



**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



Instituto Tecnológico de Boca del Río

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

SERETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE BOCA DEL RIO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**“BIORREACTORES COMO ALTERNATIVA DE REMEDIACIÓN  
DE HIDROCARBUROS EN AGUA DEL RIO BITZAL, TABASCO”**

**TESIS**

QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN  
CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL

PRESENTA

**Ing. Angel de Jesús Isidoro Pio**

DIRECTOR:

María del Refugio Castañeda Chávez

CO-DIRECTOR:

Manuel Alejandro Lizardi Jiménez

ASESOR:

Fabiola Lango Reynoso

FEBRERO, 2020

BOCA DEL RÍO, VERACRUZ



Km. 12 Carretera Veracruz-Córdoba C.P.94290  
Boca del Río, Veracruz. Tel. (229) 690-5010 e-mail: dir01\_bdelrio@tecnm.mx  
www.tecnm.mx | www.bdelrio.tecnm.mx



"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

### ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

**Número Registro A-0715-130818**

En la ciudad de Boca del Río, Ver., siendo las 12:00 horas del día 9 del mes de enero de 2020 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Consejo del Posgrado de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental del ITBOCA, para examinar la Tesis de Grado titulada:

**"BIORREACTORES COMO ALTERNATIVA DE REMEDIACIÓN DE HIDROCARBUROS EN AGUA DEL RIO BITZAL, TABASCO"**

Que presenta el (la) alumno(a):

**ING. ANGEL DE JESÚS ISIDORO PIO**  
Aspirante al Grado de:

**Maestro en Ciencias en Ingeniería Ambiental**

Después de escuchar las opiniones sobre el documento escrito e intercambiar puntos de vista, los miembros de la Comisión manifestaron SU APROBACIÓN, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes para su defensa ante el jurado correspondiente.

LA COMISIÓN REVISORA:



\_\_\_\_\_  
Dra. María del Refugio Castañeda Chávez  
Director



\_\_\_\_\_  
Dr. Manuel Alejandro Lizardi Jiménez  
Codirector



\_\_\_\_\_  
Dra. Fabiola Lango Reynoso  
Asesor



\_\_\_\_\_  
Dr. Jesús Montoya Mendoza  
Asesor



"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Boca del Río, Ver., **17/febrero/2020**

ASUNTO: AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

**ING. ANGEL DE JESÚS ISIDORO PIO  
PASANTE DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL  
PRESENTE**

De acuerdo con el fallo emitido por los integrantes del Comité Revisor de la TESIS PARA OBTENCIÓN DE GRADO, desarrollada por usted cuyo título es:

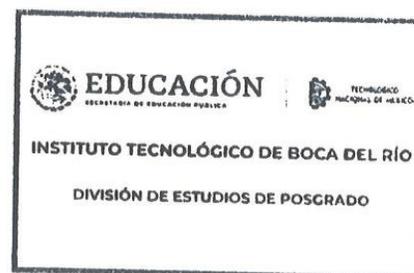
**"BIORREACTORES COMO ALTERNATIVA DE REMEDIACIÓN DE HIDROCARBUROS EN AGUA DEL RIO BITZAL, TABASCO"**

Esta División de Estudios de Posgrado e Investigación le concede **AUTORIZACIÓN** para que proceda a su impresión.

**ATENTAMENTE**

*Excelencia en Educación Tecnológica  
Por nuestros mares responderemos*

**M. C. ANA LETICIA PLATAS PINOS  
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS  
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**



c.c.p. Coordinación de la Maestría  
c.c.p. Expediente



La Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental del Instituto Tecnológico de Boca del Río está incluida en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACyT con la referencia 005071.

La presente tesis fue financiada por el Tecnológico Nacional de México por el proyecto de investigación: Análisis de metales pesados e hidrocarburos del río Bitzal. Con el código 5910.19-P.

También se agradece al proyecto del Fondo de Apoyo a la Investigación (FAI) 2019 de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP): Contaminación por hidrocarburos en cuerpos de agua de San Luis Potosí: biorreactores como alternativa de remediación con el convenio C19-FAI-05-49.49.

*“Nunca olvides lo que eres, porque desde luego el mundo nunca lo olvidará. Conviértelo en tu mejor arma, así nunca será tu punto débil. Úsalo como armadura y nadie podrá lastimarte”*

- *George R.R. Martín*

## *Dedicatorias*

*A Dios por darme salud.*

*A mi familia que es mi todo. Mi madre Catalina que es el motor de mi vida. Mi padre Angel que ha sido mi fuerza. Mi hermano Carlos que ha sido mi apoyo. A mi familia que me ha enseñado lo que es luchar duro y sacrificarse para lograr lo que anhelamos. Todo el esfuerzo es por ellos y para ellos.*

## *Agradecimientos*

Al CONACYT por su apoyo de la beca recibida durante mi formación profesional a través del programa Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental con registro en PNPC como posgrado de calidad.

Al Tecnológico Nacional de México / Instituto Tecnológico de Boca del Río por la formación dentro de sus instalaciones y por el apoyo al proyecto de investigación: Análisis de metales pesados e hidrocarburos del río Bitzal. Con el código 5910.19-P.

Al proyecto del Fondo de Apoyo a la Investigación (FAI) 2019 de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP): Contaminación por hidrocarburos en cuerpos de agua de San Luis Potosí: biorreactores como alternativa de remediación con el convenio C19-FAI-05-49.49.

Al Instituto Tecnológico Superior de Tierra Blanca por su recibimiento dentro de sus instalaciones y su préstamo del cromatógrafo de gases.

A la Universidad Autónoma de San Luis Potosí por su recibimiento dentro de sus instalaciones para realizar la estancia académica.

A mi comité académico. La Dra. María del Refugio Castañeda Chávez por su confianza y apoyo. Al Dr. Manuel Alejandro Lizardi Jiménez por su disciplina y sus retos. A la Dra. Fabiola Lango Reynoso por su asesoramiento.

A mis compañeros de posgrado generación: enero 2018 – febrero 2020 por ser los mejores amigos que pude encontrar, sus consejos, sus risas, pero sobre todo por su apoyo a lo largo de este camino.

Al grupo de trabajo del Dr. Lizardi. A la MC. Leticia Narciso y al MC. Elber Sandoval por su ayuda y paciencia, por su amistad.

# ÍNDICE

ABSTRACT .....	i
RESUMEN.....	ii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES .....	2
2.1. Ecosistemas acuáticos de agua dulce.....	2
2.2. Contaminación en agua .....	3
2.4. Contaminación por hidrocarburos en México.....	6
2.5. Contingencia en las aguas del río Bitzal .....	7
2.6. Tecnologías para la remediación de la contaminación por hidrocarburos.....	8
2.7. Tipos de remediación.....	9
2.8. Consorcios microbianos .....	11
2.9. Biorreactor .....	12
3. JUSTIFICACIÓN .....	13
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	14
5. HIPÓTESIS .....	15
6. OBJETIVOS .....	16
OBJETIVO GENERAL.....	16
OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	16
7. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL .....	¡Error! Marcador no definido.
7.1. Fase de muestreo y determinación de hidrocarburos .....	18
7.1.1. Área de Estudio.....	18
7.1.2. Selección de los puntos de muestreo y geoposicionamiento. ....	18
7.1.3. Recolección de las muestras.....	19
7.1.4. Análisis de los parámetros básicos del agua, pH, temperatura, salinidad.....	20
7.1.5. Determinación de hidrocarburos .....	20
7.2. Fase del acondicionamiento del Biorreactor por columna de burbuja .....	21
7.2.1. Revisión Bibliográfica.....	21
7.2.2. Evaluación del diseño. ....	21
7.2.3. Consorcio microbiano .....	21
7.2.4. Selección de la fuente de carbono .....	21
7.2.5. Cálculos .....	22
7.2.5. Inoculación .....	22
7.3. Fase de evaluación de cinéticas.....	22

7.3.1. Tomas de muestras de los biorreactores .....	22
7.3.2. Técnicas y análisis de biorreactores .....	22
7.3.2.1. Centrifugación .....	22
7.3.2.2. Fase sólida .....	23
7.3.2.3. Densidad óptica.....	23
7.3.2.4. Gravimetría.....	23
7.3.2.7. Consumo de Hidrocarburos .....	24
7.3.3. Análisis matemático .....	24
<b>8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>26</b>
<b>8.1. Fase de muestreo e identificación de hidrocarburos.....</b>	<b>26</b>
8.1.1. Determinación de parámetros fisicoquímicos .....	26
8.1.2. Determinación de hidrocarburos .....	27
<b>8.2. Acondicionamiento del Biorreactor por columna de burbuja.....</b>	<b>30</b>
8.2.1. Recopilación bibliográfica .....	30
8.2.2. Selección del material del Biorreactor .....	30
8.2.3. Selección de la fuente de carbono .....	31
8.2.4. Inoculación .....	32
<b>8.3. FASE DE EVALUACIÓN DE CINÉTICAS .....</b>	<b>32</b>
8.3.1. Evaluación de los parámetros hidrocarbonoclasta usando diésel como fuente de carbono. LOTE A.....	32
8.3.2. Evaluación de los parámetros usando petróleo crudo maya como fuente de carbono. LOTE A.....	40
8.3.3. Evaluación de los parámetros hidrocarbonoclasta usando diésel como fuente de carbono. LOTE B.....	48
8.3.4. Evaluación de los parámetros hidrocarbonoclasta usando petróleo crudo maya como fuente de carbono. LOTE B. ....	53
8.3.5. Evaluación de los parámetros hidrocarbonoclasta usando diésel como fuente de carbono. LOTE C.....	57
8.3.6. Evaluación de los parámetros hidrocarbonoclasta usando petróleo crudo maya como fuente de carbono. LOTE C. ....	62
<b>9. CONCLUSIONES .....</b>	<b>68</b>
FASE 1.....	68
FASE 2.....	68
FASE 3.....	68
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>70</b>

# ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Tipos de contaminación del agua.....	4
<b>Figura 2.</b> Manatíes muertos en aguas del río Bitzal, Tabasco. (Foto propia). ....	8
<b>Figura 3.</b> Tipos de tratamientos de remediación de contaminación. Modificado de Volke & Velasco, 2002. ....	10
<b>Figura 4.</b> Estructura básica de un biorreactor por columna de burbuja. ....	12
<b>Figura 5.</b> Mapa que muestra la localización del río Bitzal en Tabasco. Extraído de Google Maps	18
<b>Figura 6.</b> Estaciones de muestreo .....	19
<b>Figura 7.</b> Dimensiones del biorreactor por columna de burbuja empleado en la degradación de hidrocarburos.....	31
<b>Figura 8.</b> Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo residual total y actividad emulsificante. Las barras de error indican que todos los análisis se realizaron por triplicado. En la ordenada de la izquierda se indica el crecimiento microbiano y el consumo de hidrocarburos. En la ordenada de la derecha se muestra la actividad emulsificante. ....	36
<b>Figura 9.</b> Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando agua de mar y diésel como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En la ordenada derecha se muestra la actividad emulsificante. ....	39
<b>Figura 10.</b> Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando medio mineral y petróleo crudo maya como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En la ordenada derecha se observan el consumo de hidrocarburos y el crecimiento microbiano y en la ordenada izquierda se observa la actividad emulsificante. ....	43
<b>Figura 11.</b> Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando agua de mar y petróleo crudo mayal como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En la ordenada derecha se observan el consumo de hidrocarburos y el crecimiento microbiano, en la ordenada izquierda se observa la actividad emulsificante. ....	47
<b>Figura 12.</b> Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando medio mineral y diésel como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En la ordenada derecha se observa el consumo de hidrocarburo y el crecimiento microbiano, en la ordenada izquierda se muestra la actividad emulsificante.....	50
<b>Figura 13.</b> Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando medio agua de mar y diésel como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En la ordenada derecha se muestran el consumo de hidrocarburos y el crecimiento microbiano, en la ordenada izquierda la actividad emulsificante.....	52
<b>Figura 14.</b> Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando medio mineral y petróleo crudo maya como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En la ordenada derecha se muestran petróleo crudo maya, ordenada izquierda de actividad emulsificante. ....	54

<b>Figura 15.</b> Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando agua de mar y petróleo crudo maya como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En las ordenadas de la derecha se observan el consumo de hidrocarburos y el crecimiento microbiana. En las ordenadas de la izquierda se observa la unidad emulsificante. ....	56
<b>Figura 16.</b> Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando medio mineral y diésel como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En la ordenada de la derecha se observan el diésel y el crecimiento microbiano. En la ordenada de la izquierda se observa la actividad emulsificante.....	59
<b>Figura 17.</b> Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando medio mineral y diésel como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En la ordenada de la derecha se muestra el consumo de hidrocarburos y el crecimiento microbiano. En la ordenada de la izquierda se observa la actividad emulsificante.....	61
<b>Figura 18.</b> Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando medio mineral y diésel como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En la ordenada de la derecha se presentan el consumo de hidrocarburo y el crecimiento microbiano. En el eje de las ordenadas izquierda se muestra la actividad emulsificante. ....	64
<b>Figura 19.</b> Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando agua de mar y petróleo como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En la ordenada de la ordenada de la derecha se muestran el consumo de hidrocarburos y el crecimiento de biomasa. En la ordenada de la izquierda se muestra la actividad emulsificante.....	66

# ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Ecosistemas acuáticos.....	2
<b>Tabla 2.</b> Clasificación de las técnicas de remediación.....	9
<b>Tabla 3.</b> Puntos de muestreo con sus respectivas coordenadas. ....	20
<b>Tabla 4.</b> Parámetros fisicoquímicos obtenidos en las muestras de agua recolectadas. ....	26
<b>Tabla 5.</b> Concentraciones más altas por fracción para cada estación de muestreo. En el lado izquierdo se muestran las concentraciones más altas para las fracciones de hidrocarburos. (HFL= hidrocarburos fracción ligera, HFM= hidrocarburos de fracción media, HFP= hidrocarburos fracción pesada).....	28
<b>Tabla 6.</b> Concentraciones promedios de los hidrocarburos encontrados. ....	29
<b>Tabla 7.</b> Valores de $R^2$ del ajuste de modelos matemáticos a los datos experimentales durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono en medio mineral. El símbolo – indica un valor de $R^2$ menor a 0.5.....	33
<b>Tabla 8.</b> Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono y medio mineral.....	36
<b>Tabla 9.</b> Valores de $R^2$ del ajuste de modelos matemáticos a los datos experimentales durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono en agua de mar. El símbolo – indica un valor de $R^2$ menor a 0.5.....	37
<b>Tabla 10.</b> Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono y medio agua de mar.....	40
<b>Tabla 11.</b> Valores de $R^2$ del ajuste de modelos matemáticos a los datos experimentales durante el periodo de trabajo usando petróleo crudo maya como fuente de carbono en medio mineral. El símbolo – indica un valor de $R^2$ menor a 0.5. ....	40
<b>Tabla 12.</b> Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando petróleo crudo maya como fuente de carbono y medio mineral. ....	44
<b>Tabla 13.</b> Valores de $R^2$ del ajuste de modelos matemáticos a los datos experimentales durante el periodo de trabajo usando petróleo crudo maya como fuente de carbono en agua de mar. El símbolo – indica un valor de $R^2$ menor a 0.5.....	44

<b>Tabla 14.</b> Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando petróleo crudo maya como fuente de carbono y agua de mar.....	47
<b>Tabla 15.</b> Valores de $R^2$ del ajuste de modelos matemáticos a los datos experimentales durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono en medio mineral. El símbolo – indica un valor de $R^2$ menor a 0.5.....	48
<b>Tabla 16.</b> Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono y medio mineral.....	50
<b>Tabla 17.</b> Valores de $R^2$ del ajuste de modelos matemáticos a los datos experimentales durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono en agua de mar. El símbolo – indica un valor de $R^2$ menor a 0.5. ....	51
<b>Tabla 18.</b> Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono y agua de mar. ....	52
<b>Tabla 19.</b> Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando petróleo crudo maya como fuente de carbono y medio mineral. ....	53
<b>Tabla 20.</b> Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono y medio mineral.....	55
<b>Tabla 21.</b> Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando petróleo crudo maya como fuente de carbono y agua de mar. El símbolo “-“indica el un valor de $R^2$ menor a 0.5. ....	55
<b>Tabla 22.</b> Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando petróleo crudo maya como fuente de carbono y agua de mar.....	57
<b>Tabla 23.</b> Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono y medio mineral. El símbolo “-“indica el un valor de $R^2$ menor a 0.5. ....	57
<b>Tabla 24.</b> Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono y medio mineral.....	59
<b>Tabla 25.</b> Tabla 19. Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono y agua de mar.. El símbolo “-“indica el un valor de $R^2$ menor a 0.5. ....	60
<b>Tabla 26.</b> Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono y agua de mar. ....	61

**Tabla 27.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando petróleo crudo maya como fuente de carbono y medio mineral. El símbolo “-” indica el un valor de  $R^2$  menor a 0.5. .... 62

**Tabla 28.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando petróleo l como fuente de carbono y medio mineral. .... 64

**Tabla 29.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando petróleo crudo maya como fuente de carbono y medio mineral. El símbolo “-” indica el un valor de  $R^2$  menor a 0.5..... 65

**Tabla 30.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando petróleo crudo maya como fuente de carbono y agua de mar..... 67

# ÍNDICE DE ECUACIONES

<b>Ecuación 1.</b> Modelo de Gompertz.....	32
<b>Ecuación 2.</b> Modelo logístico.....	32
<b>Ecuación 3.</b> Modelo de Von Bertalanffy.....	32
<b>Ecuación 4.</b> Logaritmo relativo del tamaño de la población con base al tiempo.....	32
<b>Ecuación 5.</b> Tasa específica de crecimiento máximo.....	32
<b>Ecuación 6.</b> Fase de tiempo lag.....	32
<b>Ecuación 7.</b> Tiempo de inflexión .....	33

# NOMENCLATURA

## General

AE: Actividad emulsificante.

BCB: Biorreactor por columna de burbuja.

BTEX: Benceno, tolueno, etilbenceno y xileno.

FC: Fuente de carbono.

FID: Detector de ionización de flama.

HAPs: Hidrocarburos aromáticos policíclicos.

SS: Sólidos suspendidos.

## Química

C: Carbono

Fe: Hierro

N: Normal

N<sub>2</sub>: Nitrógeno

CO<sub>2</sub>: Dióxido de carbono

HCl: Ácido clorhídrico

H<sub>2</sub>S: Ácido sulfhídrico

KOH: Hidróxido de potasio

NaCl: Cloruro de sodio

NaNO<sub>3</sub>: Nitrato de sodio

NO<sub>3</sub>: Nitrato

pH: Potencial de Hidrógeno

SO<sub>4</sub>: Sulfato

## Matemática

D: Diámetro

H: Altura

ln: Logaritmo natural

R<sup>2</sup>: Coeficiente de determinación

t<sub>i</sub>: Tiempo de inflexión

## Bioquímicos

λ: Fase lag

μ<sub>max</sub>: Tasa específica de crecimiento máxima

## ABSTRACT

This work focuses on hydrocarbons pollution evaluation in the Bitzal River, where more than 48 dead manatee bodies were found in an environmental contingency in 2018, and bioreactor design in order to remediate the type of hydrocarbons found. The main objective of this research is to propose a bioremediation alternative through the use of reactors. 16 compounds belonging to different hydrocarbon fractions were identified. Pentacene ( $24.26 \pm 0.09$ ), n-nonane ( $2.11 \pm 0.96$ ) and benzo [a] pyrene ( $1.39 \pm 0.57$ ) were the compounds with the highest concentration. Two culture medium: mineral medium and seawater were used. Diesel and Mayan crude oil were used for each culture medium, with a total of four bioreactors. Diesel as representative substrate of those light and medium fraction hydrocarbons, and Mayan crude oil as representative substrate of heavy fraction, recalcitrant and aromatic hydrocarbons. The maximum growth of suspended solids for diesel in mineral medium reached  $2.95 \text{ g L}^{-1}$  and diesel was completely consumed in 8 days. In seawater suspended solids for diesel reached  $2.70 \text{ g L}^{-1}$  and diesel was consumed in 12 days. For Mayan crude oil in mineral medium suspended solids increased from  $0.8 \text{ g L}^{-1}$  to  $2.406 \text{ g L}^{-1}$  and Mayan crude oil was completely consumed in 12 days. Using seawater, the Mayan crude oil also degraded in 12 days and its suspended solids growth reached  $2.11 \text{ g L}^{-1}$ . It was exposed that compounds that simulate complex mixtures of hydrocarbons from light to heavy fractions could be degraded, the use of bioreactors is an alternative to hydrocarbon pollution that occurs in Bitzal River.

## RESUMEN

Este trabajo se enfoca en los hidrocarburos como uno de los factores clave dentro de la contingencia ambiental ocurrida en el río Bitzal, donde fueron encontrados más de 48 cadáveres de manatíes. El objetivo principal de esta investigación fue determinar los hidrocarburos presentes en el río Bitzal y proponer una alternativa de biorremediación mediante el uso de reactores. Se identificaron 16 compuestos pertenecientes a distintas fracciones de hidrocarburos: Pentaceno ( $24.2656 \pm 5.0911$ ), n.-nonano ( $2.1184 \pm 0.9627$ ) y benzo[a]pireno ( $1.3978 \pm 0.5756$ ) fueron los compuestos con más alta concentración. Se cultivaron 4 reactores, usando como fuente de carbono, diésel como sustrato representativo de aquellos hidrocarburos de fracción ligera y media, y petróleo crudo maya como sustrato representativo de hidrocarburos de fracción pesada, recalcitrantes y aromáticos. Estos fueron cultivados en biorreactores por columna de burbuja usando medio mineral y agua de mar. Los sólidos suspendidos (SS) para el diésel en medio mineral fueron de  $0.8 \text{ g L}^{-1}$  a  $2.95 \text{ g L}^{-1}$  y se logró consumir el diésel en 8 días. En medio salino los resultados de ss fueron de  $2.7 \text{ g L}^{-1}$ , la degradación del diésel fue en 12 días. Para el petróleo en medio mineral los sólidos suspendidos incrementaron de  $0.8 \text{ g L}^{-1}$  a  $2.406$ , el petróleo fue consumido en el día 12. Usando agua de mar, el petróleo también se degradó en 12 días y sus sólidos suspendidos fueron de  $2.11 \text{ g L}^{-1}$ . Se demostró que se pudo degradar compuestos que simulan mezclas complejas de hidrocarburos desde fracciones ligeras hasta pesadas, el uso de biorreactores es una alternativa ante la contaminación de hidrocarburos que se presenta en el río Bitzal.

# 1. INTRODUCCIÓN

La actividad antropogénica ha hecho uso de diversas fuentes de energía con las cuales pueda satisfacer sus necesidades. Estas actividades han causado impactos negativos al medio ambiente. En los últimos años se incrementó el uso y mal manejo de recursos. La contaminación sobre ambientes marinos y acuáticos es de interés en la actualidad. Los contaminantes dañan el ambiente que rodea los cuerpos de agua y con ello las propiedades naturales del entorno, uno de los principales contaminantes que se vierte sobre el agua es el petróleo. El petróleo es un contaminante que debido a la mala gestión de su uso es comúnmente vertido sobre ríos, mares y lagos. Los combustibles al ser compuestos recalcitrantes hacen que su tiempo de degradación sea altamente nocivo y problemático para diferentes tipos de especies.

El Golfo de México es la ruta marítima óptima para el comercio y la industria petrolera. En aguas dulces también se han presentado contingencias ambientales debido al errático manejo de combustibles que van desde accidentes hasta actividades ilícitas que involucran el traslado de estos hidrocarburos, y como consecuencia de ello termina por impactar no solo la flora y la fauna, sino también a comunidades que están cerca de complejos, ductos o estaciones petroleras. Para esta investigación se estableció como zona de estudio el río Bitzal, que comunica diversas comunidades pesqueras como son Macuspana, Jonuta y Centla en el estado de Tabasco. Dicha área está constituida de lagos, humedales y manglares en los cuales habitan diferentes especies animales y vegetales. Se escogió esta zona debido a la contingencia ambiental a la cual se han sometido dichas aguas y son causa de una serie de problemas de carácter ambiental, social y sanitario.

En esta investigación no solo se evalúa una problemática real, sino además se propone una medida de biorremediación a través de la aplicación de biorreactores en los cuales se degraden los combustibles que puedan estar en el medio acuático. El trabajo cuenta con la metodología necesaria para las diferentes fases de esta investigación, así como las diferentes técnicas empleadas. Contiene una sección de resultados, análisis e interpretación de datos.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Ecosistemas acuáticos de agua dulce

Los ecosistemas acuáticos son todas aquellas aguas superficiales que se distribuyen en los continentes. Dentro de los ecosistemas acuáticos existen, de manera general, los sistemas lóticos y los lénticos (Sánchez *et al.*, 2007). La topografía de cada región, y la íntima relación entre la fuerza de gravedad de la tierra y el flujo del agua, determinan la ubicación y límites de las llamadas cuencas hidrológicas superficiales (Allen y Hoekstra., 1992). La clasificación de los sistemas acuáticos se presenta de la siguiente forma.

**Tabla 1.** Clasificación de los ecosistemas acuáticos

Tipos de ecosistemas acuáticos		Ejemplo
Interiores	Lóticos	Río, arroyo y petén
	Lénticos	Lagos, lagunas y humedales.
Costeros	Humedales	Marisma, estero, estuario.
	Sistemas de aguas profundas	Laguna costera y bahía
Marinos		Arrecifes

Elaborada a partir de Cervantes Muñoz (2005).

