



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"CARACTERIZACION FISICA, QUIMICA Y  
MICROBIOLOGICA DE MUESTRAS DE SUBSUELO  
DEL RIO DE LOS REMEDIOS, EDO. DE MEXICO"

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
B I O L O G A  
P R E S E N T A:  
LETICIA MAYA COLIN



DIRECTOR DE TESIS:  
DRA. SUSANA SAVAL BOHORQUEZ

2000

282796



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**MAT. MARGARITA ELVIRA CHÁVEZ CANO**  
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Ciencias  
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis: **Caracterización física, química y microbiológica de muestras de subsuelo del Río de los Remedios, Edo. de México**

realizado por **Maya Colín Leticia**

con número de cuenta **9024320-6**, pasante de la carrera de **Biología**

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis **Dra. Susana Saval Bohórquez**  
Propietario

Propietario **M en C Sergio Palacios Mayorga**

Propietario **Biol. Claudia Vallejo Albarrán**

Suplente **M en C Jorge Manuel Romero Jarero**

Suplente **Q.F.B. Irma Ruiz Silva**

*Susana Saval Bohórquez*  
*Sergio Palacios Mayorga*  
*Claudia Vallejo Albarrán*  
*Jorge Manuel Romero Jarero*  
*Irma Ruiz Silva*

FACULTAD DE CIENCIAS  
U.N.A.M.

*Edna María Suárez Díaz*  
Consejo Departamental de Biología  
Dra. Edna María Suárez Díaz  
Coordinadora de la Licenciatura  
Departamento de Biología



DEPARTAMENTO  
DE BIOLOGÍA

---

Este trabajo fue realizado en los laboratorios de la Coordinación de Bioprocesos Ambientales del Instituto de Ingeniería, bajo la dirección de la Dra. Susana Saval. Para su realización se contó con el financiamiento de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico a través del Proyecto DGAPA IN-503594 y por CONACYT 24403PB

## AGRADECIMIENTOS

Al Instituto de Ingeniería de la Universidad Nacional Autónoma de México por el apoyo y la oportunidad de realizar el presente trabajo en sus instalaciones

A la Dra. Susana Saval Bohórquez, por brindarme la oportunidad, el apoyo y dirección para el desarrollo de este trabajo.

A mis compañeras Diana García y Adriana Domínguez, por todos los consejos, apoyo y asesoría técnica que me brindaron durante la realización de este trabajo

Al M en C Jorge Romero del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad Nacional Autónoma de México, por la ayuda prestada para la realización de este trabajo y por su tiempo para la revisión del mismo.

A Irma Ruíz por brindarme parte de tu tiempo para la revisión de este trabajo, y por todos tus consejos.

A todos mis compañeros de grupo, GRACIAS.

Ana Laura, Gracias.

## DEDICATORIA

**Con cariño**

**A mis padres**

Porque siempre han estado conmigo en todos los momentos,  
por todo el apoyo incondicional que me han brindado,  
por todos los consejos que me han dado,  
por que siempre han creído en mí,  
por ser el mejor regalo que Dios me ha dado.  
Los quiero mucho.

**A mis hermanos**

Wilberto, Gerardo, Héctor e Irma por todo su apoyo y porque con su ejemplo  
de lucha y superación he seguido adelante, porque todos  
somos y seguiremos siendo una gran familia.

	Página
<b>CONTENIDO</b> .....	i
<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	iii
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	iii
<b>RESUMEN</b> .....	iv
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. OBJETIVOS</b> .....	3
<b>III. MARCO TEÓRICO</b> .....	4
1.- Funciones del suelo .....	4
2.- Propiedades físicas del suelo .....	6
2.1. Profundidad .....	6
2.2. Textura .....	6
2.3. Densidad Aparente .....	8
2.4. Densidad Real .....	8
2.5. Porosidad .....	8
2.6. Humedad .....	9
3.- Propiedades químicas del suelo .....	11
3.1. Reacción del suelo .....	11
3.2. Materia Orgánica .....	13
3.2.1. Origen de la materia orgánica .....	14
3.2.2. Degradación de los productos naturales .....	14
4.- Propiedades microbianas del suelo .....	17
4.1. Factores microambientales .....	18
4.2. Bacterias los organismos más abundantes del suelo .....	20
4.3. Degradación bacteriana .....	22
5.- Contaminación de suelos .....	24

6.- Ciclos biogeoquímicos .....	25
6.1. Ciclo del Carbono .....	26
6.2. Ciclo del Nitrógeno .....	27
6.3. Ciclo del Fósforo .....	30
<b>IV. ANTECEDENTES .....</b>	<b>33</b>
1.- Aguas residuales como fuente de contaminación del subsuelo .....	33
2.- Contaminantes biológicos .....	34
3.- Contaminantes químicos .....	35
3.1. Compuestos inorgánicos .....	35
3.2. Compuestos orgánicos .....	35
4.- Descarga de aguas residuales en la ZMCM .....	36
<b>V. METODOLOGÍA .....</b>	<b>40</b>
1.- Sitio de muestreo .....	40
2.- Obtención de las muestras de suelo profundo .....	41
3.- Caracterización física .....	44
4.- Caracterización química .....	44
5.- Determinación de hidrocarburos monoaromáticos volátiles (BTEX) adsorbidos al subsuelo .....	45
6.- Caracterización microbiológica .....	46
<b>VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>47</b>
1.- Características físicas y químicas del subsuelo .....	47
2.- Determinación de BTEX en subsuelo .....	55
3.- Caracterización microbiológica .....	56
<b>VII. CONCLUSIONES .....</b>	<b>63</b>
<b>VIII. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>65</b>
<b>APÉNDICES .....</b>	<b>v</b>
1.- Análisis físico y químico de muestras de subsuelo .....	v
2.- Determinación de textura del subsuelo .....	vi
3.- Determinación de hidrocarburos monoaromáticos volátiles (BTEX) .....	vii
4.- Análisis microbiológico de subsuelo .....	viii



