

## Adaptación de una población microbiana a los HPA (*Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos*) en un sistema Bach

### Adaptation of a microbial population to HPA (*Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*) in a Bach system

RESÉNDIZ-VEGA, Marisol\*†, GARCIA-MELO, José Alberto, SÁNCHEZ-TRUJILLO, Gabriela y LAGUNA-AGUILAR, Fabiola María del Carmen

*Cuerpo Académico: Ingeniería y Sistemas Ambientales de la Universidad Tecnológica Tula-Tepeji. Avenida Universidad Tecnológica Núm. 1000, Col. El 61, El Carmen, Tula de Allende Hidalgo., C.P. 42830*

*Cuerpo Académico: Desarrollo de Organizaciones Inteligentes y sustentables, Profesora Investigadora Titular. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Escuela Superior de Tepeji.*

*Cuerpo Académico: Optimización de Procesos Productivos de la Universidad Tecnológica Tula-Tepeji. Avenida Universidad Tecnológica Núm. 1000, Col. El 61, El Carmen, Tula de Allende Hidalgo., C.P. 42830*

ID 1<sup>er</sup> Autor: Marisol, Reséndiz-Vega / ORC ID: 0000-0001-8199-6548, Researcher ID Thomson: T-7946-2018, CVU CONACYT ID: 819939

ID 1<sup>er</sup> Coautor: José Alberto, Garcia-Melo

ID 2<sup>do</sup> Coautor: Gabriela, Sánchez-Trujillo

ID 3<sup>er</sup> Coautor: Fabiola María del Carmen, Laguna-Aguilar

Recibido 23 Julio, 2018; Aceptado 20 Diciembre, 2018

#### Resumen

El conocimiento científico acerca del papel que desempeñan los microorganismos en el tratamiento de agentes contaminantes del medio ambiente como los Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos (HPA), es esencial para prevenir y controlar los daños que puedan ocasionar los derrames o fugas de estos contaminantes. La degradación de HPA es un proceso que puede ocurrir de forma natural por los microorganismos nativos de las zonas contaminadas aprovechando sus rutas metabólicas. Por esta razón, se prevé que los microorganismos pueden ofrecer esta posibilidad en tecnologías basadas en el uso de estos en la remediación de la contaminación ambiental. En el presente trabajo, se estudió la adaptación de microorganismos provenientes de suelo contaminado por más de 30 años a un sistema Bach, mediante un aislamiento realizado por adaptación a un sistema adicionado con grasa quemada de auto. Bajo la premisa de que los consorcios microbianos actúan de manera conjunta y no aislada. El metabolismo microbiano se comprobó al lograr bajar la DQO del agua contaminada de 869mg/l a 300mg/l y la mejora en la disolución de oxígeno (OD). También con fines de identificación se aislaron 5 cepas bacterianas, 3 Gram positivas y dos Gram negativas, que serán identificadas posteriormente. Se dará seguimiento al presente trabajo; utilizando los microorganismos aislados en el tratamiento de suelos y agua contaminados.

**Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos (HPA), Selección, Sistema Bach**

#### Abstract

Scientific knowledge about the role played by microorganisms in the treatment of pollutants in the environment such as Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (HPA) is essential to prevent and control the damage that may cause spills or leaks of these pollutants. The degradation of HPA is a process that can occur naturally by microorganisms native to contaminated areas taking advantage of their metabolic pathways. For this reason, at this time it is expected that microorganisms can offer this possibility in technologies based on the use of these in the remediation of environmental pollution. In the present work, we studied the adaptation of microorganisms from contaminated soil for more than 30 years to a Bach system, by means of an isolation made by adapting to a system added with auto-burned fat. Under the premise that microbial consortiums act jointly and not in isolation. The microbial metabolism was verified by achieving the reduction of the COD of the contaminated water from 869mg / l to 300mg / l and the improvement in the oxygen dissolution (OD). Also for identification purposes, 5 bacterial, 3 Gram positive and two Gram negative strains were isolated, which will be identified later. This work will be followed up; using isolated microorganisms in the treatment of contaminated soil and water.

**Aromatic Polycyclic Hydrocarbons (HPA), Selection, Bach System**

**Citación:** RESÉNDIZ-VEGA, Marisol, GARCIA-MELO, José Alberto, SÁNCHEZ-TRUJILLO, Gabriela y LAGUNA-AGUILAR, Fabiola María del Carmen. Adaptación de una población microbiana a los HPA (*Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos*) en un sistema Bach. Revista de Simulación y Laboratorio 2018, 5-17: 21-29.