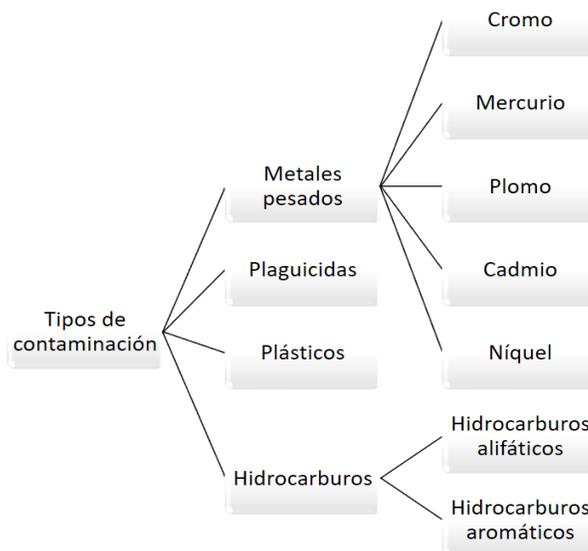
Las zonas costeras tienen una dinámica determinada por la interfase del continente, el océano y la atmósfera, en la que se encuentran diversos rasgos que conforman la línea de costa, como lagunas, estuarios, esteros, marismas, bahías, caletas, ensenadas, cenotes, aguadas y sartenejas, entre otros (Lara *et al.*, 2008). El agua dulce es agua en estado natural que forma parte del ciclo del agua – lluvia, lagos, ríos, agua subterránea (d'Ozouville, 2007). Los ecosistemas lénticos son ambientes donde el agua no fluye, sino que se queda estancada, su tamaño es variable y pueden ser lagos, estanques o charcas (agua.org.com.mx). El agua de los ecosistemas de agua dulce puede ser de lagos, o lagunas (Sánchez, 2007). Las aguas de

los lagos pueden ser navegables (Muñoz, 2015). Los sistemas lagunares son áreas de refugio, alimentación y reproducción para muchas especies de gran importancia (Castañeda *et al.*, 2014). Los ríos y arroyos de México constituyen una red hidrográfica de 633 mil kilómetros de longitud (agua.org.mx). Un río se define como una corriente natural de agua de flujo continuo y constante, dotado de caudal y velocidad (Campoblanco y Gomero, 2000). El agua de los ríos es la base para la acuicultura, riego, recreación, generación eléctrica e industrial, y parte importante del abastecimiento público (SEMARNAT, 2015). El tema del agua es un tema complejo y de interés colectivo, principalmente cuando las fuentes de agua, presentan condiciones preocupantes porque son sobreexplotados, se están contaminando y son apropiados por intereses particulares en desventaja para poblaciones asentadas en los territorios de interés económico (CNDH, 2018).

## **2.2. Contaminación en sistemas acuáticos**

La contaminación del agua es cualquier cambio físico o químico en ésta que puede afectar adversamente a los seres vivos (Valencia *et al.*, 2007). Los mares, ríos y lagos son ser utilizados como vertederos de diversos contaminantes (Jarquín *et al.*, 2015) como desecho de las actividades industriales, actividades domésticas, comerciales o agropecuarias (CONAGUA, 2016). Existen muchos compuestos que terminan en mares o ríos como los metales pesados, los plaguicidas, los plásticos o el petróleo (Botello, 2005). La contaminación del agua a través de actividades de producción en los diferentes sistemas acuáticos depende de la magnitud de contaminante (Landeros *et al.*, 2012). La contaminación en cuerpos de agua por metales pesados plantea una de las más severas problemáticas (Reyes *et al.*, 2016). La acumulación de metales pesados en las lagunas del Golfo de México, se debe a las descargas de actividades antrópicas y a procesos fisicoquímicos y ecofisiológicos (Lango *et al.*, 2010). Generalmente se producen como producto de contaminación de efluentes industriales metales (Tejeda *et al.*, 2014), estos son el cromo, níquel, cadmio, plomo y mercurio (Castañeda *et al.*, 2017). Los plaguicidas desembocan al agua por escurrimiento, infiltración y erosión de los suelos (Hernández y Hansen, 2011). Las actividades que contribuyen a contaminar las aguas subterráneas y superficiales suelen ser de carácter agronómico (Megchun *et al.*, 2019). La contaminación derivada del plástico produce daños

irreparables al planeta circunstancia que en la actualidad lejos de disminuir, se agudiza cada día. Se espera que para los próximos años exista más plástico que peces en el mar (Rojas, 2018). Las partículas de plástico son colonizadas por microorganismos, incluyendo patógenos, que alteran las cadenas tróficas, los ciclos de nutrientes y el equilibrio de los ecosistemas acuáticos. En la actualidad es posible encontrar plástico en el tracto digestivo del zooplancton y peces (Luque, 2019). El gran problema de muchos contaminantes persistentes en agua es el grado de eliminación o degradación pues muchos de estos contaminantes son altamente recalcitrantes (Ocaña *et al.*, 2003). Uno de los contaminantes que ocasiona constantes daños a ecosistemas acuáticos es el petróleo (Botello, 2005), que representan una problemática de contaminación a nivel mundial (Olguín *et al.*, 2007).



**Figura 1.** Tipos de contaminación del agua.

### 2.3. Contaminación del agua por hidrocarburos

Los hidrocarburos son compuestos orgánicos que contienen carbono e hidrógeno. El número de carbonos y su estructura química determina su clasificación (Hartley y Englande, 1992). Los hidrocarburos alifáticos son de cadena lineal o ramificada y pueden ser saturados (alcanos) o insaturados (alquenos y alquinos). Los hidrocarburos de cadenas cíclicas, pueden ser saturados (cicloalcanos) o con uno o más anillos bencénicos (aromáticos) (Morrison y Boyd 1985). Los principales componentes del petróleo son los hidrocarburos (compuestos

químicos que contienen únicamente hidrógeno y carbono), los cuales representan el 50-98% en relación a la composición total (Botello, 1995). Los alcanos son casi totalmente insolubles en agua debido a su baja polaridad y a su incapacidad para formar enlaces con el hidrógeno (Olguín *et al.*, 2007). Los hidrocarburos aromáticos son líquidos o sólidos a temperatura ambiente y sus puntos de ebullición están cercanos a los de los cicloalcanos correspondientes. Al igual que los hidrocarburos descritos anteriormente, los compuestos aromáticos son poco polares o no polares y por lo mismo, no se disuelven en agua. La unión de dos anillos bencénicos produce hidrocarburos poliaromáticos (Olguín *et al.*, 2007). En los últimos años la industria petrolera ha crecido de forma exponencial (Valdivia, 2019). El estudio de la contaminación por petróleo en los océanos mundiales y zonas costeras enfrenta dos aspectos opuestos de las actividades humanas: primero la alteración de los ecosistemas marinos y segundo la innegable necesidad de preservar y proteger a los recursos marinos para nuestros usos actuales y los de las generaciones futuras (Botello, 2005). Entre los múltiples factores que afectan el ambiente están los derramamientos, vertimientos de residuos industriales en ríos, mares y otras fuentes (Grey, 2016). Los derrames de petróleo implican la exposición a una mezcla de productos químicos, que van desde benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos a hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP). En algunos derrames de petróleo, también puede haber exposición a otras sustancias químicas peligrosas, como el mercurio y el vanadio (Levy y Nassetta, 2011). Los impactos directos sobre el medio ambiente están relacionados con la muerte y la pérdida de las especies dentro de un ecosistema (ITOPF, 2017). Los hidrocarburos se adhieren a las branquias de los peces, afectando su respiración, además se adhieren y destruyen las algas y el fitoplancton afectando la alimentación y reproducción de la vida acuática en general (Reeves 2005); otros compuestos derivados de los combustibles y del petróleo se adhieren a los moluscos bivalvos y algunos tipos de crustáceos (Botello, 2005). El contacto o ingesta con el agua contaminada por hidrocarburos pueden ser un riesgo para organismos bentónicos como langostas, cangrejos, estrellas de mar, u ostras (Ranjbar Jafarabadi *et al.*, 2017). En el caso de los HAP son altamente liposolubles y por ello son absorbidos con rápidamente por el tracto intestinal de los mamíferos (Samanta *et al.*, 2002). Los estudios en animales han descrito efectos negativos sobre los pulmones, el sistema nervioso central, el hígado, los riñones, el sistema reproductivo y el feto generalmente después de inhalación o ingestión de componentes de los hidrocarburos totales de petróleo

(ATSDR, 1999). Dentro del ámbito sanitario, cuando hablamos sobre la población que vive en las inmediaciones de ríos, lagos o sitios contaminado de petróleo la población presenta diferentes padecimientos, en los niños tienden a desarrollar problemas pulmonares (Salvi 2007); en los adultos que están expuestos a estos tipos de daños (Mastrangelo *et al.*, 1996), pueden generar cáncer en distintos órganos (Boffetta *et al.*, 1997) y problemas de tipo psicológico tras exposiciones crónicas a PAH (Tormoehlen *et al.*, 2014). El impacto de los hidrocarburos puede permanecer durante décadas, con lo cual el riesgo de exposición se mantiene vigente (Olguín *et al.*, 2009). La determinación de hidrocarburos en agua es de importancia para las entidades ambientales, debido a los deterioros que causan éstos al ambiente (Castillo *et al.*, 2013). En México se reconoce la existencia de ductos de petróleo y tuberías de gas que atraviesan por toda la República Mexicana con frecuencia estos ductos están deteriorados y se producen derrames (Lizardi, 2011).

#### **2.4. Contaminación por hidrocarburos en el Golfo de México**

En México, cada año desde el 2000 se han presentado en promedio 524 emergencias ambientales, dentro de los cuales los más comunes son el petróleo y sus derivados (PROFEPA, 2014). En México se producen 1,674.9 miles de barriles diario, de estos el 82 % es producido en mar y 18 % en tierra (CNH, 2019). Tabasco, Veracruz y Tamaulipas son los estados con mayor producción de hidrocarburos en el país solo siendo superados por la extracción de hidrocarburos en aguas territoriales (PEMEX, 2018). En la década pasada la mayor producción de petróleo se realizó en las aguas del Golfo de México debido a su geoposicionamiento y por sus ventajas marítimas comerciales (Botello, 2005). El derrame de hidrocarburos más conocido en el Mar Caribe fue el ocurrido en el pozo de petróleo IXTOC I (1979) en el Banco de Campeche. La explosión del pozo ocasionó la fuga de 30 mil barriles diarios de petróleo crudo ligero durante diez meses para un total de 475,000 toneladas métricas (CONAGUA, 2014). Es el Golfo de México donde se han presentado la mayoría de las contingencias ambientales, una de ellas ocurrió el 20 de abril de 2010 en la plataforma petrolera Deepwater Horizon operada por British Petroleum (BP) que provocó un incendio, explosión y hundimiento de la plataforma (Lubchenco *et al.*, 2011). El 20 de abril del 2016 año ocurrieron dos fuertes explosiones en la Planta Clorados III del complejo Pajaritos, con sede en Coatzacoalcos, Veracruz, que dejaron un saldo de 32 muertos, cientos de heridos, así

como la expulsión al entorno de sustancias tóxicas (Ciencia y Luz, 2016). Meses más tarde, el día 24 de septiembre el buque tanque Burgos que transportaba poco más de 160 mil barriles de gasolina y diésel proveniente de Pajaritos (PEMEX, 2016). El buque Burgos, el cual transportaba 167 mil barriles de combustible, explotó y derramó gran parte de su cargamento en el mar, ocasionando daños al parque arrecifal Veracruzano (El Universal, 2016). El 27 de octubre se constató presencia de hidrocarburos en el Ejido Aquiles Serdán Segunda Sección Panga Nueva, municipio de Huimanguillo, Tabasco, por lo que se afectó un área de aproximada 14.49 hectáreas de manglar (PROFEPA, 2017). Es en Tabasco donde a partir del año 2018 el río Bitzal y comunidades aledañas se han visto afectados por contingencias ambientales no escarificadas a la fecha. Para este trabajo se hará abordará sobre los hidrocarburos que puedan estar afectando la zona.

## **2.5. Contingencia en las aguas del río Bitzal**

Por los ríos de Tabasco corre el 33% del total del agua nacional hacia el Golfo de México (Borbolla *et al.*, 2005). El agua de superficie es un recurso abundante en Tabasco, de hecho, constituye una fuente de abastecimiento convencional (Ramos *et al.*, 2012). El mes de mayo del 2018 sobre el río Bitzal se presentó una contingencia sobre sus aguas (PROFEPA, 2018), entre el 18 de mayo y 26 de octubre de 2018, se encontraron 48 cadáveres de manatíes en Tabasco (SEMARNAT, 2018). El río Bitzal atraviesa las localidades de Macuspana, Jonuta y Centla, formando la subregión pantanos, esta se localiza en la parte centro-noroeste del estado, y como su nombre lo indica, esta zona es donde se unen los ríos Grijalva y Usumacinta. La ciudad más importante de esta sub región es la ciudad de Macuspana, a su vez esta subregión pertenece a la región Usumacinta (Portal Tabasco). La actividad productiva de la subregión de pantanos en Tabasco se dedica a la pesca, la agricultura y la ganadería. El nivel de educación de la población es básico y predominio de pobreza (INEGI, 2014). La muerte de manatíes no es el único problema que acarrea el río Bitzal en Tabasco. Al menos 8 mil 500 personas de 27 comunidades de Macuspana, Centla y Jonuta se encuentran en riesgo de enfermarse e incluso morir si no se hace nada para detener la grave contaminación que existe en el agua, así lo advirtieron ambientalistas y líderes pesqueros (Excélsior, 2018). Desde hace dos meses los habitantes de la región padecen problemas en la piel y gastroenteritis. Los afectados comenzaron con pequeños granos que se convirtieron en

llagas. La tragedia que se conoció tras la muerte de manatíes en la zona no es solo ambiental y sanitaria (Televisa, 2018).

A los problemas ambientales y sanitarios que afectan a las comunidades aledañas a la zona del río Bitzal, los pobladores de las diferentes cooperativas se enfrentan a la crisis en la pesca y acuicultura, causando un declive en la economía de los lugareños pues estas son las actividades económicas que sustentan sus familias (Excélsior, 2018). A la fecha no se ha esclarecido la contingencia que sucede en el Bitzal sin embargo se debe prever formas de remediar los diferentes contaminantes que puedan existir en la zona del río Bitzal. La zona de Macuspana y Jonuta colindan con Ciudad Pemex, un complejo petroquímico que transporta, produce y almacena hidrocarburos. Debido a la posible presencia de hidrocarburos en el agua del río Bitzal es necesario determinar si estos pueden estar en concentraciones altas y si es el caso proponer medidas de remediación de hidrocarburos.



**Figura 2.** Manatíes muertos en aguas del río Bitzal, Tabasco. (Foto propia).

## **2.6. Tecnologías para la remediación de la contaminación.**

El término tecnología de tratamiento implica cualquier operación unitaria o serie de operaciones unitarias que altera la composición de una sustancia peligrosa o contaminante a través de acciones químicas, físicas o biológicas de manera que reduzcan la toxicidad, movilidad o volumen del material contaminado (EPA, 2001; INECC, 2007). Es importante encontrar formas de mitigar o restaurar la contaminación causada por hidrocarburos presentes

en cuerpos de aguas de la zona de Bitzal. En la actualidad la tecnología y la ciencia nos ofrece una gama de posibilidades que permitan restaurar el daño ocasionado a los ecosistemas acuáticos. En este contexto se debe recalcar el valor de desarrollar tecnologías de biorremediación como alternativas para la recuperación de ecosistemas y agroecosistemas impactados (Adams, Domínguez y García, 1999). Pueden considerarse tres estrategias generales; contención y recuperación, *quema in situ* y aplicación de dispersante. Las tecnologías de remediación pueden clasificarse de diferentes maneras, con base en los siguientes principios: (i) estrategia de remediación; (ii) lugar en que se realiza el proceso de remediación, y (iii) tipo de tratamiento (Volke y Velasco, 2002). A continuación, se describen con más detalle las clasificaciones anteriores (Van Deuren *et al.*, 1997; EPA 2001).

**Tabla 2.** Clasificación de las técnicas de remediación.

<b>Clasificación de las Técnicas de remediación</b>	
<b>Estrategias de remediación</b>	Destrucción de los contaminantes Extracción o separación Asilamiento del contaminante
<b>Lugar de realización del proceso de remediación</b>	<i>In situ</i>  <i>Ex situ</i>
<b>Tipo de tratamiento</b>	Tratamiento térmico Tratamiento fisicoquímico Tratamiento biológico

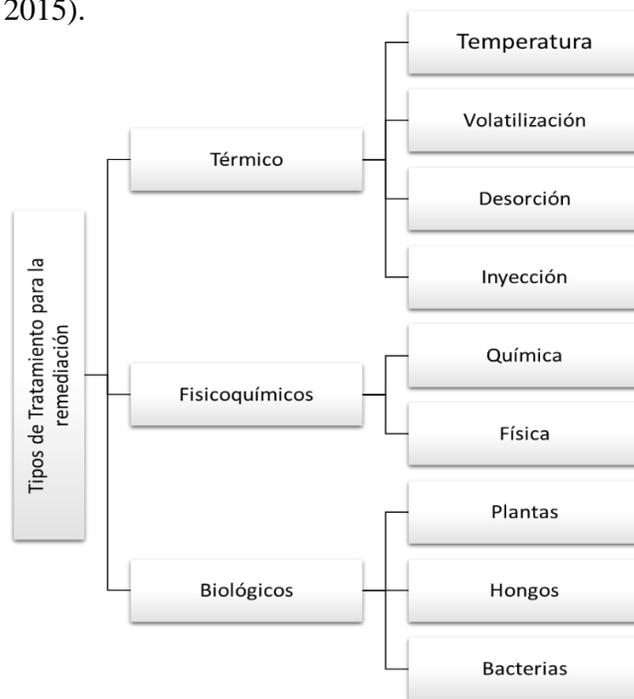
Elaborado a partir de Volke & Velasco, 2002

## **2.7. Tipos de remediación de contaminación**

Las técnicas de remediación térmicas ofrecen tiempos muy rápidos de limpieza y se basan en la implementación de temperatura para incrementar la volatilidad (separación), quemado, descomposición (destrucción) o fundición de los contaminantes (inmovilización). (EPA/540/S-97/505). Las técnicas de remediación físico-químicas son generalmente accesibles, de costo moderado y escaso periodo de tratamiento. El fundamento radica en las propiedades de los contaminantes o del medio contaminado para destruir, separar o contener

la afectación (Sellers, 1999). Las técnicas de remediación fisicoquímicas se pueden dividir a su vez en físicas y químicas, tales como la excavación y relleno sanitario, aspersión de aire, dispersión sobre el terreno, lavado de suelos, extracción con solventes, incineración, entre otros (Summersgill, 2006). La mayoría de estos tratamientos solo transfieren los contaminantes de un lugar a otro, en vez de eliminarlos (Lizardi, 2016).

La biorremediación es una opción que ofrece la posibilidad de destruir diversos contaminantes mediante la actividad biológica. Como tal, utiliza técnicas de bajo costo y baja tecnología, que generalmente tienen una alta aceptación pública y a menudo se pueden llevar a cabo en el sitio contaminado (Vidali,2009). La biorremediación o saneamiento biológico es una tecnología basada en procesos naturales que utiliza la capacidad de algunos microorganismos, tales como bacterias y hongos, para transformar compuestos químicos con la finalidad de disminuir o eliminar su condición de peligrosidad (Araujo, 2006; Mueller *et al.*, 1996). Debido al interés social, ambiental y económico para remediar los daños ocasionados por derrames, vertimientos o contingencias ambientales asociadas a hidrocarburos se han empleado diferentes técnicas de remediación. Muchos de estos tratamientos no eliminan los compuestos contaminantes solo los transfieren de una fase a otra (Lizardi *et al.*, 2015).



**Figura 3.** Tipos de tratamientos de remediación de contaminación. Modificado de Volke & Velasco, 2002.

El tratamiento biotecnológico, se consume o transforma el hidrocarburo a otra forma menos tóxica, al ser empleado como sustrato por seres vivos, ya sea planta, hongo o bacteria. Estos organismos pueden emplearse *in-situ* o *ex-situ*, en condiciones aerobias o anaerobias e incluso pueden ser del propio sitio contaminado (Volke y Velasco, 2002). Los procesos bióticos incluyen los procesos de ingestión y transformación llevados a cabo por seres vivos a los que se les puede llamar biorremediadores (Hassanshahian y Cappello, 2013). Las técnicas de biorremediación son rentables, ambientalmente sostenibles y pueden lograr un contaminante completo (Fuentes *et al.*, 2014). La degradación microbiana ha sido el proceso principal del suelo (Supaphol *et al.*, 2006). Varias cepas puras y consorcios microbianos capaces de degradar los hidrocarburos han sido aislados de sitios contaminados para su utilización como inóculos para fines de biorremediación del suelo (Kavitha *et al.* 2014). El proceso de biorremediación, definido como el uso de microorganismos para desintoxicar o eliminar contaminantes debido a sus diversas capacidades metabólicas son un método en evolución para la eliminación y degradación de productos de la industria petrolera (Medina *et al.*, 2005). La biodegradación de hidrocarburos es un proceso complejo, eso depende de la naturaleza y concentración de hidrocarburos presentes (Das y Chandran, 2011). Se ha demostrado la importancia de utilizar un consorcio microbiano para mejorar la degradación del petróleo para fines ambientales en lugar de cepas simples puras (Lizardi-Jiménez *et al.*, 2014). El uso de consorcios microbianos para la degradación de hidrocarburos sirve como una alternativa con más ventajas para la remediación de sitios contaminados.

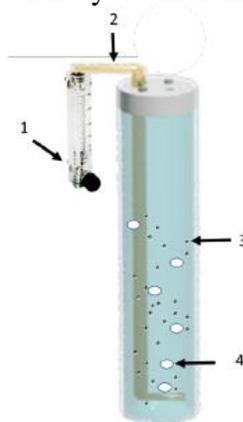
## **2.8. Consorcios microbianos**

Un Consorcio Microbiano es una asociación natural de dos o más poblaciones microbianas, de diferentes especies, que actúan conjuntamente como una comunidad en un sistema complejo, donde todos se benefician de las actividades de los demás. La asociación refleja estilos de vida sinérgicos o sin tróficos en el que el crecimiento y el flujo cíclico de nutrientes se conduce más efectiva y eficientemente que en poblaciones individuales (López, 2007). La biodegradación de hidrocarburos usualmente requiere la cooperación de varias especies microbianas, con diferentes capacidades metabólicas, dado que el uso de consorcios microbianos produce un aumento en la tasa de consumo de los hidrocarburos (Ghazali, 2004). El uso de consorcios microbianos en biorreactores puede ser una alternativa eficiente en la

degradación de hidrocarburos (Hernández *et al.*, 2018), las ventajas sobre otros procesos de biorremediación pueden ser mejor aprovechados.

## 2.9. Biorreactor

Un biorreactor (BR) es un recipiente o sistema que mantiene un ambiente biológicamente activo. En algunos casos, un biorreactor es un recipiente en el que se lleva a cabo un proceso químico que involucra organismos o sustancias bioquímicamente activas derivadas de dichos organismos (Doble, Kumar y Gajanan, 2004). Los reactores bioquímicos son ampliamente usados sistemas de tratamiento de aguas y en algunos procesos biomédicos. (Montoya y Bermúdez, 2003). Los biorreactores por columna de burbuja es un tipo de reactor utilizado para el tratamiento del petróleo y derrames, incluidos los biorreactores, que reducen los problemas como suministro de oxígeno, variaciones de temperatura y pH, así como requerimientos nutricionales (Cappello *et al.*, 2016). Los biorreactores de columna de burbujas (BCB) se usan para evaluar la degradación de compuestos recalcitrantes como combustibles (Tzintzun *et al.*, 2014). Un biorreactor por columna de burbuja contiene un difusor de gas en la parte superior (Kantarci *et al.*, 2005), este gas o aire es suministrado en forma de burbujas hacia la fase líquida. (Hernández *et al.*, 2018). Un biorreactor usado para la degradación de hidrocarburos está constituido por un sustrato el cual será la fuente de carbono que se pretenda consumir. Por medio de parámetros como son el consumo de fuente de carbono, el crecimiento microbiano y la emulsificación (Lizardi *et al.*, 2015).



**Figura 4.** Estructura básica de un biorreactor por columna de burbuja. 1) flujo de aire, 2) difusor de aire, 3) gotas de hidrocarburo, 4) burbujas de aire.

### 3. JUSTIFICACIÓN

Debido a la contaminación en el agua que se presenta en diferentes sistemas hidrológicos, a lo largo del país donde existen contingencias ambientales asociadas al mal manejo de combustibles, es necesario realizar análisis que determinen la cantidad de concentración de hidrocarburos. Lo anterior con el fin de evaluar las medidas de restauración de los ecosistemas acuáticos que puedan resultar perjudicados y de esta forma proteger el desarrollo de la cadena trófica. La problemática que se ha presentado en los alrededores del río Bitzal en la comunidad de Macuspana, Tabasco ha sido punto de atención para diversos sectores del país debido a las diversas anomalías ocurridas dentro del entorno ambiental –social como son mortandad de especies, aumento de enfermedad es entre otros. Las diversas actividades que se realizan como son la pesca, la ganadería y la agricultura entre otras puede ser una agente clave en el origen de esta problemática. De igual forma se tiene registros de los problemas causados por fugas de ductos de petróleo y gas natural en los últimos años.

Es importante realizar un estudio no solo para determinar los hidrocarburos en el agua sino además establecer una remediación que contribuya de manera eficaz a la degradación de estos contaminantes que son recalcitrantes. Es por ello que en este trabajo se evaluará la degradación de un consorcio microbiano que sea capaz de degradar derrames en ambientes acuáticos. He aquí la necesidad de realizar los análisis que muestren la efectividad degradante de un consorcio microbiano. La biotecnológica nos ofrece la opción de utilizar consorcios microbianos sin causar daños considerables al entorno acuífero comparado con otras tecnologías más agresivas. La implementación de biorreactores para la degradación de hidrocarburos en esta zona no ha sido probada, la falta de investigación sobre este tipo de biorremediación da pauta a nuevas investigaciones que comprueben la degradación de combustibles sobre las aguas de la zona contaminada.

## **4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

- ¿Cuál es la concentración de hidrocarburos en el río Bitzal, en Tabasco?
- ¿Cuál será la capacidad hidrocarbonoclasta de un consorcio microbiano a partir de la identificación de hidrocarburos determinados en el río Bitzal de Tabasco usando un modelo experimental?

## **5. HIPÓTESIS**

- Existe presencia de hidrocarburos en el río Bitzal, Tabasco.
- El uso de biorreactores degrada de manera efectiva los hidrocarburos encontrados en el río Bitzal.

## **6. OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Determinar las concentraciones de hidrocarburos en agua del río Bitzal, Tabasco y diseñar biorreactores como alternativa de remediación.

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Identificar los hidrocarburos presentes en agua del río Bitzal en Tabasco.
- Establecer el condicionamiento de un biorreactor por columna de burbuja para los hidrocarburos identificados.
- Evaluar la capacidad hidrocarbonoclasta de un consorcio halotolerante para remediación en un biorreactor por columna de burbujas.

## 7. MATERIALES Y MÉTODOS

La estrategia experimental de trabajo se divide en 3 fases experimentales cada una descrita a continuación.

1. Fase de Muestreo y determinación de hidrocarburos: En esta fase se implementaron las estaciones de muestreo y posteriormente de su correspondiente traslado y preparación para ser analizadas.
2. Fase del acondicionamiento del Biorreactor por columna de burbuja: en esta fase se realizarán los cálculos correspondientes para implementar las condiciones de operación del Biorreactor. En esta fase también se estabiliza el consorcio microbiano.
3. Fase de Cinéticas: En esta fase se inocula en el Biorreactor y se llevan a cabo los análisis pertinentes.

Actividades realizadas durante cada fase del trabajo experimental:

Fase de muestreo y determinación de hidrocarburos.

