



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO  
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**SORCIÓN DE HIDROCARBUROS EN RAÍCES DE  
*Cyperus laxus Lam***

Proyecto de trabajo recepcional bajo la modalidad de:

**TESIS**

Que para obtener del grado de:

**Maestro en ciencias ambientales**

Presenta:

**Martha Gabriela Zurita Cruz**

Director de Tesis:

**DRA. Erika Escalante Espinosa**

Villahermosa, Tabasco.

Marzo, 2012.



FEBRERO 23 DE 2012

**C. MARTHA GABRIELA ZURITA CRUZ**  
**PAS. DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES**  
**PRESENTE**

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: **"SORCIÓN DE HIDROCARBUROS EN RAÍCES DE *Cyperus laxus* LAM"**, asesorado por la Dra. Erika Escalante Espinosa, sobre el cual sustentará su Examen de Grado, cuyo jurado está integrado por el Dr. Randy Howard Adams Schroeder, Dr. Mariáno Gutiérrez Rojas, Dra. Erika Escalante Espinosa, M. en C. Reyna Lourdes Focil Monterrubio y Dr. Ildefonso Díaz Ramírez.

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

**M. EN C. ROSA MARTHA PADRON LOPEZ**  
**DIRECTORA**

UJAT  
DIVISION ACADÉMICAS  
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCION

C.c.p.- Expediente del Alumno.

C.c.p.- Archivo



## CARTA AUTORIZACIÓN

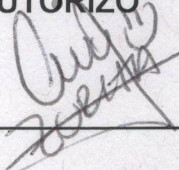
El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente el Trabajo Recepcional en la modalidad de Tesis de Maestría denominado: "**SORCIÓN DE HIDROCARBUROS EN RAÍCES DE *Cyperus laxus* LAM**", de la cual soy 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 veintitrés de febrero del año 2012.

AUTORIZO



---

MARTHA GABRIELA ZURITA CRUZ

# Sorción de hidrocarburos en raíces de *Cyperus laxus* Lam.

INFORME DE ORIGINALIDAD

# 15%

ÍNDICE DE SIMILITUD

## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://revistas.ujat.mx">revistas.ujat.mx</a> Internet	501 palabras — 3%
2	<a href="http://archivos.ujat.mx">archivos.ujat.mx</a> Internet	369 palabras — 2%
3	<a href="http://tesis.ipn.mx">tesis.ipn.mx</a> Internet	158 palabras — 1%
4	<a href="http://fisiologiavegetalundec.files.wordpress.com">fisiologiavegetalundec.files.wordpress.com</a> Internet	145 palabras — 1%
5	<a href="http://studylib.es">studylib.es</a> Internet	107 palabras — 1%
6	<a href="http://repositorio.tecnm.mx:8080">repositorio.tecnm.mx:8080</a> Internet	85 palabras — 1%
7	<a href="http://doi.org">doi.org</a> Internet	80 palabras — 1%
8	<a href="http://pt.scribd.com">pt.scribd.com</a> Internet	79 palabras — 1%
9	<a href="http://www.scribd.com">www.scribd.com</a> Internet	72 palabras — < 1%
10	<a href="http://www.scielo.org.co">www.scielo.org.co</a> Internet	

		59 palabras — < 1%
11	<a href="http://docplayer.es">docplayer.es</a> Internet	53 palabras — < 1%
12	<a href="http://qdoc.tips">qdoc.tips</a> Internet	53 palabras — < 1%
13	<a href="http://repositorio.uap.edu.pe">repositorio.uap.edu.pe</a> Internet	53 palabras — < 1%
14	<a href="http://repositorio.ug.edu.ec">repositorio.ug.edu.ec</a> Internet	49 palabras — < 1%
15	<a href="http://es.slideshare.net">es.slideshare.net</a> Internet	40 palabras — < 1%
16	<a href="http://www.researchgate.net">www.researchgate.net</a> Internet	40 palabras — < 1%
17	<a href="http://kupdf.net">kupdf.net</a> Internet	37 palabras — < 1%
18	<a href="http://bindani.izt.uam.mx">bindani.izt.uam.mx</a> Internet	29 palabras — < 1%
19	<a href="http://guadalupevillagomez.blogspot.com">guadalupevillagomez.blogspot.com</a> Internet	29 palabras — < 1%
20	<a href="http://idoc.pub">idoc.pub</a> Internet	29 palabras — < 1%
21	<a href="http://www.goodreads.com">www.goodreads.com</a> Internet	28 palabras — < 1%

22	D.C. Wolf, Z. Cryder, R. Khoury, C. Carlan, J. Gan. "Bioremediation of PAH-contaminated shooting range soil using integrated approaches", Science of The Total Environment, 2020 Crossref	26 palabras — < 1%
23	caelum.ucv.ve Internet	26 palabras — < 1%
24	vsip.info Internet	25 palabras — < 1%
25	assets.zyrosite.com Internet	24 palabras — < 1%
26	lasplantasbachiller-helena.blogspot.com Internet	21 palabras — < 1%
27	www.bdigital.unal.edu.co Internet	21 palabras — < 1%
28	repository.javeriana.edu.co Internet	20 palabras — < 1%
29	core.ac.uk Internet	19 palabras — < 1%
30	tel.archives-ouvertes.fr Internet	19 palabras — < 1%
31	jsw.um.ac.ir Internet	18 palabras — < 1%
32	www.inlab.com.ar Internet	17 palabras — < 1%

33 Alaà Ghanem, Valeria D'Orazio, Nicola Senesi. "Effects of Compost Addition on Pyrene Removal from Soil Cultivated with Three Selected Plant Species", CLEAN - Soil, Air, Water, 2013  
Crossref 16 palabras — < 1%

34 alojamientos.uva.es  
Internet 16 palabras — < 1%

35 celaya.academiajournals.com  
Internet 16 palabras — < 1%

36 colombo.ifpr.edu.br  
Internet 16 palabras — < 1%

37 fns.uniba.sk  
Internet 16 palabras — < 1%

EXCLUIR CITAS

ACTIVADO

EXCLUIR FUENTES

DESACTIVADO

EXCLUIR BIBLIOGRAFÍA

ACTIVADO

EXCLUIR COINCIDENCIAS < 16 PALABRAS

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.



La maestría en ciencias ambientales de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco está incluida en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACYT.



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

"Actúa de tal manera que la construcción de tus acciones no sean destructivas de las futuras condiciones de vida."

Hans Jones



## Agradecimientos

- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco por la beca otorgada.
- Al laboratorio de residuos sólidos de la Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa, por el apoyo invaluable de sus instalaciones.
- A la DRA. Erika Escalante Espinosa, que a través de sus conocimientos dirigió esta tesis, y por supuesto, por brindarme su amistad. Al comité revisor: DR. Randy H. Adams Schroeder, DR. Mariano Gutiérrez Rojas; M. en C. Reyna L. Focil Monterrubio y DR. Ildfonso J. Díaz Ramírez por enriquecer este trabajo con su experiencia.
- A Cornelio Contreras Juárez, por su inigualable apoyo y amistad durante mi estancia en el laboratorio.



## Dedicatoria

***“A la vida, por enseñarme que de cualquier reto,  
puedo ver más allá del horizonte”***



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco  
México.

**Índice**



<b>I. RESUMEN</b>	<b>9</b>
<b>II. ABSTRACT</b>	<b>11</b>
<b>III. INTRODUCCIÓN</b>	<b>13</b>
<b>1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>17</b>
1.1 CONTAMINACIÓN DE SUELOS POR HIDROCARBUROS	18
1.2 HIDROCARBUROS TOTALES DE PETRÓLEO (HTP)	18
1.2.1 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP)	19
1.2.1.1 Fenantreno (Phe)	20
1.2.1.2. Pireno (PYR)	21
1.2.2 Hidrocarburos alifáticos	21
1.2.2.1 Hexadecano (HXD)	22
1.2.3 Resinas o polares	22
1.2.4 Asfaltenos	23
1.3 TECNOLOGÍAS DE BIORREMEDIACIÓN	23
1.3.1 Bioestimulación	24
1.3.2 Bioaugmentación	24
1.3.3 Biolabranza (landfarming)	24
1.3.4 Composteo	25
1.3.5 Biorreactores	25
1.3.6 Fitorremediación	26
1.3.6.1 Mecanismos de fitorremediación	26
1.3.6.1.1 Fitofiltración (rizofiltración)	26
1.3.6.1.2 Fitoextracción	26
1.3.6.1.3 Fitovolatilización	27
1.3.6.1.4 Fitoinmovilización	27
1.3.6.1.5 Fitoestabilización	27
1.3.6.1.6 Fitodegradación	28
1.3.6.1.7 Rizodegradación	28
1.4 FUNCIÓN DE LAS RAÍCES EN LA FITORREMEDIACIÓN	29
1.5 RUTAS DE ABSORCIÓN DE AGUA	31
1.5.1 Ruta apoplástica	32
1.5.2 Ruta simplástica	33
1.6 RETENCIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS EN SUELOS	33
1.7 ISOTERMAS DE SORCIÓN	36
1.7.1 Langmuir	36
1.7.2 Freundlich	37
1.7.3 Brunauer, Emmett y Teller (BET).	37
1.8 SORCIÓN DE HIDROCARBUROS EN PLANTAS.	38
<b>2. ANTECEDENTES</b>	<b>39</b>
2.1 ANTECEDENTES DE FITORREMEDIACIÓN DE HIDROCARBUROS CON <i>CYPERUS LAXUS</i> .	43
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b>	<b>46</b>
<b>4. HIPÓTESIS</b>	<b>48</b>



<b>5. OBJETIVOS</b>	<b>50</b>
5.1 OBJETIVO GENERAL	51
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	51
<b>6. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>52</b>
6.1 ESTRATEGIA EXPERIMENTAL DEL ESTUDIO REALIZADO	53
6.2 ESPECIE	54
6.3 CONDICIONES DE GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO	54
6.4 AGROLITA	54
6.5 SOPORTE	54
6.6 SORCIÓN DE HIDROCARBUROS EN LA RAÍZ	55
6.7 CUANTIFICACIÓN MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES	55
6.7.1 Hexadecano	55
6.7.2 Mezcla de hidrocarburos hexadecano, fenantreno y pireno	56
6.8 DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS DEGRADADORES POR EL MÉTODO DEL NÚMERO MÁS PROBABLE (NMP)	56
6.9 CUANTIFICACIÓN DE LÍPIDOS EN RAÍZ	57
6.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	57
<b>7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>58</b>
7.1 GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE PLANTAS	59
7.2 SORCIÓN DE HIDROCARBUROS EN RAÍCES DE <i>CYPERUS LAXUS</i>	60
7.2.1 Sorción de hidrocarburos individuales	61
7.2.2 Mezcla de hidrocarburos	66
7.2.3 Remoción de los hidrocarburos en el tratamiento individual	68
7.2.4 Remoción de la mezcla de hidrocarburos (HXD, PHE y PYR)	69
7.2.5 Cuantificación de microorganismos degradadores por el método del número más probable (NMP)	70
7.2.6 Extracción de lípidos en plántulas de 60 días	73
7.3 FACTOR DE CONCENTRACIÓN EN LA RAÍZ (FCR)	74
<b>8. CONCLUSIONES</b>	<b>80</b>
<b>9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>83</b>



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## i. Resumen



En este trabajo se evaluó la sorción de hidrocarburos alifáticos y aromáticos en las raíces de *Cyperus laxus*, planta de pantano nativa del sureste de México, que crece en suelos contaminados con hidrocarburos. La germinación y crecimiento de las plantas (60 días) y las pruebas de sorción se realizaron bajo condiciones de invernadero. La sorción en las raíces se cuantificó individualmente para hexadecano, fenantreno y pireno a concentraciones de 500 hasta 100 000 mg kg<sup>-1</sup>, utilizando un suelo modelo (agrolita contaminada con hidrocarburos), durante siete días de cultivo. Al final del cultivo, la sorción en las raíces de los hidrocarburos evaluados incrementó al aumentar la concentración inicial en el suelo modelo, siendo el hexadecano el que presentó la mayor sorción (4 397 mg kg<sup>-1</sup>) en una concentración de 100 000 mg kg<sup>-1</sup>. El pireno presentó mayor sorción en las raíces comparado con fenantreno. *C. laxus* fue capaz de remover los contaminantes del medio a valores mayores al 90 % en todas las pruebas. Para el hexadecano, la sorción en las raíces representó el 0.11 % de la remoción, a la concentración más alta en las pruebas con hidrocarburos individuales. En la segunda etapa, la mezcla de hidrocarburos (alifáticos:aromáticos; 1:1), la sorción de los hidrocarburos se cuantificó a partir de concentraciones de 3 250 hasta 25 000 mg kg<sup>-1</sup>; siendo el comportamiento de la sorción para cada hidrocarburo en la mezcla, similar al obtenido de manera individual. Con respecto a los microorganismos degradadores, los valores obtenidos fueron hasta de 1 x 10<sup>6</sup> células /g agrolita en las pruebas con hidrocarburos individuales y de hasta 4.9 x 10<sup>4</sup> células /g agrolita en la mezcla. El valor del factor de concentración en la raíz varió dependiendo del hidrocarburo y de la concentración en la agrolita. Para el hexadecano el valor máximo obtenido fue de uno, en ambas pruebas. Para los hidrocarburos aromáticos, la mayoría de los valores obtenidos fueron superiores a uno, siendo el pireno el que presentó el mayor valor (7.7). La sorción de hidrocarburos en las raíces, es una etapa importante considerando que estos pueden ser metabolizados y/o acumulados dentro de la planta. Como parte de los mecanismos de fitorremediación, los resultados de este trabajo indican que para *Cyperus laxus*, en el sistema utilizado, la sorción de hidrocarburos en la raíz no fue el mecanismo principal de remoción de los contaminantes, previniendo por lo tanto, el paso de los hidrocarburos a otros niveles de la cadena trófica.



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco  
México.

## **ii. Abstract**



This work evaluated the sorption of aliphatic and aromatic hydrocarbons by roots of *Cyperus Laxus*, native swamp plant at southeast Mexico, growing at hydrocarbons contaminated soils. Germination, growth of plants (60 days old) and sorption test were conducted under greenhouse conditions. Sorption was quantified for hexadecane, phenanthrene and pyrene individually to concentrations from 500 to 100 000 mg kg<sup>-1</sup>, using a model soil (perlite spiked with hydrocarbons) during seven days of culture. At the end of culture, sorption of hydrocarbons by roots was rising by increasing the initial concentration in the model soil, hexadecane showed the highest sorption (4 397 mg kg<sup>-1</sup>) at 100 000 mg kg<sup>-1</sup>. *C. laxus* was able to remove contaminants to values greater than 90%. For hexadecane, sorption represents 0.11% of removal, at the highest concentration. In the second phase, the mixture of hydrocarbons (aliphatic:aromatics; 1:1), initial concentrations were from 3 250 to 25 000 mg kg<sup>-1</sup>, the sorption was similar to individual test. Values of hydrocarbon-degrader microorganisms were until 1 x 10<sup>6</sup> cells / g soil at individual test and 4.9 x 10<sup>4</sup> cells/ g soil for mixture test. Root Concentration Factor depending on the hydrocarbon concentration tested. For hexadecane the maximum value obtained was 1 in both tests. For aromatic hydrocarbons most values were above one, pyrene had the highest value (7.7). The sorption of hydrocarbons by roots, is an important phase considering that they can be metabolized and/or accumulated within the plant. As part of the mechanisms of phytoremediation, the results of this work indicate that in the case of *C. laxus*, in the model system used, the sorption by roots of hydrocarbons was not the primary mechanism for removal of contaminants, thereby preventing, the passage of contaminants to other levels of the trophic chain.



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## **iii. Introducción**



Existen diferentes fuentes generadoras de contaminación de suelos en México, siendo la industria petrolera en su conjunto la que ha representado un gran impacto en materia ambiental debido a la amplia gama de productos derivados del petróleo, ocasionando una numerosa cantidad de sitios contaminados por hidrocarburos; esto se refiere principalmente a la consecuencia de la alteración del ecosistema, provocando el desequilibrio de los recursos no renovables o difícilmente renovables, modificando sus propiedades y/o características (Acevedo, 2000). Es por ello que desde hace algunos años ha surgido el interés por el saneamiento de los suelos contaminados. Los hidrocarburos son compuestos orgánicos constituidos de carbono e hidrógeno, son productos naturales de amplia distribución, tienen muchos representantes (alifáticos y aromáticos), entre estos se encuentran los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (Rittmann, 2001). Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP) son contaminantes orgánicos de gran importancia debido a que algunos afectan el equilibrio ecológico y la salud humana, su característica química principal es su estructura de varios anillos bencénicos que pueden tener un origen natural (las plantas y las bacterias son fuente de hidrocarburos) o derivado tanto de las actividades que emplean petróleo como de combustiones incompletas, entre ellas se encuentra la incineración de residuos urbanos e industriales, incendios forestales, centrales térmicas, entre otros (Venkata, y col 2006). Uno de los tratamientos para la remoción de compuestos orgánicos en suelos contaminados es la biorremediación la cual se refiere a los sistemas que utilizan organismos vivos (plantas, hongos, bacterias, etc.) para degradar, transformar o remover compuestos orgánicos tóxicos a productos metabólicos inocuos o menos tóxicos. Esta estrategia biológica depende de las actividades catabólicas de los organismos, y por consiguiente de su capacidad para utilizar los contaminantes como fuente de carbono y energía. Aunque no todos los compuestos orgánicos son susceptibles a la biodegradación, los procesos de biorremediación se han usado con éxito para tratar suelos, lodos y sedimentos contaminados con hidrocarburos del petróleo (HTP), solventes, explosivos, clorofenoles, pesticidas, conservadores de madera (creosota) e hidrocarburos aromáticos policíclicos



(Volke y Velasco, 2002). Varios estudios han demostrado la conveniencia de la aplicación de la fitorremediación a los suelos contaminados con hidrocarburos, incluyendo los HAP.

La fitorremediación es el uso de las plantas y/o de su rizósfera asociada para remover contaminantes y es considerada como una alternativa atractiva, para tratar áreas extensas contaminadas por compuestos orgánicos. Las plantas mejoran la biodisponibilidad de los contaminantes debido que a medida que crece la raíz, penetra en el suelo exponiendo los contaminantes atrapados que pudieron haber estado previamente inaccesibles (Venkata, y col 2006). El introducir plantas a los sitios contaminados tiene el potencial de contribuir con varios mecanismos indirectos a la remoción del contaminante, como la sorción (retención de una sustancia por otra cuando están en contacto; incluye los fenómenos de absorción y adsorción) de estos en las raíces. La sorción puede ser influenciada por la etapa del crecimiento de la planta ya que las características químicas y físicas de la raíz cambian perceptiblemente durante la vida de la planta. La sorción de un contaminante orgánico en las raíces de las plantas es importante debido que los hidrocarburos pueden acumularse en el tejido de la planta o bien, ser metabolizados dentro de este y de esta manera no se transfieren a otro nivel de la cadena trófica. Para el tratamiento de zonas pantanosas contaminadas se ha propuesto el uso de plantas nativas para aprovechar los recursos del sitio. Recientemente se ha estudiado la capacidad fitorremediadora de *Cyperus laxus* Lam, especie que se encuentra creciendo en zonas pantanosas del sureste de México, altamente contaminadas con hidrocarburos. Como parte de los mecanismos de fitorremediación, en este trabajo se evaluó la remoción de hidrocarburos a través de la sorción en la raíz de *C. laxus* en un sistema modelo utilizando agrolita como soporte.

