



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**OXIDACIÓN QUÍMICA Y BIOLABRANZA PARA EL TRATAMIENTO
DE SUELO CONTAMINADO CON DI (2-ETILHEXIL) FTALATO**

TESIS

Para obtener el grado de:

Maestro en Ingeniería, Tecnología y Gestión Ambiental

Presenta:

Eder José Ordoñez Frías

Directores:

Dr. Randy Howard Adams Schroeder

Dra. Verónica Isidra Domínguez Rodríguez

Villahermosa, Tabasco, México

Enero, 2020



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN**

ENERO 27 DE 2020

**C. EDER JOSÉ ORDOÑEZ FRÍAS
PAS. DE LA MAESTRIA EN INGENIERÍA, TECNOLOGÍA Y
GESTIÓN AMBIENTAL
P R E S E N T E**

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 80 al 85 del Cap. III del Reglamento de titulación de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis de Maestría en Ciencias Ambientales titulado: **"OXIDACIÓN QUÍMICA Y BIOLABRANZA PARA EL TRATAMIENTO DE SUELO CONTAMINADO CON DI (2-ETILHEXIL) FTALATO"**, asesorado por el Dr. Randy Howard Adams Schroeder, sobre el cual sustentará su Examen de Grado, cuyo jurado integrado por la Dr. José Roberto Hernández Barajas, M. en C. Carlos Alberto Torres Balcázar, Dr. Randy Howard Adams Schroeder, Dr. Eduardo Baltierra Trejo y MIPA. Liliana Hernández Acosta.

Por lo cual puede proceder a concluir con los trámites finales para fijar la fecha de examen.

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE

**DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR**

UNAT
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente del Alumno.
C.c.p.- Archivo

CARTA AUTORIZACIÓN

El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente el Trabajo Recepcional en la modalidad de Tesis de Maestría denominado: **“OXIDACIÓN QUÍMICA Y BIOLABRANZA PARA EL TRATAMIENTO DE SUELO CONTAMINADO CON DI (2-ETILHEXIL) FTALATO”**, de la cual soy autor y titular de los Derechos de Autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco el Trabajo Recepcional antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en éste documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco el Día 27 de enero del dos mil veinte.

AUTORIZO



EDER JOSÉ ORDOÑEZ FRÍAS

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT, por la beca otorgada para realizar mis estudios de maestría.

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, por la oportunidad de formarme como profesionista.

Al laboratorio de Remediación de la UJAT, por la facilidad de utilizar sus instalaciones para la realización de la investigación.

Al laboratorio "Rafael Villalobos-Pietrini" de Toxicología Genómica y Química Ambiental de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, por la facilidad de utilizar sus instalaciones para la realización de la investigación.

Al Dr. Randy y a la Dra. Verónica por darme la oportunidad de trabajar en el laboratorio de Remediación para desarrollar esta investigación. Mi más sincera gratitud por su apoyo, confianza, paciencia y consejos para concluir este proyecto. Les tengo un gran aprecio y estimo por su calidad humana y sencillez.

Al Dr. Rafael Valencia y a la M.C. Juana Sánchez por compartir su conocimiento, asesoría y gran apoyo para concluir este proyecto.

A la Dra. Lilibian Pampillón, por contribuir en mi formación profesional y por su amistad.

Al comité tutorial, por su dedicación en la revisión y sus observaciones para enriquecer esta investigación. Especialmente al Dr. Eduardo Baltierra y a la MIPA Lilibian Hernández.

A Anahy y Alma por compartir experiencias inolvidables en el aula, laboratorio y salidas de campo.

A mis compañeros del laboratorio de Remediación, conta Norma, Lili, Michel, Fidel, Marta, Pascual, Marianita, Fabián, Salas, Dr. Saúl, Dr. Francisco, Dr. Gerónimo, Dr. Gilberto y Dr. Baltierra. Por su apoyo técnico, científico, moral y hacer más amena mi estancia en el laboratorio.

DEDICATORIA

A mis papás, por todo su amor y apoyo infinito en cada etapa de mi vida. Sin duda este logro es de ustedes.

A mi esposa, por ser mi compañera de vida, por tu amor incondicional y sobre todo tu paciencia. Te amo.

A mis hijos, José Emilio y Samara por ser mi fuente de inspiración. Son mi alegría y motivación para seguir adelante. Los amo.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

CONTENIDO

CONTENIDO DE CUADROS.....	i
CONTENIDO DE FIGURAS.....	ii
RESUMEN.....	iii
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.1 OBJETIVOS.....	4
1.1.1 Objetivo general.....	4
1.1.2 Objetivos específicos.....	4
1.2 HIPÓTESIS.....	4
1.3 REFERENCIAS.....	5
CAPÍTULO II. CONTAMINACIÓN EN MATRICES AMBIENTALES POR DI (2-ETILHEXIL) FTALATO Y TECNOLOGÍAS PARA SU TRATAMIENTO: UNA REVISIÓN.....	6
Resumen.....	7
Introducción.....	8
Propiedades del di (2-etilhexil) ftalato.....	9
Regulación del DEHP.....	10
DEHP en las matrices ambientales.....	10
Remoción del di (2-etilhexil) ftalato por diferentes tecnologías.....	15
Conclusiones.....	17
Referencias.....	18
CAPÍTULO III. REDUCCIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA EN LIXIVIADO DE SUELO CON DI (2-ETILHEXIL) FTLATO POR OXIDACIÓN QUÍMICA Y BIOLABRANZA.....	26
Resumen.....	27

Introducción	28
Materiales y métodos	32
Resultados y Discusión	35
Conclusiones	40
Referencias.....	41
CAPÍTULO IV. IMPACTO GENOTÓXICO EN SUELO CON DI (2-ETILHEXIL) FTALATO TRATADO POR BIOLABRANZA Y OXIDACIÓN QUÍMICA.....	45
Resumen.....	46
Introducción	47
Materiales y métodos	49
Resultados y Discusión	50
Conclusiones	54
Referencias.....	55
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES GENERALES.....	57
ANEXO	60

CONTENIDO DE CUADROS

CAPÍTULO II

Cuadro 1. Características fisicoquímicas del di (2-etilhexil) ftalato a 25 °C.....	10
Cuadro 2. Concentraciones de DEHP en agua	13
Cuadro 3. Concentraciones de DEHP en suelo	14
Cuadro 4. Concentraciones de DEHP en sedimento	15
Cuadro 5. Concentraciones de DEHP en lodo	16
Cuadro 6. Concentraciones de DEHP en aire	16

CAPÍTULO III

Cuadro 1. Características fisicoquímicas del suelo limpio	35
---	----

CONTENIDO DE FIGURAS

CAPÍTULO III

Figura 1. Esquema metodológico	32
Figura 2. Etapa experimental	34
Figura 3. Mortandad de <i>Eisenia foetida</i> en los tratamientos con H ₂ O ₂	36
Figura 4. Mortandad de <i>Eisenia foetida</i> en los tratamientos con biolabranza	37

CAPÍTULO IV

Figura 1. Frecuencia de micronúcleos en los diferentes tratamientos con H ₂ O ₂	49
Figura 2. Frecuencia de micronúcleos en los tratamientos con biolabranza	50

RESUMEN

En la presente investigación, se evaluó la efectividad de la oxidación química y biolabranza para la remediación de suelo contaminado con di (2-etilhexil) ftalato a escala laboratorio, considerando como criterio de remediación la toxicidad aguda y genotoxicidad.

Para la prueba de toxicidad aguda se emplearon lombrices de tierra de la especie *Eisenia foetida*. El tratamiento de suelo contaminado presentó en los organismos de prueba rompimiento de la pared corporal desarrollando heridas sangrantes, así como expulsión de líquido celómico, mientras que las lombrices sobrevivientes mostraron disminución en el movimiento y la respuesta al estímulo llegó a ser casi nulo. Solamente los tratamientos con H₂O₂ al 2% y 2.5% no presentaron diferencia significativa con el testigo negativo (suelo limpio). El tratamiento de peróxido de hidrógeno al 2.5% p/p, presentó la mayor tasa de reducción de la toxicidad aguda hasta 94%. El tratamiento con H₂O₂ al 2.5% presentó capacidad de reducir la toxicidad a niveles de fondo, por lo tanto, fue factible técnicamente. Por otra parte, los dos tratamientos de la tecnología de biolabranza presentan tendencia general de reducir la toxicidad, pero con periodos intermedios de un incremento en la toxicidad respecto a la medición en el mes anterior. Esto es especialmente notable en el tratamiento sin fertilizante a los 60 y 120 días, y en menor escala, a los 180 días, pero también se observa esta tendencia, aunque en menor escala, en el tratamiento con fertilizante a los 90 y 150 días. Ambos tratamientos no presentan diferencias significativas con respecto al testigo negativo a partir de los 150 días.

Para el ensayo de micronúcleos se usaron células meristemáticas de las raíces de *Vicia faba*. Los tratamientos de la tecnología de oxidación química son capaces de incrementar la frecuencia de micronúcleos a las 44 horas de recuperación al compararse con las frecuencias obtenidas a las 18 horas de recuperación, lo que puede representar la incapacidad de recuperación de las células meristemáticas al daño inducido. La frecuencia de micronúcleos en el tratamiento por oxidación química sí se redujo, pero se mantuvo cerca de 80% del valor del suelo contaminado. Esto, aunque en las pruebas de toxicidad aguda, se bajó a nivel umbral o al nivel aceptable, según el Protocolo ($\leq 10\%$ mortandad).

Al exponer directamente las raíces de *Vicia faba* a suelo tratado por las dos técnicas de biolabranza, se observó a las 44 horas de recuperación, incremento en la frecuencia de micronúcleos al compararse con las frecuencias obtenidas a las 18 horas de recuperación, lo que puede representar la incapacidad de recuperación de las células meristemáticas al daño inducido. Muestras de suelo tratado por biolabranza con fertilizante fueron capaces de incrementar la frecuencia de micronúcleos en las muestras de suelo evaluado en todos los meses de biorremediación. El tratamiento sin fertilizante fue capaz de incrementar la frecuencia de micronúcleos en muestras de 30, 60, 90 y 150 días de biorremediación; a excepción de los 180 días. Cabe mencionar que el tratamiento sin fertilizante, no presentó diferencias significativas con el tratamiento de suelo limpio y es el único tratamiento que cumple con los criterios de toxicidad aguda y genotoxicidad.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

El aceite de ricino es el primer plastificante utilizado para fabricar nitrato de celulosa en 1856; más tarde, en 1870, fue reemplazado por alcanfor. Para superar el olor liberado por el alcanfor volátil, los ftalatos se introdujeron en la década de 1920 como una alternativa. En 1931, se llevó a cabo la síntesis del cloruro de polivinilo (PVC), seguida por la introducción del di (2-etilhexil) ftalato (DEHP) en 1933 (un plastificante adecuado para el PVC), lo que cambió drásticamente el mundo de los plásticos. Una simple reacción química entre un alcohol y un anhídrido ftálico dio lugar a la formación de ftalatos (Tokiwa et al., 2009).

Los materiales plásticos han encontrado aplicaciones versátiles en todos los aspectos de la vida humana moderna debido al rápido avance de la tecnología y al crecimiento de la población mundial. Se mezclan diferentes plastificantes en los plásticos en diferentes proporciones para mejorar su rendimiento, flexibilidad y reducir los costos (Tokiwa et al., 2009). Sin embargo, no están químicamente ligados al polímero, por lo tanto, migran fácilmente de los productos de plástico a los ambientes circundantes (Sarath et al., 2012). Consecuencia de esto, los seres humanos quedan expuestos a los ftalatos por vía dérmica, inhalatoria, oral e intravenosa (Hauser y Calafat, 2005).

El DEHP es un éster de ftalato que existe como un líquido aceitoso, incoloro y con un ligero olor. Es ligeramente soluble en agua y tetracloruro de carbono, miscible con aceite mineral y hexano, además es soluble en sangre y fluidos corporales que contienen lipoproteínas. Cuando se calienta hasta la descomposición, emite un humo acre. DEHP es incompatible con nitratos, oxidantes fuertes, ácidos y álcalis (HSDB, 2010).

En países en vías de desarrollo, como es el caso de México, no existe legislación que regule los límites máximos permisibles referente a la familia de los ftalatos. De acuerdo con el Anuario Estadístico 2018 de la Asociación de la Industria Química, se registraron seis empresas que fabrican y ocho que distribuyeron dicho compuesto. La mayoría de las industrias se establecieron en la periferia de las ciudades, pero en la actualidad, debido al incremento poblacional, muchas de estas industrias se localizan en zonas urbanizadas. Varios complejos industriales han cesado sus actividades, dejando así pasivos ambientales, a veces sin responsables que aseguren su restauración. Como consecuencia, las personas quedan vulnerables a las vías de exposición en las que se introduce el DEHP.

Las tecnologías de remediación representan una alternativa a la disposición de desechos peligrosos, y el éxito de las tecnologías, depende de entre otros factores a las condiciones específicas del sitio y características del contaminante. Las tecnologías para tratar un suelo contaminado se clasifican según su modo de acción en fisicoquímicas, térmicas y biológicas (Volke y Velasco, 2002).

En los últimos años, el tratamiento químico ha sido utilizado con más frecuencia para tratar más eficientemente suelos contaminados, mediante técnicas como la oxidación química. Esta técnica de remediación se basa en el uso de agentes oxidantes químicos inyectados en el sitio contaminado para oxidar compuestos tóxicos o peligrosos, en compuestos de menor peligrosidad, movilidad y mayor estabilidad como dióxido de carbono, agua y ciertos ácidos minerales (Volke y Velasco, 2002; Villalba, 2013). Cuando se libera peróxido de hidrógeno en el suelo, este reacciona rápidamente con otras sustancias en el suelo a causa de su total descomposición en iones constitutivos, agua y oxígeno. La base química de este proceso se fundamenta en el intercambio de electrones entre el oxígeno y las moléculas contaminadas con petróleo, favoreciendo la ruptura química de los hidrocarburos con la superficie mineral del suelo (Flotron et al., 2005; Rivas, 2006).

En el ambiente, los ftalatos son degradados por procesos abióticos a velocidades lentas. Sin embargo, la remediación biológica donde intervienen especialmente bacterias y hongos, es la técnica mejor conocida para la completa mineralización de estos contaminantes peligrosos (Benjamín et al., 2015). Se propone determinar cuál técnica de remediación (oxidación química y biolabranza) resulta efectivo con base a la reducción real del riesgo en términos de toxicidad y genotoxicidad. En el capítulo II se presenta la información de las propiedades, regulación y matrices ambientales afectadas por el DEHP. Así como los tratamientos empleados en la remoción de dicho contaminante. En el capítulo III se presenta la evaluación de las tecnologías de oxidación química y biolabranza para la reducción a niveles umbrales del DEHP en suelo contaminado con dicho compuesto, considerando como criterio de remediación la toxicidad aguda. En el capítulo IV se presenta la propuesta del ensayo de micronúcleos para determinar daño en el material genético a nivel cromosómico, basándose como biomarcador la frecuencia de micronúcleos. Evaluando la disminución de micronúcleos en muestras de suelo tratadas con oxidación química y biolabranza.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo General

Evaluar la efectividad de la oxidación química y biolabranza para la remediación de suelo contaminado con di (2-etilhexil) ftalato a escala laboratorio.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Conocer las características toxicológicas del suelo limpio para obtener el nivel umbral y suelo contaminado con DEHP.
- Identificar la concentración de reactivo químico necesario para reducir la toxicidad y genotoxicidad al nivel umbral en suelo tratado por oxidación química.
- Determinar el tiempo necesario para reducir la toxicidad y genotoxicidad al nivel umbral en suelo tratado por biolabranza.

1.2 HIPÓTESIS

- Las concentraciones empleadas en la tecnología de oxidación química resultan efectivas en el tratamiento de suelo contaminado con DEHP, reduciendo la toxicidad aguda y genotoxicidad a nivel umbral.
- Los tratamientos propuestos en la tecnología de biolabranza resultan efectivos en el tratamiento suelo contaminado con DEHP, reduciendo la toxicidad aguda y genotoxicidad a nivel umbral.

1.3 REFERENCIAS

Asociación Nacional de la Industria Química (ANIQ), (2018). Anuario estadístico de la industria química mexicana. Ciudad de México, México. Recuperado de <http://www.aniq.org.mx/webpublico/notas/anuarioestadisticoiq.asp>

Benjamin, S., Pradeep, S., Josh, M. S., Kumar, S., & Masai, E. (2015). A monograph on the remediation of hazardous phthalates. *Journal of Hazardous Materials*, 298, 58-72.

Flotron, V., Delteil, C., Padellec, Y., & Camel, V. (2005). Removal of sorbed polycyclic aromatic hydrocarbons from soil, sludge and sediment samples using the Fenton's reagent process. *Chemosphere*, 59(10), 1427-1437.

Hauser, R., & Calafat, A. M. (2005). Phthalates and human health. *Occupational and environmental medicine*, 62(11), 806-818.

Hazardous Substances Data Bank (HSDB), (2010). Bis(2-ethylhexyl) phthalate. Recuperado de <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~cklPEE:3>.

Rivas, F. J. (2006). Polycyclic aromatic hydrocarbons sorbed on soils: a short review of chemical oxidation based treatments. *Journal of Hazardous Materials*, 138(2), 234-251.

Sarath Josh, M. S., Pradeep, S., Balachandran, S., Devi, R. S., Amma, K. V., & Benjamin, S. (2012). Temperature-and solvent-dependent migrations of di (2-ethylhexyl) phthalate, the hazardous plasticizer from commercial PVC blood storage bag. *Journal of Polymer Research*, 19(7), 9915.