A1. Recopilación de información de la zona de estudio para conocer el tipo de ambiente, el ecosistema y las especies predominantes, de igual forma conocer las actividades económicas alrededor de la zona a estudiar.

A2. Viaje de prospección en el cual se seleccionarán las estaciones de muestreo de igual forma estos puntos se establecen con respecto a las fuentes de descarga, viviendas o zonas habitadas, zonas de pesca, bifurcaciones con otros cuerpos de agua, pozos petroleros y zonas con mortandad de especies.

A3. Recolección de muestras y geoposicionamiento (NMX –AA-014-1980)

A4. Traslado y etiquetado de muestras (PROY-NMX-AA-121/1-SCFI-2008)

A5. Conservación y fijación de muestras (NOM –143 –SEMARNAT -2003).

A6. Análisis de los parámetros básicos del agua, pH, temperatura, salinidad.

A7. Determinación de hidrocarburos por medio de cromatografía de gases.

A8. Identificación de picos

Fase del acondicionamiento del Biorreactor por columna de burbuja:

A1. Revisión Bibliográfica.

A2. Establecer el material del BR.

A3. Cálculos de inoculación

A4. Adecuación del inóculo

A5. Cultivo de microorganismos

Fase de cinéticas

A1. Tomas de muestras de los biorreactores.

A2. Aplicación de Técnicas

A3. Modelamiento matemático

A4. Análisis e interpretación de datos.

A5. Modelamiento matemático

## 7.1. Fase de muestreo y determinación de hidrocarburos

### 7.1.1. Área de Estudio

El río Bitzal cubre un área que abarca las comunidades de Macuspana, Jonuta y Centla. Este alimenta varios cuerpos de agua que conectan a los diferentes pantanos y humedales. (INEGI, 2009). Es parte fundamental del sustento económico de la zona, pues de este río muchos pescadores obtienen sus ingresos, las actividades económicas de las poblaciones aledañas al río Bitzal son la pesca, la acuicultura y la agricultura (Portal Tabasco).



**Figura 5.** Mapa que muestra la localización del río Bitzal en Tabasco. Extraído de Google Maps

### 7.1.2. Selección de los puntos de muestreo y geoposicionamiento.

El criterio para la selección de los puntos de muestreo se basó en las siguientes características: La localización de las tomas de muestras, estas fueron recolectadas en los pozos de perforación o las comunidades cercanas a la zona. La profundidad de las aguas, se tomaron en la corriente del río y bifurcaciones con otros cuerpos de agua. Se presentan las estaciones de muestreo en la imagen 1. En ella se muestran los puntos que fueron seleccionados para el muestreo. Las coordenadas de las muestras fueron tomadas con un gps eTrex 32x con un margen de error de 10 m. Se muestreo en los siguientes puntos: Bifurcación Laguna El viento ( $18^{\circ}13'48.98''N$ ,  $92^{\circ}40'06.03''W$ ), Laguna El Viento ( $18^{\circ}13'27.97''N$ ,  $92^{\circ}39'26.73''W$ ), Laguna El campo ( $18^{\circ}12'29.01''N$ ,  $92^{\circ}39'34.78''O$ ), Tintalillo ( $18^{\circ}09'06.16''N$ ,

92°38'14.10"W), Laguna Concepción (18°08'09.50"N, 92°36'33.47"W), La Mixteca (18°06'16.29"N, 92°34'59.76"W), Laguna Mixtequilla (18° 04'23.03"N, 92°32'31.02"W), Bitzal séptima sección (18°04'29.14"N, 92°31'29.50"W), Bitzal sexta sección (18°03'40.31"N, 92°28'27.11"W), Pastal (18°03'01.39"N, 92°27'17.65"W), Bitzal quinta sección (18°03'33.79"N, 92°25'07.15"W) y La Boca del Bitzal (18°02'00.95"N, 92°23'56.60"W).

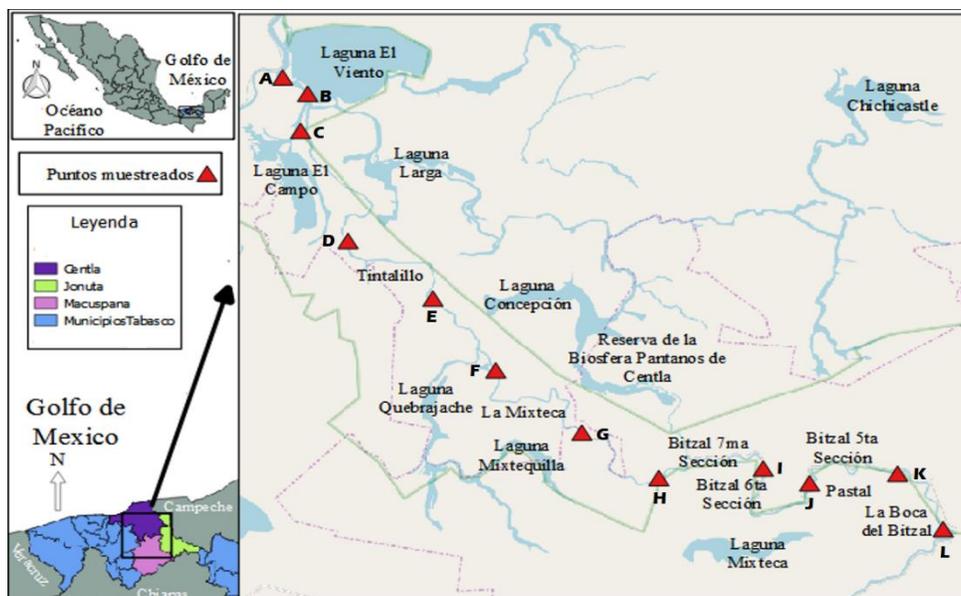


Figura 6. Estaciones de muestreo en el área de estudio del río Bitzal, Tabasco.

### 7.1.3. Recolección de las muestras

Se realizaron tres tomas de muestras sobre cada estación para identificar las diferentes fracciones de hidrocarburos, ligera, media y pesada (NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012), estas fueron tomadas a 30 cm sobre la superficie teniendo cuidado de no tomar aire dentro de las botellas, fueron recolectadas en frascos color ámbar, estos fueron etiquetados, transportados y refrigerados a  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  (NMX-AA-014-1980), posteriormente se fijaron con HCl para obtener un  $\text{pH} < 2$  para su lectura (NMX-AA-117-SCFI-2001). Fueron almacenadas y etiquetadas en base a la normativa correspondiente (PROY-NMX-AA-121/1-SCFI-2008).

**Tabla 3.** Puntos de muestreo con sus respectivas coordenadas.

<b>Estación</b>	<b>Referencia</b>	<b>Coordenadas</b>	
A	Bifurcación Laguna El viento	18°13'48.98"N	92°40'06.03"O
B	Laguna El Viento	18°13'27.97"N	92°39'26.73"O
C	Laguna El campo	18°12'29.01"N	92°39'34.78"O
D	Tintalillo	18°09'06.16"N	92°38'14.10"O
E	Laguna Concepción	18°08'09.50"N	92°36'33.47"O
F	La Mixteca	18°06'16.29"N	92°34'59.76"O
G	Laguna Mixtequilla	18° 04'23.03"N	92°32'31.02"O
H	Bitzal septima sección	18°04'29.14"N	92°31'29.50"O
I	Bitzal sexta sección	18°03'40.31"N	92°28'27.11"O
J	Pastal	18°03'01.39"N	92°27'17.65"O
K	Bitzal quinta sección	18°03'33.79"N	92°25'07.15"O
L	Boca del Bitzal	18°02'00.95"N	92°23'56.60"O

#### **7.1.4. Análisis de los parámetros básicos del agua, pH, temperatura, salinidad.**

Para la medición del pH se vertió una porción de ¼ de la muestra sobre un vaso de precipitado y se analizará con un potenciómetro Consor C6010. La medición de temperatura se realizó con un termómetro de mercurio a temperatura ambiente. La salinidad se midió con un refractómetro 1824 BGS y se usa agua destilada como blanco de calibración.

#### **7.1.5. Tratamiento y determinación de hidrocarburos**

Se toma 1 ml de la muestra de agua, la cual se coloca en un embudo de separación de 50 mL, a la muestra se agrega 1 mL de solvente, hexano grado reactivo, en relación 1:1. Se agita el embudo durante un minuto, posteriormente se desecha el agua y se procede a extraer el hexano con una micropipeta 1000 µL. La muestra tratada se vacía en un vial de 1 mL la cual se inyectará posteriormente en el cromatógrafo de gases. La determinación cuantitativa y cualitativa de la presencia de los hidrocarburos se realizó en un cromatógrafo de gases Thermo Scientific 3000 con detector FID (300 °C) y una columna capilar para detectar hidrocarburos TR-5 (30 m x 0.25mm) usando helio como gas acarreador (León-Borges y Lizardi-Jiménez, 2017). Previo al análisis de las muestras se elaboraron curvas a diferentes concentraciones conocidas con estándares de hidrocarburos (benceno, tolueno, decano, hexano, hexadecano, benzo(a) pireno, fenantreno, naftaleno, eicosano, octano, pireno (Fisher Scientific). El análisis cuantitativo se basa en la correlación con la curva estándar del área de los picos.

## **7.2. Fase del acondicionamiento del Biorreactor por columna de burbuja**

### **7.2.1. Revisión Bibliográfica.**

Se realizó una búsqueda bibliográfica de los tipos de biorreactor, así como los parámetros que serán los más óptimos para evaluar la degradación de hidrocarburos. La bibliografía también se usó para conocer el funcionamiento y las características del biorreactor con el fin de mejorar las características el mismo

### **7.2.2. Evaluación del diseño.**

Para la selección del material del biorreactor se seleccionó de acuerdo con los tipos de microorganismos ya que estos pueden degradar el material o por otro lado el material puede reaccionar negativamente con la fuente de carbono provocando que el medio se adhiera a las paredes y provoque pérdidas. En este apartado también se comparan las dimensiones del biorreactor con el fin de mejorar la degradación de hidrocarburos, así como de las condiciones de operación.

### **7.2.3. Consorcio microbiano**

Las muestras de sedimentos se obtuvieron durante una campaña en el 2012 a bordo del buque oceanográfico llamado "Justo Sierra", estas muestras de sedimentos fueron tratadas por García *et al.*, 2018 con el fin de caracterizar las cepas existentes. El área de muestreo se ubicó en la península de Yucatán, entre la longitud 90°57'30.121 " O y 86°29'22.2 " O, y latitud 23°43'42.2 " N. Se obtuvieron un total de 35 muestras. El consorcio microbiano exhibió abundancias relativamente de: Phylum Proteobacteria (79.12%), Planctomycetes (7.36%), Actinobacteria (4.66%), Bacteroidetes (4.23%), Firmicutes (2.54%) y Acidobacteria (1.67%). A nivel de género, Marinobacter fue el más abundante (41,98%), seguido de Alcanivorax (13,34%) (García *et al.*, 2019). Estas bacterias han sido reconocidas como degradadores de hidrocarburos obligados (Yakimov *et al.*, 2007), y se informaron previamente en la degradación de compuestos y mezclas de hidrocarburos, incluido el diésel.

### **7.2.4. Selección de la fuente de carbono**

Por medio de la determinación de hidrocarburos identificados en las muestras recolectadas en la fase de muestreo y determinación (fase 1, apartado 7.1.5), se seleccionará un sustrato

que sea representativo de los hidrocarburos identificados en la fuente de carbono. Este hidrocarburo debe estar constituido por los hidrocarburos similares a los hidrocarburos identificados, además de ser considerados como uno de los posibles contaminantes de la zona de contaminada.

### **7.2.5. Cálculos**

En este apartado se realizaron los cálculos correspondientes de inoculación.

### **7.2.5. Inoculación**

Se utilizaron cuatro biorreactores por columna de burbuja (BCB) con una relación de H/D = 4. A los biorreactores se les implemento un difusor en forma de L con 7 orificios de 1 mm (Ángeles *et al.*, 2017). Los biorreactores fueron operados a una temperatura promedio de 25 °C, durante un periodo de 15 días, inoculados con 0.8 g L<sup>-1</sup> (p/p) del consorcio microbiano y 13 g L<sup>-1</sup> de fuente de carbono (Denis *et al.*, 2017). Al Biorreactor se le implementó un termómetro de mercurio y se tomó la temperatura, se tomó el valor de pH con un potenciómetro Consor C6010, a un pH de 7. Se utilizaron dos medios, un medio mineral preparando una solución de 6.75, NaNO<sub>3</sub> (J. T. Baker, 100.1%); 2.15, K<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub> (Reasol, 99.9%); 1.13, KCl (Alyt, 99.9%) y 0.54, MgSO<sub>4</sub>·5 H<sub>2</sub>O (J. T. Baker, 100.0 %) (Medina, et al., 2005), y un medio salino usando agua de mar.

## **7.3. Fase de evaluación de cinéticas**

### **7.3.1. Tomas de muestras de los biorreactores**

Se tomaron muestras de 10 mL de la superficie, zona media y del fondo del biorreactor los días 0,2,4,6,8,10 y 14. Estas fueron recolectadas por medio de una micropipeta con puntas previamente esterilizadas y depositadas en tubos falcón de 50 mL.

### **7.3.2. Técnicas y análisis de biorreactores**

Las muestras como se mencionó anteriormente en la sección 7.3.1 se tomaron los días pares a partir del día 0, estas muestras a analizar son los 10 mL que se toman de los BCB. Todos los análisis se hicieron por triplicado. Estas técnicas se describen a continuación.

#### **7.3.2.1. Centrifugación**

Las muestras del BCB en tubos falcón, 10 mL descritos anteriormente en la sección 7.3.2 d se colocan en 3 tubos falcón con muestras del mismo BCB (Triplicados) y una solución isotónica (NaCl al 0.9 %) estas muestras son centrifugadas en una centrifuga con enfriamiento modelo Hermle Z323K, durante 30 minutos a 4000 rpm y 4°C (Lizardi, 2011). De este procedimiento se obtienen dos fases una fase precipitada o sólida y una fase líquida-acuosa o líquido remanente.

#### **7.3.2.2. Fase sólida**

El precipitado obtenido de la centrifugación (apartado 7.3.2.1) fue lavado en solución isotónica (NaCl 0.9 %) se analizó por densidad óptica (Nuñez-Reyes, 2012) y por gravimetría (Lizardi-Jiménez *et al.*, 2012). Estos se explican a continuación.

#### **7.3.2.3. Densidad óptica**

Se empleó espectrofotometría uv- visible para medir los sólidos suspendidos a 600 nm, se empleó un espectrofotómetro Rayleigh. Con la absorbancia registrada se calculó la cantidad de SS. Para realizar el cálculo se construyó una curva de calibración con 5 distintas concentraciones y solución fisiológica (NaCl 0.9 %) como blanco (Nuñez-Reyes, 2012).

#### **7.3.2.4. Gravimetría**

El precipitado lavado con solución isotónica, se colocó en una capsula de porcelana a peso constante y se calentó en un horno de secado a 60 °C por 48 h. Se tomó el peso final de las capsulas y las capsulas con las muestras así mismo del peso de la solución isotónica que se empleó para el lavado para calcular el peso de los sólidos (Lizardi-Jiménez *et al.*, 2012).

#### **7.3.2.5. Fase acuosa**

La fase acuosa resultante de la centrifugación (apartado 7.3.2.1), se utilizó para diferentes tipos de análisis dependiendo el análisis se sometió a diferentes tratamientos. Esta fase sirvió para cuantificar la actividad emulsificante y el diésel residual por densidad óptica.

#### **7.3.2.6. Actividad emulsificante**

Muestras de los sobrenadantes provenientes del biorreactor se mezclaron con diésel y petróleo en una relación 1:6 y se agitaron por medio de un vortex Genie 2-T Scientific

Industries, durante dos minutos para promover la formación de emulsiones posteriormente se dejaron reposar las muestras tratadas durante 24 h a una temperatura ambiente. Estas muestras se leyeron en un espectrofotómetro uv-vis Rayleigh a una longitud de onda de 400 nm, como blanco se usaron medio mineral y agua de mar para los diferentes medios en los que fueron inoculados (García *et al.*, 2019).

### 7.3.2.7. Hidrocarburo Residual

Previamente se realizaron barridos para determinar la longitud de onda a la cual era detectable el diésel y el petróleo. Una vez que se establecieron intervalos de longitud de onda más acertados este intervalo se fue reduciendo (Evdokimov & Losev, 2007). Las lecturas para finalmente se realizaron a 220 nm para el diésel, y a 650 nm para el petróleo en un espectrofotómetro uv-vis Rayleigh, como blanco se usó hexano, se realizaron curvas de calibración para cada caso con 5 patrones o estándares preparados a diferentes concentraciones.

### 7.3.3. Análisis matemático

El modelamiento matemático del crecimiento microbiano se ha utilizado para estimar parámetros (tasa de crecimiento específica, tiempo de retraso entre otros) requerido para estudiar el crecimiento bajo diferentes condiciones físicas y químicas (López, *et al.*, 2004). Se determinaron parámetros cinéticos de los microorganismos ajustando los modelos matemáticos de crecimiento microbiano Gompertz, Von Bertalanffy y Logístico (Valdivia-Rivera, *et al.*, 2019). Las ecuaciones de los modelos son las siguientes:

$$y = a \exp^{(- \exp b-ct)} \quad (1)$$

$$y = \frac{a}{[1 + \exp^{(b-ct)}]} \quad (2)$$

$$y = [a^{1/3} - \exp^{(b-ct)}] \quad (3)$$

$$y = \ln\left(\frac{N}{N_0}\right) \quad (4)$$

$$\mu_{max} = \frac{ac}{e} \quad (5)$$

$$\lambda = \frac{b-1}{c} \quad (6)$$

$$Ti = \frac{b}{c} \quad (7)$$

Siendo  $y$  la variable dependiente, se define como la variación del logaritmo entre la población en un tiempo  $t$  ( $N$ ) y la población inicial ( $N_0$ ) (eq.4). Con lo cual se pueden tener parámetros que son biológicamente significativos, la tasa máxima de crecimiento ( $\mu_{Max}$ ), fase lag ( $\lambda$ ) y tiempo de inflexión (Ti) en función del tiempo (eq. 5-7).

## 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 8.1. Fase de muestreo e identificación de hidrocarburos.

#### 8.1.1. Determinación de parámetros fisicoquímicos

Se analizaron muestras de agua para evaluar los parámetros fisicoquímicos del agua. Se puede observar que la temperatura promedio registrada es de 32.5 °C, temperatura normal para cuerpos acuáticos de agua dulce. La mayor temperatura registrada es de 35 °C en la Mixteca y la boca del Bitzal. El pH registrado promedio es de 7.5, pH de característico de un cuerpo acuático de agua dulce. La salinidad más alta registrada fue de 3 ppt y el promedio de salinidad fue de 2 ppt. La mayor densidad fue de 1.005 g/L. Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla:

**Tabla 4.** Parámetros fisicoquímicos obtenidos en las muestras de agua recolectadas del río Bitzal, Tabasco.

Estación	Referencia	Temperatura (°C)	pH	Salinidad (ppt)	Densidad (g/L)
A	Bifurcación Laguna El viento	33	7.5	3	1.003
B	Laguna El Viento	32	7.6	2	1.002
C	Laguna El campo	31	7.56	2	1.002
D	Tintalillo	31	7.5	3	1.004
E	Laguna Concepción	33	7.6	2	1.002
F	La Mixteca	35	7.62	2	1.002
G	Laguna Mixtequilla	33	7.55	2	1.002
H	Bitzal séptima sección	33	7.54	3	1.004
I	Bitzal sexta sección	32	7.71	3	1.004
J	Pastal	31	6.95	2	1.005
K	Bitzal quinta sección	31	7.49	3	1.005
L	Boca del Bitzal	35	7.43	2	1.003

### 8.1.2. Determinación de hidrocarburos

Como primer objetivo se determinó de forma cuantitativa y cualitativa los hidrocarburos presentes en agua del río Bitzal. Como se describió anteriormente en la metodología esta determinación se hizo de acuerdo a una serie muestras de agua. Con el fin de conocer el impacto de los hidrocarburos en la contingencia presentada en el río Bitzal en la tabla 1, se presentan los hidrocarburos determinados con mayor concentración para cada estación de muestreo, así como sus respectivas coordenadas. Se observa que los hidrocarburos más abundantes en las estaciones de muestreo son pentaceno, y n-nonano. El pentaceno es un hidrocarburo de cinco anillos aromáticos perteneciente a los HPAs. No existe información oficial sobre los efectos toxicológicos que el pentaceno pueda generar sobre los ecosistemas acuáticos sin embargo existe evidencia que los HPAs en medios acuáticos pueden generar daño en la cadena trófica de los ecosistemas (Olguin *et al.*, 2007) provocando la pérdida de distintas especies (ITOPF, 2017) ya que estos tienden a bioacumularse en distintos tipos de organismos marinos como son los peces y los moluscos bivalvos (Botello, 2005). En mamíferos marinos los tejidos mamarios y otros tejidos grasos pueden ser importantes depósitos de almacenamiento para PAHs (Wetzel *et al.*, 2008). El n-nonano (C-9) pertenece a los hidrocarburos alifáticos de fracción ligera al igual que otros hidrocarburos este puede generar bioacumulación (Botello, 2005), la exposición prolongada con este hidrocarburo puede generar lesiones en la piel cuando se expone en un tiempo prolongado e irritación de los ojos cuando se es expuesto de forma constante (Ficha de datos de seguridad Roth, 2016). Dentro de los hidrocarburos que también se logró identificar está el benzo[a]pireno, el cual es uno de los hidrocarburos dentro del grupo de los 16 hidrocarburos aromáticos potencialmente peligrosos y preocupantes por su persistencia, prevalecen en ecosistemas (Igwo-Ezikpe *et al.*, 2010), la principal razón de alarma se debe a que es un hidrocarburo considerado carcinogénico (EPA, 2005). Se observa en la tabla 5 de lado derecho las concentraciones totales por fracciones encontradas en esta investigación, recordando que las muestras fueron separadas para determinar los tres tipos de fracciones. Se observa que en la mayoría de las estaciones de muestreo existe una mayor presencia de hidrocarburos de fracción media (hidrocarburos con carbonos de C<sub>10</sub> a C<sub>28</sub>), los puntos que mayor concentración de HFM presentan son: Laguna el Viento, laguna el Campo, laguna Concepción, Laguna Mixtequilla, Bitzal sexta sección, Pastal, Bitzal quinta sección y la boca

del Bitzal. Los hidrocarburos de fracción media son característicos del diésel, combustible considerado de fracción media (Karlupudic *et al.*, 2018). La zona del Bitzal es una zona pesquera donde la principal actividad que realizan los pescadores es la pesca, como medio de transporte usan generalmente lanchas, y la formación de agua de sentina en el río puede ser un factor que puede estar contribuyendo al incremento de los niveles de hidrocarburos en el río Bitzal.

**Tabla 5.** Concentraciones más altas por fracción para cada estación de muestreo. En el lado izquierdo se muestran las concentraciones más altas para las fracciones de hidrocarburos. (HFL= hidrocarburos fracción ligera, HFM= hidrocarburos de fracción media, HFP= hidrocarburos fracción pesada).

/	Hidrocarburo	Concentración más alta (mg L <sup>-1</sup> )	Fracción de Hidrocarburos	Concentración total (mg L <sup>-1</sup> )
A	n-Nonano	1.31 ± 1.20	<b>HFL</b>	2.49 ± 0.05
	n-Nonano	1.75 ± 1.59	<b>HFM</b>	3.60 ± 0.02
	Pentaceno	55.4 ± 23.8	<b>HFP</b>	57.0 ± 0.00
B	Pentaceno	63.2 ± 55.5	<b>HFL</b>	64.4 ± 0.15
	Pentaceno	57.6 ± 56.4	<b>HFM</b>	60.1 ± 0.01
	Pentaceno	26.8 ± 20.8	<b>HFP</b>	30.1 ± 0.00
C	n-Nonano	1.06 ± 0.00	<b>HFL</b>	1.02 ± 0.00
	Pentaceno	37.7 ± 31.0	<b>HFM</b>	41.0 ± 0.09
	Pentaceno	25.9 ± 20.18	<b>HFP</b>	29.9 ± 0.02
D	n-Nonano	1.57 ± 1.55	<b>HFL</b>	4.03 ± 0.05
	n-Nonano	1.86 ± 1.62	<b>HFM</b>	3.28 ± 0.01
	n-Nonano	1.40 ± 0.25	<b>HFP</b>	2.84 ± 0.03
E	n-Nonano	1.78 ± 0.18	<b>HFL</b>	2.11 ± 0.01
	Pentaceno	29.1 ± 24.2	<b>HFM</b>	34.8 ± 0.07
	n-Eicosano	1.50 ± 0.10	<b>HFP</b>	1.78 ± 0.01
F	n-Nonano	5.04 ± 2.48	<b>HFL</b>	2.36 ± 0.01
	Benzo[a]pireno	1.33 ± 0.71	<b>HFM</b>	1.86 ± 0.00
	n-Heneicosano	1.50 ± 0.10	<b>HFP</b>	2.20 ± 0.01
G	n-Nonano	1.73 ± 1.50	<b>HFL</b>	3.84 ± 0.00
	Pentaceno	63.9 ± 37.2	<b>HFM</b>	66.7 ± 0.01
	Pentaceno	8.07 ± 4.99	<b>HFP</b>	10.1 ± 0.01
H	n-Nonano	1.81 ± 1.20	<b>HFL</b>	3.50 ± 0.02
	Pentaceno	49.6 ± 47.2	<b>HFM</b>	53.8 ± 0.01
	Pentaceno	1.03 ± 0.09	<b>HFP</b>	1.99 ± 0.02
I	n-Nonano	1.89 ± 0.23	<b>HFL</b>	3.58 ± 0.09
	Pentaceno	38.0 ± 36.3	<b>HFM</b>	41.1 ± 0.05
	n-Hexacosano	1.65 ± 1.48	<b>HFP</b>	2.26 ± 0.02
J	Pentaceno	20.5 ± 13.0	<b>HFL</b>	21.1 ± 0.07
	Pentaceno	72.3 ± 60.2	<b>HFM</b>	76.8 ± 0.01
	Pentaceno	8.26 ± 5.05	<b>HFP</b>	8.31 ± 0.01
K	n-Nonano	0.18 ± 0.08	<b>HFL</b>	0.38 ± 0.00
	Pentaceno	70.5 ± 59.8	<b>HFM</b>	73.4 ± 0.07
	n-Nonano	1.48 ± 1.26	<b>HFP</b>	2.68 ± 0.01
L	n-Nonano	1.92 ± 1.62	<b>HFL</b>	2.48 ± 0.00
	Pentaceno	41.3 ± 37.9	<b>HFM</b>	46.0 ± 0.00
	Benzo[a]pireno	1.26 ± 0.52	<b>HFP</b>	1.21 ± 0.01

La Tabla 6 muestra los hidrocarburos que se encontraron en el área de muestreo expuestos con su concentración promedio. Los hidrocarburos producen varios efectos sobre la salud de la población, su exposición prolongada puede generar daño neurológico prenatal, problemas de salud reproductiva masculina y femenina, enfermedades renales, daño de la piel entre otros (Ramesh *et al.*, 2012) La presencia de enfermedades, el fallecimiento de especies, la poca ayuda y atención que reciben los habitantes de las regiones cercanas al río Bitzal es una violación de los derechos de un medio ambiente saludable, que debe abordarse de inmediato aquí porque es necesario implementar la biorremediación medidas. Los puntos de muestra están contaminados por mezclas complejas de fracciones de hidrocarburos, por lo que se propone para la segunda fase de este proyecto trabajar con dos fuentes de carbono como sustrato para que puedan simular las fracciones de hidrocarburos determinadas, estos sustratos son diésel y petróleo crudo maya.