Los hidrocarburos probados son moléculas modelo como fenantreno, pireno y hexadecano, los que se encuentran con relativa frecuencia en los suelos contaminados y representan las fracciones (alifáticos y aromáticos) que se encuentran constituyendo en mayor proporción al petróleo crudo. En los primeros capítulos se mencionan los antecedentes y conceptos generales en la



composición de los hidrocarburos, las tecnologías más recientes de biorremediación, los mecanismos de fitorremediación, así como también se describe la función de las raíces en la fitorremediación. En los siguientes capítulos (tres, cuatro y cinco) se muestra la justificación, hipótesis y objetivos de este trabajo. Los materiales y métodos se detallan en el capítulo seis. Para los últimos capítulos se presenta el análisis y la discusión de los resultados obtenidos en los cultivos de sorción evaluados en las pruebas con hidrocarburos individuales, así como en mezcla y se presentan las conclusiones generales del trabajo.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco  
México.

# 1. Revisión bibliográfica



### *1.1 Contaminación de suelos por hidrocarburos*

El suelo constituye un recurso natural que desempeña diversas funciones en la superficie de la Tierra, proporcionando un soporte mecánico, así como nutrientes para el crecimiento de plantas y microorganismos. La matriz del suelo está formada por cinco componentes principales: minerales, aire, agua, materia orgánica y organismos vivos. Los minerales son los principales componentes estructurales y constituyen más del 50% del volumen total del suelo. El aire y el agua juntos ocupan el volumen de los espacios y usualmente conforman del 25% a 50% del volumen total. La proporción relativa de aire/ agua fluctúa considerablemente con el contenido de humedad del suelo. El material orgánico ocupa entre 3% y 6% del volumen promedio, mientras que los organismos vivos constituyen menos del 1% (Volke, y Velasco, 2002). La contaminación del suelo suele ocurrir cuando éste recibe contaminantes de diversas fuentes (Beltrami, 2001) tales como los derivados de: las industrias químicas, minera, agroquímicos, estaciones de servicio (productos combustibles como gasolina, diesel, combustóleo, gasóleo), ferrocarriles, por mencionar algunos.

En México existe actualmente una gran cantidad de sitios contaminados con diferentes tipos de compuestos, tanto orgánicos como inorgánicos, debido principalmente a las actividades de la industria minera y petrolera, además de derrames de residuos peligrosos.

### *1.2 Hidrocarburos Totales de Petróleo (HTP)*

El término hidrocarburos totales de petróleo se usa para describir una gran familia de varios cientos de compuestos químicos originados de petróleo crudo. El petróleo crudo es usado para manufacturar productos de petróleo, los que pueden contaminar el ambiente. Debido a que hay muchos compuestos químicos diferentes en el petróleo crudo y en otros productos de petróleo, no es práctico medir cada uno en forma separada. Sin embargo, es útil medir la cantidad total de HTP en un sitio. Los HTP se han dividido en grupos de hidrocarburos. Estos grupos se llaman fracciones de hidrocarburos de petróleo. La composición exacta



de los productos de petróleo depende de: (i) de la fuente del petróleo crudo (el petróleo crudo se deriva de los depósitos subterráneos que varían completamente en su composición química) y (ii) de las prácticas de la refinación usadas para generar el producto (ATSDR, 2007). De la industria petrolera se obtiene crudo, este se caracteriza por ser un líquido negro, viscoso y con una composición química sumamente compleja, conteniendo miles de compuestos, básicamente de la familia de los hidrocarburos. Los hidrocarburos como contaminantes son compuestos predominantes (50-98% de la composición), por lo que constituyen uno de los grupos más importantes, tanto por su abundancia como por su persistencia en distintos compartimentos ambientales. Mayormente son alcanos de cadena lineal (*n*-alcanos o *n*-parafinas), alcanos ramificados (en menor cantidad), cicloalcanos (o naftenos) y cantidades variables pero reducidas de hidrocarburos aromáticos. La composición elemental de un crudo está condicionada por la predominancia de los compuestos tipo hidrocarburo: 84-87% de C, 11-14% de H, de 0-8% de S, y de 0-4% de O y N y metales como el níquel y el vanadio. Los principales componentes se subdividen y purifican en distintas fracciones: (i) fracción saturada (*n*-alcanos, alcanos ramificados con cadenas alquílicas y las cicloparafinas), (ii) fracción aromática (monoaromáticos, diaromáticos e hidrocarburos aromáticos policíclicos), (iii) fracción de resinas y (iv) fracción de asfaltenos que son menos abundantes en donde se encuentran hidrocarburos heterocíclicos, hidrocarburos oxigenados y agregados de alto peso molecular (Viñas, 2005).

### 1.2.1 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP)

Durante la década pasada, se observó que las concentraciones de contaminantes orgánicos persistentes (COP) en el ambiente se incrementó considerablemente. Los HAP son de gran interés por su acumulación como contaminantes del suelo (Denys y col, 2005). Son compuestos orgánicos, no iónicos, hidrofóbicos con varios anillos bencénicos condensados, y se forman como consecuencia de la combustión incompleta de material orgánico y algunos tienen características



mutagénicas y carcinógenas (Gao, 2006). Debido a su carácter lipofílico pueden acumularse en las capas lipídicas de las células de plantas y animales como resultado de la transferencia a lo largo de la cadena alimenticia (Aina, 2006). Como consecuencia, gran parte de la investigación de la acción de los carcinógenos se ha concentrado en torno a los HAP. Cuando un compuesto ajeno penetra en un organismo, éste trata de eliminarlo, si el compuesto es de baja solubilidad en agua, dicha eliminación generalmente se dirige a la transformación a un compuesto más hidrosoluble que se excreta sin dificultad. Se ha establecido que los HAP se transforman en óxidos de arenos, es decir epóxidos en los que necesariamente ha sido destruida la aromaticidad de uno de los anillos. Un epóxido típicamente desarrolla reacciones de sustitución nucleofílica que abren el anillo del epóxido para dar un producto que contiene dos grupos funcionales (Morrison 1998).

#### 1.2.1.1 Fenantreno (Phe)

El fenantreno consiste en tres anillos bencénicos fusionados, su constante de partición octanol-agua ( $pK_{ow}$ ) es de 4.46. En la Tabla 1 se presentan las características principales del fenantreno.

Tabla 1 Características descriptivas del Fenantreno.

<b>Fórmula molecular</b>	<b>C<sub>14</sub> H<sub>10</sub></b>
Número CAS	85-01-8
Masa molecular	178.22 g/mol
Apariencia	Líquido
Punto de fusión	100 °C
Punto de ebullición	340 °C
Densidad:	0.9800 g/ml
Solubilidad en agua	0.151 mg/l



### 1.2.1.2. Pireno (PYR)

El Pireno consiste en cuatro anillos bencénicos fusionados, dando por resultado una molécula aromática plana. En la Tabla 2 se muestran las características principales del pireno. Se forma durante la combustión incompleta del material orgánico y por lo tanto puede ser aislado de alquitrán de carbón junto con una amplia gama de compuestos relacionados.

Tabla 2 Características descriptivas del pireno.

Fórmula molecular	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub>
Número CAS	129-00-0
Masa molecular	202.25 g/mol
Apariencia	Sólido incoloro
Punto de fusión	145-148 °C
Punto de ebullición	404 °C
Densidad:	1.271 g/ml
Solubilidad en agua	0.135 mg/l
pK <sub>ow</sub>	5.32

### 1.2.2 Hidrocarburos alifáticos

Se subdividen en las siguientes familias: alcanos, alquenos, alquinos y sus análogos cíclicos (cicloalcanos). Las moléculas de los alcanos sólo presentan enlaces covalentes, que enlazan los átomos iguales cuyas electronegatividades apenas difieren, por lo que no son polares. Estos enlaces son direccionales de modo muy simétrico, lo que permite que dichas polaridades débiles se cancelen; como resultado, un alcano es no polar o ligeramente polar (Morrison 1998). Los hidrocarburos alifáticos se consideran la fracción del petróleo fácilmente biodegradable (Gallegos, 2000).



### 1.2.2.1 Hexadecano (HXD)

El Hexadecano (también llamado cetano) es un hidrocarburo del grupo alcano con la fórmula química  $\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{14} \text{CH}_3$ . Consiste en una cadena de 16 átomos de carbono con tres átomos del hidrógeno enlazados a los dos de carbono del extremo y dos hidrógenos enlazados a cada uno de los otros 14 átomos de carbono. En la Tabla 3 se muestran las características del hexadecano.

Tabla 3 Características descriptivas del hexadecano.

Fórmula molecular	$\text{C}_{16}\text{H}_{34}$
Número CAS	544-76-3
Masa molecular	226.44 g/mol
Apariencia	Líquido incoloro
Punto de fusión	18 °C
Punto de ebullición	287 °C
Densidad:	7.8 g/mL
Solubilidad en agua	0.0009 mg/L a 25° C
$\text{pK}_{\text{ow}}$	9.07

### 1.2.3 Resinas o polares

Las resinas son agregados con una gran cantidad de estructuras policíclicas de alto peso molecular, semisólidas, muy adhesivas (leahy y Colwel 1990, Alayon, 2004), que le confieren el color oscuro al petróleo. Los compuestos que forman esta fracción contienen heteroátomos como nitrógeno, azufre y oxígeno adicionados al carbono e hidrógeno en su estructura molecular (Díaz-Ramírez 2004). Entre estos compuestos se han identificado porfinas, metalo-porfirinas (níquel o vanadio en su estructura) y ácidos nafténicos, piridinas, quinolinas, carbazoles, tiofenos, sulfóxidos y aminas. Comprenden aquella fracción que se solubiliza cuando el petróleo o bitumen se disuelve en un n-alcano, pero se absorbe en un material activo superficialmente. (leahy y Colwel 1990; Díaz-Ramírez 2004).



#### 1.2.4 Asfaltenos

Los asfaltenos están conformados por diferentes estructuras aromáticas, alicíclicas y heterocíclicas unidas por cadenas de hidrocarburos alifáticos de longitud variable, tiene una estructura molecular muy compleja, y son un grupo de hidrocarburos del petróleo que contienen diferentes proporciones de nitrógeno, azufre y oxígeno. (Pineda-Flores y col., 2002). Los asfaltenos son materiales sólidos de apariencia fina como polvo, su color va desde el negro hasta el café oscuro, y se obtienen a partir del petróleo crudo, residuos de petróleo o materiales bituminosos, empleando disolventes parafínicos de bajo peso molecular como el n-pentano y el n-heptano; son solubles en tolueno y otros solventes aromáticos (Centeno y col., 2004).

#### 1.3 Tecnologías de Biorremediación

Uno de los tratamientos para la remoción de compuestos orgánicos en suelos contaminados es la biorremediación, la cual se refiere a los sistemas que utilizan organismos vivos (plantas, hongos, bacterias, etc.) para degradar, transformar o remover compuestos orgánicos tóxicos a productos metabólicos inocuos o menos tóxicos. Esta estrategia biológica depende de las actividades catabólicas de los organismos, y por consiguiente de su capacidad para utilizar los contaminantes como fuente de carbono y energía. La biorremediación está ganando una aprobación más amplia como tecnología alternativa factible para el tratamiento de los suelos contaminados con HAP. De hecho, la biorremediación se considera un medio seguro, eficiente, amistoso y económico de remover los agentes contaminantes de suelo (Volke y Velasco, 2002).

Se conocen varios tratamientos de biorremediación como son: tratamiento en fase sólida, biolabranza, adición de fertilizantes, biorreactores, fitorremediación, biorremediación usando enzimas y métodos combinados (pre-tratamiento químico seguido por la biorremediación), además del uso de estrategias tales como



bioestimulación, y bioaumentación para mejorar las tasas de biorremediación (Venkata y col., 2006).

### 1.3.1 Bioestimulación

Implica la adición o la circulación de soluciones acuosas (que contengan nutrientes y/u oxígeno) a través del suelo contaminado, para estimular la actividad de los microorganismos autóctonos y mejorar así la biodegradación de contaminantes orgánicos o bien, la inmovilización de contaminantes inorgánicos *in situ* (Volke y Velasco, 2002).

### 1.3.2 Bioaumentación

La bioaumentación, es decir, la adición de microorganismos que degradan a los contaminantes, puede acelerar el proceso de degradación. El proceso de adaptación microbiana es un proceso que mejora la capacidad metabólica de la microflora nativa por la pre-exposición de suelos a concentraciones de contaminantes mayores que las que se encuentran en el sitio (Venkata y col., 2006).

### 1.3.3 Biolabranza (*landfarming*)

La biolabranza es uno de los procesos de remediación aceptados por la EPA para el tratamiento y factibilidad de remediación de los sitios. Se usa para estimular la microflora nativa del suelo, la cual puede tener limitada su capacidad de degradación por factores tales como aireación inadecuada, contacto pobre de los microorganismos con los contaminantes y nutrientes escasos (Venkata y col., 2006). Las condiciones del suelo (pH, temperatura, aireación) se controlan para optimizar la velocidad de degradación y generalmente se incorporan cubiertas u otros métodos para el control de lixiviados (Volke y Velasco, 2002).



#### 1.3.4 Composteo

La tecnología de composteo implica la adición de agentes orgánicos a la mezcla de la composta incrementando la porosidad, mejorando el flujo de aire y proporcionando una fuente de fácil asimilación para el crecimiento de la biomasa. La energía liberada durante la degradación provoca la elevación de la temperatura presentándose cuatro fases microbiológicas importantes (mesofílica, termofílica, enfriamiento y maduración). La etapa mesofílica tiene normalmente la diversidad microbiana más alta mientras que la etapa termofílica se caracteriza por las bacterias formadoras de esporas y los hongos termófilos. La repoblación microbiana durante la fase de enfriamiento se caracteriza por la presencia de los hongos mesofílicos que soportan las temperaturas altas de la etapa termofílica. En la etapa final del compostaje (maduración), la mayoría de la materia orgánica degradable es consumida por la población microbiana y el material se considera estable. Se ha demostrado que el composteo es eficaz en la biodegradación de HAP en escalas del laboratorio y de campo usando diversos tipos de acondicionadores del compostaje tales como desechos de hollín, desechos de hojas y alfalfa (Venkata y col., 2006).

#### 1.3.5 Biorreactores

En los biorreactores se presenta una degradación eficiente de los contaminantes atrapados en el suelo facilitando el contacto creciente con la fase del agua, que contiene los nutrientes, las fuentes adicionales de carbono y el oxígeno bajo condiciones controladas y optimizadas. Los reactores utilizan las bacterias naturales (microflora nativa del suelo) o las inoculadas que tienen capacidades específicas para metabolizar los contaminantes presentes en cualquier fase sólida o líquida bajo condiciones ambientales óptimas. Comparado a los sistemas de la fase sólida, los biorreactores facilitan la degradación eficaz de contaminantes en menos tiempo. La ventaja principal del sistema de la mezcla según la EPA incluye el *tratamiento on site*. (Venkata y col., 2006).



### 1.3.6 Fitorremediación

La fitorremediación es el uso de las plantas y/o de su rizósfera asociada para remover contaminantes y es considerada como una alternativa atractiva para tratar extensas áreas contaminadas. Las plantas mejoran la biodisponibilidad de los contaminantes debido que a medida que crece la raíz, penetra en el suelo exponiendo los contaminantes atrapados que pudieron haber estado previamente inaccesibles (Venkata y col., 2006).

#### 1.3.6.1 Mecanismos de fitorremediación

Los mecanismos de fitorremediación son fitofiltración o rizofiltración, fitoextracción, fitoinmovilización, fitoestabilización, fitodegradación/ fitotransformación, fitovolatilización y rizodegradación.

##### 1.3.6.1.1 Fitofiltración (rizofiltración)

Es el uso de plantas para remover contaminantes del agua. La planta puede asimilar los contaminantes en la biomasa y así remover el contaminante. La rizofiltración se refiere al uso de las raíces de plantas cultivadas hidropónicamente en agua contaminada, la cual es remediada a través de la absorción, de la acumulación y de la precipitación de contaminantes. La asimilación y la volatilización subsecuente de contaminantes pueden ocurrir también. La fitofiltración también puede dar lugar a la recuperación y a la reutilización del compuesto (Venkata y col., 2006).

##### 1.3.6.1.2 Fitoextracción

La capacidad de plantas de asimilar los contaminantes inorgánicos (principalmente metales) del suelo es un mecanismo ampliamente utilizado en la remediación. La disposición de la vegetación que contiene el contaminante (especialmente después de la incineración) o la recuperación del contaminante en la planta en



ambos son más atractivas que la disposición del suelo contaminado (Arthur y col., 2005).

#### 1.3.6.1.3 Fitovolatilización

En este proceso los compuestos volátiles se liberan a la atmosfera a través de la transpiración de la planta (Singh, 2003). Las plantas tienen una capacidad natural para la asimilación de compuestos inorgánicos (incluyendo metales) del suelo y sedimentos. Algunos de estos compuestos son nutrientes esenciales de la planta, mientras que otros no tienen ninguna función fisiológica en estas. Varios factores contribuyen al éxito de la fitovolatilización como mecanismo de remediación incluyendo el grado de contaminación, la biodisponibilidad del metal y la capacidad de la planta de absorber y acumular los metales. La ruta más común de la asimilación en las plantas es a través de la raíz, vía una fase acuosa. Los iones y las moléculas orgánicas se mueven a las raíces desde suelo y con la transpiración de la planta (el transporte de iones del agua del suelo en la raíz ocurre simultáneamente con transporte del agua), el transporte difusivo y el transporte microbiano. La membrana plasmática sirve como barrera a la asimilación; ya que los compuestos requieren cruzar la membrana plasmática en el citoplasma de las células de la raíz (Arthur y col., 2005).

#### 1.3.6.1.4 Fitoimmobilización

Es un mecanismo en la cual las plantas utilizan las raíces para la fijación o inmovilización de los contaminantes en el suelo mineral (Carpena y col., 2007, Arthur y col., 2005).

#### 1.3.6.1.5 Fitoestabilización

Algunas plantas pueden reducir la disponibilidad de metales tóxicos en suelo a través de la formación de complejos. Este proceso no remueve el contaminante del suelo, sino que reduce el peligro inherente del contaminante. La remediación



por el retiro de contaminantes de un sitio no es siempre posible. En estos casos, la estabilización proporciona una alternativa desde un punto de vista logístico y técnico. El resultado es transformación del compuesto peligroso a un compuesto inerte (Arthur y col., 2005).

#### 1.3.6.1.6 Fitodegradación

Los contaminantes son degradados a compuestos menos tóxicos o no tóxicos por varios procesos metabólicos dentro de la planta (Singh, 2003). Los métodos para estudiar la fitodegradación pueden implicar el crecimiento de plantas en suelos, sistemas hidropónicos o la utilización de cultivo de tejidos. En un sistema hidropónico, la solución tiene una concentración conocida del contaminante y se estudian la asimilación, el metabolismo, y la exudación de la planta. Este sistema es aprovechado para definir el papel de la planta en el proceso de la remediación, y es menos útil en la determinación de la disponibilidad del contaminante a la planta (Arthur y col., 2005).