\*Correspondencia al Autor (Correo electrónico: marisol.resendiz@utt.edu.mx)

†Investigador contribuyendo como primer Autor

## Introducción

La contaminación del suelo por hidrocarburos se ha convertido en un tema relevante en México, según (Olivera. y Rodríguez 2005), se tienen registros que desde 1993 ha surgido la problemática relacionada con el control y vigilancia del sistema de ductos, lo que ha originado perforación y extracción clandestina de combustibles que a su vez propicia derrames importantes en los puntos de extracción. A la fecha no se cuenta con una cifra exacta sobre la cantidad de suelos contaminados (INE, 2013).

Sin embargo, de acuerdo con datos de la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA), en México se tienen registrados anualmente 550 emergencias ambientales asociadas con residuos peligrosos, siendo los productos derivados de la industria petroquímica (diesel, gasolina, petróleo crudo, entre otros) de los compuestos peligrosos más comúnmente involucrados. (INE, 2002).

Siguiendo con (Olivera et al 2005) el problema no es menor dado que en México la economía se sustenta en la industria petrolera por lo que éstos derrames pueden generar accidentes, además destaca por su impacto en pérdidas económicas, ambientales, afectaciones a la población, pérdidas de producción y de imagen de la propia paraestatal.

Existe una manera de contrarrestar la afectación mediante un grupo de hidrocarburos llamados Policíclicos Aromáticos (HPA). Son moléculas que, de acuerdo con su estructura, contienen dos o más anillos bencénicos fusionados, pudiendo presentar sustituciones alquílicas, hidroxílicas, de halógenos y grupos nitro (NO<sub>2</sub>), en cualquier posición del anillo.

En su mayoría son compuestos tóxicos, carcinógenos, mutágenos y capaces de producir tumores en algunos organismos, causando problemas en reproducción, desarrollo y sistema inmune, además presentan alta persistencia en los medios naturales, de acuerdo con sus propiedades de poca solubilidad en sistemas acuosos, por lo tanto este tipo de productos son difíciles de degradar por poblaciones microbianas endógenas por lo tanto se denominan contaminantes prioritarios (Pérez y Col, 2003).

Las comunidades microbianas en ecosistemas contaminados tienden a ser dominadas por aquellos organismos capaces de utilizar o de sobrevivir a compuestos tóxicos. El estudio de la diversidad microbiana y de la dinámica de sus poblaciones en consorcios biodegradadores, está creciendo notablemente en el área de la ecología microbiana, lo cual ha permitido profundizar en el conocimiento acerca de la composición de las comunidades presentes en suelos contaminados, así como su evolución durante los procesos de biodegradación, para determinar cuáles son los microorganismos capaces de adaptarse y de explorar los hábitats contaminados.

Asimismo, teniendo en cuenta que el metabolismo de sustratos orgánicos en sistemas naturales se produce mediante interacciones metabólicas complejas con la participación de microorganismos diferentes, es necesario estudiar las poblaciones microbianas presentes en el suelo de la forma más representativa posible. Sin embargo, la mayor parte de los microorganismos presentes en muestras ambientales no se pueden cultivar en medios de cultivo en el laboratorio (solamente un 0,1 a un 0,01 % son cultivables) y los que son cultivables pueden no ser representativos de la población presente en la muestra.

Existen bacterias originarias del petróleo capaces de utilizarlo para su crecimiento y mantenimiento, conocidas como bacterias degradadoras de hidrocarburos. Dentro de ellas, se encuentran las del género *Pseudomonas*, que se caracterizan por su versatilidad metabólica, su función es convertir sustratos habitualmente no degradables en metabolitos fácilmente asimilables o que puedan ser atacados por enzimas codificadas cromosómicamente.

La zona de Tula de Allende, Hidalgo se encuentra ubicada la Refinería Miguel Hidalgo y de acuerdo a cifras de Mora (2012), durante más de 30 años se han venido concentrando contaminantes en el ambiente.

De ahí que el propósito del presente trabajo sea Adaptar una población microbiana capaz de biodegradar hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA), para posteriormente construir columnas de lecho empacado para el uso de tratamiento de aguas contaminadas y en biorremediación de suelos.

## Hipótesis

La hipótesis de trabajo establece que si los microorganismos provenientes del suelo contaminado se adaptan al agua contaminada con HPA, entonces se obtiene una disminución en la Demanda Química de Oxígeno (DQO).

## Objetivos

### General

Adaptar una población microbiana capaz de biodegradar hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA), para posteriormente construir columnas de lecho empacado para el uso de tratamiento de aguas contaminadas y en biorremediación de suelos.