**Tabla 6.** Concentraciones promedios de los hidrocarburos encontrados.

<b>Hidrocarburos</b>	
<b>Hidrocarburo</b>	<b>Concentración Promedio (mg L<sup>-1</sup>)</b>
<b>Fracción Ligera</b>	
n-Nonano	2.11 ± 0.96
<b>Fracción Media</b>	
n-Tetradecano	0.08 ± 0.00
n-Pentadecano	0.03 ± 0.02
n-Hexadecano	0.19 ± 0.14
n-Heptadecano	0.01 ± 0.00
n-Octadecano	0.19 ± 0.07
<b>Fracción Pesada</b>	
n-Eicosano	2.82 ± 0.15
n-Heneicosano	0.01 ± 0.05
n-Docosano	0.11 ± 0.04
n-Tetracosano	0.16 ± 0.04
n - Hexacosano	0.29 ± 0.25
<b>HPA's</b>	
Pentaceno	24.26± 5.09
Carbazol	0.25 ± 0.11
Pireno	0.26 ± 0.01
Criseno	0.10 ± 0.08
Benzopireno	1.39 ± 0.57

Se ha realizado estudios sobre la toxicidad del carbazol: En ratones puede generar mutaciones y malformaciones en la cabeza de espermatozoides (Wu *et al.*, 2016), además se ha observado irritación dérmica que varió de gravedad leve a moderada en el sitio de tratamiento de ratones. Los puntos de muestra están contaminados por mezclas complejas de fracciones de hidrocarburos, por lo que se propone para la segunda fase de este proyecto trabajar con dos fuentes de carbono como sustrato para que puedan simular las fracciones de hidrocarburos determinadas, estos sustratos son diésel como representativo de compuestos de fracción media y petróleo crudo maya como combustible representativo de compuestos aromáticos.

## **8.2. Acondicionamiento del Biorreactor por columna de burbuja**

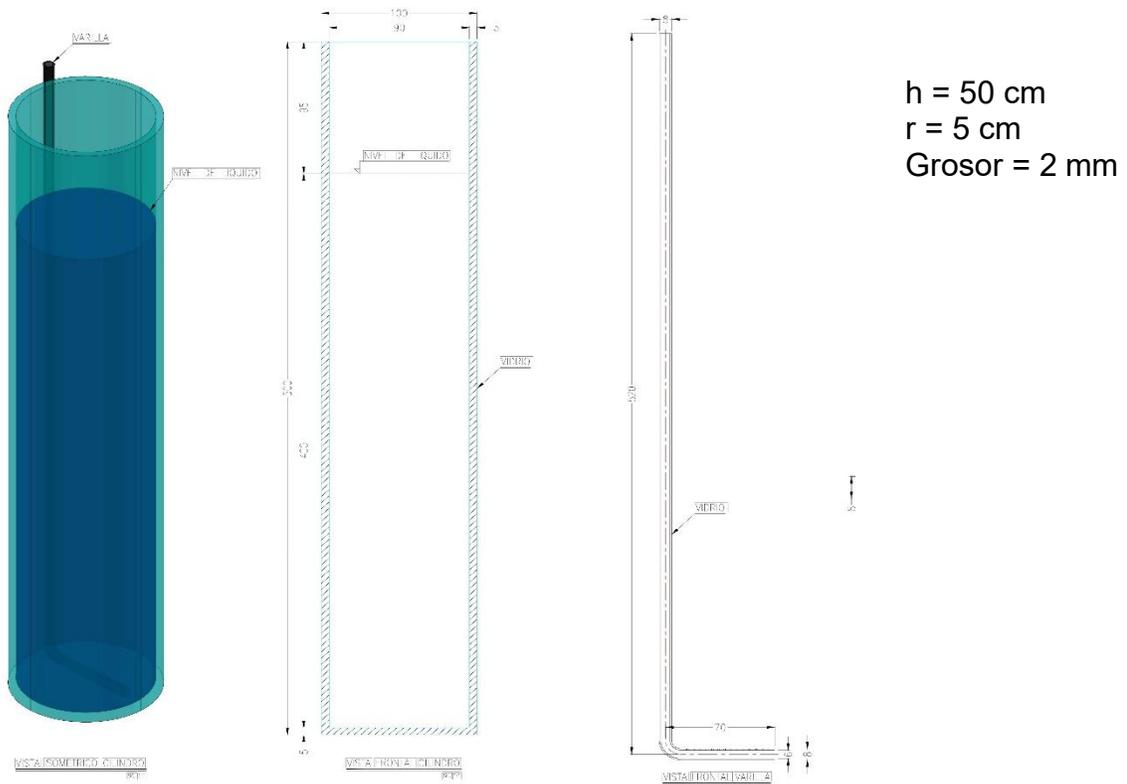
### **8.2.1. Recopilación bibliográfica**

En la revisión y recopilación bibliográfica se compararon las dimensiones, el volumen, el pH y la temperatura de operación. La bibliografía también fue indispensable para conocer las técnicas y la metodología empleada en la evaluación de los parámetros cinéticos. Se compraron los trabajos realizados por García *et al.*, 2018 y Hernández *et al.*, 2018. Dichas investigaciones hacen uso de biorreactores por columna de burbuja logrando resultados trabajando con consorcios microbianos. En el caso del trabajo realizado por García *et al* en 2018 logran degradar más del 90 % del sustrato utilizado como fuente de carbono superando a trabajos donde solo se usa un mismo tipo de cepa. Hernández *et al.*, 2018 también logra degradar el sustrato en un 93%. Esta información fue de gran utilidad a la hora de cambiar las dimensiones del biorreactor, pues para esta investigación se usa un volumen mayor.

### **8.2.2. Selección del material del Biorreactor**

Debido a las características recalcitrantes de la fuente de carbono y las características degenerativas del consorcio microbiano se usan biorreactores de vidrio, ya que el vidrio a diferencia de otros materiales es más resistente a los compuestos aromáticos.

Se usaron 4 biorreactores de 50 cm de alto x 10 cm de ancho x 2 mm de grosor y un volumen total de 3.9 L. Los biorreactores se operaron a 3.1 L, este volumen de trabajo fue obtenido por medio de la relación  $H/D = 4$ . Los difusores fueron de mangueras de silicón las cuales se sostuvieron por medio de varillas de vidrio (Figura 7).



**Figura 7.** Dimensiones del biorreactor por columna de burbuja empleado en la degradación de hidrocarburos

### 8.2.3. Características del Consorcio Microbiano

El consorcio microbiano descrito con anterioridad en la metodología fue cultivado en los cuatro biorreactores. El consorcio se adaptó de forma positiva tanto en medio mineral como en agua de mar. Tanto el diésel como el petróleo fueron degradados exitosamente, estos se describen como mayor detalle en la fase de cinéticas.

### 8.2.4. Selección de la fuente de carbono

Se eligieron al diésel y al petróleo crudo maya como sustrato que simula las mezclas de hidrocarburos determinados, el primero por ser considerado un combustible de lanchas que fungen como medio de trabajo y de transporte en la zona del río Bitzal, el diésel está constituido por hidrocarburos con fracciones de  $C_8$  a  $C_{21}$ , es considerado un combustible de fracción media, gran parte de los hidrocarburos identificados en el muestreo entre ellos el nonano, uno de los hidrocarburos con mayor concentración que fue encontrado. Por otra parte, el petróleo crudo maya fue seleccionado debido a que es un combustible conformado por una gran cantidad de hidrocarburos, que van de  $C_9$  a  $C_{70}$ , es considerado un hidrocarburo

de fracción pesada, debido a que se encontraron hidrocarburos como pentaceno y benzo[a]pireno, se escogió este hidrocarburo como representativo de mezclas más recalcitrantes (ALS Life Scientific, 2014).

### **8.2.5. Inoculación**

Se inoculó el consorcio microbiano en los cuatro reactores por columna de burbuja junto con  $13 \text{ g L}^{-1}$  de la fuente de carbono. Se usaron dos fuentes de carbono diésel y petróleo crudo maya, como se describió anteriormente. Se realizaron 3 lotes de cada uno por lo que se evaluaron 12 biorreactores esto con el fin de conocer la variación que puede existir en la degradación con respecto a las condiciones de operación ya mencionadas.

Para cada parámetro cinético se presentan los siguientes datos: sólidos suspendidos; fuente de carbono residual y actividad emulsificante. Se presentan barras de error, evidenciando que cada experimento se hizo por triplicado. Los parámetros mencionados ayudarán en la interpretación de

Sumado a lo anterior se presenta un modelo matemático que describe el comportamiento del experimento, este modelo fue seleccionado por medio del coeficiente de determinación ( $R^2$ ), se aplicaron tres modelos diferentes, Gompertz, Logístico y Van Bertalanffy (Valdivia *et al.*, 2019), el ajuste que más se acercara a un coeficiente de determinación 1, fue el seleccionado. Con estos modelos se obtuvieron los valores del tiempo de retención o fase lag ( $\lambda$ ), el tiempo de inflexión ( $T_i$ ) y la tasa máxima específica para cada tipo de cinética ( $\mu_{\text{máx}}$ ). Se realizaron tres lotes diferentes denominados A, B y C para cada análisis, tres para cada medio y cada sustrato, dando un total de evaluaciones.

## **8.3. FASE DE EVALUACIÓN DE CINÉTICAS**

### **8.3.1. Evaluación de los parámetros hidrocarbonoclasta usando diésel como fuente de carbono. LOTE A.**

En esta sección se muestran los resultados en la evaluación de la capacidad hidrocarbonoclasta de un consorcio microbiano. Se evaluó este comportamiento en dos medios distintos: medio mineral acondicionado de forma artificial con fuente de nitrógeno y un medio salino, agua de mar, en el cual no se agregó fuente de nitrógeno esto con el fin de

conocer el desempeño y limitaciones del consorcio en el cultivo. Los resultados obtenidos se muestran a continuación:

Para conocer los parámetros que describan el comportamiento de los experimentos y los datos obtenidos por medios de estos por medio de la operación del BCB, se aplican los modelos matemáticos descritos anteriormente. Los modelos con el mejor ajuste para cada conjunto de datos se emplearon para obtener los parámetros biológicos. Estos se describen en la tabla 7.

**Tabla 7.** Valores de R<sup>2</sup> del ajuste de modelos matemáticos a los datos experimentales durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono en medio mineral. El símbolo – indica un valor de R<sup>2</sup> menor a 0.5.

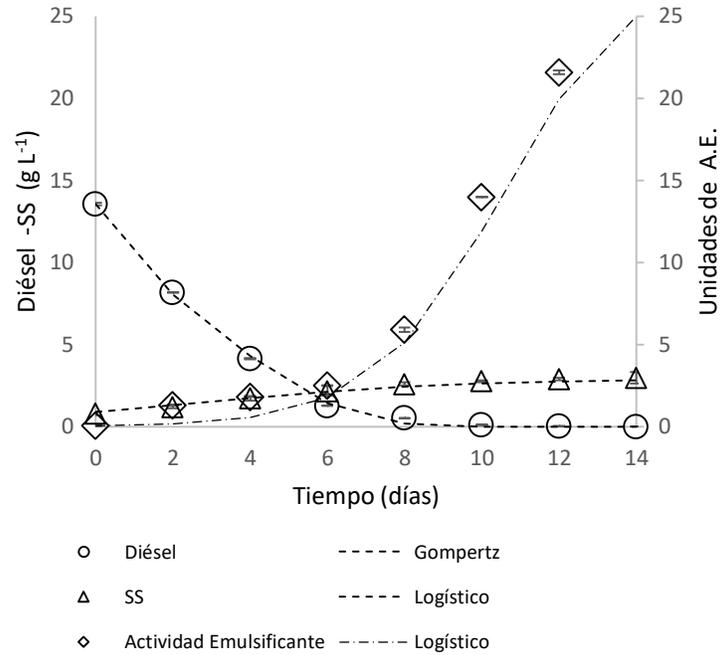
<b><i>Diésel Medio Mineral A</i></b>			
<b><i>Variable</i></b>	<b><i>Modelos matemáticos</i></b>		
	<b><i>Gompertz</i></b>	<b><i>Logístico</i></b>	<b><i>Van Bertalanffy</i></b>
<b>Sólidos suspendidos (R<sup>2</sup>)</b>	0.97	<b>0.99</b>	-
<b>Consumo de hidrocarburos (R<sup>2</sup>)</b>	<b>0.99</b>	0.98	0.88
<b>Actividad Emulsificante (R<sup>2</sup>)</b>	0.97	<b>0.99</b>	0.84

#### **a) Medio Mineral**

En la figura 8 se observa el crecimiento microbiano a lo largo del periodo de operación del BCB este crecimiento fue determinado por medio sólidos suspendidos, entendido esto como generación de biomasa microbiana y metabolitos extracelulares (Hernández *et al.*, 2019). Los sólidos suspendidos aumentaron de 0.80 g L<sup>-1</sup> a 2.95 ± 0.15 g L<sup>-1</sup> al finalizar el periodo de trabajo. La tasa promedio de sólidos suspendidos fue de 2.07 g L<sup>-1</sup>. Se ajustó el modelo logístico debido a que su coeficiente de determinación fue el más próximo a 1, con un valor de 0.99. Se observa un incremento en los sólidos suspendidos a partir del sexto día de operación esto debido al paso por la fase de adaptación del consorcio durante los primeros días del cultivo. En comparación con otro estudio (García *et al.*, 2019) donde se utiliza el mismo consorcio microbiano podemos observar que el incremento de biomasa sucede en la misma cantidad de días. Se generó menos cantidad de sólidos esto quizás se deba al cambio en el volumen del reactor y tiempo que se tarda en homogeneizar es más tardado para este BCB. Por medio del ajuste del modelo logístico se obtuvo el valor de fase lag ( $\lambda$ ) de 0.66 d, un tiempo de inflexión (Ti) de 2.66 d y una tasa de crecimiento máximo ( $\mu_{m\acute{a}x}$ ) de 0.31, valor

muy cercano a la tasa de crecimiento máximo reportado por *García, et al* en el 2019 al usar al hexano como fuente de carbono. Se observa que incluso después de que el diésel es consumido existe una ligera generación de biomasa puede interpretarse a la presencia de microorganismos por los que está constituido el consorcio, *marinobacterias* y *alcanivorax* por mencionar algunos (Maneerat, 2005). producen lípidos, glucosa y (Ron & Rosenberg, 2002) lipopolisacaridos entre otros bioemulsificantes que contribuyen a la degradación de hidrocarburos (Sakpute *et al.*, 2010). La degradación del diésel a lo largo del periodo de operación del reactor, se inoculo inicialmente con una concentración de  $13.0 \text{ g L}^{-1}$  de diésel, durante un periodo de 15 días (figura 8), la concentración al final del periodo de operación es de  $0.00 \text{ gr L}^{-1}$ , como se puede observar en la gráfica los microorganismos degradan el diésel en 8 días, este tiempo de degradación también fue observado en otra investigación donde se usó el mismo consorcio microbiano (*García et al.*, 2019). Para el octavo día el consorcio habría logrado degradar más del 95 % del diésel inoculado, en este trabajo se degrado totalmente en 8 días. Se obtuvo una tasa de consumo promedio de  $3.20 \text{ gr L}^{-1}$ . Para el consumo de diésel se usó el modelo de Gompertz, este modelo matemático fue el que más se ajustó al experimento, obteniendo un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0.99. El valor del tiempo Lag ( $\lambda$ ) fue de 0.96 d tiempo en el que comienza la degradación del diésel, el tiempo de inflexión ( $T_i$ ) tiene un valor de 2.60 d, mientras que el valor de  $Q_{\text{Max}}$  fue de  $4.69 \text{ d}^{-1}$ . El consorcio microbiano se adaptó en 23 h después de ser cultivado Se observa una tasa de crecimiento mayor (*García et al.*, 2019) que en otra investigación con el mismo consorcio microbiano cuya  $\mu_{\text{Max}}$  fue de  $1.47 \text{ d}^{-1}$ . Sin embargo, sus valores  $\lambda$  y  $T_i$  fueron más altos siendo 4 y 5 respectivamente (*García et al.*, 2019). Para el sexto día de operación *García, et al*, habían degradado el 74.6 % del diésel, en este trabajo al sexto día se logró degradar el 90 % de la fuente de carbono. También se observa una mayor degradación que otro estudio donde se realizaron cinéticas en un BCB donde se buscó degradar crudo maya donde las cinéticas obtenidas fueron  $\lambda=0.48 \text{ d}$  y  $Q_{\text{Max}}=0.44 \text{ d}$ , en ese trabajo no se eliminó completamente la fuente de carbono (*Hernández et al.*, 2019). Se puede observar que el crecimiento de solidos suspendidos es inversamente proporcional a la degradación del diésel, a medida que el diésel se degrada el aumenta el crecimiento de la biomasa, se observa que esto ocurre alrededor del segundo día. La degradación del diésel a lo largo del periodo de operación del reactor, se inoculo inicialmente con una concentración de  $13.0 \text{ g L}^{-1}$  de diésel, durante un periodo de 15

días, la concentración al final del periodo de operación es de 0.00 gr L<sup>-1</sup>, como se puede observar en la gráfica los microorganismos degradan el diésel en 8 días, este tiempo de degradación también fue observado en otra investigación donde se usó el mismo consorcio microbiano (García *et al.*, 2019). Para el octavo día el consorcio habría logrado degradar más del 95 % del diésel inoculado. Se obtuvo una tasa de consumo promedio de 3.20 gr L<sup>-1</sup>. Para el consumo de diésel se usó el modelo de Gompertz, este modelo matemático fue el que más se ajustó al experimento, obteniendo un coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) de 0.99. El valor del tiempo Lag ( $\lambda$ ) fue de 0.96 d tiempo en el que comienza la degradación del diésel, el tiempo de inflexión (Ti) tiene un valor de 2.60 d, mientras que el valor de Q<sub>Max</sub> fue de 4.69 d<sup>-1</sup>. El consorcio microbiano se adaptó en 23 h después de ser cultivado Se observa una tasa de crecimiento mayor. que en otra investigación con el mismo consorcio microbiano cuya  $\mu_{Max}$  fue de 1.47 d<sup>-1</sup>. Sin embargo, sus valores  $\lambda$  y Ti fueron más altos siendo 4 y 5 respectivamente (García *et al.*, 2019). Para el sexto día de operación García, et al, habían degradado el 74.6 % del diésel, en este trabajo al sexto día se logró degradar el 90 % de la fuente de carbono. También se observa una mayor degradación que otro estudio donde se realizaron cinéticas en un BCB donde se buscó degradar crudo maya donde las cinéticas obtenidas fueron  $\lambda=0.48$  d y  $Q_{Max}=0.44$  d, en ese trabajo no se eliminó completamente la fuente de carbono, esto quizás se deba porque en ese estudio se trabajó con medio salino y se degrado crudo maya el cual es más recalcitrante que el diésel (Hernández *et al.*, 2019). Se puede observar que el crecimiento de solidos suspendidos es inversamente proporcional a la degradación del diésel, a medida que el diésel se degrada el aumenta el crecimiento de la biomasa, se observa que esto ocurre alrededor del segundo día.



**Figura 8.** Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo residual total y actividad emulsificante. Las barras de error indican que todos los análisis se realizaron por triplicado. En la ordenada de la izquierda se indica el crecimiento microbiano y el consumo de hidrocarburos. En la ordenada de la derecha se muestra la actividad emulsificante.

**Tabla 8.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono y medio mineral.

Diésel Medio Mineral A	
Parámetro	Sólidos suspendidos
$\lambda$ (d)	0.67
$\mu_{Max}$ (d <sup>-1</sup> )	0.32
Ti (d)	2.67
Parámetro	Consumo de hidrocarburos
$\lambda$ (d)	0.96
$Q_{Max}$ (d <sup>-1</sup> )	1.93
Ti (d)	2.61
Parámetro	Actividad emulsificante
$\lambda$ (d)	8.83
$AE_{Max}$ (d <sup>-1</sup> )	6.18
Ti (d)	10.5

### b) Agua de mar

Para conocer los parámetros que describan el comportamiento de los experimentos y los datos obtenidos por medios de estos por medio de la operación del BCB, se aplican los modelos

matemáticos descritos anteriormente. Los modelos con el mejor ajuste para cada conjunto de datos se emplearon para obtener los parámetros biológicos. Estos se describen en la tabla 9.

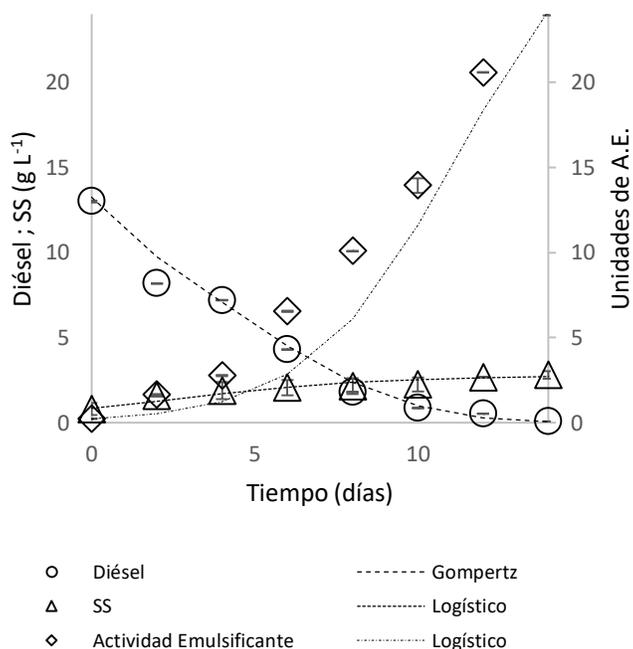
**Tabla 9.** Valores de  $R^2$  del ajuste de modelos matemáticos a los datos experimentales durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono en agua de mar. El símbolo – indica un valor de  $R^2$  menor a 0.5.

<b>Diésel Agua de mar A</b>			
<b>Variable</b>	<b>Modelos matemáticos</b>		
	<b>Gompertz</b>	<b>Logístico</b>	<b>Van Bertalanffy</b>
<b>Sólidos suspendidos (<math>R^2</math>)</b>	0.90	<b>0.91</b>	-
<b>Consumo de hidrocarburos (<math>R^2</math>)</b>	<b>0.98</b>	0.98	0.84
<b>Actividad Emulsificante (<math>R^2</math>)</b>	0.94	<b>0.97</b>	0.72

El cultivo de la biomasa se observa en términos de sólidos suspendidos, estos fueron evaluados a lo largo del periodo de operación del BCB, 15 días (figura 9). Los sólidos suspendidos aumentaron de  $0.80 \text{ g L}^{-1}$  a  $2.70 \pm 0.10 \text{ g L}^{-1}$  al finalizar el periodo de trabajo. La tasa promedio de sólidos suspendidos fue de  $2.02 \text{ g L}^{-1}$ . Se observa un incremento en los sólidos suspendidos a partir del octavo día de operación. En comparación con otro estudio (García *et al.*, 2019) donde se utiliza el mismo consorcio microbiano podemos observar que el incremento de biomasa sucede dos días después, de igual forma se generó menos de sólidos suspendidos en nuestro trabajo, podemos suponer que se debe al volumen del BCB, puesto que el BCB que usamos es 3 veces más grande que el usado por García, et al, y por ende el cultivo demora en homogeneizarse. Por medio de un ajuste de un modelo matemático, se obtuvieron las cinéticas, para los SS se usó el modelo logístico pues se obtuvo un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) más cercano a 1, con un valor de 0.910. Se obtuvo el valor de fase lag ( $\lambda$ ) de 0.08 d, un tiempo de inflexión ( $T_i$ ) de 3.50 d y una tasa de crecimiento máximo ( $\mu_{\text{máx}}$ ) de 0.24, mientras que García et al., obtuvo un  $\mu_{\text{máx}}$  de 0.35. Se observa que en agua de mar la fase de retención es más corta que en el medio mineral, en contraste la velocidad máxima se alcanza un día después que en el experimento con medio mineral, en cuando a la tasa de crecimiento máximo presenta valores menores que en el caso con medio mineral, esto se debe a que el consorcio ha sido reportado con mejores resultados en un ambiente con fuente de nitrógeno (Lizardi *et al.*, 2016). Al igual que en el BCB con medio mineral se observó que la generación de biomasa microbiana siguió aumentando ligeramente aun cuando el diésel

había sido degradado esto se debe a como se explicó anteriormente a la capacidad que tienen los microorganismos presentes en el consorcio microbiano producen bioestimulantes que contribuyen a la degradación de hidrocarburos. Se presenta la degradación del diésel a lo largo del periodo de operación del reactor usando agua de mar en un BCB, se inoculó inicialmente con una concentración de  $13 \text{ g L}^{-1}$  de diésel, durante un periodo de 15 días, la concentración al final del periodo de operación es de  $0.07 \text{ gr L}^{-1}$ , como se puede observar en la gráfica los microorganismos degradan el diésel en 12 días. Para el décimo día el consorcio habría logrado degradar más del 93 % del diésel inoculado. Se obtuvo una tasa de consumo promedio de  $4.49 \text{ gr L}^{-1}$ . Para el consumo de diésel se usó el modelo de Gompertz, se realizó un ajuste con respecto al experimento, obteniendo un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0.98. El valor del tiempo de retención o tiempo Lag ( $\lambda$ ) fue de 2.52 d tiempo en el que comienza la degradación del diésel, el tiempo de inflexión ( $T_i$ ) tiene un valor de 3.35 d, mientras que el valor de  $Q_{\text{Max}}$  fue de  $1.35 \text{ d}^{-1}$ . El consorcio microbiano se adaptó en un tiempo aproximado de 2 días. Se observa una tasa de crecimiento menor que la reportada en otra investigación que usó diésel con agua de mar cuya  $\mu_{\text{Max}}$  fue de  $1.47 \text{ d}^{-1}$  (García *et al.*, 2019), se observan unas cinéticas más lentas en comparación con las cinéticas elaboradas en medio mineral. También se observa una mayor degradación que otro estudio donde se realizaron cinéticas en un BCB donde se buscó degradar crudo maya donde no se eliminó completamente la fuente de carbono (Hernández *et al.*, 2019). La actividad emulsificante fue evaluada durante un periodo de operación de 15 días en un BCB, se observó que a medida que el diésel se degradó la actividad emulsificante iba aumentando considerablemente, el valor de la tasa promedio de la actividad emulsificante a lo largo del periodo de operación del reactor fue de  $10.0 \text{ g L}^{-1}$ . La actividad emulsificante durante los primeros 6 días fue relativamente baja, no fue hasta el octavo día que presenta un incremento. Se usó el modelo logístico para predecir el comportamiento experimental de la actividad emulsificante, su coeficiente de determinación ( $R^2$ ) es de 0.97. El tiempo Lag ( $\lambda$ ) tuvo un valor de 8.90 d, valor que comprueba el tiempo que tarda la actividad emulsificante en incrementar, el tiempo de inflexión ( $T_i$ ) tuvo un valor de  $11.7 \text{ d}^{-1}$ , y el valor de  $AE_{\text{Max}}$  fue de  $5.07 \text{ d}^{-1}$ . Por medio de los parámetros obtenidos y el modelo matemático se evalúa la cronología del consorcio microbiano cultivado en el BCB, en este se puede describir de la siguiente manera: cerca de las 2 h aproximadamente de ser cultivado el consorcio microbiano comienza el crecimiento

bacteriano y la producción de biomasa (SS), 2 días después de esto comienza la degradación de la fuente de carbono, en este caso el diésel. A los 3 días y 8 h aproximadamente se alcanzan la velocidad máxima de crecimiento y la velocidad máxima de consumo. A los 9 días comienza el incremento de la actividad emulsificante, a los 10 días se comienza a estabilizar el crecimiento de biomasa a los 11 días se alcanza la velocidad máxima de actividad emulsificante y en el mismo día la degradación del diésel es consumido. Se observa que entre el tercer y cuarto día posterior al cultivo comienzan a incrementar las cinéticas del BCB. Se observa que las cinéticas en medio mineral presentan mejor rendimiento que las cinéticas llevadas en agua de mar, sin embargo, la diferencia entre ambas es mínima.