#### 1.3.6.1.7 Rizodegradación

En este mecanismo el contaminante es transformado por los microorganismos en la rizósfera, es decir, la zona de la raíz que tiene contacto con los microorganismos del suelo (Singh, 2003). La rizósfera, con gran número de microorganismos, es un ejemplo perfecto de la biodiversidad. Mientras que cualquier especie individual es generalmente capaz de producir unas o más enzimas que puedan realizar una reacción de la biotransformación, un consorcio de microorganismos en la zona de la raíz de una planta puede realizar muchas y variados tipos de transformaciones enzimáticas. Las biotransformaciones logradas por los microorganismos pueden transformar los compuestos que pueden ser tóxicos a la planta, por ejemplo el caso de los compuestos alelopáticos liberados por las plantas vecinas que están compitiendo por el mismo espacio, nutrientes, agua, y luz. Las plantas también se benefician de los microorganismos en su rizósfera porque éstos pueden excretar enzimas que solubilizan ciertos nutrientes



en el suelo. Además, la planta proporciona probablemente otros nutrientes para atraer bacterias en la zona a través de los exudados de la raíz o adentro de los nódulos de la raíz (Singh, 2003).

Las biotransformaciones que llevan a cabo los microorganismos en la rizósfera pueden ser el resultado de la producción y expresión de las enzimas intracelulares exportadas a la matriz del suelo o de la acción enzimática dentro de las células. Estas reacciones son numerosas e incluyen la oxidación, la reducción, la hidrólisis, la conjugación, entre otras. Cualquier especie microbiana puede ser capaz de varios tipos de transformaciones y cuando más de una especie está presente, el consorcio puede degradar colectivamente un compuesto orgánico totalmente.

Similarmente, un ensamble de varias especies de plantas, crecidas juntas, puede favorecer a una rizósfera aún más diversa, que puede ser capaz de realizar una amplia gama de transformaciones bioquímicas. Los métodos para estudiar la rizodegradación han incluido estudios de (i) metabolismo del suelo y (ii) aislamientos y cultivo de especies individuales de microorganismos, típicamente bacterias y hongos. El método anterior proporciona datos en gran parte realistas acerca del destino total de un compuesto en el suelo con variables que se controlan tales como temperatura y humedad, entre otros. El objetivo principal de estos mecanismos es la eliminación o reducción de hidrocarburos en el suelo contaminado.

#### *1.4 Función de las raíces en la fitorremediación*

La actividad fisiológica de las plantas (absorción de agua y compuestos químicos, metabolismo en las células vegetales, liberación natural de exudados, impacto físico y bioquímico en el entorno) es un paso clave en la fitorremediación. Las raíces presentan una considerable efectividad en el proceso de extracción de agua del suelo, y posterior transporte a las partes aéreas del vegetal vía xilema. La transpiración que ocurre a través de los estomas que es el motor de la absorción de agua. Las plantas modifican el entorno físico en el que viven, mejorando la estabilidad del suelo y contrarrestando la erosión hídrica (Lal, 2002). Los



agregados del suelo se rompen a medida que las raíces crecen y empujan el material que los rodea, mezclándolos y facilitando la aireación. Las raíces en descomposición pueden crear macroporos en los suelos que facilitan el transporte de agua, gases y contaminantes a través del suelo. Así mismo, los exudados de las plantas actúan sobre las condiciones fisicoquímicas de los suelos del entorno radicular, modificando pH, biodisponibilidad y absorción de metales y compuestos orgánicos. Schnoor y col. (1995), reconocieron inicialmente varios mecanismos por los cuales las plantas pueden llevar a cabo la remediación de los suelos: sorción, liberación de exudados radicales y enzimas e incremento de la mineralización en la rizósfera.

Es importante considerar que las características de las raíces pueden cambiar en presencia de los microorganismos como es el caso de las micorrizas (hongos que establecen asociaciones mutualistas durante largos períodos con las raíces de las plantas y que pueden estar totalmente integrados en la estructura física de la raíz). Estos hongos se benefician captando nutrientes de las raíces, y a su vez contribuye a la nutrición de la planta (Atlas y col., 2005). En muchas de estas asociaciones se ha observado mejoras en la captación de agua y de los nutrientes minerales, principalmente fósforo y nitrógeno, por tanto, la planta probablemente obtiene beneficios de esta asociación con los hongos micorrízicos como: (i) una mayor longevidad de las raíces absorbentes, (ii) aumento en la tasa de absorción de nutrientes del suelo, (iii) absorción selectiva de ciertos iones del suelo, (iv) resistencia a fitopatógenos, (v) incremento en la tolerancia a ciertas toxinas y (vi) amplio margen a la tolerancia de variables ambientales como: temperatura, grado de humedad y pH (Atlas y col., 2005).



### 1.5 Rutas de absorción de agua

La absorción de agua consiste en su desplazamiento desde el suelo hasta la raíz, y es la primera etapa del flujo hídrico en el sistema continuo suelo-planta-atmósfera. Se producirá de modo espontáneo si el potencial hídrico ( $\Psi$ ) en la raíz es menor que el del suelo (García-Breijo y col., 2006). La entrada del agua se encuentra en el suelo y se incorpora a la planta por la raíz a través de los pelos radicales (extensiones microscópicas de las células epidérmicas de la raíz) que permiten aumentar la superficie de contacto entre la planta y el suelo. Las regiones más maduras de la raíz tienen con frecuencia una capa externa de tejido protector, denominada exodermis o hipodermis, que contienen materiales hidrofóbicos en sus paredes y que es relativamente impermeable al agua (Taiz y col., 2006). La superficie de los pelos radicales está cubierta por una capa mucilaginosa que los hace viscosos, permitiendo una mejor adherencia a las partículas del suelo, por lo tanto facilita la captación del agua. Es imprescindible que la concentración de solutos en el interior de la raíz se mantenga por encima de la del suelo ya que las moléculas de agua penetran en ella, de lo contrario el agua no entraría y la planta podría morir. Una vez dentro de las células epidérmicas, el agua se desplaza hacia las zonas más internas de la raíz por los espacios intercelulares y después de atravesar la endodermis y el periciclo. El agua alcanza los conductos del xilema por los que llega al tallo y hojas (García Breijo y col., 2006).

La entrada de sales minerales se realiza a través de las raíces en forma de iones. Las necesidades de la planta por estos compuestos varían de una especie a otra, pero todas precisan de  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^+$  y  $Mg^+$ , entre otras. La incorporación se realiza siguiendo cualquiera de las dos rutas conocidas: la apoplástica y la simplástica que se detallan a continuación.



### 1.5.1 Ruta apoplástica

Las sales minerales entran disueltas en el agua. Siguen la misma ruta a través de los espacios intercelulares rodeando las paredes celulares. Se puede incorporar cualquier otro ión disuelto, pero no es conveniente porque cada especie tiene sus propias necesidades y una variación puede ser perjudicial. El control del tipo y cantidad de iones absorbidos se lleva a cabo en la endodermis. En la pared celular se encuentra la banda de Caspary (franja en las paredes radiales de las células de la endodermis impregnada con suberina, sustancia hidrofóbica similar a la cera), que actúa como una barrera que impide el movimiento del agua y de los solutos. Así, a pesar de la importancia de la ruta del apoplasto en el córtex y en el cilindro vascular de la raíz, el movimiento de agua a través de la endodermis se produce por el simplasto (Figura 1).

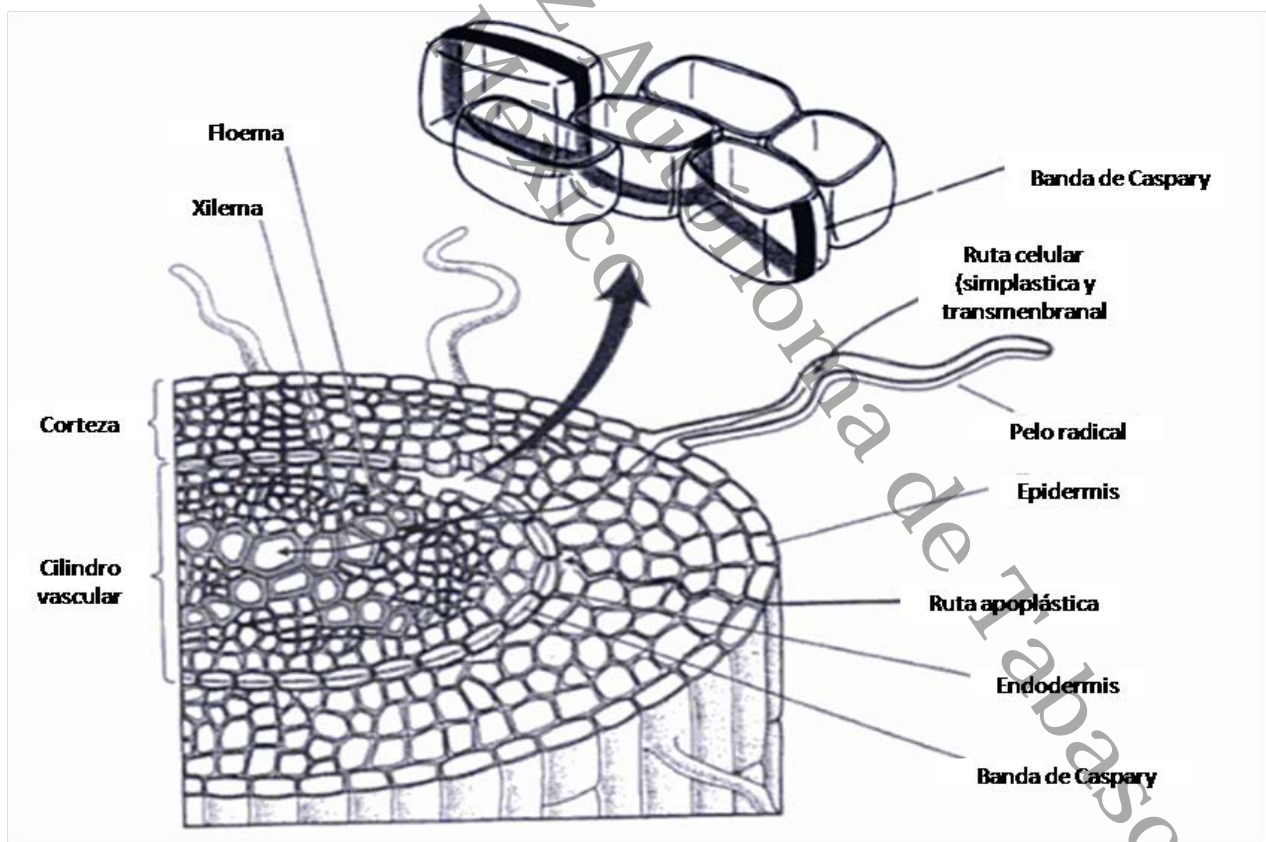


Figura 1 Corte transversal de raíz. Se destacan las rutas apoplástica y simplásticas (Fuente: Taiz y col., 2006).



### 1.5.2 Ruta simplástica

En la ruta simplástica sólo entran los iones necesarios y no es precisa una selección posterior. Los iones penetran selectivamente por transporte activo. Esto se realiza en contra del gradiente de concentración, esto es, pueden entrar iones que se encuentran en mayor concentración en el interior de las células que en el suelo. Esta ruta permite a las raíces alcanzar concentraciones muy altas de ciertos elementos. Aunque la importancia relativa de las rutas no está todavía bien establecida, experimentos mediante técnicas como la sonda de presión indican que la ruta del apoplasto es particularmente importante en la absorción de agua por parte de las raíces jóvenes (Taiz y col., 2006).

### 1.6 Retención de compuestos orgánicos en suelos

Uno de los primeros fenómenos al que son sometidos los compuestos orgánicos al estar presentes en el suelo es la retención, influyendo en gran parte, en su movilidad y biodisponibilidad. La retención de los compuestos orgánicos en los suelos depende de las características físicoquímicas de las moléculas y de las propiedades del suelo (naturaleza química, origen y grado de humificación). La materia orgánica, en particular las macromoléculas húmicas, que contienen partes polares (agrupaciones carboxílicas, fenólicas, aminadas), y partes hidrófobas (cadenas alifáticas), constituyen sitios potenciales para la sorción (Madrigal-Monárrez y col., 2008). La retención tiene dos posibles causas (Calvet, 1989): (i) asociación con compuestos orgánicos del suelo llamada "fijación química" (ii) sorción de solutos desde un medio acuoso o una superficie sólida.

El contacto que se produce entre la fase sólida y la acuosa genera interacciones entre los componentes químicos disueltos y el sólido; lo que provoca fenómenos de sorción, puesto que en el suelo, y particularmente en suelos porosos, hay una gran superficie de contacto entre la fase sólida y la acuosa. Para evaluar los fenómenos de sorción se debe considerar la existencia de equilibrio entre fases y la proporción de compuestos químicos (sorbato) asociada a la fase sólida (sorbente), resultado del contacto de dicha fase con una disolución acuosa de este



compuesto a cierta temperatura. La relación entre las concentraciones de compuestos químicos en la fase sólida y acuosa, respectivamente, a una determinada temperatura, se denomina isoterma de sorción.

La sorción de los hidrocarburos en suelos y sedimentos, generalmente es controlada por la naturaleza y el contenido de materia orgánica presente en los geosorbentes (Luthy y col., 1997), es un proceso clave que controla el destino y transporte de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en el medio ambiente (Zhu y col., 2004). La sorción también se lleva a cabo en las arcillas las cuales son importantes para retener agua y en el intercambio catiónico de nutrientes de las plantas. Estas, están compuestas de silicatos, la mayoría de aluminio y agua, y estructuralmente en forma de hojas o láminas (Manahan, 2007). Debido a su pequeño tamaño y morfología laminar, estas partículas (arcillas) presentan elevadas áreas superficiales, pero además, la existencia de cargas sin compensar atrae a iones y moléculas de agua. Todas estas propiedades justifican su alta reactividad superficial, responsable de los fenómenos de sorción, intercambio iónico e hidratación. Las arcillas con espacios interlaminares o con canales estructurales, pueden admitir, en el interior de su estructura, cationes hidratados y otras moléculas. Estos minerales con superficies externas e internas presentan tanto absorción como adsorción, donde la absorción depende del líquido empleado, mientras que la adsorción está más influenciada por el tamaño, forma y polaridad de las moléculas del líquido involucrado.

La dificultad en emplear el término correcto, deriva de que varios mecanismos de sorción tanto físicos como químicos, pueden tener lugar en las superficies naturales, según como sea la atracción entre el soluto y el sorbente (Carretero y col., 2007). Los fenómenos de sorción de compuestos orgánicos e inorgánicos en las superficies de las partículas arcillosas pueden tener lugar en la región interlaminar y en los bordes (Carretero y col., 2007). Uno de los mecanismos de sorción físicos se produce como resultado de la acción de las fuerzas de van der Waals, cuando dos átomos cualesquiera se atraen el uno al otro y crean una fuerza débil de atracción inespecífica denominada interacción de van der Waals. Estas interacciones inespecíficas son resultado de las fluctuaciones aleatorias



momentáneas en la distribución de los electrones (Lodish y col., 2005) de cualquier átomo (fundamentalmente consiste en que los movimientos de los electrones de un átomo no son independientes de los movimientos de los electrones del otro átomo, Allinger y col., 1991), lo cual da origen a una distribución transitoria no equitativa de los electrones. Si dos átomos unidos en forma no covalente están lo suficientemente cerca, los electrones de un átomo perturbarán los electrones del otro. Esta perturbación generará un dipolo transitorio en el segundo átomo, y los dos dipolos se atraerán débilmente entre sí. Las interacciones de van der Waals, en las que intervienen dipolos eléctricos inducidos, en forma transitoria o permanente, tienen lugar en todo tipo de moléculas, tanto polares como no polares. La fuerza de las interacciones de van der Waals disminuye rápidamente a medida que se incrementa la distancia; en consecuencia estos enlaces no covalentes sólo se forman cuando los átomos están muy cercanos entre sí (Lodish y col., 2005).



### 1.7 Isotermas de sorción

Se describe de manera conveniente y cuantitativa la sorción de solutos en los sólidos a temperatura y presión constante. Una isoterma de sorción muestra la cantidad de sorbato (solute), sorbido en función de su concentración de equilibrio. Hay gran variedad de formas de estas isotermas, dependiendo de la afinidad de sorbente (sólido) por el sorbato. Son tres las ecuaciones de sorción que comúnmente se utilizan para explicar los datos de adsorción (Bohn y col., 1993): la ecuación de (i) Langmuir, (ii) Freundlich y (iii) Brunauer-Emmett-Teller (BET).

#### 1.7.1 Langmuir

Se derivó inicialmente para la sorción de gases por los sólidos. Dicha deducción se basó en tres suposiciones: (i) la energía de sorción constante que es independiente del grado de superficie cubierta (es decir, una superficie homogénea); (ii) la sorción en sitios específicos, con ninguna interacción entre las moléculas de sorbato; y (iii) la sorción máxima es equivalente a una capa monomolecular completa sobre toda las superficies sorbentes y reactivas (Bohn y col., 1993). La forma común de la ecuación (1) es:

Ecuación (1)

$$\frac{x}{m} = \frac{KCb}{1 + Kc}$$

Donde C es la concentración de equilibrio de sorbato en cuestión, x/m es el peso de adsorbato por peso unitario de sorbente; K es una constante relacionada con la fuerza de enlace y b es la cantidad máxima de sorbato que puede sorberse, es decir, una capa de monomoléculas completa (Bohn y col., 1993).



### 1.7.2 Freundlich

Si los datos no concuerdan con la ecuación de Langmuir, se puede emplear con buenos resultados la ecuación menos rigurosa de Freundlich. Freundlich encontró que los datos de adsorción de muchas soluciones diluidas se podrían adaptar a una ecuación de la forma (Bohn y col., 1993).

Ecuación (2)

$$\frac{x}{m} = KC^{1/n}$$

Donde K y n son constantes empíricas. Originalmente la ecuación era empírica, sin fundamento teórico. Señala que la energía de sorción disminuye logarítmicamente conforme aumenta la fracción de superficie cubierta. La ecuación de Freundlich tiene otra limitante más: no predice la capacidad de sorción máxima (Bohn y col., 1993).

### 1.7.3 Brunauer, Emmett y Teller (BET).

Ecuación que trata sobre el fenómeno de Sorción de capas múltiples, nombrada en honor de quienes la dedujeron. La sorción de capa múltiple es característica de las fuerzas de atracción física o de van der Waals. Esta ecuación se emplea para determinar el área superficial de sólidos a partir de los datos de sorción de gas. La forma lineal de la ecuación BET es:

Ecuación (3)

$$\frac{P}{V(P_0 - P)} = \frac{1}{V_m C} + \frac{(C - 1)P}{V_m C P_0}$$

Donde P es la presión de equilibrio a la que se sorbe el volumen V de gas; P<sub>0</sub> es la presión de saturación del gas; y C es una constante que se relaciona con el calor de sorción del gas en el sólido en cuestión. Esta ecuación se aplicó a la sorción iónica de soluciones de suelo (Bohn y col., 1993).