---

**LISTA DE TABLAS**

**III.1** Propiedades generales del humus y sus efectos en el suelo (Bonh, 1993)

**III.2** Formas de nitrógeno presentes en el suelo (Bonh, 1993)

**VI.1** Textura de las muestras de subsuelo del río de los Remedios

**LISTA DE FIGURAS**

**III.1** Descomposición de la materia orgánica y formación de sustancias húmicas  
(Bonh,1993)

**III.2** Ciclo del carbono (Lim, 1998)

**III.3** Ciclo del nitrógeno (Lim, 1998)

**III.4** Ciclo del fósforo (Alexander, 1992)

**V.1** Ubicación del sitio de muestreo

**V.2** Sitio de muestreo y maquinaria de perforación

**V.3** Posición de la perforación respecto a un corte transversal del canal

**V.4** Profundidad del canal

**VI.1** Perfil de características físicas y químicas de las muestras del subsuelo del río de los  
Remedios

**VI.2** Hidrocarburos monoaromáticos volátiles (BTEX) adsorbidos en suelo profundo del  
río de los Remedios

**VI.3** Perfil microbiológico en muestras de subsuelo del río de los Remedios

## RESUMEN

El suelo es el material no consolidado de la corteza terrestre donde se sustenta la vida y el recurso natural que sufre de contaminación proveniente de descargas de aguas residuales no tratadas. Las características físicas y químicas del suelo son determinantes en la migración de los contaminantes hacia el subsuelo y mantos acuífero. De aquí surge la necesidad de conocer el grado de contaminación de aquellos sitios afectados, el potencial de atenuación natural y las necesidades de saneamiento. Lo anterior ha estimulado el desarrollo de tecnologías para disminuir y en algunos casos, eliminar los contaminantes. Entre estas la biorremediación ha tomado particular interés, ya que se aprovecha el potencial metabólico de los microorganismos nativos del suelo para la degradación de contaminantes. Como un intento de iniciar estudios dentro de este marco de referencia, se realizó el presente trabajo en un sitio cercano a un canal de aguas residuales a través del análisis de muestras de subsuelo. Para este propósito se cuantificó el contenido de hidrocarburos volátiles (BTEX) y, posteriormente, se determinaron las características físicas, químicas y microbiológicas. Los resultados obtenidos indican que las concentraciones más altas de BTEX se encontraron en los puntos más cercanos a la superficie; el tolueno se encontró en mayor concentración seguido de benceno, xilenos y etilbenceno. Se obtuvo un conteo alto de bacterias totales por microscopía directa, en promedio  $10^{14}$  bac/g de suelo seco, las bacterias heterótrofas fluctuaron entre  $10^6$  y  $10^7$  ufc/g de suelo seco, mientras que las bacterias tolerantes a tolueno variaron entre  $10^4$  y  $10^5$  ufc/g de suelo seco. El pH del subsuelo fue ligeramente alcalino, entre 7.57 y 8.78 a lo largo del perfil, lo que favoreció la sobrevivencia de bacterias. El contenido de nitrógeno total fue muy variable, entre 67 y 4987 mg/kg, y el de fósforo en forma de ortofosfatos fue muy bajo, entre 0.68 y 1.85 mg/kg. Se encontró que las condiciones del subsuelo permiten la sobrevivencia de bacterias tolerantes a tolueno. Sin embargo, las concentraciones de nutrimentos esenciales, especialmente fosfatos, parecen ser muy bajas para soportar una atenuación natural.

## I. INTRODUCCIÓN

La ciudad de México, esta localizada en una cuenca hidrológicamente cerrada en la parte sur. Esta región ha sido una de las más densamente pobladas del mundo, cambiando de un plano lacustre natural a una área altamente urbanizada, construida sobre los sedimentos lacustres, extendiéndose hasta la parte baja de las montañas.

Debido al gran aumento de la población, es que nuestro país se ha visto en la necesidad de tener un desarrollo industrial mayor, siendo estas actividades las que más inciden en los problemas de contaminación ambiental. Muchas zonas industriales han ido degradando paulatinamente la calidad de múltiples áreas, hasta niveles peligrosos.

Las actividades industriales y el incremento de la población a nivel mundial han originado la contaminación de suelos y cuerpos de agua siendo, el primero, el material donde se sustenta la vida y el recurso natural que sufre la más grande contaminación provenientes de descargas de aguas residuales no tratadas, tanto domésticas como industriales.

Entre los contaminantes más comunes que se han encontrado en el agua subterránea están los disolventes ampliamente usados en las industrias y los hidrocarburos aromáticos, indicadores de la presencia de productos del petróleo los cuales, frecuentemente, se localizan en zonas industriales.

Las aguas residuales, tanto de origen doméstico como industrial de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM), son vertidas directamente a las redes de canales, ríos y colectores semiprofundos y profundos sin un tratamiento previo. Estos canales, en general, no cuentan con una barrera física para impedir la infiltración de

sustancias tóxicas hacia el subsuelo por lo que pueden penetrar hasta el nivel del agua freática.

En años recientes, se ha hecho mucho énfasis en los efectos a la salud y al ambiente en general, por lo que es importante entender el camino por el cual estos contaminantes entran, migran y se dispersan en el subsuelo hasta llegar a las aguas subterráneas.

El propósito de este trabajo es realizar una caracterización física, química y microbiológica en el subsuelo del río de los Remedios, así como evaluar si los contaminantes pueden migrar o infiltrarse a través de él y el posible papel que desempeñan los microorganismos nativos.

## II. OBJETIVOS

### Objetivo General

Realizar la caracterización física, química y microbiológica en muestras de subsuelo del río de los Remedios, Edo. de México.

### Objetivos Específicos

- 1).- Determinar la presencia de hidrocarburos monoaromáticos volátiles (BTEX) adsorbidos al subsuelo.
- 2).- Determinar las características físicas y químicas del subsuelo.
- 3).- Cuantificar las bacterias totales por microscopía directa, heterótrofas y tolerantes a tolueno en el subsuelo.

### III. MARCO TEÓRICO

#### 1.-FUNCIONES DEL SUELO

El suelo es el recurso natural que sustenta la vida en la capa superficial de la corteza terrestre y del cual las plantas obtienen soporte mecánico y nutrimentos. Químicamente, el suelo contiene una gran cantidad de sustancias orgánicas e inorgánicas que no se encuentran en los estratos más profundos y que ayudan a amortiguar los cambios drásticos que ocurren dentro de él. Para el microbiólogo el medio edáfico es muy diverso ya que contiene una gran variedad de bacterias, actinomicetos, hongos, algas y protozoarios, que lo hacen ser uno de los sitios más dinámicos en interacciones biológicas en la naturaleza, en el cual se llevan a cabo la mayor parte de las reacciones bioquímicas involucradas en la descomposición de la materia orgánica, la intemperización de las rocas y la nutrición de las plantas (Alexander, 1994).

El suelo es el sitio de entrada de carbón orgánico, oxígeno y agua, pero puede estar sujeto a lixiviación de varios minerales. El subsuelo normalmente es deficiente en oxígeno y biológicamente quiescente, pero puede contener minerales lixiviados y una concentración significativa de material húmico recalcitrante (Morgan and Watkinson, 1989).

Así, tenemos que el suelo tiene diversas funciones como servir de filtro amortiguador al limpiar el agua de lluvia que recarga los acuíferos, es un medio productor de alimentos, es hábitat biológico y de reserva genética, es el medio físico para la construcción, además de fuente de materia prima y herencia cultural (Saval, 1997).

El interés por el conocimiento del suelo, en general, a través de sus distintas propiedades, se ha desarrollado paralelamente a los progresos conseguidos en los conocimientos agrícolas.

Los procesos de deterioro y degradación de este medio van siendo percibidos por sectores sociales cada vez más amplios, por lo que se les ha prestado mayor atención para aminorarlos o evitarlos (Porta, 1994).

Por lo anterior, es necesario conocer algunas propiedades físicas y químicas para la identificación de elementos constituyentes del suelo y poder determinar la naturaleza del medio ambiente en el que se desarrollan los microorganismos. Así también nos permite conocer el tipo de contaminante, posibles rutas metabólicas para la vida microbiana y la existencia de nutrimentos (Rogers *et al.* 1993).

Estas propiedades tienen mucha relación entre sí para los muchos usos a que se les destina, como es el drenaje, capacidad de almacenamiento de humedad, aireación, retención de nutrimentos y contaminantes entre otros (Foth, 1992). Estas propiedades afectan la composición de la comunidad microbiana tanto cualitativa como cuantitativamente, determinando la variedad de microorganismos existentes en el suelo, así como también nos permite corroborar que el suelo es uno de los sitios más dinámicos en interacciones biológicas en la naturaleza, donde se realiza la mayor parte de las reacciones bioquímicas involucradas en la descomposición de la materia orgánica (Alexander, 1994).

Todo esto nos permite entender la naturaleza del suelo, su dinámica, las posibles causas de su degradación y su potencial de recuperación.

Así el suelo es un recurso natural no renovable constituido por tres fases:

- a) **Fase sólida.** Constituida por una mezcla de materiales orgánicos conocidos, generalmente, como materia orgánica y de materiales inorgánicos referidos a la fracción mineral del suelo, que forman la estructura o esqueleto.
  
- b) **Fase líquida.** También llamada agua intersticial o solución del suelo, compuesta de agua procedente de las precipitaciones, de sustancias químicas disueltas y de material coloidal. Se encuentra contenida en los espacios porosos más pequeños (Foth, 1992).

c) **Fase gaseosa.** Es la atmósfera del suelo y comprende el espacio poroso. El aire del suelo está compuesto de gases, que comúnmente, se encuentran en la atmósfera y la cantidad usualmente es controlada por el contenido de agua del suelo. Muchas reacciones biológicas en los suelos consumen  $O_2$  y producen  $CO_2$ , por lo que es generalmente bajo en  $O_2$ , pero alto en  $CO_2$  a diferencia del aire de la atmósfera. El contenido de  $CO_2$  muestra una marcada tendencia a aumentar con la profundidad del suelo.