**Figura 9.** Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando agua de mar y diésel como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En la ordenada derecha se muestra la actividad emulsificante.

**Tabla 10.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono y medio agua de mar.

<b>Diésel Medio Salino A</b>	
<b>Parámetro</b>	<b>Sólidos suspendidos</b>
Lag (d)	0.08
$\mu_{Max}$ (d <sup>-1</sup> )	0.24
Ti (d)	3.50
<b>Parámetro</b>	<b>Consumo de hidrocarburos</b>
Lag (d)	2.53
$Q_{Max}$ (d <sup>-1</sup> )	1.35
Ti (d)	3.35
<b>Parámetro</b>	<b>Actividad emulsificante</b>
Lag (d)	8.91
$AE_{Max}$ (d <sup>-1</sup> )	5.07
Ti (d)	11.2

### 8.3.2. Evaluación de los parámetros usando petróleo crudo maya como fuente de carbono. LOTE A.

En esta sección se muestran los resultados en la evaluación de la capacidad hidrocarbonoclasta de un consorcio microbiano con dos diferentes medios: Medio mineral y agua de mar. Usando petróleo crudo maya como fuente de carbono. Se evaluó el crecimiento microbiano, el consumo de hidrocarburos y la actividad emulsificante.

#### a) Medio mineral

Para conocer los parámetros que describan el comportamiento de los experimentos y los datos obtenidos por medios de estos por medio de la operación del BCB Los modelos con el mejor ajuste para cada conjunto de datos se emplearon para obtener los parámetros biológicos.

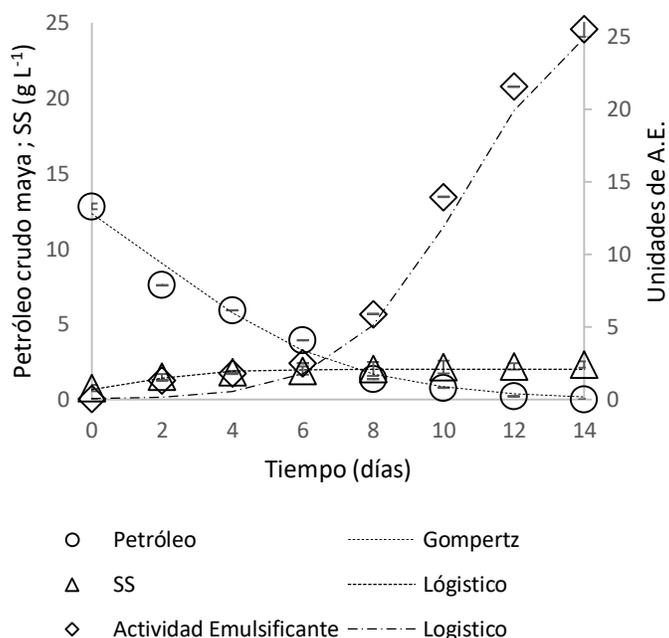
**Tabla 11.** Valores de R<sup>2</sup> del ajuste de modelos matemáticos a los datos experimentales durante el periodo de trabajo usando petróleo crudo maya como fuente de carbono en medio mineral. El símbolo – indica un valor de R<sup>2</sup> menor a 0.5.

<b>Petróleo Crudo Maya Medio Mineral A</b>			
<b>Variable</b>	<b>Modelos matemáticos</b>		
	<b>Gompertz</b>	<b>Logístico</b>	<b>Van Bertalanffy</b>
<b>Sólidos suspendidos (R<sup>2</sup>)</b>	0.94	<b>0.94</b>	-
<b>Consumo de hidrocarburos (R<sup>2</sup>)</b>	0.97	<b>0.97</b>	0.59
<b>Actividad Emulsificante (R<sup>2</sup>)</b>	<b>0.98</b>	0.94	0.74

A continuación, se presenta el crecimiento microbiano a lo largo del periodo de operación del BCB (figura 10) este crecimiento fue determinado por medio de sólidos suspendidos. Estas cinéticas aumentaron de  $0.8 \text{ g L}^{-1}$  al inicio de la operación a  $2.40 \pm 0.31 \text{ g L}^{-1}$  al finalizar el periodo de trabajo. La tasa promedio de sólidos suspendidos fue de  $1.82 \text{ g L}^{-1}$ . Se ajustó el modelo logístico debido a que su coeficiente de determinación fue 0.94. En este caso hay un incremento de SS en el cuarto día del cultivo, tiempo que tardó el consorcio microbiano en adaptarse en el cultivo. Por medio del ajuste del modelo logístico se obtuvo el valor del tiempo lag ( $\lambda$ ) de 0.37 d, un tiempo de inflexión ( $T_i$ ) de 0.87 d y una tasa de crecimiento máximo ( $\mu_{\text{máx}}$ ) de 0.61. Se observa que al igual que en los BCB que utilizaron diésel como fuente de carbono el incremento de sólidos suspendidos continuó después de los 12 días en los cuales el petróleo fue ya habido sido degradado, lo anterior se explica anteriormente como la capacidad que tienen los microorganismos de producir bioemulsificantes. Los resultados obtenidos en otro trabajo elaborado por Hernández, et al. En el 2019 reportan las cinéticas para la degradación de crudo maya en un BCB, se reportó una remediación de un 70 %, se hace mención que no se pudo eliminar el crudo en su totalidad, en comparación con este trabajo, los parámetros obtenidos fueron de un tiempo lag ( $\lambda$ ) de 2.1 d y un  $\mu_{\text{máx}}$  de  $0.76 \text{ d}^{-1}$ , esto puede deberse a la diferencia que existe entre las fuentes de carbono empleadas. En la evaluación de la degradación del petróleo fue, se inoculó inicialmente con una concentración de  $13.0 \text{ g L}^{-1}$  de diésel, durante un periodo de 15 días, la concentración al final del periodo de operación es de  $0.03 \text{ g L}^{-1}$ , como se puede observar en la gráfica los microorganismos degradaron casi por completo el petróleo en el doceavo día de cultivo. Se obtuvo una tasa de consumo promedio de  $4.07 \text{ g L}^{-1}$  y degradó el 94% para el décimo día de operación. Para el consumo de diésel se utilizó el modelo de Gompertz, al cual se realizó un ajuste con respecto al experimento, obteniendo un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0.97. El valor del tiempo de retención o tiempo Lag ( $\lambda$ ) fue de 0.74 d tiempo en el que comienza la degradación del diésel, el tiempo de inflexión ( $T_i$ ) tiene un valor de 1.91 d, mientras que el valor de la tasa de consumo máximo ( $Q_{\text{Max}}$ ) fue de  $2.63 \text{ d}^{-1}$ . El consorcio microbiano se adaptó en un tiempo aproximado de 17 h. Se comparan los resultados con el trabajo de Hernández, et al., en donde se obtuvo una tasa de consumo máximo de  $0.44 \text{ d}^{-1}$  y un tiempo lag ( $\lambda$ ) 0.48 d, el consorcio que usaron para la degradación tardó 34 h en comenzar a degradar la fuente de carbono, en

nuestra investigación se observa que el consorcio microbiano utilizado comienza la degradación en 17 h. La degradación de petróleo comenzó a acelerarse en el octavo día para finalmente lograrlo en el doceavo. Se evaluó la actividad emulsificante durante un periodo de operación de 15 días teniendo como sustrato el petróleo crudo maya y usando medio mineral (figura 10), a medida que el petróleo se degrada la actividad emulsificante iba aumentando considerablemente. La actividad emulsificante durante los primeros 4 días fue relativamente baja posteriormente a este día se observaron sobre la fase acuosa y la oleosa pequeñas emulsiones suspendidas inmiscibles y la coloración del cultivo se tornó más claro. Los hidrocarburos cuando están presentes en un cultivo tienden a aumentar la eficiencia de eliminación y la biosíntesis de biosurfactantes (Martínez *et al.*, 2015). Los bioemulsionantes pueden emulsionar hidrocarburos mejorando su solubilidad en agua (Satpute *et al.*, 2009). El valor de la tasa promedio de la actividad emulsificante a lo largo del periodo de operación del reactor fue de  $9.08 \text{ g L}^{-1}$ . Para evaluar los parámetros cinéticos de la actividad emulsificante se usó el modelo logístico con el fin de predecir el comportamiento experimental de la actividad emulsificante, se usó este modelo matemático debido a que el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) que más se ajustó tuvo un valor de 0.98. El tiempo Lag ( $\lambda$ ) tuvo un valor de 6.82 d, el tiempo de inflexión ( $T_i$ ) tuvo un valor de  $13.7 \text{ d}^{-1}$  y el valor de  $AE_{\text{Max}}$  fue de  $4.04 \text{ d}^{-1}$ . El tiempo en que la actividad emulsificante comienza es tardado similar al del medio mineral. Por medio de los parámetros cinéticos obtenidos con el modelo matemático, se evalúa la cronología del consorcio microbiano cultivado en el BCB usando petróleo crudo maya como fuente de carbono y medio mineral, se describen de la siguiente manera: cerca de las 9 h aproximadamente de ser cultivado el consorcio microbiano comienza el crecimiento bacteriano y la generación de biomasa (SS), 6 h después de lo anterior el consorcio comienza la degradación de petróleo crudo maya, a las 17 h de ser cultivado. A las 21 h aproximadamente se alcanzan la velocidad máxima de crecimiento de biomasa, en 45 h alcanza la velocidad máxima de consumo. Aproximadamente el día 5 se comienza a estabilizar el crecimiento microbiano, es a los 6 días comienza el incremento de la actividad emulsificante, en el décimo día se ha degradado en más del 90 % el petróleo, 3 días después se alcanza la velocidad máxima de actividad emulsificante y en el mismo día la degradación del diésel es completamente consumido. Los parámetros evaluados con diésel como fuente de carbono muestran que los resultados de sólidos suspendidos fueron más altos en

comparación con los resultados donde se usó petróleo crudo maya como fuente de carbono. Los parámetros para el petróleo se llevaron en tiempos similares, por ejemplo, el tiempo lag de los sólidos suspendidos usando diésel como fuente de carbono fue 0.08 d y en el petróleo de 0.37 d, ambos casos fueron inferiores a un día de operación, en el caso del petróleo podemos suponer que se debe a que este es una mezcla más compleja con relación al diésel. Sin embargo, el tiempo de inflexión para el diésel fue de 2.66 d mientras que el tiempo de inflexión para el petróleo fue 0.87 d. En términos de consumo podemos observar que el tiempo lag del diésel fue de 0.96 mientras que para el petróleo fue de 0.74 d, en este punto se puede entender que el sustrato en el petróleo a pesar de ser más recalcitrante genero un esfuerzo en la capacidad hidrocarbonoclasta del consorcio que termino por acelerar el periodo de adaptación en comparación con el diésel. En términos de actividad emulsificante el tiempo en que demoro en incrementar fue menor en el petróleo crudo maya con respecto al diésel, el modelamiento matemático nos dejó conocer los parámetros en los cuales podemos observar que el diésel obtuvo un valor en su tiempo lag de 8.80 d y el petróleo crudo maya un tiempo lag de 6.82 d.



**Figura 10.** Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando medio mineral y petróleo crudo maya como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En la ordenada derecha se observan el consumo de hidrocarburos y el crecimiento microbiano y en la ordenada izquierda se observa la actividad emulsificante.

**Tabla 12.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando petróleo crudo maya como fuente de carbono y medio mineral.

<b>Petróleo Medio Mineral A</b>	
<b>Parámetro</b>	<b>Sólidos suspendidos</b>
Lag (d)	0.38
$\mu_{Max}$ (d <sup>-1</sup> )	0.62
Ti (d)	0.88
<b>Parámetro</b>	<b>Consumo de hidrocarburos</b>
Lag (d)	0.74
$Q_{Max}$ (d <sup>-1</sup> )	2.63
Ti (d)	1.91
<b>Parámetro</b>	<b>Actividad emulsificante</b>
Lag (d)	6.83
$AE_{Max}$ (d <sup>-1</sup> )	4.05
Ti (d)	13.7

**b) Agua de mar.**

Para conocer los parámetros que describan el comportamiento de los experimentos y los datos obtenidos por medios de estos por medio de la operación del BCB, se aplican los modelos matemáticos descritos anteriormente. Los modelos con el mejor ajuste para cada conjunto de datos se emplearon para obtener los parámetros biológicos. Estos se describen en la tabla 13.

**Tabla 13.** Valores de R<sup>2</sup> del ajuste de modelos matemáticos a los datos experimentales durante el periodo de trabajo usando petróleo crudo maya como fuente de carbono en agua de mar. El símbolo – indica un valor de R<sup>2</sup> menor a 0.5.

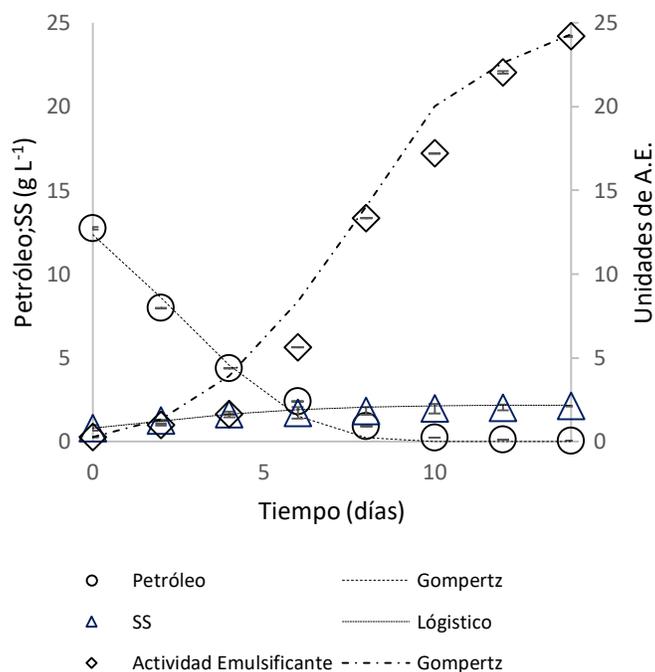
<b>Petróleo Crudo Maya Medio Salino A</b>			
<b>Variable</b>	<b>Modelos matemáticos</b>		
	<b>Gompertz</b>	<b>Logístico</b>	<b>Van Bertalanffy</b>
<b>Sólidos suspendidos (R<sup>2</sup>)</b>	0.97	<b>0.97</b>	0.73
<b>Consumo de hidrocarburos (R<sup>2</sup>)</b>	<b>0.99</b>	0.99	0.75
<b>Actividad Emulsificante (R<sup>2</sup>)</b>	<b>0.98</b>	0.97	-

En la figura 11 se presenta el crecimiento microbiano a lo largo del periodo de operación del BCB. Los resultados en las cinéticas van del inicio del cultivo con 0.80 g L<sup>-1</sup> a 2.11 ± 0.01 g L<sup>-1</sup> al finalizar el periodo de operación. La tasa promedio de sólidos suspendidos fue de 1.82 g L<sup>-1</sup>. Se aplicó modelamiento matemático siendo el modelo logístico el ajustado ya que su coeficiente de determinación fue el más próximo a 1, con un valor de 0.94. En este caso hay

un incremento de SS en el cuarto día del cultivo. Por medio del ajuste del modelo logístico se obtuvo el valor de fase lag ( $\lambda$ ) de 0.18 d, un tiempo de inflexión (Ti) de 1.24 d y una tasa de crecimiento máximo ( $\mu_{\text{máx}}$ ) de 0.51. En la figura 14 se observa la evaluación de la degradación del petróleo crudo maya a lo largo del periodo de operación del BCB usando agua de mar, se inoculo inicialmente con una concentración de  $13.0 \text{ g L}^{-1}$  de diésel, durante un periodo de 15 días, la concentración al final del periodo de operación es de  $0.02 \text{ gr L}^{-1}$ , como se puede observar en la gráfica los microorganismos degradaron casi por completo el petróleo en el doceavo día de cultivo. Se obtuvo una tasa de consumo promedio de  $3.59 \text{ gr L}^{-1}$  y degrado el 98 % para el décimo día de operación. Para el consumo de diésel se utilizó el modelo de Gompertz, al cual se realizó un ajuste con respecto al experimento, obteniendo un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0.97. El valor del tiempo de retención o tiempo Lag ( $\lambda$ ) fue de 0.96 d tiempo en el que comienza la degradación del diésel, el tiempo de inflexión (Ti) tiene un valor de 2.60 d, mientras que el valor de  $Q_{\text{Max}}$  fue de  $2.05 \text{ d}^{-1}$ . El consorcio microbiano se adaptó en un tiempo aproximado de 23 h. Se evaluó la actividad emulsificante durante un periodo de operación de 15 días teniendo como sustrato el petróleo crudo maya y usando agua de mar como medio (figura 11), a medida que el petróleo se degrado la actividad emulsificante iba aumentando considerablemente, el valor de la tasa promedio de la actividad emulsificante a lo largo del periodo de operación del reactor fue de  $9.08 \text{ g L}^{-1}$ . Se observa que a medida que el petróleo se consumía la actividad emulsificante se incrementó, para evaluar los parámetros cinéticos de la actividad emulsificante se usó el modelo logístico para predecir el comportamiento experimental, se usó este modelo matemático debido a que el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) que más se ajusto tuvo un valor de 0.98. El tiempo Lag ( $\lambda$ ) tuvo un valor de 3.36 d, el tiempo de inflexión (Ti) tuvo un valor de  $8.71 \text{ d}^{-1}$  y el valor de  $AE_{\text{Máx}}$  fue de  $3.02 \text{ d}^{-1}$ . El tiempo en que la actividad emulsificante tarda en incrementar también es largo sin embargo el consorcio microbiano logra que el tiempo de retención sea menor que en el que se usó diésel como fuente de carbono. Con los parámetros obtenidos por el modelo matemático, se evalúa la cronología del consorcio microbiano cultivado en el BCB usando petróleo como fuente de carbono y agua de mar como medio, lo anterior se describe de la siguiente manera: cerca de las 4 h aproximadamente de ser cultivado el consorcio microbiano comienza la generación de biomasa (SS), a las 23 del cultivo el consorcio microbiano comienza la degradación del petróleo crudo maya. Un día y 5 h

después se alcanzan la velocidad máxima de crecimiento de biomasa, en dos días y 15 h se alcanza la velocidad de consumo. Después del octavo día se comienza a estabilizar el crecimiento microbiano, en ese mismo día se ve un incremento en la degradación, eliminando en un 90% al petróleo crudo maya, también en el octavo día se alcanza la velocidad máxima de actividad emulsificante y dos días después el diésel es completamente consumido. Existe similitud entre los resultados evaluados en agua de mar y usando dos fuentes de carbono distintas, diésel y petróleo crudo maya. Los parámetros obtenidos con diésel como fuente de carbono muestran que los resultados de sólidos suspendidos fueron más altos en comparación con los resultados donde se usó petróleo crudo maya como fuente de carbono. Las cinéticas para el petróleo se llevaron en tiempos similares, por ejemplo, el tiempo lag de los sólidos suspendidos usando diésel como fuente de carbono fue 0.08 d y en el petróleo de 0.18 d, ambos casos fueron inferiores a un día de operación tan solo separados por 3 horas, en el caso del petróleo podemos suponer que se debe a que este es una mezcla más compleja con relación al diésel. Sin embargo, el tiempo de inflexión para el diésel fue de 3.5 d mientras que el tiempo de inflexión para el petróleo fue 1.14 d. En términos de consumo podemos observar que el tiempo lag del diésel fue de 2.52 mientras que para el petróleo fue de 0.96 d, podemos observar que existe una similitud entre los resultados registrados con medio mineral, en este punto se puede entender que el sustrato en el petróleo a pesar de ser más recalcitrante generó un esfuerzo en la capacidad hidrocarbonoclasta del consorcio que terminó por acelerar el periodo de adaptación en comparación con el diésel, sustrato con el cual las bacterias ya habían estado familiarizadas en otra investigación anterior (García, *et al.*, 2019). En la actividad emulsificante el tiempo en que demoró en incrementar fue menor en el petróleo crudo maya con respecto al diésel, el modelamiento matemático nos dejó conocer los parámetros en los cuales podemos observar, el diésel obtuvo un valor en su tiempo lag de 8.91 d y el petróleo crudo maya un tiempo lag de 3.36 d. En ambos casos podemos ver una ligera variación de tiempo, sin embargo, el tiempo que tarda en incrementar la actividad emulsificante se la relaciona con el tiempo que tarda en degradar la fuente de carbono. Con respecto a la comparación que existe entre los dos medios usando como sustrato petróleo crudo maya se observa que los resultados en los sólidos suspendidos fueron ligeramente superiores en agua de mar, la degradación de petróleo se logró de igual forma

para ambos medios con una variación final de  $0.02 \pm 0.01 \text{ g L}^{-1}$ . La actividad emulsificante tiene un valor que va de  $25.5 \pm 24.2$  para medio mineral y agua de mar respectivamente.



**Figura 11.** Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando agua de mar y petróleo crudo mayal como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En la ordenada derecha se observan el consumo de hidrocarburos y el crecimiento microbiano, en la ordenada izquierda se observa la actividad emulsificante.

**Tabla 14.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando petróleo crudo maya como fuente de carbono y agua de mar.

Petróleo Medio Salino A	
Parámetro	Sólidos suspendidos
Lag (d)	0.19
$\mu_{\text{Max}}$ ( $\text{d}^{-1}$ )	0.51
Ti (d)	1.24
Parámetro	Consumo de hidrocarburos
Lag (d)	0.96
$Q_{\text{Max}}$ ( $\text{d}^{-1}$ )	2.06
Ti (d)	2.61
Parámetro	Actividad emulsificante
Lag (d)	3.37
$AEM_{\text{Max}}$ ( $\text{d}^{-1}$ )	3.03
Ti (d)	8.72

### 8.3.4. Evaluación de los parámetros hidrocarbonoclasta usando diésel como fuente de carbono. LOTE B.

En esta sección se muestran los resultados en la evaluación de la capacidad hidrocarbonoclasta de un consorcio microbiano con dos diferentes medios: Medio mineral y agua de mar. Usando diésel crudo maya como fuente de carbono. Se evaluó el crecimiento microbiano, el consumo de hidrocarburos y la actividad emulsificante.

#### a) Medio mineral

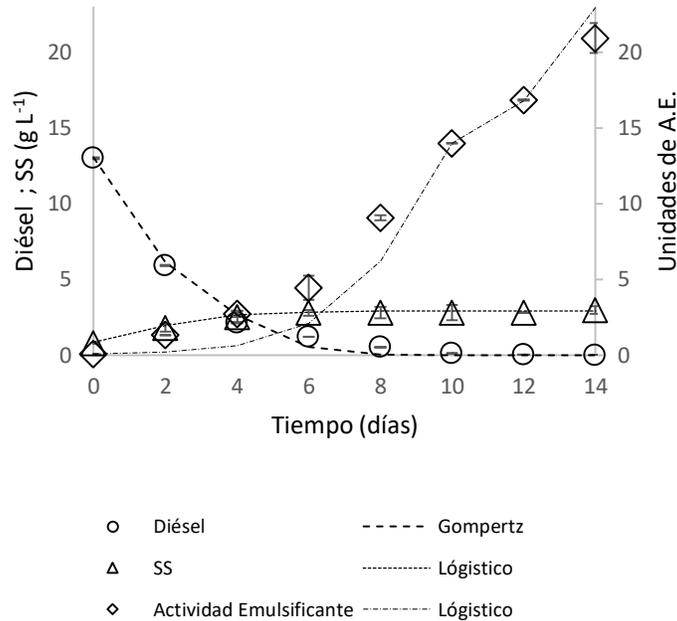
Para conocer los parámetros que describan el comportamiento de los experimentos y los datos obtenidos por medios de estos por medio de la operación del BCB, se aplican los modelos matemáticos descritos anteriormente. Los modelos con el mejor ajuste para cada conjunto de datos se emplearon para obtener los parámetros biológicos. Estos se describen en la tabla 15.

**Tabla 15.** Valores de  $R^2$  del ajuste de modelos matemáticos a los datos experimentales durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono en medio mineral. El símbolo – indica un valor de  $R^2$  menor a 0.5.