Tokiwa, Y., Calabia, B. P., Ugwu, C. U., & Aiba, S. (2009). Biodegradability of plastics. *International journal of molecular sciences*, 10(9), 3722-3742.

Villalba, V. N. M. Remediación de suelos contaminados con fenantreno por oxidación química [Tesis de maestría] Universidad Nacional de Asunción, Paraguay. 2013.

Volke, T., & Velasco, J. A. (2002). Tecnologías de remediación para suelos contaminados (pp. 1–64). México, DF: Instituto Nacional de Ecología-Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (INE-SEMARNAT).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

**CAPÍTULO II. CONTAMINACIÓN EN MATRICES
AMBIENTALES POR DI (2-ETILHEXIL) FTALATO Y
TECNOLOGÍAS PARA SU TRATAMIENTO: UNA REVISIÓN**

Contaminación en matrices ambientales por di (2-etilhexil) ftalato y tecnologías para su tratamiento: Una revisión

Eder José Ordoñez-Frías ^a, Verónica Isidra Domínguez-Rodríguez ^a, Randy H. Adams ^{a*}

^a División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Carretera Villahermosa-Cárdenas Km. 0.5 S/N, Entronque a Bosques de Saloya, CP 86150, Villahermosa, Tabasco, México.

* Autor por correspondencia: drrandocan@hotmail.com

Resumen

Los ftalatos se emplean como plastificantes para mejorar la flexibilidad y vida útil de los materiales. De la variedad de plastificantes usados, el di (2-etilhexil) ftalato (DEHP) representa alrededor del 80 % en el mundo. Sin embargo, por su débil unión en la molécula del polímero; migra de los productos plásticos a las diferentes matrices ambientales ocasionando efectos negativos al ambiente y salud humana. Por tal motivo, el objetivo del presente estudio fue revisar la literatura científica acerca del di (2-etilhexil) ftalato respecto a su presencia en el ambiente y las aplicaciones tecnológicas para su tratamiento. Las matrices donde se registran mayores concentraciones son los sedimentos, lodos y suelos. Se utilizan procesos físicos, químicos y biológicos para la remoción del DEHP, sin embargo, reducir los niveles de concentración no representa seguridad en los medios ambientales, por lo tanto, se recomienda realizar pruebas toxicológicas y genotóxicas, empleando bioindicadores característicos de la matriz afectada para evaluar los riesgos potenciales a la salud humana y al ambiente de dicho contaminante emergente.

Palabras clave: Proceso físico, Proceso químico, Proceso biológico, Suelo, Agua, Sedimento, Agua, DEHP

Introducción

En 2016, la producción mundial de plástico alcanzó los 335 millones de toneladas (PlasticsEurope, 2017). La inmensa producción asociada a los bajos índices de reciclaje o reutilización y las insuficientes políticas sustentables de apoyo a la economía de los plásticos circulares, ha ocasionado grandes volúmenes de residuos plásticos en el ambiente (Ellen MacArthur Foundation, 2016).

Además, su persistencia potencia su distribución espacial y temporal dentro de los ecosistemas, lo que ocasiona efectos fisiológicos y bioquímicos para las distintas especies, así como consecuencias abióticas. Los impactos toxicológicos de los plásticos han sido reportados en todo el mundo desde la Antártida hasta África, América, Asia, Europa y el Ártico (Corcoran et al., 2018). Según su tamaño, forma y tipo de polímero, los impactos serán diferentes (Dris et al., 2015). Los plásticos utilizados en nuestra vida cotidiana pueden causar impactos negativos durante todo su ciclo de vida; desde su producción, uso y hasta su disposición final (Rodrigues et al., 2019).

Los ésteres de ftalatos son di ésteres sintéticos de ácido ftálico, estos se introdujeron por primera vez en 1920, pero fue hasta la década de 1950 que la producción comercial se escaló industrialmente debido al desarrollo del cloruro de polivinilo (PVC) (Kimber y Dearman, 2010). Generalmente son líquidos incoloros y en gran parte inodoros, cuyas características son un alto punto de ebullición, una baja volatilidad. Además, son poco solubles en agua, pero predominantemente solubles en grasa. Los compuestos de mayor peso molecular como el di (2-etilhexil) ftalato, di-isodecil ftalato y di-isonil ftalato se utilizan como plastificantes y los de menor peso molecular como el dimetil ftalato, dietil ftalato y dibutil ftalato se utilizan en disolventes, tintas, ceras, adhesivos, cosméticos, insecticidas y productos farmacéuticos (Takaro et al., 2010).

Alrededor del 90% de los plastificantes utilizados en el mundo son ftalatos, y el DEHP representa más del 80% de ellos (Abb et al., 2009). Este compuesto, debido a su débil unión en la molécula del polímero; migra de los productos plásticos al aire, agua, suelo y otros medios de contacto como los alimentos (Lithner et al., 2011; Hermabessiere et al., 2017; Horton et al., 2017). En este sentido, esta revisión proporciona información resumida sobre las matrices ambientales afectadas por el di (2-etilhexil) ftalato y las tecnologías empleadas para su remoción.

Propiedades del di (2-etilhexil) ftalato

En la tabla 1, se presentan algunas propiedades fisicoquímicas relevantes para conocer el comportamiento, transporte y destino. Así como también los intercambios entre la atmósfera, hidrósfera y la geósfera (Staples et al. 1997; Cousins y Mackay, 2000).

Cuadro 1. Características fisicoquímicas del di (2-etilhexil) ftalato a 25 °C.

Compuesto	PM (g/mol)	Solubilidad en agua (mg/L)	Log K _{OW}	Log K _{OA}	Log K _{AW}	H (Pa·m ³ /mol)	Referencias
DEHP	390.6	2.49 x 10 ⁻³	7.73	10.53	-2.80	3.95	Staples et al., (1997); Cousins y Mackay, (2000)

PM: Peso molecular

K_{OW}: Coeficiente de reparto octanol – agua

K_{OA}: Coeficiente de reparto octanol – aire

K_{AW}: Coeficiente de reparto aire – agua

H: Constante de Henry

Altos valores de log K_{OW} indican que el compuesto es hidrofóbico, por lo tanto, serán sorbidos en el carbono orgánico disuelto y superficies. De igual manera, valores altos presentados en el coeficiente de partición octanol – aire tienden a ser sorbidos en las partículas de aerosol, suelo y vegetación. Asimismo, valores altos de log K_{AW} tienden a evaporarse rápidamente del agua. Aunque el DEHP presenta un coeficiente negativo lo cual indica que podría ser sorbido en los sólidos suspendidos en la columna de agua (Cousins y Mackay, 2000).

Regulación del DEHP

De acuerdo al centro de enfermedades y control de Estados Unidos, el DEHP se encuentra catalogado en la lista de prioridades de sustancias peligrosas (USEPA, 2007). También es mencionado en la lista de productos químicos del programa de detección de disruptores endocrinos de la USEPA, cuya finalidad es identificar los productos químicos y sus posibles efectos en el sistema endocrino humano (USEPA, 2011). A nivel mundial, la Unión Europea y la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha recomendado limitar la concentración de DEHP a 8 µg/L en aguas potables, (OMS 2004; Serôdio y Nogueira 2006).

De igual manera, la USEPA también ha regulado la concentración de DEHP a un nivel máximo de 6 µg/L en las aguas de consumo basado en defectos reproductivos causados por DEHP (USEPA 2001). Algunos países como Australia, Japón y Nueva Zelanda han regulado el valor máximo de DEHP en el agua potable en 9, 100 y 10 µg/L, respectivamente (Maycock et al., 2008). Por sus propiedades de sorción, el DEHP se ha encontrado principalmente en lodos residuales; la Unión Europea ha recomendado una concentración de 100 mg/kg en lodo deshidratado para la aplicación segura como acondicionador de suelos. Sin embargo, en Dinamarca el límite se reduce a 50 mg/kg de peso seco (Cheng et al., 2000). Son pocos los países industrializados que han puesto énfasis en el marco legal y normativo del DEHP, debido a su bajo costo de producción y sus características químicas manipulables sigue siendo producido a grandes volúmenes y utilizado para la fabricación de otros plásticos.

DEHP en las matrices ambientales

Agua

La abundancia de DEHP en el medio acuoso está relacionada principalmente con su utilización y producción extensiva. Los residuos domésticos, de lavandería y de lavado de coches representan las principales fuentes de concentraciones más altas de DEHP en aguas residuales (Dargnat et al., 2009). Debido a sus propiedades altamente hidrofóbicas, el principal destino del DEHP en agua y aguas residuales podría ser la adsorción a los sólidos suspendidos (Magdoui et al., 2013). Uno de los principales transportes en cuerpos de agua salada, es la deposición atmosférica; así como la lixiviación de los microplásticos podría ser una fuente potencial (Zhang et al., 2018). Las concentraciones que se han registrado de DEHP en agua, se presentan en el cuadro 2.

Suelo

Las principales causas de contaminación en el suelo por el di (2-etilhexil) ftalato se deben a los residuos sólidos urbanos, riego de aguas residuales y películas agrícolas de plástico (He et al., 2015). El DEHP se ha registrado en suelos con vocación agrícola siendo impactados por la deposición atmosférica y los lodos de las plantas de tratamientos de aguas residuales aplicados como enmienda orgánica (Zeng et al., 2009).

Un factor importante en las modificaciones de las concentraciones y el destino del DEHP en el suelo, son las condiciones meteorológicas; debido a procesos de evaporación, lixiviación y deposición. Por lo tanto, podrían contribuir a la contaminación atmosférica y del agua (Zeng et al., 2009; Wang et al., 2012). Las concentraciones que se han registrado de DEHP en suelo, se presentan en el cuadro 3.

Sedimento

Los sedimentos son tanto fuentes como sumideros para la distribución y bioacumulación del DEHP en el agua. Por lo tanto, el DEHP en los sedimentos puede estar presente en concentraciones altas (Gao et al., 2017). Debido a su alta hidrofobia y baja solubilidad, el DEHP tiende a ser absorbido en la fracción orgánica de los sedimentos (Cheng et al., 2017). A medida que haya más materia orgánica en los sedimentos, existe mayor posibilidad de que adsorba DEHP (Lee et al., 2019). Las concentraciones que se han registrado de DEHP en sedimento, se presentan en el cuadro 4.

Lodos

El DEHP puede estar acumulado en lodos reciclados en suelos agrícolas, esto representa una fuente de contaminación para suelo y agua causada por la lixiviación (Net et al., 2015). Por otra parte, la utilización de lodos de plantas de tratamiento en la agricultura, puede ser una forma de exposición humana y por lo tanto la introducción del contaminante a la cadena trófica. Existe una necesidad de asegurar que los lodos estén libres de estos contaminantes antes de su utilización (Amir et al., 2005). Las concentraciones que se han registrado de DEHP en lodos, se presentan en el cuadro 5.

Aire

Los parámetros meteorológicos principalmente la temperatura afectan el destino y su distribución entre las fases de gas y de partículas (Net et al., 2015; Teil et al., 2016). La velocidad del viento también puede afectar la dispersión y dilución atmosférica (He y Balasubramanian, 2010). Una posible fuente de DEHP en la tropósfera del Ártico puede estar asociada con el transporte a gran distancia desde las latitudes medias y la posterior deposición en la capa de nieve o hielo donde se libera a la atmósfera con el aumento de la temperatura ambiente durante los meses de primavera y verano (Fu et al., 2013). Las concentraciones que se han registrado de DEHP en aire, se presentan en el cuadro 6.

Cuadro 2. Concentraciones de DEHP en agua.

Matriz	Concentración	Localización	Referencia
Agua residual (µg/L)	356 - 702	Hidalgo, México	Gibson et al., 2007
	1.74 – 182	Berlín, Alemania	Fromme et al., 2002
	0.04	Francia	Dargnat et al., 2009
Agua superficial (µg/L)	16,600	Malasia	Tan, 1995
	9,300	Taiwán, China	Yuan et al., 2002
	4,300	Italia	Vitali et al., 1997
	330	Holanda	Peijnenburg y Strujis, 2006
	320	Holanda	Vethaak et al., 2005
	170	Guangzhou, China	Zeng et al., 2008
	Agua subterránea (µg/L)	0.0066 – 0.025	Hidalgo, México
Lixiviado de vertedero (µg/L)	72.49 – 232.50	Wuhan, China	Zhang and Wang, 2009
	1.61 – 81.59	Wuhan, China	Zhang and Wang, 2009
	1.71	Yichang, China	Zhang and Wang, 2009
	10 – 49	Japón	Asakura et al., 2004
	9.6 – 39	Japón	Asakura et al., 2004
	5 – 9	Suecia	Jonsson et al., 2003
	6	Suecia	Jonsson et al., 2003
	3	Dinamarca	Jonsson et al., 2003
	20	Alemania	Jonsson et al., 2003
	460	Italia	Jonsson et al., 2003
	88	Italia	Jonsson et al., 2003

Cuadro 3. Concentraciones de DEHP en suelo.

Matriz	Concentración	Localización	Referencia
Suelo (mg/kg)	105	Nanjing, China	Wang et al., 2016
	67.06	Kaohsiung, Taiwan	Kaewlaoyoong et al., 2018
	5.15	Beijing, China	Li et al., 2016
	4.61	Heilongjiang, China	Xu et al., 2008
	2.7	Beijing, China	Ma et al., 2003
	2.45	Nanjing, China	Wang et al., 2013
	1.31	Five regions in Czech Republic	Daňková et al., 2012
	1.22	Yellow River Delta, China	Yang et al., 2013
	1.1	Roskilde, Denmark	Vikelsee et al., 2002
	0.82	31 provinces in China	Niu et al., 2014
	0.60	Guangzhou, China	Zeng et al., 2008
	0.44	Kaohsiung, Taiwan	Kaewlaoyoong et al., 2018
	0.29	Shandong Peninsula, China	Li et al., 2016
	0.26	Tianjin, China	Kong et al., 2012
	0.22	Kaohsiung, Taiwan	Kaewlaoyoong et al., 2018
	0.14	Hebei, China	Zhang et a., 2015
	0.12	Paris, France	Tran et al., 2015
	0.07	China	Mo et al., 2008
	0.05	Kaohsiung, Taiwan	Kaewlaoyoong et al., 2018
	0.03	Roskilde, Denmark	Vikelsee et al., 2002
0.0008	China	Mo et al., 2008	

Cuadro 4. Concentraciones de DEHP en sedimento.

Matriz	Concentración	Localización	Referencia
	9.29 – 50.69	Yellow River	Sha et al., 2007
	0.25 – 43.12	Anzali Wetlands, Caspian Sea (Iran)	Hassanzadeh et al., 2014
	0.574 – 21.55	Kaohsiung Harbor, Taiwan	Chen et al., 2017
	0.21 – 14.16	Pearl River Delta, Guangzhou	Zeng et al., 2008
	0.21 – 8.44	Berlín, Germany	Fromme et al., 2002
	ND – 8.85	Changjiang River Estuary	Zhang et al., 2018
	0.004 – 4.38	Lazhiou Bay	Xiao et al., 2010
	0.330 – 3.68	Bohai Sea	Zhang et al., 2018
	ND – 3.2	Coastal zone of Qingdao	Zhang et al., 2016
	0.310 – 2.73	HaiHe River	Chi, 2009
	1.55	Qiantang River	Sun et al., 2013
	0.792 – 1.54	Changjiang River	Du et al., 2013
Sedimento (mg/kg)	0.43 – 1.23	Yellow Sea	Zhang et al., 2018
	0.02 – 1.12	Freshwater Systems of Venda	Fatoki et al., 2009
	0.02 – 0.82	Ogun River catchments, Nigeria	Adeniyi et al., 2011
	0.004 – 0.39	Jiulong River, Southeast China	Li et al., 2017
	0.29	Chaohu Lake	Kang et al., 2016
	0.29	Quanzhou Bay	Zhuang et al., 2011
	0.27	Kaveri River, India	Selvaraj et al., 2015
	ND – 0.015	Yellow Sea	Mi et al., 2019
	ND – 0.0159	Bohai Sea	Mi et al., 2019
	ND – 0.004	Changjiang River Estuary	Zhang et al., 2017
	0.00006	Maowei Sea Littoral, Guangxi	Liao et al., 2015

ND: No determinado

Cuadro 5. Concentraciones de DEHP en lodo.

Matriz	Concentración	Localización	Referencia
Lodos de PTAR (mg/kg)	27.9 – 154	Berlín, Alemania	Fromme et al., 2002
	0.5	Francia	Dargnat et al., 2009

Cuadro 6. Concentraciones de DEHP en aire.

Matriz	Concentración	Localización	Referencia
Fase particulada (ng/m ³)	3.10 – 15.26	Asan Lake of Korea	Lee et al., 2019
Fase gaseosa (ng/m ³)	0.13 – 0.54		

Remoción del di (2-etilhexil) ftalato por diferentes tecnologías

Tratamientos físicos

Para los procesos de adsorción se utilizan materiales adsorbentes orgánicos o inorgánicos (carbón activo, nanotubos de carbono, triacetato de celulosa, adsorbentes poliméricos, quitosano, biomasa, entre otros) y son considerados eficaces para eliminar el DEHP, de las aguas residuales (Julinova y Slavik, 2012). La biomasa de algas (*Sargassum siliquastrum*, *Sargassum angustifolium*, *Sargassum hemiphyllum* y algas marinas) del medio marino de Hong Kong fue empleada para adsorber el DEHP y se obtuvo una alta eficiencia de adsorción utilizando algas marinas varadas (98.38%) y *Sargassum siliquastrum* (99.09%). La capacidad de adsorción de la biomasa fue de 5.68 mg/g de algas marinas blanqueadas, mientras que la capacidad de adsorción utilizando *Sargassum siliquastrum* fue de 6.54 mg/g. (Chan et al., 2004). Chen y Chung (2007) seleccionaron las perlas de quitosano como material biosorbente para eliminar el DEHP en solución acuosa. Los resultados indicaron que fue altamente adsorbido con una eficiencia de recuperación del 71.5 %.