### 1.8 Sorción de hidrocarburos en plantas.

Los compuestos orgánicos se pueden sorber en las raíces, asimilar, metabolizar, o transpirar (volatilizarse) por las plantas. El primer paso es la sorción (retención de una sustancia por otra cuando están en contacto; incluye los fenómenos de absorción y adsorción. Cuando los contaminantes se dispersan en suelos o aguas subterráneas y entran en contacto con las raíces, se pueden absorber o atrapar en las paredes de la estructura y de la célula de la raíz. La hemicelulosa en la pared celular y la capa del lípido de las membranas de la planta pueden atrapar los compuestos orgánicos hidrofóbicos con eficacia. La tendencia de compuestos hidrofóbicos a la partición en fases orgánicas no es el único mecanismo vinculado a la presencia de compuestos en raíces. La absorción específica en sitios químicos, la transformación enzimática por proteínas unidas a membranas son otros mecanismos de importancia potencial. (Dietz, 2001)

El factor de la concentración de la raíz (FCR) se define como el cociente de la concentración del compuesto orgánico absorbido en la raíz ( $\text{mg kg}^{-1}$  del tejido fino fresco de la raíz) y en la solución hidropónica ( $\text{mg l}^{-1}$ ). La hidrofobicidad está relacionada con el coeficiente de partición octanol-agua ( $\text{pK}_{\text{ow}}$ ) de los compuestos orgánicos, y el log FCR está correlacionado con el  $\text{pK}_{\text{ow}}$ . Cuanto mayor es la hidrofobicidad del compuesto (medido por  $\text{pK}_{\text{ow}}$ ), la tendencia es que la concentración sea mayor fuera de la fase acuosa.

Las propiedades de los contaminantes tienen un gran impacto en la sorción, algunos de estos factores son: (i) solubilidad en agua, (ii) característica polar/iónica, (iii) coeficiente de partición octanol/agua. Muchos de los contaminantes en el suelo presentan valores bajos de  $K_{\text{OW}}$  ( $<10$ ) se consideran relativamente hidrofílicos, mientras que los que tienen un  $K_{\text{OW}}$  alto ( $>10^4$ ) son considerados hidrofóbicos y tienden a acumularse en superficies orgánicas como suelos con alto contenido de materia orgánica y especies acuáticas (Volke y col., 2002) (iv) química ácido/base, (v) química óxido- reducción (Piwoni y col., 1990).



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## 2. Antecedentes



Flocco y col., (2002) realizaron experimentos en cultivos hidropónicos con alfalfa (*Medicago sativa*) resaltando los aspectos microbianos, toxicológicos y fisiológicos. El experimento fue realizado bajo condiciones de laboratorio, utilizando recipientes de 13x11 cm con 900 ml de solución de Hoagland. Los autores usaron semillas germinadas en la obscuridad a 25°C en papel filtro en cajas de Petri. Después de 5 días se colocaron en el cultivo hidropónico, (sistema modelo para la evaluación de la capacidad de remoción del fenantreno) y así estudiar la interacción contaminante-planta; la solución de nutrientes fue renovada cada tercer día. Los cultivos fueron mantenidos a 22/28°C bajo fotoperiodo de 16 h, con 500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de intensidad de luz y una humedad relativa del 60%. Las plantas de 60 días se expusieron a la solución nutritiva con 50  $\text{mg l}^{-1}$  de fenantreno, y cultivadas por 30 días. La cuantificación se llevó a cabo mediante cromatografía de gases usando una columna capilar. La temperatura de la columna fue de 100°C por 2 minutos con una rampa en 20°C/min a 280°C y se mantuvo por 10 minutos. La temperatura del inyector fue de 280°C. Utilizaron antraceno como estándar interno. En este experimento observaron que las plantas de alfalfa son capaces de resistir una concentración de 50  $\text{mg l}^{-1}$  de fenantreno y sobrevivir hasta el final del ensayo.

Estudios realizados por Gao y Zhu (2004) determinaron la asimilación, acumulación y translocación de fenantreno y pireno en suelo. Recolectaron suelo a (0-20 cm) en forma horizontal con un pH 5.05 y 1.45% de materia orgánica, libre de HAP. Plantas a partir de suelo contaminado artificialmente con una mezcla pura de fenantreno (133  $\text{mg kg}^{-1}$ ) y pireno (172  $\text{mg kg}^{-1}$ ) en una solución de acetona (10% cantidad total del suelo al ser rociado). El suelo fue tamizado (malla de 3 mm) y secado al aire. Al evaporarse la acetona; los suelos rociados fueron mezclados progresivamente con el suelo no contaminado y se homogenizaron. El suelo tratado fue colocado en contenedores con 1 000 g de suelo seco. Los autores utilizaron semillas de amaranto, col de china, rábano, espinaca del agua dulce, soya verde, haba, lechuga, brócoli, pimiento, berenjena, centeno (plántulas de 7-10 días). Los tratamientos fueron: (i) recipientes con suelo limpio (ii)



recipientes sin planta con suelo contaminado (iii) recipientes sin planta con suelo contaminado sin microorganismos.

Los resultados que observaron al final de los experimentos indicaron, que la acumulación de fenantreno y pireno en el tallo y la raíz aumentó con el incremento de las concentraciones en suelo. Los resultados del Factor de Concentración en la Raíz del fenantreno y del pireno para las plantas crecidas en suelos contaminados con fenantreno inicial de  $133 \text{ mg kg}^{-1}$  y pireno de  $172 \text{ mg kg}^{-1}$  fueron de 0.05-0.67 y 0.23-4.44, mientras el factor de concentración en tallos (FCT) de estos compuestos fue de 0.006-0.12, respectivamente. El factor de concentración de raíz del fenantreno y pireno mostraron una correlación positiva con el contenido en lípidos en raíz, lo que indica que el contenido de lípidos en la raíz podría usarse para predecir la acumulación de estos compuestos.

Smith y col., (2005) evaluaron ensayos para la selección de plantas con potencial para su uso en fitorremediación de suelos contaminados con HAP. Usaron una mezcla de 7 HAP (naftaleno, fluoreno, acenafteno, fenantreno, antraceno, fluoranteno y pireno) a una concentración de  $1\ 000 \text{ mg kg}^{-1}$ . Los suelos fueron extraídos con el método Soxhlet (diclorometano y acetona 1:1 durante 6 h) para determinar la concentración inicial de hidrocarburos. Las especies usadas fueron *Dactylis glomerata* (pasto ovillo), *Festuca arundinacea* (festuca alta), *Festuca rubra* (festuca roja) and *Lolium perenne* (césped ingles). Las legumbres probadas eran *Lotus corniculatus* ("Loto de los prados" o "cuernecillo"), *Trifolium pratense* (trébol rojo) y *Trifolium repens* (trébol blanco). El experimento fue de 15 días, con una concentración de fenantreno inicial de  $200 \text{ mg kg}^{-1}$  y  $50 \text{ mg kg}^{-1}$  de pireno.

El naftaleno disminuyó cerca del 20% mientras que para los otros HAP fue menor la disminución principalmente por el aumento en el peso molecular. Los datos de los autores, sugieren que un estudio de germinación de las gramíneas y leguminosas no predice el éxito del crecimiento posterior en suelo contaminado con HAP y el crecimiento en el campo puede reducirse aún más por condiciones adversas presentes en el suelo.



Xu y col., (2005) estudiaron la capacidad de tres especies (maíz, centeno y trébol blanco) en cultivos individuales y combinados para mejorar la degradación de fenantreno y pireno en el suelo. Sus resultados mostraron que la presencia de vegetación mejoró significativamente la remoción de fenantreno y pireno. En el caso del maíz, al final de 60 días de tratamiento, las concentraciones del fenantreno y pireno en suelos tratados fueron reducidas de una concentración inicial de  $52.52 \text{ mg kg}^{-1}$  a  $4.15 \text{ mg kg}^{-1}$  (92.10%) y  $58.19 \text{ mg kg}^{-1}$  a  $6.77 \text{ mg kg}^{-1}$  (88.36%), respectivamente, la tasa de remoción de contaminantes al cabo de dos meses fue mayor para el maíz, seguido de trébol blanco y centeno.

Esta investigación indicó la posibilidad de que la mineralización del fenantreno y el pireno en cultivos combinados, puede ser especialmente útil para la fitorremediación de los suelos contaminados con HAP. Los autores mencionan que el establecimiento de cultivos combinados puede ser un método viable de restauración de los suelos contaminados con HAP y el éxito del sistema podría ser superior al de muchas otras tecnologías de remediación.

En años más recientes, Gao y col., (2006) realizaron experimentos de sorción de fenantreno en suelos contaminados con metales ( $\text{PbCl}_2$ ,  $\text{ZnCl}_2$ ,  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) pesados; Este estudio examinó la sorción del fenantreno como representante de los HAP por tres suelos contaminados con Pb, Zn o Cu ( $0-1\ 000 \text{ mg kg}^{-1}$ ), los suelos fueron divididos en tres grupos, (i) suelo control antes de ser colectado, (ii) suelo sin materia orgánica disuelta y (iii) suelo contaminado con los metales. Los autores mencionan que la sorción del fenantreno fue superior después de la adición de los metales pesados. El aumento en la sorción del fenantreno en el caso de suelos contaminados con metales pesados se atribuyó a la disminución de materia orgánica disuelta (por sus siglas en inglés DOM) en la solución y el aumento de la materia orgánica del suelo (por sus siglas en inglés SOM) como consecuencia de la disminución de materia disuelta en el suelo.



## 2.1 Antecedentes de fitorremediación de hidrocarburos con *Cyperus laxus*.

Gallegos y col., (2000) llevaron a cabo un estudio en tres etapas para diagnosticar el alcance y tipos de contaminantes del petróleo y sus derivados para restaurar un sitio contaminado por hidrocarburos en el sureste de México. La concentración de hidrocarburos en el 75% del total del suelo analizado osciló entre 10 y 50 000 mg kg<sup>-1</sup> de hidrocarburos totales y el 25% entre 50 000 y 434 000 mg kg<sup>-1</sup>. La segunda etapa que evaluaron, consistió en la identificación botánica de las especies encontradas en el sitio y la capacidad microbiana para la degradación de contaminantes. Tres especies de plantas nativas seleccionaron para estudios de invernadero: *Cyperus laxus*, *Echinochloa colonum* y *Thypha dominguensis*. *C. laxus* fue la especie que mostró una baja sensibilidad a HTP así como las mayores eficiencias de germinación de y crecimiento en el suelo contaminado.

Las tres especies germinaron y crecieron en cualquier concentración de HTP (0 a 200 000 mg kg<sup>-1</sup>). Sin embargo, en todas las concentraciones *Cyperus laxus* siempre fue más eficaz (68-90%) que *Echinochloa colonum* con 32-52% y *Typha dominguensis* con 38-48%. Dado que la germinación de la semilla no era una función de los HTP en el suelo, todo el ciclo de vida de las plantas nativas lo estudiaron. *E. colonum* fue más sensible que *C. laxus*, debido a que su crecimiento disminuyó considerablemente en 20 000 mg kg<sup>-1</sup>, mientras que el crecimiento de *C. laxus* decreció hasta 38 500 mg kg<sup>-1</sup>, lo que sugirieron más resistencia a los hidrocarburos. Dado que los consorcios microbianos aislados de la rizósfera *C. laxus* fueron capaces de degradar hasta el 70% de HTP en 30 días en medio líquido, se propuso como alternativa una estrategia de fitorremediación para el tratamiento del sitio. Se sugirió que la tercera etapa fuera la construcción de una planta piloto en el terreno para los estudios de tratabilidad y reforestación.



Escalante y colaboradores (2005) evaluaron la fitorremediación de hidrocarburos en un sistema modelo utilizando agrolita como soporte durante 180 días de cultivo. En el estudio se consideró la adición de un inóculo, aislado de la rizósfera de *C. laxus*, para evaluar su efecto en la remoción de hidrocarburos. Como inóculo se usó un consorcio compuesto por 10 cepas bacterianas (*Bacillus cereus*, *Pseudomonas* sp., *Gordonia rubripertincta*, *Kocuria rosado*, *Arthrobacter oxydans*, *bacillus-subtilis* A, B *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, y dos cepas no identificadas) y tres cepas de hongos (*Penicillium janthinellum*, *Aspergillus carneus* y *Aspergillus terreus*). En la cinética de fitorremediación la adición del inóculo mejoró las características fenológicas: el crecimiento de la planta y de la raíz aumentó en las plantas inoculadas y se observó una floración temprana.

Con respecto a los microorganismos, los valores de cuenta total y el número de degradadores de hidrocarburos fueron mayores en presencia de plantas. Las plantas inoculadas alcanzaron los valores más altos de la tasa de remoción de hidrocarburos antes de la floración (0.51 mg de HTP g<sup>-1</sup> de planta seca d<sup>-1</sup>); sin embargo, se obtuvieron valores similares de fitorremediación para las plantas inoculadas y no inoculadas (90 y 85% respectivamente) a los 180 días de cultivo. Esto es, la adición del inóculo con microorganismos degradadores mejoró la tasa de fitorremediación; y en cuanto a la sorción de hidrocarburos en las raíces (24 a 33 mg de HTP g<sup>-1</sup> de raíz seca) esta fue independiente del tratamiento, es decir, del inóculo adicionado.

Wei y colaboradores (2010) evaluaron la fitorremediación de un suelo contaminado por fenantreno y pireno con múltiples especies (*Medicago sativa*, *Brassica campestris*, *Trifolium repens*) durante 70 días de cultivo. Consideraron una concentración inicial de 0 a 322 mg kg<sup>-1</sup> de los hidrocarburos aromáticos. Las plantas que evaluaron en cultivos separados y en cultivos mixtos fueron: (*M. sativa*-*B. campestris*, y *B. campestris*-*T. repens*). Después de los 70 días de cultivo, las tres especies promovieron una remoción significativa en el suelo, *M. sativa* y *T. repens* mostraron una mayor eficiencia para la remoción. Para *Medicago sativa* durante el cultivo separado fue removido 41.46% para fenantreno y 33.69% de pireno, *Trifolium repens* removió 38.75% para fenantreno y 36.29% para



pireno. Sin embargo, en los controles no plantados la remoción fue mucho más bajo 22.57%-18.24% respectivamente. Para los cultivos mixtos se mejoró significativamente la eficiencia de remoción en comparación con los cultivos separados, teniendo un 74.87% para fenantreno y un 62.81% para pireno en el cultivo con *M. sativa* y *B. campestris*, en el cultivo con *B. campestris*-*T. repens* la remoción fue 72.01%-68.44% respectivamente.

También evaluaron la eficiencia de remoción, la cual varió considerablemente entre las especies de plantas y sistemas de cultivo. *B. campestris*, éste, tuvo la menor capacidad para eliminar los hidrocarburos, mientras que *M. sativa* mostró mayor capacidad para la recuperación de fenantreno, y *T. repens* fue sin embargo mucho mejor para la recuperación de los hidrocarburos del suelo en cultivos separados.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

### **3. Justificación**



En la actualidad, uno de los mayores problemas de contaminación ambiental a nivel mundial es la presencia de hidrocarburos en los diferentes ecosistemas. Muchos de los compuestos que constituyen el petróleo representan un alto riesgo para la salud humana. En particular, en el sureste de México se localizan sitios altamente contaminados con hidrocarburos (más de 200 000 mg de hidrocarburos  $\text{kg}^{-1}$  de suelo). En estos sitios se ha observado la presencia de plantas nativas las cuales sobreviven bajo las condiciones de estrés que imponen los contaminantes. Por otro lado, se ha demostrado el uso de las plantas en la remoción de este tipo de compuestos (EPA, 2000). Esto permite establecer que el uso de las plantas nativas y sus microorganismos asociados constituyen una alternativa atractiva para la restauración o atenuación natural de suelos contaminados. Dentro de los mecanismos de fitorremediación (fitoextracción, fitovolatilización, fitodegradación y rizodegradación), la sorción de los compuestos orgánicos en las raíces constituye una etapa fundamental. La sorción es un proceso importante debido que los hidrocarburos pueden acumularse en el tejido de la planta o bien, ser metabolizados en el interior y de esta manera no se transfieren a otros niveles de la cadena trófica. Recientemente se ha estudiado la capacidad fitorremediadora de *Cyperus laxus* Lam, especie que se encuentra creciendo en zonas pantanosas del sureste de México contaminadas con hidrocarburos. Como parte de los mecanismos de fitorremediación, este trabajo evaluó la remoción de hidrocarburos a través de la sorción en la raíz de *C. laxus* en un sistema modelo utilizando agrolita como soporte. Los hidrocarburos ensayados son moléculas modelo como fenantreno, pireno y hexadecano, los que se encuentran con relativa frecuencia en los suelos contaminados y representan las fracciones (alifáticos y aromáticos) que constituyen en mayor proporción al petróleo crudo.



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## 4. Hipótesis



La sorción de hexadecano, pireno y fenantreno en las raíces de *Cyperus laxus* dependerá del coeficiente de partición octanol-agua y de su concentración en la agrolita.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## **5. Objetivos**



### 5.1 Objetivo general

Evaluar la sorción de hidrocarburos en la raíz de *Cyperus laxus* Lam. en un sistema modelo.

### 5.2 Objetivos específicos

1. Determinar la sorción de hexadecano, fenantreno y pireno de forma individual en la raíz de *C. laxus* en un sistema modelo utilizando agrolita como soporte.
2. Determinar la sorción de una mezcla de hidrocarburos alifáticos y aromáticos en la raíz de *C. laxus*.
3. Evaluar el factor de concentración en raíz (FCR) de los hidrocarburos en *C. laxus*.



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## 6. Material y Métodos



En este capítulo se presenta de manera esquemática y detallada la estrategia experimental realizada durante el estudio de sorción.

### 6.1 Estrategia experimental del estudio realizado

En este diagrama (Figura 2) se muestran los pasos seguidos para la realización de las pruebas de sorción para los hidrocarburos evaluados.