### Específicos

1. Obtener suelo de los alrededores de la Refinería Miguel Hidalgo y apartir de la muestra aislar los microorganismos.
2. Adaptar y alimentar diariamente el Sistema Bach.
3. Monitorear el sistema (pH, temperatura, Oxígeno Disuelto (OD) y demanda química de oxígeno (DQO).
4. Aislar los microorganismos del consorcio Microbiano que se encuentren en mayor cantidad
5. Determinar la Biomasa del sistema.

## Marco teórico

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) son compuestos orgánicos derivados de la combustión de material orgánico, principalmente, contienen al menos dos anillos aromáticos; 16 de ellos son denominados “contaminantes prioritarios” por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos debido a su amplia distribución en el ambiente y por sus propiedades mutagénicas, carcinogénicas y teratogénicas (Zhang HB, Luo YM, Wong MH, Zhao QG, Zhang GL (2006); Morillo E, Romero AS, Madrid L, Villaverde J, Maqueda C (2008)). Los HAP emitidos a la atmósfera por diversas actividades antrópicas pueden estar presentes en la fase gaseosa o asociados a partículas y a través de las corrientes de aire se favorece su dispersión a grandes distancias, por lo que se han detectado en agua y suelo en sitios alejados de la fuente que los generó (Agarwal 2009).

Las propiedades físicas y químicas de los HAP de bajo peso molecular (dos a tres anillos aromáticos) hacen de ellos candidatos ideales para su dispersión a través de la atmósfera Daly GL, Lei YD, Castillo LE, Muir DCG, Wania F (2007). En cambio los HAP de mayor peso molecular (cuatro a siete anillos aromáticos), tienen mayor afinidad por el material particulado como cenizas y con la materia orgánica del suelo siendo más persistentes en el ambiente (Ma L, Chu S, Cheng H, Wang X, Liu X, Xu X (2005); Cai QY, Mo CH, Wua QT, Katsoyiannis A, Zeng QY (2008)); Maliszewska et al. 2009). Los HAP se clasifican según su origen en: biogénico, petrogénico y pirogénico.

Los HAP biogénicos son producto de procesos metabólicos de organismos microscópicos entre estos las plantas y las termitas donde se ha comprobado que aportan al suelo, naftaleno y perileno (Wilcke et al. 2005). También provienen de la degradación de la materia orgánica en condiciones aerobias y anaerobias que según Wilcke (2007) son la fuente de HAP de 4, 5 y 6 anillos debido a que algunos son precursores del humus. Los HAP petrogénicos son derivados del petróleo, sus principales compuestos incluyen homólogos alquilados (con radicales) y no sustituidos (compuestos padre) de naftalenos, fluorenos, fenantrenos, dibenzotiofenos y crisenos (Johnsen & Karlson 2007), donde los homólogos alquilados son más abundantes que los compuestos padre.

Generalmente ingresan al ambiente en fase gaseosa (por evaporación-depositación) y en fase líquida (derrames de crudo) principalmente. Los HAP pirogénicos son producto de la combustión incompleta de todo material orgánico, incluyendo: hidrocarburos y carbón mineral.

De acuerdo con Thorsen et al. (2004) predominan los compuestos aromáticos padre de 3 y 5 anillos, tales como el antraceno y el benzopireno. Otros compuestos típicos son el fenantreno, pireno, benzoantraceno, crisenos y benzofluoranteno (Krauss et al. 2000; Wilcke 2007; Chrysikou et al. 2008). La combustión de materiales orgánicos se reconoce como la fuente principal de HAP en el ambiente (Thiele & Brummer 2002; Cram et al. 2004). Aunque esta clasificación es simple, no siempre resulta útil para discernir las fuentes de HAP en un sitio dado debido a que:

I) un mismo compuesto puede provenir de diferentes fuentes; II) dependiendo de la temperatura de combustión, duración del proceso, las condiciones de la flama (oxígeno) y del tipo de material orgánico se obtienen perfiles de HAP diferentes (Daly et al. 2007; Chryssikou et al. 2008) y III) una vez expuestos sufrirán procesos de transformación que dependerán de las características químicas de los compuestos y de las variables ambientales (Ma et al. 2005; Cai et al. 2008; Maliszewska et al. 2009, Ortiz et al. 2007).

### Materiales y Métodos

El enfoque del estudio es cuantitativo descriptivo experimental dado que se busca explicar cómo afecta la aplicación de los hidrocarburos en el tratamiento de aguas contaminadas y observar sus efectos sobre otras variables.

