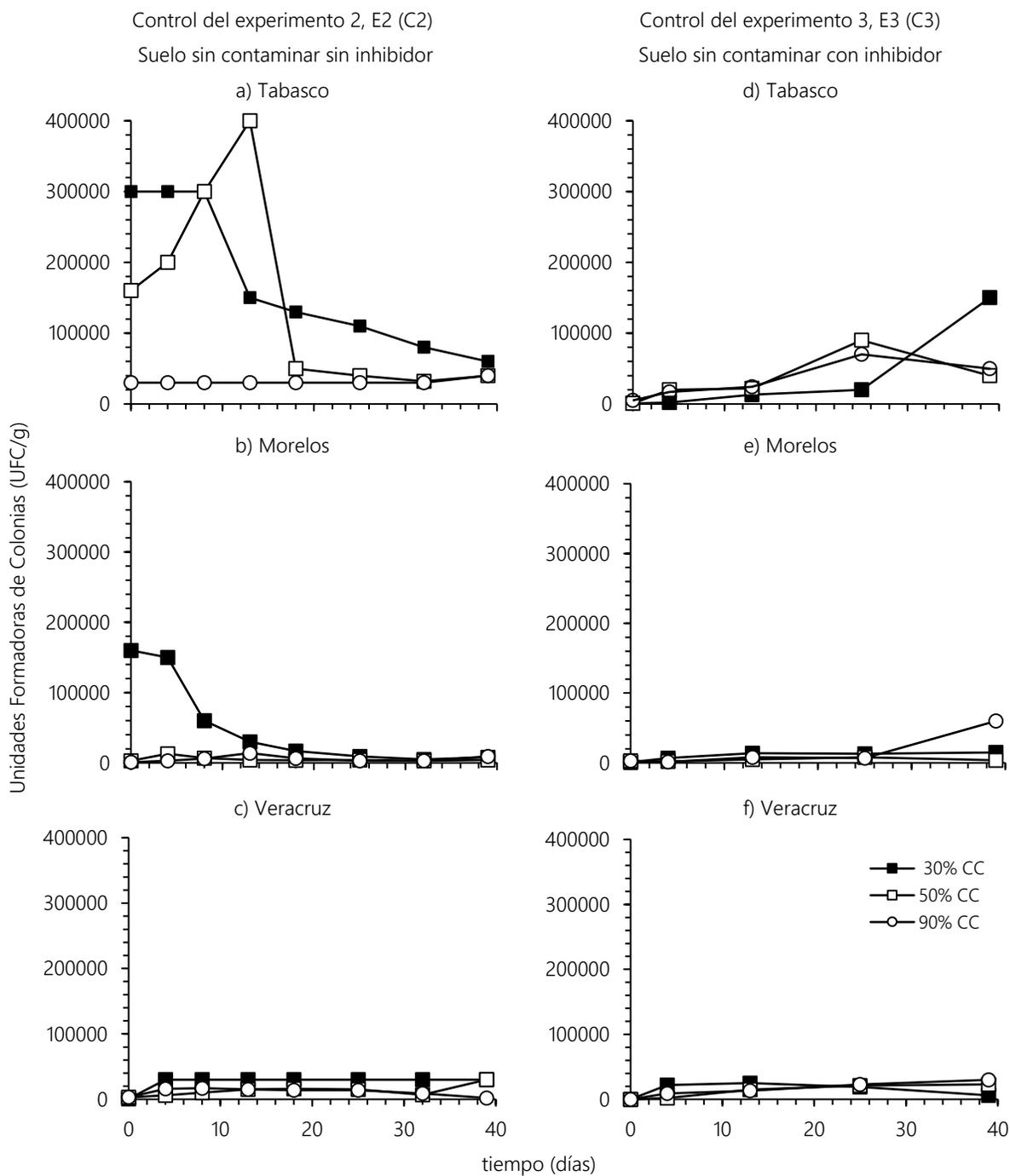


Figura 6-7 Controles de los experimentos 2 y 3 (C2 y C3): Bacterias aerobias heterótrofas (UFC/g) en los suelos sin contaminar, sin inhibidor de bacterias a)Tabasco, b)Morelos y c)Veracruz y en los suelos sin contaminar e inhibidos d)Tabasco, e)Morelos y f)Veracruz, con el 30%, 50% y 90% CC

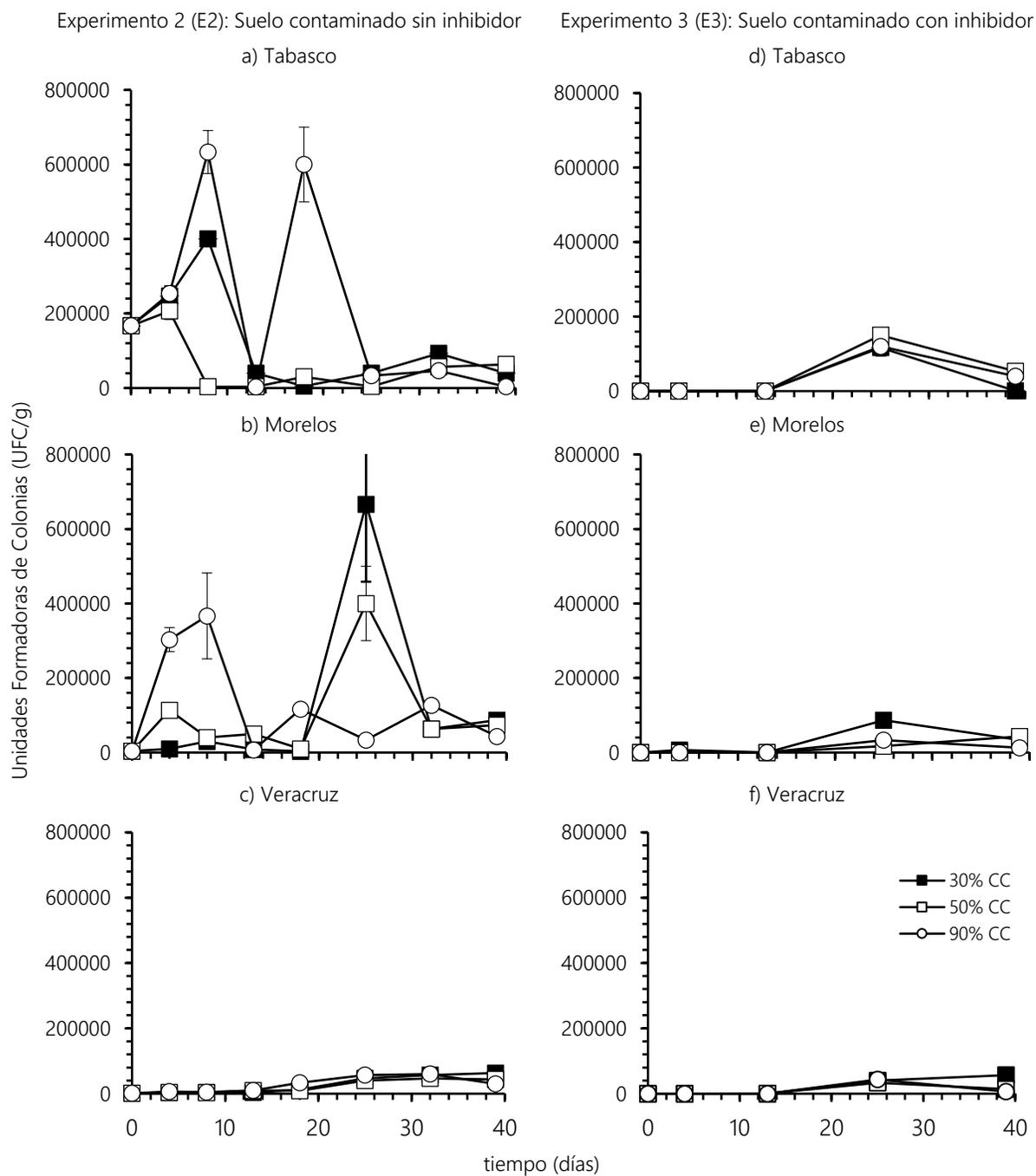


Figura 6-8 Experimentos 2 y 3 (E2 y E3): Bacterias aerobias heterótrofas (UFC/g) en los suelos contaminados sin inhibidor de bacterias a)Tabasco, b)Morelos y c)Veracruz y en los suelos contaminados e inhibidos d)Tabasco, e)Morelos y f)Veracruz, con el 30%, 50% y 90% CC

Teniendo como base el comportamiento de las bacterias en suelos sin presencia de los HAP, se observa cierta diferencia entre la cantidad de bacterias con el experimento en común (experimento con suelo contaminado E2), tal y como se puede apreciar en la Fig. 6-8 (a, b, c), que cuando las bacterias no están inhibidas, presentan una tendencia a aumentar conforme el tiempo transcurrido, justificado por el aumento de la fuente de carbono debida a la contaminación ocasionado por los dos hidrocarburos.

En el suelo de Tabasco se observa un aumento en la población bacteriana con cambios bruscos a los 8 y 18 días con el 90% CC, disminuyendo abruptamente la población a los 25 días, manteniendo después un comportamiento similar con el 30% y 50% CC. En el suelo de Morelos aumentan las UFC con los tres contenidos de agua probados, siendo mayor durante toda la experimentación para 90% CC. Con el 30% y 50%CC se observa un aumento poblacional grande a los 25 días, obteniendo a los 32 días disminución de bacterias en los tres casos. De forma diferente sucede con el suelo de Veracruz, el cual disminuye durante los primeros 18 días con los tres contenidos de agua, por lo que se atribuye mayor vulnerabilidad de las bacterias presentes en este suelo al ser contaminado.

Sin embargo, es importante considerar que el suelo de Veracruz, es el que tiene bajo contenido de materia orgánica, razón por la que se atribuye, los microorganismos disponían de poco sustrato de carbono, y a menor sustrato, la población microbiana del suelo se reduce (Mao *et al.*, 2012). Sin embargo, a pesar de que las UFC fueron mucho menores en el suelo de Veracruz en comparación con los otros dos suelos, esto no afectó a la remoción del BA y DBA. En consecuencia, no puede atribuirse por completo, para este caso, la relación que existe entre las bacterias cultivables con la eliminación de los HAP en los suelos.

En el caso de E3 en comparación con su control C3, los suelos presentan un impacto mayor en la población bacteriana, debido a la contaminación de los HAP, sin embargo, se observa mayor similitud entre comportamiento de los suelos aún con la diferencia entre contenidos de agua. El mayor efecto del inhibidor se presentó hasta el día 13, en donde se mantuvieron los suelos sin presencia de

bacterias y a los 25 días las bacterias presentan un ligero aumento, situación que se atribuye debido a que el efecto del inhibidor disminuye, tal y como sucedió en C3 (Fig. 6-8: d, e, f).

En relación con el experimento realizado con suelo contaminado con bajas concentraciones (EBC) puede relacionarse con E3, observando que cuando los suelos están inhibidos hay presencia de bacterias a partir del día 13, independientemente de la concentración de los HAP. Sin embargo la cantidad de ellas es mucho menor que cuando hay hidrocarburos, esto puede relacionarse con la falta de sustrato.

En el experimento EBC los tres suelos tienden a aumentar las bacterias en los últimos días de la experimentación, mismos donde la concentración de los dos hidrocarburos ha disminuido. Esto sucede con los tres contenidos de agua en los suelos (Fig. 6-9).

En este caso, la mayor población bacteriana la presenta el suelo de Morelos, con diferencias entre los contenidos de agua (favorecido el 90% CC), seguida por Tabasco y Veracruz, suelo que presenta en todos los casos menor cantidad de bacterias aerobias.

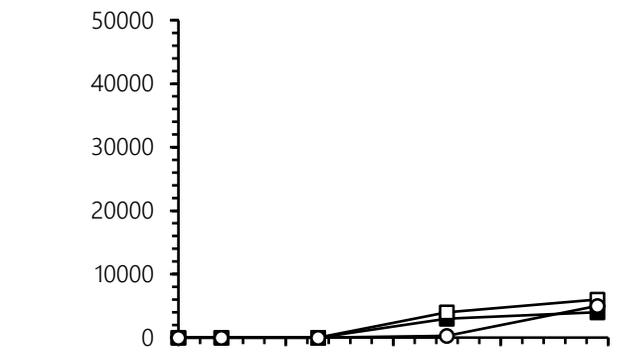
En este estudio únicamente se midieron bacterias cultivables, que representan solo una parte de la población bacteriana total, por lo que, con base en los resultados obtenidos de la cuantificación de bacterias, se especula que la capacidad metabólica relativa en el suelo de Veracruz pudo haber sido mayor que en los otros dos suelos.

A su vez, es importante considerar que los hongos también participan en la degradación de los HAP en el suelo (Kanaly *et al.*, 2010), aunque se puede suponer que la presencia de los mismos es menor en suelos con menor contenido de materia orgánica, como el suelo de Veracruz (Haritash y Kaushik 2009). Sin embargo, en estudios específicos sobre aislamiento de microorganismos (Rosales *et al.*, 2012) se ha demostrado que la degradación de BA por el hongo *Trichoderma longibrachiatum* remueve al contaminante en 9 días hasta un 97% y 8% por el hongo *Byssochlamys spectabilis*.

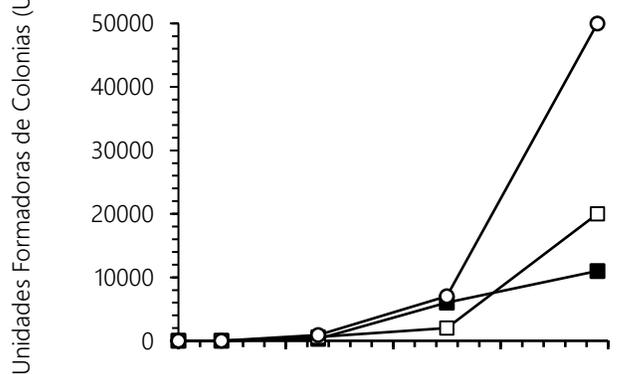
Experimento con bajas concentraciones (EBC):

Suelo contaminado e inhibido

a) Tabasco



b) Morelos



c) Veracruz

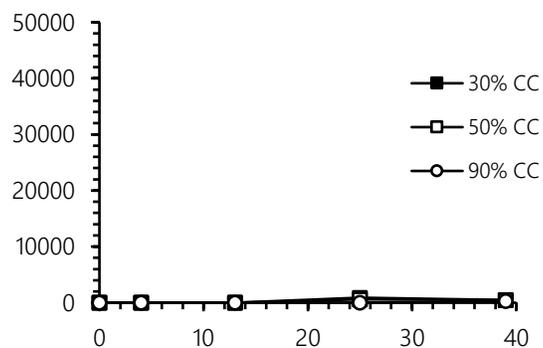


Figura 6-9 Experimento con bajas concentraciones de HAP (EBC): Bacterias aerobias heterótrofas (UFC/g) en los suelos contaminados e inhibidos de crecimiento bacteriano a) Tabasco, b) Morelos y c) Veracruz, con el 30%, 50% y 90% CC

6.4.4.1 Bacterias aerobias heterótrofas en los suelos en relación con la remoción de los HAP

Con base en lo anterior, se puede decir que las UFC predominaron en los suelos de Tabasco, en los suelos contaminados (E2 y E3) y sin contaminar considerados como control (C2 y C3), viéndose favorecidas las bacterias en los tiempos intermedios de la experimentación, con un mayor contenido de agua (90% CC) en E2, relacionando que fue el suelo que presentó la mayor remoción de BA (99%) al final de la experimentación.

En el suelo de Morelos, en ambos experimentos (E2 y E3) se observa un aumento de bacterias, en comparación con los suelos no contaminados (C2 y C3). E2 presentó variaciones entre contenidos de agua durante los primeros 32 días, predominando la presencia de bacterias con el 90% CC en 13 días, al alcanzar el 81% de remoción de BA y 93% de DBA, disminuyendo la cantidad de bacterias en días posteriores. Sin embargo, con los contenidos de agua del 30% y 50% CC tienen un aumento hasta los 25 días de la experimentación, al obtener en promedio el 80% de remoción de BA y 97% de DBA.

El comportamiento de las bacterias en el suelo de Veracruz fue muy similar en los últimos días de experimentación de E2 y E3. Debido a que a partir del día 25 se aprecia mayor cantidad de bacterias, obteniendo entre el 80% y 93% de remoción de BA y el 95% de remoción de DBA. Y en E3, se obtuvo el 90% y 98% de remoción de BA y entre el 88% - 95% de remoción de DBA.

Por tanto, se considera que el aumento de la población bacteriana en el experimento E2 se deben a los tiempos en que se removi6 casi el total de los HAP. Situaci6n similar sucedi6 en el experimento E3, aunque en menor escala de UFC/g debido a la inhibici6n de los suelos, ya que se obtuvo casi el total de la remoci6n de los HAP en los tres suelos a los 25 d6as, tiempo en que cuantific6 mayor cantidad de bacterias presentes y posteriormente, la concentraci6n se mantuvo constante. Por lo que se supone que las bacterias presentes en los suelos tienden a asimilar a la materia org6nica como sustrato y no precisamente el contaminante debido a su remoci6n.

6.4.5 *Actividad microbiana en los suelos*

De acuerdo con los resultados mostrados en las Figs. 6-10, 6-11 y 6-12, se puede observar la producción de CO₂ acumulado en los suelos a diferentes escalas. Parámetro que indicó la probable asimilación de los hidrocarburos como sustrato, lo que se reflejó en la actividad microbiana encontrada en los suelos (García y Hernández 2004), influyendo las características de cada suelo y condiciones a las cuales estuvieron sometidos (suelos sin contaminar, inhibidos o contaminados (altas y bajas concentraciones), así como la remoción de los HAP. Por tal motivo, se consideró un parámetro importante debido a que indica posible degradación de compuestos que pueden considerarse tóxicos para los suelos.

Con base en el número de bacterias presentes cuantificadas en los experimentos realizados (punto 6.4.4), la relación que hay con la actividad microbiana difiere en algunos casos.

Los suelos control C2 (sin contaminar) del experimento E2 (Fig. 6-10; a, b y c), demuestran que existe actividad microbiana, debido a la presencia y contenido de materia orgánica en cada uno de los suelos, por lo que el suelo de Morelos fue el que mayor producción de CO₂ presentó, seguida por el suelo de Tabasco y finalmente, el suelo de Veracruz. Sin embargo, no se tuvo misma relación con las bacterias aerobias, donde se observó mayor cantidad en el suelo de Tabasco, seguida por el suelo de Morelos y finalmente el suelo de Veracruz. sin mayor influencia debida a los contenidos de agua probados en los suelos de Tabasco y Veracruz, pero si en el suelo de Morelos con el 90% CC.

Los suelos control C3 (sin contaminar) del experimento E3, se observó misma relación que en C2, en cuanto a su materia orgánica y cantidad de bacterias aerobias cuantificadas; sin embargo, aún a pesar de que hubo menor cantidad de bacterias debido a la adición del inhibidor, se obtuvo similar actividad microbiana (Fig. 6-10; d, e y f). Con influencia solo en el suelo de Morelos, por los contenidos de agua, favoreciendo el 90% CC.