La aereación tiene un efecto significativo sobre muchas reacciones bioquímicas, ya que con cantidades adecuadas de aire las reacciones que prevalecen son aerobias y si la aereación es limitada, las reacciones son anaerobias (Tan, 1994).

Los suelos son verticalmente estratificados y estos son fundamentalmente diferentes en cada horizonte, por lo cual algunas de las propiedades que se describen a continuación permitirán describir las condiciones generales que presenta un suelo.

## **2. PROPIEDADES FÍSICAS DEL SUELO**

### **2.1. Profundidad**

Desde el punto de vista edafológico, la profundidad se relaciona con el grado de desarrollo del suelo. De manera que el suelo se define como la capa superficial en donde no existen restricciones mecánicas para el desarrollo de las raíces, como son la presencia de estratos rocosos, horizontes cementados, grava o piedra, presencia de manto freático, entre otros. Esta propiedad es muy importante porque de ella depende el volumen de agua y nutrimentos que el suelo puede almacenar. Es importante determinar el nivel del manto freático cuando se precisa la profundidad del suelo, ya que se puede ver afectada la calidad de los suelos en ciertas áreas (Aguilera, 1989).

### **2.2. Textura**

La fracción inorgánica consiste en fragmentos de rocas y minerales que varían en tamaño y composición. El tamaño relativo y proporción de las partículas del suelo se expresa mediante el término textura, que se refiere al grado de finura o al grosor de la



misma. De manera más específica la textura es la proporción relativa de arena, limo y arcilla. La magnitud de muchas reacciones físicas y químicas en los suelos están gobernadas por la textura, ya que ésta determina el tamaño de la superficie sobre la cual ocurren dichas reacciones (Aguilera,1989). La determinación de la cantidad de las diferentes partículas presentes en el suelo se denomina análisis mecánico o análisis del tamaño de las partículas.

**Arenas.** Son partículas minerales que tienen un diámetro entre 0.05 y 2.0 mm, son elementos gruesos que debido a su tamaño presentan una superficie específica baja y poca actividad por lo que no juegan un papel muy importante en las actividades físicas y químicas del suelo. Un predominio de elementos gruesos en un suelo hace que este actúe como un tamiz frente al agua, a la que no es capaz de retener y, por otro lado, presenta escasas posibilidades para el suministro de nutrimentos (Porta, 1994).

**Limos.** Estas partículas llegan a medir entre 0.002 y 0.05 mm de diámetro y poseen características entre las arenas y las arcillas por lo que pueden presentar algo de plasticidad, pegajosidad y capacidad adsorptiva de agua y cationes. Tiene mayor área superficial a diferencia de las arenas y una tasa de liberación de nutrimentos solubles para el crecimiento de las plantas más alta que la de las arenas pero menor que las arcillas.

**Arcillas.** Son las partículas minerales más pequeñas ya que tienen un diámetro menor a 0.002 mm. La cantidad de arcilla en el suelo influye grandemente en su capacidad total de retención de agua. Frecuentemente, las arcillas tienen una gran actividad superficial y pueden tener unidos protones, iones hidróxilos, cationes, aniones y material orgánico incluyendo microorganismos (Morgan and Watkinson, 1989). Actúan como un almacén tanto de agua como de nutrimentos ya que algunos son retenidos en su superficie (Foth,1992).

### 2.3. Densidad Aparente

La densidad aparente de los suelos es definida como el peso de los sólidos del suelo por unidad de volumen ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ). El volumen de poros es una parte del volumen de suelo medido para la estimación de la densidad aparente (Thompson, 1988). Los suelos orgánicos tienen una densidad aparente muy baja con relación a la de los suelos minerales.

Los suelos superficiales arenosos tienen una densidad aparente mayor que los arcillosos, lo cual significa que en los suelos arenosos hay menos volumen ocupado por espacio poroso. Sin embargo, el agua se mueve con mucha mayor rapidez a través de un suelo arenoso que de un suelo arcilloso (Foth, 1992), debido principalmente al tamaño de poros.

### 2.4. Densidad Real

Se define como la masa por unidad de volumen de las partículas de suelo (sólidos del suelo), y se expresa en gramos por centímetro cúbico ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ) considerándose sólo las partículas sólidas. En consecuencia la densidad de las partículas de cualquier suelo es una constante siendo de  $2.6\text{g}/\text{cm}^3$  y no varía con la cantidad de espacio que haya entre ellas. No presenta gran variación en diferentes suelos, a menos que haya diferencias notables en el contenido de materia orgánica o en la composición mineralógica (Foth, 1992).

### 2.5. Porosidad

La porosidad se refiere al espacio poroso, el cual depende de la estructura, el contenido de materia orgánica y la textura (Alexander, 1994). Este espacio poroso está compuesto de macro y microporos. Los primeros usualmente son los espacios entre las unidades estructurales del suelo y, como tales, ellos son los principales canales para el movimiento del aire a menos que el suelo se encuentre completamente inundado, mientras que los segundos son los espacios dentro de la unidad estructural y son los principales espacios para el agua, a menos que el suelo sufra una intensa desecación. El volumen de los poros es compartido por aire y agua, ambos esenciales para la vida, en proporciones que varían con las condiciones de humedad o sequedad del suelo. Así el tamaño de los poros es

de gran importancia para el flujo o movimiento del agua al interior del suelo (infiltración) así como a través de él (lixiviación).

Los suelos arenosos suelen tener menor volumen de poros pero casi siempre están bien aireados. Esta buena aereación resulta de que, en tales suelos, la mayoría de los poros son lo bastante grandes para permitir el drenaje del agua y el movimiento del aire que penetra en ellos; los poros pequeños ocupan un porcentaje muy reducido, lo cual explica su baja capacidad para retener el agua.

De manera contraria, en los suelos superficiales de textura fina hay mas espacio poroso total y una proporción, relativamente elevada del mismo, es ocupada por poros pequeños, lo cual da como resultado un suelo con elevada capacidad para retener agua. Los suelos arcillosos y limosos suelen tener un volumen total de poros muy elevado, por lo que retienen gran cantidad de agua. Sus poros son numerosos pero diminutos.

Los suelos arcillosos son, en particular, propensos a tener mala aereación cuando están húmedos, debido a que la mayor parte del espacio poroso esta ocupado por agua y los espacios para la difusión de los gases se vuelven discontinuos (Foth, 1992).

## **2.6. Humedad**

La humedad del suelo comprende todas las formas de agua que entran al sistema y se deriva, principalmente, de la precipitación en forma de lluvia, aunque también puede contribuir importantemente el agua subterránea.

La humedad del suelo es muy dinámica y depende del clima, vegetación, profundidad del suelo, características y condiciones físicas del perfil. (Forsythe, 1985). El contenido de agua en los suelos gobierna el contenido de aire y el intercambio de gases lo que afecta la respiración de las raíces, la actividad de los microorganismos y el estado químico de los suelos.

La humedad se puede expresar gravimétricamente, y se entiende como la masa de agua contenida por unidad de masa de sólidos del suelo.

La capacidad del agua para penetrar al suelo varía en forma considerable ya que es atrapada en los espacios porosos por fuerzas de atracción externa, por la matriz del suelo,

por atracción de iones y por tensión superficial en los capilares, constituyendo la reserva del suministro de agua para el uso de las plantas (Tan, 1994).

Los suelos con una estructura bien desarrollada o con una textura gruesa permiten la entrada libre del agua, mientras que las arcillas masivas son prácticamente impermeables.

La cantidad de agua que puede infiltrarse por completo en el suelo depende, en gran parte, de la permeabilidad de los horizontes medios e inferiores. Si cualquiera de ellos es impermeable, las capas superiores se pueden saturar de agua con rapidez, lo que conduce a un movimiento lateral y escurrimiento por la superficie. Cuando disminuye el contenido de agua se reduce la disponibilidad de ésta y, por lo tanto, el transporte de solutos (Morgan and Watkinson 1989).