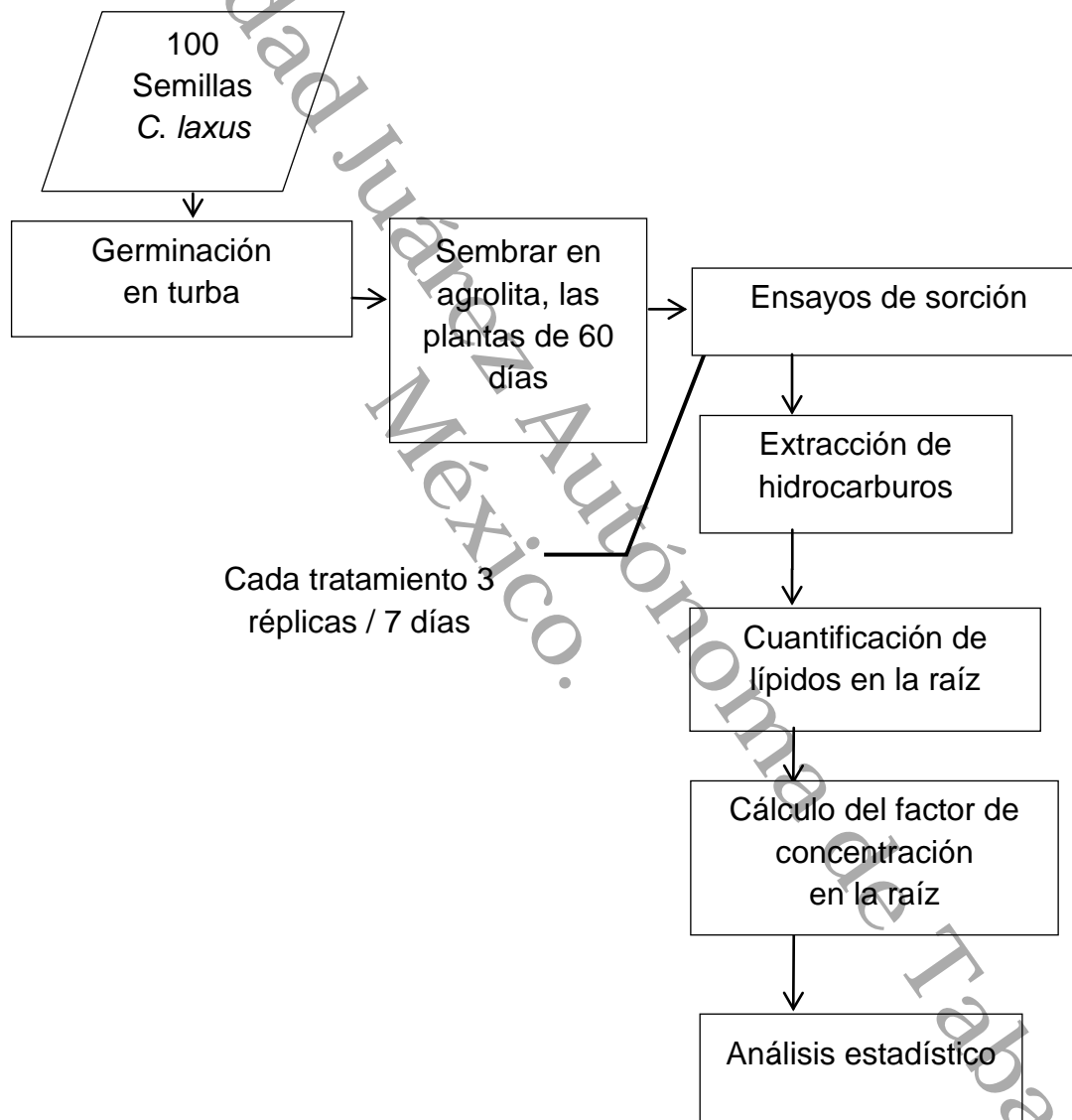


Figura 2 Estrategia experimental durante el estudio de sorción.



## 6.2 Especie

Se usaron semillas de la especie nativa *C. laxus*, recolectadas de plantas maduras crecidas en un pantano contaminado localizado al sureste del estado de Veracruz; las cuales fueron secadas al aire y colocadas en bolsas de papel.

## 6.3 Condiciones de germinación y crecimiento

La germinación y propagación de las plantas se realizó bajo condiciones de invernadero, con temperatura promedio de 28 °C y una humedad relativa promedio de 73%. Las semillas (100) se sembraron en recipientes de plástico con turba, con el cuidado necesario para la obtención de plántulas de 60 días de edad.

## 6.4 Agrolita

Es un sustrato de origen mineral (sílice, aluminio, hierro, sodio, potasio, calcio), que retiene hasta 5 veces su propio peso en líquidos y permite mejorar la estructura, permeabilidad y aeración de los suelos, evitando la compactación y apelmazamiento. Para la realización del tratamiento se utilizaron gránulos de 2.38 mm, el cual fue obtenido con un tamiz #8, posteriormente la agrolita fue lavada por triplicado utilizando agua caliente de 60-100 °C. Se dejó secar en un horno a 60 °C hasta estar completamente seca (2-3 días). La densidad aparente determinada fue de 0.1288 mg ml<sup>-1</sup>.

## 6.5 Soporte

Para las pruebas con hidrocarburos individuales, el soporte se preparó contaminando 25 g de agrolita, para cada replica, en recipientes de aluminio a 500, 1 000, 1 500 y 2 000 mg kg<sup>-1</sup> para los hidrocarburos fenantreno y, pireno, a 6 250, 12 500, 18 750 y 25 000 mg kg<sup>-1</sup> con Hexadecano, En la mezcla se utilizó una concentración total de 50 000 mg kg<sup>-1</sup> alifáticos: aromáticos (2:1) en cinco concentraciones de 6 250, 12 500, 18 750, 25 000 mg kg<sup>-1</sup> para Hexadecano y 3 125, 6 250, 9 375 y 12 500 mg kg<sup>-1</sup> para los aromáticos respectivamente; cabe destacar que para la contaminación del soporte en ambos tratamientos se utilizó



50 ml de diclorometano (solvente universal para HTP) en cada recipiente. Después de la contaminación, el soporte fue colocado en la campana de extracción por 24 h, para la evaporación total del solvente aplicado. El soporte ya contaminado fue colocado en recipientes de vidrio con capacidad de 250 ml para su posterior uso.

### 6.6 Sorción de hidrocarburos en la raíz

Se llevaron a cabo experimentos con los hidrocarburos individualmente y como segunda etapa una mezcla de fenantreno, pireno y hexadecano. En cada recipiente se colocó una plántula de *C. laxus* de 60 días de edad previamente germinadas en turba adicionada con solución Long Ashton modificada que contenía una solución de macroelementos de : ( $\text{KNO}_3$ : 808 mg l<sup>-1</sup>,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ : 944 mg l<sup>-1</sup>,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ : 184 mg l<sup>-1</sup>,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 368 mg l<sup>-1</sup>,) y 1 ml de solución de oligoelementos: ( $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ : 2.23 mg l<sup>-1</sup>,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ : 0.25 mg l<sup>-1</sup>,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 0.29 mg l<sup>-1</sup>,  $\text{H}_3\text{BO}_3$ : 3.10 mg l<sup>-1</sup>,  $\text{NaCl}$ : 5.90 mg l<sup>-1</sup>,  $(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ : 0.088 mg l<sup>-1</sup>,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ : 0.02 mg l<sup>-1</sup>. Los tratamientos realizados fueron: (i) hidrocarburos alifático (HXD) y aromáticos (PHE, PYR) a diferentes concentraciones y (ii) la mezcla de los hidrocarburos a diferentes concentraciones bajo condiciones de invernadero durante siete días, debido a que en experimentos previos a 30 días, el hexadecano no fue detectable en todas las concentraciones probadas. De cada tratamiento se realizaron tres réplicas por concentración. Los hidrocarburos fueron extraídos del soporte y las raíces, mediante el método Soxhlet y se cuantificaron por cromatografía de gases.

### 6.7 Cuantificación mediante cromatografía de gases

#### 6.7.1 Hexadecano

Se utilizó un equipo de cromatografía de gases VARIAN® 3900, usando Helio como fase móvil a una presión de 18 psi, se usó un detector FID a una temperatura de 300 °C, el horno se usó a una temperatura inicial de 120 °C por un minuto, se hizo un primer rampeo de 10 °C/min hasta 150 °C y se mantuvo por



dos minutos, después un segundo rampeo a 15 °C/min hasta 170 °C, se mantuvo por 1.5 minutos. En el automuestreador se hizo un lavado de preinyección con solvente (hexano), y 2 lavados de post-inyección con el mismo solvente.

#### 6.7.2 Mezcla de hidrocarburos hexadecano, fenantreno y pireno

Para los hidrocarburos aromáticos se usó bajo las mismas condiciones, utilizando helio como fase móvil; el horno se trabajó a una temperatura inicial de 120°C por un minuto, se hizo un primer rampeo de 10°C/min se hizo un primer rampeo de 10°C/min hasta 150°C y se mantuvo por dos minutos, después un segundo rampeo a 15°C/min hasta 200 °C, éste se mantuvo por 10 min.

#### 6.8 Determinación de microorganismos degradadores por el método del número más probable (NMP)

La determinación de microorganismos degradadores de hidrocarburos se realizó mediante el método número más probable utilizando azul de tetrazolio como indicador del crecimiento y útil para la detección de diluciones positivas (Weren y Venosa, 1996). Se inició preparando 2 ml para cada tubo del medio nutritivo que contenía ( $\text{NaNO}_3$ : 3.5 g l<sup>-1</sup>,  $\text{MgSO}_4$ : 0.25 g l<sup>-1</sup>,  $\text{KCl}$ : 0.5 g l<sup>-1</sup>,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ : 12.8 g l<sup>-1</sup>,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ : 1.0 g l<sup>-1</sup>), que, posteriormente fueron esterilizados a 128°C y 15 lb. La preparación de las diluciones consistió en adicionar 1 g de muestra en 9 ml de solución salina para obtener una solución 10<sup>-1</sup>, seguida a está, se realizó seis diluciones sucesivas de 10<sup>-1</sup>. Se adicionó 500 µl de la dilución y 10 mg kg<sup>-1</sup> del hidrocarburo como fuente de carbono. Los tubos fueron agitados en vortex e incubados durante 14 días en la estufa bacteriológica a 36 °C. Transcurridos los 14 días se adicionó 500 µl de la solución de azul de tetrazolio. Los resultados obtenidos fueron referenciados a tablas de probabilidad (Lorch y col., 1995) obteniendo así, el número más probable de microorganismos expresado en ml g<sup>-1</sup> de muestra.



### 6.9 Cuantificación de lípidos en raíz

La concentración de lípidos se determinó a partir de 2 g de raíces (secadas previamente durante 48 horas a 65°C), utilizando éter de petróleo como agente de extracción, durante 8 horas mediante el sistema Soxhlet. Los lípidos extraídos se cuantificaron gravimétricamente (Schwab, 1998).

### 6.10 Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando STATGRAPHICS Plus 5.1<sup>®</sup> y un análisis Kruskal Wallis ( $p < 0.05$ ).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## 7. Resultados y Discusión



En este capítulo se describen detalladamente los resultados obtenidos en las diferentes etapas de la investigación. Se inicia con la sorción de los hidrocarburos individuales (hexadecano, fenantreno y pireno), posteriormente se detalla como segunda etapa la sorción de la mezcla de los hidrocarburos antes mencionados. Se muestra también la cuantificación de la población microbiana capaz de degradar hidrocarburos, el contenido de lípidos en raíces de plantas de 60 días y se finaliza con la determinación del factor de concentración en la raíz (FCR).

### 7.1 Germinación y crecimiento de plantas

Las semillas fueron depositadas en turba, la cual se utilizó como sustrato, lo que se considera como todo material sólido distinto del suelo que permite el anclaje del sistema radicular de la planta, desarrollando el papel de soporte; (López y col., 2008). La germinación incluye una gran variedad de etapas que inician en la absorción de agua (semilla seca) para la rehidratación de proteínas y organelos celulares y termina con la elongación del eje embrionario. Este proceso concluye cuando la radícula (crecimiento visible) penetra y atraviesa las estructuras que rodean al embrión. Dentro los requerimientos ambientales para la germinación, el agua, el oxígeno y la temperatura adecuada son necesarios y esenciales. En ausencia de algunos de estos factores, la mayoría de las semillas se mantendrían en un estado quiescente (Herrera y col; 2006). Para *Cyperus laxus*, este proceso se llevó a cabo entre los 5-8 días después de la siembra logrando un 70% de germinación; en esta etapa, usando la turba como sustrato, se observó una rizósfera con poca biomasa, esta observación condujo a utilizar posteriormente una mezcla turba-agrolita (1:0.5); considerando que la agrolita permite una buena respuesta por parte de los cultivos, los que manifiestan una alta eficiencia en el uso del agua ya que presenta una amplia red de poros internos (Martínez y col., 2006), proporcionando una mejor disponibilidad de nutrientes, agua y aireación. El objetivo fundamental en los sustratos es asegurar la producción de biomasa de las partes aéreas con la ayuda de un volumen limitado de sistema radicular, (Díaz Serrano, 2004). En cuanto a la germinación se obtuvo una eficiencia del 90-95%; con respecto al crecimiento se observó un incremento en la producción de



biomasa radicular utilizando esta mezcla. Shirdam y col., (2009) utilizaron plántulas de *Kochia scoparia* y *Linum usitatissimum* utilizando como sustratos turba, humus y fertilizante animal, las plántulas crecieron en condiciones de invernadero a temperaturas entre 25-30 °C, alcanzando plantas de 15 cm de altura observándose la mayor germinación en presencia de turba (100%).

## 7.2 Sorción de hidrocarburos en raíces de *Cyperus laxus*

Con el fin de determinar si los hidrocarburos pueden encontrarse en el tejido radicular como una etapa previa a su transformación y/o acumulación en dicho tejido, se evaluó la presencia de hexadecano, fenantreno y pireno en la raíz de *Cyperus laxus*, planta presente en pantanos con una larga historia de contaminación por hidrocarburos; fue seleccionada para este trabajo ya que es capaz de crecer en suelos con una contaminación hasta de 270 000 mg kg<sup>-1</sup> de hidrocarburos totales del petróleo (Gallegos y col., 2000). Estos hidrocarburos son compuestos lipofílicos que a elevadas concentraciones inhiben el desarrollo microbiano debido a los daños en las membranas celulares de las raíces, impidiendo el crecimiento normal de las plantas cuando los hidrocarburos cubren su entorno (LaGrega y col., 1996, Xu y col., 2005, Olgún y col., 2007).

La sorción de compuestos orgánicos no ionizados, incluidos los HAP en el suelo, es un proceso que tiene una gran influencia en el transporte, biodisponibilidad y el destino en ambientes naturales; se ha aceptado que la sorción de compuestos no ionizados se incrementa con el aumento de la materia orgánica del suelo y arcillas. Los suelos con alto contenido de materia orgánica sirven como un enorme sumidero de estos compuestos, y limitan la disponibilidad de los compuestos. (Gao y col., 2006). Los mecanismos de sorción incluyen: i) la adsorción, la cual involucra la retención sobre una superficie sólida, esta retención puede deberse a fuerzas de enlace físicas como fuerzas de London, van der Waals o de enlace por puentes de hidrógeno; o bien fuerzas de enlace entre átomos como el enlace iónico o el covalente (Porta y col., 2003) y se determina midiendo cuánto soluto puede ser adsorbido por un sedimento, suelo, roca u otro material; hablando de las raíces de las plantas, podría ocurrir una mejora en la biodegradación en la



rizósfera de los suelos, y ii) la absorción la cual se produce cuando el líquido se incorpora al cuerpo del material, mecanismo en el que la retención de compuestos no ionizados por las raíces, puede ser el resultado de la asimilación activa (Ryan y col., 2001).

### 7.2.1 Sorción de hidrocarburos individuales

Los experimentos se realizaron con plántulas de 60 días de edad durante siete días de cultivo en condiciones de invernadero (25-38°C y 76% humedad). Los compuestos hexadecano, fenantreno y pireno son hidrocarburos con bajo peso molecular, y por lo tanto, tienden a degradarse con mayor rapidez, que aquellos con alto peso molecular, mientras que su biodisponibilidad y la biodegradabilidad depende de la complejidad de sus estructuras químicas y parámetros físicoquímicos (Jiménez, 2005). Los compuestos evaluados, en el caso del hexadecano, tiene una solubilidad de  $0.0009 \text{ mg l}^{-1}$  a 25°C y un coeficiente de partición octanol- agua  $pK_{ow}$  de 9.07. Para los hidrocarburos fenantreno y pireno (aromáticos de 3 y 4 anillos fusionados del benceno, respectivamente), la solubilidad y el  $pK_{ow}$  es  $0.151 \text{ mg l}^{-1}$  y 5.32 respectivamente para fenantreno y, para pireno tiene una solubilidad de  $0.135 \text{ mg l}^{-1}$  y un coeficiente de partición  $pK_{ow}$  4.46. La cuantificación de estos compuestos en la raíz, se realizó mediante cromatografía de gases, con la finalidad de diferenciar los compuestos probados de otros compuestos que pudieran estar presentes en la raíz.

Con el método a punto, los resultados en la retención de los hidrocarburos evaluados fueron 4.3 min para hexadecano, 4.8 min correspondiente a fenantreno y 6.5 min para pireno, cabe resaltar, que estos resultados fueron corroborados mediante curva estándar. En la Figura 3 se muestra el cromatograma de la mezcla.

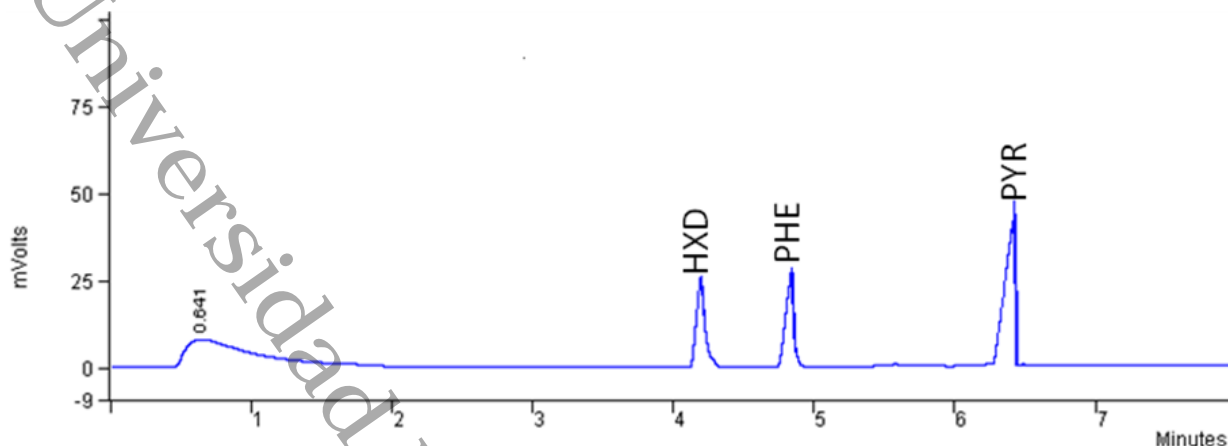


Figura 3. Cromatograma obtenido en la extracción de los hidrocarburos en la raíz de *C. laxus* para el tratamiento mezcla a una concentración inicial de 6 250 mg kg<sup>-1</sup>.

De manera individual, con HXD se observó un incremento en la sorción del hidrocarburo en la raíz al aumentar la concentración inicial en la agrolita, hasta alcanzar un máximo a partir de 75 000 mg kg<sup>-1</sup>, posteriormente la concentración en las raíces no aumentó (Figura 4A); notándose una tendencia de saturación a partir de esta concentración. La capacidad máxima de la planta para sorber el hidrocarburo fue alrededor de 4 389 mg kg<sup>-1</sup>. Cabe mencionar que las concentraciones iniciales del hexadecano fueron de 25 000 a 100 000 mg kg<sup>-1</sup> ya que en pruebas preliminares con concentraciones de 6 250 hasta 25 000 mg kg<sup>-1</sup>, no fue posible cuantificarlo, tanto en agrolita como en raíces, debido a las bajas concentraciones residuales. Al término del cultivo, las plantas no se observaron afectadas por la alta concentración del hidrocarburo, mostrando tallos verdes, saludables y firmes.