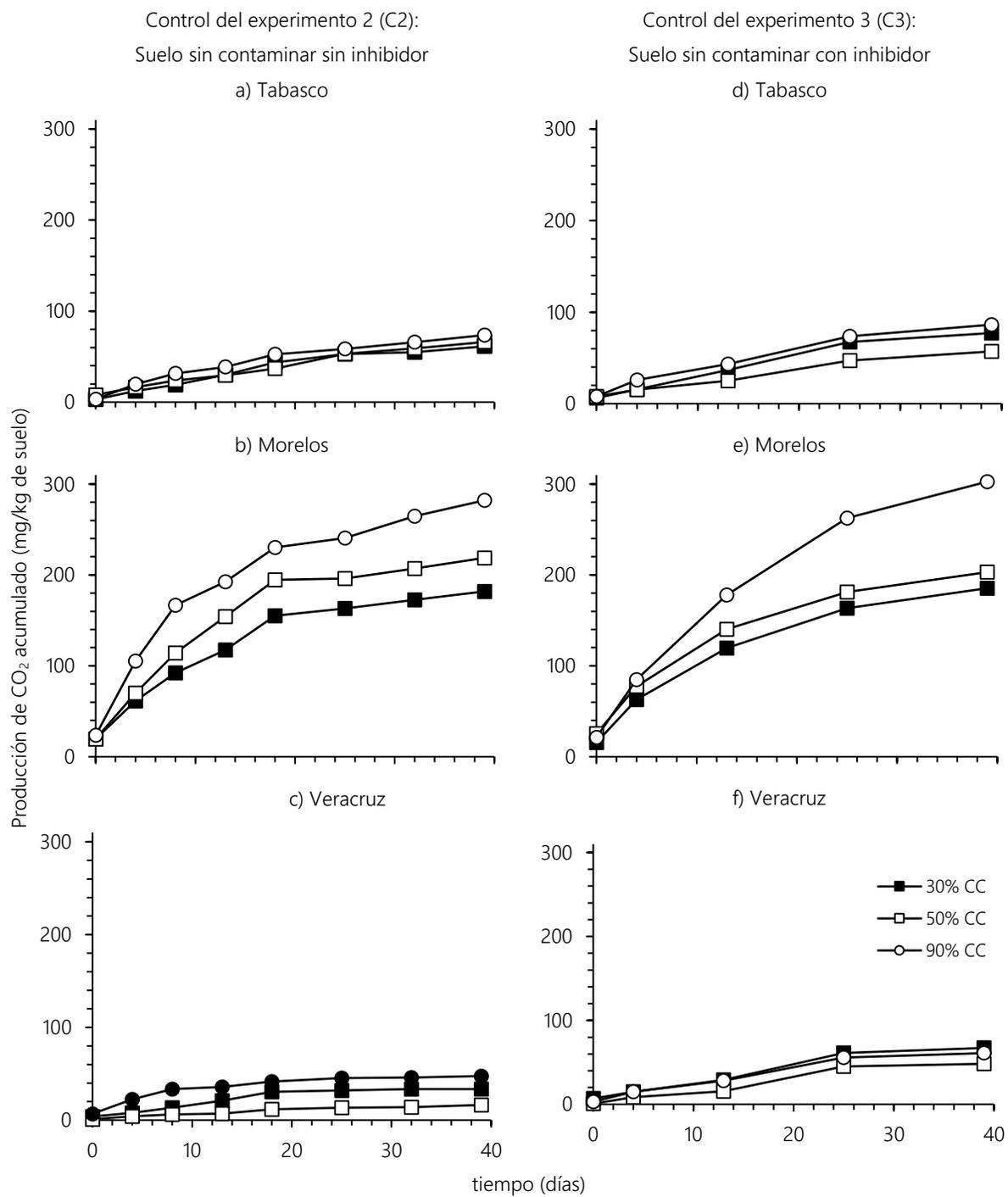


Figura 6-10 Controles de los experimentos 2 y 3 (C2, C3): Producción de CO₂ acumulado, en los suelos sin contaminar, sin adición de inhibidor de bacterias a) Tabasco, b) Morelos y c) Veracruz y en los suelos inhibidos d) Tabasco, e) Morelos y f) Veracruz, con el 30%, 50% y 90% CC

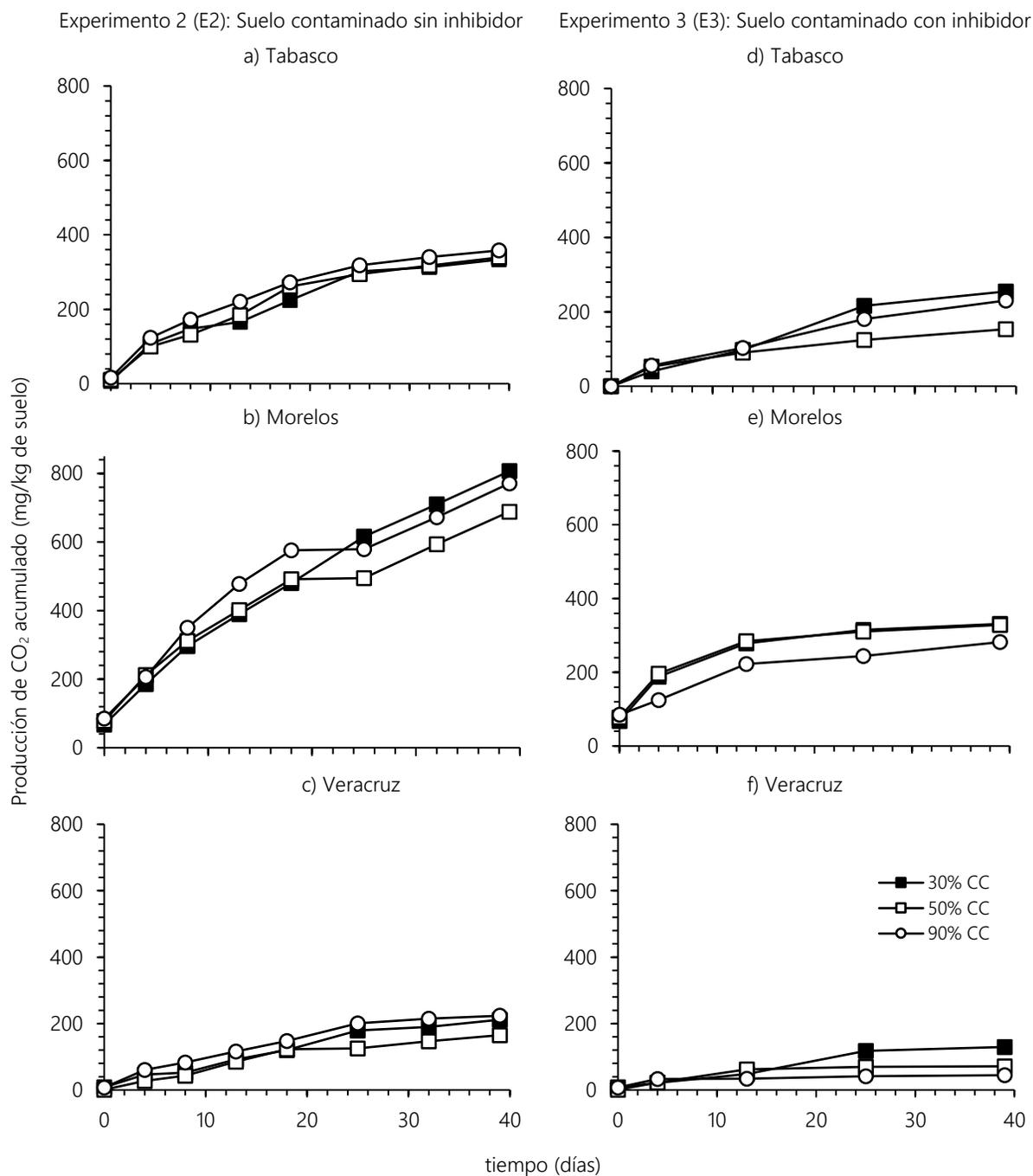


Figura 6-11 Experimentos 2 y 3 (E2 y E3): Producción de CO₂ acumulado en los suelos contaminados sin adición de inhibidor de bacterias a) Tabasco, b) Morelos y c) Veracruz y en los suelos inhibidos, d) Tabasco, e) Morelos y f) Veracruz, con el 30%, 50% y 90% CC

En el caso de los suelos contaminados (E2) se siguió el orden esperado; con mayor actividad microbiana en los suelos de Morelos con alto contenido de materia orgánica, seguida por los suelos de Tabasco y Veracruz, relacionado con la cantidad de bacterias presentes en cada uno (Fig. 6-11; a, b y c).

En los suelos contaminados e inhibidos (E3) se obtuvo menor producción de CO₂, ocasionado por el efecto del inhibidor de las bacterias aerobias cuantificables. Y debido a que, en este caso, se obtuvo mínima actividad microbiana (CO₂ producido) durante los primeros días de la experimentación (Fig. 6-11; d, e y f), se le atribuye la presencia de otros microorganismos presentes en los suelos.

Por tanto, para tener un panorama general de los fenómenos que se dan en los suelos durante la remoción de contaminantes es importante considerar a los demás microorganismos presentes, tal como los hongos o distintos tipos de bacterias, entre otros microorganismos, que en conjunto son encargados de degradar a los hidrocarburos.

En la mayoría de experimentos, se observa que al final de la experimentación se obtuvo una concentración constante de CO₂, relacionado con la presencia constante de bacterias durante los últimos días de cada experimento. El suelo de Morelos en E2 es la excepción, por lo que se atribuye el efecto que pudo ocasionar el muy alto contenido de materia orgánica en ese suelo, proporcionando a los microorganismos presentes un sustrato de carbono mayor, por lo cual aumentó la actividad metabólica (Dilly 2004).

Sin embargo, la mayor actividad microbiana evidenciada por una producción mayor de CO₂ no influyó en la eliminación del BA y DBA. A su vez, se observó que el contenido de agua no tuvo efecto significativo sobre el CO₂ producido por los suelos de Tabasco y Veracruz y si ligeramente en los suelos de Morelos; sin embargo, la adición del inhibidor (HgCl₂) lo redujo fuertemente.

Para el caso de los suelos contaminados con bajas concentraciones (EBC) se obtuvieron concentraciones de CO₂ muy similares a las de los suelos sin contaminar (C3), tal y como se observa en la Fig. 6-12.

Experimento con bajas concentraciones (EBC):
Suelo contaminado sin inhibidor

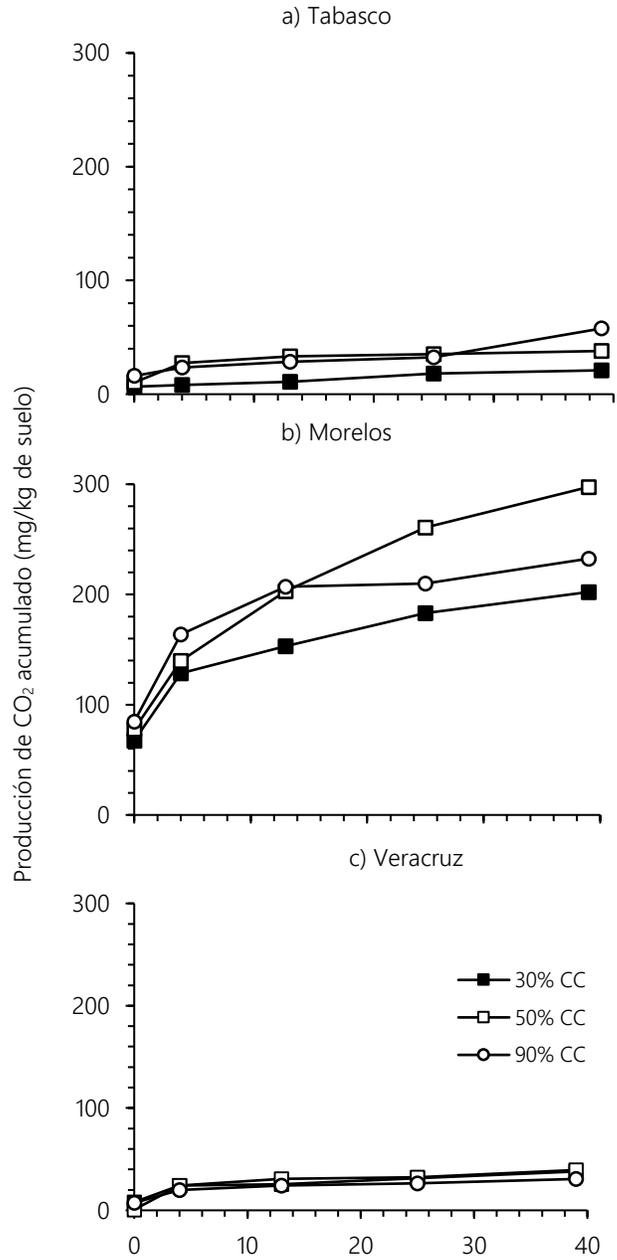


Figura 6-12 Experimento con bajas concentraciones (EBC): Producción de CO₂ acumulado en los suelos contaminados con bajas concentraciones, con adición de inhibidor de bacterias a)Tabasco, b)Morelos y c)Veracruz, con el 30%, 50% y 90% CC

Comparando la actividad microbiana con la de los suelos contaminados e inhibidos (E3) se obtuvo una disminución mayor en el suelo de Tabasco, aproximada de 150 mg/kg, seguida del suelo de Veracruz, con 70 mg/ kg promedio, sin tener influencia del contenido de agua adicionado. El suelo de Morelos es el único que presentó diferencias por contenidos de agua, disminuyendo 30, 50 y 90 mg/kg (50%, 90% y 30% CC, respectivamente).

Por lo que puede denotarse la influencia de la concentración en la actividad microbiana, ya que mientras mayor sea la contaminación, es probable la asimilación de los hidrocarburos como sustrato para los microorganismos; sin embargo, dependiendo de ésta, será la toxicidad que represente. Además de considerar que la medida del CO₂ producido, estará en función no solo del contaminante, sino también de la materia orgánica en los suelos.

Capítulo 7

Conclusiones y Recomendaciones

Se caracterizaron las tres muestras de suelo de acuerdo con sus propiedades físicas, químicas y biológicas, con una diferencia significativa entre ellas para todos los suelos (capacidad de campo entre 85 g/kg - 328 g/kg; materia orgánica entre 5 g/kg - 506 g/kg; contenido de arenas entre 390 g/kg - 998 g/kg; bacterias aerobias entre 10×10^2 UFC/g - 1720×10^2 UFC/g y pH entre 4.8 - 6.6). Cumpliendo con lo esperado para realizar la experimentación.

Las pruebas de biodisponibilidad indican que los HAP pueden desorberse del suelo. Durante los 39 días, se obtiene desorción de BA, siendo mayor entre los días 8 - 13 días. El DBA únicamente presenta desorción en la fase rápida, es decir, en los primeros días. Concentración que se considera biodisponible, la cual puede ser asimilada por los microorganismos.

La desorción de BA y DBA en el suelo de Morelos, fue menor en comparación con los otros dos suelos (Tabasco y Veracruz). Por tanto, se cumple la primera hipótesis planteada en este estudio.

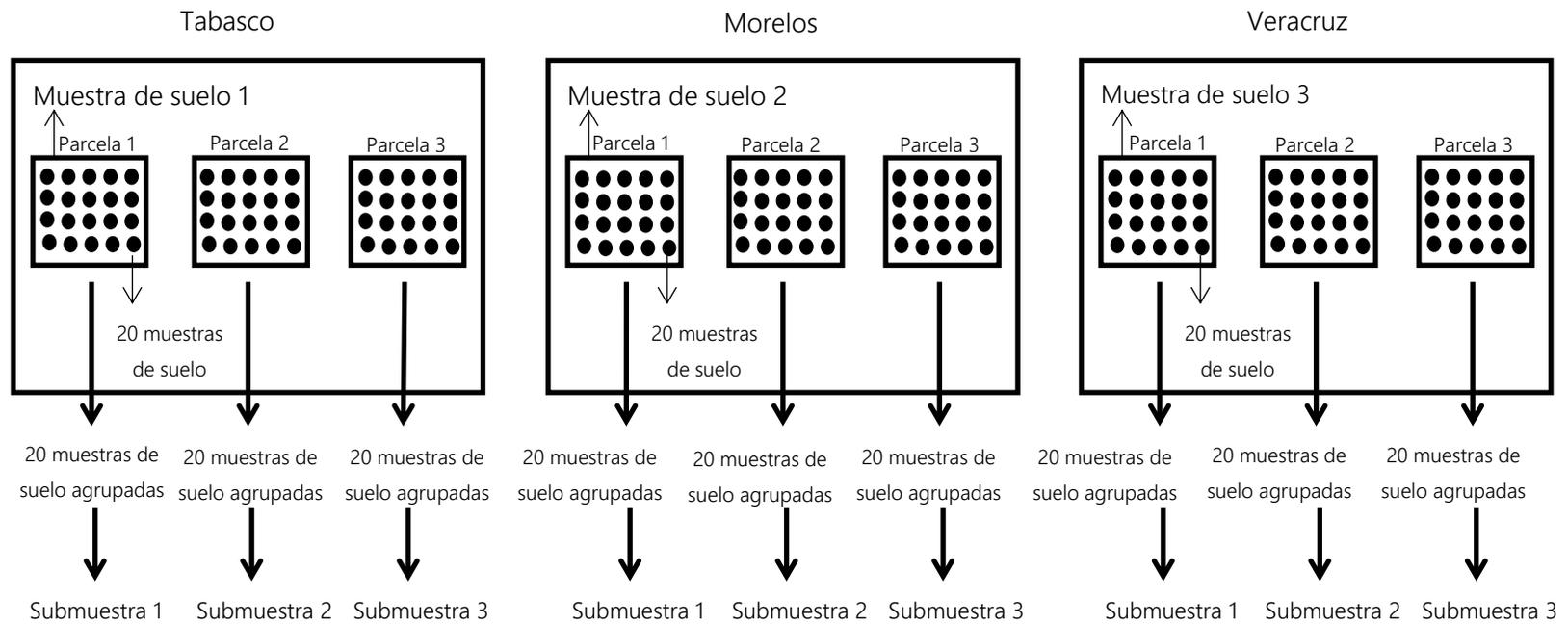
La remoción de la mezcla de los HAP en los tres suelos fue rápida al comienzo de la incubación aerobia (entre los 0 y 8 días) con el 79% de BA y 90% de DBA disipado y retardado posteriormente; independientemente de los tres contenidos de agua probados (30%, 50% y 90% CC) y de la materia orgánica de cada suelo (149 g/kg en Tabasco, 506 g/kg en Morelos y 5 g/kg en Veracruz), permaneciendo aproximadamente el 5% de su concentración hasta el día 39, por lo que se rechaza la segunda hipótesis planteada en este trabajo.

Como recomendaciones se propone realizar pruebas complementarias que ayudarán a confirmar la remoción rápida de los HAP estudiados (BA y DBA):

- Realizar isotermas de adsorción con la mezcla de los contaminantes.
- Determinar metabolitos intermedios para conocer la ruptura de los anillos con los que están compuestos el BA y DBA.
- Ampliar el análisis microbiológico (presencia de hongos y bacterias anaerobias).
- Hacer un análisis de biología molecular (especie de los microorganismos) para conocer si la remoción de los HAP se debe a un proceso de biodegradación.
- Realizar pruebas de volatilización (SPME).

Anexos

Anexo 1



Anexo 1 Muestreo de suelo: Obtención de las muestras de suelos (n=3, Tabasco, Morelos y Veracruz) y submuestras (n=9) utilizadas en la experimentación

Anexo 2

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

Versión 5.9
Fecha de revisión 05/07/2018
Fecha de impresión 06/14/2018

1. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO Y DE LA COMPAÑÍA

1.1 Identificadores del producto

Nombre del producto : Benzo[a]antraceno

Referencia : 48563

Marca : Supelco

No. Índice : 601-033-00-9

No. CAS : 56-55-3

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Síntesis de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Sigma-Aldrich
3050 Spruce Street
SAINT LOUIS MO 63103
USA

Teléfono : +1 800-325-5832

Fax : +1 800-325-5052

1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : +1-703-527-3887 (CHEMTREC)

2. IDENTIFICACIÓN DE LOS PELIGROS

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

Clasificación SGA de acuerdo con 29 CFR 1910 (OSHA HCS).

Carcinogenicidad (Categoría 1B), H350

Toxicidad acuática aguda (Categoría 1), H400

Toxicidad acuática crónica (Categoría 1), H410

Para el texto íntegro de las Declaraciones-H mencionadas en esta sección, véase la Sección 16.

2.2 Elementos de las etiquetas del SGA, incluidos los consejos de prudencia

Pictograma



Palabra de advertencia

Peligro

Indicación(es) de peligro

H350

Puede provocar cáncer.

H410

Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

Declaración(es) de prudencia

P201

Pedir instrucciones especiales antes del uso.

P202

No manipular la sustancia antes de haber leído y comprendido todas las instrucciones de seguridad.

P273

Evitar su liberación al medio ambiente.

P281

Utilizar el equipo de protección individual obligatorio.

P308 + P313

EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Consultar a un médico.

P391

Recoger el vertido.

P405 Guardar bajo llave.
 P501 Eliminar el contenido/ el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.

2.3 Peligros no clasificados de otra manera - ninguno(a)

3. COMPOSICIÓN/INFORMACIÓN SOBRE LOS COMPONENTES

3.1 Sustancias

Sinónimos : 1,2-Benzanthracene
 Tetraphene

Formula : C₁₈H₁₂
 Peso molecular : 228.29 g/mol
 No. CAS : 56-55-3
 No. CE : 200-280-6
 No. Índice : 601-033-00-9

Componentes peligrosos

Componente	Clasificación	Concentración
Benz[a]anthracene	Carc. 1B; Aquatic Acute 1; Aquatic Chronic 1; H350, H410	90 - 100 %

Para el texto integro de las Declaraciones-H mencionadas en esta sección, véase la Sección 16.

4. PRIMEROS AUXILIOS

4.1 Descripción de los primeros auxilios

Recomendaciones generales

Consultar a un médico. Mostrar esta ficha de seguridad al doctor que esté de servicio. Retire a la persona de la zona peligrosa.

Si es inhalado

Si aspiró, mueva la persona al aire fresco. Si ha parado de respirar, hacer la respiración artificial. Consultar a un médico.

En caso de contacto con la piel

Eliminar lavando con jabón y mucha agua. Consultar a un médico.

En caso de contacto con los ojos

Lavarse abundantemente los ojos con agua como medida de precaución.

Por ingestión

Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua. Consultar a un médico.