Tratamientos químicos

Con el uso de tensoactivos, se puede aumentar la degradación de los ésteres de ftalatos en la digestión anaeróbica, haciendo que los compuestos se mezclen en su fase micelar y aumentando así su disponibilidad para los microorganismos (Chang et al. 2004; Liao et al. 2010). Yuan et al., (2010) lograron una eliminación del 93% de DEHP utilizando el surfactante "Brij 35" durante la digestión anaeróbica.

Otros métodos incluyen procesos de oxidación avanzados. Khan y Jung (2008) han utilizado un proceso de ozonización para eliminar el DEHP de las aguas residuales utilizando catalizadores homogéneos (Fe^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} y Mn^{2+}) y heterogéneos GAC (por sus siglas en inglés, Granular Activated Carbon). Entre los catalizadores homogéneos, se reportó la alta eficiencia de remoción (75%) utilizando Cr^{3+} como catalizador. Sin embargo, los grupos básicos en la superficie del GAC (cromeno, pironas, grafeno) actúan como centros catalíticos para la descomposición del O_3 en OH° y aseguran el 81% de la eliminación del DEHP después de 120 minutos de tratamiento.

Otro estudio demostró la eliminación en solución acuosa, utilizando H_2O_2 como oxidante asistido con luz UV durante 180 minutos. El $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ es capaz de degradar el 100%, y en ausencia del H_2O_2 el 73.5% del DEHP (Chen, 2010). Chung y Chen (2009) aseguraron la eliminación del 100% de DEHP (75 $\mu\text{g}/\text{L}$) de la solución acuosa después de 150 minutos de irradiación y utilizando 100 $\mu\text{g}/\text{L}$ de TiO_2 como catalizador.

Tratamientos biológicos

El DEHP puede eliminarse mediante el compostaje aeróbico en condiciones termófilas (Cheng et al., 2008), y su biodegradación se produce principalmente mediante la desalquilación y desesterificación (Amir et al., 2005). Bago et al., (2005) reportaron una remoción del 94% en los lodos de plantas de tratamiento eliminado mediante compostaje o mezclado con tierra secada térmicamente en un plazo de 9 meses. Dos especies de plantas conocidas como hiperacumuladores (*Elsholtzia splendens* y *Sedum plumbizincicola*), también han sido ampliamente utilizadas, donde el DEHP puede ser eliminado hasta en un 80% (Ma et al., 2012). Chiu et al., (2009) aplicó compost usado con hongo *Pleurotus pulmonarius* (rico en enzimas ligninolíticas) en un suelo industrial afectado por DEHP, obteniendo una eficiencia de remoción del 51-54%.

Conclusiones

El DEHP por su propiedad hidrofóbica tiende a acumularse en los sedimentos, suelos y lodos de las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) donde se registran las mayores concentraciones. Las tecnologías más empleadas para la remoción son adsorción, procesos avanzados de oxidación y bioestimulación.

De acuerdo a los estudios observados, son los países que poseen un alto grado de desarrollo industrial y socioeconómico donde se han encontrado mayor afectación de los compartimientos ambientales. Sin embargo, algunos países ya han regulado dicho compuesto, pero no sucede con los países en vías de desarrollo y subdesarrollados, los cuales, lo siguen usando de manera no controlada. Mientras tanto, la aplicación de las tecnologías antes mencionadas se enfoca en disminuir la concentración; lo cual no garantiza que la matriz este completamente restaurada, debido a que no se llevan a cabo pruebas toxicológicas y genotóxicas que proporcionen una mejor evaluación de los riesgos potenciales a la salud humana y al ambiente.

Referencias

- Abb, M., Heinrich, T., Sorkau, E., & Lorenz, W. (2009). Phthalates in house dust. *Environment International*, 35(6), 965-970.
- Adeniyi, A. A., Okedeyi, O. O., & Yusuf, K. A. (2011). Flame ionization gas chromatographic determination of phthalate esters in water, surface sediments and fish species in the Ogun river catchments, Ketu, Lagos, Nigeria. *Environmental monitoring and assessment*, 172(1-4), 561-569.
- Amir, S., Hafidi, M., Merlina, G., Hamdi, H., Jouraiphy, A., El Gharous, M., & Revel, J. C. (2005). Fate of phthalic acid esters during composting of both lagooning and activated sludges. *Process Biochemistry*, 40(6), 2183-2190.
- Asakura, H., Matsuto, T., & Tanaka, N. (2004). Behavior of endocrine-disrupting chemicals in leachate from MSW landfill sites in Japan. *Waste Management*, 24(6), 613-622.
- Bago, B., Martin, Y., Mejia, G., Broto-Puig, F., Diaz-Ferrero, J., Agut, M., & Comellas, L. (2005). Di-(2-ethylhexyl) phthalate in sewage sludge and post-treated sludge: quantitative determination by HRGC-MS and mass spectral characterization. *Chemosphere*, 59(8), 1191-1195.
- Chan, H. W., Lau, T. C., Ang, P. O., Wu, M., & Wong, P. K. (2004). Biosorption of di (2-ethylhexyl) phthalate by seaweed biomass. *Journal of applied phycology*, 16(4), 263-274.
- Chang, B. V., Yang, C. M., Cheng, C. H., & Yuan, S. Y. (2004). Biodegradation of phthalate esters by two bacteria strains. *Chemosphere*, 55(4), 533-538.
- Chen, C. Y., & Chung, Y. C. (2007). Removal of phthalate esters from aqueous solution by molybdate impregnated chitosan beads. *Environmental engineering science*, 24(6), 834-841.
- Chen, C. Y. (2010). The oxidation of di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in aqueous solution by UV/H₂O₂ photolysis. *Water, Air, & Soil Pollution*, 209(1-4), 411-417.
- Chen, C. F., Chen, C. W., Ju, Y. R., & Dong, C. D. (2017). Determination and assessment of phthalate esters content in sediments from Kaohsiung Harbor, Taiwan. *Marine pollution bulletin*, 124(2), 767-774.
- Cheng, H. F., Chen, S. Y., & Lin, J. G. (2000). Biodegradation of di-(2-ethylhexyl) phthalate in sewage sludge. *Water science and technology*, 41(12), 1-6.
- Cheng, H. F., Kumar, M., & Lin, J. G. (2008). Degradation kinetics of di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) and organic matter of sewage sludge during composting. *Journal of hazardous materials*, 154(1-3), 55-62.

- Cheng, M., Zeng, G., Huang, D., Yang, C., Lai, C., Zhang, C., & Liu, Y. (2018). Tween 80 surfactant-enhanced bioremediation: toward a solution to the soil contamination by hydrophobic organic compounds. *Critical reviews in biotechnology*, 38(1), 17-30.
- Chi, J. (2009). Phthalate acid esters in *Potamogeton crispus* L. from Haihe River, China. *Chemosphere*, 77(1), 48-52.
- Chiu, S. W., Gao, T., Chan, C. S. S., & Ho, C. K. M. (2009). Removal of spilled petroleum in industrial soils by spent compost of mushroom *Pleurotus pulmonarius*. *Chemosphere*, 75(6), 837-842.
- Chung, Y. C., & Chen, C. Y. (2009). Degradation of di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) by TiO₂ photocatalysis. *Water, air, and soil pollution*, 200(1-4), 191-198.
- Corcoran, P. L., Jazvac, K., Ballent, A. (2018). Plastics and the Anthropocene. Encyclopedia of the Anthropocene, Elsevier, 163-170.
- Cousins, I., & Mackay, D. (2000). Correlating the physical-chemical properties of phthalate esters using the three solubility approach. *Chemosphere*, 41(9), 1389-1399.
- Dankova, R., Jarošova, A., & Polakova, Š. (2012). The monitoring of dibutyl phthalate and di-2-ethylhexyl phthalate in Moravian agricultural soils. *Mendel Net*, 35, 736-747.
- Dargnat, C., Teil, M. J., Chevreuil, M., & Blanchard, M. (2009). Phthalate removal throughout wastewater treatment plant: case study of Marne Aval station (France). *Science of the total environment*, 407(4), 1235-1244.
- Dris, R., Imhof, H., Sanchez, W., Gasperi, J., Galgani, F., Tassin, B., & Laforsch, C. (2015). Beyond the ocean: contamination of freshwater ecosystems with (micro-) plastic particles. *Environmental Chemistry*, 12(5), 539-550.
- Du, X., Li, X., Luo, T., Matsuur, N., Kadokami, K., & Chen, J. (2013). Occurrence and aquatic ecological risk assessment of typical organic pollutants in water of Yangtze River estuary. *Procedia Environmental Sciences*, 18, 882-889.
- Ellen MacArthur Foundation. (2016). The New Plastics Economy: Rethinking the Future of Plastics. Recuperado de https://www.ellenmacarthurfoundation.org/assets/downloads/EllenMacArthurFoundation_TheNewPlasticsEconomy_Pages.pdf.
- Fatoki, O. S., Bornman, M., Ravandhalala, L., Chimuka, L., Genthe, B., & Adeniyi, A. (2010). Phthalate ester plasticizers in freshwater systems of Venda, South Africa and potential health effects. *Water Sa*, 36(1).

Fromme, H., Kuchler, T., Otto, T., Pilz, K., Müller, J., & Wenzel, A. (2002). Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment. *Water research*, 36(6), 1429-1438.

Fu, P. Q., Kawamura, K., Chen, J., Charriere, B., & Sempere, R. (2013). Organic molecular composition of marine aerosols over the Arctic Ocean in summer: contributions of primary emission and secondary aerosol formation.

Gao, M., Dong, Y., Zhang, Z., Song, W., & Qi, Y. (2017). Growth and antioxidant defense responses of wheat seedlings to di-n-butyl phthalate and di (2-ethylhexyl) phthalate stress. *Chemosphere*, 172, 418-428.

Gibson, R., Becerril-Bravo, E., Silva-Castro, V., & Jiménez, B. (2007). Determination of acidic pharmaceuticals and potential endocrine disrupting compounds in wastewaters and spring waters by selective elution and analysis by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1169(1-2), 31-39.

Hassanzadeh, N., Sari, A. E., Khodabandeh, S., & Bahramifar, N. (2014). Occurrence and distribution of two phthalate esters in the sediments of the Anzali wetlands on the coast of the Caspian Sea (Iran). *Marine pollution bulletin*, 89(1-2), 128-135.

He, J., & Balasubramanian, R. (2010). Semi-volatile organic compounds (SVOCs) in ambient air and rainwater in a tropical environment: concentrations and temporal and seasonal trends. *Chemosphere*, 78(6), 742-751.

He, L., Gielen, G., Bolan, N. S., Zhang, X., Qin, H., Huang, H., & Wang, H. (2015). Contamination and remediation of phthalic acid esters in agricultural soils in China: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(2), 519-534.

Hermabessiere, L., Dehaut, A., Paul-Pont, I., Lacroix, C., Jezequel, R., Soudant, P., & Duflos, G. (2017). Occurrence and effects of plastic additives on marine environments and organisms: A review. *Chemosphere*, 182, 781-793.

Horton, A. A., Walton, A., Spurgeon, D. J., Lahive, E., & Svendsen, C. (2017). Microplastics in freshwater and terrestrial environments: Evaluating the current understanding to identify the knowledge gaps and future research priorities. *Science of the total environment*, 586, 127-141.

Jonsson, S., Ejlertsson, J., Ledin, A., Mersiowsky, I., & Svensson, B. H. (2003). Mono-and diesters from o-phthalic acid in leachates from different European landfills. *Water research*, 37(3), 609-617.

Julinová, M., & Slavík, R. (2012). Removal of phthalates from aqueous solution by different adsorbents: a short review. *Journal of Environmental Management*, 94(1), 13-24.

- Kaewlaoyong, A., Vu, C. T., Lin, C., Liao, C. S., & Chen, J. R. (2018). Occurrence of phthalate esters around the major plastic industrial area in southern Taiwan. *Environmental earth sciences*, 77(12), 457.
- Kang, L., Wang, Q. M., He, Q. S., He, W., Liu, W. X., Kong, X. Z., ... & Xu, F. L. (2016). Current status and historical variations of phthalate ester (PAE) contamination in the sediments from a large Chinese lake (Lake Chaohu). *Environmental Science and Pollution Research*, 23(11), 10393-10405.
- Khan, M. H., & Jung, J. Y. (2008). Ozonation catalyzed by homogeneous and heterogeneous catalysts for degradation of DEHP in aqueous phase. *Chemosphere*, 72(4), 690-696.
- Kimber, I., & Dearman, R. J. (2010). An assessment of the ability of phthalates to influence immune and allergic responses. *Toxicology*, 271(3), 73-82.
- Kong, S., Ji, Y., Liu, L., Chen, L., Zhao, X., Wang, J., & Sun, Z. (2012). Diversities of phthalate esters in suburban agricultural soils and wasteland soil appeared with urbanization in China. *Environmental Pollution*, 170, 161-168.
- Lee, Y. M., Lee, J. E., Choe, W., Kim, T., Lee, J. Y., Kho, Y., & Zoh, K. D. (2019). Distribution of phthalate esters in air, water, sediments, and fish in the Asan Lake of Korea. *Environment international*, 126, 635-643.
- Li, K., Ma, D., Wu, J., Chai, C., & Shi, Y. (2016). Distribution of phthalate esters in agricultural soil with plastic film mulching in Shandong Peninsula, East China. *Chemosphere*, 164, 314-321.
- Li, R., Liang, J., Gong, Z., Zhang, N., & Duan, H. (2017). Occurrence, spatial distribution, historical trend and ecological risk of phthalate esters in the Jiulong River, Southeast China. *Science of The Total Environment*, 580, 388-397.
- Li, R., Liang, J., Duan, H., & Gong, Z. (2017). Spatial distribution and seasonal variation of phthalate esters in the Jiulong River estuary, Southeast China. *Marine pollution bulletin*, 122(1-2), 38-46.
- Liao, C. S., Chen, L. C., Chen, B. S., & Lin, S. H. (2010). Bioremediation of endocrine disruptor di-n-butyl phthalate ester by *Deinococcus radiodurans* and *Pseudomonas stutzeri*. *Chemosphere*, 78(3), 342-346.
- Liao, R., Xv, Y., Zhong, Q., & Xv, S. (2015). Distribution and chemical composition of phthalic acid esters in surface sediments in Guangxi Maowei sea littoral. *Journal Ecology Environmental Sciences*, 24, 1342-1347.

- Lithner, D., Larsson, Å., & Dave, G. (2011). Environmental and health hazard ranking and assessment of plastic polymers based on chemical composition. *Science of the Total Environment*, 409(18), 3309-3324.
- Ma, L. L., Chu, S. G., & Xu, X. B. (2003). Phthalate residues in greenhouse soil from Beijing suburbs, People's Republic of China. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 71(2), 0394-0399.
- Ma, T., Luo, Y., Christie, P., Teng, Y., & Liu, W. (2012). Removal of phthalic esters from contaminated soil using different cropping systems: A field study. *European Journal of Soil Biology*, 50, 76-82.
- Magdouli, S., Daghbir, R., Brar, S. K., Drogui, P., & Tyagi, R. D. (2013). Di 2-ethylhexylphthalate in the aquatic and terrestrial environment: a critical review. *Journal of environmental management*, 127, 36-49.
- Maycock, D., Fawell, J., Merrington, G., & Watts, C. (2008). Review of England and Wales monitoring data for which a national or international standard has been set. *Guidel. Drinking Water Qual*, 1-14.
- Mi, L., Xie, Z., Zhao, Z., Zhong, M., Mi, W., Ebinghaus, R., & Tang, J. (2019). Occurrence and spatial distribution of phthalate esters in sediments of the Bohai and Yellow seas. *Science of The Total Environment*, 653, 792-800.
- Net, S., Sempere, R., Delmont, A., Paluselli, A., & Ouddane, B. (2015). Occurrence, fate, behavior and ecotoxicological state of phthalates in different environmental matrices. *Environmental Science & Technology*, 49(7), 4019-4035.
- Niu, L., Xu, Y., Xu, C., Yun, L., & Liu, W. (2014). Status of phthalate esters contamination in agricultural soils across China and associated health risks. *Environmental Pollution*, 195, 16-23.
- PlasticsEurope. (2017). An analysis of European plastics production, demand and waste data. 1 - 44. Recuperado de https://www.plasticseurope.org/application/files/5715/1717/4180/Plastics_the_facts_2017_FINAL_for_website_one_page.pdf
- Peijnenburg, W. J., & Struijs, J. (2006). Occurrence of phthalate esters in the environment of the Netherlands. *Ecotoxicology and environmental safety*, 63(2), 204-215.
- Rodrigues, M. O., Abrantes, N., Gonçalves, F. J. M., Nogueira, H., Marques, J. C., & Gonçalves, A. M. M. (2019). Impacts of plastic products used in daily life on the environment and human health: What is known? *Environmental toxicology and pharmacology*, 103239.