### Origen y toma de las muestras

Las muestras fueron tomadas de suelos contaminados con hidrocarburos en los alrededores de la Refinería Miguel Hidalgo, los cuales fueron conservados en frascos ámbar estériles y procesados dentro de las 24 h de su colecta/conservados en refrigeración.

### Métodos Teóricos

Los métodos utilizados fueron los descritos en las Normas Oficiales Mexicanas: Cuenta de mesofílicos aerobios (NOM-092-SSA1-1994), Determinación de pH en agua (NMX-AA-008-SCFI-2011), Determinación de OD en agua (NMX-AA-012-SCFI-2001) y para DQO el método EPA 5220 D; APHA, 1989.

### Adaptación y selección de cepas degradadoras de HPA

### Puesta en marcha del Sistema Bach

En esta etapa se utilizaron los siguientes materiales: muestreador para agua, mortero, tamiz del #8 y #15, contenedor de 5L, bomba para aireación, columna de acrílico, potenciómetro (HANNA, HI 8424), medidor de oxígeno disuelto (sesión 6, HACH), pipeta graduada 1ml (Pyrex), perilla, vaso de precipitado de 500ml, piseta, Equipo de protección personal (EPP), aceite quemado de carro. Y se siguió el siguiente procedimiento:

### Preparación del primer inóculo

1. Se molió y tamizó el suelo. Se añadieron 3 litros de agua de la llave y se agitaron por 5 horas.
2. Se mezcló con agua residual sin tratamiento de la Universidad Tecnológica de Tula Tpeji

### Instalación del Sistema Bach

- A) Se instaló sistema Bach, utilizando una columna de acrílico resistente a cualquier temperatura, sustancia o reactivo, al igual que apta para instalación de bomba de aireación.
- B) Se agregaron 3 litros del primer inóculo y 2 litros de agua residual sin tratamiento del sistema de drenaje de la UTTT y se añaden 0.5ml de aceite quemado. Se alimenta el sistema cada 24hr. Para ello se deja sedimentar por espacio de 1hr

Diagrama 1. Instalación y Monitoreo del Sistema Bach

Fuente: Elaboración propia

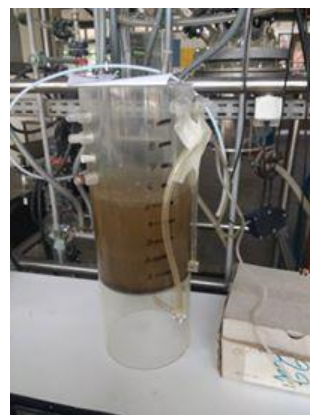
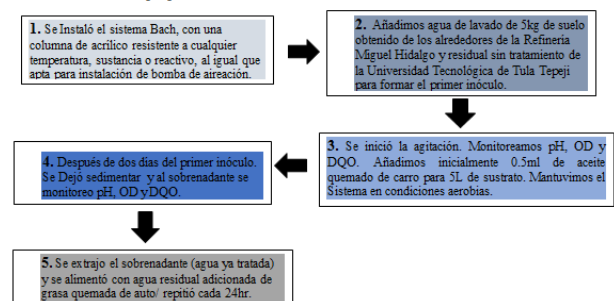
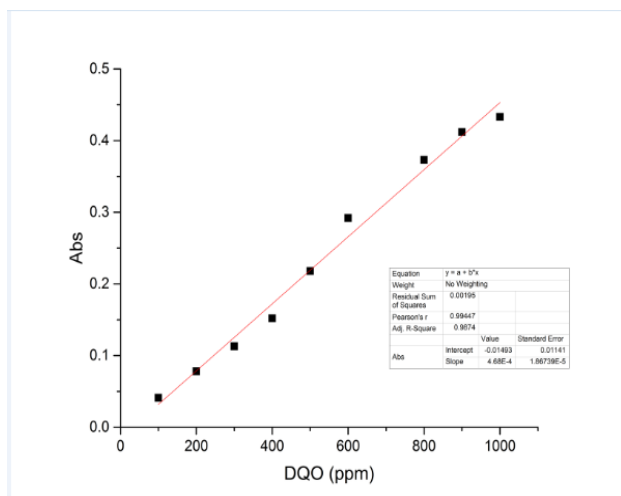


Figura 1 Sistema Bach instalado

**Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)**

Se utilizaron tubos de vidrio con tapón de teflón, a los cuales se le agregaron 2.5ml de muestra, 1.5ml de solución digestora (10.216g de K2Cr2O7+33.3 HgSO4 y 167ml deH2SO4) y 3.5ml de solución de ácido sulfúrico (10.142g de Ag2SO4 de H2SO4), una vez preparadas las muestras se digieren dentro de un bloque de calentamiento a 150°C durante 2horas. Posteriormente, dejar enfriar las muestras a temperatura ambiente y se lee la absorbancia a 600nm. (EPA 5220 D; APHA, 1989). Los valores de DQO se obtienen a partir de una curva de calibración realizada con biftalato de potasio (0-681mg/l, equivalentes a 0-800mgO2/l). (Ver Gráfica 1).