La cantidad de agua que se retiene en los diversos valores de succión, varían de un tipo de suelo a otro y es determinada en forma principal por la distribución del tamaño de las partículas y el contenido de materia orgánica.

El agua en el suelo puede clasificarse en:

- a) **Agua de gravedad.** Que fluye libremente en forma vertical en el suelo y es retenida a una tensión menor de 0.1 bar.
- b) **Agua capilar.** La que es retenida en los poros y en la superficie de las partículas, con succiones de 0.1 a 31 bar y que se mueve en cualquier dirección en respuesta al gradiente de humedad.
- c) **Agua higroscópica.** Esta retenida fuertemente en el suelo con valores de succión superiores a 31 bar y se mueve en la fase de vapor.

La humedad que entra al suelo se puede perder por efectos de drenaje y por los procesos combinados de evaporación y transpiración. Aún en sitios muy húmedos y permanentemente saturados, de ordinario, se registra una infiltración continua, ya que rara vez la humedad está estancada por completo. En las pérdidas por evapotranspiración influye la naturaleza de la vegetación y diversas condiciones atmosféricas, incluyendo la radiación solar, la temperatura del aire, la humedad y la nubosidad (Fitzpatrick, 1984).

La disponibilidad del agua es uno de los factores ambientales más importantes que influyen sobre el número y la actividad microbiana.

Debido a que el agua del suelo proviene de la precipitación atmosférica, el abastecimiento es muy variable y como regla general en la naturaleza, hay marcadas fluctuaciones en el contenido de agua del suelo superficial (Alexander, 1994), pero el potencial del agua en el subsuelo es relativamente estable. Sin embargo, los efectos indirectos de un potencial matricio y un contenido de agua moderadamente bajo pueden influir profundamente en el transporte, sobrevivencia y actividades de los microorganismos (Kieft. *et al.* 1993).

### 3. PROPIEDADES QUÍMICAS DEL SUELO

#### 3.1. Reacción del suelo

Una de las características más importantes del suelo es su reacción (pH), debido a que los microorganismos y plantas superiores responden notablemente a su medio químico. El valor del pH es el logaritmo negativo de la concentración de hidrogeniones ( $H^+$ ) o el logaritmo del recíproco de la concentración de iones hidrógeno (Aguilera, 1989).

Sorensen (1909) introdujo la forma exponencial de la concentración de los iones hidrógeno como sigue:

$$pH = -\log_{10}[H^+] = \log_{10} \frac{1}{[H^+]} \quad \text{o} \quad H^+ = 10^{-pH}$$

Las concentraciones de los iones hidrógeno y de los iones hidroxilo se expresa en gramo equivalente por litro.

La reacción del suelo es fundamental en su origen y formación donde influye en forma decisiva sobre la morfogénesis y en los niveles de fertilidad de los mismos; condiciona los tipos de asociaciones vegetales, así como también presenta grandes efectos biológicos, ya que algunos organismos tienen una muy baja tolerancia a las variaciones del pH, mientras que otros pueden tolerar un rango más amplio. La concentración de los iones hidrógeno es fundamental en los procesos físicos, químicos y biológicos del suelo. Así, el

pH del suelo depende de diversos factores tales como la estación del año, las prácticas de cultivo, profundidad del suelo, humedad etc. así como los factores que intervienen en la formación del suelo.

En la mayoría de los suelos el valor de pH oscila entre 4 y 8. Casi todos los suelos con pH superior a 8 poseen un exceso de sales o un elevado porcentaje de  $\text{Na}^+$  en sus sitios de intercambio catiónico.

Por su reacción los suelos se dividen en:

**Suelos ácidos** resultan del proceso natural de intemperización en las regiones que cuentan con suficiente agua de lluvia para arrastrar, fuera de los horizontes superficiales del suelo, sales solubles (primordialmente de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ ). Generalmente, estos suelos están muy lixiviados, lo cual los hace pobres en nutrientes minerales. Son suelos que, generalmente, presentan un pH entre 4.5 y 6.5. Presentan exceso de elementos como cobalto, cobre, fierro, manganeso, zinc, entre otros. A este pH la actividad bacteriana es muy escasa. Cuando los suelos llegan a ser ligeramente ácidos (pH entre 6.1 y 6.5) se produce la máxima disponibilidad de nutrientes.

**Suelo neutro** tiene un pH entre 6.6 y 7.3, el cual presenta los mínimos efectos tóxicos para los microorganismos, permitiendo la sobrevivencia de estos.

**Suelos básicos** presentan un intervalo de pH entre 7.4 y 8.4. Son suelos que, generalmente, contienen carbonato de calcio y presentan deficiencia creciente de los siguientes elementos: cobalto, cobre, fierro, manganeso y zinc. Son muy comunes en zonas áridas y semiáridas.

Cuando la precipitación no es suficiente como para eliminar los productos básicos de la intemperización, se desarrollan **suelos alcalinos** (Cepeda, 1991), los cuales se presentan cuando existe un alto grado de saturación de bases. La presencia de sales, principalmente de calcio, magnesio y sodio en forma de carbonatos, da preponderancia a los iones  $\text{OH}^-$  sobre los  $\text{H}^+$  en solución. En tales condiciones, el suelo es alcalino, sobre todo si está presente el carbonato de sodio, no siendo raro el pH de 8.5 a 10, donde la actividad microbiana es escasa. Los suelos alcalinos son característicos de las regiones áridas y semiáridas (Aguilera, 1989).

La producción o adición de materia orgánica influye sobre el pH del suelo, ya que al degradarse da lugar a la formación de ácidos orgánicos que aumenta la capacidad de intercambio catiónico, pero que disminuye el porcentaje de saturación de bases y, por tanto, el pH.

La medida del pH es un criterio importante para predecir la capacidad que tienen los suelos para soportar reacciones microbianas, como por ejemplo la transformación de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) a nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) ya que es una de las reacciones del suelo más sensibles al pH, lo que se explica por el hecho de que en los suelos se encuentran micrositios en donde se llevan a cabo diversas reacciones químicas, entre otras, la transformación de los materiales nitrogenados. En el caso de la liberación de amonio ésta crea un pH más alto en los micrositios que en la solución del suelo debido a la capacidad de intercambio catiónico (Paul and Clark, 1989).

### 3.2. Materia orgánica

Se define como la fracción orgánica del suelo que incluye vegetales y animales en diferentes estados de descomposición, tejidos y células de organismos que viven en el suelo y sustancias producidas por los habitantes del mismo. La parte más estable de esta materia orgánica se conoce como humus la cual se obtiene después de que se han descompuesto la mayor parte de las sustancias vegetales o animales incorporados al suelo (Fassbender, 1987). Dicha proporción almacena varios elementos esenciales, estimula la estructura adecuada del suelo, es una fuente de capacidad de intercambio catiónico (CIC) y regula los cambios de pH, propicia también las relaciones convenientes entre el aire y el agua en los suelos y es un enorme depósito geoquímico de carbono (Cepeda, 1991).

Además, ejerce gran influencia sobre las propiedades físicas del suelo tales como: la estructura, penetración, retención de agua, y mejora tanto la infiltración como el drenaje; junto con las arcillas tiene muchas propiedades coloidales valiosas para el suelo, es un regulador coloidal que aglutina los suelos arenosos para formar grandes agregados. Las condiciones de aireación de suelos ricos en materia orgánica son, con frecuencia, mejores

que las de los pobres (Gavande, 1991). Los suelos varían grandemente en su contenido de materia orgánica la cual va de 0.2% a 30.0%, (Aguilera, 1989).

### 3.2.1. Origen de la materia orgánica

Los componentes orgánicos del suelo proceden de:

- La acumulación de restos y residuos de plantas y animales.
- La descomposición de los tejidos orgánicos por acción mecánica de la fauna y microorganismos
- Materiales orgánicos de origen biológico aportados por el hombre en los agroecosistemas: estiércol, restos de cosechas entre otros.
- Productos xenobióticos que son de carácter orgánico resultantes de síntesis industrial; los más frecuentemente incorporados al suelo son los plaguicidas (Porta, 1994).