- Selvaraj, K. K., Sundaramoorthy, G., Ravichandran, P. K., Girijan, G. K., Sampath, S., & Ramaswamy, B. R. (2015). Phthalate esters in water and sediments of the Kaveri River, India: environmental levels and ecotoxicological evaluations. *Environmental geochemistry and health*, 37(1), 83-96.
- Sha, Y., Xia, X., Yang, Z., & Huang, G. H. (2007). Distribution of PAEs in the middle and lower reaches of the Yellow River, China. *Environmental monitoring and assessment*, 124(1-3), 277-287.
- Staples, C. A., Peterson, D. R., Parkerton, T. F., & Adams, W. J. (1997). The environmental fate of phthalate esters: a literature review. *Chemosphere*, 35(4), 667-749.
- Sun, J., Huang, J., Zhang, A., Liu, W., & Cheng, W. (2013). Occurrence of phthalate esters in sediments in Qiantang River, China and inference with urbanization and river flow regime. *Journal of hazardous materials*, 248, 142-149.
- Tan, G. H. (1995). Residue levels of phthalate esters in water and sediment samples from the Klang River basin. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 54(2), 171-176.
- Tran, B. C., Teil, M. J., Blanchard, M., Alliot, F., & Chevreuil, M. (2015). Fate of phthalates and BPA in agricultural and non-agricultural soils of the Paris area (France). *Environmental Science and Pollution Research*, 22(14), 11118-11126.
- Takaro, T. K., Diamond, M., Gobas, F., Otton, V., & Shu, H. (2010). Critical review of phthalates in Canadian indoor environments. *Ottawa: Health Canada, Safe Environments Program*, 1-128.
- Teil, M. J., Moreau-Guigon, E., Blanchard, M., Alliot, F., Gasperi, J., Cladière, M., & Chevreuil, M. (2016). Endocrine disrupting compounds in gaseous and particulate outdoor air phases according to environmental factors. *Chemosphere*, 146, 94-104.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA), (2001). Methods for organic chemical analysis of municipal and industrial wastewater, method 606: phthalate esters. Code Fed. Regul. 40. Recuperado de https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-09/documents/method_606_1984.pdf
- United States Environmental Protection Agency (USEPA), (2007). Phthalates, Teach chemical summary; Toxicity and Exposure Assessment for Children's Health. Recuperado de <https://archive.epa.gov/region5/teach/web/html/teachsummaries.html>
- United States Environmental Protection Agency (USEPA), (2011). Endocrine Disruptor Screening Program (EDSP) Policies and Procedures. Recuperado de <https://www.epa.gov/endocrine-disruption/endocrine-disruptor-screening-program-edsp-policies-and-procedures>

- Vethaak, A. D., Lahr, J., Schrap, S. M., Belfroid, A. C., Rijs, G. B., Gerritsen, A., ... & Legler, J. (2005). An integrated assessment of estrogenic contamination and biological effects in the aquatic environment of The Netherlands. *Chemosphere*, 59(4), 511-524.
- Vikelsøe, J., Thomsen, M., & Carlsen, L. (2002). Phthalates and nonylphenols in profiles of differently dressed soils. *Science of the Total Environment*, 296(1-3), 105-116.
- Vitali, M., Guidotti, M., Macilenti, G., & Cremisini, C. (1997). Phthalate esters in freshwaters as markers of contamination sources—a site study in Italy. *Environment International*, 23(3), 337-347.
- Wang, W., Zhang, Y., Wang, S., Fan, C. Q., & Xu, H. (2012). Distributions of phthalic esters carried by total suspended particulates in Nanjing, China. *Environmental monitoring and assessment*, 184(11), 6789-6798.
- Wang, J., Luo, Y., Teng, Y., Ma, W., Christie, P., & Li, Z. (2013). Soil contamination by phthalate esters in Chinese intensive vegetable production systems with different modes of use of plastic film. *Environmental Pollution*, 180, 265-273.
- Wang, J., Lv, S., Zhang, M., Chen, G., Zhu, T., Zhang, S., ... & Luo, Y. (2016). Effects of plastic film residues on occurrence of phthalates and microbial activity in soils. *Chemosphere*, 151, 171-177.
- Xiao, X. T., Ma, Q. M., & Cheng, H. O. (2010). Distribution of BDP and DEHP in superficial sediment of Laizhou Bay. *Marine Environmental Science*, 3.
- Xu, G., Li, F., & Wang, Q. (2008). Occurrence and degradation characteristics of dibutyl phthalate (DBP) and di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in typical agricultural soils of China. *Science of the Total Environment*, 393(2-3), 333-340.
- Yang, Y., Xie, Y., & Tian, F. (2013). Determination of phthalate plasticizers in daily foods and their migration from food packages. *Se pu= Chinese journal of chromatography*, 31(7), 674-678.
- Yang, D. D., Feng, L. J., Li, M. F., Duan, X. Y., Zhang, D. H., & Li, X. G. (2016). Occurrence and distribution characteristics of phthalic acid esters (PAEs) in surface sediments of the East China Sea. *J Ocean Univ China*, 46(3), 074-081.
- Yuan, S. Y., Huang, I. C., & Chang, B. V. (2010). Biodegradation of dibutyl phthalate and di-(2-ethylhexyl) phthalate and microbial community changes in mangrove sediment. *Journal of hazardous materials*, 184(1-3), 826-831.
- Zeng, F., Cui, K., Xie, Z., Wu, L., Liu, M., Sun, G., & Zeng, Z. (2008). Phthalate esters (PAEs): emerging organic contaminants in agricultural soils in peri-urban areas around Guangzhou, China. *Environmental Pollution*, 156(2), 425-434.

- Zeng, F., Cui, K., Xie, Z., Liu, M., Li, Y., Lin, Y., ... & Li, F. (2008). Occurrence of phthalate esters in water and sediment of urban lakes in a subtropical city, Guangzhou, South China. *Environment International*, 34(3), 372-380.
- Zeng, F., Cui, K., Xie, Z., Wu, L., Luo, D., Chen, L., & Sun, G. (2009). Distribution of phthalate esters in urban soils of subtropical city, Guangzhou, China. *Journal of Hazardous Materials*, 164(2-3), 1171-1178.
- Zhang, C., & Wang, Y. (2009). Removal of dissolved organic matter and phthalic acid esters from landfill leachate through a complexation–flocculation process. *Waste management*, 29(1), 110-116.
- Zhang, Y., Liang, Q., Gao, R., Hou, H., Tan, W., He, X., & Wang, X. (2015). Contamination of phthalate esters (PAEs) in typical wastewater-irrigated agricultural soils in Hebei, North China. *PLoS one*, 10(9), e0137998.
- Zhang, D., Liu, N., Zhu, Z., Lu, J., Lin, X., Zhang, Y., Yin, P. (2016). Distribution, chemical composition and ecological risk assessment of phthalic acid esters in surface sediments from typical coastal zones of qingdao city. *Marine Environmental Science*, 35(5), 652-657.
- Zhang, Z. M., Zhang, H. H., Jian-Long, L. J., & Gui-Peng, Y. A. N. G. (2017). Determination of phthalic acid esters in seawater and sediment by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 45(3), 348-356.
- Zhang, Z. M., Zhang, H. H., Zhang, J., Wang, Q. W., & Yang, G. P. (2018). Occurrence, distribution, and ecological risks of phthalate esters in the seawater and sediment of Changjiang River Estuary and its adjacent area. *Science of The Total Environment*, 619, 93-102.
- Zhang, Z. M., Zhang, H. H., Zou, Y. W., & Yang, G. P. (2018). Distribution and ecotoxicological state of phthalate esters in the sea-surface microlayer, seawater and sediment of the Bohai Sea and the Yellow Sea. *Environmental pollution*, 240, 235-247.
- Zhuang, W., & Yao, W. (2011). Distribution and chemical composition of phthalate esters in seawater and sediments in Quanzhou Bay, China. *Journal of Environment and Health*, 28(10), 898-902.

**CAPÍTULO III. REDUCCIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA EN
SUELO CON DI (2-ETILHEXIL) FTLATO POR OXIDACIÓN
QUÍMICA Y BIOLABRANZA**

Reducción de la toxicidad aguda en suelo con di (2-etilhexil) ftalato por oxidación química y biolabranza

Eder José Ordoñez-Frías ^a, Verónica Isidra Domínguez-Rodríguez ^a, Randy H. Adams ^{a*}

^a División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Carretera Villahermosa-Cárdenas Km. 0.5 S/N, Entronque a Bosques de Saloya, CP 86150, Villahermosa, Tabasco, México.

* Autor por correspondencia: drrandocan@hotmail.com

Resumen

La lixiviación del di (2-etilhexil) ftalato (DEHP) a fuentes de abastecimiento de agua subterránea podría modificar las propiedades organolépticas y toxicológicas. Sin embargo, esto depende de las propiedades fisicoquímicas del suelo y la sustancia. Esto podría ocasionar efectos adversos a la salud y ambiente de poblaciones aledañas. Por tal motivo, el propósito de este estudio fue evaluar la efectividad de la oxidación química y biolabranza en la reducción de toxicidad aguda en lixiviado de suelo contaminado con DEHP. Se usó como criterio de remediación la toxicidad aguda, evaluando los tratamientos mediante el método de contacto en papel filtro Protocolo No. 207 de la OECD con lombriz de tierra. El tratamiento de suelo contaminado presentó en los organismos de prueba rompimiento de la pared corporal desarrollando heridas sangrantes, así como expulsión de líquido celómico, mientras que las lombrices sobrevivientes mostraron disminución en el movimiento y la respuesta al estímulo llegó a ser casi nulo. El tratamiento con H₂O₂ al 2.5 % p/p de la técnica de oxidación química, presentó la mayor tasa de reducción de la toxicidad aguda hasta 94 %, por lo tanto, es factible técnicamente. Los tratamientos de la tecnología de biolabranza, a partir del quinto mes de evaluación, no presentan diferencias significativas con respecto al testigo negativo, siendo el tratamiento al que no se le adiciona fertilizante una opción más viable económicamente.

Palabras clave: Lombriz de tierra, Potencial de lixiviación, Remediación, Agua subterránea

Introducción

Alrededor de 100,000 sustancias se producen y utilizan en las industrias, los productos químicos son una parte integral de la vida cotidiana. El mercado mundial de productos químicos tiene un enorme impacto en el empleo y el crecimiento económico. Sin embargo, muchas sustancias se descargan en las matrices ambientales. Estos contaminantes tienen el potencial de inducir una gran variedad de efectos agudos y crónicos (alteración endocrina, inmunotoxicidad, trastornos neurológicos, cánceres) en la salud humana y los sistemas ambientales (Sánchez y Egea, 2018). Los contaminantes emergentes se pueden definir como sustancias que se han detectado en el ambiente, pero que actualmente no se incluyen en los programas de monitoreo de rutina; su destino, comportamiento y efectos (eco)-toxicológicos se desconocen (Siddique et al., 2016). Entre los contaminantes emergentes se encuentran los plastificantes cuya finalidad es incrementar la flexibilidad y vida útil de ciertos plásticos rígidos, en especial del cloruro de vinilo (PVC). Sin embargo, estos plastificantes no son polimerizados dentro de la estructura plástica, lo que ocasiona que con el uso y el paso del tiempo emigren al ambiente circundante (Bustamante et al., 2001). Uno de los plastificantes más utilizados es el del di (2-etilhexil) ftalato usado en productos de PVC, así como en dispositivos médicos, adhesivos, pinturas, tintas y comprimidos con recubrimiento entérico (Katsikantami et al., 2016). Dicho compuesto puede introducirse por vía dérmica, oral e inhalación en los seres humanos (Hauser y Calafat, 2005).

La caracterización de los sitios contaminados y la evaluación de las técnicas de remediación suelen implicar la determinación de la concentración de contaminantes en el suelo u otros medios contaminados (sedimentos, residuos semisólidos, etc.). Sin embargo, desde hace varias décadas es deseable, y en algunos casos verdaderamente necesario, incluir también bioensayos para dicha caracterización. Básicamente, esto se debe a dos factores. En primer lugar, en la biodegradación o transformación química de los contaminantes del suelo, los compuestos contaminantes a menudo no se mineralizan completamente, pero se producen otros productos intermedios. Por lo general, no todos los metabolitos son conocidos, y su toxicidad es desconocida o lo es muy poco. En segundo lugar, muchos procesos de meteorización, así como los tratamientos biorremediación/químicos, pueden no reducir en gran medida la concentración del compuesto parental, pero pueden reducir la biodisponibilidad a niveles suficientemente bajos como para que el riesgo para la salud pública y el medio ambiente sea mínimo (Domínguez et al., 2019).

Por lo tanto, para caracterizar un sitio o material tratado adecuadamente, se necesitan bioensayos además de determinaciones químicas. Se ha demostrado que la toxicidad de los contaminantes en el suelo puede variar debido a una variedad de factores además de la concentración de contaminantes.

Otros autores también han propuesto la toxicidad como el criterio principal para la remediación del suelo (Bosma et al., 1997; Alexander, 1999). En otros casos, aunque la biorremediación de compuestos orgánicos tiende a reducir la toxicidad, una remediación incompleta puede producir condiciones más tóxicas. Esto se observó en la biorremediación parcial de suelos de turba contaminados con petróleo crudo de un humedal. Mientras que la concentración de hidrocarburos se redujo en un 60%, la toxicidad aumentó tres veces por encima de los niveles de fondo (Adams et al., 2011). Se especuló que las bacterias no sólo degradaban el petróleo sino también parte del suelo turboso, liberando así petróleo que antes era absorbido por la turba y haciéndolo más biodisponible y tóxico. Además, algunos intermediarios de la biodegradación de hidrocarburos, como epóxidos, dioles, aldehídos, etc., son más tóxicos que los contaminantes iniciales no oxidados (Manahan, 1992; Brock et al., 1994). Pradhan et al., (1997) observaron condiciones más tóxicas en el tratamiento parcial (por oxidación química/biorremediación) de suelos contaminados con residuos de plantas de gas de fabricación alquitranada. Por lo tanto, en situaciones como ésta, es muy importante no sólo evaluar el éxito de la remediación basada en la concentración de contaminantes, sino también en la toxicidad. Con respecto a los compuestos potencialmente más tóxicos, por ejemplo, en la degradación de explosivos, algunos plaguicidas y productos orgánicos clorados en general, la posibilidad de producir metabolitos más tóxicos o de lograr sólo una desintoxicación parcial, subraya además la necesidad de evaluar la toxicidad del suelo tratado y de los desechos similares al suelo (Rochkind et al., 1986).

Un ejemplo de ello fue la demanda de la EPA de una tecnología de compostaje desarrollada por el ejército de los Estados Unidos para tratar suelos contaminados con explosivos (Kaplan y Kaplan, 1982). No se consideró suficiente para demostrar simplemente que el compuesto original estaba degradado, sino también que la toxicidad se había reducido a niveles aceptables.

Esto se debió a que se sospechaba que algunos de los intermediarios de la biodegradación podían ser más tóxicos que el compuesto original y que el tratamiento daba lugar en gran medida al secuestro químico del contaminante o de los productos de degradación (Isbister et al., 1984; Williams et al., 1992; Pennington et al., 1995; Kalderis et al., 2011). Los extractos del Procedimiento de Lixiviación por Precipitación Sintética (SPLP) fueron probados en *Ceriodaphnia dubia*, y larva de pez (*Pimephales promelas*) y en la prueba Ames. La supervivencia y la fecundidad estuvieron en el mismo rango que el control (lluvia artificial) en la prueba de *Ceriodaphnia dubia* y en la prueba de *Pimephales promelas*. En la prueba de Ames, las cepas de *Samonella* TA98 y TA100 mostraron varios reversibles (mutagenicidad) en el mismo rango que el control (Griest et al., 1990). Posteriormente, estas pruebas de toxicidad permitieron que esta técnica de remediación se utilizara para la limpieza de varios sitios contaminados con municiones en los Estados Unidos.

Por tal motivo, la selección de una técnica de remediación que mitigue los impactos negativos de dicho compuesto, depende de las características fisicoquímicas del contaminante y del tipo de suelo, las condiciones climáticas y la presencia de otros contaminantes potenciales. Los factores sociales y económicos también deben tenerse en cuenta, debido a que el rango de aplicación puede verse limitado por consideraciones de costos. (Morillo y Villaverde, 2017).

El principal propósito de la técnica de oxidación química en suelos contaminados es mineralizar los contaminantes a CO_2 , H_2O , otros compuestos inorgánicos o transformarlos en productos más biodegradables o inofensivos. Entre los agentes oxidantes más empleados se encuentra el peróxido de hidrógeno (Pavel y Gavrilescu, 2008). La aplicación de peróxido de hidrógeno implica generar radicales de hidroxilo (OH^\bullet), considerados como un oxidante no específico extremadamente poderoso, para reaccionar con compuestos orgánicos y reducir el potencial de lixiviación del suelo (Koolivand et al., 2014; Romero et al., 2018). También, es altamente inocuo para el ambiente, debido a que se descompone en O_2 y H_2O . Sin embargo, podría causar efectos negativos en los microorganismos y en las propiedades del suelo como la reducción de materia orgánica. Por otro lado, las técnicas de remediación biológica se emplean para la destrucción o transformación de contaminantes; a partir de la estimulación de los microorganismos utilizando los contaminantes como fuente de alimento y energía, siempre y cuando se proporcione oxígeno, nutrientes y humedad, así como un control en la temperatura y el pH (Pavel y Gavrilescu, 2008).

La biolabranza es un tratamiento *exsitu* que se lleva a cabo en la parte superficial del suelo o en celdas de tratamiento; consiste en labrar periódicamente el suelo contaminado. Esta técnica no requiere infraestructura pesada y es rentable. Sin embargo, las operaciones duran mucho tiempo, lo cual podría ocasionar malos olores y molestias visuales. Además, la lixiviación o volatilización de compuestos y metabolitos originales debe ser controlada y prevenida mediante una geomembrana (Morillo y Villaverde, 2017).