4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Los síntomas y efectos más importantes conocidos se describen en la etiqueta (ver sección 2.2) y / o en la sección 11

4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

Sin datos disponibles

5. MEDIDAS DE LUCHA CONTRA INCENDIOS

5.1 Medios de extinción

Medios de extinción apropiados

Usar agua pulverizada, espuma resistente al alcohol, polvo seco o dióxido de carbono.

5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

Sin datos disponibles

5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios
Si es necesario, usar equipo de respiración autónomo para la lucha contra el fuego.

5.4 Otros datos
Sin datos disponibles

6. MEDIDAS EN CASO DE VERTIDO ACCIDENTAL

6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia
Utilícese equipo de protección individual. Evite la formación de polvo. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas. Asegúrese una ventilación apropiada. Evacuar el personal a zonas seguras. Evitar respirar el polvo. Equipo de protección individual, ver sección 8.

6.2 Precauciones relativas al medio ambiente
Impedir nuevos escapes o derrames si puede hacerse sin riesgos. No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado. La descarga en el ambiente debe ser evitada.

6.3 Métodos y material de contención y de limpieza
Recoger y preparar la eliminación sin originar polvo. Limpiar y traspalar. Guardar en contenedores apropiados y cerrados para su eliminación.

6.4 Referencia a otras secciones
Para eliminación de desechos ver sección 13.

7. MANIPULACIÓN Y ALMACENAMIENTO

7.1 Precauciones para una manipulación segura
Evítese la formación de polvo y aerosoles. La manipulación de materiales sólidos puede resultar en la formación de polvos combustibles, dicho potencial deberá ser considerado. Debe disponer de extracción adecuada en aquellos lugares en los que se forma polvo. Ver precauciones en la sección 2.2

7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades
Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado.
Almacene a temperatura ambiente.
Clase de almacenamiento (TRGS 510): 6.1D: Materiales tóxicos peligrosos o materiales peligrosos que causan efectos crónicos/No combustibles, tóxicos agudos Cat.3

7.3 Usos específicos finales
Aparte de los usos mencionados en la sección 1.2 no se estipulan otros usos específicos

8. CONTROLES DE EXPOSICIÓN/ PROTECCIÓN INDIVIDUAL

8.1 Parámetros de control

Componentes con valores límite ambientales de exposición profesional.
No contiene sustancias con valores límites de exposición profesional.

8.2 Controles de la exposición

Controles técnicos apropiados

Manipular con las precauciones de higiene industrial adecuadas, y respetar las prácticas de seguridad. Lávense las manos antes de los descansos y después de terminar la jornada laboral.

Protección personal

Protección de los ojos/ la cara

Gafas de seguridad con protecciones laterales conformes con la EN166 Use equipo de protección para los ojos probado y aprobado según las normas gubernamentales correspondientes, tales como NIOSH (EE.UU.) o EN 166 (UE).

Protección de la piel

Manipular con guantes. Los guantes deben ser inspeccionados antes de su uso. Utilice la técnica correcta de quitarse los guantes (sin tocar la superficie exterior del guante) para evitar el contacto de la piel con este producto. Deseche los guantes contaminados después de su uso, de conformidad con las leyes aplicables y buenas prácticas de laboratorio. Lavar y secar las manos.

Sumersión

Material: Caucho nitrilo
 espesura mínima de capa: 0.11 mm
 Tiempo de penetración: 480 min
 Material probado: Dermatri@ (KCL 740 / Aldrich Z677272, Talla M)

Salpicaduras
 Material: Caucho nitrilo
 espesura mínima de capa: 0.11 mm
 Tiempo de penetración: 480 min
 Material probado: Dermatri@ (KCL 740 / Aldrich Z677272, Talla M)

origen de datos: KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, Teléfono +49 (0)6659 87300, e-mail sales@kcl.de, Método de prueba: EN374

Si es utilizado en solución, o mezclado con otras sustancias, y bajo condiciones diferentes de la EN 374, ponerse en contacto con el proveedor de los guantes aprobados CE. Esta recomendación es meramente aconsejable y deberá ser evaluada por un responsable de seguridad e higiene industrial familiarizado con la situación específica de uso previsto por nuestros clientes. No debe interpretarse como una aprobación de oferta para cualquier escenario de uso específico.

Protección Corporal

Indumentaria impermeable, El tipo de equipamiento de protección debe ser elegido según la concentración y la cantidad de sustancia peligrosa al lugar específico de trabajo.

Protección respiratoria

Donde el asesoramiento de riesgo muestre que los respiradores purificadores toda la cara tipo N100 (EEUU) o tipo P3 (EN 143) y cartuchos de respuest unica protección, usar un respirador suministrado que cubra toda la cara Usar respiradores y componenetes testados y aprobados bajo los estandards gubernamentales apropiados como NIOSH (EEUU) o CEN (UE)

Control de exposición ambiental

Impedir nuevos escapes o derrames si puede hacerse sin riesgos. No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado. La descarga en el ambiente debe ser evitada.

9. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

a) Aspecto	Forma: sólido
b) Olor	Sin datos disponibles
c) Umbral olfativo	Sin datos disponibles
d) pH	Sin datos disponibles
e) Punto de fusión/ punto de congelación	Punto/intervalo de fusión: 157 - 159 °C (315 - 318 °F)
f) Punto inicial de ebullición e intervalo de ebullición	437.6 °C (819.7 °F)
g) Punto de inflamación	Sin datos disponibles
h) Tasa de evaporación	Sin datos disponibles
i) Inflamabilidad (sólido, gas)	Sin datos disponibles
j) Inflamabilidad superior/inferior o límites explosivos	Sin datos disponibles
k) Presión de vapor	Sin datos disponibles
l) Densidad de vapor	Sin datos disponibles
m) Densidad relativa	Sin datos disponibles
n) Solubilidad en agua	Sin datos disponibles
o) Coeficiente de reparto	Sin datos disponibles

	n-octanol/agua	
p)	Temperatura de auto-inflamación	Sin datos disponibles
q)	Temperatura de descomposición	Sin datos disponibles
r)	Viscosidad	Sin datos disponibles
s)	Propiedades explosivas	Sin datos disponibles
t)	Propiedades comburentes	Sin datos disponibles

9.2 Otra información de seguridad
Sin datos disponibles

10. ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD

10.1 Reactividad

Sin datos disponibles

10.2 Estabilidad química

Estable bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas.

10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas

Sin datos disponibles

10.4 Condiciones que deben evitarse

Sin datos disponibles

10.5 Materiales incompatibles

Agentes oxidantes fuertes

10.6 Productos de descomposición peligrosos

Productos de descomposición peligrosos formados en condiciones de incendio. - Óxidos de carbono
Otros productos de descomposición peligrosos - Sin datos disponibles
En caso de incendio: véase sección 5

11. INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA

11.1 Información sobre los efectos toxicológicos

Toxicidad aguda

Sin datos disponibles

Inhalación: Sin datos disponibles

Cutáneo: Sin datos disponibles

DL50 Intravenoso - Rata - > 200 mg/kg

Corrosión o irritación cutáneas

Sin datos disponibles

Lesiones o irritación ocular graves

Sin datos disponibles

Sensibilización respiratoria o cutánea

Sin datos disponibles

Mutagenicidad en células germinales

Sin datos disponibles

Carcinogenicidad

Este producto es o contiene un componente probablemente cancerígeno en humanos, según determinado basado en su clasificación por IARC (International Agency for Research on Cancer; Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer), OSHA (Occupational Safety and Health Agency; Agencia de Seguridad e Higiene del Trabajo) de los Estados Unidos, ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists; Conferencia de Higienistas Industriales Gubernamentales de los Estados Unidos), NTP (National Toxicology Program; Programa Nacional de Toxicología) de

los Estados Unidos y EPA (Environmental Protection Agency; Agencia para la Protección del Medio Ambiente) de los Estados Unidos.

Posible agente carcinógeno para el humano

IARC: 2B - Group 2B: Possibly carcinogenic to humans (Benz[a]anthracene)

IARC: 2B - Group 2B: Possibly carcinogenic to humans (Benz[a]anthracene)

NTP: RAHC - Razonablemente previsto como cancerígeno humano (Benz[a]anthracene)

NTP: RAHC - Razonablemente previsto como cancerígeno humano (Benz[a]anthracene)

OSHA: Ningún componente de este producto está presente en niveles superiores o iguales al 0,1 % por lo que no se encuentra en la lista de OSHA de carcinógenos regulados.

Ningún componente de este producto está presente en niveles superiores o iguales al 0,1 % por lo que no se encuentra en la lista de OSHA de carcinógenos regulados.

Toxicidad para la reproducción

Sin datos disponibles

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas

Sin datos disponibles

Peligro de aspiración

Sin datos disponibles

Información Adicional

RTECS: sin datos disponibles

Según nuestras informaciones, creemos que no se han investigado adecuadamente las propiedades químicas, físicas y toxicológicas.

12. INFORMACIÓN ECOLÓGICA

12.1 Toxicidad

Sin datos disponibles

12.2 Persistencia y degradabilidad

Sin datos disponibles

12.3 Potencial de bioacumulación

Sin datos disponibles

12.4 Movilidad en el suelo

Sin datos disponibles

12.5 Resultados de la valoración PBT y mPmB

La valoración de PBT / mPmB no está disponible ya que la evaluación de la seguridad química no es necesaria / no se ha realizado

12.6 Otros efectos adversos

No se puede excluir un peligro para el medio ambiente en el caso de una manipulación o eliminación no profesional. Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

13. CONSIDERACIONES RELATIVAS A LA ELIMINACIÓN**13.1 Métodos para el tratamiento de residuos****Producto**

Ofertar el sobrante y las soluciones no-aprovechables a una compañía de vertidos acreditada. Para la eliminación de este producto, dirigirse a un servicio profesional autorizado. Disolver o mezclar el producto con un solvente combustible y quemarlo en un incinerador apto para productos químicos provisto de postquemador y lavador.

Envases contaminados

Eliminar como producto no usado.

14. INFORMACIÓN RELATIVA AL TRANSPORTE**DOT (US)**

Mercancía no peligrosa

IMDG

Número ONU: 3077 Clase: 9 Grupo de embalaje: III EMS-No: F-A, S-F
Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas: ENVIRONMENTALLY HAZARDOUS SUBSTANCE, SOLID, N.O.S. (Benz[a]anthracene)
Contaminante marino: no

IATA

Número ONU: 3077 Clase: 9 Grupo de embalaje: III
Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas: Sustancia sólida peligrosa para el medio ambiente, n.e.p. (Benz[a]anthracene)

Otros datos

Marca-EHS requerida (códigos ADR 2.2.9.1.10 e IMDG 2.10.3) para embalajes únicos y embalajes combinados que contengan embalajes interiores con Mercancías Peligrosas > 5L para líquidos o > 5Kg para sólidos.

15. INFORMACIÓN REGLAMENTARIA**SARA 302 Componentes**

Este material no contiene productos químicos sujetos a los requisitos reportados por SARA Título III, sección 302.

SARA 313 Componentes

Este material no contiene ningún componente químico con los conocidos números CAS que exceden el umbral de los niveles reportados (De Minimis) establecidos por SARA título III, sección 313.

SARA 311/312 Peligros

Peligro para la Salud Crónico

Massachusetts Right To Know Componentes

	No. CAS	Fecha de revisión
Benz[a]anthracene	56-55-3	1993-02-16

Pennsylvania Right To Know Componentes

	No. CAS	Fecha de revisión
Benz[a]anthracene	56-55-3	1993-02-16

	No. CAS	Fecha de revisión
Benz[a]anthracene	56-55-3	1993-02-16

New Jersey Right To Know Componentes

	No. CAS	Fecha de revisión
Benz[a]anthracene	56-55-3	1993-02-16

Prop. 65 de California Componentes

	No. CAS	Fecha de revisión
¡ADVERTENCIA! Este producto contiene un producto químico conocido en el estado de California por provocar cáncer. Benz[a]anthracene	56-55-3	2007-09-28

¡ADVERTENCIA! Este producto contiene un producto químico conocido en el estado de California por provocar cáncer. Benz[a]anthracene	No. CAS 56-55-3	Fecha de revisión 2007-09-28
--	--------------------	---------------------------------

16. OTRA INFORMACIÓN

Texto íntegro de las Declaraciones-H referidas en las secciones 2 y 3.

Aquatic Acute	Toxicidad acuática aguda
Aquatic Chronic	Toxicidad acuática crónica
Carc.	Carcinogenicidad
H350	Puede provocar cáncer.
H400	Muy tóxico para los organismos acuáticos.
H410	Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

Clasificación HMIS/NFPA

Peligro para la salud:	2
Peligro Crónico para la Salud:	*
Inflamabilidad:	0
Peligro Físico	0

Clasificación NFPA

Peligro para la salud:	2
Peligro de Incendio:	0
Peligro de Reactividad:	0

Otros datos

Copyright 2016 Sigma-Aldrich Co. LLC. Se autoriza la reproducción en número ilimitado de copias para uso exclusivamente interno.

La información indicada arriba se considera correcta pero no pretende ser exhaustiva y deberá utilizarse únicamente como orientación. La información contenida en este documento esta basada en el presente estado de nuestro conocimiento y es aplicable a las precauciones de seguridad apropiadas para el producto. No representa ninguna garantía de las propiedades del producto. La Corporación Sigma-Aldrich y sus Compañías Afiliadas, no responderán por ningún daño resultante de la manipulación o contacto con el producto indicado arriba. Dirijase a www.sigma-aldrich.com y/o a los términos y condiciones de venta en el reverso de la factura o de la nota de entrega.

Información suministrada por
Corporación Sigma-Aldrich
Product Safety – Americas Region
1-800-521-8956

Versión: 5.9

Fecha de revisión:
05/07/2018Fecha de impresión:
06/14/2018

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

Versión 5.11

Fecha de revisión 11/07/2017

Fecha de impresión 06/14/2018

1. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO Y DE LA COMPAÑÍA

1.1 Identificadores del producto

Nombre del producto : Dibenz[*a,h*]anthraceneReferencia : 48574
Marca : Supelco
No. Índice : 601-041-00-2

No. CAS : 53-70-3

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Síntesis de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Sigma-Aldrich
3050 Spruce Street
SAINT LOUIS MO 63103
USATeléfono : +1 800-325-5832
Fax : +1 800-325-5052

1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : +1-703-527-3887 (CHEMTREC)

2. IDENTIFICACIÓN DE LOS PELIGROS

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

Clasificación SGA de acuerdo con 29 CFR 1910 (OSHA HCS).

Carcinogenicidad (Categoría 1B), H350

Toxicidad acuática aguda (Categoría 1), H400

Toxicidad acuática crónica (Categoría 1), H410

Para el texto íntegro de las Declaraciones-H mencionadas en esta sección, véase la Sección 16.

2.2 Elementos de las etiquetas del SGA, incluidos los consejos de prudencia

Pictograma



Palabra de advertencia : Peligro

Indicación(es) de peligro

H350

Puede provocar cáncer.

H410

Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

Declaración(es) de prudencia

P201

Pedir instrucciones especiales antes del uso.

P202

No manipular la sustancia antes de haber leído y comprendido todas las instrucciones de seguridad.

P273

Evitar su liberación al medio ambiente.

P280

Llevar guantes/ prendas/ gafas/ máscara de protección.

P308 + P313

EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Consultar a un médico.

P391

Recoger el vertido.

P405 Guardar bajo llave.
 P501 Eliminar el contenido/ el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.

2.3 Peligros no clasificados de otra manera - ninguno(a)

3. COMPOSICIÓN/INFORMACIÓN SOBRE LOS COMPONENTES

3.1 Sustancias

Sinónimos : 1,2:5,6-Dibenzanthracene

Formula : C₂₂H₁₄

Peso molecular : 278.35 g/mol

No. CAS : 53-70-3

No. CE : 200-181-8

No. Índice : 601-041-00-2

Componentes peligrosos

Componente	Clasificación	Concentración
Dibenz[a,h]anthracene	Carc. 1B; Aquatic Acute 1; Aquatic Chronic 1; H350, H410	90 - 100 %

Para el texto integro de las Declaraciones-H mencionadas en esta sección, véase la Sección 16.

4. PRIMEROS AUXILIOS

4.1 Descripción de los primeros auxilios

Recomendaciones generales

Consultar a un médico. Mostrar esta ficha de seguridad al doctor que esté de servicio. Retire a la persona de la zona peligrosa.

Si es inhalado

Si aspiró, mueva la persona al aire fresco. Si ha parado de respirar, hacer la respiración artificial. Consultar a un médico.

En caso de contacto con la piel

Eliminar lavando con jabón y mucha agua. Consultar a un médico.

En caso de contacto con los ojos

Lavarse abundantemente los ojos con agua como medida de precaución.

Por ingestión

Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua. Consultar a un médico.

4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Los síntomas y efectos más importantes conocidos se describen en la etiqueta (ver sección 2.2) y / o en la sección 11

4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

Sin datos disponibles

5. MEDIDAS DE LUCHA CONTRA INCENDIOS

5.1 Medios de extinción

Medios de extinción apropiados

Usar agua pulverizada, espuma resistente al alcohol, polvo seco o dióxido de carbono.

5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

Sin datos disponibles

5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios
Si es necesario, usar equipo de respiración autónomo para la lucha contra el fuego.

5.4 Otros datos
Sin datos disponibles

6. MEDIDAS EN CASO DE VERTIDO ACCIDENTAL

- 6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia**
Utilícese equipo de protección individual. Evite la formación de polvo. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas. Asegúrese una ventilación apropiada. Evacuar el personal a zonas seguras. Evitar respirar el polvo. Equipo de protección individual, ver sección 8.
- 6.2 Precauciones relativas al medio ambiente**
Impedir nuevos escapes o derrames si puede hacerse sin riesgos. No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado. La descarga en el ambiente debe ser evitada.
- 6.3 Métodos y material de contención y de limpieza**
Recoger y preparar la eliminación sin originar polvo. Limpiar y traspalar. Guardar en contenedores apropiados y cerrados para su eliminación.
- 6.4 Referencia a otras secciones**
Para eliminación de desechos ver sección 13.

7. MANIPULACIÓN Y ALMACENAMIENTO

- 7.1 Precauciones para una manipulación segura**
Evítese la formación de polvo y aerosoles. La manipulación de materiales sólidos puede resultar en la formación de polvos combustibles, dicho potencial deberá ser considerado. Debe disponer de extracción adecuada en aquellos lugares en los que se forma polvo. Ver precauciones en la sección 2.2
- 7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades**
Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado.

Almacene a temperatura ambiente.
Clase de almacenamiento (TRGS 510): 6.1D: Materiales tóxicos peligrosos o materiales peligrosos que causan efectos crónicos/No combustibles, tóxicos agudos Cat.3
- 7.3 Usos específicos finales**
Aparte de los usos mencionados en la sección 1.2 no se estipulan otros usos específicos

8. CONTROLES DE EXPOSICIÓN/ PROTECCIÓN INDIVIDUAL

8.1 Parámetros de control

Componentes con valores límite ambientales de exposición profesional.

Componente	No. CAS	Valor	Parámetros de control	Base
Dibenz[a,h]anthracene	53-70-3	PEL	0.2 mg/m ³	"Límites de exposición de contaminantes químicos permitidos en California (Título 8, artículo 107)".

Límites biológicos de exposición profesional

Componente	No. CAS	Parámetros	Valor	Muestras biológicas	Base
Dibenz[a,h]anthracene	53-70-3	1-hidroxi pireno (1 HP)		Orina	ACGIH - Índices Biológicos de Exposición (BEI)
	Observaciones	Al final del turno del último día de la semana de trabajo			

8.2 Controles de la exposición

Controles técnicos apropiados

Manipular con las precauciones de higiene industrial adecuadas, y respetar las prácticas de seguridad. Lávense las manos antes de los descansos y después de terminar la jornada laboral.

Protección personal

Protección de los ojos/ la cara

Gafas de seguridad con protecciones laterales conformes con la EN166 Use equipo de protección para los ojos probado y aprobado según las normas gubernamentales correspondientes, tales como NIOSH (EE.UU.) o EN 166 (UE).

Protección de la piel

Manipular con guantes. Los guantes deben ser inspeccionados antes de su uso. Utilice la técnica correcta de quitarse los guantes (sin tocar la superficie exterior del guante) para evitar el contacto de la piel con este producto. Deseche los guantes contaminados después de su uso, de conformidad con las leyes aplicables y buenas prácticas de laboratorio. Lavar y secar las manos.

Sumerción

Material: Caucho nitrilo

espesura mínima de capa: 0.11 mm

tiempo de penetración: 480 min

Material probado: Dermatril® (KCL 740 / Aldrich Z677272, Talla M)

Salpicaduras

Material: Caucho nitrilo

espesura mínima de capa: 0.11 mm

tiempo de penetración: 480 min

Material probado: Dermatril® (KCL 740 / Aldrich Z677272, Talla M)

origen de datos: KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, Teléfono +49 (0)6659 87300, e-mail sales@kcl.de, Método de prueba: EN374

Si es utilizado en solución, o mezclado con otras sustancias, y bajo condiciones diferentes de la EN 374, ponerse en contacto con el proveedor de los guantes aprobados CE. Esta recomendación es meramente aconsejable y deberá ser evaluada por un responsable de seguridad e higiene industrial familiarizado con la situación específica de uso previsto por nuestros clientes. No debe interpretarse como una aprobación de oferta para cualquier escenario de uso específico.