**Gráfica 1** Curva de Calibración para DQO, proyecto: Adaptation of a microbial population to HPA (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) in a Bach system  
Fuente: *Elaboración Propia*

A partir de la gráfica se definió la formula para determinar la concentración en donde:

$$X = Y + 0.01493 = \text{mgO}_2/\text{l}$$

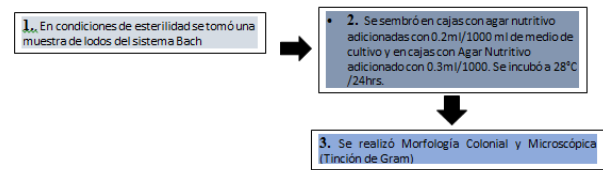
$$4.68 \times 10^{-4}$$

**Análisis microbiológico. Aislamiento de microorganismos en el lodo del sistema Bach por el método de estría cruzada**

Materiales: cajas Petri de vidrio o desechables estériles, Agar Nutritivo, balanza granataria, espátula, vidrio de reloj, pipetas graduadas de 1ml y 5ml, autoclave, perilla, frasco de vidrio, mechero bunsen, 2 matraces Erlenmeyer de 250ml, varilla de vidrio o agitador, frasco de vidrio para toma de muestra.

**Diagrama 2. Análisis Microbiológico del Sistema Bach**

Fuente: *Elaboración propia*



**Resultados**

**Comportamiento del pH y del OD**

Como podemos observar en la tabla 1, el pH del sistema Bach antes del tratamiento fluctúa entre 7-10, por lo que el agua que estamos tratando va de ligeramente alcalina a alcalina. No se implementó regulación de pH debido a que se pretenden aislar las bacterias autóctonas del suelo contaminado con hidrocarburos. En la tabla 1, observamos que el comportamiento en cuanto a pH se mantiene aún y cuando ya se encuentra activo el metabolismo microbiano, por lo que estamos obteniendo microorganismos alcalófilos.

En cuanto al OD (ver tabla 1), observamos una mejora en la disolución del mismo: el agua sin tratamiento se disuelve menos oxígeno (por debajo de 4.5mg/l), con respecto al agua ya tratada (por arriba de 4.5mg/l).

Fecha	pH (agua sin tratamiento)	pH (Agua tratada)	OD (mg/l)	OD (mg/l)
02/07/2018	8.14	8.08	4.1	4.6
03/07/2018	8.22	8.14	5.1	6.12
06/07/2018	8.96	8.75	1.06	9.8
09/07/2018	8.10	7.79	0.5	5.5
10/07/2018	7.97	7.12	4.5	4.8
12/07/2018	10.42	9.81	1.8	4.8
16/07/2018	8.96	9.15	3.1	4.8

**Tabla 1** Monitoreo de pH y OD del Sistema Bach  
Fuente: *Elaboración Propia*

**Seguimiento de DQO**

En la tabla 2, podemos observar la adaptación del consorcio microbiano lo cual comprueba nuestra hipótesis de trabajo ya que en los primeros días se observa poca o nula disminución de la DQO, en la segunda semana de adaptación la disminución va en un rango de 100mgO2/l por cada 24hr sin embargo éstos fueron signos de que el microorganismo se encontraba en la fase lag e iniciaban ya, algunas cepas su transición a la fase logarítmica (fase log), para finalmente obtener en promedio una disminución de 394mgO2/l (ver tabla 3), que nos indica que gran parte de los microorganismos adaptados pasaron de fase lag a fase log.

Con lo que pudimos aceptar y confirmar nuestra hipótesis relacional ya que el resultado no depende de la acción de un microorganismo aislado sino de la acción conjunta del consorcio microbiano que en su conjunto llegan a realizar sinergia en la adaptación y así cada vez realizar la disminución de la DQO de manera más eficiente.

Se realizará la identificación de género y especie por métodos moleculares.