### 3.2.2. Degradación de los productos naturales

En condiciones aerobias todos los compuestos formados biosintéticamente son degradables; para cada compuesto, por complicado que éste sea, existe un microorganismo capaz de degradarlo total o parcialmente; los productos de biodegradación que de esta forma surgen son utilizados por otras especies. El conocimiento de los microorganismos (que atacan, degradan y transforman un solo producto natural) se basa fundamentalmente en los estudios realizados con cultivos de enriquecimiento.

La descomposición de la materia orgánica del suelo implica la oxidación del carbono por organismos heterótrofos que emplean la energía de la oxidación en su metabolismo. A medida que la materia orgánica se convierte cada vez más en partículas finamente divididas, también decrece la población de los organismos que propician su descomposición. La descomposición continúa mientras el oxígeno, el agua, la temperatura y los niveles de nutrientes sean los indicados para los organismos degradadores (Bohn, 1993). A medida que los cambios enzimáticos de la materia orgánica del suelo se producen, los productos simples empiezan a manifestarse libremente. Algunos de ellos, especialmente el CO<sub>2</sub> y el agua, aparecen inmediatamente; otros, como el nitrógeno en forma de nitratos,



se acumula solo después que ha alcanzado la máxima transformación y los organismos encargados de su transformación han disminuido numéricamente (Cepeda, 1991).

Dentro de la materia orgánica existen compuestos humificados y no humificados, de los cuales, los segundos han sido liberados por la descomposición de plantas, animales y microorganismos, en su forma original o modificada. Estos compuestos incluyen carbohidratos, aminoácidos, proteínas, lípidos, ácidos nucleicos, ligninas, pigmentos, hormonas y una variedad de ácidos orgánicos. Los compuestos humificados son productos que han sido sintetizados de las sustancias no húmicas, estos son un grupo de sustancias complejas tales como los ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y huminas. Al material húmico y no húmico se le conoce como humus del suelo (Tan, 1994). En la Figura III.1. se observa la descomposición de la materia orgánica y la formación de sustancias húmicas (Bohn, 1993).

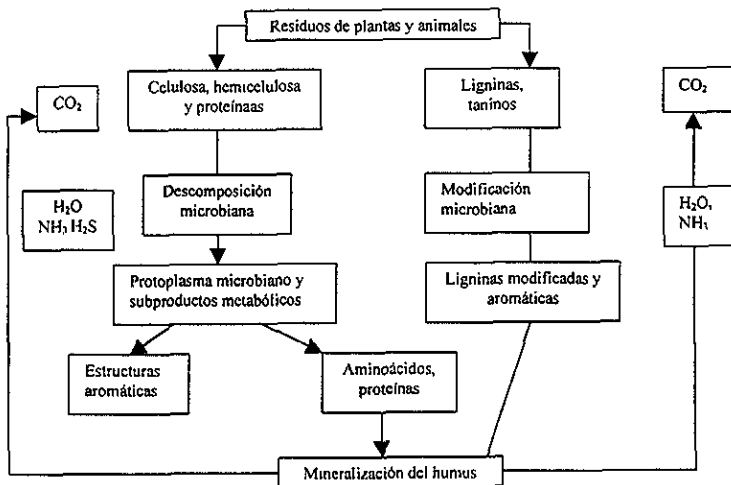


Figura III.1. Descomposición de la materia orgánica y formación de sustancias húmicas (Bohn, 1993)

Los productos de la degradación de materiales no húmicos sufren reacciones enzimáticas y químicas para formar nuevos polímeros coloidales llamados humus, el cual

es una mezcla de sustancias de color pardo a casi negro, amorfas y coloidales, resistentes a los microorganismos, modificadas a partir de los tejidos originales de las plantas o sintetizada nuevamente, por los organismos del suelo, hasta una forma estable frente a la biodegradación.

Es de tal importancia la influencia que el humus tiene en las propiedades químicas y físicas del suelo, que basta con citar algunas de las principales funciones que lo caracterizan como son:

- a) Amortigua el pH
- b) Mejora la estructura y la aereación
- c) Es un depósito de elementos químicos
- d) Es fuente de energía
- e) Ayuda a reducir los cambios de temperatura

Así, el humus es el compuesto orgánico que ha perdido todo vestigio de organización celular (Artreta, 1991). Algunas propiedades se muestran en la Tabla III.1.

Tabla III.1 Propiedades generales del humus y sus efectos en el suelo (Bohn, 1993).

PROPIEDAD	OBSERVACIONES	EFFECTOS EN EL SUELO
Color	El color oscuro de muchos suelos lo origina la materia orgánica humificada	Facilita el calentamiento del suelo
Retención de agua	La materia orgánica puede retener hasta 20 veces su peso de agua	Evita la desecación y la contracción; mejora la retención de humedad en suelos arenosos
Combinación con Minerales arcillosos	Une partículas de suelo en unidades llamadas agregados	Permite el intercambio de gas; estabiliza la estructura; incrementa la permeabilidad
Solubilidad en agua	La insolubilidad de la materia orgánica es el resultado parcial de su asociación con la arcilla	La materia orgánica en pequeñas cantidades se pierde por lixiviación
Relaciones con el pH	Amortigua el pH del suelo en los límites entre ligeramente ácido, neutro y alcalino	Ayuda a mantener una reacción uniforme (pH) en el suelo
Mineralización	La descomposición de la materia orgánica produce $\text{CO}_2$ , $\text{NH}_4^+$ , $\text{NO}_3^-$ , $\text{PO}_4^{3-}$ y $\text{SO}_4^{2-}$ .	Fuente de elementos nutritivos para el crecimiento de las plantas

La materia orgánica contribuye al crecimiento de la vegetación, influye en las propiedades químicas, biológicas y físicas del suelo, proporciona nitrógeno, fósforo y azufre y sirve como fuente de energía para los organismos de la microflora y microfauna

del suelo. Indirectamente, determina el suministro de nutrimentos minerales procedentes de otras fuentes.

Al incrementarse la aridez del suelo, la cantidad de materia orgánica disminuye y, a su vez tiende a incrementarse la cantidad de compuestos inorgánicos (carbonatos, sulfatos y nitratos).

Los suelos arcillosos se benefician con la adición de materia orgánica, a través de la agregación de partículas y de la estructura granular del suelo. La agregación produce una estructura granular, abierta y suelta que permite una buena permeabilidad al aire y al agua.

El contenido de materia orgánica es el factor del suelo más directamente relacionado con la sorción de la mayoría de los herbicidas y muchos compuestos orgánicos, como los hidrocarburos y otros productos químicos orgánicos que se asocian con la fracción orgánica de los suelos. De esta manera, el contenido de materia orgánica del suelo determina el comportamiento en el suelo de todos los productos químicos tanto de origen natural como todos los creados por el hombre (sustancias xenobióticas).

#### **4. PROPIEDADES MICROBIANAS DEL SUELO**

El suelo es el hogar de innumerables formas de vida vegetal y animal. La vida en el suelo es muy diversa; va desde organismos microscópicos hasta animales grandes que hacen madrigueras. Como en el caso de los organismos que viven en la superficie del suelo, dentro del suelo hay cadenas alimenticias bien definidas y una intensa competencia por la sobrevivencia (Foth, 1992).

Los microorganismos pueden crecer en un amplio intervalo de ambientes, desde los altamente ácidos hasta algunas condiciones alcalinas, así como también en lugares con temperaturas tanto muy bajas como elevadas, con o sin oxígeno y bajo grandes presiones. Los microorganismos emplean una variedad de sustancias para obtener energía, por lo que tienen una gran capacidad para adaptarse a los cambios ambientales, sin embargo algunos requieren nutrimentos especiales.

Los suelos fértiles, de textura fina, altos en materia orgánica contienen mucho más microorganismos que los suelos de textura gruesa bajos en materia orgánica.