Sorción de hidrocarburos en raíces de *Cyperus laxus* Lam

2012

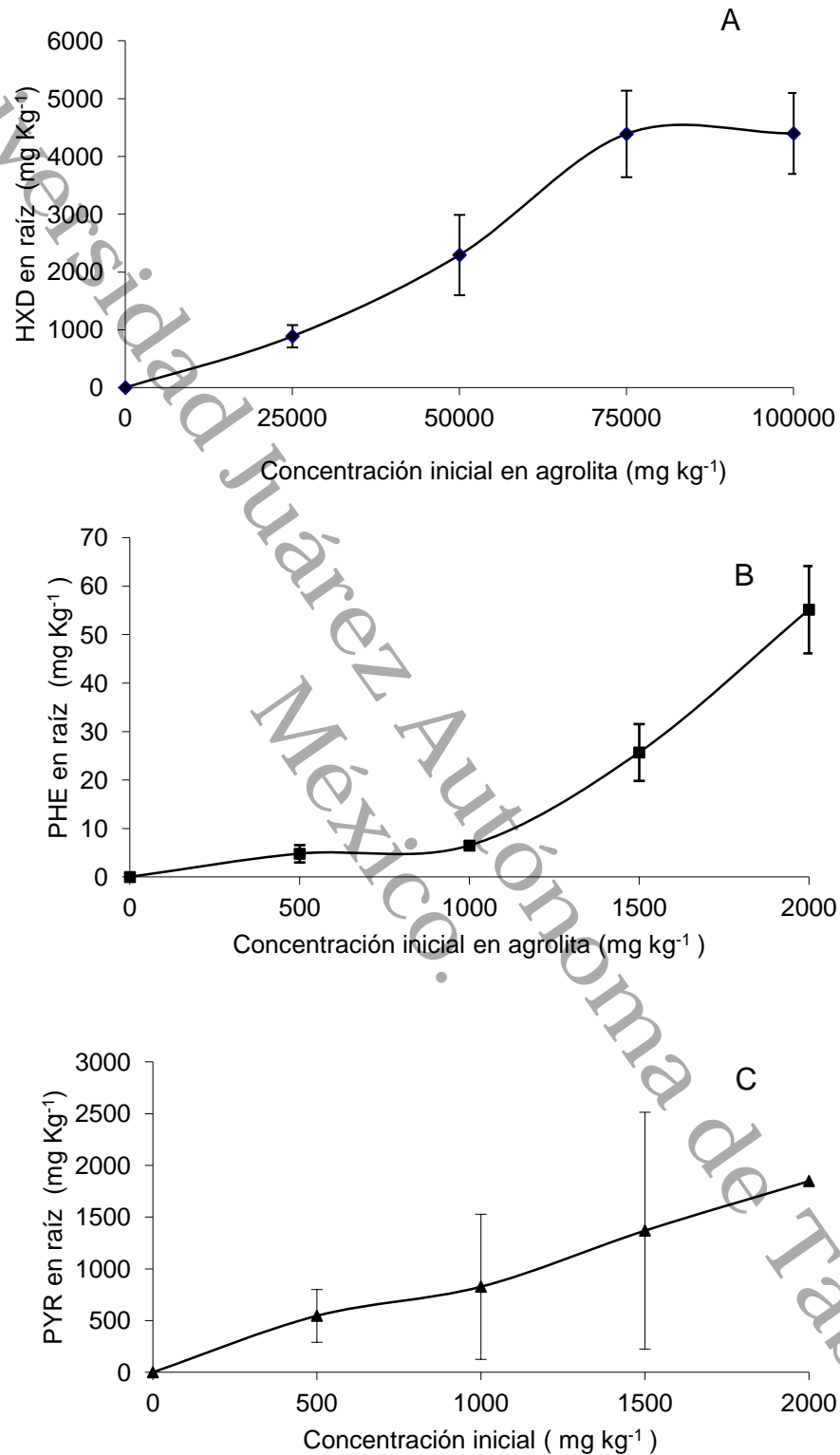


Figura 4 Sorción de hidrocarburos individuales en raíces de *Cyperus laxus* después de siete días de cultivo (Hexadecano, (♦); Fenantreno, (■) y Pireno, (▲)).



En los tratamientos con fenantreno y pireno (Figura 4B y 4C) se observó que la sorción de los HAP en las raíces incrementó al aumentar la concentración inicial, sin observarse una saturación a las concentraciones evaluadas. Comparando con los valores iniciales respectivos, los HC presentes en la agrolita disminuyeron significativamente, siendo la remoción encontrada hasta del 99% para el hexadecano.

Las concentraciones de los HAP en la raíz al final del cultivo variaron hasta en dos órdenes de magnitud, esto indicó que la remoción del pireno en el soporte fue viable, ya que su biodegradabilidad depende de su forma estructural de anillos bencénicos (Wei y col., 2010). La concentración sorbida en el suelo para PHE y PYR, en el tratamiento individual varió entre 4.80 a 55.15 mg kg<sup>-1</sup> y 430.45 a 1 606 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente. Del mismo modo la concentración para HXD osciló entre 888 a 4 397 mg kg<sup>-1</sup>. Las concentraciones del HXD en la raíz de la planta fueron la más altas en todos los casos, lo que indica que la planta es eficaz para la sorción de hidrocarburos de cadenas lineales en poco tiempo.

En los análisis estadísticos realizados para fenantreno y pireno no se observaron diferencias significativas entre las concentraciones removidas para estos compuestos (Kruskall Wallis,  $p < 0.05$ ).

Gao y Zhu (2004) investigaron la sorción a partir de un suelo contaminado con fenantreno y pireno en las raíces y tallos de 12 especies (amaranto, col china, rábano, espinaca de agua, soya verde, frijol, brócoli y centeno, entre otras.), utilizando una concentración inicial de 133 mg kg<sup>-1</sup> y 172 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente. Observaron una sorción máxima de 1.65 mg kg<sup>-1</sup> para el fenantreno en la raíz, mientras que para el pireno se observó una sorción de 36.8 mg kg<sup>-1</sup>, evaluados después de 45 días respectivamente, concluyendo que al aumentar la concentración en el suelo, se incrementó la acumulación de fenantreno y pireno en los tallos y raíces de las especies evaluadas. Estos valores son para PHE, 33 veces y para PYR, 43 veces menores que los encontrados en este estudio (55.15 mg kg<sup>-1</sup> y 1 606 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente) esta diferencia puede estar relacionada tanto con la concentración inicial como con la biodisponibilidad del compuesto en



el sistema modelo utilizado comparado con el suelo, donde los fenómenos de sorción son más marcados.

Estudios de Xu y col., (2005) realizados en un suelo contaminado con fenantreno y pireno, observaron la capacidad de remoción de tres especies: maíz, trébol blanco y centeno después de 60 días de tratamiento. La presencia de las plantas mejoró significativamente la disipación de los hidrocarburos evaluados en el suelo, Al término de 60 días, en el tratamiento con maíz observaron una mejor remoción de fenantreno y pireno en los suelos tratados disminuyendo de un  $52.52 \text{ mg kg}^{-1}$  y  $58.19 \text{ mg kg}^{-1}$  inicial a  $4.15 \text{ mg kg}^{-1}$  y  $6.77 \text{ mg kg}^{-1}$ . Se observó que las concentraciones de pireno restantes fueron superiores a fenantreno en todos los tratamientos al final de los 60 días, ya que es más difícil de ser removido. Así también, mostraron que la combinación de las plantas fue favorable para establecer una rizósfera en todo el suelo. Comparando los resultados de ambos trabajos con los obtenidos en nuestro estudio, la planta evaluada mostró mayor capacidad de remoción ( $4\ 389 \text{ mg kg}^{-1}$  para HXD) en un periodo corto (siete días), las concentraciones iniciales fueron mayores hasta en tres órdenes de magnitud y la tendencia de remoción fue similar para los hidrocarburos fenantreno y pireno siendo la mayor concentración de hidrocarburo residual para el pireno.



### 7.2.2 Mezcla de hidrocarburos

Durante el proceso de refinación, el petróleo crudo (mezcla de hidrocarburos, generalmente como moléculas complejas, pero conteniendo pequeñas cantidades de oxígeno, azufre, nitrógeno, níquel, y cromo) es separado en fracciones que tienen puntos de ebullición similares. Estas fracciones posteriormente son modificadas por la condensación, polimerización, y procesos de alquilación, para la formulación de productos comerciales tales como nafta, gasolina, aceites y combustible. La composición de estos productos puede variar en función de la refinería que participan, época del año, la variación en los aditivos o modificadores, y otros factores (Díaz-Ramírez, 2003). Las fracciones se clasifican en tres tipos: (i) parafinas, se define como aquellos hidrocarburos unidos mediante enlaces sencillos y otros saturados con átomos de hidrogeno (ii) naftenos son aquellos hidrocarburos cicloparafínicos en los que todos los enlaces disponibles de átomos de carbonos se encuentran saturados con hidrogeno (iii) aromáticos que están compuestos por anillos bencénicos, muy estable, que los hace físicamente diferente a las parafinas y naftalenos (Gary y col., 2003). El interés de conocer la composición detallada de una mezcla de hidrocarburos reside en que muchas propiedades globales como densidad, punto de congelación, viscosidad, presión de vapor, punto de inflamación y índice de acidez, pueden evaluarse adecuadamente conociendo las propiedades de los componentes individuales y su proporción dentro de la mezcla (Wauquier, 1994).

En esta investigación, se preparó una mezcla de HC, evaluándose a una concentración hasta de 50 000 mg kg<sup>-1</sup> (alifáticos:aromáticos; 1:1), la proporción designada para los aromáticos fue del 25% de la mezcla total, para cada uno. Las concentraciones iniciales fueron 3 125, 6 250, 9 375 y 12 500 mg kg<sup>-1</sup> para los aromáticos y el 50% correspondiente al HXD.

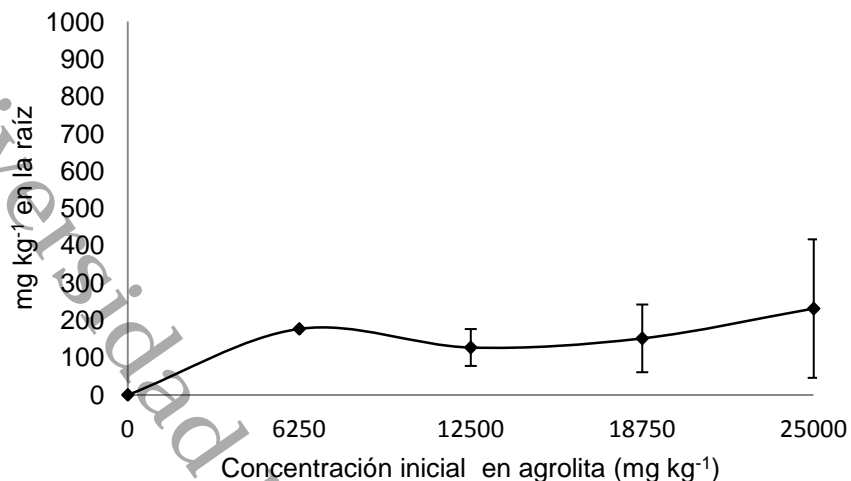


Figura 5 Sorción de hidrocarburos en raíces de *Cyperus laxus* después de siete días de cultivo. Hexadecano (◆) en la mezcla.

En este caso, los hidrocarburos evaluados mostraron un comportamiento similar con respecto al tratamiento individual. Para el HXD, la concentración en la raíz no varió al final de la prueba (Figura 5) y se obtuvo una sorción máxima de 120 mg kg<sup>-1</sup>. Para los aromáticos la sorción máxima fue obtenida para el pireno (2 000 mg kg<sup>-1</sup>) con respecto a la concentración inicial total de 50 000 mg kg<sup>-1</sup>. Para el fenantreno que se utilizó en el tratamiento mezcla, no se observó un máximo en la sorción (Figura 6).

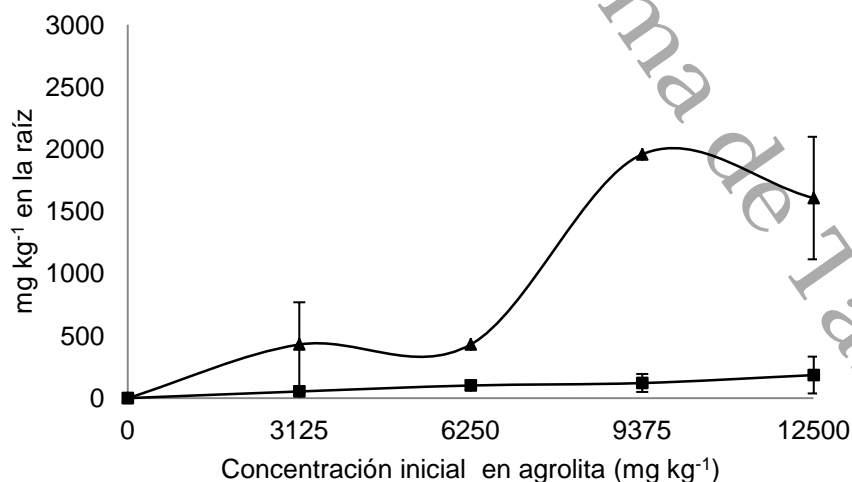


Figura 6 Sorción de hidrocarburos aromáticos en raíces de *Cyperus laxus* después de siete días de cultivo. Fenantreno (■) y Pireno (▲), en la mezcla.



### 7.2.3 Remoción de los hidrocarburos en el tratamiento individual

La cantidad de HC removidos se obtuvo a través de un balance para cada unidad experimental (UE):

Ecuación (4)

$$HC_i = HC_R + HC_{raíz} + HC_{bio}$$

Donde:

$HC_i$  = HC adicionado al inicio del experimento

$HC_R$  = HC residual (extraído de la agrolita por método soxhlet)

$HC_{raíz}$  = HC sorbido por la raíz después del tratamiento

$HC_{bio}$  = HC biotransformado (no cuantificable)

Por lo tanto para calcular la fracción del hidrocarburo removido (sorbido por las raíces y/o biotransformado en el medio) se consideró:

Ecuación (5)

$$HC_{REM} = HC_i - HC_R = HC_{raíz} + HC_{bio}$$

Las plantas poseen un papel activo en la transformación de las fracciones que componen a los HTP, así como promueven el crecimiento de los microorganismos que los degradan.

En la Tabla 4, los resultados muestran la remoción para cada compuesto probado, donde el valor más alto en la raíz fue de 2.9 mg UE<sup>-1</sup> para hexadecano, alcanzando un valor de sorción del 0.11 %. Cabe destacar, que de acuerdo a los resultados a mayor concentración mayor remoción de hidrocarburo en la raíz para los tres hidrocarburos evaluados. Sin embargo, para fenantreno y pireno se observó menor sorción con respecto a la concentración inicial.



Tabla 4 Balance de la fracción sorbida de los hidrocarburos en forma individual.

HC	Concentración (mg Kg <sup>-1</sup> )	HC <sub>i</sub>	*HC <sub>residual</sub>		*HC <sub>raíz</sub>	
			mg UE <sup>-1</sup>	(%)	mg UE <sup>-1</sup>	(%)
	0	0	0	0	0	0
HXD	25 000	625	16	2.56	0.19	0.03
	50 000	1 250	22	1.76	0.66	0.05
	75 000	1 870	37	1.97	1.57	0.08
	100 000	2 500	52	2.08	2.90	0.11
	0	0	0	0	0	0
PHE	1 000	810	0.22	0.02	0.03	0.004
	1 500	1 620	1.29	0.07	0.13	0.007
	2 000	3 240	4.40	0.13	0.28	0.008
	0	0	0	0	0	0
PYR	1 000	810	12	1.48	0.04	0.004
	2 000	3 240	21	0.64	0.04	0.001

\*datos en unidades de mg UE<sup>-1</sup>.

HC<sub>i</sub> hidrocarburo en concentración inicial.

HC<sub>Residual</sub> extraído de la agrolita después del tratamiento

HC<sub>raíz</sub> sorbido en la raíz después del tratamiento

#### 7.2.4 Remoción de la mezcla de hidrocarburos (HXD, PHE y PYR)

En la Tabla 5 se muestran los resultados de la remoción para cada hidrocarburo probado, donde el valor más alto en la raíz fue de 0.27 mg kg<sup>-1</sup> para fenantreno, lo que representó una sorción del 0.34%, comparando estos resultados con los obtenidos de manera individual, los hidrocarburos aromáticos mostraron una mayor sorción con respecto a la concentración inicial, cabe destacar que la concentración de los hidrocarburos que fueron biotransformados (Ecuación 5), probablemente debido a la actividad dentro de la planta y/o actividad de los microorganismos de la zona rizósferica representó más del 95%.



Tabla 5. Balance de la fracción sorbida de los hidrocarburos en la mezcla.

HC	Concentración (mg kg <sup>-1</sup> )	*HC <sub>i</sub>	*HC <sub>residual</sub>		*HC <sub>raíz</sub>	
			mg UE <sup>-1</sup>	(%)	mg UE <sup>-1</sup>	(%)
	0	0	0	0	0	0
HXD	6 250	157	0.10	0.06	0.01	0.007
	12 500	313	0.14	0.04	0.02	0.006
	18 750	469	0.23	0.04	0.05	0.010
	25 000	626	0.32	0.05	0.06	0.009
	0	0	0	0	0	0
PHE	3 125	78	1.32	1.69	0.27	0.34
	6 250	156	1.00	0.64	0.20	0.12
	9 375	233	0.67	0.28	0.13	0.05
	12 500	313	0.69	0.22	0.14	0.04
	0	0	0	0	0	0
PYR	3 125	78	0.08	0.10	0.01	0.012
	6 250	156	0.11	0.06	0.02	0.013
	9 375	233	0.18	0.07	0.04	0.015
	12 500	313	0.25	0.08	0.05	0.010

\*datos en unidades de mg UE<sup>-1</sup>

HC<sub>i</sub> hidrocarburo en concentración inicial.

HC<sub>Residual</sub> extraído de la agrolita después del tratamiento

HC<sub>raíz</sub> sorbido en la raíz después del tratamiento

Las plantas pueden mejorar las tasas de degradación de hidrocarburos aromáticos estimulando el crecimiento y actividad microbiana o mediante el incremento de la biodisponibilidad de HAP en la rizósfera, por la presencia de exudados como ácidos orgánicos y/o carbohidratos en la raíz a causa de una mayor interacción entre los microorganismos, nutrientes y los contaminantes (Parrish y col., 2005).

#### 7.2.5 Cuantificación de microorganismos degradadores por el método del número más probable (NMP)

El efecto rizósfera (incremento en el número de microorganismos en el suelo adyacente en las raíces vs el suelo no rizósferico) y la comunicación planta-bacteria ocurren en el hábitat ecológico de la raíz, donde la dinámica poblacional microbiana es altamente influida por éste. Este efecto involucra al enriquecimiento de la diversidad microbiana en el suelo, cuyo resultado inmediato es una mayor actividad en la degradación del contaminante por los múltiples sistemas enzimáticos que poseen los microorganismos (Mishra y col., 2001). La



comunicación específica planta-bacteria involucraría sistemas complejos de comunicación, en los cuales la planta, al estar sometida a un estrés por un contaminante orgánico, cambia sus patrones de exudación de compuestos para promover el crecimiento de microorganismos con las capacidades degradadoras adecuadas. El método del número más probable (NMP), es un método en el que los microorganismos al ser enumerados selectivamente, son capaces de causar una respuesta característica (ej. producción de metabolitos) que pueda ser detectado con un reactivo específico. Usualmente los colorantes de tetrazolio (azul de tetrazolio), son reducidos por los electrones de la cadena respiratoria a formazan insoluble (altamente coloridos), por lo tanto, al estar reducido el azul de tetrazolio este será un indicador sensible del crecimiento y es útil en la detección de diluciones positivas (Escalante-Espinosa, 2005). Esta técnica ha sido utilizada como una herramienta para estudiar la respuesta de microorganismos ante el contaminante y la capacidad de utilizarlo como fuente de carbono y de energía (San Gabriel y col., 2006).