<b>Diésel Medio Mineral B</b>			
<b>Variable</b>	<b>Modelos matemáticos</b>		
	<b>Gompertz</b>	<b>Logístico</b>	<b>Van Bertalanffy</b>
<b>Sólidos suspendidos (<math>R^2</math>)</b>	0.84	<b>0.96</b>	0.77
<b>Consumo de hidrocarburos (<math>R^2</math>)</b>	<b>0.99</b>	0.99	0.65
<b>Actividad Emulsificante (<math>R^2</math>)</b>	0.96	<b>0.98</b>	0.78

La Figura 12 muestra el crecimiento microbiano evaluado en sólidos en suspensión. Los sólidos suspendidos aumentaron de  $0.80 \text{ g L}^{-1}$  a  $2.90 \text{ g L}^{-1}$ . La tasa promedio de sólidos en suspensión fue  $2.41 \text{ g L}^{-1}$ . Se utilizó el modelo logístico con un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0.96. Se observa un comportamiento estable a partir del segundo día de operación. Mediante el ajuste del modelo logístico, se obtuvo el valor de la fase de retraso ( $\lambda$ ) de 0.13 d, un tiempo de inflexión ( $T_i$ ) de 1.13 d y una tasa de crecimiento máxima ( $\mu_{\text{Max}}$ ) de  $0.85 \text{ d}^{-1}$ . Se observa que incluso después de consumir diesel hay una ligera generación de biomasa. Los géneros para los que está constituido el consorcio marinobacter y alcanivorax producen lípidos de glucosa y lipopolisacáridos entre otros bioemulsionantes que estimulan el crecimiento microbiano. Se degradó una concentración de  $13.0 \text{ g L}^{-1}$  de diésel a una

concentración final de 0.00 gr L<sup>-1</sup>. Diésel degradado en 8 días, mismo periodo que el lote A. Se obtuvo una tasa promedio de consumo de 2.86 g L<sup>-1</sup>. El modelo Gompertz se utilizó para el consumo de diésel, con un coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) de 0.99. El valor de tiempo Lag ( $\lambda$ ) fue 0.94 d tiempo en el que comienza la degradación del diésel, el tiempo de inflexión (Ti) tiene un valor de 2.19 d y la tasa de consumo máximo (Q<sub>Max</sub>) de 1.85 d<sup>-1</sup>. El consorcio microbiano se adaptó dentro de las 22 h posteriores al cultivo. La actividad emulsionante resultó con valores de 0.05 a 20.9. La tasa promedio de actividad emulsionante durante el período de operación del reactor fue de 8.66 g L<sup>-1</sup>. La actividad emulsionante fue incrementando a lo largo del periodo de operación. Al igual que en el lote A se observaron pequeñas emulsiones suspendidas en la fase acuosa y la oleosa, esto se debe a que los microorganismos que producen biosurfactantes crean su propio microambiente y promueven la emulsificación. El modelo logístico se utilizó para predecir el comportamiento experimental de la actividad emulsionante, el coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) fue de 0.98. El tiempo de retraso ( $\lambda$ ) fue de 8.41 d, el tiempo de inflexión (Ti) fue de 10.0 d, y AE<sub>Max</sub> fue de 6.49 d<sup>-1</sup>. Los parámetros anteriores permiten conocer el comportamiento del cultivo a lo largo del periodo de operación: en 3 h después del cultivo, el consorcio microbiano comienza con el crecimiento microbiano, 22 h después de que comienza la degradación del diésel. Al siguiente día del cultivo se alcanza la tasa máxima de crecimiento. 2 días y 4 h después surge la velocidad máxima de consumo. A los 7 días y 18 h comienza el aumento de la actividad emulsificante. En 10 días se alcanza la velocidad máxima de la actividad emulsionante y en el mismo día se consume el diésel.



**Figura 12.** Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando medio mineral y diésel como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En la ordenada derecha se observa el consumo de hidrocarburo y el crecimiento microbiano, en la ordenada izquierda se muestra la actividad emulsificante.

**Tabla 16.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono y medio mineral.

Diésel Medio Mineral B	
Parámetro	Sólidos suspendidos
Lag (d)	0.13
$\mu_{Max}$ (d <sup>-1</sup> )	0.85
Ti (d)	1.13
Parámetro	Consumo de hidrocarburos
Lag (d)	0.94
$Q_{Max}$ (d <sup>-1</sup> )	1.85
Ti (d)	2.19
Parámetro	Actividad emulsificante
Lag (d)	8.41
$AE_{Max}$ (d <sup>-1</sup> )	6.49
Ti (d)	10.00

### b) Agua de mar

Para conocer los parámetros que describan el comportamiento de los experimentos y los datos obtenidos por medios de estos por medio de la operación del BCB, se aplican los modelos

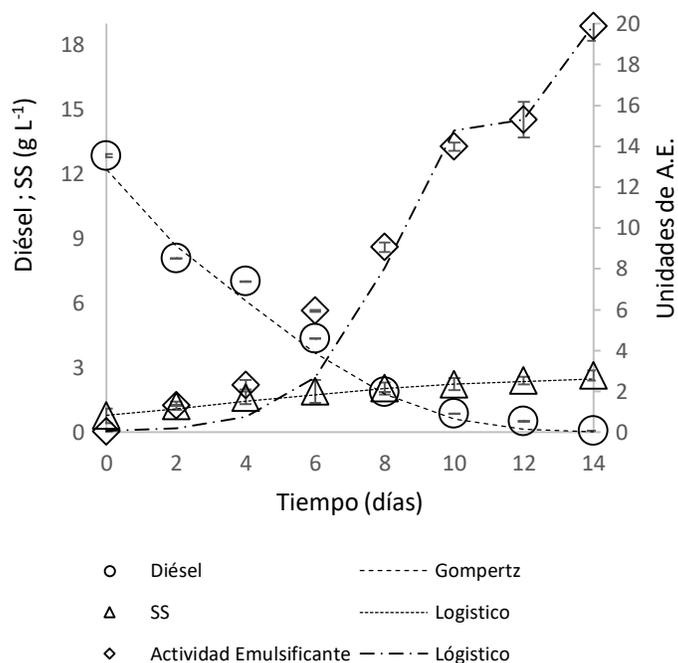
matemáticos descritos anteriormente. Los modelos con el mejor ajuste para cada conjunto de datos se emplearon para obtener los parámetros biológicos. Estos se describen en la tabla 17.

**Tabla 17.** Valores de  $R^2$  del ajuste de modelos matemáticos a los datos experimentales durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono en agua de mar. El símbolo – indica un valor de  $R^2$  menor a 0.5.

<b>Agua de mar B</b>			
<b>Variable</b>	<b>Modelos matemáticos</b>		
	<b>Gompertz</b>	<b>Logístico</b>	<b>Van Bertalanffy</b>
<b>Sólidos suspendidos (<math>R^2</math>)</b>	0.9636	<b>0.982</b>	0.7595
<b>Consumo de hidrocarburos (<math>R^2</math>)</b>	<b>0.9885</b>	0.9805	0.8609
<b>Actividad Emulsificante (<math>R^2</math>)</b>	0.9606	<b>0.9919</b>	-

Los sólidos suspendidos (SS) incrementaron de  $0.80 \text{ g L}^{-1}$  a  $2.78 \text{ g L}^{-1}$  durante el periodo de operación del biorreactor (figura 13). La tasa promedio que se presentó para los sólidos en suspensión fue de  $1.94 \text{ g L}^{-1}$ . El modelo logístico se utilizó para describir el comportamiento de los SS con un valor de  $R^2$  de 0.98. Se obtuvo el tiempo de retraso ( $\lambda$ ) de 0.59 d, un tiempo de inflexión ( $T_i$ ) de 3.33 d y una tasa de crecimiento máxima ( $\mu_{\text{Max}}$ ) de  $0.26 \text{ d}^{-1}$ . Los resultados obtenidos en la evaluación del consumo del diésel incrementaron de  $13.0 \text{ g L}^{-1}$  a  $0.07 \text{ g L}^{-1}$ , el consumo de diésel se logró en 14 días (figura 13). Para el décimo día, el consorcio habría logrado degradar más del 93.3 % del diésel. Se obtuvo una tasa de consumo promedio de  $4.36 \text{ g L}^{-1}$ . Se utilizó el modelo logístico con un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0.98 para describir el comportamiento del experimento. El tiempo lag ( $\lambda$ ) fue de 1.74 d, el tiempo de inflexión ( $T_i$ ) de 3.53d, y la tasa máxima de consumo de hidrocarburos ( $Q_{\text{Max}}$ ) fue de  $1.35 \text{ d}^{-1}$ . Los resultados obtenidos de la evaluación de la actividad emulsificante fueron: Se alcanzó un valor de 19.86. La tasa promedio de actividad emulsificante fue de 8.48. La actividad emulsionante durante los primeros 4 días fue baja, al sexto día presenté un aumento. El modelo logístico se utilizó para predecir el comportamiento experimental de la actividad emulsionante, su coeficiente de determinación ( $R^2$ ) es 0.99. El tiempo de retraso ( $\lambda$ ) tuvo un valor de 7.79 d, el tiempo de inflexión ( $T_i$ ) un valor de  $9.27 \text{ d}^{-1}$ , y la tasa máxima de actividad emulsionante ( $AE_{\text{Max}}$ ) fue  $6.70 \text{ d}^{-1}$ . Los parámetros anteriores permiten conocer el comportamiento del cultivo en el tiempo: en 17 h después del cultivo, el consorcio microbiano comienza con el crecimiento microbiano, 42 h después de que comienza la

degradación del diésel. A los 3 días y 7 h se alcanza la tasa máxima de crecimiento y 5 h después de lo anterior surge la velocidad máxima de consumo. A los 7 días comienza el aumento de la actividad emulsificante, a los 8 días se estabiliza el crecimiento de la biomasa, en 9 días se alcanza la velocidad máxima de la actividad emulsionante y en 14 días se consume el diésel totalmente.



**Figura 13.** Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando medio agua de mar y diésel como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En la ordenada derecha se muestran el consumo de hidrocarburos y el crecimiento microbiano, en la ordenada izquierda la actividad emulsificante.

**Tabla 18.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono y agua de mar.

Diésel Medio Salino B	
Parámetro	Sólidos suspendidos
Lag (d)	0.59
$\mu_{Max}$ (d <sup>-1</sup> )	0.26
Ti (d)	3.33
Parámetro	Consumo de hidrocarburos
Lag (d)	1.74
$Q_{Max}$ (d <sup>-1</sup> )	1.35
Ti (d)	3.53
Parámetro	Actividad emulsificante
Lag (d)	7.79
$AE_{Max}$ (d <sup>-1</sup> )	6.70
Ti (d)	9.27

### 3.3.4. Evaluación de los parámetros hidrocarbonoclasta usando petróleo crudo maya como fuente de carbono. LOTE B.

En esta sección se muestran los resultados en la evaluación de la capacidad hidrocarbonoclasta de un consorcio microbiano con dos diferentes medios: Medio mineral y agua de mar. Usando diésel crudo maya como fuente de carbono. Se evaluó el crecimiento microbiano, el consumo de hidrocarburos y la actividad emulsificante.

#### a) Medio Mineral

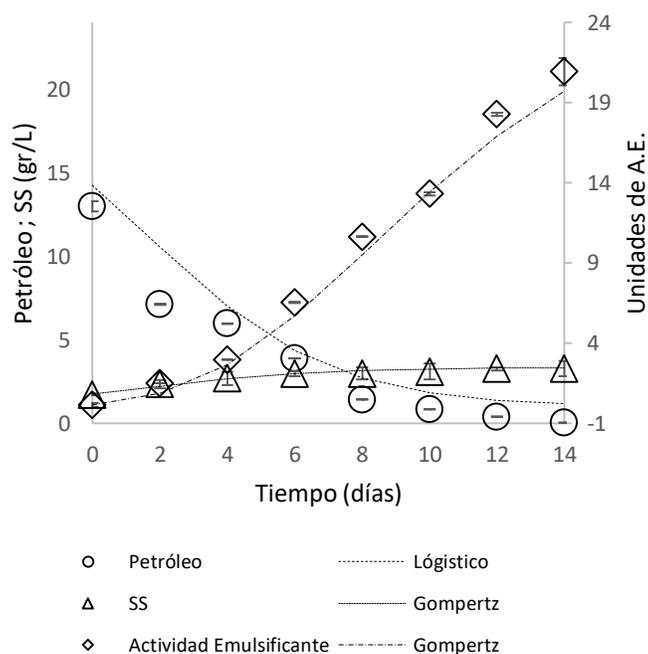
Para conocer los parámetros que describan el comportamiento de los experimentos y los datos obtenidos por medios de estos por medio de la operación del BCB, se aplican los modelos matemáticos descritos anteriormente. Los modelos con el mejor ajuste para cada conjunto de datos se emplearon para obtener los parámetros biológicos. Estos se describen en la tabla 19.

**Tabla 19.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando petróleo crudo maya como fuente de carbono y medio mineral.

<i>Petróleo Crudo Maya Medio Mineral B</i>			
<i>Variable</i>	<i>Modelos matemáticos</i>		
	<i>Gompertz</i>	<i>Logístico</i>	<i>Van Bertalanffy</i>
<b>Sólidos suspendidos (R<sup>2</sup>)</b>	<b>0.974</b>	0.9237	-
<b>Consumo de hidrocarburos (R<sup>2</sup>)</b>	0.8366	<b>0.9607</b>	0.5585
<b>Actividad Emulsificante (R<sup>2</sup>)</b>	<b>0.9825</b>	0.9245	0.7131

Los sólidos suspendidos (SS) incrementaron de 0.80 g L<sup>-1</sup> a 2.45 g L<sup>-1</sup> durante el periodo de operación del biorreactor. La tasa promedio que se presentó para los sólidos en suspensión fue de 1.90 g L<sup>-1</sup>. Se observa un aumento constante a lo largo del periodo que se operó el biorreactor, los sólidos suspendidos incrementaron ligeramente a partir del cuarto día. El modelo Gompertz se utilizó para describir el comportamiento de los SS con un valor de R<sup>2</sup> de 0.97. Se obtuvo el tiempo de retraso ( $\lambda$ ) de 0.75 d, un tiempo de inflexión (Ti) de 1.75 d y una tasa de crecimiento máxima ( $\mu_{\text{Max}}$ ) de 0.36 d<sup>-1</sup>. El consumo de petróleo máximo que se logró en el biorreactor fue de una concentración 13 g L<sup>-1</sup> a una concentración de 0.01 g L<sup>-1</sup>, los microorganismos degradaron el sustrato en el décimo día de cultivo. Se obtuvo una tasa de consumo promedio de 4.07 gr L<sup>-1</sup> y se degradó el 94% para el décimo día de operación. Se utilizó el modelo logístico con R<sup>2</sup> de 0.96. El tiempo Lag ( $\lambda$ ) de 0.75 d, el tiempo de

inflexión (Ti) un valor de 1.91 d, mientras que el valor de la tasa de consumo máximo ( $Q_{Max}$ ) fue de  $2.63 \text{ d}^{-1}$ . El consorcio microbiano se adaptó en un tiempo de 17 h. El valor máximo alcanzado por la actividad emulsificante fue de 25.5. La tasa promedio de la actividad emulsificante fue de  $9.24 \text{ g L}^{-1}$ . Se usó el modelo Gompertz con un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0.98. El tiempo Lag ( $\lambda$ ) fue de 3.20 d, el tiempo de inflexión (Ti) un valor de  $8.20 \text{ d}^{-1}$ , y la tasa de actividad emulsificante máxima ( $AE_{m\acute{a}x}$ ) fue de  $1.99 \text{ d}^{-1}$ . Se evalúa la cronología del consorcio microbiano cultivado en el BCB usando petróleo como fuente de carbono y medio mineral: a las 18 h aproximadamente de ser cultivado el consorcio microbiano comienza el crecimiento bacteriano y la generación de biomasa (SS) y en el mismo tiempo el consorcio comienza la degradación de petróleo crudo maya. Un día y 18 h se alcanzan la velocidad máxima de crecimiento de biomasa. Un día y 23 h después el consorcio alcanza la velocidad máxima de consumo. Tres días después comienza a emulsionar. En el octavo día se alcanza la velocidad máxima de la actividad y diez días después el petróleo crudo maya fue consumido.



**Figura 14.** Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando medio mineral y petróleo crudo maya como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En la ordenada derecha se muestran petróleo crudo maya, ordenada izquierda de actividad emulsificante.

**Tabla 20.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono y medio mineral.

<b>Petróleo Medio Mineral B</b>	
<b>Parámetro</b>	<b>Sólidos suspendidos</b>
Lag (d)	0.75
$\mu_{Max}$ (d <sup>-1</sup> )	0.36
Ti (d)	1.75
<b>Parámetro</b>	<b>Consumo de hidrocarburos</b>
Lag (d)	0.93
$Q_{Max}$ (d <sup>-1</sup> )	2.92
Ti (d)	1.73
<b>Parámetro</b>	<b>Actividad emulsificante</b>
Lag (d)	3.20
$AE_{Max}$ (d <sup>-1</sup> )	1.99
Ti (d)	8.20

### b) Agua de mar

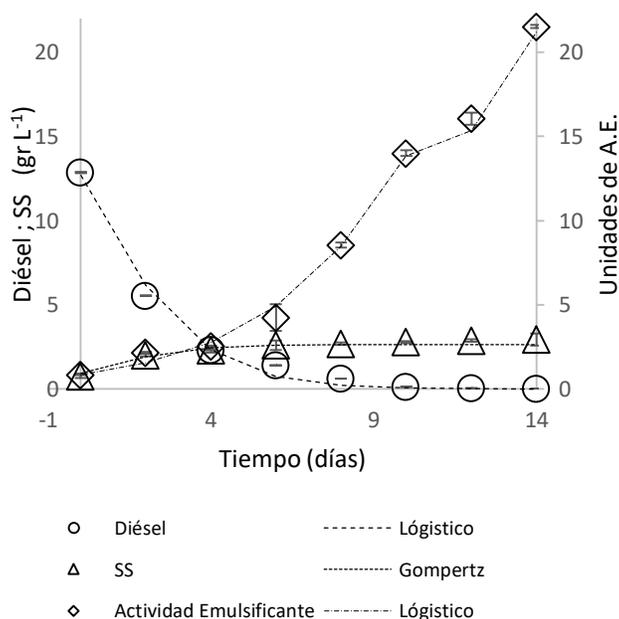
Para conocer los parámetros que describan el comportamiento de los experimentos y los datos obtenidos por medios de estos por medio de la operación del BCB, se aplican los modelos matemáticos descritos anteriormente. Los modelos con el mejor ajuste para cada conjunto de datos se emplearon para obtener los parámetros biológicos. Estos se describen en la tabla 21.

**Tabla 21.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando petróleo crudo maya como fuente de carbono y agua de mar. El símbolo “-” indica el un valor de R<sup>2</sup> menor a 0.5.

<b>Petróleo Crudo Maya Medio Salino B</b>			
<b>Variable</b>	<b>Modelos matemáticos</b>		
	<b>Gompertz</b>	<b>Logístico</b>	<b>Van Bertalanffy</b>
<b>Solidos suspendidos (R<sup>2</sup>)</b>	0.9859	<b>0.9884</b>	0.5043
<b>Consumo de hidrocarburos (R<sup>2</sup>)</b>	<b>0.9928</b>	0.9925	0.6972
<b>Actividad Emulsificante (R<sup>2</sup>)</b>	<b>0.9859</b>	0.9653	-

El crecimiento máximo de solidos suspendidos (SS) alcanzado fue de 2.72 g L<sup>-1</sup>. La tasa promedio de solidos suspendidos fue de 1.21 g L<sup>-1</sup>. Se aplicó el modelo logístico cuyo coeficiente de determinación fue 0.98. En este caso hay un incremento de SS en el cuarto día del cultivo. El tiempo lag ( $\lambda$ ) de 0.45 d, un tiempo de inflexión (Ti) de 1.37 d y una tasa de crecimiento máximo ( $\mu_{m\acute{a}x}$ ) de 0.51. El consumo de petróleo crudo maya fue de 0.01 g L<sup>-1</sup>,

los microorganismos degradaron el sustrato en el duodécimo día de cultivo. Se obtuvo una tasa de consumo promedio de  $3.72 \text{ gr L}^{-1}$ . Se utilizó el modelo Gompertz con  $R^2$  de 0.99. El tiempo de retraso ( $\lambda$ ) de 0.71 d, el tiempo de inflexión ( $T_i$ ) un valor de 2.86 d, mientras que el valor de la tasa de consumo máximo ( $Q_{Max}$ ) fue  $2.06 \text{ d}^{-1}$ . El consorcio microbiano se adaptó en un tiempo de 17 h. La actividad emulsionante resultó con un valor máximo de 21.5. La tasa promedio de actividad emulsionante durante el período de operación del reactor fue de  $8.77 \text{ g L}^{-1}$ . La actividad emulsionante durante los cuatro días fue baja, en el sexto día aumenta el tiempo en que se degrada el diésel. El modelo logístico se utilizó para predecir el comportamiento experimental de la actividad emulsionante, el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) fue de 0.99. El tiempo de retraso ( $\lambda$ ) fue de 7.19 d, el tiempo de inflexión ( $T_i$ ) fue de 9.27 d, y  $AE_{Max}$  fue de  $4.91 \text{ d}^{-1}$ . Los parámetros evaluados muestran la cronología del cultivo: a las 10 h del cultivo, el consorcio comienza el crecimiento bacteriano (SS). En 17 h comienza la degradación del diésel. A los 8 días comienza el aumento de la actividad emulsionante. Un día 8 h se observa la velocidad máxima alcanzada de los olidos suspendidos. En 2 y 21 se alcanza la velocidad máxima alcanzada en el consumo de diésel. A los siete días comienza la emulsificación, en el décimo día se degrada el diésel.



**Figura 15.** Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando agua de mar y petróleo crudo maya como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En las ordenadas de la derecha se observan el consumo de hidrocarburos y el crecimiento microbiana. En las ordenadas de la izquierda se observa la unidad emulsificante.

**Tabla 22.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando petróleo crudo maya como fuente de carbono y agua de mar.

<b>Petróleo Medio Salino B</b>	
<b>Parámetro</b>	<b>Sólidos suspendidos</b>
Lag (d)	0.45
$\mu_{Max}$ (d <sup>-1</sup> )	0.51
Ti (d)	1.37
<b>Parámetro</b>	<b>Consumo de hidrocarburos</b>
Lag (d)	0.71
$Q_{Max}$ (d <sup>-1</sup> )	2.06
Ti (d)	2.86
<b>Parámetro</b>	<b>Actividad emulsificante</b>
Lag (d)	3.20
$AE_{Max}$ (d <sup>-1</sup> )	1.99
Ti (d)	8.20

### 3.3.5. Evaluación de los parámetros hidrocarbonoclasta usando diésel como fuente de carbono. LOTE C.

#### a) Medio mineral

Para conocer los parámetros que describan el comportamiento de los experimentos y los datos obtenidos por medios de estos por medio de la operación del BCB, se aplican los modelos matemáticos descritos anteriormente. Los modelos con el mejor ajuste para cada conjunto de datos se emplearon para obtener los parámetros biológicos. Estos se describen en la tabla 23.

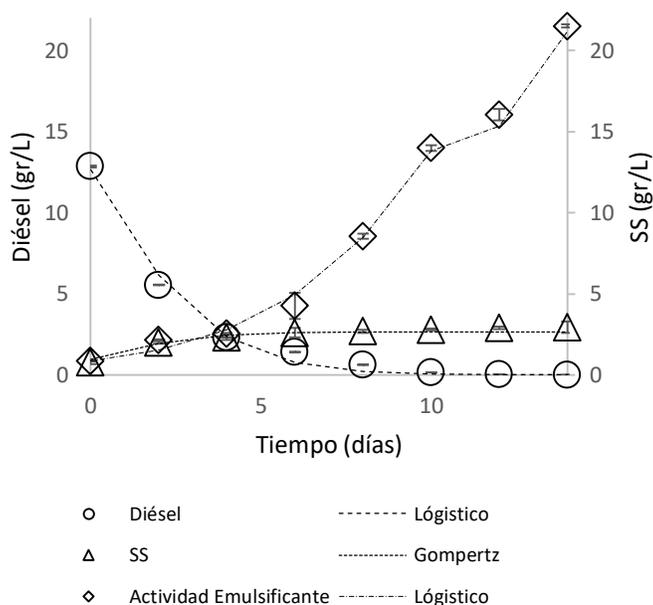
**Tabla 23.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono y medio mineral. El símbolo “-” indica el un valor de  $R^2$  menor a 0.5.

<b>Diésel Medio Mineral C</b>			
<b>Variable</b>	<b>Modelos matemáticos</b>		
	<b>Gompertz</b>	<b>Logístico</b>	<b>Van Bertalanffy</b>
<b>Sólidos suspendidos (R<sup>2</sup>)</b>	0.96	0.95	0.78
<b>Consumo de hidrocarburos (R<sup>2</sup>)</b>	0.97	0.99	0.58
<b>Actividad Emulsificante (R<sup>2</sup>)</b>	0.98	0.99	0.61

Se observan los sólidos suspendidos (SS) en un BCB donde se usó diésel como fuente de carbono y medio durante un periodo de 15 días. La producción inicial de la suspensión fue

de  $0.80 \text{ g L}^{-1}$ , esta biomasa incremento durante los siguientes días hasta el fin de la operación con un valor de  $2.94 \text{ g L}^{-1}$ . Se presentó una tasa promedio de  $2.38 \text{ g L}^{-1}$ , el crecimiento de solidos suspendidos se mantiene constante a lo largo del periodo de operación, esto no parece limitarse incluso al final de la operación debido a la producción de bioemulsificantes por parte de los microorganismos. Se usó el modelo de Gompertz para predecir el comportamiento de los sólidos suspendidos teniendo un coeficiente de relación ( $R^2$ ) de 0.96. El tiempo Lag ( $\lambda$ ) fue de 0.56 días en ese tiempo los microorganismos inician su fase de crecimiento. Mientras el tiempo de inflexión ( $T_i$ ) fue de 0.71 días, por su parte  $\mu_{\text{Max}}$  fue de  $0.77 \text{ d}^{-1}$ . El consumo del diésel a lo largo del periodo de operación del reactor, se inoculo inicialmente con una concentración de  $13.0 \text{ g L}^{-1}$  de diésel, durante un periodo de 15 días, la concentración al final del periodo de operación es de  $0.00 \text{ gr L}^{-1}$ , de hecho como se puede observar en la gráfica los microorganismos degradan el diésel en 8 días, justo como los lotes A y B. Para el octavo día el consorcio habría logrado degradar más del 95 % del diésel inoculado. Se obtuvo una tasa de consumo promedio de  $2.80 \text{ gr L}^{-1}$ . Para el consumo de diésel se usó el modelo Logístico pues fue el que más se ajustó al experimento, obteniendo un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0.99. El valor del tiempo Lag ( $\lambda$ ) fue de 0.76 d tiempo en el que comienza la degradación del diésel, el tiempo de inflexión ( $T_i$ ) tiene un valor de 1.24 d, mientras que el valor de  $Q_{\text{Max}}$  fue de  $3.86 \text{ d}^{-1}$ . Se evaluó la actividad emulsificante cuyo mayor valor registrado fue de 21.5. El valor de la tasa promedio de la actividad emulsificante a lo largo del periodo de operación del reactor fue de  $8.77 \text{ g L}^{-1}$ . La actividad emulsificante durante los primeros 4 días fue relativamente baja, no fue hasta el sexto día que esta tiene un incremento. Se usó el modelo logístico para predecir el comportamiento experimental de la actividad emulsificante, el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) que más se ajusto tuvo un valor de 0.99. El tiempo Lag ( $\lambda$ ) tuvo un valor de 10.2 d, valor que comprueba el tiempo que tarda la actividad emulsificante en incrementar, el tiempo de inflexión ( $T_i$ ) tuvo un valor de  $13.4 \text{ d}^{-1}$ , y el valor de  $AE_{\text{Max}}$  fue de  $6.11 \text{ d}^{-1}$  según los valores obtenidos por medio del modelo logístico. Por medio de los parámetros cinéticos obtenidos y el modelo matemático se evalúa la cronología del consorcio microbiano cultivado en el BCB, en este se puede describir de la siguiente manera: cerca de las 13 h aproximadamente de ser cultivado el consorcio microbiano comienza el crecimiento bacteriano y la producción de biomasa (SS), 4 h después alcanza la velocidad, máxima de crecimiento. En 18 h días comienza la

degradación de la fuente de carbono, en este caso el diésel. Al día y 5 h alcanza la velocidad máxima de consumo. En 6 días y 2 h comienza el incremento de la actividad emulsificante, a los 8 días se degrada el diésel.