Fecha	Numero de muestra	Muestra	Numero de tubos	Absorbancia	Concentración mgO <sub>2</sub> /l
19/06/18	4	Antes de tratar	1a	0.206a	759.18a
			2a	0.421a	1218.36a
			3a	0.206a	759.18a
			Promedio=	0.277a	912.31a
20/06/18	5a	Después de tratar	1a	0.126a	301.92a
			2a	0.244a	640.38a
			3a	0.215a	513.71a
			Promedio=	0.251a	855.3a
21/06/18	10a	Antes de tratar	1a	0.189a	690.12a
			2a	0.282a	921.36a
			3a	0.250a	833.20a
			Promedio=	0.233a	818.3a
25/06/18	11a	Después de tratar	1a	0.141a	620.29a
			2a	0.172a	601.06a
			3a	0	0
			Promedio=	0	610.6a
25/06/18	12a	Antes de tratar	1a	0.315a	992.09a
			2a	0.480a	1344.85a
			3a	0	0
			Promedio=	0.350a	1066.88a
26/06/18	13a	Después de tratar	1a	0.225a	799.78a
			2a	0.238a	870.29a
			3a	0.244a	840.38a
			Promedio=	0.277a	836.81a
20/07/18	12a	Antes de tratar	1a	0.215a	619a
			2a	0.294a	802a
			3a	0.271a	621a
			Promedio=	0	614a
20/07/18	13a	Después de tratar	1a	0.199a	457a
			2a	0.214a	494a
			3a	0	0
			Promedio=	0	475a

**Tabla 2** Promedios de Concentración de DQO antes y después del tratamiento  
Fuente: Elaboración Propia

Muestra	Concentración
Agua Sin tratamiento	869mgO <sub>2</sub> /l
Agua tratada	375mgO <sub>2</sub> /l

**Tabla 3** Media estadística de muestras tomadas del 18 de junio al 18 de julio de DQO  
Fuente: Elaboración Propia

**Cultivo y aislamiento de Microorganismos a partir del lodo**

En la Figura 2, podemos observar que al realizar la siembra en cajas de agar nutritivo adicionado con la misma concentración de grasa que en el sistema Bach y al incubarlas a temperatura 28°C, se aislaron por el método de estría cruzada 5 colonias diferenciadas por morfología colonial (ver tabla 4), que al realizar su morfología microscópica encontramos: colonia 1: Bacilos largos Gram positivos. Colonia 2: Bacilos cortos Gram positivos y Colonia 3: Bacilos largos Gram positivos. Colonia 4: Bacilos cortos gram negativos y Colonia 5: Bacilos cortos gram negativos.

Parámetro/No. De colonia	1	2	3	4	5
Tamaño	puntiforme	4mm	3mm	2mm	4mm
Color	crema	Café claro	crema	naranja	crema
Forma	circular	irregular	circular	circular	irregular
Elevación	convexa	plana	convexa	convexa	plana
Superficie	lisa	lisa	lisa	lisa	lisa
Aspecto	húmedo	seco	húmedo	seco	húmedo
Bordes	enteros	lobulados	enteros	enteros	irregulares
Luz Transmitida	traslucida	opaca	traslucida	opaca	traslucida
Luz Reflejada	brillante	mate	brillante	mate	brillante
Consistencia	friable	butirosa	butirosa		

**Tabla 4** Análisis microbiológico. Aislamiento de microorganismos en el lodo del sistema Bach por el método de estría cruzada  
Fuente: Elaboración Propia



**Figura 2** Crecimiento en cajas de Petri, Agar Nutritivo adicionado con grasa quemada de hidrocarburo a la izquierda caja con 0.2ml/1000ml y lado derecho caja con 0.3ml/1000ml  
Fuente: Elaboración Propia

Fotografía 3 Colonia 1	Fotografía 4 Colonia 2	Fotografía 5 Colonia 3
Bacilos largos Gram positivos. Microscopio óptico objetivo 100x	Bacilos cortos Gram positivos. Microscopio óptico objetivo 100x	Bacilos largos Gram positivos. Microscopio óptico objetivo 100x
Fotografía 6 Colonia 4	Fotografía 7 Colonia 5	
Bacilos cortos Gram negativos. Microscopio óptico objetivo 100x	Bacilos cortos Gram negativos. Microscopio óptico objetivo 100x	

**Tabla 5** Morfología Microscópica  
Fuente: Elaboración Propia

## Conclusiones

Podemos concluir de acuerdo al alcance del proyecto lo siguiente:

- Se cumplió con el objetivo ya que se adaptó una población microbiana capaz de biodegradar hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA).
- Se confirmó nuestra hipótesis ya que los microorganismos se encuentran biodegradando los HPA en el Sistema Bach, ya que disminuyen la DQO de 869mgO<sub>2</sub>/l a 375mgO<sub>2</sub>/l.
- Se obtuvo un consorcio microbiano a partir de una muestra de suelo contaminado con hidrocarburo de los alrededores de la Refinería Miguel Hidalgo ubicada en Tula de Allende Hidalgo.
- Los microorganismos aislados se encuentran activos metabólicamente hablando ya que la DQO disminuye a razón de 494mgO<sub>2</sub>/l en 24hr y una mejora en el OD.
- Hasta el momento se han aislado 5 tipos de microorganismos diferentes que crecen en medios de cultivos neutros y alcalinos con concentración de 0.3ml de hidrocarburo por litro de medio. Los microorganismos aislados son: Colonia 1: Bacilos largos Gram positivos. Colonia 2: Bacilos cortos Gram positivos y Colonia 3: Bacilos largos Gram positivos, Colonias 4 y 5 son Bacilos cortos Gram negativos.
- El contar con microorganismos aislados oriundos del suelo específicamente de la región nos permitirá realizar diferentes pruebas de tratamiento tanto para agua como para suelos.

## Referencias

Amann R.I., Ludwig W. and Schleifer K.H. (1995). Phylogenetic Identification and in situ Detection of Individual Microbial Cells without Cultivation. *Microbiology Review*. 59, 143.

Agarwal, T. (2009) Concentration level, pattern and toxic potential of PAHs in traffic soil of Delhi, India, *Journal of Hazardous Materials*, 171, 894-900.

Aronson D, Citra M., Shules K., Printup H. y Howard P., (1999). Aerobic biodegradation of organic chemicals in environmental media: A summary of field and laboratory studies, Final Report, *US Environmental Protection Agency*.

Chavan A. y Mukherji S. (2008). Treatment of hydrocarbon-rich wastewater using oil degrading bacteria and phototrophic microorganisms in rotating biological contactor, Effect of N:P ratio, *Journal of Hazardous Materials*, 154, 63-72.

Daly GL, Lei YD, Castillo LE, Muir DCG, Wania F. (2007). Polycyclic aromatic hydrocarbons in Costa Rican air and soil: A tropical/temperate comparison. *Atmospheric Environment*. 41, 7339-7350

Delong E.F. (2004). Microbial population genomics and ecology: the road ahead. *Environ. Microbiol.* 6, 875.

Dettmer, Jorge G. (2002). Educación y desastres: reflexiones sobre el caso de México. *Red Revista Latinoamericana de Estudios Educativos*. 32, (2).

Dua M., Singh A., Sethunathan N. y Johri A. K. (2002), Biotechnology and bioremediation: successes and limitations, *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 59,143-152.

EPA. (1981). Manual for analytical quality control for pesticides and related compounds in human and environmental samples. *United States Environmental Protection Agency Second revision*. EPA-600/2, 81-059.

Flores R., Alejandrina C., y G. Torres L. (2007). Sub-soil contamination due to oil spills in zones surrounding oil pipeline-pump stations and oil pipeline right-of-ways in zones surrounding oil. *Environ Monit Asses* 133(1-3), 387-98  
Recueprado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17286169>

Head I.M., Saunders J.R. and Pickup R.W. (1998). Microbial evolution, diversity and ecology: a decade of ribosomal RNA analysis of uncultivated microorganisms. *Microb. Ecol.* 35, 1.