De acuerdo a los resultados, la población de células degradadoras de los HC fue estimulada significativamente por la presencia del HXD, siendo un orden de magnitud mayor en comparación con la población de degradadores de HC aromáticos evaluados (Tabla 6). En el caso de la población de células observada se encontró en tres órdenes de magnitud mayor con respecto al pireno (Tabla 6). Esto probablemente se debió a que el HXD es un compuesto fácil de biodegradar, aún así, mediante la rizodegradación se removió el 90% de pireno.

El efecto directo de las raíces se fundamenta en la secreción de exudados que contribuyen en la proliferación de microorganismos clave para la desintoxicación y la degradación de contaminantes en el suelo (Davis y col., 2002). Los microorganismos son comúnmente estimulados luego de la incorporación de hidrocarburos del petróleo (Atlas 1995) y se ha demostrado que existe correlación entre el número de microorganismos y el grado de contaminación del suelo (Wyszkowska y Kucharski 2001).



Tabla 6 Cuantificación por método NMP para los hidrocarburos individuales.

HTP	HTP (mg Kg <sup>-1</sup> )	NMP (células / g suelo)
HXD	0	1.10 x10 <sup>6</sup> ±0
	25 000	1.10 x10 <sup>6</sup> ±0
	50 000	1.10 x10 <sup>6</sup> ±0
	75 000	1.10 x10 <sup>6</sup> ±0
	100 000	1.10 x10 <sup>6</sup> ±0
PHE	0	3.82x10 <sup>5</sup> ±6.22x10 <sup>5</sup>
	500	5.51x10 <sup>5</sup> ±7.76x10 <sup>5</sup>
	1 000	3.67x10 <sup>3</sup> ±7.09x10 <sup>2</sup>
	1 500	3.70x10 <sup>4</sup> ±3.30x10 <sup>4</sup>
	2 000	7.38x10 <sup>5</sup> ±6.26x10 <sup>5</sup>
PYR	0	1.04x10 <sup>3</sup> ±1.14x10 <sup>3</sup>
	1 000	4.30x10 <sup>2</sup> ±2.38x10 <sup>2</sup>
	2 000	4.70x10 <sup>2</sup> ±2.62x10 <sup>2</sup>

Los microorganismos que habitan la rizósfera son diferencialmente estimulados o inhibidos en función de la actividad fisiológica y capacidad de crecimiento de la planta en presencia de contaminantes (Merkl y col., 2005b). De acuerdo a los resultados la especie *Cyperus laxus* favoreció en una forma consistente una población microbiana mayor en la agrolita contaminada, lo que la convierte en una planta potencialmente aplicable a estrategias de fitorremediación (Escalante y col., 2004). Los microorganismos degradadores de hidrocarburos presentes en el experimento tuvieron un comportamiento creciente en las unidades experimentales para cada hidrocarburo, mostrando mayor presencia de células degradadoras en hexadecano en el tratamiento individual, debido que este compuesto es constituido por una cadena lineal de C-H por lo tanto es accesible su degradación.

Los microorganismos que toleran elevadas concentraciones de hidrocarburos, posiblemente han desarrollado mecanismos que les permiten mantener la integridad de su membrana ante la presencia excesiva de hidrocarburos; mecanismos tales como el incremento en la rigidez de la membrana por descenso en el contenido de ácidos grasos insaturados, alteración en la conformación



cis/trans de los fosfolípidos y sistemas de exclusión homólogos a los empleados por las bacterias en la resistencia a antibióticos se han reportado (Ramos y col.,1997). En general se observó un número bajo de microorganismos degradadores para el tratamiento donde se utilizó la mezcla de hidrocarburos como fuente de carbono (Tabla 7).

Tabla 7. Cuantificación por método NMP para la mezcla de hidrocarburos.

HTP (mg Kg <sup>-1</sup> )	NMP (células / g suelo) (X10 <sup>4</sup> )
0	6.77±1.14
12 500	4.90±3.26
25 000	1.76 ±2.25
37 500	3.87 ±1.27
50 000	1.10±0

#### 7.2.6 Extracción de lípidos en plántulas de 60 días

En general, las raíces de las plantas son el sitio más importante para la sorción de sustancias químicas del suelo (Bell, 1992). Experimentos realizados sobre la sorción de productos químicos no iónicos a partir de una solución hidropónica mostraron que la sorción se compone de dos etapas (Briggs y col., 1983): (i) El equilibrio entre la concentración de la sustancia en la fase acuosa en la raíz de la planta y la solución externa, (ii) la sorción química sobre los sólidos lipofílicos de la raíz. Estos sólidos son los lípidos de las membranas y paredes de las células (Mackay, 2001), que se definen como geoquímicos orgánicos que son solubles en solventes no polares (McMurry, 2008) o débilmente polares, disolventes orgánicos



como el hexano, benceno, o diclorometano. Los lípidos incluyen desde simples moléculas de ácidos grasos, los alcanos, y n-alcoholes de alquilo a las sustancias más complejas, como los esteroides, terpenos, hidrocarburos poliaromáticos, grasas, ceras y resinas. (Chilom y col, 2005). En este estudio los lípidos fueron cuantificados mediante extracción en éter de petróleo durante 8 h en Soxhlet.

La cantidad de lípidos extraída fue  $0.01 \pm 0.001$ g (cuantificada por gravimetría) después de la evaporación del solvente de extracción. Los compuestos orgánicos lipofílicos tienen una mayor tendencia a la partición en los lípidos que se localizan en raíces de plantas de compuestos químicos hidrofílicos. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), clorobencenos, bifenilos policlorados (PCB), y dibenzo-p-dioxinos / dibenzofuranos (PCDD / F) han sido encontrados en niveles elevados en las raíces de las plantas (Wild y col., 1992). Gao y col., (2004) correlacionaron positivamente ( $p < 0.05$ ) el contenido de lípidos en la raíz de una planta que crecía en la presencia de fenantreno y pireno, los valores de  $R^2$  fueron 0.79 y 0.86 respectivamente, concluyendo que el contenido de lípidos en la raíz puede ser un buen predictor de la acumulación de estos compuestos en la raíz. Kohl y Rice, 1999, demostraron que la eliminación de los lípidos incrementa el carácter no lineal de las isotermas de sorción, así como la capacidad de sorción de los suelos minerales. Así mismo, proponen que los lípidos presentan una gran competencia para los sitios hidrofóbicos en la materia orgánica natural.

### 7.3 Factor de concentración en la raíz (FCR)

Para la evaluación de la afinidad que tienen los hidrocarburos localizados en el suelo para ser sorbidos por las raíces de la planta, se comparó la concentración del compuesto en las raíces con respecto a la concentración residual en el suelo modelo (agrolita), relación conocida como factor de concentración en la raíz. (RCF por sus siglas en inglés). Estudios anteriores, como los de Briggs y col., (1982) adoptaron el concepto de Shone y Wood (1977) para definir el factor de concentración de la raíz (FCR) como el cociente entre la concentración del compuesto en las raíces y en el suelo, sobre una base de peso seco. El factor de



concentración en la raíz, involucra una relación estrecha con el  $pK_{ow}$ , que se define como coeficiente de reparto octanol-agua. Por lo tanto, el  $pK_{ow}$  es una guía en la polaridad del compuesto y de su afinidad por el agua en comparación con sustancias orgánicas (Adams y col., 2008). Los compuestos con valores bajos de  $K_{ow}$  ( $<10$ ) se consideran relativamente hidrofílicos, mientras que los que tienen un  $K_{ow}$  alto ( $>10^4$ ) son considerados hidrofóbicos y tienden a acumularse en superficies orgánicas como suelos con alto contenido de materia orgánica y especies acuáticas (Volke, y Velasco, 2002).

Ecuación (6)

$$FCR = \frac{\text{Concentración en la raíz } \frac{mg}{kg}}{\text{Concnetración en suelo } \frac{mg}{kg}}$$

Para los hidrocarburos evaluados, hexadecano (HXD), fenantreno (PHE) y pireno (PYR), el FCR calculado se muestra en la Figura 8. Para el HXD, se emplearon concentraciones iniciales hasta de  $100\ 000\ mg\ kg^{-1}$ , el resultado obtenido indicó que el FCR incrementa al aumentar la concentración inicial en la agrolita en el tratamiento individual.

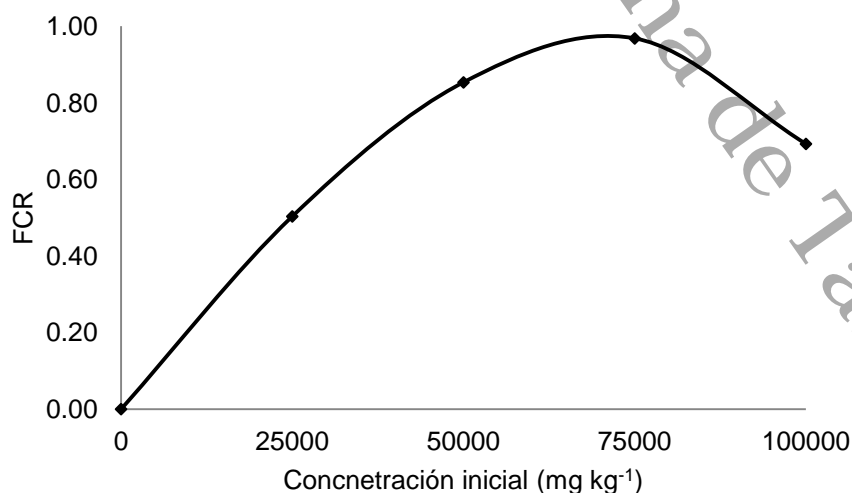


Figura 8. Factor de concentración en la raíz para HXD en tratamiento individual después de siete días de cultivo.

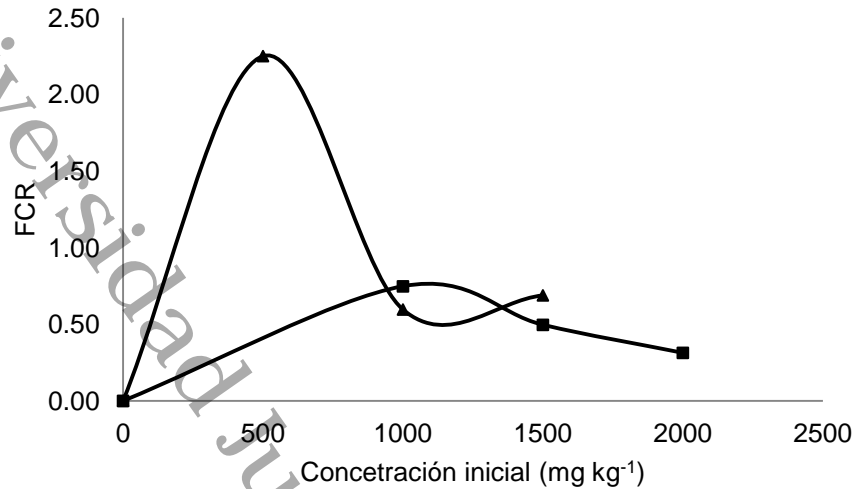


Figura 9. Factor de concentración en la raíz para los hidrocarburos aromáticos después de siete días en cultivos individuales: Fenantreno (■) y Pireno (▲).

Para los hidrocarburos aromáticos, las concentraciones iniciales fueron de 500 hasta 2 000 mg kg<sup>-1</sup>; para el PYR se obtuvo un FCR de 2.25 en la menor concentración disminuyendo hasta un FCR de 0.5 a una concentración inicial de 1 500 mg kg<sup>-1</sup>, (Figura 9). Para el fenantreno, el valor máximo de FCR fue de 0.75, disminuyendo hasta 0.31 al final de los siete días de cultivo. Ya que estos son compuestos aromáticos de tres y cuatro anillos bencénicos, y por lo tanto, menos susceptibles a la degradación microbiana, posiblemente los microorganismos presentes en la rizósfera no eliminan rápidamente dejándolos biodisponibles para ser sorbidos por las raíces. Gao y col., (2004) al final del cultivo 45 d, evaluaron el factor de concentración en la raíz de los hidrocarburos fenantreno y pireno en 12 especies (*Amaranthus tricolor* Linn, *Brassica parachnensis* Barley, *Raphnus sativas* L., *Lpomoea aquatica* Forsk, *Glycine max* Merr, *Phaseolus vulgaris* L., *Brassica chinensis* L., *Brassica oleracea* L., *Spinacea oleracea* L., *Capsicum annum* L., *Solanium melongena* L., *Lilium multiflorum* Lam.). Utilizaron un suelo contaminado a una concentración inicial de 133 mg kg<sup>-1</sup> para fenantreno y 172 mg kg<sup>-1</sup>, el resultado obtenido para fenantreno (0.05-0.67) fueron muy inferiores a los de pireno (0.23-4.44) para el tratamiento S6, teniendo el FCR más alto en la planta



*Glycine max* Merr, con ambos hidrocarburos evaluados. Los resultados de este trabajo mostraron consistentemente que la acumulación de pireno en la raíz fue mayor que fenantreno según lo exhibido por las concentraciones de los FCR.

En la mezcla de hidrocarburos, se utilizó como concentración total  $50\ 000\ \text{mg}\ \text{kg}^{-1}$  con una proporción alifáticos: aromáticos 1:1, de la cual parten las siguientes concentraciones:  $6\ 250$ ,  $12\ 500$ ,  $18\ 750$  y  $25\ 000\ \text{mg}\ \text{kg}^{-1}$  para hexadecano y  $3\ 125$ ,  $6\ 250$ ,  $9\ 375$  y  $12\ 500\ \text{mg}\ \text{kg}^{-1}$  para fenantreno y pireno respectivamente. Con respecto al hexadecano, se observó un valor máximo de 1 para todas las concentraciones evaluadas, indicando que el FCR fue independiente de la concentración inicial en la agrolita, ya que este es un alifático de cadena lineal, más susceptible a la degradación microbiana y aunado a las bajas concentraciones usadas, posiblemente los microorganismos presentes en la rizósfera lo eliminan rápidamente dejándolo poco biodisponible para la sorción por las raíces.

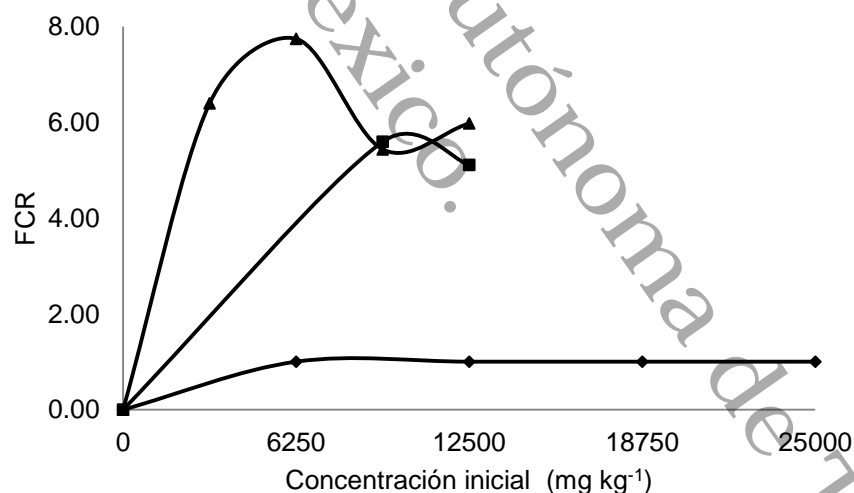


Figura 10. Factor de concentración en la raíz para la mezcla de hidrocarburos después de siete días de cultivo: Hexadecano (◆) Fenantreno (■) y Pireno (▲).

Para los aromáticos, se observó un incremento en los valores del FCR comparados con aquellos obtenidos en el tratamiento individual. Para el fenantreno fue 5.43 en las concentraciones más altas y para el pireno se observó



que al aumentar la concentración inicial hubo un incremento notándose un máximo de 7.74 a la concentración inicial de 6 250 mg kg<sup>-1</sup> (Figura 10). Los resultados obtenidos en estos estudios indican que los compuestos menos polares ( $K_{ow}$  más alto), fueron más fuertemente sorbidos por la raíz de *C. laxus*, tal como se muestra en las Figura 9. La sorción de un contaminante orgánico en las raíces de las plantas es importante debido que los hidrocarburos pueden acumularse en el tejido de la planta o bien, ser metabolizados dentro de este y de esta manera no se transfieren a otro nivel de la cadena trófica (Adams y col., 2008).

Gao y col., (2006) realizaron un estudio comparando la sorción de fenantreno y pireno por la planta *Lolium multiflorum* Lam, utilizando dos tipos de soporte (agua y suelo). Los valores del FCR tendieron a disminuir con el aumento de las concentraciones de hidrocarburos en el suelo después de 45 días, específicamente el FCR para fenantreno fue mucho menor (0.14) que para pireno (0.37), teniendo una concentración inicial de 43.50 mg kg<sup>-1</sup> para fenantreno y 272.1 mg kg<sup>-1</sup> para pireno. Comparando los resultados, las concentraciones evaluadas fueron mayores que las estudiadas por Gao y colaboradores, pero se observó la misma tendencia ya que el FCR disminuyó con el incremento en las concentraciones iniciales, así mismo, el FCR para fenantreno fue menor (5.43) que para pireno (7.74). Para el HC hexadecano se observó para todas las concentraciones evaluadas un valor máximo del FCR de 1, indicando una similitud con lo reportado por Escalante y col. (2009); mismos que, realizaron un estudio con plantas nativas, utilizando una mezcla de hidrocarburos (hexadecano 50%; pristano 14%; antraceno 18% y pireno 18%) a una concentración inicial de 4 000 mg kg<sup>-1</sup> para *C. laxus* y 1 000 mg kg<sup>-1</sup> para *C. ligularis*. Evaluaron el FCR para antraceno, encontrando que éste aumentó durante el cultivo de plantas no inoculadas, la concentración de hidrocarburos en agrolita disminuyó al final del experimento, aunque la concentración de hidrocarburos en las raíces se mantuvo constante.

En cambio, para las plantas inoculadas, el FCR durante el cultivo fue de 1, es decir, las concentraciones de hidrocarburos tanto en la agrolita y las raíces fueron similares a los 90 y 150 días.



Para pireno, el FCR en las plantas no inoculadas siguió el mismo patrón durante el cultivo, en comparación con el antraceno, mientras que para las plantas inoculadas, los valores de FCR fueron mayores con respecto a los no inoculados. En el caso del hexadecano no se encontró en las raíces, lo cual se atribuyó a que las concentraciones evaluadas fueron bajas en 150 d de cultivo.