**Figura 16.** Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando medio mineral y diésel como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En la ordenada de la derecha se observan el diésel y el crecimiento microbiano. En la ordenada de la izquierda se observa la actividad emulsificante.

**Tabla 24.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono y medio mineral.

Diésel Medio Mineral C	
Parámetro	Sólidos suspendidos
Lag (d)	0.56
$\mu_{Max}$ ( $d^{-1}$ )	0.77
Ti (d)	0.71
Parámetro	Consumo de hidrocarburos
Lag (d)	0.76
$Q_{Max}$ ( $d^{-1}$ )	3.86
Ti (d)	1.24
Parámetro	Actividad emulsificante
Lag (d)	10.23
$AE_{Max}$ ( $d^{-1}$ )	6.11
Ti (d)	13.5

**b) Agua de mar**

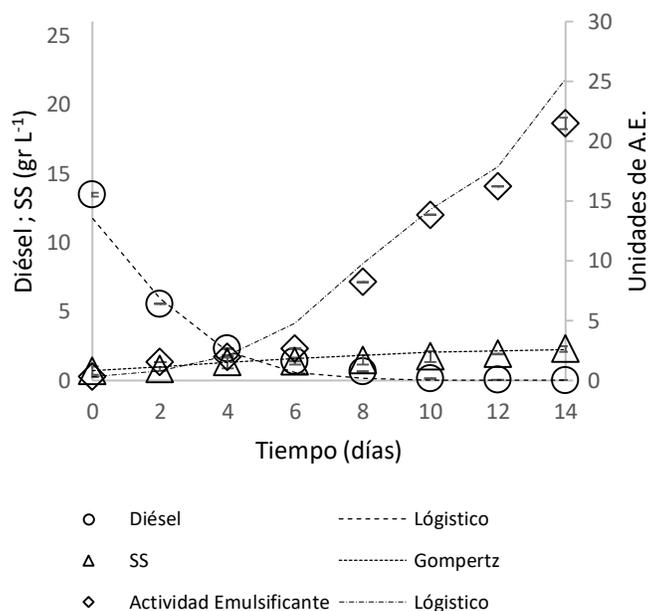
Para conocer los parámetros que describan el comportamiento de los experimentos y los datos obtenidos por medios de estos por medio de la operación del BCB, se aplican los modelos matemáticos descritos anteriormente. Los modelos con el mejor ajuste para cada conjunto de datos se emplearon para obtener los parámetros biológicos. Estos se describen en la tabla 25.

**Tabla 25.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono y agua de mar.. El símbolo “-” indica el un valor de  $R^2$  menor a 0.5.

<b>Diésel Medio Salino C</b>			
<b>Variable</b>	<b>Modelos matemáticos</b>		
	<b>Gompertz</b>	<b>Logístico</b>	<b>Van Bertalanffy</b>
<b>Sólidos suspendidos (<math>R^2</math>)</b>	<b>0.92</b>	0.91	0.79
<b>Consumo de hidrocarburos (<math>R^2</math>)</b>	0.98	<b>0.98</b>	0.54
<b>Actividad Emulsificante (<math>R^2</math>)</b>	0.97	<b>0.98</b>	-

A continuación, se presenta el crecimiento microbiano a lo largo del periodo de operación del BCB este crecimiento fue determinado por medio sólidos suspendidos. El crecimiento microbiano registrado fue de  $2.64 \text{ g L}^{-1}$ . Se ajustó el modelo de Gompertz debido a que su coeficiente de determinación fue 0.92. la tasa promedio de crecimiento microbiano fue de  $1.68 \text{ g L}^{-1}$ . Por medio del ajuste del modelo de Gompertz se obtuvo el valor de la fase lag ( $\lambda$ ) de 0.59 d, un tiempo de inflexión ( $T_i$ ) de 0.26 d y una tasa de crecimiento máximo ( $\mu_{\text{máx}}$ ) de  $3.33 \text{ d}^{-1}$ . En la evaluación diésel, se inoculo inicialmente con una concentración de  $13 \text{ g L}^{-1}$  de diésel, durante un periodo de 15 días, la concentración al final del periodo de operación es de  $0.00 \text{ gr L}^{-1}$ . Como se puede observar en la gráfica los microorganismos degradaron más del 95 % de la fuente de carbono en 8 días. Se obtuvo una tasa de consumo promedio de  $2.94 \text{ gr L}^{-1}$ . Para el consumo de diésel se utilizó el modelo logístico, obteniendo un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0.98. El valor del tiempo de retención o tiempo Lag ( $\lambda$ ) fue de 0.14, el tiempo de inflexión ( $T_i$ ) tiene un valor de 1.30 d, mientras que el valor de la tasa de consumo máximo ( $Q_{\text{Max}}$ ) fue de  $2.63 \text{ d}^{-1}$ . La actividad emulsificante alcanzo un valor máximo de 21.5. La actividad emulsificante durante los primeros 4 días fue relativamente baja posteriormente a este día se observaron sobre la fase acuosa y la oleosa pequeñas emulsiones suspendidas inmiscibles y la coloración del cultivo se tornó más claro. Los bioemulsionantes pueden emulsionar hidrocarburos mejorando su solubilidad en agua. El valor de la tasa promedio de

la actividad emulsificante a lo largo del periodo de operación del reactor fue de  $8.28 \text{ g L}^{-1}$ . Para evaluar los parámetros de la actividad emulsificante se usó el modelo logístico, el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) que más se ajustó tuvo un valor de 0.98. El tiempo Lag ( $\lambda$ ) tuvo un valor de 7.19 d, el tiempo de inflexión ( $T_i$ ) tuvo un valor de  $9.27 \text{ d}^{-1}$ , y el valor de  $AE_{\text{Max}}$  fue de  $4.91 \text{ d}^{-1}$ .



**Figura 17.** Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando medio mineral y diésel como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En la ordenada de la derecha se muestra el consumo de hidrocarburos y el crecimiento microbiano. En la ordenada de la izquierda se observa la actividad emulsificante.

**Tabla 26.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando diésel como fuente de carbono y agua de mar.

Diésel Medio Salino C	
Parámetro	Sólidos suspendidos
Lag (d)	0.59
$\mu_{\text{Max}}$ (d <sup>-1</sup> )	3.33
$T_i$ (d)	0.26
Parámetro	Consumo de hidrocarburos
Lag (d)	0.14
$\mu_{\text{Max}}$ (d <sup>-1</sup> )	4.54
$T_i$ (d)	1.30
Parámetro	Actividad emulsificante
Lag (d)	7.19
$\mu_{\text{Max}}$ (d <sup>-1</sup> )	4.91
$T_i$ (d)	9.27

### 3.3.6. Evaluación de los parámetros hidrocarbonoclasta usando petróleo crudo maya como fuente de carbono. LOTE C.

#### a) Medio mineral

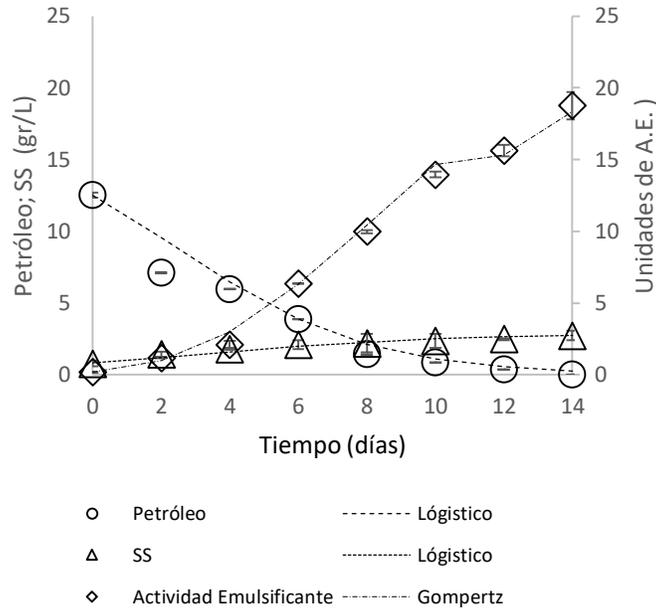
Para conocer los parámetros que describan el comportamiento de los experimentos y los datos obtenidos por medios de estos por medio de la operación del BCB, se aplican los modelos matemáticos descritos anteriormente. Los modelos con el mejor ajuste para cada conjunto de datos se emplearon para obtener los parámetros biológicos. Estos se describen en la tabla 27.

**Tabla 27.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando petróleo crudo maya como fuente de carbono y medio mineral. El símbolo “-” indica el un valor de R<sup>2</sup> menor a 0.5.

<b>Petróleo Crudo Maya Medio Mineral C</b>			
<b>Variable</b>	<b>Modelos matemáticos</b>		
	<b>Gompertz</b>	<b>Logístico</b>	<b>Van Bertalanffy</b>
<b>Sólidos suspendidos (R<sup>2</sup>)</b>	0.95	<b>0.95</b>	-
<b>Consumo de hidrocarburos (R<sup>2</sup>)</b>	0.96	<b>0.96</b>	0.73
<b>Actividad Emulsificante (R<sup>2</sup>)</b>	<b>0.99</b>	0.99	-

A continuación, se presenta el crecimiento microbiano a lo largo del periodo de operación del BCB este crecimiento fue determinado por medio sólidos suspendidos. Los sólidos suspendidos aumentaron de 0.80 g L<sup>-1</sup> al inicio de la operación a 2.74 g L<sup>-1</sup> al finalizar el periodo de trabajo. La tasa promedio de sólidos suspendidos fue de 1.99 g L<sup>-1</sup>. Se ajustó el modelo logístico debido a que su coeficiente de determinación fue 0.95. Al igual que en lotes anteriores donde se empleó diésel como fuente de carbono se observó que los sólidos suspendidos aumentaron a partir de cuarto día Por medio del ajuste del modelo logístico se obtuvo el valor del tiempo lag ( $\lambda$ ) de 0.38 d, un tiempo de inflexión (Ti) de 3.25 d y una tasa de crecimiento máximo ( $\mu_{\text{máx}}$ ) de 0.29. En la evaluación de la degradación del petróleo fuel, se inoculó inicialmente con una concentración de 13 g L<sup>-1</sup> de diésel, durante un periodo de 15 días, la concentración al final del periodo de operación es de 0.01 gr L<sup>-1</sup>, como se puede observar en la gráfica los microorganismos degradaron más del 93 % del sustrato en el décimo día y eliminándolo completamente en 14 días. Se obtuvo una tasa de consumo promedio de 4.08 gr L<sup>-1</sup>. Para el consumo de diésel se utilizó el modelo logístico, al cual se

realizó un ajuste con respecto al experimento, obteniendo un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0.96. El valor del tiempo de retención o tiempo Lag ( $\lambda$ ) fue de 0.28 d tiempo en el que comienza la degradación del diésel, el tiempo de inflexión ( $T_i$ ) tiene un valor de 2.50 d, mientras que el valor de la tasa de consumo máximo ( $Q_{Max}$ ) fue de  $2.33 \text{ d}^{-1}$ . El consorcio microbiano se adaptó en un tiempo aproximado de 6 h. Al igual que en los lotes donde se usó petróleo crudo maya como fuente de carbono se observa que el tiempo donde el diésel comienza a degradarse en más del 90% es posterior al octavo día. Se evaluó la actividad emulsificante y se obtuvo un valor máximo de 18.76. La actividad emulsificante durante los primeros 4 días fue baja. El valor de la tasa promedio de la actividad emulsificante a lo largo del periodo de operación del reactor fue de  $8.51 \text{ g L}^{-1}$ . Para evaluar los parámetros de la actividad emulsificante se usó el modelo de Gompertz con el fin de predecir el comportamiento experimental de la actividad emulsificante, se usó este modelo matemático debido a que el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) que más se ajustó tuvo un valor de 0.99. El tiempo Lag ( $\lambda$ ) tuvo un valor de 3.10 d, el tiempo de inflexión ( $T_i$ ) tuvo un valor de 8.10 d y el valor de  $AE_{Max}$  fue de  $2.13 \text{ d}^{-1}$ . Los parámetros obtenidos con el modelamiento matemático, se evaluó la cronología del consorcio microbiano usando petróleo como fuente de carbono y medio mineral, se describen de la siguiente manera: cerca de las 6 h de ser cultivado el consorcio comienza a degradar hidrocarburo y tres horas más tarde comienza la producción de biomasa. En 2 días y 12 h aproximadamente se alcanzan la velocidad máxima de consumo de biomasa. En tres días y 6 h alcanza la velocidad máxima de crecimiento. En tres días también comienza la actividad emulsificante y al octavo día esta alcanza su velocidad máxima. Catorce días después se degradó el diésel.



**Figura 18.** Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando medio mineral y diésel como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En la ordenada de la derecha se presentan el consumo de hidrocarburo y el crecimiento microbiano. En el eje de las ordenadas izquierda se muestra la actividad emulsificante.

**Tabla 28.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando petróleo l como fuente de carbono y medio mineral.

Petróleo Medio Mineral C	
Parámetro	Sólidos suspendidos
Lag (d)	0.38
$\mu$ Max ( $d^{-1}$ )	0.29
Ti (d)	3.25
Parámetro	Consumo de hidrocarburos
Lag (d)	0.28
$\mu$ Max ( $d^{-1}$ )	2.33
Ti (d)	2.50
Parámetro	Actividad emulsificante
Lag (d)	3.10
$\mu$ Max ( $d^{-1}$ )	2.13
Ti (d)	8.10

### b) Agua de mar

Para conocer los parámetros que describan el comportamiento de los experimentos y los datos obtenidos por medios de estos por medio de la operación del BCB, se aplican los modelos

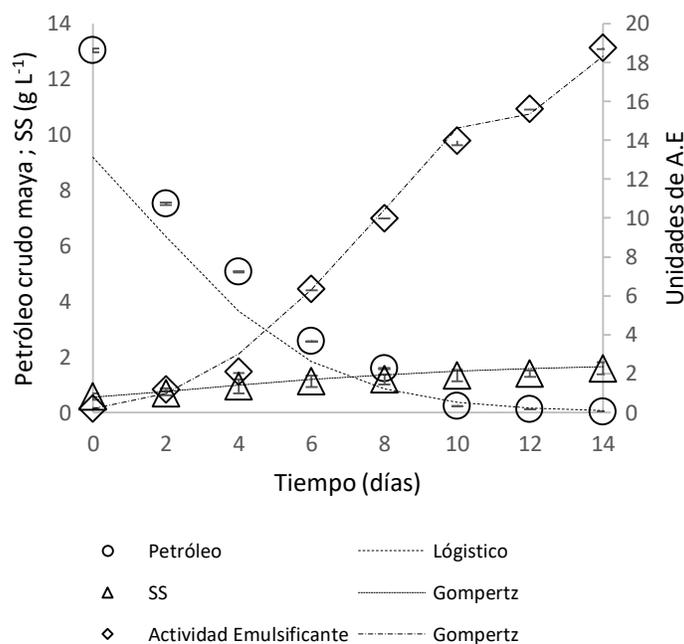
matemáticos descritos anteriormente. Los modelos con el mejor ajuste para cada conjunto de datos se emplearon para obtener los parámetros biológicos. Estos se describen en la tabla 29.

**Tabla 29.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando petróleo crudo maya como fuente de carbono y medio mineral. El símbolo “-” indica el un valor de R2 menor a 0.5.

<b>Petróleo Crudo Maya Medio Salino C</b>			
<b>Variable</b>	<b>Modelos matemáticos</b>		
	<b>Gompertz</b>	<b>Logístico</b>	<b>Van Bertalanffy</b>
<b>Solidos suspendidos (R<sup>2</sup>)</b>	<b>0.97</b>	0.96	0.76
<b>Consumo de hidrocarburos (R<sup>2</sup>)</b>	0.98	<b>0.98</b>	0.80
<b>Actividad Emulsificante (R<sup>2</sup>)</b>	<b>0.96</b>	0.96	-

El crecimiento microbiano a lo largo del periodo de operación del BCB fue de 0.80 g L<sup>-1</sup> a 2.27 g L<sup>-1</sup> al finalizar el periodo de operación. La tasa promedio de solidos suspendidos fue de 1.57 g L<sup>-1</sup>. Se aplicó modelamiento matemático siendo el modelo logístico el ajustado ya que su coeficiente de determinación fue el más próximo a 1, con un valor de 0.97. Por medio del ajuste del modelo de Gompertz se obtuvo el valor de fase lag ( $\lambda$ ) de 0.92 d, un tiempo de inflexión (Ti) de 3.08 d y una tasa de crecimiento máximo ( $\mu_{\text{máx}}$ ) de 0.23 d<sup>-1</sup>. Se observa la evaluación de la degradación del petróleo crudo maya a lo largo del periodo de operación del BCB usando agua de mar, se inoculo inicialmente con una concentración de 13 g L<sup>-1</sup>, la concentración al final del periodo de operación es de 0.01 gr L<sup>-1</sup>, como se puede observar en la gráfica los microorganismos degradaron casi por completo el petróleo en el doceavo día de cultivo. Se obtuvo una tasa de consumo promedio de 3.76 gr L<sup>-1</sup> y degrado el 98 % para el décimo día de operación. Para el consumo de diésel se utilizó el modelo logístico, al cual se realizó un ajuste con respecto al experimento, obteniendo un coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) de 0.98. El valor del tiempo de retención o tiempo Lag ( $\lambda$ ) fue de 0.70 d tiempo en el que comienza la degradación del diésel, el tiempo de inflexión (Ti) tiene un valor de 1.63 d, mientras que el valor de Q<sub>Max</sub> fue de 3.11 d<sup>-1</sup>. Se evaluó la actividad emulsificante durante un periodo de operación de 15 días teniendo como sustrato el petróleo crudo maya y usando agua de mar como medio a medida que el petróleo se degrado la actividad emulsificante iba aumentando considerablemente. El valor de la actividad emulsificante máximo registrado fue 18.7. El valor de la tasa promedio de la actividad emulsificante a lo largo del periodo de

operación del reactor fue de  $8.51 \text{ g L}^{-1}$ . Para evaluar los parámetros de la actividad emulsificante se usó el modelo logístico para predecir el comportamiento experimental, se usó este modelo matemático de Gompertz debido a que el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) que más se ajustó tuvo un valor de 0.96. El tiempo Lag ( $\lambda$ ) tuvo un valor de 3.10 d, el tiempo de inflexión ( $T_i$ ) tuvo un valor de  $8.10 \text{ d}^{-1}$ , y el valor de  $AE_{\text{Max}}$  fue de  $2.13 \text{ d}^{-1}$ . Con los parámetros obtenidos por el modelo matemático, se evalúa la cronología del consorcio microbiano cultivado en el BCB usando petróleo como fuente de carbono y agua de mar como medio, lo anterior se describe de la siguiente manera: cerca de las 16 h aproximadamente de ser cultivado el consorcio microbiano comienza la degradación, a las 22 h comienza la generación de biomasa. Un día y 15 h después se alcanzan la velocidad máxima de crecimiento de biomasa. En tres días se alcanza la velocidad de crecimiento de biomasa. El mismo día se incrementa la actividad emulsificante. La actividad máxima de la actividad emulsificante es en 8 días. En 12 días se consume el petróleo crudo maya.



**Figura 19.** Resultados obtenidos para SS, hidrocarburo total residual y actividad emulsificante usando agua de mar y petróleo como fuente de carbono en un BCB. Se muestran barras de error para cada experimento, que se realizaron por triplicado. En la ordenada de la ordenada de la derecha se muestran el consumo de hidrocarburos y el crecimiento de biomasa. En la ordenada de la izquierda se muestra la actividad emulsificante.

**Tabla 30.** Parámetros obtenidos del ajuste de los modelos matemáticos durante el periodo de trabajo usando petróleo crudo maya como fuente de carbono y agua de mar.

<b>Petróleo Medio Salino C</b>	
<b>Parámetro</b>	<b>Sólidos suspendidos</b>
Lag (d)	0.92
$\mu$ Max (d-1)	0.23
Ti (d)	3.08
<b>Parámetro</b>	<b>Consumo de hidrocarburos</b>
Lag (d)	0.70
$\mu$ Max (d-1)	3.11
Ti (d)	1.63
<b>Parámetro</b>	<b>Actividad emulsificante</b>
Lag (d)	3.10
$\mu$ Max (d-1)	2.13
Ti (d)	8.10

## 9. CONCLUSIONES

### FASE 1.

Se determinaron 16 hidrocarburos diferentes en las muestras tomadas del agua del río Bitzal. Se observan predominancia de hidrocarburos de fracción media ( $66.7 \pm 0.01 \text{ g L}^{-1}$ ), sin embargo, los hidrocarburos aromáticos presentan las mayores concentraciones en todos los puntos ( $76.8 \pm 0.01 \text{ g L}^{-1}$ ). De lo anterior podemos suponer que las presencias de hidrocarburos de fracción media indican el grado de afectación que el tráfico constante de lanchas sobre el río bitzal está provocando, uno de estos combustibles que se caracteriza por ser muy común en uso de lanchas es el diésel, además de que el mismo está constituido por hidrocarburos de fracción media. Sin embargo, el debemos recordar que sobre los municipios pesqueros que conforman el río Bitzal existen pozos y estaciones petróleo. Lo anterior podría indicar que los hidrocarburos aromáticos como el pentaceno ( $24.2 \pm 0.09 \text{ g L}^{-1}$ ), carbazol ( $0.25 \pm 0.11 \text{ g L}^{-1}$ ) y benzo[a]pireno ( $1.39 \pm 0.57 \text{ g L}^{-1}$ ) podrían deberse a fugas o malos manejos en los ductos que atraviesan las aguas de la zona pesquera del río Bitzal. Esta determinación fue indispensable para la fase de acondicionamiento del biorreactor.

### FASE 2.

Con base en los resultados encontrados en las diferentes muestras se seleccionaron dos diferentes fuentes de carbono como sustratos representativos para evaluar la eficiencia del consorcio microbiano en los biorreactores usando medio mineral y agua de mar para cada sustrato. El diésel sirvió como muestra representativa de los hidrocarburos de fracción media y ligera y el petróleo crudo maya como sustrato representativo de mezclas masa complejas y de fracción pesada. Los resultados se observan en la fase de evaluación de cinéticas.

### FASE 3.

El consorcio microbiano logro degradar con éxito tanto sustrato representativo de mezclas de fracción media y fracción ligera, el diésel, tanto en medio mineral como agua de mar. Se cultivaron 3 lotes para cada medio diferente. En medio mineral se obtuvo una degradación del diésel de 13.0 a 0.00  $\text{g L}^{-1}$  para el lote A, de 13.0 a 0.01  $\text{g L}^{-1}$  para el lote B, de 13.0 a 0.00  $\text{g L}^{-1}$ , se logró una degradación muy similar en agua de mar y sin fuente de nitrógeno. Se comprobó que el consorcio microbiano puede ser eficiente en la degradación de

hidrocarburos en sitios como Tintalillo donde hubo alta concentración n-nonano ( $1.86 \pm 0.62$  mg L<sup>-1</sup>). En agua de mar usando petróleo crudo maya también se logró una excelente degradación, de 13 a 0.02 gr L<sup>-1</sup> (LOTE A), de 13 a 0.01 g L<sup>-1</sup> (LOTE B), de 13 a 0.01 gr L<sup>-1</sup> (LOTE C), como se puede observar el petróleo crudo maya fue degradado en su totalidad. Este tipo de experimento nos muestra que puede ser eficiente en casos como Pastal con alta concentración de pentaceno ( $70.5 \pm 0.80$  mg L<sup>-1</sup>).

Debido a las altas concentraciones en el río Bitzal de mezclas complejas de hidrocarburos se proponen el uso de biorreactores usando consorcios microbianos y sustratos representativos. Se comprobó la eficiencia al degradar compuestos como diésel y petróleo crudo maya donde se comprobó que la degradación de forma ex situ es altamente eficiente.

Los hidrocarburos determinados en el sitio de muestreo sin lugar a duda forman parte clave dentro de la contingencia ambiental que se sufre en el río Bitzal, muchos de los hidrocarburos encontrados pueden provocar padecimientos muy similares a las enfermedades y padecimientos que se presentan en las zonas cercanas al río Bitzal, los hidrocarburos no generan daños riesgosos siempre y cuando estos no sean expuestos por un tiempo prolongado sobre algún ser vivo. Sin embargo, las poblaciones pesqueras así como la flora y la fauna están expuestas a los hidrocarburos constantemente y esto a largo plazo genera bioacumulación provocando daños que pueden ser irreversibles.

La pronta acción para remediar este problema es de vital importancia y entre las múltiples acciones de remediar se puede optar por la remediación usando biorreactores. Estos son económicos accesibles y han demostrado ser eficaces al degradar compuestos altamente recalcitrantes.