Protección Corporal

Indumentaria impermeable, El tipo de equipamiento de protección debe ser elegido según la concentración y la cantidad de sustancia peligrosa al lugar específico de trabajo.

Protección respiratoria

Donde el asesoramiento de riesgo muestre que los respiradores purificadores toda la cara tipo N100 (EEUU) o tipo P3 (EN 143) y cartuchos de respuest unica protección, usar un respirador suministrado que cubra toda la cara Usar respiradores y componenetes testados y aprobados bajo los estandards gubernamentales apropiados como NIOSH (EEUU) o CEN (UE)

Control de exposición ambiental

Impedir nuevos escapes o derrames si puede hacerse sin riesgos. No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado. La descarga en el ambiente debe ser evitada.

9. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

- | | |
|--|---|
| a) Aspecto | Forma: sólido |
| b) Olor | Sin datos disponibles |
| c) Umbral olfativo | Sin datos disponibles |
| d) pH | Sin datos disponibles |
| e) Punto de fusión/ punto de congelación | Punto/intervalo de fusión: 262 - 265 °C (504 - 509 °F) - lit. |
| f) Punto inicial de ebullición e intervalo de ebullición | 524 °C (975 °F) - lit. |
| g) Punto de inflamación | Sin datos disponibles |
| h) Tasa de evaporación | Sin datos disponibles |
| i) Inflamabilidad (sólido, | Sin datos disponibles |

	gas)	
j)	Inflamabilidad superior/inferior o límites explosivos	Sin datos disponibles
k)	Presión de vapor	Sin datos disponibles
l)	Densidad de vapor	Sin datos disponibles
m)	Densidad relativa	Sin datos disponibles
n)	Solubilidad en agua	Sin datos disponibles
o)	Coefficiente de reparto n-octanol/agua	Sin datos disponibles
p)	Temperatura de auto-inflamación	Sin datos disponibles
q)	Temperatura de descomposición	Sin datos disponibles
r)	Viscosidad	Sin datos disponibles
s)	Propiedades explosivas	Sin datos disponibles
t)	Propiedades comburentes	Sin datos disponibles
9.2	Otra información de seguridad	
	Sin datos disponibles	

10. ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD

- 10.1 Reactividad**
Sin datos disponibles
- 10.2 Estabilidad química**
Estable bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas.
- 10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas**
Sin datos disponibles
- 10.4 Condiciones que deben evitarse**
Sin datos disponibles
- 10.5 Materiales incompatibles**
Agentes oxidantes fuertes
- 10.6 Productos de descomposición peligrosos**
Productos de descomposición peligrosos formados en condiciones de incendio. - Óxidos de carbono
Otros productos de descomposición peligrosos - Sin datos disponibles
En caso de incendio: véase sección 5

11. INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA

11.1 Información sobre los efectos toxicológicos

- Toxicidad aguda**
Sin datos disponibles
- Inhalación: Sin datos disponibles
- Cutáneo: Sin datos disponibles
- Sin datos disponibles
- Corrosión o irritación cutáneas**
Sin datos disponibles
- Lesiones o irritación ocular graves**
Sin datos disponibles

Sensibilización respiratoria o cutánea

Sin datos disponibles

Mutagenicidad en células germinales

Se han observado efectos mutagénicos en experimentos de laboratorio.

Carcinogenicidad

Este producto es o contiene un componente probablemente cancerígeno en humanos, según determinado basado en su clasificación por IARC (International Agency for Research on Cancer; Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer), OSHA (Occupational Safety and Health Agency; Agencia de Seguridad e Higiene del Trabajo) de los Estados Unidos, ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists; Conferencia de Higienistas Industriales Gubernamentales de los Estados Unidos), NTP (National Toxicology Program; Programa Nacional de Toxicología) de los Estados Unidos y EPA (Environmental Protection Agency; Agencia para la Protección del Medio Ambiente) de los Estados Unidos.

Posible agente carcinógeno para el humano

IARC: 2A - Group 2A: Probably carcinogenic to humans (Dibenz[a,h]anthracene)

NTP: RAHC - Razonablemente previsto como cancerígeno humano (Dibenz[a,h]anthracene)

OSHA: No se identifica ningún componente de este producto, que presente niveles mayores que o el igual a 0,1% como cancerígeno o como carcinógeno potencial por la (OSHA) Administración de Salud y Seguridad Ocupacional.

Toxicidad para la reproducción

Sin datos disponibles

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas

Sin datos disponibles

Peligro de aspiración

Sin datos disponibles

Información Adicional

RTECS: HN2625000

Según nuestras informaciones, creemos que no se han investigado adecuadamente las propiedades químicas, físicas y toxicológicas.

Pulmones -

12. INFORMACIÓN ECOLÓGICA

12.1 Toxicidad

Toxicidad para las dafnias y otros invertebrados acuáticos Inmovilización CE50 - Daphnia magna (Pulga de mar grande) - 0.496 mg/l - 24 h

12.2 Persistencia y degradabilidad

Sin datos disponibles

12.3 Potencial de bioacumulación

Sin datos disponibles

12.4 Movilidad en el suelo

Sin datos disponibles

12.5 Resultados de la valoración PBT y mPmB

La valoración de PBT / mPmB no está disponible ya que la evaluación de la seguridad química no es necesaria / no se ha realizado

12.6 Otros efectos adversos

No se puede excluir un peligro para el medio ambiente en el caso de una manipulación o eliminación no profesional. Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

13. CONSIDERACIONES RELATIVAS A LA ELIMINACIÓN

13.1 Métodos para el tratamiento de residuos

Producto

Ofertar el sobrante y las soluciones no-aprovechables a una compañía de vertidos acreditada. Para la eliminación de este producto, dirigirse a un servicio profesional autorizado. Disolver o mezclar el producto con un solvente combustible y quemarlo en un incinerador apto para productos químicos provisto de postquemador y lavador.

Envases contaminados

Eliminar como producto no usado.

14. INFORMACIÓN RELATIVA AL TRANSPORTE

DOT (US)

Mercancía no peligrosa

IMDG

Número ONU: 3077 Clase: 9 Grupo de embalaje: III EMS-No: F-A, S-F
 Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas: ENVIRONMENTALLY HAZARDOUS SUBSTANCE, SOLID, N.O.S. (Dibenz[a,h]anthracene)
 Contaminante marino: no

IATA

Número ONU: 3077 Clase: 9 Grupo de embalaje: III
 Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas: Sustancia sólida peligrosa para el medio ambiente, n.e.p. (Dibenz[a,h]anthracene)

Otros datos

Marca-EHS requerida (códigos ADR 2.2.9.1.10 e IMDG 2.10.3) para embalajes únicos y embalajes combinados que contengan embalajes interiores con Mercancías Peligrosas > 5L para líquidos o > 5Kg para sólidos.

15. INFORMACIÓN REGLAMENTARIA

SARA 302 Componentes

Este material no contiene productos químicos sujetos a los requisitos reportados por SARA Título III, sección 302.

SARA 313 Componentes

Este material no contiene ningún componente químico con los conocidos números CAS que exceden el umbral de los niveles reportados (De Minimis) establecidos por SARA título III, sección 313.

SARA 311/312 Peligros

Peligro para la Salud Crónico

Massachusetts Right To Know Componentes

Dibenz[a,h]anthracene	No. CAS 53-70-3	Fecha de revisión 1993-04-24
-----------------------	--------------------	---------------------------------

Pennsylvania Right To Know Componentes

Dibenz[a,h]anthracene	No. CAS 53-70-3	Fecha de revisión 1993-04-24
-----------------------	--------------------	---------------------------------

Dibenz[a,h]anthracene	No. CAS 53-70-3	Fecha de revisión 1993-04-24
-----------------------	--------------------	---------------------------------

New Jersey Right To Know Componentes

Dibenz[a,h]anthracene	No. CAS 53-70-3	Fecha de revisión 1993-04-24
-----------------------	--------------------	---------------------------------

Prop. 65 de California Componentes

¡ADVERTENCIA! Este producto contiene un producto químico	No. CAS	Fecha de revisión
--	---------	-------------------

conocido en el estado de California por provocar cáncer. 53-70-3 2007-09-28
 Dibenz[a,h]anthracene

16. OTRA INFORMACIÓN

Texto íntegro de las Declaraciones-H referidas en las secciones 2 y 3.

Aquatic Acute	Toxicidad acuática aguda
Aquatic Chronic	Toxicidad acuática crónica
Carc.	Carcinogenicidad
H350	Puede provocar cáncer.
H400	Muy tóxico para los organismos acuáticos.
H410	Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

Clasificación HMIS/NFPA

Peligro para la salud:	0
Peligro Crónico para la Salud:	*
Inflamabilidad:	0
Peligro Físico	0

Clasificación NFPA

Peligro para la salud:	0
Peligro de Incendio:	0
Peligro de Reactividad:	0

Otros datos

Copyright 2016 Sigma-Aldrich Co. LLC. Se autoriza la reproducción en número ilimitado de copias para uso exclusivamente interno.

La información indicada arriba se considera correcta pero no pretende ser exhaustiva y deberá utilizarse únicamente como orientación. La información contenida en este documento esta basada en el presente estado de nuestro conocimiento y es aplicable a las precauciones de seguridad apropiadas para el producto. No representa ninguna garantía de las propiedades del producto. La Corporación Sigma-Aldrich y sus Compañías Afiliadas, no responderán por ningún daño resultante de la manipulación o contacto con el producto indicado arriba. Dirijase a www.sigma-aldrich.com y/o a los términos y condiciones de venta en el reverso de la factura o de la nota de entrega.

Información suministrada por

Corporación Sigma-Aldrich
 Product Safety – Americas Region
 1-800-521-8956

Versión: 5.11

Fecha de revisión:
 11/07/2017

Fecha de impresión:
 06/14/2018

Anexo 3



FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Fecha de revisión 08.08.2017

Versión 12.14

SECCIÓN 1. Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa

1.1 Identificador del producto

Artículo número	104419
Denominación	Mercurio(II) cloruro p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur,ACS
Número de registro REACH	No hay disponible un número de registro para esta sustancia, ya que la sustancia o su uso están exentos del registro; según el artículo 2 del Reglamento REACH (CE) núm. 1097/2006, el tonelaje anual no requiere registro o dicho registro está previsto para una fecha posterior.
No. CAS	7487-94-7

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconejados

Usos identificados	Análisis químico Para informaciones adicionales a usos refiérase al portal Merck Chemicals (www.merckgroup.com ; for USA/Canada www.emdgroup.com).
--------------------	---

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía	Merck KGaA * 64271 Darmstadt * Alemania * Tel: +49 6151 72-0
Departamento Responsable	LS-QHC * e-mail: prodsafe@merckgroup.com

1.4 Teléfono de emergencia Instituto Nacional de Toxicología * Madrid * Tel: 91 562 04 20

SECCIÓN 2. Identificación de los peligros

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

Clasificación (REGLAMENTO (CE) No 1272/2008)

Las Fichas de Datos de Seguridad para artículos del catálogo también se obtienen en www.merckgroup.com

Página 1 de 20

Anexo 3 Hoja de Datos de Seguridad (HDS) del cloruro de mercurio (HgCl₂)

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número	104419
Nombre del producto	Mercurio(II) cloruro p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur,ACS

Mutagenicidad en células germinales, Categoría 2, H341
 Toxicidad para la reproducción, Categoría 2, H361f
 Toxicidad aguda, Categoría 2, Oral, H300
 Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas, Categoría 1, Riñón, H372
 Corrosión cutáneas, Categoría 1B, H314
 Toxicidad acuática aguda, Categoría 1, H400
 Toxicidad acuática crónica, Categoría 1, H410

Para el texto integro de las Declaraciones-H mencionadas en esta sección, véase la Sección 16.

2.2 Elementos de la etiqueta**Etiquetado (REGLAMENTO (CE) No 1272/2008)***Pictogramas de peligro**Palabra de advertencia*

Peligro

Indicaciones de peligro

H300 Mortal en caso de ingestión.
 H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.
 H341 Se sospecha que provoca defectos genéticos.
 H361f Se sospecha que perjudica a la fertilidad.
 H372 Perjudica a determinados órganos (Riñón) por exposición prolongada o repetida.
 H410 Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

Consejos de prudencia

Prevención

P273 Evitar su liberación al medio ambiente.
 P280 Llevar guantes/ prendas/ gafas/ máscara de protección.

Intervención

P301 + P330 + P331 EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagarse la boca. NO provocar el vómito.
 P305 + P351 + P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número	104419
Nombre del producto	Mercurio(II) cloruro p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur,ACS

durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.
 P308 + P310 EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico.

Etiquetado reducido (≤125 ml)*Pictogramas de peligro**Palabra de advertencia*

Peligro

Indicaciones de peligro

H300 Mortal en caso de ingestión.
 H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.
 H341 Se sospecha que provoca defectos genéticos.
 H361f Se sospecha que perjudica a la fertilidad.
 H372 Perjudica a determinados órganos (Riñón) por exposición prolongada o repetida.

Consejos de prudencia

P280 Llevar guantes/ prendas/ gafas/ máscara de protección.
 P301 + P330 + P331 EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagarse la boca. NO provocar el vómito.
 P305 + P351 + P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.
 P308 + P310 EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico.

No. Índice 080-010-00-X

2.3 Otros peligros

Ninguno conocido.

SECCIÓN 3. Composición/Información sobre los componentes**3.1 Sustancia**

Formula	HgCl ₂	Cl ₂ Hg (Hill)
No. Índice	080-010-00-X	

Las Fichas de Datos de Seguridad para artículos del catálogo también se obtienen en www.merckgroup.com

Página 3 de 20

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número	104419
Nombre del producto	Mercurio(II) cloruro p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur,ACS

No. CE	231-299-8
Masa molar	271,5 g/mol

Componentes peligrosos (REGLAMENTO (CE) No 1272/2008)*Nombre químico (Concentración)*

No. CAS	Número de registro	Clasificación
Dicloruro de mercurio (<= 100 %)		
7487-94-7	*)	Mutagenicidad en células germinales, Categoría 2, H341 Toxicidad para la reproducción, Categoría 2, H361f Toxicidad aguda, Categoría 2, H300 Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas, Categoría 1, H372 Corrosión cutáneas, Categoría 1B, H314 Toxicidad acuática aguda, Categoría 1, H400 Toxicidad acuática crónica, Categoría 1, H410 Factor-M: 100

*) No hay disponible un número de registro para esta sustancia, ya que la sustancia o su uso están exentos del registro; según el artículo 2 del Reglamento REACH (CE) núm. 1097/2006, el tonelaje anual no requiere registro o dicho registro está previsto para una fecha posterior.

Para el texto íntegro de las Declaraciones-H mencionadas en esta sección, véase la Sección 16.

3.2 Mezcla

No aplicable

SECCIÓN 4. Primeros auxilios**4.1 Descripción de los primeros auxilios***Recomendaciones generales*

El socorrista necesita protegerse a sí mismo.

Tras inhalación: aire fresco. Llamar inmediatamente al médico.

En caso de contacto con la piel: Quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas.

Aclararse la piel con agua/ducharse. Llame inmediatamente al médico.

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número	104419
Nombre del producto	Mercurio(II) cloruro p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur,ACS

Tras contacto con los ojos: aclarar con abundante agua. Llamar inmediatamente al oftalmólogo.
Retirar las lentillas.

Tras ingestión: hacer beber agua (máximo 2 vasos). Consultar inmediatamente al médico.
Solamente en casos excepcionales, si no es posible la asistencia médica dentro de una hora, provocar el vómito (solamente en personas plenamente despiertas y conscientes), administrar carbón activo (20 - 40 g en suspensión al 10%) y consultar al médico lo más rápidamente posible. No proceder a pruebas de neutralización.

4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Irritación y corrosión, Tos, Insuficiencia respiratoria
¡Riesgo de ceguera!

Los compuestos de Hg actúan como tóxicos celulares y protoplasmáticos. Síntomas de intoxicación aguda: Graves lesiones tras contacto con los ojos. Tras ingestión e inhalación de polvo se lesionan las mucosas gastrointestinales y respiratorias (gusto metálico, náuseas, vómito, dolor de estómago, descomposiciones sanguíneas, quemaduras intestinales, edema de la glotis, neumonía de aspiración). Descenso de la tensión sanguínea, arritmias, colapso circulatorio y disfunción renal. Intoxicación crónica: Infecciones bucales con pérdida de piezas dentales y halo de mercurio. Los efectos principales se manifiestan en el sistema nervioso central (trastornos de dicción, visión y oído, sensibilización, pérdida de memoria, irritabilidad, halucinaciones e.o.).

4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

No hay información disponible.

SECCIÓN 5. Medidas de lucha contra incendios**5.1 Medios de extinción**

Medios de extinción apropiados

Usar medidas de extinción que sean apropiadas a las circunstancias del local y a sus alrededores.

Medios de extinción no apropiados

No existen limitaciones de agentes extinguidores para esta sustancia/mezcla.

5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

Las Fichas de Datos de Seguridad para artículos del catálogo también se obtienen en www.merckgroup.com

Página 5 de 20

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número	104419
Nombre del producto	Mercurio(II) cloruro p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur,ACS

No combustible.

Posibilidad de formación de vapores peligrosos por incendio en el entorno.

El fuego puede provocar emanaciones de:

vapores de mercurio, Gas cloruro de hidrógeno

5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios

Equipo de protección especial para el personal de lucha contra incendios

Permanencia en el área de riesgo sólo con sistemas de respiración artificiales e independientes del ambiente. Protección de la piel mediante observación de una distancia de seguridad y uso de ropa protectora adecuada .

Otros datos

Reprimir los gases/vapores/neblinas con agua pulverizada. Impedir la contaminación de las aguas superficiales o subterráneas por el agua que ha servido a la extinción de incendios.

SECCIÓN 6. Medidas en caso de vertido accidental**6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia**

Indicaciones para el personal que no forma parte de los servicios de emergencia: Indispensable evitar la formación y la inhalación de polvo. Evitar el contacto con la sustancia. Asegúrese una ventilación apropiada. Evacúe el área de peligro, respete los procedimientos de emergencia, consulte con expertos.

Consejos para el personal de emergencia:

Equipo protector véase sección 8.

6.2 Precauciones relativas al medio ambiente

No tirar los residuos por el desagüe.

6.3 Métodos y material de contención y de limpieza

Cubra las alcantarillas. Recoja, una y aspire los derrames.

Observe posibles restricciones de materiales (véanse indicaciones en las secciones 7 o 10).

Recoger en seco y proceder a la eliminación de residuos. Aclarar. Evitar la formación de polvo.

6.4 Referencia a otras secciones

Para indicaciones sobre el tratamiento de residuos, véase sección 13.

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número	104419
Nombre del producto	Mercurio(II) cloruro p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur,ACS

SECCIÓN 7. Manipulación y almacenamiento

7.1 Precauciones para una manipulación segura

Consejos para una manipulación segura

Trabajar bajo campana extractora. No inhalar la sustancia/la mezcla.

Observar las indicaciones de la etiqueta.

Medidas de higiene

Sustituir inmediatamente la ropa contaminada. Protección preventiva de la piel. Lavar cara y manos al término del trabajo.

7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades

Condiciones de almacenamiento

Bien cerrado. Seco. Protejido de la luz. Manténgase el recipiente en un lugar bien ventilado.

Mantenerlo encerrado en una zona unicamente accesible por las personas autorizadas o calificadas.

Temperatura de almacenaje recomendada indicada en la etiqueta del producto.

7.3 Usos específicos finales

Fuera de los usos indicados en la sección 1.2 no se previenen aplicaciones finales adicionales.

SECCIÓN 8. Controles de exposición/protección individual

8.1 Parámetros de control

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número 104419
 Nombre del producto Mercurio(II) cloruro p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur,ACS

Componentes con valores límite ambientales de exposición profesional.*Componentes*

Base	Valor	Límites umbrales	Observaciones
<i>Dicloruro de mercurio (7487-94-7)</i>			
VLA (ES)	Valor Límite Ambiental-Exposición Diaria (VLA-ED)	0,02 mg/m ³	
EU ELV	Límite máximo permisible de exposición promedio ponderado en tiempo	0,02 mg/m ³	Indicativa Expresado como: como Hg

Procedimientos de control recomendados

Los métodos para la medición de la atmósfera del puesto de trabajo deben cumplir con los requisitos de las normas DIN EN 482 y DIN EN 689.

8.2 Controles de la exposición**Medidas de ingeniería**

Medidas técnicas y observación de métodos adecuados de trabajo tienen prioridad ante el uso de equipos de protección personal.

Véase sección 7.1.