En la mayoría de estudios publicados en la literatura se han enfocado en aplicar tecnologías para remediar suelos agrícolas contaminado con DEHP, donde los parámetros de fertilidad son los criterios principales para su restauración. Sin embargo, las concentraciones son bajas en comparación con las que se presentan en suelos industriales donde la contaminación es de origen puntual. Por lo tanto, es importante realizar pruebas de factibilidad en las tecnologías a escala laboratorio con la finalidad de controlar los recursos materiales y económicos, llevándolo de manera efectiva a escala industrial. En países en vías de desarrollo, como es el caso de México no existe regulación, por lo tanto, es relevante llevar a cabo estudios sobre sus efectos potenciales en la salud y en el ambiente. La mayoría de las fabricas se establecieron en la periferia de las ciudades, pero en la actualidad, debido al incremento poblacional, muchas de estas industrias quedaron ubicadas en zonas urbanizadas.

En México, la producción del di (2-etilhexil) ftalato fue de 41,291 toneladas, de acuerdo con el Anuario Estadístico 2018 de la Asociación de la Industria Química, también se registraron seis empresas que fabrican y ocho que distribuyeron dicho compuesto. Los derrames, fugas, descargas y efluentes derivados de las actividades productivas y manejo inadecuado del di (2-etilhexil) ftalato afecta las matrices ambientales principalmente el suelo y agua. La lixiviación del di (2-etilhexil) ftalato a fuentes de abastecimiento de agua subterránea podría modificar las propiedades organolépticas y toxicológicas. Sin embargo, esto depende de las propiedades fisicoquímicas del suelo y la sustancia. Por lo tanto, el desarrollo e implementación de tecnologías viables técnica y económicamente son importantes para reducir el potencial de toxicidad y genotoxicidad en lixiviados. De lo contrario, podría ocasionar efectos adversos a la salud y ambiente de poblaciones aledañas. En este sentido, el propósito de este estudio fue evaluar la efectividad de la oxidación química y biolabranza en la reducción de toxicidad aguda en lixiviado de suelo contaminado con di (2-etilhexil) ftalato.

Materiales y Métodos

Se presenta el esquema de la etapa experimental en la figura 1.

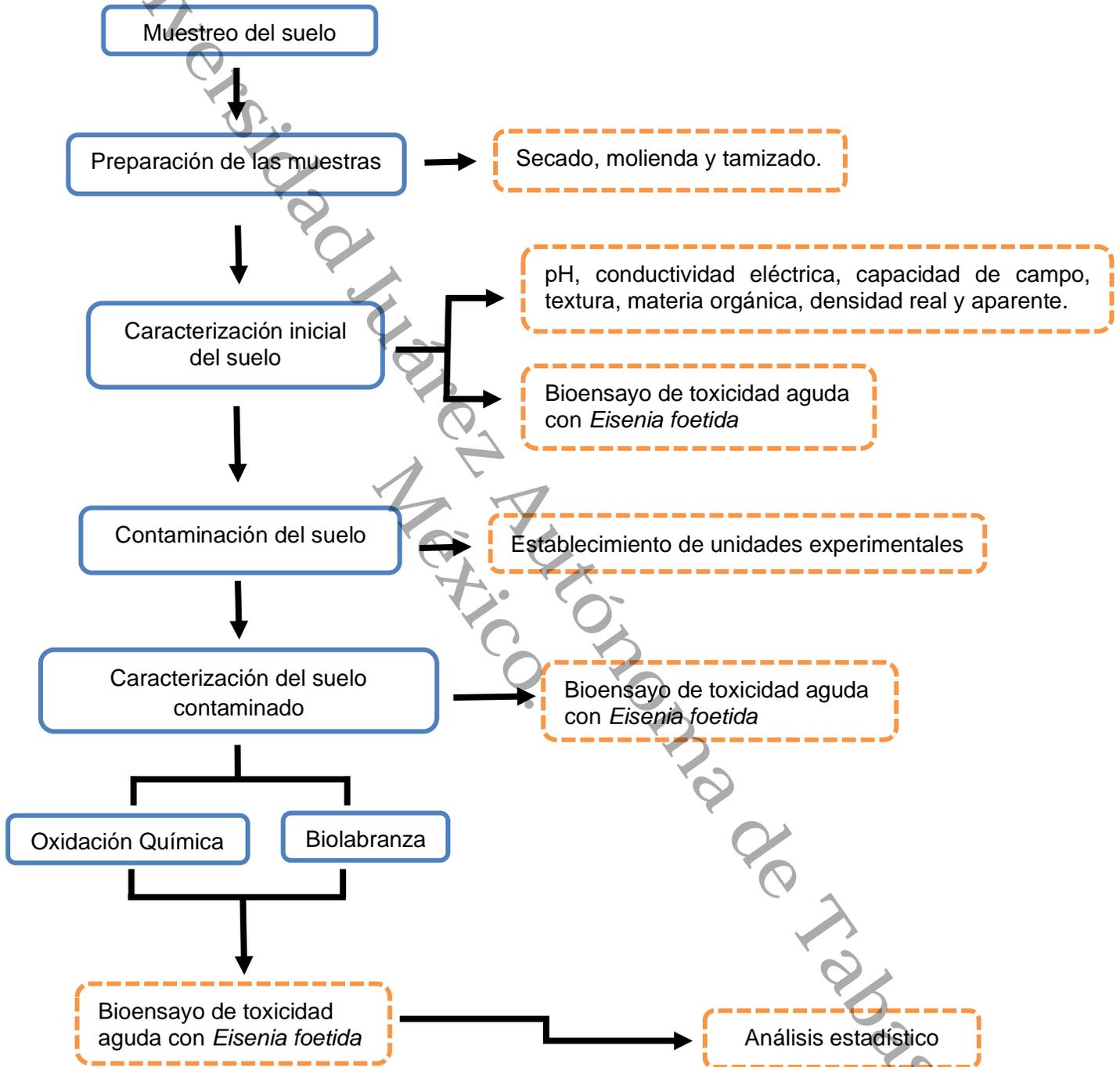


Figura 1. Esquema metodológico

El suelo fue muestreado en la ranchería Buena Vista situada en el municipio de Cárdenas, en el estado de Tabasco, México, en las coordenadas geográficas: 406525 E y 2001598 N. La muestra de suelo se colectó con una pala recta en los 30 cm superiores del suelo. Las condiciones ambientales en el día del muestreo fueron de cielo parcialmente nublado, con una temperatura promedio de 24 °C y sin precipitaciones.

El suelo se secó al aire hasta que alcanzó el contenido de humedad más bajo posible. Posteriormente, se molió y se tamizó a través de una malla de 2 mm. Se llevó a cabo la caracterización inicial con la finalidad de conocer adecuadamente el suelo utilizado en este estudio, mediante los siguientes parámetros: potencial de hidrogeno (pH), conductividad eléctrica (CE), materia orgánica, densidad aparente y real, de acuerdo a la NOM-021-SEMARNAT-2000 (SEMARNAT, 2002). La capacidad de campo se determinó con base al principio de la columna de Colman descrito por Adams et al., (2008). El pH y la conductividad eléctrica se midieron en una relación 1:5, de suelo limpio a agua desionizada con un equipo multiparamétrico HI98194 HANNA®.

Se realizó la Prueba de Extracción y Caracterización de Tóxicos desarrollado en la NOM-053-SEMARNAT-1993 (SEMARNAT, 1993) para obtener un lixiviado. Posteriormente, se determinó la toxicidad aguda mediante el método de contacto en papel filtro con lombrices de tierra de la especie *Eisenia foetida*, de acuerdo al Protocolo No. 207: Earthworm, Acute Toxicity Tests (OECD, 1984); en el cual los organismos de prueba se expusieron al lixiviado del suelo limpio para establecer niveles de fondo.

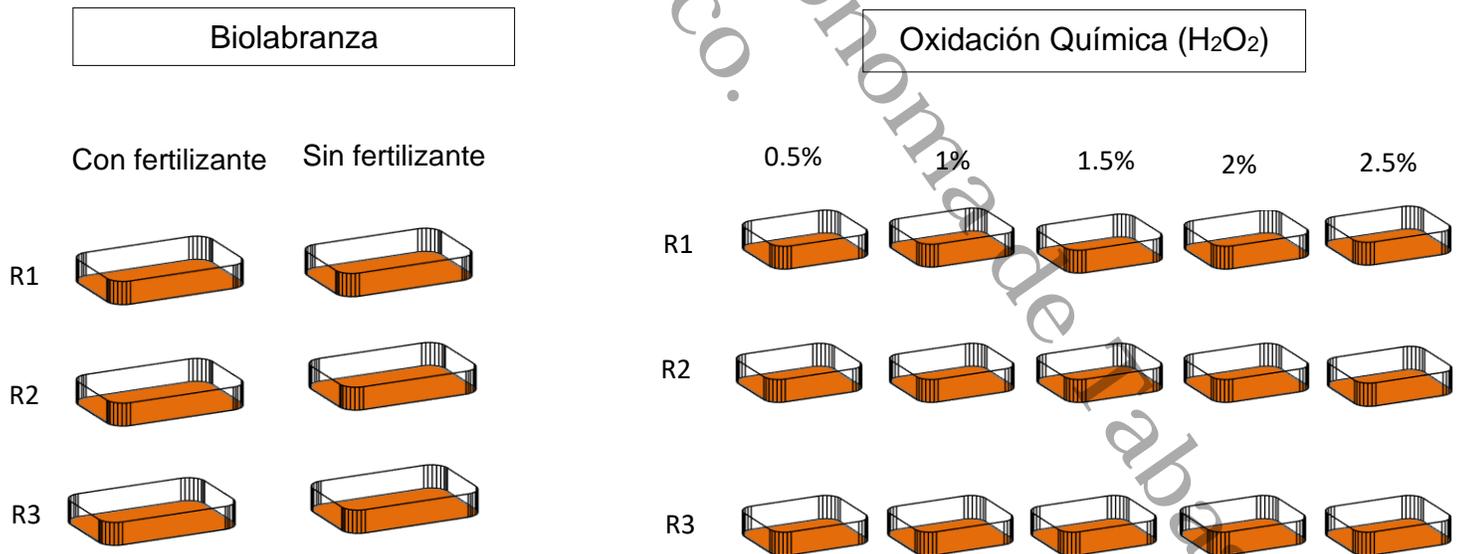
Se llevó a cabo la contaminación de manera artificial del suelo limpio con la sustancia di (2-etilhexil) ftalato. Se utilizó una revolvedora, donde se agregaron 31 kg de suelo limpio y 782 ml del di (2-etilhexil) ftalato para obtener una concentración de 25,000 ppm. Se mezcló durante 30 minutos para homogeneizar el suelo con la sustancia. Una vez concluido, se realizó la caracterización toxicológica del suelo contaminado por la metodología anteriormente mencionada. Posteriormente, se establecieron las unidades experimentales del tratamiento químico y biológico.

El diseño experimental fue completamente aleatorizado, conformado por dos tecnologías de remediación: oxidación química y biolabranza (Fig. 2).

La técnica de remediación por oxidación química, consistió en adicionar una solución al 30% p/v de H₂O₂ directamente en tres réplicas de suelo contaminado con DEHP, para los cinco tratamientos de peróxido de hidrógeno establecidos (0.5%, 1%, 1.5%, 2%, 2.5% p/p), utilizando recipientes de vidrio en las unidades experimentales.

Para facilitar el área de contacto entre la muestra y el agente oxidante, se añadió la solución de peróxido de hidrógeno sobre saturando el suelo a su capacidad de campo. Se mezcló con una espátula metálica para realizar la homogeneización durante cinco minutos. Se dejó actuar durante 72 horas. Finalmente, se llevó a cabo el bioensayo de toxicidad aguda.

La técnica de biolabranza fue monitoreada por un periodo de seis meses, cada mes se determinó toxicidad aguda. Se establecieron seis unidades experimentales en recipientes de vidrio, cada unidad experimental constó de 2 kg de suelo contaminado. Al primer tratamiento se le añadió 1.5 g de fertilizante marca FLOREN 20-30-10 de Agroquímica Tridente S.A. de C.V. ubicado en la Ciudad de México, México; por kg de suelo contaminado, en dos periodos (inicial y 4^{to} mes). Se suministró oxígeno de manera manual y se humectó cada tercer día con 400 ml de agua corriente para incrementar la actividad de biodegradación. Al segundo tratamiento solamente se le suministro oxígeno de manera manual y se humectó cada tercer día con 400 ml.



Los tratamientos son aplicados durante seis meses. Al final de cada mes se realiza el ensayo toxicológico.

Los tratamientos son aplicados solo una vez. Posteriormente se realiza el ensayo toxicológico.

Figura 2. Etapa experimental.

El conjunto de datos de la tecnología de oxidación química con relación a las pruebas de toxicidad aguda se llevó a cabo mediante un análisis de varianza y el análisis de datos de la tecnología de biolabranza se llevaron a cabo mediante una prueba de Kruskal-Wallis. Las diferencias significativas del conjunto de datos fueron calculadas con el software SPSS 21.0. El límite de confianza de 95 % fue usada para todas las comparaciones ($p < 0.05$).

Resultados y Discusión

En el cuadro 1, se presentan los parámetros físicos y químicos que se analizaron del material de partida (suelo limpio) usado en este estudio. Parámetros como pH, materia orgánica, densidad aparente, capacidad de campo y textura presentan similitud con lo reportado por Palma et al., (2007) en perfiles de suelos de tipo Fluvisol.

Este suelo presenta una clase textural arcillosa, con un contenido relativamente moderado de materia orgánica, así como un pH moderadamente ácido. La salinidad fue insignificante (<1 dS/m) de acuerdo a la clasificación presentada en la NOM-021-SEMARNAT-2000 (SEMARNAT, 2002).

Cuadro 1. Características fisicoquímicas del suelo no contaminado.

Parámetros	$\bar{X} \pm SD$
Densidad Real (g/cm ³)	2.56 \pm 0.22
Densidad Aparente (g/cm ³)	1.09 \pm 0.01
Porosidad (%)	57.14 \pm 3.83
pH	6.02 \pm 0.51
Capacidad de campo (%)	23.16 \pm 1.23
Conductividad Eléctrica (dS/m)	0.02 \pm 0.0008
Materia orgánica	2.95 \pm 0.45
Textura	Arcilla
Arena (%)	37.09 \pm 13.70
Limo (%)	21.51 \pm 12.75
Arcilla (%)	41.40 \pm 0.98

Los valores son medias (n = 5)

Toxicidad

El tratamiento de suelo contaminado presentó en los organismos de prueba rompimiento de la pared corporal desarrollando heridas sangrantes, así como expulsión de líquido celómico, mientras que las lombrices sobrevivientes mostraron disminución en el movimiento y la respuesta al estímulo llegó a ser casi nulo.

La figura 3, muestra el porcentaje de mortandad de los tratamientos de la técnica de oxidación química. Solamente los tratamientos con H_2O_2 al 2% y 2.5% no presentaron diferencia significativa con el testigo negativo (suelo limpio). El tratamiento de peróxido de hidrogeno al 2.5% p/p, presentó la mayor tasa de reducción de la toxicidad aguda hasta 94%.

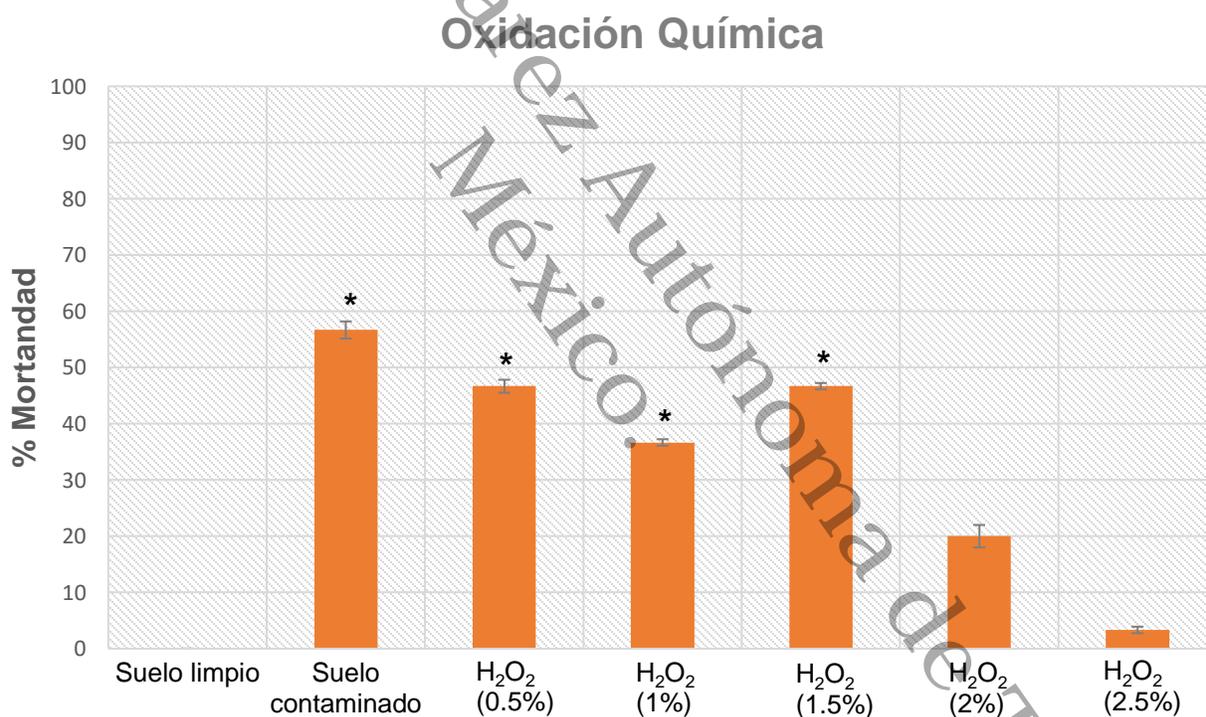


Figura 3. Mortandad de *Eisenia foetida* en los tratamientos con H_2O_2 .