La naturaleza de la población microbiana y la velocidad a la cual crecen los microorganismos puede estar influenciado por una gran variedad de factores ambientales, físicos, químicos y biológicos (Black, 1996).

#### **4.1. Factores microambientales**

##### **pH**

El pH tiene influencia en las actividades y abundancia relativa de los diferentes grupos de organismos. Se nota, con frecuencia, que la proporción de hongos con respecto a las bacterias es mayor en los suelos ácidos que en los neutros.

Los microorganismos tienen un pH óptimo en el cual crecen mejor, encontrándose cercano a la neutralidad (pH 7). Muchos microorganismos no crecen a un pH más de una unidad por arriba o por abajo del óptimo. De acuerdo al pH las bacterias son clasificadas como:

- a).- acidófilas, las cuales crecen mejor en pH por debajo de 5.4
- b).- neutrófilas crecen en un intervalo de pH entre 5.4 a 8.5
- c).- alcalinófilas crecen en un intervalo de pH entre 7.0 a 11.5

##### **Temperatura**

La temperatura regula las velocidades de reacción de los cambios biológicos y químicos que ocurren en el suelo y, por lo tanto, es un factor de interés con relación a los microorganismos. Dentro de un margen reducido, el grado de las reacciones biológicas aumenta de dos a tres veces por cada incremento de temperatura de 10°C. Para la mayoría de los organismos del suelo, la temperatura óptima es de cerca de 35°C, aunque pueden crecer en un intervalo bastante amplio de temperatura y adaptarse rápidamente a cambios graduales de la misma (Foth, 1992) aunque existe un intervalo fuera del cual el crecimiento se detiene. De acuerdo al intervalo de temperatura se pueden mencionar tres grupos microbianos. La mayoría de los microorganismos son mesófilos con una temperatura óptima cercana a 25 y 30°C, aunque pueden desarrollarse dentro del intervalo de 15 y 45°C. La mayor parte de las bacterias del suelo pertenecen a este grupo. Ciertas especies se

desarrollan mejor a temperaturas menores a 20°C denominándose psicrófilas, las cuales no son muy comunes en el suelo. Y, por último las bacterias termófilas que son organismos que crecen fácilmente a temperaturas de 45 a 65°C (Alexander, 1994).

### **Humedad**

Otro factor principal que afecta el número y las actividades de los microorganismos del suelo es la humedad del mismo. La cantidad óptima de humedad para la mayoría de los organismos del suelo está entre 50% y 70% de la capacidad de campo del suelo, casi la misma que para la mayoría de las plantas superiores.

El agua es el componente principal del protoplasma, por lo que debe disponerse de un suministro adecuado para el desarrollo microbial y vegetativo; cuando la humedad es excesiva, la proliferación microbiana se detiene no tanto a causa del exceso de agua sino, principalmente, porque dicho exceso limita el intercambio gaseoso y disminuye el suministro de oxígeno disponible, creando así un ambiente anaerobio.

### **Aereación**

La aereación está dada, principalmente, por las fluctuaciones de humedad en el suelo, como ya se mencionó. El desarrollo y las actividades de los organismos del suelo se ven afectados por la concentración y grado de aprovisionamiento de ciertos gases (en particular oxígeno, dióxido de carbono y nitrógeno) en el aire. El oxígeno es necesario para los procesos de oxidación, el dióxido de carbono sirve como fuente de carbono para los organismos autótrofos y el nitrógeno para los organismos fijadores de nitrógeno. La abundancia de oxígeno favorece las actividades de los formadores de nitritos y nitratos, y otros organismos que oxidan la materia orgánica.

Para los organismos aerobios, el oxígeno es frecuentemente el factor que limita la velocidad de crecimiento (Black, 1996).

Los suelos arenosos están bien aireados y esta condición restringe la acumulación de materia orgánica, mientras que los suelos de textura fina tienen una aereación pobre

favoreciendo los procesos de reducción y la acumulación de materia orgánica del suelo, debido a la descomposición restringida de ésta (Foth, 1992).

#### 4.2. Bacterias los organismos más abundantes del suelo

Las bacterias son organismos unicelulares que exceden a todos los organismos del suelo en número y clase. Un gramo de suelo fértil superficial puede contener cerca de mil millones de bacterias. Las bacterias más comunes del suelo son de forma de bastón, de una micra o menos de diámetro y unas cuantas micras de longitud.

Las bacterias en el suelo generalmente se encuentran adheridas a las partículas de arcilla y humus y raramente se pueden encontrar libres en la fase líquida del suelo. La adsorción produce una disminución del número de bacterias que fluye a través del suelo en corrientes de agua. La cantidad y el tipo de bacterias están determinados en gran medida por el tipo de suelo. La profundidad es una variable más que afecta a las bacterias, ya que el examen de un perfil típico, revela un incremento conforme se va de la superficie a unos cuantos centímetros abajo, pero el número declina a mayores profundidades. La mayoría de los cambios asociados con la posición del perfil, se explica en términos de alteraciones microbianas producidas por la variación en la cantidad de carbono orgánico y oxígeno disponible (Alexander, 1994).

Existen varias clasificaciones de bacterias de acuerdo a su origen, a sus necesidades de energía y oxígeno, entre otros.

Las bacterias del suelo se pueden clasificar en dos grandes grupos de acuerdo a su origen:

**Bacterias nativas o autóctonas** son residentes verdaderos y pueden encontrarse en estado de latencia y perdurar por largos períodos sin tener actividad metabólica pero, en determinado momento, estas formas nativas proliferan para participan en las funciones bioquímicas de la comunidad.

**Bacterias invasoras o alóctonas** provienen de otros lugares y suelen adaptarse a él y por el contrario, no participan de manera significativa en las actividades de la comunidad.

Pueden dividirse en forma general en dos grandes grupos basándose en sus necesidades de energía:

**1) Bacterias heterótrofas**, las cuales obtienen su energía de la oxidación de las sustancias orgánicas complejas.

**2) Bacterias autótrofas**, las que obtienen su energía de la oxidación de elementos o compuestos inorgánicos, el carbono del dióxido de carbono, y el nitrógeno y otros minerales de los compuestos inorgánicos. En este grupo se encuentran los organismos formadores de nitritos y nitratos, las bacterias que oxidan el azufre, las que oxidan el hierro y las que actúan sobre el hidrógeno y sus compuestos.

Otra clasificación de las bacterias es de acuerdo a sus requerimientos de oxígeno.

**1) Bacterias aerobias**, requieren oxígeno del aire del suelo. La mayor parte de las bacterias del suelo pertenecen a este grupo.

**2) Bacterias aerobias facultativas**. Estas bacterias se pueden adaptar a vivir en donde el aire del suelo está limitado de oxígeno.

**3) Bacterias anaerobias** las cuales no pueden sobrevivir en presencia de oxígeno.

Las bacterias del suelo, también, difieren considerablemente en su nutrición y en su respuesta a las condiciones ambientales. (Foth, 1992). Los nutrimentos necesarios para los microorganismos incluyen carbono, nitrógeno, azufre, fósforo, ciertos elementos traza y vitaminas, los cuales pueden ser reciclados por ellos mismos.

Muchas bacterias usan algunos compuestos que contienen carbono como una fuente de energía. Tanto organismos autótrofos como heterótrofos pueden obtener energía de la glucosa por glucólisis, fermentación y ciclo de Krebs.

Así, también, necesitan nitrógeno para sintetizar enzimas, proteínas y ácidos nucleicos. Algunas obtienen nitrógeno de fuentes inorgánicas y otras reducen iones nitrato a grupos amino que usan para producir aminoácidos.

A parte del carbono y nitrógeno, los microorganismos necesitan un suministro de ciertos minerales, especialmente azufre y fósforo, los cuales son componentes importantes de las células. Los microorganismos obtienen azufre de sales inorgánicas azufradas y de aminoácidos que contienen azufre para sintetizar proteínas, coenzimas y otros componentes celulares. El fósforo lo obtienen principalmente de iones fosfatados ( $PO_4^{3-}$ ) y lo usan en forma de fosfato para sintetizar ATP, fosfolípidos y ácidos nucleicos (Black, 1996).