Medidas de protección individual

Los tipos de auxiliares para protección del cuerpo deben elegirse específicamente según el puesto de trabajo en función de la concentración y cantidad de la sustancia peligrosa. Debería aclararse con el suministrador la estabilidad de los medios protectores frente a los productos químicos.

Protección de los ojos / la cara

Gafas de seguridad ajustadas al contorno del rostro

Protección de las manos

Sumersión:

Material del guante: Caucho nitrilo
 Espesor del guante: 0,11 mm
 tiempo de penetración: > 480 min

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número	104419
Nombre del producto	Mercurio(II) cloruro p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur,ACS

Salpicaduras:

Material del guante:	Caucho nitrilo
Espesor del guante:	0,11 mm
tiempo de penetración:	> 480 min

Los guantes de protección indicados deben cumplir con las especificaciones de la Directiva 89/686/EEC y con su norma resultante EN374, por ejemplo KCL 741 Dermatril® L (Sumerción), KCL 741 Dermatril® L (Salpicaduras).

Los tiempos de ruptura mencionados anteriormente han sido determinados con muestras de material de los tipos de guantes recomendados en mediciones de laboratorio de KCL según EN374.

Esta recomendación solo es válida para el producto mencionado en la ficha de datos de seguridad, suministrado por nosotros y para el fin indicado. Al disolver o mezclar en otras sustancias y cuando las condiciones difieran de las indicadas en EN374, debe dirigirse al suministrador de guantes con distintivo CE (por ejem. KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, Internet: www.kcl.de)

Otras medidas de protección

prendas de protección

Protección respiratoria

necesaria en presencia de polvo.

Tipo de Filtro recomendado: filtro combinado Hg-P3

El empresario debe garantizar que el mantenimiento, la limpieza y la prueba técnica de los protectores respiratorios se hagan según las instrucciones del productor de las mismas. Éstas medidas deben ser documentadas debidamente.

Controles de exposición medioambiental

No tirar los residuos por el desagüe.

SECCIÓN 9. Propiedades físicas y químicas**9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas**

Forma	sólido
Color	blanco

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número	104419
Nombre del producto	Mercurio(II) cloruro p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur,ACS
Olor	inodoro
Umbral olfativo	No aplicable
pH	3,2 a 15 g/l
Punto de fusión	280,7 °C
Punto /intervalo de ebullición	302 °C a 1.013 hPa (sublimado)
Punto de inflamación	No aplicable
Tasa de evaporación	No hay información disponible.
Inflamabilidad (sólido, gas)	No hay información disponible.
Límite de explosión, inferior	No aplicable
Límite superior de explosividad	No aplicable
Presión de vapor	0,0001 hPa a 20 °C aprox.0,1 hPa a 100 °C
Densidad relativa del vapor	No hay información disponible.
Densidad	5,44 g/cm ³ a 20 °C
Densidad relativa	No hay información disponible.

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número	104419
Nombre del producto	Mercurio(II) cloruro p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur,ACS
Solubilidad en agua	74 g/l a 20 °C
	550 g/l a 100 °C
Coefficiente de reparto n-octanol/agua	No hay información disponible.
Temperatura de auto-inflamación	No hay información disponible.
Temperatura de descomposición	No hay información disponible.
Viscosidad, dinámica	No hay información disponible.
Propiedades explosivas	No clasificado/a como explosivo/a.
Propiedades comburentes	ningún
9.2 Otros datos	
Temperatura de ignición	No aplicable
Densidad aparente	aprox.2.000 kg/m ³

SECCIÓN 10. Estabilidad y reactividad**10.1 Reactividad**

Véase sección 10.3

10.2 Estabilidad química

Sensibilidad a la luz

10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas

Riesgo de explosión con:

Flúor, Metales alcalinos, hidracina y derivados

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número	104419
Nombre del producto	Mercurio(II) cloruro p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur,ACS

Reacción exotérmica con:

Bases fuertes, Agentes oxidantes fuertes

10.4 Condiciones que deben evitarse

información no disponible

10.5 Materiales Incompatibles

Plomo, Cobre, Metales ligeros, plata, Cinc, Estaño

10.6 Productos de descomposición peligrosos

en caso de incendio: véase sección 5.

SECCIÓN 11. Información toxicológica

11.1 Información sobre los efectos toxicológicos

Toxicidad oral aguda

Síntomas: Si es ingerido, provoca quemaduras severas de la boca y la garganta, así como peligro de perforación del esófago y del estómago.

Toxicidad aguda por inhalación

Síntomas: irritación de las mucosas, Tos, Insuficiencia respiratoria, Consecuencias posibles:, perjudica las vías respiratorias

Toxicidad cutánea aguda

Esta información no está disponible.

Irritación de la piel

Conejo

Resultado: Provoca quemaduras.

(RTECS)

Provoca quemaduras.

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número	104419
Nombre del producto	Mercurio(II) cloruro p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur,ACS

Irritación ocular

Conejo

Resultado: Provoca quemaduras.

(RTECS)

Provoca lesiones oculares graves.

¡Riesgo de ceguera!

Sensibilización

Esta información no está disponible.

Mutagenicidad en células germinales

Genotoxicidad in vitro

Mutagenicidad (ensayo de células de mamífero): test micronucleus.

Resultado: positivo

(RTECS)

Prueba de Ames

Salmonella typhimurium

Resultado: positivo

(RTECS)

Carcinogenicidad

Esta información no está disponible.

Toxicidad para la reproducción

Esta información no está disponible.

Teratogenicidad

Esta información no está disponible.

Efectos CMR

Mutagenicidad:

Se sospecha que provoca defectos genéticos.

Toxicidad para la reproducción:

Se sospecha que perjudica a la fertilidad.

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número	104419
Nombre del producto	Mercurio(II) cloruro p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur,ACS

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única

Esta información no está disponible.

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas

Provoca daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.

Órganos diana: Riñón

Peligro de aspiración

Esta información no está disponible.

11.2 Otros datos

Tras absorción:

Los compuestos de Hg actúan como tóxicos celulares y protoplasmáticos. Síntomas de intoxicación aguda: Graves lesiones tras contacto con los ojos. Tras ingestión e inhalación de polvo se lesionan las mucosas gastrointestinales y respiratorias (gusto metálico, náuseas, vómito, dolor de estómago, descomposiciones sanguíneas, quemaduras intestinales, edema de la glotis, neumonía de aspiración). Descenso de la tensión sanguínea, arritmias, colapso circulatorio y disfunción renal. Intoxicación crónica: Infecciones bucales con pérdida de piezas dentales y halo de mercurio. Los efectos principales se manifiestan en el sistema nervioso central (trastornos de dicción, visión y oído, sensibilización, pérdida de memoria, irritabilidad, alucinaciones e.o.).

Las otras propiedades peligrosas no pueden ser excluidas.

El producto debe manejarse con especial cuidado.

SECCIÓN 12. Información ecológica**12.1 Toxicidad***Toxicidad para las dafnias y otros invertebrados acuáticos*

CE50 Daphnia magna (Pulga de mar grande): 0,003 mg/l; 48 h
(HSDB)

Toxicidad para las bacterias

EC5 Pseudomonas putida: 0,01 mg/l; 16 h
(Literatura)

12.2 Persistencia y degradabilidad

No hay información disponible.

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número	104419
Nombre del producto	Mercurio(II) cloruro p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur,ACS

12.3 Potencial de bioacumulación

No hay información disponible.

12.4 Movilidad en el suelo

No hay información disponible.

12.5 Resultados de la valoración PBT y mPMB

Una valoración PBT y MPMB no se hizo, debido al hecho de que una evaluación de peligro químico no es necesaria o no existe.

12.6 Otros efectos adversos

La descarga en el ambiente debe ser evitada.

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número	104419
Nombre del producto	Mercurio(II) cloruro p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur,ACS

SECCIÓN 13. Consideraciones relativas a la eliminación*Métodos para el tratamiento de residuos*

Los residuos deben eliminarse de acuerdo con normativas locales y nacionales. Deje los productos químicos en sus recipientes originales. No los mezcle con otros residuos. Maneje los recipientes sucios como el propio producto.

Consulte en www.retrologistik.com sobre procesos relativos a la devolución de productos químicos o recipientes, o contáctenos si tiene más preguntas.

Directiva sobre residuos 2008/98 nota / CE.

SECCIÓN 14. Información relativa al transporte**Transporte por carretera (ADR/RID)**

14.1 Número ONU	UN 1624
14.2 Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas	Cloruro mercurio II
14.3 Clase	6.1
14.4 Grupo de embalaje	II
14.5 Peligrosas ambientalmente	si
14.6 Precauciones particulares para los usuarios	si

Código de restricciones en túneles	D/E
------------------------------------	-----

Transporte fluvial (ADN)

No relevante

Transporte aéreo (IATA)

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número	104419
Nombre del producto	Mercurio(II) cloruro p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur,ACS

14.1 Número ONU	UN 1624
14.2 Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas	MERCURIC CHLORIDE
14.3 Clase	6.1
14.4 Grupo de embalaje	II
14.5 Peligrosas ambientalmente	si
14.6 Precauciones particulares para los usuarios	no

Transporte marítimo (IMDG)

14.1 Número ONU	UN 1624
14.2 Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas	MERCURIC CHLORIDE
14.3 Clase	6.1
14.4 Grupo de embalaje	II
14.5 Peligrosas ambientalmente	si
14.6 Precauciones particulares para los usuarios	si
EmS	F-A S-A

14.7 Transporte a granel con arreglo al anexo II del Convenio Marpol 73/78 y del Código IBC
No relevante

SECCIÓN 15. Información reglamentaria**15.1 Reglamentación y legislación en materia de seguridad, salud y medio ambiente específicas para la sustancia o la mezcla***Disposiciones legales de la CE*

Legislación de Peligro de	SEVESO III
Accidente Importante	TOXICIDAD AGUDA
Alemania	H2
	Cantidad 1: 50 t
	Cantidad 2: 200 t

Las Fichas de Datos de Seguridad para artículos del catálogo también se obtienen en www.merckgroup.com

Página 17 de 20

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número	104419
Nombre del producto	Mercurio(II) cloruro p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur,ACS

SEVESO III
 PELIGROS PARA EL MEDIOAMBIENTE
 E1
 Cantidad 1: 100 t
 Cantidad 2: 200 t

Restricciones profesionales Tomar nota de la Directiva 94/33/CEE sobre la protección laboral de los jóvenes. Tomar nota de la Directiva 92/85/CEE sobre la seguridad y la salud de las mujeres embarazadas en el trabajo.

Reglamento 1005/2009/CE relativo a sustancias que agotan la capa de ozono no regulado

Reglamento (CE) n° 850/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004 sobre contaminantes orgánicos persistentes que modifica la Directiva 79/117/CEE no regulado

Sustancias extremadamente preocupantes (SVHC) Este producto no contiene sustancias extremadamente preocupantes por encima del límite legal de concentración correspondiente ($\geq 0,1$ % p/p) según la normativa CE n.º 1907/2006 (REACH), artículo 57.

Legislación nacional

Clase de almacenamiento 6.1B

15.2 Evaluación de la seguridad química

Para éste producto no se realizó una valoración de la seguridad química.

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número	104419
Nombre del producto	Mercurio(II) cloruro p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur,ACS

SECCIÓN 16. Otra información

Texto íntegro de las Declaraciones-H referidas en las secciones 2 y 3.

H300	Mortal en caso de ingestión.
H314	Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.
H341	Se sospecha que provoca defectos genéticos.
H361f	Se sospecha que perjudica a la fertilidad.
H372	Provoca daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.
H400	Muy tóxico para los organismos acuáticos.
H410	Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

Consejos relativos a la formación

Debe disponer a los trabajadores la información y la formación práctica suficientes.

Etiquetado

Pictogramas de peligro



Palabra de advertencia

Peligro

Indicaciones de peligro

- H300 Mortal en caso de ingestión.
- H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.
- H341 Se sospecha que provoca defectos genéticos.
- H361 Se sospecha que perjudica la fertilidad o daña al feto.
- H372 Perjudica a determinados órganos (Riñón) por exposición prolongada o repetida.
- H410 Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Artículo número	104419
Nombre del producto	Mercurio(II) cloruro p.a. EMSURE® Reag. Ph Eur,ACS

Consejos de prudencia

Prevención

P273 Evitar su liberación al medio ambiente.

P280 Llevar guantes/ prendas/ gafas/ máscara de protección.

Intervención

P301 + P330 + P331 EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagarse la boca. NO provocar el vómito.

P305 + P351 + P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

P308 + P310 EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico.

Una explicación de las abreviaturas y los acrónimos utilizados en la ficha de datos de seguridad

Puede consultar las abreviaturas y acrónimos utilizados en www.wikipedia.org.

Representante regional

Merck Chemical and Life Science, S.A. |

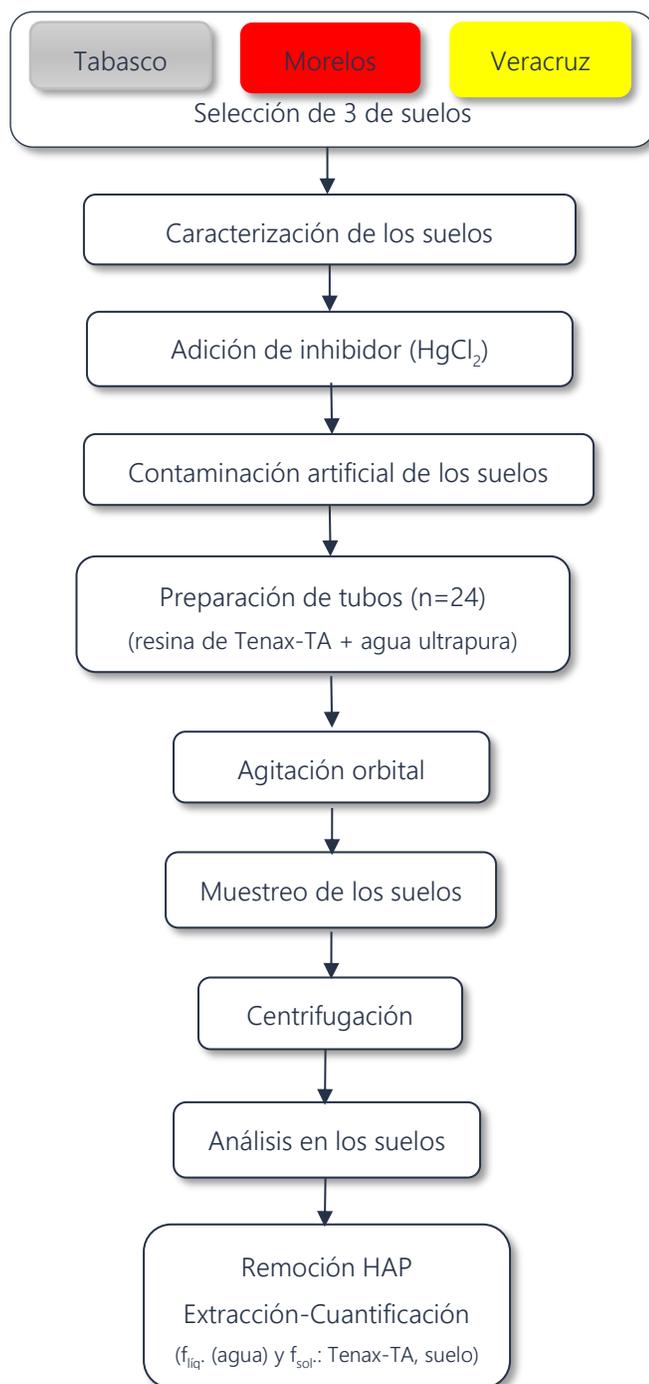
C/ María de Molina, 40 | 28006 Madrid - España |

Tel: +34 935655500 | Fax: +34 935440000 | email: SCM.Chemicals.ES@merckgroup.com |

www.merck.es

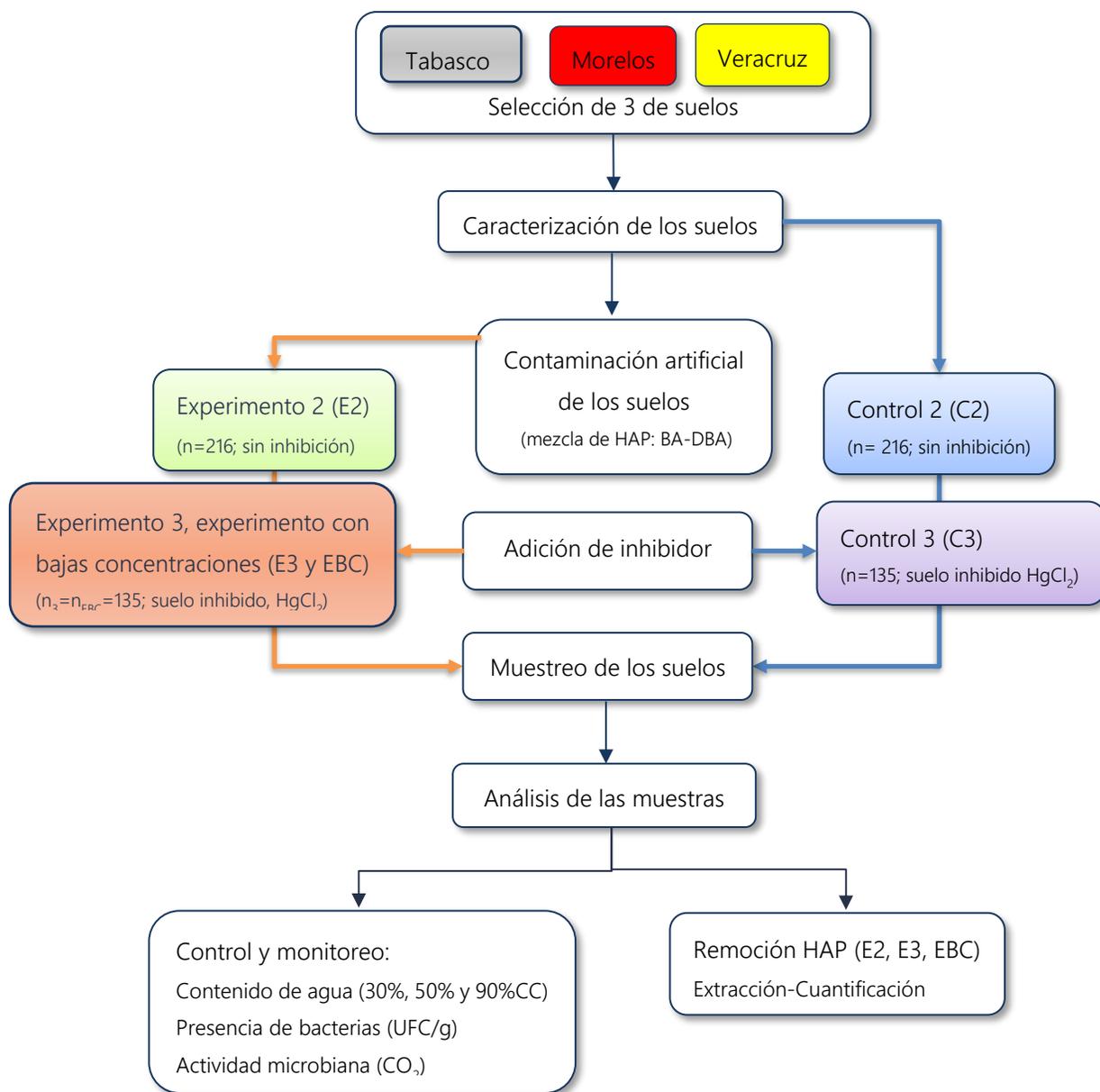
Los datos suministrados en ésta ficha de seguridad se basan a nuestro actual conocimiento. Describen tan sólo las medidas de seguridad en el manejo de éste producto y no representan una garantía sobre las propiedades descritas del mismo.