- Instituto Nacional de Ecología, (2002), Tecnologías de remediación para suelos contaminados, México Recuperado de: [https://www.researchgate.net/publication/31851896\\_Tecnologias\\_de\\_remediacion\\_para\\_suelos\\_contaminados\\_T\\_Volke\\_Sepulveda\\_JA\\_Velasco\\_Trejo](https://www.researchgate.net/publication/31851896_Tecnologias_de_remediacion_para_suelos_contaminados_T_Volke_Sepulveda_JA_Velasco_Trejo).
- Johnsen AR, Karlson U. (2007). Diffuse PAH contamination of surface soils: environmental occurrence, bioavailability, and microbial degradation. *Appl Microbiol Biotechnology*. 76, 533-543.
- Krauss M, Wilcke W, Zech W. (2000). Polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in forest soils: Depth distribution as indicator of different fate. *Environmental Pollution*. 110, 79-88.
- López de Mesa B., Quintero J., Junio. (2006). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo, *PUBLICACIÓN CIENTÍFICA ISSN. VOL.4*, 1794-2470.
- Ma L, Chu S, Cheng H, Wang X, Liu X, Xu X. (2005). Polycyclic aromatic hydrocarbons contamination in subsoil from outskirts of Beijing, People's Republic of China. *Geoderma*. 129, 200-210.
- Maliszewska BK, Smreczak B, Klimkiewicz A. (2009). Concentrations, sources, and spatial distribution of individual polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soils in the Eastern part of the EU: Poland as a case study. *Science of Total Environment*. 407, 3746-3753.
- Moeller, G., Tomasini Ortiz A., 2004, Microbiología de Lodos Activados, *IDEAM*. Recuperado de: [documentacion.ideam.gov.co/.../MEMORIAS2004/.../5Microbiologiadelodosactivado](http://documentacion.ideam.gov.co/.../MEMORIAS2004/.../5Microbiologiadelodosactivado)
- Mora de la Mora, Gabriela de la. (2012). Instalación de refinerías en la región de Tula en Hidalgo: análisis desde la modernidad. *Estudios sociales (Hermosillo, Son.)*, 20(40), 181-210. Recuperado en 02 de agosto de 2018, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-45572012000200007&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-45572012000200007&lng=es&tlng=es).
- Navarro V. (2009). Los desastres en su interacción con la ciencia, la tecnología y la sociedad. *MediSur, revista electrónica*. Vol. 4, No. 2.
- NOM-138-SEMARNAT/SS-2003. Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 que establece los límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación. Diario Oficial de la Federación. 29/marzo/2005.
- Olivera Villaseñor, R. & Rodríguez A. (2005). Estudio del riesgo en ductos de transporte de gasolina y diesel en México. *Científica*, 9(4).
- Olivera Villaseñor, R., & Rodríguez, A. (2007). Evaluación mecánica y consecuencias de falla por toma clandestina en ductos de Petróleos Mexicanos. *Científica*. 11(1), 41-49.
- Ortiz, E., Núñez, R., Fonseca, E., Oramas, J., Almazán, V., Cabranes, Y., & Borges, G. (2005). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. *Revista Contribución a la Educación y la Protección del Medio Ambiente*. (6). 51-60
- Pérez Silva, R., & Camacho Pozo, M., & Gómez Montes de Oca, J., & Ábalos Rodríguez, A., & Viñas, M., & Cantero Moreno, D. (2008). Aislamiento y selección de una cepa bacteriana degradadora de hidrocarburos a partir de suelos contaminados con petróleo. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*. 39 (1), 44-51.
- Petit K; Colina J.; Yegres F.; Moran G., et Alt. Diciembre. (2013). Biodegradación de hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA) por hongos aislados de aguas contaminadas con petróleo, podredumbre blanca, y acíbar de Aloe vera. *Química Viva*. Vol. 12, núm. 3. pp. 288-304.
- Piñeiro, D. (2001). Población y trabajadores en el contexto de transformaciones agrarias. In: Giarraca, N. (comp) ¿Una nueva ruralidad en América Latina? *Consejo Latinoamericano de Ciencias Sociales, Buenos Aires, Argentina*. 200 p.



Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2006). Manual de Agua Potable, Alcantarillado y Saneamiento Operación y Mantenimiento de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Municipales: Lodos Activados D.R. *Libro 51* Recuperado de: [aneas.com.mx/wpcontent/uploads/2016/04/SG-APDS-1-15-Libro51.pdf](http://aneas.com.mx/wpcontent/uploads/2016/04/SG-APDS-1-15-Libro51.pdf).

Southwest-Mexico. *Environmental Monitoring Assess, Vol. 133*.

Thiele S, Brummer GW. (2002). Bioformation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil under oxygen deficient conditions. *Soil Biology Biochemistry*. 34, 733-735.

Thorsen W, Cope WG, Shea D. (2004). Bioavailability of PAHs: Effects of soot carbon and PAH source. *Environmental Science & Technology*. 38, 2029-2037.

Torvisk V., Ovreas L. and Thingstad T.F. (2003). Prokaryotic Diversity- Magnitude, Dynamics and controlling Factors. *Science*, 296, 1064.

Wilcke W, Krauss M, Safronov G, Fokin AD, Kaupenjohann M. (2005). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils of the Moscow Region - Concentrations, temporal trends and small scale distribution. *Journal of Environmental Quality*. 34(5), 1581-1590.

Wilcke W (2007) Global patterns of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil. *Geoderma*. 141, 157-166.

Zhang HB, Luo YM, Wong MH, Zhao QG, Zhang GL. (2006). Distributions and concentrations of PAHs in Hong Kong soils. *Environmental Pollution*. 14(1), 107-114