#### 4.3. Degradación bacteriana

Los microorganismos juegan un papel muy importante en la biosfera ya que están íntimamente asociados con cada uno de sus componentes e influyen significativamente en la composición y calidad de estos ambientes. Estas actividades microbianas pueden ser benéficas o perjudiciales. Así, también, ayudan a la biodegradación tanto de la materia orgánica como de residuos tóxicos y contaminantes ambientales, así como a la transformación de sustancias químicas que pueden ser usadas por otros organismos. Sin embargo, pueden también excretar productos tóxicos que son perjudiciales a la biosfera (Lim, 1998).

La fase inicial de degradación microbiana lo constituye la pérdida rápida de sustancias susceptibles a descomposición acelerada. Los mohos y las bacterias formadores de esporas son especialmente activos en el consumo de proteínas, almidones y celulosa. Sus principales productos son  $CO_2$  y  $H_2O$ . Algunos productos secundarios incluyen pequeñas cantidades de  $NH_3$ ,  $H_2S$ ,  $SO_2$ , ácidos orgánicos y otras sustancias que no se oxidan completamente. En las fases posteriores de la biodegradación, una amplia variedad de microorganismos ataca a estos productos intermediarios con la consecuente producción de biomasa y pérdida adicional de carbono como  $CO_2$  (Bohn, 1993).

De entre los residuos tóxicos que se encuentran en el ambiente están los hidrocarburos los cuales pueden servir como una fuente de carbono y energía a ciertos microorganismos incluyendo *Pseudomonas*, *Nocardia* y *Streptomyces*. Estos microorganismos pueden ayudar a la limpieza de derrames de combustibles en el suelo, situación que es un serio problema ambiental (Lim, 1998).



La biodegradación del petróleo y de otros hidrocarburos en el ambiente es un proceso complejo, ya que depende de la naturaleza y cantidad de los hidrocarburos presentes, de las condiciones ambientales y de la composición microbiana autóctona. Se ha visto que la degradación microbiana ocurre sobre las fracciones alifáticas y aromáticas del petróleo, sobre productos aromáticos de alto peso molecular, resinas y asfaltenos, los cuales son considerados como sustancias recalcitrantes, ya que exhiben sólo una muy baja biodegradación, aunque en algunos estudios se ha observado una alta biodegradación bajo condiciones óptimas. La velocidad de biodegradación generalmente aumenta cuando hay un incremento de temperatura; en los ecosistemas expuestos a temperaturas extremadamente bajas, los microorganismos bajan su metabolismo y por lo tanto la biodegradación es muy lenta. El oxígeno, la concentración de nutrientes, humedad y pH, son los factores que predominan en la velocidad de biodegradación en el suelo.

La degradación de los hidrocarburos por comunidades microbianas depende de su composición y de la respuesta adaptativa de los microorganismos a la presencia de los hidrocarburos. Los mecanismos de adaptación incluyen tanto un enriquecimiento selectivo como cambios genéticos (Leahy and Colwell, 1990).

Recientemente las bacterias han sido usadas para degradar específicamente los hidrocarburos en derrames accidentales. Una de las muchas especies de bacterias degradadoras es *Pseudomonas putida* la cual es portadora de plásmidos cuyos genes codifican las enzimas que degradan los componentes de los hidrocarburos. La degradación bacteriana de los hidrocarburos está siendo ampliamente utilizada en la limpieza de los derrames de hidrocarburos en el suelo, haciendo uso de preparaciones bacterianas bajo condiciones controladas, las cuales constituyen una importante herramienta biológica para asistir el saneamiento de ambientes contaminados.

Así, también, las bacterias del suelo no sólo son capaces de degradar hidrocarburos sino que, también, algunas otras especies son capaces de degradar ciertos plaguicidas y sustancias fumigantes que muchas veces llegan al suelo, así como una gran cantidad de sustancias xenobióticas (Lim, 1998).

## 5. Contaminación de suelos

La contaminación constituye uno de los aspectos más importantes en el deterioro de los suelos, la cual se define como la concentración de un elemento o de un compuesto químico a partir del cual se producen efectos desfavorables y se asocia con la entrada de sustancias que, a partir de una cierta concentración, deben considerarse como no deseables.

El suelo contiene una gran variedad de elementos químicos, de manera que es difícil establecer a partir de qué momento, un mismo elemento deja de ser benéfico o indiferente, para pasar a tener la calidad de contaminante. Los efectos desfavorables de los contaminantes en el suelo como sistema son:

- Destrucción del poder de autodepuración por procesos de regeneración biológica normales, al haberse superado la capacidad de aceptación del suelo. Se ve afectado el ciclo biogeoquímico y la función de biofiltro.
- Disminución cualitativa y cuantitativa del crecimiento normal de los microorganismos del suelo, o bien alteración de su diversidad, lo que hace aumentar la fragilidad del sistema.
- Disminución del rendimiento de los cultivos con posibles cambios en la composición de los productos, con riesgo para la salud de los consumidores, al entrar determinados elementos en la cadena trófica.
- Contaminación de las aguas superficiales y freáticas por procesos de transferencia. Se alcanzan concentraciones superiores a las consideradas aceptables.

En algunos casos, el origen de la contaminación puede deberse a productos xenobióticos, cuyo uso puede considerarse habitual en una agricultura basada en el empleo de agroquímicos. La contaminación se produce cuando no se respetan las dosis recomendadas, o bien, cuando se utilizan los productos que ya han sido discontinuados e incluso prohibidos. En otros casos, la contaminación se produce al querer utilizar el suelo como depurador natural, realizando aportes que superen su capacidad de aceptación o por incorporaciones incontroladas. Las principales fuentes de contaminación potencial son fitosanitarios y sus productos de degradación, lodos de purga, contaminantes atmosféricos aportados al suelo por deposición, tanto seca como húmeda, principalmente en áreas

industriales o bajo su influencia, aguas residuales empleadas para riego, residuos industriales y urbanos así como fertilizantes utilizados de forma intensiva y en exceso.

Las principales sustancias que se consideran causantes potenciales de problemas de contaminación son:

- Metales pesados (Cr, Co, Ni, Cu, Zn, Mo, Cd, Sn, Ba, Hg, Pb).
- Compuestos inorgánicos ( $F^-$ ,  $S^{2-}$ ,  $Br^-$ ,  $PO_4^{2-}$ ).
- Compuestos aromáticos y poliaromáticos.
- Compuestos organoclorados.
- Agroquímicos.

Todos los compuestos de origen biogénico son fácilmente degradables por microorganismos, lo que significa que éstos presentan una gran versatilidad en sus capacidades catabólicas. De ahí que el suelo pueda considerarse un depurador natural de los residuos orgánicos. Los organismos que viven en el suelo descomponen, absorben y degradan los contaminantes con mayor o menor eficiencia dependiendo de:

- Las propiedades del suelo.
- Las características del contaminante.
- Los factores relativos al organismo.

Así los efectos de un contaminante sobre los organismos edáficos dependen de su biodisponibilidad, que puede definirse como la disponibilidad de un contaminante con respecto a un organismo específico y sólo puede medirse en términos del efecto de un contaminante en particular sobre un determinado organismo.

## 6. CICLOS BIOGEOQUÍMICOS

Los ciclos biogeoquímicos describen el movimiento de los elementos químicos. La atmósfera, litosfera e hidrosfera comprende la porción geológica de los ciclos. La parte biológica consiste de organismos vivos, los cuales juegan un papel muy importante en los procesos de reciclado. Sirven no sólo como productores y consumidores, sino que también

tienen papeles únicos como degradadores. Sin los microorganismos los elementos químicos no podrían ser reciclados y los nutrientes no podrían estar disponibles para sostener la vida. Diversas poblaciones microbianas interactúan dentro de un hábitat, constituyendo una comunidad, la cual junto con los factores abióticos del ambiente forman un ecosistema.