Anexo 4



Anexo 4 Experimento 1 (E1): Biodisponibilidad de HAP. Concentración obtenida mediante la resina Tenax-TA, en 2 g de suelo (Tabasco, Morelos y Veracruz) inhibido de crecimiento bacteriano

Anexo 5



Anexo 5 Experimentos 2, 3 y con bajas concentraciones de HAP (E2, E3 y EBC): Remoción de HAP en 30 g de suelo (Tabasco, Morelos y Veracruz), en incubación aerobia durante 39 días, con el 30%, 50% y 90% CC, sin inhibidor de crecimiento bacteriano (E2) y con inhibidor (E3 y EBC)

Anexo 6

Anexo 6 Experimento 2 (E2): Remoción de HAP en 30 g de suelo (Tabasco, Morelos y Veracruz) sin inhibidor de crecimiento bacteriano, en incubación aerobia durante 39 días, con el 30%, 50% y 90% CC

Benzo(a)antraceno, BA (mg/kg)																		
tiempo (días)	Tabasco						Morelos						Veracruz					
	Capacidad de campo (%)																	
	30	50	90	30	50	90	30	50	90	30	50	90	30	50	90	30	50	90
0	65.91	±0.95	65.91	±0.95	65.91	±0.95	61.88	±1.23	61.88	±1.23	61.88	±1.23	62.92	±0.28	62.92	±0.28	62.92	±0.28
4	54.48	±1.02	52.01	±0.71	67.90	±1.94	42.35	±3.05	35.10	±1.41	28.54	±2.57	52.18	±2.12	35.05	±0.69	28.82	±0.81
8	13.99	±3.64	20.08	±5.17	19.44	±0.09	19.56	±2.31	11.34	±1.69	17.87	±4.05	26.21	±1.59	18.74	±1.07	19.95	±1.90
13	13.01	±0.88	18.78	±1.04	11.17	±1.01	16.98	±0.34	8.046	±0.86	11.71	±0.91	19.31	±2.44	13.82	±2.17	5.31	±0.35
18	12.65	±5.44	14.69	±2.95	9.18	±1.60	16.67	±4.54	8.53	±1.24	11.42	±2.75	16.40	±0.48	13.33	±1.07	4.79	±2.36
25	7.21	±2.43	8.80	±0.70	6.57	±1.84	13.40	±2.32	10.54	±1.19	8.74	±2.84	13.15	±0.79	6.87	±0.08	4.07	±1.87
32	3.13	±1.27	3.05	±0.60	2.16	±0.55	1.40	±0.47	2.16	±0.53	4.31	±0.96	8.27	±0.45	4.23	±2.03	2.62	±1.08
39	1.61	±0.40	1.14	±0.77	0.22	±0.07	0.81	±0.28	0.90	±0.38	0.66	±0.23	1.20	±0.52	1.81	±0.09	2.61	±0.32
Dibenzo(a,h)antraceno, DBA (mg/kg)																		
tiempo (días)	Tabasco						Morelos						Veracruz					
	Capacidad de campo (%)																	
	30	50	90	30	50	90	30	50	90	30	50	90	30	50	90	30	50	90
0	71.99	±1.78	71.99	±1.78	71.99	±1.78	71.67	±0.89	71.67	±0.89	71.67	±0.89	67.66	±1.47	67.66	±1.47	67.66	±1.47
4	75.71	±0.90	74.93	±1.39	72.89	±2.60	40.60	±2.84	23.54	±2.33	18.68	±3.58	59.91	±5.48	50.67	±0.84	35.02	±1.58
8	9.39	±0.14	20.41	±3.67	18.26	±1.61	15.47	±2.79	7.04	±0.06	11.64	±0.25	23.90	±1.92	11.82	±2.13	14.39	±0.68
13	6.16	±0.57	13.43	±0.85	6.68	±1.08	2.19	±0.24	4.18	±0.06	4.49	±1.03	13.41	±0.41	6.66	±2.16	3.73	±0.75
18	6.86	±2.09	5.44	±0.06	6.46	±1.13	2.74	±1.39	4.52	±0.18	4.08	±0.44	10.56	±1.32	3.81	±0.13	3.57	±0.29
25	4.03	±0.79	3.98	±0.53	4.25	±0.83	2.12	±0.15	2.23	±0.57	4.30	±1.06	3.85	±0.03	3.15	±1.44	3.09	±0.85
32	1.06	±0.00	1.18	±0.00	3.85	±0.24	2.18	±0.99	2.43	±0.32	2.05	±0.92	3.88	±0.46	3.33	±1.17	2.33	±0.96
39	3.68	±0.57	3.45	±0.56	3.70	±1.00	1.34	±0.07	1.81	±0.46	1.25	±0.58	3.66	±0.65	3.10	±0.71	1.34	±0.15

Anexo 7

Anexo 7 Experimento 3 (E3): Remoción de HAP en 30 g de suelo (Tabasco, Morelos y Veracruz) con inhibidor de crecimiento bacteriano en incubación aerobia durante 39 días, con el 30%, 50% y 90% CC

Benzo(a)antraceno, BA (mg/kg)																		
Tiempo (días)	Tabasco						Morelos						Veracruz					
	Capacidad de campo (%)																	
	30	50	90	30	50	90	30	50	90	30	50	90	30	50	90	30	50	90
0	65.91	±0.95	65.91	±0.95	65.91	±0.95	61.88	±1.23	61.88	±1.23	61.88	±1.23	62.92	±0.28	62.92	±0.28	62.92	±0.28
4	63.43	±0.75	54.34	±1.28	41.24	±1.95	54.02	±0.49	23.43	±2.16	29.66	±1.22	34.61	±1.41	40.24	±0.26	32.50	±1.07
13	14.59	±1.28	19.77	±0.87	16.03	±2.07	17.50	±1.51	20.18	±1.33	7.84	±1.93	9.17	±0.39	4.36	±1.24	5.48	±1.12
25	6.15	±0.74	3.96	±1.52	4.56	±0.63	18.83	±1.49	14.86	±0.12	8.58	±0.66	7.09	±0.34	5.12	±0.38	1.01	±0.47
39	1.77	±0.36	3.86	±0.14	3.97	±0.08	1.07	±0.27	6.19	±0.55	0.71	±0.31	1.42	±0.52	2.66	±0.16	1.19	±0.22
Dibenzo(a,h)antraceno, DBA (mg/kg)																		
Tiempo (días)	Tabasco						Morelos						Veracruz					
	Capacidad de campo (%)																	
	30	50	90	30	50	90	30	50	90	30	50	90	30	50	90	30	50	90
0	71.99	±1.78	71.99	±1.78	71.99	±1.78	71.67	±0.89	71.67	±0.89	71.67	±0.89	67.66	±1.47	67.66	±1.47	67.66	±1.47
4	69.40	±0.16	70.22	±0.47	57.27	±1.23	45.47	±0.38	43.07	±0.89	26.72	±0.86	39.28	±1.84	43.41	±0.05	40.97	±0.17
13	9.48	±0.35	15.90	±1.08	9.53	±0.09	2.13	±0.27	8.08	±0.94	2.93	±0.42	17.58	±0.03	8.87	±1.30	8.40	±0.49
25	4.38	±1.01	4.76	±1.28	4.11	±1.96	1.16	±0.26	0.05	±0.51	1.63	±1.59	3.81	±0.07	8.25	±1.44	8.22	±1.10
39	4.85	±1.13	4.74	±0.55	3.77	±0.02	0.50	±0.14	0.37	±0.16	0.43	±0.20	1.58	±0.88	0.65	±0.23	1.85	±0.59

Anexo 8

Anexo 8 Experimento con bajas concentraciones (EBC): Remoción de HAP en 30 g de suelo (Tabasco, Morelos y Veracruz) con inhibidor de crecimiento bacteriano, en incubación aerobia durante 39 días, con el 30%, 50% y 90% CC

Benzo(a)antraceno, BA (mg/kg)																		
Tiempo (días)	Tabasco						Morelos						Veracruz					
	Capacidad de campo (%)																	
	30	50	90	30	50	90	30	50	90	30	50	90						
0	39.85	±0.99	39.85	±0.99	39.85	±0.99	56.45	±2.83	56.45	±2.83	56.45	±2.83	47.84	±1.00	47.84	±1.00	47.84	±1.00
4	29.19	±1.16	42.15	±0.82	23.44	±1.32	38.57	±0.07	42.74	±0.33	48.83	±1.18	44.68	±2.12	41.82	±0.61	36.53	±0.65
13	17.69	±0.67	17.38	±1.26	17.82	±0.96	16.75	±1.05	16.64	±0.27	17.82	±0.94	17.47	±2.32	15.14	±2.01	14.07	±0.28
25	10.95	±1.41	9.38	±0.63	8.84	±1.16	9.46	±2.47	11.11	±0.49	11.27	±1.59	10.47	±0.09	10.07	±0.17	9.41	±0.47
39	9.05	±0.38	9.42	±0.06	8.43	±0.04	9.05	±0.45	10.12	±0.36	10.27	±0.51	9.96	±0.43	9.93	±0.09	9.71	±0.26
Dibenzo(a,h)antraceno, DBA (mg/kg)																		
Tiempo (días)	Tabasco						Morelos						Veracruz					
	Capacidad de campo (%)																	
	30	50	90	30	50	90	30	50	90	30	50	90						
0	16.42	±0.47	16.42	±0.47	16.42	±1.78	18.57	±1.04	18.57	±1.04	18.57	±1.04	14.32	±2.10	14.32	±2.10	14.32	±2.10
4	9.57	±0.22	13.89	±0.62	8.68	±2.60	10.22	±0.09	10.52	±0.84	12.72	±1.90	13.59	±2.91	12.95	±0.84	11.92	±0.02
13	6.95	±0.62	6.96	±0.21	7.04	±1.08	6.41	±1.97	6.21	±1.85	5.70	±0.06	6.66	±1.09	6.82	±2.16	6.47	±1.34
25	5.88	±0.98	5.37	±1.16	5.36	±0.83	5.51	±2.08	5.12	±0.98	5.63	±1.34	5.39	±1.23	6.05	±1.44	5.87	±2.22
39	5.24	±0.29	5.30	±1.41	5.22	±1.00	5.22	±0.03	5.22	±0.39	5.17	±1.65	5.23	±0.93	6.35	±0.71	5.35	±0.04

**ESTUDIO PETROGRÁFICO
REALIZADO A UNA
MUESTRA DE MATERIAL PÉTREO SUELTO**

Compañía: Instituto de Ingeniería UNAM

**ELABORADO POR:
PETROANALISIS INGENIERÍA**

Revisó: Ing. Rosario Peralta Salazar

AGOSTO DE 2015

Muestra: Arena

1. Descripción macroscópica:

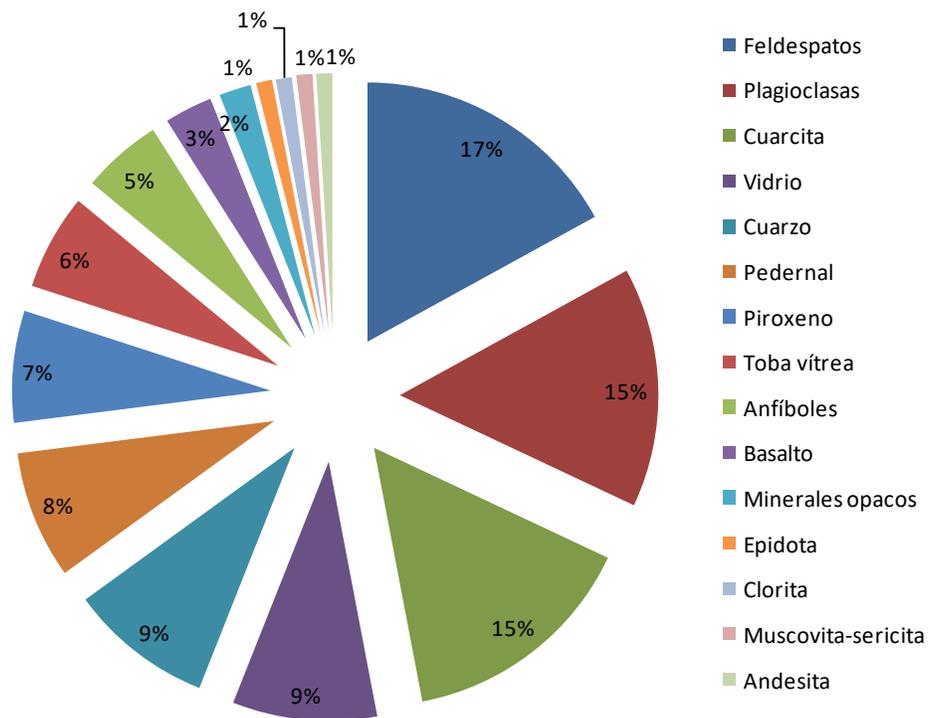
Material pétreo suelto que presenta una coloración parda, constituido por fragmentos pétreos en tamaño de arena fina a muy fina, se identifican fragmentos monominerales y escasos fragmentos líticos, los cuales presentan variabilidad en la composición, con rocas aparentemente de composición básica a intermedia y otros de composición ácida.

2. Descripción microscópica:

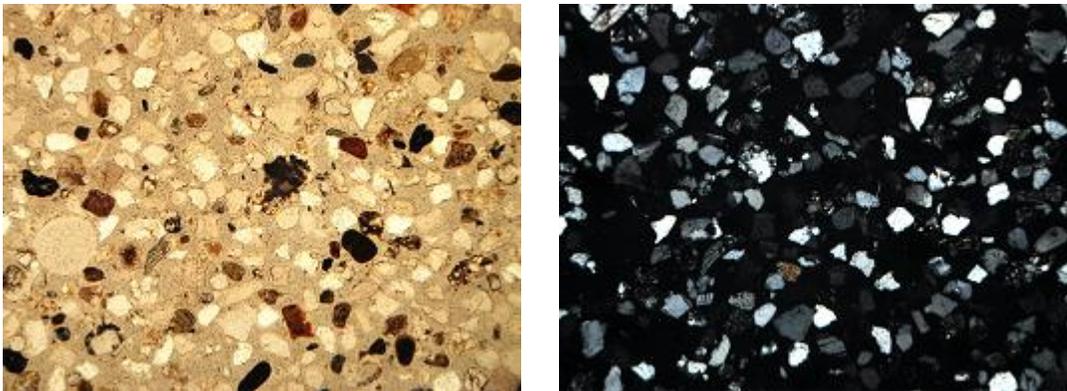
Material pétreo suelto constituido por fragmentos de cristales de feldespatos, plagioclasas, cuarzo, piroxenos, anfíboles, fragmentos líticos y fragmentos vítreos, también hay fragmentos esferulíticos de feldespato, finos y escasos cristales de epidota, los fragmentos vítreos presentan predominantemente un color marrón, algunos cristales de feldespato y plagioclasa presentan alteración a muscovita-sericita, los piroxenos y los anfíboles pueden presentar cloritización y escasos fragmentos líticos se encuentran epidotizados. Dentro de los fragmentos líticos, se observan diversas rocas, como basalto, andesita, cuarcita, toba vítrea y pedernal. Se puede apreciar que los fragmentos cristalinos y los fragmentos líticos de cuarcita, presentan bordes subangulosos, en tanto que el resto de fragmentos líticos y vítreos presentan bordes de subredondeados a redondeados. Se observan pocos fragmentos de minerales opacos. Se identifican fragmentos de piroxenos y anfíboles totalmente cloritizados.

3. Mineralogía:

Constituyente	%	Características
Feldespatos	17	Se presentan en cristales de bordes subangulosos, algunos de forma tabular y con maldado, que ocasionalmente se encuentran parcialmente reemplazados por sericita-muscovita.
Plagioclasas	15	Se presentan en cristales de bordes subangulosos, algunos de forma tabular y con maldado, que ocasionalmente se encuentran parcialmente reemplazados por sericita-muscovita.
Cuarcita	15	Se aprecia como un mosaico de cuarzo en el que los cristales presentan bordes suturados e incluso llegan a mostrarse deformados en una dirección preferencial.
Vidrio	9	Se aprecia en partículas redondeadas, de color marrón, que ocasionalmente presenta inclusiones de minerales opacos y de óxidos e hidróxidos de Fe.
Cuarzo	9	Se parecía en partículas tanto monocristalinas como policristalinas, de bordes subangulosos.
Pedernal	8	Se aprecian en partículas redondeadas, ocasionalmente con óxidos e hidróxidos asociados.
Píroxeno	7	Se aprecian en cristales de bordes subangulosos a angulosos, ocasionalmente reemplazados por clorita.
Toba vítrea	6	Se observa una roca de matriz vítrea con abundantes óxidos e hidróxidos de Fe asociados, en la que se diseminan cristales de feldespatos y ferromagnesianos.
Anfíboles	5	Se identifican en cristales anhedrales de bordes subangulosos a angulosos, ocasionalmente alterados a clorita.
Basalto	3	Se observa en finas partículas subredondeadas a redondeadas, ocasionalmente con abundantes óxidos e hidróxidos de Fe asociados en la matriz.
Minerales opacos	2	Se observan como finas partículas de bordes sunagulosos a subredondeados.
Epidota	1	Se aprecia tanto en finas partículas monominerales como en los fragmentos líticos en parches de reemplazamiento.
Clorita	1	Se presenta como partícula monomineral de bordes subangulosos a sunredondeados.
Muscovita-sericita	1	Se aprecia solamente como finos parches de reemplazamiento en los feldespatos y las plagioclasas.
Andesita	1	Se observa en finas partículas subredondeadas a redondeadas.



4. Fotomicrografías:



Escala gráfica:  1500 μm

Fotomicrografías: Campo de la muestra Arena, donde se observan los fragmentos cristalinos de feldespatos, plagioclasas y cuarzo predominantemente, con escasos fragmentos líticos y vítreos. Fotomicrografía izquierda tomada con luz paralela y derecha tomada con nicoles cruzados.

Anexo 10

Anexo 10 Tabla comparativa de porcentajes de remoción de los HAP en 30 g de suelo (Tabasco, Morelos y Veracruz) en los experimentos 2, 3 y con bajas concentraciones (E2, E3 y EBC), en incubación aerobia durante 39 días, con el 30%, 50% y 90% CC

	Capacidad de campo (CC) (%)	Remoción de HAP (%)								
		Tabasco			Morelos			Veracruz		
		E1*	E2**	EBC***	E1	E2	EBC	E1	E2	EBC
Benz(a)antraceno (BA)	30	97.55	97.31	77.28	98.69	98.27	83.96	98.09	97.74	79.18
	50	98.27	94.14	76.36	98.54	89.99	82.07	97.12	95.77	79.24
	90	99.66	93.97	78.84	98.93	98.85	81.80	95.85	98.26	79.70
Dibenz(a,h)antraceno (DBA)	30	94.88	93.26	68.08	98.13	99.30	71.89	94.59	97.66	63.47
	50	95.20	93.41	67.72	97.47	99.48	71.89	95.41	99.03	55.65
	90	94.86	94.76	68.20	98.25	99.40	72.15	98.01	97.26	62.63

* Experimento 2 (E2): Suelos sin inhibidor de crecimiento bacteriano, concentración inicial promedio de 64 mg/kg de BA y 68 mg/kg de DBA

** Experimento 3 (E3): Suelos con inhibidor de crecimiento bacteriano, concentración inicial promedio de 64 mg/kg de BA y 68 mg/kg de DBA

*** Experimento con bajas concentraciones (EBC): Suelos con inhibidor de crecimiento bacteriano, concentración inicial promedio de 48 mg/kg de BA y 16 mg/kg de DBA

Referencias

- Abalos, A., Vinas, M., Sabate, J., Manresa, M.A., Solanas, A.M. (2004) Enhanced biodegradation of Casablanca crude oil by a microbial consortium in presence of rhamnolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10. *Biodegradation* 15, 249-260
- Abdel-Shafy, H.I., Mansour, M.S. (2016) A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egyptian Journal of Petroleum* 2016, 107-123
- Alef, K., Nannipieri, P. (1995) *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Academic Press, GB
- Alexander, M. (1980) Biodegradation of chemicals of environmental concern. *Science* 211, 132-138
- Alexander, M. (1995) How toxic are toxic chemicals in soil?. *Environmental Science and Technology* 29, 2713-2717
- Alexander, M. (1999) *Biodegradation and Biorremediation*. Second edition. Academic Press, NY, USA
- Alexander, M. (2000) Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. *Environmental Science and Technology* 34, 4259-4265
- Amellal, N., Portal, J.M., Berthelin, J. (2001) Effect of soil structure on the bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons within aggregates of a contaminated soil. *Applied Geochemistry* 16, 1611-1619
- Amodu, O.S., Ojumu, T.V., Obed, S.K. (2013) Bioavailability of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons using renewable resource. INTECH. *Environmental Biotechnology- New Approaches and Prospective Applications*, Chapter 8, doi: 10.5772/54727
- Antizar, L., López, J., Beck, A. (2004) Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated waste using composting approaches. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 34, 249-289
- ASTM D2487 (2006) American Society of Testing Materials. Standard practice for classification of soils for engineering purposes (Unified Soil Classification System)
- ASTM D4972 (2001) American Society of Testing Materials. Standard test method for pH of soils