* Diferencia significativa $p < 0.05$ prueba de ANOVA, con respecto al suelo limpio.

La figura 4, presenta el porcentaje de mortandad de los dos tratamientos de la tecnología de biolabranza. Ambos tratamientos, a partir del quinto mes de evaluación, no presentaron diferencias significativas con respecto al testigo negativo. Se observó una tendencia general de reducir la toxicidad, pero con periodos intermedios de un incremento en la toxicidad respecto a la medición en el mes anterior. Esto es especialmente notable en el tratamiento sin fertilizante a los 60 y 120 días, y en menor escala, a los 180 días, pero también se observó esta tendencia, aunque en menor escala, en el tratamiento con fertilizante a los 90 y 150 días.

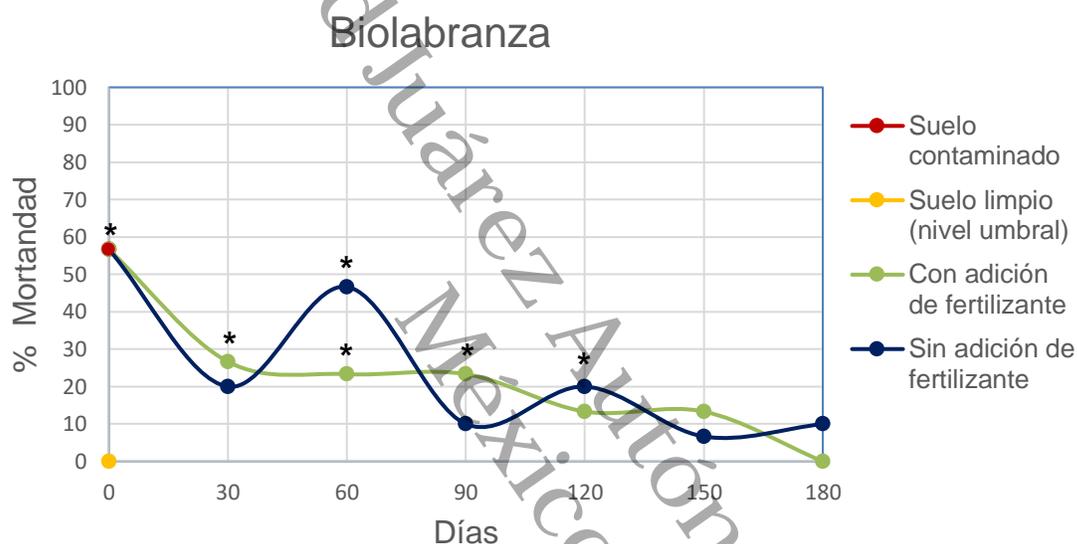


Figura 4. Mortandad de *Eisenia foetida* en los tratamientos con biolabranza.

* Diferencia significativa $p < 0.05$ prueba de Kruskal-Wallis, con respecto al suelo limpio.

Es posible que se incrementa la toxicidad en el intermedio cuando se liberan DEHP u otros intermediarios (de la biodegradación del DEHP) durante la descomposición de la materia orgánica en general, incremento de la biodisponibilidad, por ende, la toxicidad. Alternativamente, es posible que haya producción de algunos intermediarios de la biodegradación de DEHP que son más tóxicos, tal vez alcoholes, aldehídos o epóxidos. Otros autores también han sugerido que un incremento en la toxicidad está relacionado con la liberación de compuestos tóxicos (contaminantes o sus productos de descomposición) debido a la descomposición de materia orgánica, sobre todo en fibras (Adams et al., 2011; Adams et al., 2015).

En el tratamiento sin fertilizante, es posible que fueron mayormente estimulados microorganismos lignolíticos. Se sabe que algunos hongos y actinomicetos tratan de descomponer lignina buscando fuentes de nitrógeno (nutrimento que no se incluyó en la fertilización), mediante la generación de enzimas lignolíticas, que al ser no específicas descomponen otros compuestos (incluyendo xenobióticos) (Chen, 2014).

Como ya fue mencionado, en el tratamiento con fertilizante también hubo una leve tendencia de incrementar, temporalmente, la toxicidad. En este tratamiento, es probable que las bacterias sean estimuladas a mineralizar el DEHP (Brock et al., 1994), como su metabolismo es más rápido que el de los hongos, es razonable pensar que hay menor acumulación temporal de DEHP liberado por la descomposición de la materia orgánica vegetal, o intermediarios de la biodegradación. Por lo cual, la magnitud del incremento temporal en la toxicidad fue menor.

El DEHP altera los genes del choque térmico en los insectos. A altas concentraciones, actúa como antagonista de la expresión del receptor de ecdisona e influye directamente en la metamorfosis del insecto (Planelló et al., 2011). Otros estudios, han demostrado que el DEHP altera los genes de la hemoglobina en *Chironomus tentans* (Lee et al., 2006; Park y Choi, 2007), así como los genes de la endopeptidasa de tipo serina y los genes de la deshidrogenasa del alcohol en *Chironomus riparius* (Park y Kwak, 2008, 2009). Herrero et al., (2014) reportaron que las larvas de *Chironomus riparius* expuestas a DEHP provocan alteraciones rápidas en dianas relacionadas con la respuesta celular de estrés, la ruta hormonal y los mecanismos de desintoxicación. En el caso de los organismos acuáticos, se encontró que el DEHP inhibe el crecimiento del guppy (*Poecilia reticulata*) en términos de peso y longitud corporal (Zanotelli et al., 2009).

Kim et al., (2019) evaluaron la toxicidad aguda y crónica del DEHP en el suelo, utilizando ocho especies en cinco grupos taxonómicos. Los resultados confirmaron que los efectos del DEHP en las especies terrestres aparecen en altas concentraciones en algunas especies. En el caso de las lombrices de tierra, no se observaron efectos letales ni estrés oxidativo. Los resultados de los ensayos de las plantas no indicaron efectos significativos sobre el crecimiento de las plantas. Sin embargo, se observaron a altas concentraciones efectos adversos sobre el tamaño de apertura de las estomas y la clorofila, que están relacionados con la fotosíntesis.

Además, el crecimiento de las algas del suelo fue inhibido después de la exposición al DEHP. Casi no hubo efectos en los individuos adultos de dos especies de colémbolos en concentraciones ambientalmente relevantes, aunque se observaron efectos negativos en la reproducción de colémbolos y nematodos del suelo en las concentraciones más bajas utilizadas en el experimento.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

Conclusiones

Considerando como criterio de remediación la toxicidad aguda para tratar un suelo contaminado con DEHP, el tratamiento con H₂O₂ al 2.5% presenta capacidad de reducir la toxicidad a niveles de fondo, por lo tanto, es factible técnicamente. Por otra parte, los dos tratamientos de la tecnología de biolabranza presentan factibilidad técnica a partir del quinto mes de evaluación toxicológica, siendo el tratamiento al que no se le adiciona fertilizante una opción más viable económicamente.

Sin embargo, realizar una evaluación comparativa de costos entre las tecnologías propuestas sería de gran importancia para la toma de decisiones de las empresas o autoridades gubernamentales. Aunque, se desconocen de estudios científicos donde hayan implementado técnicas para remediar suelos impactados con DEHP a escala campo, lo cual nos permitiría conocer los costos reales y los problemas operativos; llevar a cabo pruebas de factibilidad a escala laboratorio controla los recursos materiales y económicos.

Referencias

- Adams, R. H., Osorio, F. G., & Cruz, J. Z. (2008). Water repellency in oil contaminated sandy and clayey soils. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 5(4), 445-454.
- Adams, R. H., Kanga-Leyva, K., Guzmán-Osorio, F. J., & Escalante-Espinosa, E. (2011). Comparison of moisture management methods for the bioremediation of hydrocarbon contaminated soil. *African Journal of Biotechnology*, 10(3), 394-404.
- Adams, R. H., Guzmán-Osorio, F. J., & Domínguez-Rodríguez, V. I. (2014). Field-scale evaluation of the chemical–biological stabilization process for the remediation of hydrocarbon-contaminated soil. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 11(5), 1343-1352.
- Brock TD, Madigan MT, Martinko JM, Parker J., (1994). *Biology of microorganism*, 7th ed. Prentice Hall Inc. New Jersey, USA.
- Chen, H. (2014). Biological fundamentals for the biotechnology of lignocellulose. In *Biotechnology of Lignocellulose* (pp. 73-141). Springer, Dordrecht.
- Domínguez-Rodríguez, V. I., Adams, R. H., Sánchez-Madrigal F., Pascual-Chablé J., & Gómez-Cruz R. (2019). Soil Contact Bioassay for Rapid Determination of Acute Toxicity with *Eisenia foetida*. *Heliyon*. (En revisión).
- Griest W.H., Stewart A.J., Tyndall R.L., Ho C-h, Tan E., (1990). Characterization of explosives processing waste decomposition due to composting. Army Project Order No. 89PP9921. Report No. DOE IAG 1016-B123-A1. Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, Tennessee, USA. AD ORNL/TM-11573.
- Hauser, R., & Calafat, A. M. (2005). Phthalates and human health. *Occupational and environmental medicine*, 62(11), 806-818.
- Herrero, O., Planelló, R., Gómez-Sande, P., Aquilino, M., & Morcillo, G. (2014). Evaluación de los efectos tóxicos de ftalatos sobre poblaciones naturales de *Chironomus riparius* (Diptera): implicaciones en estudios de ecotoxicidad. *Revista de Toxicología*, 31(2), 176-186.
- Isbister, J. D., Anspach, G. L., Kitchens, J. F., Doyle, R. C., (1984). Composting for decontamination of soils containing explosives. *Microbiologica* 7, 47-73.
- Kalderis D., Juhasz A.L., Boopathy R., Comfort S., (2011). Soils contaminated with explosives: Environmental fate and evaluation of state-of the-art remediation processes (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem.* 83(7), 1407– 1484.
- Kaplan, D. L., Kaplan, A. M., (1982). Thermophilic biotransformations of 2, 4, 6trinitrotoluene under simulated composting conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 44, 757760

- Katsikantami, I., Sifakis, S., Tzatzarakis, M. N., Vakonaki, E., Kalantzi, O. I., Tsatsakis, A. M., & Rizos, A. K. (2016). A global assessment of phthalates burden and related links to health effects. *Environment International*, 97, 212–236. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.09.013>
- Kim, D., Cui, R., Moon, J., Kwak, J. I., & An, Y. J. (2019). Soil ecotoxicity study of DEHP with respect to multiple soil species. *Chemosphere*, 216, 387-395.
- Koolivand A, Naddafi K, Nabizadeh R et al. (2014) Aplicación de peróxido de hidrógeno y fenton como pasos previos y posteriores al tratamiento para el compostaje de los lodos del fondo de los tanques de almacenamiento de petróleo crudo. *Petroleum Science Technology* 32: 1562–1568.
- Lee, S. M., Lee, S. B., Park, C. H., & Choi, J. (2006). Expression of heat shock protein and hemoglobin genes in *Chironomus tentans* (Diptera, chironomidae) larvae exposed to various environmental pollutants: a potential biomarker of freshwater monitoring. *Chemosphere*, 65(6), 1074-1081.
- Manahan SE., (1992). Toxicological Chemistry. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Montes, P. B., Soberanis, B. L., Fernández, G. O., & Moreno, F. V. (2001). Ftalatos y efectos en la salud. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 17(4), 205-215.
- Morillo, E., & Villaverde, J. (2017). Advanced technologies for the remediation of pesticide-contaminated soils. *Science of the Total Environment*, 586, 576-597.
- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), (1984). Test No. 207: Earthworm, Acute Toxicity Tests. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, (April, 9). Paris, France.
- Palma-López D. J., J. Cisneros D., E. Moreno C. y J.A. Rincón-Ramírez. (2007). Plan de uso sustentable de los suelos de Tabasco. 3ª. Ed. ISPROTAB-FUNDACIÓN PRODUCE TABASCO-Colegio de postgraduados. Villahermosa, Tabasco, México.196 p.
- Park, S. Y., & Choi, J. (2007). Cytotoxicity, genotoxicity and ecotoxicity assay using human cell and environmental species for the screening of the risk from pollutant exposure. *Environment international*, 33(6), 817-822.
- Park, K., & Kwak, I. S. (2008). Expression of *Chironomus riparius* serine-type endopeptidase gene under di-(2-ethylhexyl)-phthalate (DEHP) exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 151(3), 349-354.
- Park, K., & Kwak, I. S. (2009). Alcohol dehydrogenase gene expression in *Chironomus riparius* exposed to di (2-ethylhexyl) phthalate. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 150(3), 361-367.

Pavel, L. V., & Gavrilescu, M. (2008). Overview of ex situ decontamination techniques for soil cleanup. *Environmental Engineering & Management Journal (EEMJ)*, 7(6).

Pennington, J. C., Hayes, C. A., Myers, K. F., Ochman, M., Gunnison, D., Felt, D. R., McCormick, E. F., (1995). Fate of 2,4,6- trinitrotoluene in a simulated compost system. *Chemosphere* 30, 429-438.

Planelló, R., Herrero, O., Martínez-Guitarte, J. L., & Morcillo, G. (2011). Comparative effects of butyl benzyl phthalate (BBP) and di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on the aquatic larvae of *Chironomus riparius* based on gene expression assays related to the endocrine system, the stress response and ribosomes. *Aquatic toxicology*, 105(1-2), 62-70.

Pradhan S.P., Paterek J.R., Liu B.Y., Conrad J.R., Srivastava V.J., (1997). Pilot-scale bioremediation of PAH-contaminated soils. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 63-65, 759-773.

Rochkind M.L., Blackburn J.W., Saylor G. S., (1986). Microbial decomposition of chlorinated aromatic compounds. EPA document No. EPA/600/2-86/090. Hazardous Waste Engineering Research Laboratory, Office of Research and Development. US Environmental Protection Agency (US EPA). Cincinnati, OH, USA

Romero-Frasca, E., Adams, R. H., & Domínguez-Rodríguez, V. I. (2018). Reducing leachable petroleum hydrocarbon concentration in weathered fuel oil contaminated soil by chemical oxidation with hydrogen peroxide. *International journal of environmental science and technology*, 15(11), 2381-2388.

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), (1993). Norma Oficial Mexicana NOM-053-SEMARNAT-1993. Que establece que establece el procedimiento para llevar a cabo la prueba de extracción para determinar los constituyentes que hacen a un residuo peligroso por su toxicidad al ambiente. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Diario Oficial de la Federación, 22 Oct 1993, México City, México, p 24.

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), (2002). Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Diario Oficial de la Federación, 31 Dec 2002, México City, México, p85.

Sánchez, W., & Egea, E. (2018). Health and environmental risks associated with emerging pollutants and novel green processes. *Environmental science and pollution research*, 25, 6085-6086.

Siddique, S., Kubwabo, C., & Harris, S. A. (2016). A review of the role of emerging environmental contaminants in the development of breast cancer in women. *Emerging Contaminants*, 2(4), 204-219.

Williams, R.T., Ziegenfuss, P.S., Sisk, W.E., (1992). Composting of explosives and propellant contaminated soils under thermophilic and mesophilic conditions. *J. Ind. Microbiol.* 9, 137-144

Zanotelli, V. R., Neuhauss, S. C., & Ehrenguber, M. U. (2010). Long-term exposure to bis (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) inhibits growth of guppy fish (*Poecilia reticulata*). *Journal of Applied Toxicology: An International Journal*, 30(1), 29-33.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

**CAPÍTULO IV. IMPACTO GENOTÓXICO EN SUELO CON
DI (2-ETILHEXIL) FTALATO TRATADO POR
BIOLABRANZA Y OXIDACIÓN QUÍMICA**

Impacto genotóxico en suelo con di (2-etilhexil) ftalato tratado por biolabranza y oxidación química

Eder José Ordoñez-Frías ^a, Verónica Isidra Domínguez-Rodríguez ^a, Randy H. Adams ^{a*}, Juana Sánchez-Alarcón ^b, Rafael Valencia-Quintana ^b

^a División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Carretera Villahermosa-Cárdenas Km. 0.5 S/N, Entronque a Bosques de Saloya, CP 86150, Villahermosa, Tabasco, México

^b Laboratorio "Rafael Villalobos-Pietrini" de Toxicología Genómica y Química Ambiental, CA Ambiente y Genética UATLXCA-223. Facultad de Agrobiología, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Autopista San Martín – Tlaxcala, Ixtacuixtla de Mariano de Matamoros Km 10.5, CP 90120, México

* Autor por correspondencia: drrandocan@hotmail.com

Resumen

Los ésteres de ftalato son conocidos como contaminantes emergentes, así como por sus actividades endocrinas y la exposición a ellos puede conducir a múltiples efectos negativos para la salud, incluyendo mutagenicidad, carcinogenicidad e incluso teratogenicidad. La detección de efectos genotóxicos es de particular importancia en la evaluación del riesgo ambiental. En este sentido, el objetivo de este trabajo fue evaluar la genotoxicidad mediante el ensayo de micronúcleos usando células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba*, para determinar la efectividad de las tecnologías de biolabranza y oxidación química propuestas en la remediación de suelo contaminado con di (2-etilhexil) ftalato. Las células meristemáticas fueron expuestas durante cuatro horas en extractos de suelo limpio (testigo negativo), extractos de suelo contaminado con 25,000 ppm (testigo positivo), extractos de suelo tratado con dos concentraciones de H₂O₂ (2% y 2.5% p/p) y extractos de suelo con dos tratamientos de biorremediación. Posteriormente, se dejaron 18 y 44 horas en recuperación, bajo las mismas condiciones experimentales. Los dos tratamientos de la técnica de oxidación química, son capaces de incrementar la frecuencia de micronúcleos, a las 44 horas de recuperación. Estos resultados presentan que los tratamientos de la tecnología de oxidación química inducen efectos genotóxicos. Por lo tanto, no son recomendables. Por otra parte, solamente el tratamiento sin fertilizante de la tecnología de biolabranza a los 180 días de la evaluación genotóxica, no presentó diferencias significativas en la frecuencia de micronúcleos con respecto al testigo negativo. Por lo tanto, representa factibilidad técnica y también una opción prometedora en costos.