## REFERENCIAS

- Adams R.H., Domínguez V., García L. (1999). Potencial de la biorremediación de suelo y agua impactados por petróleo en el trópico mexicano. *Terra*. 17, 159–174.
- Agua.org.mx (2007). Fondo para la comunicación y educación ambiental, A.C. Aguas continentales: Lagos, humedales y ríos.
- Allen, T.F.H., and T.W. Hoekstra. 1992. *Toward a unified ecology*. Columbia University Press, New York, New York, USA.
- Angeles, O., Medina-Moreno, S.A., Jiménez-González, A., Coreño-Alonso, A., Lizardi-Jiménez, M.A. (2017). Predominant mode of diesel uptake: Direct interfacial versus emulsification in multiphase bioreactor. *Chemical Engineering Science* 165, 108-112. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2017.02.046>
- Araujo I., Montilla M., Cárdenas M., Herrera L., Angulo N. y Morillo G. (2006). Lodos estabilizados y cepas bacterianas en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. *Interciencia* 31, 268–275.
- ASL Life Scientific.(2014). Library of petroleum products. Obtenido de: <https://www.alsglobal.eu/media-general/pdf/library-of-petroleum-products-and-other-organic-compounds.pdf>, Access September 29, 2019
- ATSDR (1999). Resumen de Salud Pública: Hidrocarburos Totales de Petróleo. Recuperado de : [https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs123.html](https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs123.html)
- Boffetta P, Jourenkova N, Gustavsson P. 1997. Cancer risk from occupational and environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Cancer Causes Control* 8:444–472. doi:10.1023/a:1018465507029
- Borbolla, M., Vidal, M., Piña, O., Cruz, I., & Vidal, J.(2005). Características sanitarias del agua en Tabasco 2003. *Salud en Tabasco*, 11(3), 375–379
- Botello A.V. (2005) Características composición y propiedades fisicoquímicas del petróleo. En: *Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias*. (A.V. Botello, J. Rendón von Osten, G. Gold-Bouchot, C. Agraz-Hernández, Eds.) 2ª ed.

Universidad Autónoma de Campeche, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Ecología. Campeche, México. pp. 261–268.

Botello AV, González C, Díaz G (1991): Pollution by petroleum hydrocarbons in sediments from continental-shelf of Tabasco State, Mexico. *Bull. Environ. Contain. Toxicol.* 47, 565–571.

Campoblanco Díaz, H.; Gomero Torres, J. (2000) Importancia de los ríos en el entorno ambiental. *Rev. Inst. investig. Fac. minas metalcienc. geogr.*, vol.3, no.5: 57-63.

Cappello, S., Volta, A., Santisi, S., Morici, C., Mancini, G., Quatrini, P., Genovese, M., Yakimov, M.M., Torregrossa, M. (2016). Oil-degrading bacteria from a membrane bioreactor (BF-MBR) system for treatment of saline oily waste: Isolation, identification and characterization of the biotechnological potential. *International Biodeterioration and Biodegradation* 110, 235-244.

Castañeda-Chávez, M. del R., Lango-Reynoso, F., & Navarrete-Rodríguez, G. Heavy Metals in Sediment from Alvarado Lagoon System in Veracruz, México. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 2(3).

Castañeda-Chávez, M. del R., Navarrete-Rodríguez, G., Lango-Reynoso, F., Galaviz-Villa, I., & Landeros-Sánchez, C. (2014). Heavy metals in oysters, shrimps and crabs from lagoon systems in the Southern Gulf of Mexico. *Journal of Agricultural Science*, 6(3), 108.

Castillo-Carvajal, L. C., Sanz-Martín, J. L., & Barragán-Huerta, B. E. (2014). Biodegradation of organic pollutants in saline wastewater by halophilic microorganisms: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(16), 9578–9588. doi:10.1007/s11356-014-3036-z.

CNDH (2018). Estudio sobre protección de ríos, lagos y acuíferos desde la perspectiva de los derechos humanos. Universidad Autónoma de México. Recuperado de : [https://www.cndh.org.mx/sites/all/doc/Informes/Especiales/ESTUDIO\\_RIOS\\_LAGOS\\_ACUIFEROS.pdf](https://www.cndh.org.mx/sites/all/doc/Informes/Especiales/ESTUDIO_RIOS_LAGOS_ACUIFEROS.pdf)

Ciencia y luz. (2016). Pajaritos y la reforma energética. Recuperado de : <https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/48583/129-CYL-221116.pdf?sequence=1&isAllowed=y> acceso 08 de mayo 2019

Comisión Nacional de Hidrocarburos. (2019). Sistemas de información de hidrocarburos. Recuperado en: <https://sih.hidrocarburos.gob.mx/>

CONAGUA (2014). Monitoreo ambiental y evaluación de la calidad del agua en las costas del Golfo de México y Mar Caribe : Informe final. Recuperado de: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/343480/CGACC\\_2014\\_Monitoreo\\_Ambiental\\_CONAGUA.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/343480/CGACC_2014_Monitoreo_Ambiental_CONAGUA.pdf)

CONAGUA (2016): Situación del subsector agua potable, drenaje y saneamiento. Conagua. Recuperado de : [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/184667/DSAPAS\\_2016\\_web\\_Parte1.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/184667/DSAPAS_2016_web_Parte1.pdf)

d'Ozouville, N., (2007). Agua dulce: la realidad de un recurso crítico. Informe Galápagos ,Ecuador, 2006-2007 , 150–160

Das, N., & Chandran, P. (2011). Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. *Biotechnology Research International*. doi:10.4061/2011/941810.

Davis\*, E L. (1998). Ground water issue: steam injection for soil and aquifer remediation. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, EPA/540/S-97/505, 1998.

Denis, B., Perez, O.A., Lizardi-Jimenez, M.A., Dutta, A., 2016. Numerical evaluation of direct interfacial uptake by a microbial consortium in an airlift bioreactor. *Inter. Biodeter. Biodegr.* (in press) <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.08.012>.

Doble M, Kruthiventi AK, Gaikar VG. (2004). *Biotransformations and Bioprocesses*. Marcel Dekker, New York, USA.

Evdokimov I. N. and Losev A. P., " On the Nature of UV/Vis Absorption Spectra of Asphaltenes". *Petroleum Science and Technology* Vol. 25, Issue 1-2, 2007

El Universal (2016). Incendio del buque burgos. Recuperado de: <https://www.eluniversal.com.mx/tag/incendio-del-buque-burgos> . Acceso 07 mayo de 2019.

Excelsior (2018). El Río Bitzal causa llagas a población. <https://www.excelsior.com.mx/nacional/el-rio-bitzal-causa-llagas-a-poblacion/1258751>, Accessed date: 01 November 2018.

Ficha de datos de seguridad Roht (2016). [https://www.carlroth.com/downloads/sdb/es/4/SDB\\_4310\\_ES\\_ES.pdf](https://www.carlroth.com/downloads/sdb/es/4/SDB_4310_ES_ES.pdf), access September 15, 2019

Fuentes, S., Méndez, V., Aguila, P., & Seeger, M. (2014). Bioremediation of petroleum hydrocarbons: Catabolic genes, microbial communities, and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(11), 4781–4794. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5684-9>

García-Cruz, N. U., Valdivia-Rivera, S., Narciso-Ortiz, L., García-Maldonado, J.Q., Uribe, M.M., Aguirre-Macedo, L. &Lizardi-Jimenez, M.A. (2019). Diesel uptake by an indigenous microbial consortium isolated from sediments of the Southern Gulf of Mexico: Emulsion

characterization. *Environmental Pollution* Volume 250, Pages 849-855. doi: 10.1016/j.envpol.2019.04.109

Ghazali, F. M., Rahman, R. N. Z. A., Salleh, A. B., & Basri, M. (2004). Biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 54(1), 61–67. doi:10.1016/j.ibiod.2004.02.002

Grey, A. (2016). Caracterización y Análisis de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en los sedimentos marinos de la Bahía Manzanillo y su influencia en los procesos de biodegradación. Facultad de Ingeniería Civil. Universidad Tecnológica de Panamá.

Hassanshahian M, Cappello S: Crude Oil Biodegradation in the Marine Environments. In Chamy R. Edited by: Rosenkranz F. Biodegradation - Engineering and Technology, InTech; 2013:101–135.

Hartley W.R. y Englande A. J. (1992). Health risk assessment of the migration of unleaded gasoline: a model for petroleum products. *Water Sci. Technol.* 25, 65–72.

Hernández-Antonio A. y Hansen A. (2011). Uso de plaguicidas en dos zonas agrícolas de Mexico y evaluación de la contaminación de agua y sedimentos. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 27, 115-127.

Hernández- Martínez, R., Quiñonez-Muñoz, T.A., Vázquez, A. & Lizardi-Jimenez, M.A. (2018). Diesel degradation and bioemulsifiers production using bubble-column with a microbial consortium isolated from hydrocarbon-contaminated soil. *Iranian Journal Of Chemistry And Chemical Engineering (IJCCE)* 2018 , Volume 37 , Number 2; Page(s) 213 To 218. DOI: <https://www.sid.ir/En/Journal/ViewPaper.aspx?ID=601515>

Hernández-Martínez, R., Valdivia-Rivera, S., Betto-Sagahon, J., Coreño-Alonso, A., Tzintzun-Camacho, O., & Lizardi-Jiménez, M. (2018). Solubilization and removal of petroleum hydrocarbons by a native microbial biomass in a bubble column reactor. *Revista Mexicana De Ingeniería Química*, 18(1), 181-189. <https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbi/revmexingquim/2019v18n1/Hernandez>.

INEGI. (2019). Recuperado de: <https://www.inegi.org.mx/app/buscador/default.html?q=TABASCO#tabMCCollapse-Indicadores>. Acceso 02 de Agosto de 2019.

Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático. (2007). Tecnologías de remediación. Recuperado de : <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/372/tecnolog.html>. Acceso 01 de Octubre de 2019.

IТОPF. (2017) "Oil Tanker Spill Statistics 2017", The International Tanker Owners Pollution Federation Limited. R <http://www.itopf.com/knowledge-resources/data-statistics/statistics/>, 28 October 2018.

- Igwo-Ezikpe, M. N., Gbenle, O. G., Ilori, M. O., Okpuzor, J., & Osuntoki, A. A. (2010). High molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons biodegradation by bacteria isolated from contaminated soils in Nigeria. *Environmental Sciences*, 4(2), 127–137.
- Jarquín-Raymundo, E., Lango-Reynoso, F., Castañeda-Chavez, M. del R., Wakida-Kusunoki, A. T., Landeros-Sánchez, C. (2015). Metales pesados en especies invasoras del sistema fluvio-lagunar-deltaico del río Palizada. *El Agro Veracruzano* 2015, 84
- Kantarci N, Borak F, Ulgen KO. Bubble column reactors. *Process Biochem* 2005;40: 2263–83.
- Karlapudi, A. P., Venkateswarulu, T. C., Tammineedi, J., Kanumuri, L., Ravuru, B. K., Dirisala, V. ramu, & Kodali, V. P. (2018). Role of biosurfactants in bioremediation of oil pollution-a review. *Petroleum*, 4(3), 241–249. doi: 10.1016/j.petlm.2018.03.007
- Kavitha, V., Baran, A., & Gnanamani, A. (2014). Microbial biosurfactant mediated removal and/or solubilization of crude oil contamination from soil and aqueous phase: an approach with *Bacillus licheniformis* MTCC 5514. *International Biodeterioration & Biodegradation*. doi:10.1016/j.ibiod.014.04.028
- Landeros-Sánchez, C., Lango-Reynoso, F., Galaviz-Villa, I., & Palomarez-García, J. M. (2012). Assessment of Water Pollution in Different Aquatic Systems: Aquifers, Aquatic Farms on the Jamapa River, and Coastal... *Journal of Agricultural Science*, 4(7).
- Lango-Reynoso, F., Landeros-Sánchez, C., & del Refugio Castaneda-Chavez, M. (2010). Bioaccumulation of cadmium (Cd), lead (Pb) and arsenic (As) in *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791), from Tamiahua lagoon system, Veracruz, Mexico. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 26(3), 201-210.
- Levy BS, Nassetta WJ. The adverse health effects of oil spills: a review of the literature and a framework for medically evaluating exposed individuals. *Int J Occup Environ Health*. 2011;17(2):161-7.
- Lizardi-Jiménez, M. A. (2011) "Contribución al estudio de la hidrodinámica y transferencia simultánea de masa en biorreactores airlift de tres fases, producción de un consorcio microbiano degradador de petróleo", Universidad Autónoma Metropolitana.
- Lizardi-Jiménez, M. A., Leal, R. M., Ordaz, A., & Reyna, R. (2014). Airlift bioreactors for hydrocarbon water pollution remediation in a tourism development pole. *Desalination and Water Treatment*. doi:10.1080/19443994.2013.876670
- Lizardi-Jiménez, M. A., E. Y. López Sánchez, A. Gómez-de-Jesús, N. U. García-Cruz, and C. I. Hernández-Flores. (2016). Sinkhole-Native Oil-Degrading Microbial Consortium for Hydrocarbon-Polluted Seawater Remediation. *Clean Soil Air Water* 44: 1046–1050. DOI: <https://doi.org/10.1002/clen.201500114>.

M. A. Lizardi-Jimenez, G. Saucedo, F. Thalasso, M. Gutierrez-Rojas (2012). Simultaneous Hexadecane and Oxygen Transfer Rate on the Production of an Oil Degrading Consortium in a Three-Phase Airlift Bioreactor, *Chem. Eng. J.* 2012, 187, 160–165.

López, T, Dominguez, L & García, J. (2007). Arreglo estructural de un consorcio microbiano de interés alimentario en la producción del vinagre. Trabajo presentado en el octavo Congreso Nacional de Microscopía, Octubre, México.

Lubchenco, J., McNutt, M., Lehr, B., Sogge, M., Miller, M., Hammond, S., et al. (2010). Deepwater Horizon/BP Oil Budget: What Happened to the Oil? Available online at: [http://www.noaa.gov/stories2010/PDFs/OilBudget\\_description\\_%2083final.pdf](http://www.noaa.gov/stories2010/PDFs/OilBudget_description_%2083final.pdf)

Luque - González, A. (2019). Implicaciones ambientales derivadas del petróleo: Caso del agua embotellada. *CIENCIAMATRIA*, 5(9), 265-285. <https://doi.org/10.35381/cm.v5i9.144>

Maneerat S. (2005) Biosurfactants from marine microorganisms. *Songklanakarin J Sci Technol.* pp 27:1263–72.

Martínez-Trujillo, M.A., Membrillo Venegas, I.,Vigueras-Carmona, S.E., Zafra-Jiménez, G.,García-Rivero, M. (2015). Optimization of a bacterial biosurfactant production. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 14, 355-362.

Mastrangelo, G., Fadda, E., & Marzia, V. (1996). Polycyclic aromatic hydrocarbons and cancer in man. *Environmental Health Perspectives*, 104(11), 1166–1170. doi:10.1289/ehp.961041166

Medina, M., Huerta, O., and Gutierrez-Rojas, M. 2005. Hydrocarbon biodegradation in oxygen- ´ limited sequential batch reactors by consortium from weathered, oil-contaminated soil. *Can. J. Microbiol.* 51, 231–239. <http://dx.doi.org/10.3138/jvme.38.2.123>

Medina-Bellver, J. I., P. Marín, A. Delgado, A. Rodríguez-Sa´nchez, E. Reyes, J. L. Ramos, and S. Marque´s. 2005. Evidence for in situ crude oil biodegradation after the Prestige oil spill. *Environ. Microbiol.* 7:773–779.

Megchún-García J. V., Castañeda-Chávez M. del R.,Rodríguez-Lagunes D.A., Murguía-González J., Lango-Reynoso F. and Leyva-Ovalle O. R. (2019). Impact of Thiamethoxam in Papaya Cultivation (*Carica papaya* Linnaeus) in Rotation with Watermelon (*Citrullus lanatus*) *Crops. Agriculture*, 9(6), 1-11

Montoya G. Y Bermúdez S., Mónica Y. Modelamiento de la transferencia de oxígeno para el cultivo de microorganismos en un biorreactor de columna de burbujeo. Universidad Nacional de Colombia. Manizales 2003.

Morrison R.T. y Boyd R.N (1985). *Química Orgánica*. 2a ed. Fondo Educativo Interamericano. México D.F. 1376 p.

Mueller JG, Cerniglia CE and Pritchard PH, Bioremediation of environments contaminated by polycyclic aromatic hydrocarbons, in *Bioremediation: Principles and Applications*, ed by Crawford RL and Crawford DL. Cambridge University Press,

Idaho, pp 125–194 (1996)

Muñoz, C.(2015). Islas, lagos, cascadas, ríos y cenotes. Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa. México, Pp 7-9.

NMX-AA-014-1980. (1980). CUERPOS RECEPTORES.- MUESTREO. México: Norma Mexicana. Ciudad de México. Norma Mexicana.

NMX-AA-117-SCFI-2001 (2001). ANÁLISIS DE AGUA - DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS TOTALES DEL PETRÓLEO (HTP's) EN AGUAS NATURALES, POTABLES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS - MÉTODO DE PRUEBA.

NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 (2012). Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y lineamientos para el muestreo en la caracterización y especificaciones para la remediación

Noticieros Televisa (2018). Por contaminación repuntan enfermedades en pobladores de los Bitzales, Tabasco. <https://noticieros.televisa.com/ultimas-noticias/por-contaminacion-repuntan-enfermedades-en-pobladores-de-los-bitzales-tabasco/> (2018), Accessed date: 01 November 2018.

Núñez-Reyes, D. E. (2012) "Desarrollo de un sistema de producción de *Pichia pastoris* en cultivo en medio sólido", Universidad Autónoma Metropolitana

Ocaña – Servín, H., Rico – Méndez, F., Perez – Avilés, J., Colin – Cruz, A. & Camacho – Beizar, R. (2003). Antecedentes históricos de la contaminación ambiental. En : Solís-Segura, L. & López – Arriaga, J. (Eds). Principios básicos de contaminación ambiental. Universidad Autónoma del Estado de México. Pp. 1 -15

Olguín, E. J., Hernández, M. E., y Sánchez-Galván, G. (2007). Contaminación de manglares por hidrocarburos y estrategias de biorremediación, fitorremediación y restauración. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 23(3), 139—154. doi: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0003-4975%2899%2900477-4>.

Petróleos Mexicanos. (2018). Anuario Estadístico. Recovered from de: <https://www.pemex.com/ri/Publicaciones/Paginas/AnuarioEstadistico.aspx>, Accessed date: 13 October 2019

Petróleos Mexicanos. (2016). Incendio en el buque tanque Burgos. [https://www.pemex.com/saladeprensa/boletines\\_nacionales/Paginas/2016-semarpemex-nacional.aspx](https://www.pemex.com/saladeprensa/boletines_nacionales/Paginas/2016-semarpemex-nacional.aspx). Acceso 05 de mayo de 2019.

Portal Tabasco. (2019). Municipios de Tabasco. Recuperado de: <https://tabasco.gob.mx/municipios>. Acceso 12 de Agosto 2019.

PROFEPA. (2014) "Las emergencias ambientales en México: Consecuencias e impacto", Procuraduría Federal de Protección al Ambiente, (Consultado: el 17 de Marzo de 2016).

Disponible en:  
[http://www.cenapred.gob.mx:8080/SeminarioInternacional2014/documentos/mesa3\\_emergencias.pdf](http://www.cenapred.gob.mx:8080/SeminarioInternacional2014/documentos/mesa3_emergencias.pdf)

PROFEPA. (2017). Constata profepa afectación a flora y fauna por presencia de hidrocarburo por derrame en Huimanguillo, Tabasco. Recuperado de: <https://www.gob.mx/profepa/prensa/constata-profepa-afectacion-a-flora-y-fauna-por-presencia-de-hidrocarburo-por-derrame-en-huimanguillo-tabasco>. Acceso 09 de julio de 2019.

PROFEPA. (2018). Reporte Técnico. Recuperado de : [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/378381/REPORTE\\_T\\_CNICO\\_PARAMETROS\\_AMBIENTALES\\_PARA\\_DIAGNOSTICO\\_DE\\_FLORECIMIENTO\\_ALGAL\\_UJAT\\_SERNAPAM\\_22\\_agosto2018.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/378381/REPORTE_T_CNICO_PARAMETROS_AMBIENTALES_PARA_DIAGNOSTICO_DE_FLORECIMIENTO_ALGAL_UJAT_SERNAPAM_22_agosto2018.pdf) . Acceso 08 Agosto de 2019

PROY-NMX-AA-121/1-SCFI-2008 (2008). ANÁLISIS DE AGUA - AGUAS NATURALES EPICONTINENTALES, COSTERAS Y MARINAS – MUESTREO.

Ramesh, A., Archibong, A.E., Hood, D.B., Guo, Z., Loganathan, B.G., 2012. Global environmental distribution and human health effects of polycyclic aromatic hydrocarbons. (Chapter 5). In: Loganathan, B.G., Lam, P.K.S. (Eds.), *Global Contamination Trends of Persistent Organic Chemicals*. CRC Press, Taylor & Francis Group, pp. 102–103

Ramos-Herrera, S., L. F. Broca-Martínez, J. R. Laines-Canepa y J. M. Carrera-Velúeta. 2012. Tendencia de la calidad del agua en ríos de Tabasco, México. *Ingeniería XVI* (3): 207-217. <http://www.revista.ingenieria.uady.mx/volumen16/tendencia.pdf>

Ranjbar Jafarabadi, A., Riyahi Bakhtiari, A., Aliabadian, M., Laetitia, H., Shadmehri Toosi, A., & Yap, C. K. (2018). First report of bioaccumulation and bioconcentration of aliphatic hydrocarbons (AHs) and persistent organic pollutants (PAHs, PCBs and PCNs) and their effects on alcyonacea and scleractinian corals and their endosymbiotic algae from the Persian Gulf, Iran: Inter and intra-species differences. *Science of The Total Environment*, 627, 141–157. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.01.185

Reeves G. (2005). *Understanding and monitoring hydrocarbons in water*. Oakville, Ontario, Canada: Arjay Engineering LTD.

Reyes Y., Vergara I, Torres O., Díaz M. & González E. (2016) Contaminación por metales pesados: implicaciones en Salud, ambiente y seguridad alimentaria. *Revista Ingeniería, Investigación y Desarrollo*.16(2):66-77.

Ron, E.Z., Rosenberg, E. (2002). Biosurfactants and oil bioremediation. *Curr. Opin. Biotech*.13, 249–252. doi: 10.1016/S0958-1669(02)00316-6

Rojas, K. (2018, 02 12). El financiero. Retrieved from La contaminación por plástico: <https://www.elfinancierocr.com/tecnologia/la-contaminacion-por-plastico/YTJWOX5OENA6ZAIQ3GOK6UTKJM/story/>

Salvi, S. (2007). Health effects of ambient air pollution in children. *Paediatric Respiratory Reviews*, 8(4), 275–280. doi:10.1016/j.prrv.2007.08.008

Samanta SK, Singh OV, Jain RK. Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation. *Trends Biotechnol* 2002;20(6):243–8

Sellers, K. 1999. *Fundamentals of hazardous waste site remediation*. Lewis Publishers. 326 pp.

Summersgill M. Remediation technology costs in the UK & Europe; drivers and changes from 2001 to 2005. In: Telford T, editor. *Proceedings of the 5th International GeoEnviro Conference*, June 2006, Cardiff; 2006.

Supaphol, S., Panichsakpatana, S., Trakulnaleamsai, S., Tungkananuruk, N., Roughjanajirapa, P., O'Donnell, A.G., 2006. The selection of mixed microbial inocula in environmental biotechnology: example using petroleum contaminated tropical soils. *Journal of Microbiological Methods* 65, 432-441.

SEMARNAT (2015). *Sistema Nacional de Información Ambiental y de Recursos Naturales. Agua*. Recuperado de: <https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe15/tema/cap6.html>

SEMARNAT (2018). *Reporte Final. Contingencia de manatíes en México*. Recuperado de: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/410558/Reporte\\_mortandad\\_de\\_manaties\\_act\\_\\_05\\_nov\\_18.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/410558/Reporte_mortandad_de_manaties_act__05_nov_18.pdf). Acceso 02 de mayo 2019

Tejada-Tovar, C., Villabona-Ortiz, A., & Garcés-Jaraba, L. (2015). Adsorción de metales pesados en aguas residuales usando materiales de origen biológico. *Tecno Lógicas*, 18(34), 109-123.

Tormoehlen, L. M., Tekulve, K. J., & Nañagas, K. A. (2014). Hydrocarbon toxicity: A review. *Clinical Toxicology*, 52(5), 479–489. doi:10.3109/15563650.2014.923904

Tzintzun-Camacho, O., Torres-Martinez, D., Gutiérrez-Rojas, M., Lizardi-Jiménez, M.A. (2014). Gas hold up on the cultivation of an oildegrading bacterial consortium. *Environmental Engineering and Management Journal*, In Press.17 (5), 1209-1216.

U.S. Environmental Protection Agency (EPA). 2001. *Treatment Technologies for Site Cleanup: Annual Status Report*. 10th Edition.

United States Environmental Protection Agency (EPA). 2017. Toxicological Review of Benzo[a]pyrene (Cincinnati, Ohio).

Valdivia-Rivera, S. (2019) "Aceites de residuos agroindustriales de la Cuenca del Papaloapan para el cultivo de microorganismos degradadores de hidrocarburos", Instituto Tecnológico Superior de Tierra Blanca.

Valdivia-Rivera, S., Varela-Santos, E. del C., Quiñones-Muñoz, T. A., Hernández-Martínez, R., & Lizardi-Jiménez, M. A. (2019). Production of hydrocarbon-degrading microorganisms using agricultural residues of *Mangifera indica* L. and *Carica papaya* as carbon source. *3 Biotech*, 9(2), doi: 10.1007/s13205-019-1574-2

Valencia, R., Sánchez, J., Ortiz, E. y Gómez, J. 2007. La Contaminación de los ríos, otro punto de vista. *Ciencia en la Frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ Volumen V*, No. 1. Pp. 35-49

Van Deuren, J., Z. Wang y J. Ledbetter 1997. Remediation technologies screening matrix and reference guide. Tercera edición. Technology Innovation Office, EPA. <http://www.epa.gov/tio/remed.htm>.

Vidali, M. (2001). Bioremediation. An overview. *Pure and Applied Chemistry*, 73(7), 1163–1172. doi:10.1351/pac200173071163

Volke, T. & Velasco, J.A.(2002). Remediation Technologies for Contaminated Soils. INE-SEMARNAT, Mexico.

Wetzel, D.L., E. Pulster, J.E. Reynolds, III, B. Morales, J. Gelsleichter, F. Oliaei, and J. Padilla. (2008). Organic contaminants on West Indian manatees from Florida and Mexico: A pilot study. Submitted to U.S. Fish and Wildlife Service, SEMARNAT-CONACYT, and the Columbus Zoo and Aquarium. 42 pp.

Wu, Y., Moore, J., Guo, J., Li, A., Grasman, K., Choy, S., & Chen, D. (2016). Multi-residue determination of polyhalogenated carbazoles in aquatic sediments. *Chromatography A*, 1434, 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.01.036>

Yakimov, M.M., Timmis, K.N., Golyshin, P.N., (2007). Obligate oil-degrading marine bacteria. *Current Opinion in Biotechnology* 18, 257–266. doi: 10.1016/j.copbio.2007.04.006