-
- ATSDR (2005) Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Department of Health and Human Services, USA. www.atsdr.cdc.gov (página web consultada en Agosto 2016)
- ASTDR (2009) Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Studies in Environmental Medicine: Toxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) www.atsdr.cdc.gov/csem/pah/docs/pah.pdf (página web consultada en Agosto 2016)
- Atlas, R., Bartha, R. (1998) Microbial Ecology. Fundamentals and applications. Fourth edition. Addison Wesley Longman, Inc
- Baker, K.H., Herson, D.S. (1994) Bioremediation. McGraw-Hill, Inc, USA
- Bamforth, S.M., Singleton, I. (2005) Review Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 80, 723-736
- Barnier, C., Ouvrard, S., Robin, C., Morel, J. (2014) Desorption kinetics of PAHs from aged industrial soils for availability assessment. *Science of The Total Environment* 470, 639-645
- Bao, Z., Haberer, C., Maier, U., Beckingham, B., Amos, R., Grathwohl, P. (2015) Modeling long-term uptake and re-volatilization of semi-volatile organic compounds (SVOCs) across the soil-atmosphere interface. *Science of the Total Environment* 583, 789-801
- Belfroid, A., Vandenberg, M., Seinen, W., Hermens, J., Vangestel, K. (1995) Uptake, bioavailability and elimination of hydrophobic compounds in earthworms (*eisenia-andrei*) in field-contaminated soil. *Environmental Toxicology and Chemistry* 14, 605-612
- Bernaola, V.J. (1911) Contribución al estudio de los feldespatos y arcillas: algunos datos sobre materiales arcillosos y síliceos de la República Argentina. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Página web consultada: http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0067_Bernaola.pdf
- Bernhardt, C., Derz, K., Kördel, W., Terytze, K. (2013) Applicability of non-exhaustive extraction procedures with Tenax and HPCD. *Journal of Hazardous Materials* 261, 711-717
- Besoain, E. (1985) Mineralogía de arcillas de suelos. IICA, San José Costa Rica
- Betancur, G.L., Alvarez, B.D., Ramos, V.A., Dendooven, L. (2006) Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated saline-alkaline soils of the former Lake Texcoco. *Chemosphere* 62, 1749-1760

-
- Biache C., Mansuy-Huault, L., Faure, P. (2014) Impact of oxidation and biodegradation on the most commonly used polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) diagnostic ratios: Implications for the source identification. *Journal of Hazardous Materials* 267, 31-39
- Biache, C., Lorgeoux, C., Andriatsihoarana, S., Colombano, S., Faure, P. (2015) Effect of pre-heating on the chemical oxidation efficiency: Implications for the PAH availability measurement in contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials* 286, 55-63
- Bielska, L., Smidova, K., Hofman, J. (2014) Solid phase microextraction of organic pollutants from natural and artificial soils and comparison with bioaccumulation in earthworms. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 100, 44-52
- Boonchan, S., Britz, M.L., Stanley, G.A. (2000) Degradation and mineralization of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by defined fungal-bacterial cocultures. *Applied and Environmental Microbiology* 66, 1007-1019
- Bosma, T.N., Middeldrop, P.J., Schraa, G., Zehnder, A.J. (1997) Mass transfer limitation of biotransformation: quantifying bioavailability. *Environmental Science & Technology* 31, 248-252
- Bossert, I.D., Compeau, G.C. (1995) Cleanup of petroleum hydrocarbon contamination in soil. In: *Microbial transformation and biodegradation of toxic organic chemicals*. Eds Young, Y.L., Cerniglia, G.C. NY, USA
- Bouwer, E.J., Zehnder, A.J. (1993) Bioremediation of organic compounds-putting microbial metabolism to work. *Trends in Biotechnology* 11, 360-367
- Brady, N.C., Weil, R. (2002) *The nature and properties of soils*. 13th Edition. Person Education. USA
- Budhu, M. (2011) *Soil mechanics and foundations*. 3rd. Edition. John Wiley & Sons, Inc. USA
- Camel V (2000) Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples. *Trends in Analytical Chemistry* 4, 229-248
- Canet, R., Birnstingl, J., Malcolm, D., López-Real, J., Beck, A. (2001) Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by native microflora and combinations of white-rot fungi in a coal-tar contaminated soil. *Bioresource Technology* 76, 113-117
- Cerniglia, C.E. (1992) Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation* 3, 351-368

-
- Chen, S., Aitken, M.D. (1999) Salicylate stimulates the degradation of high-molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons by *Pseudomonas saccharophila* P15. *Environmental Science and Technology* 33, 435-439
- Chen, J., Wong, M.H., Wong, Y.S., Tam, N.F. (2008) Multi-factors on biodegradation kinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by *Sphingomonas sp.* a bacterial strain isolated from mangrove sediment. *Marine Pollution Bulletin* 57, 695-702
- Chen, S., Xu, Yiping, Wang, Z. (2010) Assessing desorption resistance of PAHs in dissolved humic substances by membrane-based passive samplers. *Journal of Colloid and Interface Science* 350, 348-354
- Chen, M., Huang, P., Chen, L. (2013) Polycyclic aromatic hydrocarbons in soils from Urumqi, China: distribution, source contributions, and potential health risks. *Environmental Monitoring and Assessment* 185, 5639-5651
- Chen, M., Xu, P., Zeng, G., Yang, C., Hung, D., Zhang, J. (2015) Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavy metals by composting: Applications, microbes and future research needs. *Biotechnology Advances* 33, 745-755
- Chiou, C.T., Sawhney, B.L., Brown, K., Madison, W.I. (1989) Theoretical considerations of the partition uptake of nonionic organic compounds by soil organic matter. Reactions and movement of organic chemicals in soils. *Soil Science Society of America Inc*, 1-29
- Chung, N., Alexander, M. (1998) Differences in sequestration and bioavailability of organic compounds aged in dissimilar soils. *Environmental Science and Technology* 32, 855-860
- Chung, N., Alexander, M. (1999) Effect to concentration on sequestration and bioavailability of two polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Science and Technology* 33, 3605-3608
- Civilini, M. (1994) Fate of creosote compounds during composting. *Microbial Europe* 2, 16-24
- Cookson, J.T. (1995) *Bioremediation Engineering: Design and Application*. McGraw-Hill, NY, USA
- Cornelissen G., Van Noort, P., Govers, H.A. (1997) Desorption of chlorobenzenes, polycyclic aromatic hydrocarbons, and polychlorinated biphenyls: sediment extraction with tenax and effects of contact time and solute hydrophobicity. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16, 1351-1357

-
- Cornelissen, G., Gustafsson, O., Bucheli, T.D., Jonker, M.T., Koelmans, A.A., Van Noort, P.C. (2005) Extensive sorption of organic compounds to black carbon, coal, and kerogen in sediments and soils: mechanisms and consequences for distribution, bioaccumulation, and biodegradation. *Environmental Science and Technology* 39, 6881-6895
- Cortinas, C. (2002) Marco Conceptual de la Remediación de Sitios Contaminados. Proyecto Desarrollo Institucional para la Gestión de Sitios Contaminados, PN: 99.21.34.3. SEMARNAT – GTZ
- Couling, N., Towell, M., Semple, K. (2010) Biodegradation of PAHs in soil: Influence of the chemical structure, concentration and multiple amendment. *Environmental Pollution* 158, 3411-3420
- Cui, X., Mayer, P., Gan, J. (2013) Methods to assess bioavailability of hydrophobic organic contaminants: Principles, operations, and limitations. *Environmental Pollution* 172, 223-234
- Cuypers, C., Grotenhuis, T., Joziase, J., Rulkens, W. (2000) Rapid persulfate oxidation predicts PAH bioavailability in soils and sediments. *Environmental Science and Technology* 34, 2057-2063
- Cuypers, C., Pancras, T., Grotenhuis, T., Rulkens, W. (2002) The estimation of PAH bioavailability in contaminated sediments using hydroxypropyl- β -cyclodextrin and Triton X-100 extraction techniques. *Chemosphere* 46, 1235-1245
- Čvančarová, M., Křesinová, Z., Cajthaml, T. (2013) Influence of the bioaccessible fraction of polycyclic aromatic hydrocarbons on the exotoxicity of historically contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials* 254-255, 116-124
- Das, M.B. (2004) Principles of geotechnical Engineering. 5a. edition, Thomson, Bangalore, India
- Das, S. (2014) Biodegradation and Bioremediation. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800021-2.00001-7>
- Dean, J.R., Barnabas, I.J., Fowles, I.A. (1995) Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from highly contaminated soils: A comparison between Soxhlet, Microwave and Supercritical Fluid Extraction Techniques. *Analytical Proceedings Including Analytical Communications* 32, 305-308
- DGGIMAR, Dirección General de Gestión Integral de Materiales y Actividades Riesgosas (2011) Página web consultada:
<http://www.semarnat.gob.mx/temas/gestionambiental/materialesactividades/Paginas/SitConta.aspx>

-
- Diario Oficial (2002) NOM-021-RECNAT-2000. Norma Oficial Mexicana que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis
- Diario Oficial (2013) NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012. Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación
- Díaz, R. (2014) *Mecánica de suelos: Naturaleza y propiedades*. Trillas, México
- Dilly, O. (2004) Effects of glucose, cellulose and humic acids on soil microbial ecophysiology. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 167, 261-266
- Doyle, E., Muckian, L., Hickey, A.M., Clipson, N. (2008) Microbial PAH degradation. *Advances in Applied Microbiology* 65, 27-66
- Dragun, J. (2001) *Soil & Sediment Contamination*. Volume 10/Issue 1. CRC PRESS, USA
- Ehlers, L.J., Luthy, R.G. (2003) Contaminant bioavailability in soil and sediment. *Environmental Science & Technology* 37, 295A-302A
- Enell, A., Reichenberg, F., Warfvinge, P., Ewald, G. (2004) A column method for determination of leaching of polycyclic aromatic hydrocarbons from aged contaminated soil. *Chemosphere* 54, 707-715
- EPA (2007) Environmental Protection Agency. Method 3546. Microwave extraction. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3546.pdf>
- Falciglia, P.P., De Guidi, G., Catalfo, A., Vagliasindi, F. (2016) Remediation of soils contaminated with PAHs and nitro-PAHs using microwave irradiation. *Chemical Engineering Journal* 296, 162-172
- Fanhestock, V., Wickramanayake, G.B., Kratzke, R.J., Mayor, W.R. (1998) *Biopile design, operation, and maintenance handbook for treating hydrocarbon-contaminated soils*. Batetelle Press, USA
- Ferrarese, E., Andreottola, G., Oprea, I.A. (2008) Remediation of PAH-contaminated sediments by chemical oxidation. *Journal of Hazardous Materials* 152, 128-139
- Futoma, D.J., Ruven, S.S., Smith, T.E., Tanaka, J. (1981) *Polycyclic aromatic hydrocarbon in water systems*. CRC Press, USA
- Gad, S.C., Gad, S.E. (2014) *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Encyclopedia of Toxicology*. Third Edition, USA

-
- Gajda, A.M., Czyz, E.A., Dexter, A.R., Furtak, K.M., Grzadziel, J., Stanek-Tarkowka, J. (2018) Effects of different soil management practices on soil properties and microbial diversity. *International Agrophysics* 32, 81-91
- Gallardo, G.N. (2016) Evaluación del potencial de neutralización de filosilicatos contenidos en esquistos para el tratamiento de drenaje ácido de mina. Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México
- García, I.C., Hernández, F.T. (2004) Importancia de la medida de la actividad microbiana en suelos y materiales orgánicos. I Conferencia Internacional Eco-Biología del Suelo y Compost, León, México
- Gilbride, K.A., Lee, D.Y., Beaudette, L.A. (2006) Molecular techniques in wastewater: Understanding microbial communities, detecting pathogens, and real-time process control. *Journal of Microbiological Methods* 66, 1-20
- Golobočanin, D.D., Škrbic, B.D., Miljević, N.R. (2004) Principal component analysis for soil contamination with PAHs 72, 219-223
- Gomez-Eyles, J.L., Collins, C.D., Hodson, M.E. (2011) Using deuterated PAH amendments to validate chemical extraction methods to predict PAH bioavailability in soils. *Environmental Pollution* 159, 918-923
- Gottfried, A., Singhal, N., Elliot, R., Swift, S. (2010) The role of salicylate and biosurfactant in inducing phenanthrene degradation in batch soil slurries. *Applied Microbiology and Biotechnology* 86, 1563-1571
- Gray, M.R., Banerjee, D.K., Fedorak, P.M., Hashimoto, A., Masliyah, J.H., Pickard, M.A. (1994) Biological remediation of anthracene-contaminated soil in rotating bioreactors. *Applied Microbiology and Biotechnology* 40, 933-940
- Grøn, C., Oomen, A., Weyand, E., Wittsiepe, J. (2007) Bioaccessibility of PAH from Danish soils. *Journal of Environmental Science and Health Part A* 42, 1233-1239
- Grosser, R.J., Friedrich, M., Ward, D.M., Inskeep, W.P. (2000) Effect of model sorptive phases on phenanthrene biodegradation: different enrichment conditions influence bioavailability and selection of phenanthrene-degrading isolates. *Applied Environmental Microbiology* 66, 2695-2702

-
- Guo, M., Gong, Z., Li, X., Allinson, G., Rookes, J., Cahill, D. (2017) Polycyclic aromatic hydrocarbons bioavailability in industrial and agricultural soils: Linking SPME and Tenax extraction with bioassays. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 140, 191-197
- Haramaya, S. (1997) Polycyclic aromatic hydrocarbon bioremediation design. *Environmental Biotechnology* 8, 268-273
- Haramaya, S., Kanaly, R. (2009) HMW PAH biodegradation by bacteria. *Microbial Biotechnology* 3, 136-164
- Haritash, A.K., Kaushik, C.P. (2009) Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A Review. *Journal of Hazardous Materials* 169, 1-15
- Harmesen, J. Naidu, R. (2013) Bioavailability as a tool in site management. *Journal of Hazardous Materials* 261, 840-846
- Hartemink, A.E. (2016) The definition of soil since the early 1800s. *Advances in Agronomy* 137, 73-126
- Hatzinger, P.B., Alexander, M. (1995) Effect of aging of chemicals in soil on their biodegradability and extractability. *Environmental Science and Technology* 29, 537-545
- Heitkamp, M.A., Cerniglia, C.E. (1987) Effects of chemical structure and exposure on the microbial degradation of polycyclic aromatic aromatic hydrocarbons in freshwater and estuarine ecosystems. *Environmental Toxicology and Chemistry* 6, 35-46
- Heitkamp, M.A., Cerniglia, C.E. (1988) Mineralization of polycyclic aromatic hydrocarbons by a bacterium isolated from sediment below an oil field. *Applied and Environmental Microbiology* 54, 1612-1614
- Heitkamp, M.A., Franklin, W., Cerniglia, C.E. (1988a) Microbial metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: Isolation and characterization of a pyrene degrading bacterium. *Applied and Environmental Microbiology* 54, 2549-2555
- Heitkamp, M.A., Freeman, J.P., Miller, D.W., Cerniglia, C.E. (1988b) Pyrene degradation by a mycobacterium sp. Identification of ring oxidation and fission products. *Applied and Environmental Microbiology* 54, 2556-2565
- Heitzer, A., Webb, O.F., Thonnard, J.E., Saylor, G.S. (1992) Specific and quantitative assessment of naphthalene and salicylate bioavailability by using a bioluminescent catabolic report bacterium. *Applied and Environmental Microbiology* 58, 1839-1846

-
- Herbes, S.E., Schwall, L.R. (1978) Microbial transformation of polycyclic aromatic hydrocarbons in pristine and petroleum contaminated sediments. *Applied and Environmental Microbiology* 35, 306-316
- Hickman, Z.A., Reid, B.J. (2005) Towards a more appropriate water based extraction for the assessment of organic contaminant availability. *Environmental Pollution* 138, 299-306
- Hu, J., Aitken, M.D. (2012) Desorption of polycyclic aromatic hydrocarbons from field-contaminated soil to a two-dimensional hydrophobic Surface before and after bioremediation. *Chemosphere* 89, 542-547
- Hwang S., Cutright T.J. (2002) Impact of clay minerals and DOM on the competitive sorption/desorption of PAHs. *Soil and Sediment Contamination* 11, 269-291
- Hwang, S., Cutright, T.J. (2003) Preliminary exploration of the relationship between soil characteristics and PAH desorption and biodegradation. *Environmental International* 29, 887-894
- Instituto de Investigaciones Eléctricas, Boletín IIE (1998) Los crudos mexicanos, sus características. Secretaría de Energía, Sector e Industria Eléctricos
- Iturbe, A.R., Flores, T.C., Pérez, C.G., Flores, S.R., Corona, R.L., López, O.J. (2004) Informes de "Evaluación de la contaminación del subsuelo en el sector de ductos de Pemex Refinación de Monterrey, Salina Cruz, Veracruz, Torreón, Chihuahua, Catalina. Grupo de Investigación: Saneamiento de suelos y acuíferos. Instituto de Ingeniería, UNAM
- Iturbe, A.R. Flores, T.C., Pérez, C.G., Flores, S.R., Corona, R.L., López, O.J. (2009) Informes de "Estudio de caracterización de suelo y subsuelo en el área de talleres y abasto en terminales ferroviarias de Veracruz, Tlaxcala, Yucatán, Hidalgo, Puebla, Chiapas, Tabasco, Nayarit". Grupo de Investigación: Saneamiento de suelos y acuíferos. Instituto de Ingeniería, UNAM
- Iturbe, A.R. (2014) Suelos y acuíferos contaminados. Evaluación y limpieza. Trillas, México
- Izquierdo, R.A. (2013) Biodegradación de HAPs durante la biorremediación aeróbica de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo. Análisis de poblaciones bacterianas y genes funcionales. Tesis Doctoral en el Programa: Microbiología Ambiental y Biotecnología. Universidad de Barcelona, Facultad de Biología

-
- Jacobs, M.W., Coates, J.A., Delfino, J.J., Bitton, G., Davis, W.M., Garcia, K.L. (1993) Comparison of sediment extract Microtox toxicity with semi-volatile organic priority pollutant concentrations. *Archives of Environmental Contamination and Toxicity* 24, 461-468
- Jones, K.C., Stratford, J.A., Tidridge, P., Waterhouse, K.S. Johnston, A.E. (1989) Polynuclear aromatic hydrocarbons in an agricultural soil: Long-term changes in profile distribution. *Environmental Pollution* 56, 337-351
- Jouanneau Y., Meyer C. (2006) Purification and characterization of an arene cis-dihydrodiol dehydrogenase endowed with broad substrate specificity toward polycyclic aromatic hydrocarbon dihydrodiols. *Applied and Environmental Microbiology* 72, 4726-4734
- Juhasz, A.L., Britz, M.L., Stanley, G.A. (1996) Degradation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons by *Pseudomonas cepacia*. *Biotechnology Letters* 8, 577-582
- Juhasz, A.L., Britz, M.L., Stanley, G.A. (1997) Degradation of fluoranthene, pyrene, benz[a]anthracene and dibenz[a,h]anthracene by *Burkholderia cepacia*. *Journal of Applied Microbiology* 83, 189-198
- Juhasz, A.L., Naidu, R. (2000) Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo(a)pyrene. *International Biodeterioration & Biodegradation* 45, 57-88
- Jury, W.A., Winer, A.M., Spencer, W.F., Focht, D.D. (1987) Transport and transformations of organic chemicals in the soil-air-water ecosystem. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 99, 119-164
- Kanaly, R.A., Haramaya, S. (2010) Advances in the field of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation by bacteria. *Microbial Biotechnology* 3, 136-164
- Keith, L.H., Telliard, W.A. (1979) Priority pollutants I - a perspective review. *Environmental Science and Technology* 13, 416-423
- Keck, J., Sims, R.C., Coover, M.P., Park, K.S., Symons, B. (1989) Evidence for cooxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. *Water Research* 23, 1467-1476
- Kelsey, J.W., Kottler, B.D., Alexander, M. (1997) Selective chemical extractants to predict bioavailability of soil-aged organic chemicals. *Environmental Science and Technology* 31, 214-217

-
- La Manna, L., Buduba, C., Alonso, V., Davel, M., Puentes, C., Irisarri, J. (2007) Comparación de métodos analíticos para la determinación de materia orgánica en suelos de la región Andino-Patagónica: Efectos de la vegetación y el tipo de suelo. *Ciencia del Suelo (Argentina)* 25, 179-188
- Lamar, R.T., Evans, J.W., Glaser, J.A. (1993) Solid-phase treatment of a pentachlorophenol-contaminated soil using lignin-degrading fungi. *Environmental Science and Technology* 27, 2566-2571
- Langmuir, D. (1997) *Aqueous environmental geochemistry*. Prentice-Hall Hispanoamericana. NY
- Lanno, R., Wells, J., Conder, J., Bradham, K., Basta, N. (2004) The bioavailability of chemicals in soil for earthworms. *Ecotoxicology Environmental Safety* 57, 39-47
- Latawiec, A.E., Swindell, A.L., Simmons, P., Reid, B.J. (2011) Bringing bioavailability into contaminated land decision making: the way forward? *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 41, 52-77
- Leahy, J. G. and Colwell, R.R. (1990) Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 54, 305-315
- Lekshmi, S.U., Singh, D.N., Shojaei, B.M. (2014) A critical review of soil moisture measurement. *Measurement* 54, 92-105
- Li, K., Bélanger J.M., Llompart, M.P., Turpin, R.D., Singhvi, R., Paré, J.R. (1996) Evaluation of rapid solid sample extraction using the microwave-assisted process (MAPTM) under closer-vessel conditions. *Spectroscopy* 13, 1-13
- Li, X., Lin, X., Li, P., Liu, W., Wang, L., Ma, F., Chukwuka, K.S. (2009) Biodegradation of the low concentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil by microbial consortium during incubation. *Journal of Hazardous Materials* 172, 601-605
- López-Avila, V., Young, R., Beckert, W.F. (1994) Microwave-Assisted extraction of organic compounds from standard reference soils and sediments. *Analytical Chemistry* 66, 1097-1106
- López-Ávila, V., Young, R. (1998) Stability of organic pollutants during microwave-assisted extraction from solid matrices. *Journal of AOAC International* 81, 462-476
- López-Ávila, V. (1999) Sample preparation for environmental analysis. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 29, 195-230
- Lors, C., Damidot, D., Ponge, J., Périé, F. (2012) Comparison of a bioremediation process of PAHs in a PAH-contaminated soil at field and laboratory scales. *Environmental Pollution* 165, 11-17