Palabras clave: Células meristemáticas, Genotoxicidad, Potencial de lixiviación, Tecnologías de remediación

Introducción

Los contaminantes emergentes comprenden una amplia gama de compuestos; como los productos farmacéuticos, los productos para el cuidado personal, los tensoactivos, los plastificantes y los aditivos industriales, que no están incluidos en los actuales programas de monitoreo (Petrovic et al., 2008). Estos contaminantes son continuamente vertidos en el agua, la atmósfera y el suelo desde los sistemas de alcantarillado doméstico e industrial. En consecuencia, los contaminantes emergentes se han convertido en un motivo de gran preocupación para la comunidad científica y los organismos reguladores, debido a los posibles efectos sobre la salud humana y el ambiente (Eggen et al., 2010; Murray et al., 2010).

Los ésteres de ftalato son conocidos como contaminantes emergentes, así como por sus actividades endocrinas y la exposición a ellos puede conducir a múltiples efectos negativos para la salud, incluyendo mutagenicidad, carcinogenicidad e incluso teratogenicidad (Kozumbo et al., 1982; Kluwe, 1986). El di (2-etilhexil) ftalato (DEHP) es el plastificante más utilizado como aditivo en los productos de cloruro de polivinilo (PVC) con una amplia gama de aplicaciones, como materiales de construcción, envases de alimentos y productos sanitarios (ATSDR, 2002). Debido a que no está ligado químicamente al polímero, el DEHP se filtra fácilmente de las superficies plásticas y puede entrar en el ambiente o en el cuerpo humano por diferentes vías (Koch y Calafat, 2009). Por lo tanto, es necesario realizar estudios para determinar los efectos genotóxicos de dicho compuesto.

Al respecto, los bioensayos basados en plantas han sido validados en colaboración con estudios internacionales realizados bajo los auspicios del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Agencia de Protección del Medio Ambiente de los Estados Unidos (USEPA). Estos ensayos han demostrado ser eficaces para el control genotóxico. Además, son más sensibles, menos costosos y tienen aplicaciones más amplias. (Grant, 1999, Rizzo, 2011). Por lo tanto, las plantas superiores son los excelentes modelos genéticos para evaluar los contaminantes ambientales. Sus características no sólo se deben a la sensibilidad para detectar mutágenos, sino también a la posibilidad de evaluar otros biomarcadores de genotoxicidad, que van desde mutaciones puntuales hasta aberraciones cromosómicas (Leme y Marín, 2009), siendo la planta *Vicia faba* un modelo genético excelente para estudios citológicos, fisiológicos, radiobiológicos y evaluación de la toxicidad.

Las principales ventajas son su disponibilidad durante todo el año, su uso económico, su fácil cultivo y manipulación; su uso no requiere condiciones estériles ni materiales costosos y su tasa de división celular es rápida. En los cromosomas son fáciles de evaluar daños genéticos y anomalías en la división celular (Gómez-Arroyo et al., 1997; Anwar et al., 2011).

La detección de efectos genotóxicos es de particular importancia en la evaluación del riesgo ambiental. La genotoxicidad puede ser una consecuencia de la exposición a largo plazo a niveles muy bajos de agentes químicos y tener un carácter hereditario y de aparición tardía que puede tener consecuencias importantes a nivel de la población (Llorente et al., 2012). En este sentido, el objetivo de este trabajo fue evaluar la genotoxicidad mediante el ensayo de micronúcleos usando células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba*, para determinar la efectividad de las tecnologías de biolabranza y oxidación química propuestas en la remediación de suelo contaminado con DEHP.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

Materiales y Métodos

El método de muestreo del suelo, su caracterización físico-química y la contaminación con di (2-etilhexil) ftalato se ha reportado anteriormente, así como los efectos sobre la toxicidad aguda (Ordoñez et al., 2019). En el presente estudio, se reporta adicionalmente los efectos genotóxicos. Para este propósito, solo se utilizaron los tratamientos eficaces respecto a la toxicidad aguda, es decir, biolabranza con o sin adición de fertilizante, y oxidación química con 2 y 2.5% p/p de H₂O₂.

Ensayo de micronúcleos

La determinación del efecto genotóxico de di (2-etilhexil) ftalato fue mediante la obtención de un extracto acuoso de la matriz sólida con los tratamientos empleados, utilizando la Prueba de Extracción por Agitación de Residuos Sólidos con Agua bajo el método ASTM-D 3987-85 (ASTM, 2004). Se utilizó el ensayo de micronúcleos basado en la metodología de Sánchez et al., (2018) descrito a continuación. Semillas de *Vicia haba* sanas fueron lavadas y embebidas durante 24 horas en agua, posteriormente se dejaron germinar entre dos capas de algodón húmedo hasta que las raíces alcanzaran una longitud de 2-3 cm (4-5 días). Las raíces se expusieron a los tratamientos (extractos) durante 4 horas. Una vez transcurridos, se dejaron en recuperación con aireación constante durante 18 y 44 horas; este proceso se llevó a cabo en la oscuridad a 20 °C. Se cortaron las puntas de las raíces, tiñéndolas con reactivo Shiff y haciéndolas permanentes usando la técnica de hielo en seco, deshidratadas con dos cambios de butanol y montadas con resina Entellan®. Las laminillas fueron manejadas con clave para evitar prejuicios en el observador. Se observaron en campos al azar cuantificando 1000 células en interfase y registrando la frecuencia de micronúcleos.

Análisis estadístico

La evaluación del conjunto de datos de las tecnologías de oxidación química y biolabranza con relación a las pruebas de genotoxicidad se llevaron a cabo mediante una prueba de Kruskal-Wallis. Las diferencias significativas del conjunto de datos fueron calculadas con el software SPSS 21.0. El límite de confianza de 95% fue usada para todas las comparaciones ($p < 0.05$).

Resultados y Discusión

Las frecuencias de micronúcleos inducidos en las células meristemáticas de la raíz *Vicia faba* de los tratamientos de oxidación química es presentado en la figura 1. Al exponer directamente las raíces de *Vicia faba* en los dos tratamientos de la técnica de oxidación química, se observa que son capaces de incrementar la frecuencia de micronúcleos a las 44 horas de recuperación al compararse con las frecuencias obtenidas a las 18 horas de recuperación, lo que puede representar la incapacidad de recuperación de las células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba* al daño inducido.

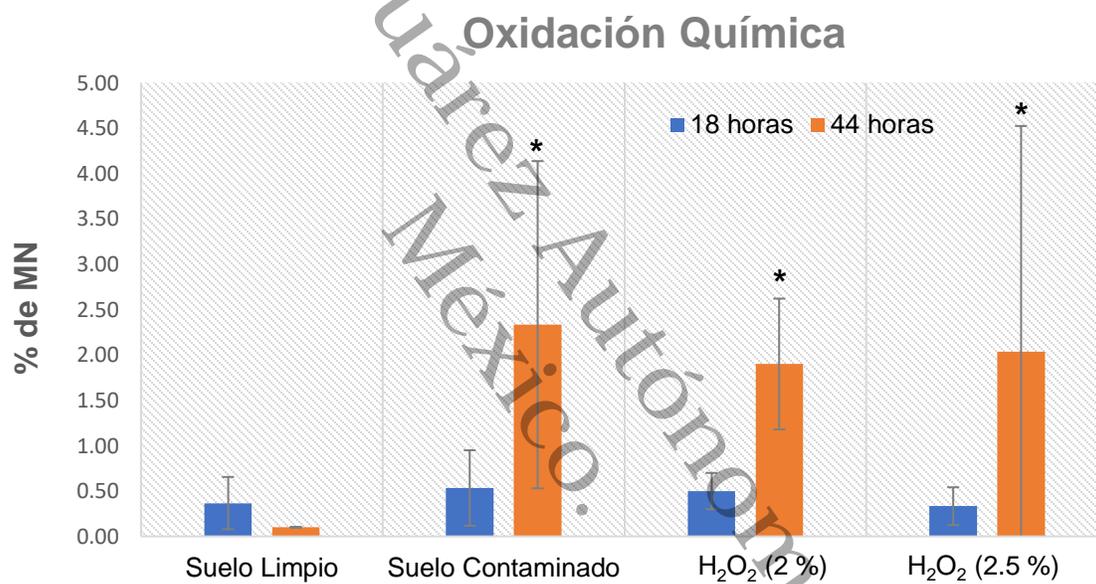


Figura 1. Frecuencia de micronúcleos en los diferentes tratamientos con H₂O₂.

* Diferencia significativa $p < 0.05$ prueba de Kruskal-Wallis, con respecto al suelo limpio

Las frecuencias de micronúcleos inducidos en las células meristemáticas de la raíz *Vicia faba* de los tratamientos de biolabranza son presentados en la figura 2. Al exponer directamente las raíces de *Vicia faba* a suelo tratado por las dos técnicas de biolabranza, se observa que, a las 44 horas de recuperación, las frecuencias de micronúcleos incrementan al compararse con las frecuencias obtenidas a las 18 horas de recuperación, lo que puede representar la incapacidad de recuperación de las células meristemáticas al daño inducido. Muestras de suelo tratado por biolabranza con fertilizante (CF) fueron capaces de incrementar la frecuencia de micronúcleos en las muestras de suelo evaluado en todos los meses de biorremediación. El tratamiento sin fertilizante (SF) fue capaz de incrementar la frecuencia de micronúcleos en muestras de 30, 60, 90 y 150 días de biorremediación; a excepción de los 180 días.

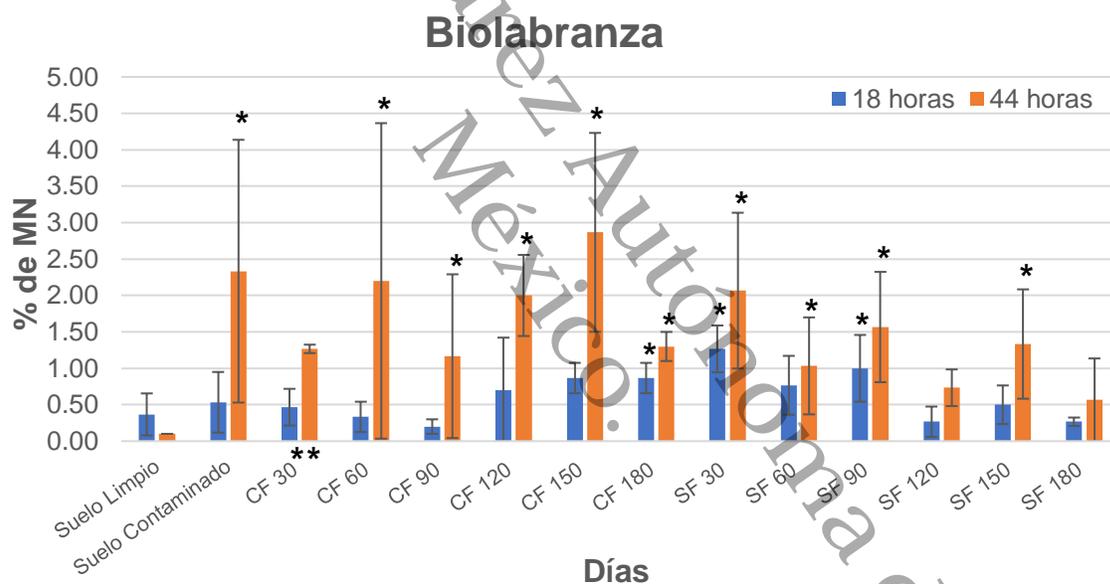


Figura 2. Frecuencia de micronúcleos en los tratamientos con biolabranza.

* Diferencia significativa $p < 0.05$ prueba de Kruskal-Wallis, con respecto al suelo limpio

CF: Aireación, humedad y fertilizante

SF: Aireación y humedad

** Los números refieren al tiempo de biorremediación (días).

La frecuencia de micronúcleos en el tratamiento por oxidación química sí se redujo, pero se mantuvo cerca de 80% del valor del suelo contaminado. Esto, aunque en las pruebas de toxicidad aguda, se bajó a nivel umbral o al nivel aceptable, según el Protocolo ($\leq 10\%$ mortandad). En el tratamiento por biorremediación era al revés: se observó una reducción de aproximadamente el 75% de micronúcleos respecto al suelo contaminado, pero no se observó una diferencia significativa entre el suelo limpio y el tratamiento sin fertilizante a los 180 días. Esto contrasta con el tratamiento de biolabranza con fertilizante, en donde a los 180 días de tratamiento, aún se observó una frecuencia de micronúcleos de aproximadamente nueve veces más que el suelo limpio, aunque en el bioensayo de toxicidad aguda, fue menos tóxico. Según estos datos, el único tratamiento que redujo la toxicidad aguda a un nivel aceptable ($\leq 10\%$ según el Protocolo No. 207 de la OECD) y, además, bajo la genotoxicidad a un nivel no diferente estadísticamente del suelo limpio, fue el tratamiento biológico sin fertilizante en donde solo se agregó agua y se mezcló periódicamente. En los tratamientos químicos y el biológico con fertilización podría ser porque se producen intermediarios de baja toxicidad, pero aún presentan efectos genotóxicos. De acuerdo con Doménech y Peral (2006) la reducción en el tratamiento de biolabranza sin fertilizante, es posible que se deba a la actividad enzimática de hongos y actinomicetos que se encargan de transformar la lignina por desmetilación y oxidación que concluyen con la obtención de sustancias húmicas que podrían secuestrar e inmovilizar al DEHP, reduciendo su biodisponibilidad y presentando menor genotoxicidad.

Son pocos los estudios donde el DEHP ha sido sometido a pruebas genotóxicas en células meristemáticas de sistemas vegetales. El primer estudio para determinar genotoxicidad del di (2-etilhexil) ftalato en células de raíz de *Allium cepa* fue realizado por Rank et al., (2002) en dos diferentes laboratorios. Sorprendentemente, hubo una gran diferencia en los resultados para ambos laboratorios, ya que el laboratorio I no lo consideró genotóxico en contraste con el laboratorio II, que reportó altos niveles de células aberrantes al aumentar la dosis (5 – 100 mg/L) de DEHP. Las aberraciones cromosómicas encontradas en el estudio positivo (laboratorio II) se dieron en todas las categorías de aberraciones, lo que indica efectos tanto clastogénicos como aneugénicos. Qing et al., (2009) reportaron que el DEHP fue capaz de estimular la proliferación vegetal e inducir diversas aberraciones cromosómicas: micronúcleos, puentes y fragmentos de cromosomas. El aumento de las concentraciones de DEHP indujo daños oxidativos agudos y efectos genotóxicos en el crecimiento de la plántula de *Vicia faba*.

Herrero et al., (2012) demostraron en su estudio que el DEHP a altas concentraciones (> 100 μM) indujo la frecuencia de micronúcleos y errores cromosómicos en anafase. También, causó citotoxicidad al disminuir el índice mitótico en las células meristemáticas de *Allium cepa*. Sin embargo, solamente se ha detectado que el DEHP ocasiona efectos genotóxicos, pero no se ha puesto énfasis en desarrollar tecnologías que eliminen el potencial genotóxico de este compuesto en las diferentes matrices ambientales impactadas.

En la literatura, solamente se han registrado dos estudios en los cuales se aplican tecnologías para el tratamiento del DEHP. Llorente et al., (2012) detectaron DEHP y otros posibles mutágenos en las aguas residuales que emplean tratamientos biológicos (lodos activados con reducción de nutrientes en canales de oxidación) y tratamientos físico-químico con adición de reactivos; pero estos compuestos sólo eran genotóxicos en combinación. Al-Saleh et al., (2017) compararon la eficiencia de tratamientos secundarios y terciarios en plantas de aguas residuales para eliminar la genotoxicidad, donde el DEHP fue detectado en todas las muestras de aguas residuales tratadas (0.362 – 0.935 $\mu\text{g/L}$). Este estudio mostró que las muestras de aguas residuales con tratamiento terciario tenían un mayor potencial genotóxico para inducir daño en el material genético que las muestras de aguas residuales con tratamiento secundario.

Conclusión

El ensayo de micronúcleos usando *Vicia faba* es una herramienta útil para evaluar el potencial genotóxico de sustancias poco estudiadas y que no cuentan con regulación como el DEHP; así como en la toma de decisiones para elegir el tratamiento más efectivo en términos de reducir daños en el material genético (frecuencia de micronúcleos) de las tecnologías propuestas para la remediación de un suelo contaminado por DEHP.