Debido a su pequeño tamaño y morfología laminar, las arcillas presentan elevadas áreas superficiales, y probablemente, los fenómenos de sorción de compuestos orgánicos e inorgánicos se presenten en la región interlaminar de las superficies de las partículas arcillosas (Carretero y col., 2007). Cabe destacar, que para probar los HC en suelos arcillosos con presencia de materia orgánica, probablemente se obtendría una menor sorción de los hidrocarburos a la obtenida en el sistema modelo (agrolita) para la planta *C. laxus*, debido a que los hidrocarburos posiblemente quedarán sorbidos en las arcillas y materia orgánica.



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco  
México.

## **8. Conclusiones**



En la germinación de las semillas de *Cyperus laxus*, se obtuvo una tasa de germinación alta, bajo condiciones de invernadero. El crecimiento de las plantas de 60 días, utilizadas en el suelo modelo (agrolita) contaminado, no fue afectado por los hidrocarburos, pues las plantas se mostraron con tallos firmes y verdes.

*Cyperus laxus* fue capaz de remover los contaminantes del medio a valores mayores al 90 %. En el tratamiento con compuestos usados de forma individual hubo sorción en las raíces de los tres hidrocarburos evaluados. La sorción se incrementó al aumentar la concentración inicial de los hidrocarburos en el suelo modelo. En particular, el hexadecano presentó la mayor sorción ( $4\,397\text{ mg kg}^{-1}$ ) en una concentración de  $100\,000\text{ mg kg}^{-1}$ . El fenantreno y pireno presentaron valores de sorción de  $55.15\text{ mg kg}^{-1}$  y  $1\,606\text{ mg kg}^{-1}$ , respectivamente en una concentración de  $2\,000\text{ mg kg}^{-1}$ . La mayor sorción, presentada por el pireno, posiblemente se debió a su mayor valor de  $\text{pk}_{\text{ow}}$ .

Para el hexadecano, la sorción en las raíces representó el 0.11 % de la remoción, a la concentración más alta. Para la mezcla de hidrocarburos, la sorción fue similar al tratamiento individual, presentando el hexadecano una sorción máxima de  $120\text{ mg kg}^{-1}$  a una concentración inicial de  $25\,000\text{ mg kg}^{-1}$ . Por otra parte, los valores de sorción para fenantreno y pireno fueron  $184\text{ mg kg}^{-1}$  y  $1\,957\text{ mg kg}^{-1}$  respectivamente a la concentración máxima de  $12\,500\text{ mg kg}^{-1}$ .

Los microorganismos degradadores se cuantificaron en valores de  $1 \times 10^6$  células/g suelo, para el hexadecano a una concentración inicial de  $100\,000\text{ mg kg}^{-1}$ . En la mezcla se cuantificaron hasta  $4.90 \times 10^4$  células/g suelo en la concentración inicial de  $12\,500\text{ mg kg}^{-1}$ . Los valores del factor de concentración en la raíz variaron dependiendo del hidrocarburo probado y de la concentración en la agrolita. Para el hexadecano, el valor máximo obtenido fue de 1, tanto de manera individual como en la mezcla. Para los hidrocarburos aromáticos, fenantreno y pireno, la mayoría de los valores obtenidos fueron superiores a 1, siendo hasta de 7.7 para pireno, lo que está relacionado con su mayor lipofilicidad.



Como parte de los mecanismos de fitorremediación, la sorción de hidrocarburos en las raíces, es una etapa importante considerando que estos pueden ser metabolizados dentro de la planta o bien acumularse. En el caso de *C. laxus*, en el sistema utilizado la sorción de hidrocarburos en la raíz no fue el mecanismo principal de remoción de los contaminantes, siendo probablemente que la rizodegradación, actividad biodegradadora llevada a cabo por los microorganismos rizosféricos, el mecanismo de remoción principal de los compuestos probados (sin embargo, cabe destacar que la sorción cuantificada es significativa en el caso de los compuestos aromáticos en presencia de hexadecano) previniendo por lo tanto, la transferencia de los contaminantes a otros niveles de la cadena trófica.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco  
México.

## 9. Referencias Bibliográficas



- Acevedo, O. A. (2000). *Degradación y Contaminación de los Suelos del Estado de Hidalgo*. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.
- Adams R., Morales, G. F. (2008). *Concentración residual de hidrocarburos en suelos del trópico. I: consideraciones para la salud pública y protección al ganado*. Interciencia. Vol. 33 N° 7.
- Aina, R., Palin, L., y Citterio, S. (2006). *Molecular evidence for benzo[a]pyrene and naphthalene genotoxicity in Trifolium repens L*. Chemosphere.
- Alayon (2004). *Asfaltenos ocurrencia y floculación*. Universidad de los Andes Mérida-Venezuela. Cuaderno FIRP N° 369pp.
- Allinger N. L., Cava M. P., De Jongh Don C., Johnson C. R., Lebel N. A., Stevens C. L. (1991). *Química Orgánica*. 2ª edición. Ed. Reverté. 1476 pp.
- Arthur, E. L., Rice, P. J., Rice, P. J., Anderson, T. A., Baladi, S. M., Henderson, K. L. D., y Coats, J.R. (2005). *Phytoremediation—An Overview*. Critical Reviews in Plant Sciences, 24:109–122.
- Atlas R. M. y Bartha R. (2005). *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. 4ta edición. Editorial Pearson educación. 696pp.
- Atlas, R. M. (1995). *Biorremediation of petroleum pollutants*. International Biodeterioration and Biodegradation. 30: 317-327.
- ATSDR (2007). Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 1999. Toxicological profile for total petroleum hydrocarbons (TPH). Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. <http://www.atsdr.cdc.gov/phs/phs.asp?id=422&tid=75>.
- Bell R. M., (1992). *Higher plant accumulation of organic pollutants from soils*. EPA/600/R-92/138. Cincinnati: United States Environmental Protection Agency.
- Beltrami C. (2001). *La contaminación*. Editorial Longseller. 112pp. ISBN:9879481461.
- Bohn H. L., McNeal B. L., O'connor G. A. (1993). *Química del suelo*. Ed. Limusa. 370 pp.



- Briggs, G. G., Bromilow, R. H. y Evans, A. A. (1982). *Relationships between lipophilicity and root uptake and translocation of non-ionised chemicals by Barley*. *Pestic. Sci.* 13, 495-504.
- Briggs, G. G., Bromilow, R. H. y Evans, A. A., Williams, M., (1983). *Relationships between lipophilicity and the distribution of non-ionised chemicals in barley shoots following uptake by the roots*. *Pesticide Science*, 14, 492-500.
- Calvet, R. (1989). *Adsorption of Organic chemicals in soils*. *Environmental Health Perspectives*. Vol. 83, pp. 145-177.
- Carpena, R.O; Bernal, M. Pilar. (2007). *Claves de la fitorremediación. Fitotecnologías para la recuperación de los suelos*. *Ecosistemas* Vol. 16, núm 2, 2007 p.p. 1-3.
- Carretero Ma. I., Pozo M. (2007). *Minerología aplicada, salud y medio ambiente*. Ed. Thomson. 424pp.
- Centeno, G., Trejo, f., Ancheyta, J., Carlos A. (2004). *Precipitación de los asfaltenos del crudo maya en un sistema a presión*. *Rev. Soc. Quim.* 48 179-188.
- Chilom, G., Scott, D.K., y Rice J. A. (2005). *The influence of lipids on the energetic of uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons by natural organic matter*. *J. Environ. Qual.* 34:1055-1062.
- Davis L.C., Castro-Diaz S., Zhang Q., Erickson L.E. (2002). *Benefits of vegetation for soils with organic contaminants*. *Crit. Rev. Plant Sci.* 21, 457-491.
- Denys, S., Rollin, C., Guillot, F., y Baroudi, H. (2006). *In-situ phytoremediation of pahs contaminated soils following a bioremediation treatment*. *Water, Air, and Soil Pollution: Focus* (2006) 6: 299–315.
- Díaz R., I. J., (2004). *Biodegradación de hidrocarburos por cultivo mixtos definidos aislados de la rizosfera de *Cyperus laxus* LAM*. Tesis de Doctorado. Universidad autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Departamento de Biotecnología. México, D.F.



- Díaz Serrano F. R. (2004). *Selección de sustratos para la producción de hortalizas en invernader*. Memorias del IV Simposio Nacional de Horticultura. Invernaderos: Diseño, Manejo y Producción Torreón, Coah, México, Octubre 13, 14 y 15 del 2004.
- Dietz, A. C., y Schnoor J. L. (2001). *Advances in Phytoremediation*. Environmental Health Perspectives Vol. 109 suplement 1.
- EPA (2000). *Introduction to phytoremediation*. EPA/600/R-99/107. Environmental Protection Agency, Washington, D.C
- Flocco, C. G., Lobalbo, A., Carranza, M. P., Bassi, M., Giuliotti, A. M. y Mac Cormack, W. P. (2002). *Some physiological Microbial, and toxicological aspects of the removal of phenanthrene by hydroponic cultures af alfalfa (Medicago sativa L.)*. international journal of phytoremediation. Vol. 4 N° 3 169-186.
- Escalante E. E., Gallegos M. M., Favela T. E., Gutierrez R. M. (2005). *Improvement of the hydrocarbon phytoremediation rate by Cyperus laxus Lam inoculated with a microbial consortium in a model system*. Elsevier. Chemosphere 59 (2005) 405-413.
- Escalante, E. E., Rodríguez, G. L. y Gutiérrez, R. M. (2009). *PAH removal by two native tropical plants cultured on model contaminated soil*.
- Gallegos M. M., Gómez S. A., González C.L., Montes de Oca G. M. A., Yáñez T. L., Zermeño E. L. J. A. y Gutiérrez-Rojas, M. (2000) *Diagnostic and resulting approaches to restore petroleum contaminated soil in a Mexican tropical swamp*. Water Science and Technology vol. 42 Nos 5-6 pp 377-384.
- Gao, Y. y Zhu, L. (2004). *Plant uptake, acumulation and translocation of phenanthrene and pyrene in soils*. Chemosphere 55:1169-1178.
- Gao, Y., Ling, W., Wong, M. H., (2006). *Plant-accelerated dissipation of phenanthrene and pyrene from water in the presence of a nonionic-surfactant*. Chemosphere 63 (2006) 1560-1567.
- Gao, Y., Wei, X., Ling, W., y Jianming, X. (2006). *Sorption of phenanthrene by soils contaminated with heavy metals*. Chemosphere xxx (2006) xxx-xxx.



- García B.F. j., Roselló C. J., Santamarina, S. Ma. P. (2006). *Introducción al funcionamiento de las plantas*. Ed. Up, Valencia España. 186pp.
- Gary J. H., Handwerk G. E. (2003). *Refino del petróleo*. Editorial Reverté. 392pp. ISBN: 84-2917904-6.
- Herrea, F., Velázquez, J., y Quintana G., (2006). *Adsorción de NMI (II) en lignina precipitada de licores negros*. Postér, XXXI Reunión ibérica de Adsorción.
- leahy, J. G., y Colwell, R. R. (1990). *Microbial degradation of hydrocarbons in the environment*. Microbial. Rev. 54:305-315.
- Jiménez C, B.E. 2006. *La contaminación ambiental en México causas, efectos y tecnología apropiada*. Limusa S.A de C.V. México. 317-356pp.
- Kohl S.D., Rice J.A. (1999). *Contribution of lipids to the nonlinear sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons to soil organic matter*. Org. Geochem., 30: 929-936.
- LaGrega, M., P. Buckingham y J. Evans. (1996). *Gestión de residuos tóxicos. Tratamiento, eliminación y recuperación de suelos. Vol. I y II*. McGraw-Hill, Nueva York. 1316 p.
- Lal, R. (2002). *Soil erosion and the global carbon budget*. Environmental international. 29:437-450.
- Lodish H., Berk A., Matsudairo P., Kaise C. A., Kriger M., Scott M., Zypursky L., Darnell J. (2005). *Biología celular y molecular*. 5a edición. Ed. Medicina Panamericana. 1088pp.
- López A. F., Guío T. N., Fischer G., Miranda L. D., (2008). *Propagación de uchuva (physalis peruviana l.) mediante diferentes tipos de esquejes y sustratos*. Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín, 61, 4347-4357.
- Lorch, H-J., Benckieser, G., y Ottow, J. C. G. (1995). *Basic methods for counting microorganisms in soil and water*. En: Alef y Nannipieri (Editores). *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*, pp. 146-161, Academic Press, great Britain.



- Luthy R. G., Aiken G. R., Brusseau M. L., Cunningham S. D., Gschwend P. M., Pignatello J. J., Reinhard M., Triana S. J., Weber Jr. W. J. (1997). *Sequestration of hydrophobic organic contaminants by geosorbents*. Environmental science & technology. 31:3341-3347.
- Mackay D. (2001). *Multimedia environmental models: The fugacity approach*. 2nd edition. Boca Raton: CRC LLC Press.
- Madrigal-Monarez, I., Benoit, P., Barriuso, E., Réal, B., Dutertre A., Moquet, M., Trejo, M., Ortiz L. (2008). Revista ingeniería e investigación. Vol. 28 N° 3:96-104.
- Manahan S. E. (2007). *Introducción a la química ambiental*. Ed. Reverté 725pp.
- Martínez D. A., Landin A. M., Svartz H., Vence L., Bottini L., Mascarini L., Orden S., Vilella F. (2006). *Propiedades físicas e hidráulicas de perlita en cultivos de rosas y sus variaciones temporales*. Cienc. vol.24, n.2, pp. 177-182. ISSN 1850-2067.
- Mc Murry, J. (2008). *Química orgánica*. 7ma edición. Cengage Learning editores. 1352pp.
- Merkl N., Schultze-Kraft R., Infante C. (2005b). *Assessment of Tropical Grasses And Legumes For Phytoremediation Of Petroleum-Contaminated Soils*. Water, Air, & Soil Pollution. 165:195-209.
- Mishra V.; Srinivasan, L.R. (2001) *Enzymes and operons mediating xenobiotic degradation in bacteria*. Crit Rev Microbiol. 27(2):133-66.
- Morrison, R. T., y Boyd, R. N., (1998). *Química Orgánica 5ta. Edición*. México. 1474 pp. Pearson Educación.
- Olguín E. J., Sanchez-Galván G., Pérez-Pérez T., (2007). *Assessment of the Phytoremediation Potential of Salvinia minima Baker Compared to Spirodela polyrrhiza in Hig-strenth Organic Wastewater*. Water Air Soil Pollut. 181:135-147.
- Parrish, Z. D., Banks, M.K., Schwab A.P., (2005). *Effect of root death and decay on dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere of yellow sweet clover and tall fescue*. Journal of environmental quality. 34:207-216.



- Pineda F. G., Boll, A. G. y Mesta, H. A. M. (2002). *Biodegradación de asfáltenos por un consorcio microbiano aislado de petróleo crudo "Maya"*. Rev. Internacional de contaminación ambiental. Vol. 18 (002):67-73.
- Piwoni M. D., y Keeley J. W. (1990). *Basic concepts of contaminant sorption at Hazardous waste sites*. EPA Ground water Issue. EPA/54000/4-90/053.
- Porta, J.; López Acevedo, M. y Roquero, C. (2003) *Edafología para la agricultura y el medio Ambiente*. 3ra Edición. Mundi Prensa. Madrid.
- Ramos, J., E. Duque, J. Rodríguez-Herva, P. Godoy, A. Haïdour, F. Reyest. y A. Fernández. (1997). *Mechanisms for solvent tolerance in bacteria*. J. Biol. Chem., 272: 3887–3890.
- Rittmann, B. y Mc Carty, P. (2001). *Biotecnología del medio ambiente (principio y aplicaciones)*. España. 641-642 pp.
- Ryan, K. M. y Firestone M. K. (2001). *Enhanced phenanthrene biodegradation in soil by Slender oat root exudates and root debris*. Bioremediation and Biodegradation. J. Environ. Qual. 30:1911-1918.
- San Gabriel W., Ferrera, C. R., Trejo, a. D., Mendoza, L. Ma. R., Cruz, S. J.S. López, O. C. Delgadillo, M. J. y Alarcón, A. (2006). *Tolerancia y capacidad de fitorremediación de combustóleo en el suelo por seis especies vegetales*. Rev. Internacional de contaminación ambiental. Vol 22 N°002 pp. 63-73.
- Schnoor L. J., Lich A. L., McCutcheon C., Wolfe N. L., Clarreira H. L. (1995) *Phytoremediation of Organic Nutrient Contaminants*. Environmental Science & technology. Vol. 29, No.7.
- Schwab, A. P., Al-Assi A. A., y Banks M. K. (1998). *Adsorption of naphthalene onto Plant Roots*. Journal of environmental quality 27 220-4.
- Shiquiang, W. y Shengwang P. (2010). *Phytoremediation for soila contaminated by phenantrene and pyrene with multiple plant species*.
- Shone, M. G. T. y Wood, A. V. (1977). *Longitudinal movement and loss of nutrients, pesticides and water in barley roots*. Journal of Experimental Botany 28,872-885.
- Singh O. V. y Jain, R. K (2003). *Phytoremediation of toxic aromatic pollutants from soil*. Appl Microbiol Biotechnol 63:128-135.



- Smith M. J., Flowers T. H., Duncan H. J., Alder J. (2005). *Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on germination and subsequent growth of grasses and legumes in freshly contaminated soil and with aged PAHs residues*. Elsevier. Environmental pollution. 1-7pp.
- Taiz, L. Zeiger, E. (2006). *Fisiología vegetal*. Universitat Jaume. 1338pp.
- Venkata, S. M., Kisa, T., Ohkuma, T., Kanaly, R., y Shimizu, Y. (2006). *Bioremediation technologies for treatment of PAH-contaminated soil and strategies to enhance process efficiency*. Rev Environ Sci Biotechnol 5:347–374.
- Viñas, M. (2005). *Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos: caracterización microbiológica, química y ecotoxicológica*. Barcelona, España: universidad de Barcelona; 2005. 352p.
- Volke S., T. y Velasco J. A. (2002). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados*. México: INE-SEMARNAT, 64 pp.
- Wauquier (2004). *El refino del petróleo. Petróleo crudo, productos petrolíferos, esquemas de fabricación*. Edición en español. Fundación Repsol YPF.
- Werenn, B. A. y Venosa, A.D. (1996). *Selective enumeration of aromatic and aliphatic hydrocarbon degrading bacteria by a most-probable-number procedure*. Canadian Journal of Microbiology. 42 : 252-258.
- Wild S. R., Jones K. C., (1992). *Polynuclear aromatic hydrocarbons uptake by carrots grown in sludge-amended soil*. J. Environ Qual 21: 217-225.
- Wyszkowska y Kucharski (2001). *Correlation between number of microbes and degree of soil contamination with petrol*. Plush J. Envir St., 10-175-181
- Xu S. Y., Chen Y. X., Wu W. X., Wang K. X., Lin Q., Liang X. Q. (2005). *Enhanced dissipation of phenanthrene and pyrene in spiked soils by combined plants cultivation*. Elsevier. Science of the total environment. 1-10pp.
- Zhu D., Herbert B. E., Schlautman M. A., Carraway E. R., Hur J. (2004). *Cation- $\pi$  Bonding: a new perspective on the sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons to mineral surfaces*. Journal of environmental quality. 33:1322-1330.