-
- Lorton, D.M., Smith, S., Jones, A.D.G., Mason, J.R. (2001) The study of polycyclic aromatic hydrocarbon bioavailability in soils. 6th International In Situ and Onsite Bioremediation Symposium. Ex Situ Biological Treatment Technologies. Bioremediation of Energetics, Phenolics, and Polycyclic Aromatic Hydrocarbon 6, 173-180
- Loser, C., Seidel, H., Hoffmann, P., Zehnsdorf, A. (1999) Bioavailability of hydrocarbons during the microbial remediation of a sandy soil. *Applied Microbiology and Biotechnology* 51, 105-111
- Lu, X., Zhang, T., Han-Ping, H. (2011) Bacteria-mediated PAH degradation in soil and sediment. *Applied Microbiology and Biotechnology* 89, 1357-1371
- Lueking, A.D., Huang, W., Soderstrom-Schwarz, S., Kim, M., Weber, W.J. (2000) Relationship of soil organic matter characteristics to organic contaminant sequestration and bioavailability. *Journal of Environmental Quality* 29, 317-323
- Lundstedt, S., White, P.A., Lemieux, C.L., Lynes, K.D., Lambert, I.B., Oberg, L., Haglund, P., Tysklind, M. (2007) Sources, fate, and toxic hazards of oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) at PAH-contaminated sites. *Ambio* 36, 475-485
- Ma, W.L., Liu, L.Y., Tian, C.G., Qi, H., Jia, H.L., Song, W.W., Li, Y.F. (2015) Polycyclic aromatic hydrocarbons in Chinese surface soil: occurrence and distribution. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 4190-4200
- Makkar, R., Rockne, K. (2003) Comparison of synthetic surfactants and biosurfactants in enhancing degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Toxicology and Chemistry* 22, 2280-2292
- Masih, A., Lal, J. (2014) Concentrations and carcinogenic profiles of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in groundwater of an urban site at a terai belt of North India. *International Journal of Applied Engineering Research* 9, 1-7
- Maliszewska-Kordybach, B. (1996) Polycyclic aromatic hydrocarbons in agricultural soils in Poland: preliminary proposals for criteria to evaluate the level of soil contamination. *Applied Geochemistry* 11, 121-127
- Maliszewska-Kordybach, B. (1999) Sources, concentrations, fate and effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the environment. Part A: PAHs in air. *Polish Journal of Environmental Studies* 8, 131-136

-
- Mao, J., Luo, Y., Teng, Y., Li, Z. (2012) Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soil by a bacterial consortium and associated microbial community changes. *International Biodeterioration & Biodegradation* 70, 141-147
- Martínez, V.E., López, S.M. (2001) Efecto de hidrocarburos en las propiedades físicas y químicas de suelo arcilloso. *Terra Latinoamericana* 19, 9-17
- Mayer, P., Vaes, W., Wijnker, F., Legierse, K., Kraaij, R., Tolls, J., Hermens, J. (2000) Sensing dissolved sediment porewater concentrations of persistent and bioaccumulative pollutants using disposable solid-phase microextraction fibers. *Environmental Science and Technology* 34, 5177-5183
- Megharaj, M., Ramakrishnan, B., Venkateswarlu, K., Sethunathan, N., Naidu, R. (2011) Bioremediation approaches for organic pollutants: A critical perspective. *Environmental International* 37, 1362-1375
- Mehler, W., Li, H., Pang, J., Sun, B., Lydy, M. You, J. (2011b) Bioavailability of hydrophobic organic contaminants in sediment with different particle-size distributions. *Archives Environmental Contamination and Toxicology* 61, 74-82
- Mihelcic, J.R., Lueking, D.R., Mitzell, R.J., Stapleton, J.,M. (1993) Bioavailability of sorbed and separate-phase chemicals. *Biodegradation* 4, 141-153
- Miller, M.E., Alexander, M. (1991) Kinetics of bacterial-degradation of benzylamine in a montmorillonite suspension. *Environmental Science & Technology* 25, 240-245
- Mitchel, J.K., Soga, K. (2005) *Fundamentals of Soil Behavior*. 3rd Edition, Waley, NY, USA
- Montgomery, J., Welkom L. (1990) "Groundwater Chemicals Desk Reference". Second Printing. Lewis Publishers, Inc. USA
- Moscoso, F., Deive, F.J., Longo, M.A., Sanroman, M.A. (2015) Insights into polyaromatic hydrocarbon biodegradation by *Pseudomonas stutzeri* CECT 930: operation at bioreactor scale and metabolic pathways. *International Journal of Environmental Science and Technology* 12: 1243-1252
- Morril, L.G., Mahilum, B.C., Mohiuddin, S.H. (1982) *Organic compounds in soils: Sorption, degradation and persistence*. Ann Arbor Science, England
- Morrison, D.E., Robertson, B., Alexander, M. (2000) Bioavailability to earthworms of aged DDT, DDE, DDD, and dieldrin in soil. *Environmental Science and Technology* 34, 709-713

-
- Mueller, J.G., Chapman, P.J., Blattman, B.O., Pritchard, P.H. (1990) Isolation and characterization of a fluoranthene utilizing strain of *Pseudomonas paucimobilis*. *Applied and Environmental Microbiology* 56, 1079-1086
- Mueller, K.E., Shann, J.R. (2006) PAH dissipation in spiked soil: Impacts of bioavailability, microbial activity, and trees. *Chemosphere* 64, 1006-1014
- Nadarajah, N., Van Hamme, J., Pannu, J., Singh, A., Ward, O. (2002) *Applied Microbiology and Biotechnology* 59, 540-544
- Nam, K., Chung, N., Alexander, M. (1998) Relationship between organic matter content of soil and the sequestration of phenanthrene. *Environmental Science and Technology* 32, 3785-3788
- Nam, K., Rodríguez, W., Kukor, J.J. (2001) Enhanced degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by biodegradation combined with a modified Fenton reaction. *Chemosphere* 45, 11-20
- Nam K., Kim, Y.J. (2002) Persistence and bioavailability of hydrophobic organic compounds in the environment. *Geosciences Journal* 6, 13-21
- Northcott, G.L., Jones, K.C. (2001) Partitioning, extractability, and formation of nonextractable PAH residues in soil. 1. Compound differences in aging and sequestration. *Environmental Science and Technology* 35, 1103-1110
- Oleszczuk, P. (2008) Application of hydroxipropyl- β -cyclodextrin to evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbon losses during sewage sludges composting. *Journal Environmental Science and Health Part. A.* 43, 10-17
- Oleszczuk, P. (2009) The Tenax fraction of PAHs relates to effects in sewage sludges. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72, 1320-1325
- Ortega, C.J. Tejada, A.M., Jiménez, S.C., Congiu, E. (2013) Is it possible to increase bioavailability but not environmental risk of PAHs in bioremediation? *Journal of Hazardous Materials* 261, 733-745
- Ouvrard, S., Barnier, C., Bauda, P., Beguiristain, T., Biache, C., Bonnard, M., Caupert, C., Cébron, A., Cortet, J. Cotelle, S., Dazy, M., Faure, P., Masfaraud, F., Nahmani, J., Palais, F., Poupin, P., Raoult, N., Vasseur, P., Morel, L., Leyval, C. (2011) In situ assessment of phytotechnologies for multicontaminated soil management. *International Journal of Phytoremediation* 13, 245-263
- Ovreas, L. (2000) Population and community level approaches for analyzing microbial diversity in natural environments. *Ecology Letters* 3, 236-251

-
- Pactao, B.H., Suto, K., Inoue, C. (2012) Bacterial community dynamics during the preferential degradation of aromatic hydrocarbons by a microbial consortium. *International Biodeterioration & Biodegradation* 74, 109-115
- Page, A.L., Miller, R.H., Kenney, D.R. (1982) *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties* Second Edition, USA
- Paré, J., Bélanger, J., Lesnik, B., Turpin, R., Singhvi, R. (2001) Final evaluation of US EPA Method 3546: Microwave extraction, a Microwave Assisted Process (MAP) Method for extraction of contaminated under closed-vessel conditions. *Soil and Sediment Contamination* 10, 375-386
- Palma, L., Cisneros, J. (1996) *Plan de uso sustentable de los suelos de Tabasco*. Ed. Fundación PROCEDE Tabasco A.C. Villahermosa, Tabasco
- Paton, G.I., Killham, K., Weitz, H.J., Semple, K.T. (2005) Biological tools for the assessment of contaminated land: applied soil ecotoxicology. *Soil Use and Management* 21, 487-499
- Pelaez, A., Lores, I., Sotres, A., Mendez-García, C., Fernández-Velaverde, C., Santos, J., Gallego, J., Sanchez, J. (2013) Design and field-scale implementation of an "on site" bioremediation treatment in PAH-polluted soil. *Environmental Pollution* 181, 190-199
- Pelczar, M.J., Reid, R.G., Chan, E.C. (1982) *Microbiología*. Segunda Edición, McGraw-Hill, USA
- Porta, C.J., López-Acevedo, R.M., Roquero, D.C. (1994) *Edafología para la agricultura y el medio ambiente*. Ediciones Mundi-Prensa, España
- Potin, O., Veignie, E., Rafin, C. (2004) Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs) contaminated soil. *FEMS Microbiology Ecology* 51, 71-78
- Rappé, M.S., Giovannoni, S.J. (2003) The uncultured microbial majority. *Annual Review of Microbiology* 57, 369-394
- Reichenberg, F., Mayer, P. (2006) Two complementary sides of bioavailability: accessibility and chemical activity of organic contaminants in sediments and soils. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25, 1239-1245
- Reid, B.J., Jones, K.C., Semple, K.T. (2000) Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments-a perspective on mechanisms, consequences and assessment. *Environmental Pollution* 108, 103-112

-
- Riding, M., Doick, K., Martin, F., Jones, K., Semple, K. (2013) Chemical measures of bioavailability/bioaccessibility of PAHs in soil: Fundamentals to application. *Journal of Hazardous Materials* 261, 687-700
- Rivera, M., Ferrera C.R., Volke, H.V., Fernández, L.L., Rodríguez, V.R. (2002) Poblaciones microbianas en perfiles de suelos afectados por hidrocarburos del petróleo en el Estado de Tabasco, México. *Agrociencia* 36, 149-160
- Rivera, E.Y., Dendooven, L. (2007) Dynamics of carbon and nitrogen in a mixture of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil amended with organic residues. *Environmental Technology* 28, 883-893
- Rhodes, A., Carlin, A., Semple, K. (2008) Impact of black carbon in the extraction and mineralization of phenanthrene in soil. *Environmental Science and Technology* 42, 740-745
- Rhodes, A., Riding, M., McAllister, L., Lee, K. (2012) Influence of activated charcoal on desorption kinetics and biodegradation of phenanthrene in soil. *Environmental Science and Technology* 46, 12445-12451
- Richardson, S., Aitken, M. (2011) Desorption and bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons in contaminated soil subjected to long-term in situ biostimulation. *Environmental Chemistry* 30, 2674-2681
- Riojas, G.H., Torres, B.L., Mondaca F.I., Balderas, C.J., Gortáres M.P. (2010) Efectos de los surfactantes en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. *Revista Química Viva* 9, 120-145
- Rosales, E., Pérez, A., Vázquez, X., Pazos, M., Sanromán, A. (2012) Isolation of novel benzo(a)anthracene-degrading microorganisms and continuous bioremediation in an expanded-bed bioreactor. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 35, 851-855
- Sadzawka, R., Campillo, R. (1993) Problemática de la acidez de los suelos. Génesis y características del proceso. *Investigación y Progreso Agropecuario Carrillanca* 12, 3-7
- Schneider, J., Grosser, R., Jayasimhulu, K., Xue, W., Warshawsky, D. (1996) Degradation of pyrene, benz(a)anthracene, and benzo(a)pyrene by *Mycobacterium sp.* Strain RJGII-135, isolated from a former coal gasification site. *Applied and Environmental Microbiology* 62, 13-19
- Seo, J., Keum, Y., Li, Q. (2009) Bacterial degradation of aromatic compounds. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 6, 278-309

SEMARNAT, Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (2013) Página web consultada:

www.semarnat.gob.mx

SEMARNAT, Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (2006) Guía Técnica para Orientar la Elaboración de Estudios de Evaluación de Riesgo Ambiental de Sitios Contaminados, Primera edición, México

Semple, K.T., Doick, K.J., Jones, K.C., Craven, A., Burauel, P., Harms, H. (2004) Defining bioavailability and bioaccessibility for the risk assessment and remediation of contaminated soils and sediments. *Environmental Science and Technology* 38, 228A-231A

Sihag, S., Pathak, H., Jaroli, D. (2014) Factors affecting the rate of biodegradation of polyaromatic hydrocarbons. *International Journal of Pure & Applied Bioscience* 2, 185-202

Sijm, D., Kraaij, R., Belfroid, A. (2000) Bioavailability in soil or sediment: exposure of different organisms and approaches to study it. *Environmental Pollution* 108, 113-119

Sims, R.C., Overcash, M.R. (1983) Fate of polynuclear aromatic compounds (PNAs) in soil-plant systems. *Residue Reviews* 88, 1-68

Sims, R.C., Doucette, W.J., McLean, J.E., Grenney, W.J., Dupont, R.R. (1988) Treatment potential of 56 EPA-listed hazardous chemicals in soil. EPA/600/6-88/001. Robert Kerr Environmental Research Laboratory, Ada, OK, USA

Skopp, J., Jawson, M.D., Doran, J.W. (2000) Steady-state aerobic microbial activity as a function of soil water content. *Soil Science Society of America* 54, 1619-1625

Sparling, D.W. (2016) *Ecotoxicology Essentials. Environmental contaminants and their biological effects on animals and plants.* Elsevier, USA

Sparr, E.C., Björklund, E. (2000) Review Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A* 902, 227-250

Stevenson, F.J. (1994) *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions.* Second Edition. John Wiley & Sons, Inc., USA

Stokes, J.D., Paton, G.I., Semple, K.T. (2006) Behaviour and assessment of bioavailability of organic contaminants in soil: relevance for risk assessment and remediation. *Soil Use and Management* 21, 475-486

-
- Suess, M.J. (1976) The environmental load and cycle of polycyclic aromatic hydrocarbons. *The Science of the Total Environment* 6, 239-250
- Sumner, M.E. (2000) *Handbook of Soil Science*. CRC Press LLC, USA
- Sun, R., Jin, J., Sun, G., Liu, Y., Liu, Z. (2010) Screening and degrading characteristics and community structure of a high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterial consortium from contaminated soil. *Journal of Environmental Sciences* 22, 1576-1585
- Sun, M.M., Luo, Y.M., Teng, Y., Christie, P., Jia, Z.J., Li, Z.G. (2013) Tenax TA extraction to understand the rate-limiting factors in methyl-beta-cyclodextrin, enhanced bioremediation of PAH-contaminated soil. *Biodegradation* 24, 365-375
- Suthersan, S.S. (1997) *Remediation Engineering. Design Concepts*. CRC Press LLC, USA
- Tabacchioni, S., Chiarini, L., Bevivino, A., Cantale, C., Dalmastri, C. (2000) Bias caused by using different isolation media for assessing the genetic diversity of a natural microbial population. *Microbial Ecology* 40, 169-176
- Tabak, H.H., Quave, S.A., Mashni, C.I., Barth, E.E. (1981) Biodegradability studies with organic priority pollutant compounds. *Journal of the Water Pollution Control Federation* 53, 1503-18
- Torsvik, V., Goksoyr, J., Daae, F.L. (1990) High diversity in DNA of soil bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 56, 782-787
- Trevors, J.T. (1998b) Bacterial biodiversity in soil with an emphasis on chemically-contaminated soils. *Water Air & Soil Pollution* 101, 45-67
- Tsomides, H.J., Hughes, J.B., Thomas, J.M., Ward, C.H. (1995) Effect of surfactant addition on phenanthrene biodegradation in sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry* 14, 953-959
- U.S. EPA, U.S. Environmental Protection Agency (2013) Priority Pollutants. <http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/pollutants.cfm> (página web consultada en Agosto 2018).
- Valderrama, C., Alessandri, R., Aunola, T., Cortina, J.L., Gamisans, X., Tuhkanen, T. (2009) Oxidation by Fenton's reagent combined with biological treatment applied to a creosote-contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials* 166, 594-602
- Van Gestel, C.A. (2008) Physico-chemical and biological parameters determine metal bioavailability in soils. *Science of the Total Environment* 406, 385-395

-
- Vinas, M., Sabate, J., Guasp, C., Lalucat, J., Solanas, A. (2005) Culture-dependent and independent approaches establish the complexity of a PAH-degrading microbial consortium. *Canadian Journal of Microbiology* 51, 897-909
- Volke, S.T., Velasco, T.J. (2004) *Tecnologías de remediación para suelos contaminados*. Instituto Nacional de Ecología, México
- Walkley, A., Black, I. (1934) An examination of the Degthareff method for determining soil organic and proposed modification of chromic acid titration method. *Soil Science* 37, 29-38
- Weissenfels, W.D., Klewer, H.J., Langhoff, J. (1992) Adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by soil particles: influence on biodegradability and biotoxicity. *Applied Microbiology and Biotechnology* 36, 689-96
- Wilson, S.C., Jones, K.C. (1993) Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. *Environmental Pollution* 81, 229-249
- WHO, World Health Organization (2000) *Air Quality Guidelines for Europe*. Second Edition, WHO Regional Publications, Copenhagen, Denmark. European Series, No. 91
- Wolska, L., Mechlińska, A., Rogowska, J., Namieśnik, J. (2012) Sources and fate of PAHs and PCBs in the marine environment 42, 1172-1189
- Wood, D.M., Wroth, C.P. (1978) The use of cone penetrometer to determine the plastic limit of soils. *Ground Engineering* 11, 37
- Wu, Y.R., Luo, Z.H., Vrijmoed, L.L. (2010) Biodegradation of anthracene and benz(a)anthracene by two *Fusarium solani* strains isolated from mangrove sediments. *Bioresource Technology* 101, 9666-9672
- Wu, M., Chen, L., Tian, Y., Ding, Y., Dick, W. (2013) Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by microbial consortia enriched from three soils using two different culture media. *Environmental Pollution* 178, 152-158
- Xia, X., Li, Y., Zhou, Z., Feng, C. (2010) Bioavailability of adsorbed phenanthrene by black carbon and multi-walled carbon nanotubes to *Agrobacterium*. *Chemosphere* 78, 1329-1336
- Xing, B., Pignatello, J.J. (1997) Dual-mode sorption of low polarity compounds in glassy poly(vinyl chloride) and soil organic matter. *Environmental Science and Technology* 31, 792-799

-
- Yang, Y., Hunter, W., Tao, S., Gan, J. (2009) Microbial availability of different forms of phenanthrene in soils. *Environmental Science and Technology* 43, 1852-1857
- Yang, Y., Tao, S., Zhang, N., Zhang, D.Y., Li, X.Q. (2010) The effect of soil organic matter on fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil: A microcosm study. *Environmental Pollution* 158, 1768-1774
- Yang, Y., Zhang, N., Xue, M., Lu, S., Tao, S. (2011) Effects of soil organic matter on the development of the microbial polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) degradation potentials. *Environmental Pollution* 159, 591-595
- Ye, B., Siddiqi, M.A., Maccubbin, A.E., Kumar, S., Sikka, H.C. (1996) Degradation of polynuclear aromatic hydrocarbons by *Sphingomonas paucimobilis*. *Environmental Science and Technology* 30, 136-142
- You, J., Pehkonen, S., Landrum, P. Lydy, M. (2007) Desorption of hydrophobic compounds from laboratory-spiked sediments measured by Tenax absorbent and matrix solid-phase microextraction. *Environmental Science and Technology* 41, 5672-5678
- Yu, L., Duan, L., Naidu, R., Semple, K. (2018) Abiotic factors controlling bioavailability and bioaccessibility of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil: Putting together a bigger picture. *Science of the Total Environment* 613-614, 1140-1153
- Yuan, S.Y., Wei, S.H., Chang, B.V. (2000) Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by a mixed culture. *Chemosphere* 41, 1463-1468
- Zhang, W., Bower, E., Ball, W. (1998) Bioavailability of hydrophobic organic contaminants: Effects and implications of sorption-related mass transfer on bioremediation. *Groundwater Monitoring & Remediation* 18, 126-138