El presente estudio, demostró que los tratamientos de la tecnología de oxidación química presentan genotoxicidad en células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba*, por lo tanto, no son efectivos para la remediación de un suelo contaminado por DEHP, utilizando como criterio de remediación la genotoxicidad. Por otra parte, solamente el tratamiento sin fertilizante de la tecnología de biolabranza a los 180 días de la evaluación genotóxica, no presentó diferencias significativas en la frecuencia de micronúcleos con respecto al testigo negativo. Por lo tanto, representa factibilidad técnica y también una opción prometedora en costos.

Referencias

- Al-Saleh, I., Elkhatib, R., Al-Rajoudi, T., & Al-Qudaihi, G. (2017). Assessing the concentration of phthalate esters (PAEs) and bisphenol A (BPA) and the genotoxic potential of treated wastewater (final effluent) in Saudi Arabia. *Science of The Total Environment*, 578, 440-451.
- Anwar, F., Alghamdi, S. S., Ammar, M. H., & Siddique, K. H. M. (2011). An efficient in vitro regeneration protocol for faba bean (*Vicia faba* L.). *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(28), 6460-6467.
- American Society for Testing and Materials (ASTM), (2004). Standard test method for shake extraction of solid waste with water. ASTM D3987-85, West Conshohocken, PA, 1985, Recuperado de www.astm.org
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), (2002). Toxicological profile for Di (2-ethylhexyl) phthalate. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, p.336
- Domènech, X., & Peral, J. (2006). Química ambiental de sistemas terrestres. Editorial Reverté. España, p. 11 – 13.
- Eggen, T., Moeder, M., & Arukwe, A. (2010). Municipal landfill leachates: a significant source for new and emerging pollutants. *Science of the Total Environment*, 408(21), 5147-5157.
- Gómez-Arroyo, S., Armienta, M. A., Cortés-Eslava, J., & Villalobos-Pietrini, R. (1997). Sister chromatid exchanges in *Vicia faba* induced by arsenic-contaminated drinking water from Zimapan, Hidalgo, Mexico. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 394(1-3), 1-7.
- Herrero, O., Martín, J. P., Freire, P. F., López, L. C., Peropadre, A., & Hazen, M. J. (2012). Toxicological evaluation of three contaminants of emerging concern by use of the *Allium cepa* test. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 743(1-2), 20-24.
- Kluwe WM (1986). Carcinogenic potential of phthalic acid esters and related compounds: structure-activity relationships. *Environ Health Perspect* 65:271–278.
- Koch, H. M., & Calafat, A. M. (2009). Human body burdens of chemicals used in plastic manufacture. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 2063-2078.
- Kozumbo WJ, Kroll R, Rubin RJ (1982). Assessment of the mutagenicity of phthalate esters. *Environ Health Perspect* 45:103–109

Leme, D. M., & Marin-Morales, M. A. (2009). Allium cepa test in environmental monitoring: a review on its application. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 682(1), 71-81.

Llorente, M. T., Parra, J. M., Sánchez-Fortún, S., & Castaño, A. (2012). Cytotoxicity and genotoxicity of sewage treatment plant effluents in rainbow trout cells (RTG-2). *water research*, 46(19), 6351-6358.

Murray, K. E., Thomas, S. M., & Bodour, A. A. (2010). Prioritizing research for trace pollutants and emerging contaminants in the freshwater environment. *Environmental pollution*, 158(12), 3462-3471.

Ordoñez-Frías E. J., Domínguez-Rodríguez V. I., Adams R. H. (2019). Reduction of acute toxicity in soil leachate with di (2-ethylhexyl) phthalate by chemical oxidation and landfarming. (En preparación).

Petrovic, M., Radjenovic, J., Postigo, C., Kuster, M., Farre, M., de Alda, M. L., & Barceló, D. (2008). Emerging contaminants in waste waters: sources and occurrence. In *Emerging contaminants from industrial and municipal waste* (pp. 1-35). Springer, Berlin, Heidelberg.

Qing, C., Nana, G., Yuduo, Z., Shumao, D. (2009). Effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate on root tips of Vicia faba seedlings. In *2009 3rd International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering* (pp. 1-3). IEEE.

Rank, J., Lopez, L. C., Nielsen, M. H., & Moretton, J. (2002). Genotoxicity of maleic hydrazide, acridine and DEHP in Allium cepa root cells performed by two different laboratories. *Hereditas*, 136(1), 13-18.

Sánchez-Alarcón, J., Pérez-Sánchez, M., Gómez-Olivares, J. L., López-Durán, R. M., Montiel-González, J. M. R., Valencia-Sánchez, R. A., & Valencia-Quintana, R. (2018). Inducción de micronúcleos en células meristemáticas de la raíz de Vicia faba tratadas con diferentes concentraciones de Marvel®. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 34, 95-106.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES GENERALES

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES GENERALES

El DEHP por su propiedad hidrofóbica tiende a acumularse en los sedimentos, suelos y lodos de las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) donde se registran las mayores concentraciones. Las tecnologías más empleadas para la remoción del DEHP son adsorción, procesos avanzados de oxidación y bioestimulación.

De acuerdo a los estudios observados, son los países que poseen un alto grado de desarrollo industrial y socioeconómico donde se han encontrado mayor afectación de los compartimientos ambientales. Sin embargo, algunos países ya han regulado dicho compuesto, pero no sucede con los países en vías de desarrollo y subdesarrollados, los cuales, lo siguen usando de manera no controlada. Mientras tanto, la aplicación de las tecnologías antes mencionadas se enfoca en disminuir la concentración; lo cual no garantiza que la matriz este completamente restaurada, debido a que no se llevan a cabo pruebas toxicológicas y genotóxicas que proporcionen una mejor evaluación de los riesgos potenciales a la salud humana y al ambiente y porque la misma degradación puede producir intermediarios que también son tóxicos.

Considerando como criterio de remediación la toxicidad aguda para tratar un suelo contaminado con DEHP, el tratamiento con H_2O_2 al 2.5 % presentó capacidad de reducir la toxicidad a niveles de fondo, por lo tanto, es factible técnicamente. Por otra parte, los dos tratamientos de la tecnología de biolabranza presentan factibilidad técnica a partir del quinto mes de evaluación toxicológica, siendo el tratamiento al que no se le adiciona fertilizante una opción más viable económicamente.

El ensayo de micronúcleos usando *Vicia faba* es una herramienta útil para evaluar el potencial genotóxico de sustancias poco estudiadas y que no cuentan con regulación como el DEHP; así como en la toma de decisiones para elegir el tratamiento más efectivo en términos de reducir daños en el material genético (frecuencia de micronúcleos) de las tecnologías propuestas para la remediación de un suelo contaminado por DEHP. El presente estudio, demostró que los tratamientos de la tecnología de oxidación química presentan genotoxicidad en células meristemáticas de la raíz de *Vicia faba* muy por arriba del nivel umbral, por lo tanto, no son efectivos para la remediación de un suelo contaminado por DEHP, utilizando como criterio de remediación la genotoxicidad.

Por otra parte, solamente el tratamiento sin fertilizante de la tecnología de biolabranza a los 180 días, no presento diferencias significativas en la frecuencia de micronúcleos con respecto al testigo negativo. Por lo tanto, representa factibilidad técnica y también una opción prometedora en costos.

Realizar una evaluación comparativa de costos entre las tecnologías propuestas sería de gran importancia para la toma de decisiones de las empresas o autoridades gubernamentales. Aunque, se desconocen de estudios científicos donde hayan implementado técnicas para remediar suelos impactados con DEHP a escala campo, lo cual nos permitiría conocer los costos reales y los problemas operativos; llevar a cabo pruebas de factibilidad a escala laboratorio controla los recursos materiales y económicos.

En investigaciones futuras, sería interesante prolongar los tiempos de los tratamientos y evaluar la genotoxicidad para conocer si se llega a niveles umbrales. Igualmente, investigar sobre los mecanismos (microbianos) que reducen la genotoxicidad a nivel umbral. Por otra parte, el presente trabajo demuestra que puede haber gran incertidumbre en los proyectos de remediación de matrices afectadas por otros contaminantes orgánicos (p. ej. hidrocarburos, plaguicidas, etc.) donde no se toman en cuenta criterios de toxicidad aguda y genotoxicidad. Realmente, se desconoce cómo podrían afectar a la salud y al ambiente, debido a que solamente se basan en reducir concentraciones de los compuestos iniciales.

ANEXO

Anexo 1. Análisis de costos de las técnicas de oxidación química y biolabranza

Se presenta un estimado de los costos a escala industrial de las dos técnicas de remediación empleadas (oxidación química y biolabranza) tomando en cuenta el tratamiento más efectivo en términos de toxicidad aguda y genotoxicidad de cada tecnología, aunque el tratamiento químico no es recomendable en términos genotóxicos. Cabe mencionar que esta evaluación es solo preliminar y no formó parte de los alcances de la tesis. Los costos están divididos en tres principales rubros: materiales, maquinaria y mano de obra. Con los siguientes datos se calculó la masa del material a tratar: estimando un volumen de material a tratar de 3,000 m³, siendo la densidad del suelo de 1.09 ton/m³ y dejando secar hasta un nivel de humedad de aproximadamente 23 %.

$$\text{Masa del material húmedo} = (3000 \text{ m}^3) (1.09 \frac{\text{ton}}{\text{m}^3})$$

$$\text{Masa del material húmedo} = 3,270.5 \text{ ton}$$

$$\text{Masa del material seco} = (3,270.5 \text{ ton material húmedo}) \left(\frac{77 \text{ ton material seco}}{100 \text{ ton material húmedo}} \right)$$

$$\text{Masa del material seco} = 2,518.28 \text{ ton}$$

Estimación de costos usando el tratamiento 2.5 % p/p de H₂O₂

Materiales				
Descripción del concepto	Unidad	Cantidad	Precio Unitario	Importe
Peróxido de Hidrógeno (H ₂ O ₂)	Ton	624.99	10.53	6,581.14
Combustible (Excavadora)	L	11,520.00	20.63	237,657.60
Combustible (ALLU Feeder 7 +7)	L	5,760.00	20.63	118,828.80
			Subtotal	\$ 363,067.54

Mano de obra				
Descripción del concepto	Unidad	Cantidad	Precio Unitario	Importe
Líder del proyecto	Jornada	60	950.00	57,000.00
Ingeniero de seguridad	Jornada	60	534.00	16,020.00
Operador de maquinaria	Jornada	60	467.00	32,040.00
Auxiliar técnico	Jornada	60	306.00	18,360.00
			Subtotal	\$ 123,420.00

Maquinaria				
Descripción del concepto	Unidad	Cantidad	Precio Unitario	Importe
Excavadora	Mes	2	145,000.00	290,000.00
Brazo ALLU	Mes	2	120,000.00	240,000.00
Feeder 7 + 7	Mes	2	300,000.00	600,000.00
			Subtotal	\$ 1,130,000.00

Resumen de costos	
Rubro	Monto
Materiales	\$ 363,067.54
Mano de obra	\$ 123,420.00
Maquinaria	\$ 1,130,000.00
Costo Total	\$ 1,616,487.54 MN
Costo Unitario	\$ 538.82 MN/m³

Nota: Los costos estimados están sujetos a modificación por variación de los precios.

Estimación de costos usando el tratamiento sin fertilizante de biolabranza

Materiales				
Descripción del concepto	Unidad	Cantidad	Precio Unitario	Importe
Combustible (Excavadora)	L	5,760	20.63	118,828.80
Combustible (Mezcladora de composta)	L	3,600	20.63	74,268
			Subtotal	\$ 191,131.20

Mano de obra				
Descripción del concepto	Unidad	Cantidad	Precio Unitario	Importe
Líder del proyecto	Jornada	180	950.00	171,000.00
Ingeniero de seguridad	Jornada	180	534.00	96,120.00
Operador de maquinaria	Jornada	180	467.00	84,060.00
Auxiliar técnico	Jornada	180	306.00	55,080.00
			Subtotal	\$ 406,260

Maquinaria				
Descripción del concepto	Unidad	Cantidad	Precio Unitario	Importe
Excavadora	Mes	1	145,000.00	145,000.00
Mezcladora de composta	PZA	1	245,000.00	245,000.00
Subtotal				\$ 390,000.00

Resumen de costos	
Rubro	Monto
Materiales	\$ 191,131.20
Mano de obra	\$ 406,260.00
Maquinaria	\$ 390,000.00
Costo Total	\$ 987,391.20 MN
Costo Unitario	\$ 329.13 MN/m³

Nota: Los costos estimados están sujetos a modificación por variación de los precios.

Anexo 2. Bioestimulación de un suelo contaminado con DEHP y la evaluación de su microflora

El Dr. Gilberto Morales Guzmán, realizó una estancia postdoctoral en el Laboratorio de Remediación de la División Académica de Ciencias Biológicas en la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; donde desarrolló el proyecto de investigación “Bioestimulación de un suelo contaminado con di (2-etilhexil) ftalato y la evaluación de su microflora”. El propósito de este trabajo fue evaluar la efectividad de la biorremediación de suelo contaminado con di (2-etilhexil) ftalato mediante la adición de un fertilizante inorgánico (bioestimulación) y la microflora asociada (bacteria y hongos). A continuación, se presentan los resultados obtenidos.

Poblaciones de bacterias y hongos totales

Al cuantificar las poblaciones cultivables de microorganismos en los suelos contaminados y bioestimulados, se encontró que el tratamiento contaminado evidenció el mayor efecto negativo con respecto al tratamiento bioestimulado que mostró un incremento de 311% respectivamente (Figura 1).

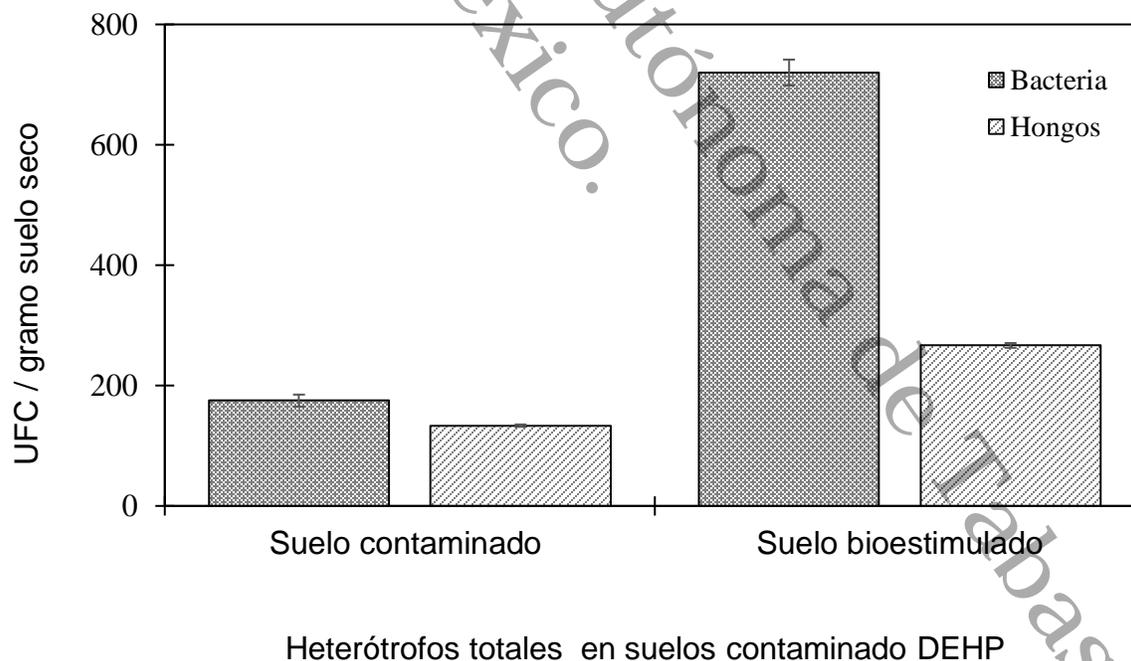


Figura 1. Poblaciones totales de bacterias y hongos en suelos contaminados con DEHP.

Las pruebas enriquecimiento inicial realizadas utilizaron una única fuente de carbono durante todo el periodo de incubación, principal característica de toda prueba de biodegradación. Esto se aplicó desde la preselección de las cepas para realizar el aislamiento. Al final (24 días) del proceso de enriquecimiento serial se realizó un plaqueo en medio de cultivo sólido (agar nutritivo), obteniéndose un total de 23 aislados morfológicamente diferentes, de los cuales se eligieron siete cepas por presentar un mayor crecimiento en placas (Cuadro 1).

La caracterización morfológica de las cepas bacterianas se realizó mediante observación macroscópica directa en placa, y posteriormente, una observación microscópica mediante tinción Gram, además de la prueba de la catalasa. Se pudo observar cómo todos los aislados estudiados eran catalasa positivos y Gram-positivos. Generalmente las colonias con aspecto pastosa suelen presentar morfologías cocoides y las colonias rugosas (rugosas) o sin brillo suelen ser bacilos de tamaño variable en ocasiones con ramificaciones en ángulo recto bien desarrolladas.

Cuadro 1. Características morfológicas de las cepas bacterianas

Liso	Consistencia	Color	Aspecto superficial	Forma	Elevación	Superficie
FB02	Dura	Crema	Filamentosa	Irregular	Umbonada	Rizoide
FB04	Pastosa	Crema	Liso	Circular	Convexa	Lisa
FB11	Rosa (Salmon)	Crema	Liso	Circular	Elevada	Circular
FB12	Pastosa	Crema	Liso	Circular	Elevada	Circular
FB15	Pastosa	Crema	Liso	Circular	Elevada	Circular
FB18	Dura	Crema	Rugosa	Irregular	Umbonada	Rizoide
FB20	Pastosa	Amarilla	Liso	Circular	Elevada	Circular