Seis de los principales elementos (carbono, nitrógeno, azufre, fósforo, oxígeno e hidrógeno) constituyen el 97% del peso seco de la bacteria y son requeridos en grandes cantidades para su crecimiento, estos elementos son reciclados en altas proporciones. Los elementos menores (magnesio, potasio y sodio), y elementos traza (aluminio, cobre, selenio y zinc) son requeridos en pequeñas cantidades y son reciclados más lentamente.

### 6.1. Ciclo del carbono

El elemento más importante en la biósfera es el carbono y constituye aproximadamente del 40 al 50% del peso seco de los tejidos vegetales y de las células microbianas. Mucho del carbono sobre la tierra es almacenado en forma de combustibles fósiles como carbono, aceite y gas natural. El resto del carbono se encuentra como parte de organismos vivos o en descomposición, como  $\text{CO}_2$  atmosférico, o disuelto, ya sea como carbonatos o bicarbonatos.

La última fuente de todo el carbono es el  $\text{CO}_2$ , no sólo es un material puro de la fotosíntesis, sino que también es el producto residual más importante de la respiración. Se forma de la descomposición de la materia orgánica y de la combustión de materiales carbonáceos. Es un gas incoloro, inodoro e inerte y comprende solo el 0.03% en la atmósfera de la tierra.

El ciclo del carbono envuelve tres grupos de organismos: productores, consumidores y degradadores.

Los productores primarios fijan  $\text{CO}_2$  atmosférico como una forma orgánica de carbono, éstos incluyen tanto organismos fotosintéticos (plantas, algas, cianobacterias y bacterias fotótrofas) como organismos quimiolitótrofos y quimiorganótrofos que fijan  $\text{CO}_2$  durante su metabolismo. El  $\text{CO}_2$  es anaerobiamente reducido a metano por bacterias metanógenas.

El carbono que es fijado con la materia orgánica es eventualmente regresado a la atmósfera como  $\text{CO}_2$  gaseoso por uno de los tres caminos siguientes:

- Animales, plantas y microorganismos que producen  $\text{CO}_2$  durante la respiración.
- Las plantas son consumidas, y una porción significativa de su carbono es oxidado como alimento por los herbívoros y eventualmente por los carnívoros (consumidores).
- Plantas, animales y tejidos muertos son sometidos a descomposición por microorganismos (degradadores), los cuales reciclan el carbono a la atmósfera en forma de  $\text{CO}_2$ . Esta serie de eventos completa el ciclo del carbono, presentado en la Figura III.2

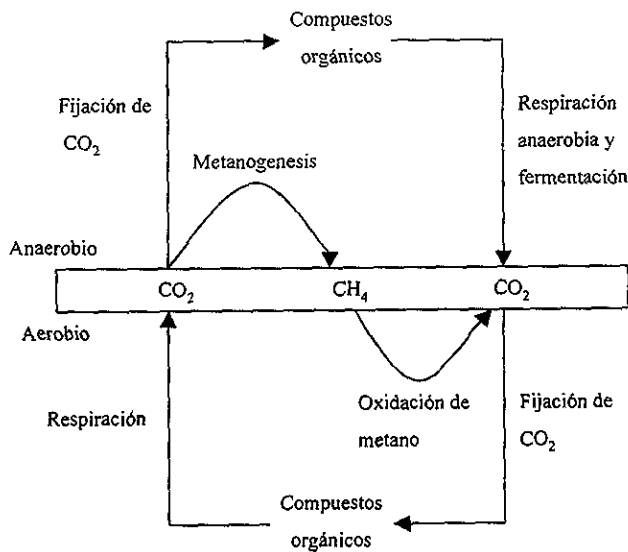


Figura III.2. Ciclo del carbono (Lim, 1998)

## 6.2. Ciclo del Nitrógeno

El ciclo del nitrógeno en el suelo representa solamente una parte del total del ciclo del nitrógeno en la naturaleza. La disponibilidad de este elemento es de gran importancia

para las plantas, las que absorben nitrato y amonio que utilizan en la síntesis de proteínas y de otros compuestos orgánicos vegetales.

Aproximadamente el 98% del nitrógeno total de la tierra se presenta en la litosfera, el resto se encuentra casi en su totalidad en el aire, el que constituye el 78% presentándose en forma molecular ( $N_2$ ) (Fassbender, 1987).

En los horizontes superficiales entre el 90 y el 95% del nitrógeno total se encuentra formando compuestos orgánicos, (proteínas, ácidos nucleicos, aminoácidos, quitina entre otros) y el resto son formas minerales ( $NO_3^-$  y  $NH_4^+$ ), representando menos del 5% del nitrógeno total del suelo Tabla III.2. Esta fracción se presenta básicamente como iones amonio ( $NH_4^+$ ) en forma intercambiable o retenidos en las estructuras cristalinas de minerales arcillosos.

Tabla III.2 Formas de nitrógeno presentes en el suelo (Bohn, 1993).

Nitrógeno Total	
Nitrógeno Orgánico	Nitrógeno Inorgánico
Proteínico	$NH_4^+$ nativo fijo
Nucleico	$NH_4^+$ intercambiable
Azúcares aminados	$NO_3^-$ , N-mineralizado

Los microorganismos edáficos tienen gran influencia en el ciclo del nitrógeno en el sistema suelo-planta-atmósfera y las transformaciones más importantes para la nutrición vegetal son predominantemente microbianas. En la Figura III.3 se muestra el ciclo del nitrógeno, en donde los microorganismos intervienen en los cambios básicos que experimentan los compuestos nitrogenados en el suelo.

**Mineralización.** Es la transformación del nitrógeno combinado orgánicamente a formas inorgánicas como  $NH_4^+$ ,  $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$ , todo esto llevado a cabo por los microorganismos para satisfacer sus necesidades energéticas y nutricionales. La mineralización se lleva a cabo en dos etapas a través de los procesos microbianos de la amonificación, nitrificación.

**Amonificación.** Es el producto final de la mineralización, como consecuencia de la descomposición de las proteínas y otros compuestos orgánicos nitrogenados. El amonio es el primer compuesto, resultado de la mineralización, que puede ser absorbido como  $NH_4^+$

por el complejo de intercambio del suelo (humus y arcillas), quedando como una fuente de nitrógeno asimilable para las plantas. El amonio no retenido en el suelo, constituye el sustrato de la nitrificación.

**Nitrificación.** Es la transformación de  $\text{NH}_4^+$  en nitratos, pasando previamente por la forma de nitritos. La primera reacción de transformación en nitritos es realizada por un pequeño número de géneros bacterianos autotrofos de los que *Nitrosomonas sp.*, es el más importante. El segundo paso de la transformación a nitratos es realizado por el único género bacteriano que es *Nitrobacter sp.* (Fassbender, 1987).

**Desnitrificación.** Es la reducción de los nitratos a óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) y gas nitrógeno ( $\text{N}_2$ ) por varios grupos de bacterias que, a falta de oxígeno, los utilizan en su respiración como aceptores finales de electrones. Entre los géneros de bacterias más comunes que intervienen están: *Pseudomonas sp.*, *Micrococcus sp.* y *Thiobacillus desnitrificans*. El nitrógeno así liberado ( $\text{N}_2$ ) se incorpora a la atmósfera. La pérdida de nitrógeno en el suelo por desnitrificación y lixiviación de los nitratos es muy elevada.

**Fijación del nitrógeno.** Es el proceso natural más importante para el aumento del nitrógeno en el suelo realizada por los organismos más primitivos como son las bacterias y cianobacterias de vida libre o asociadas a plantas vasculares, que pueden actuar ya sea libremente o sólo fijando nitrógeno simbióticamente en nódulos radiculares.

Otros procesos no biológicos de fijación de nitrógeno, resultan de la formación de óxidos de nitrógeno, los cuales son arrastrados por la lluvia hacia el suelo. Sin embargo, estos procesos, en comparación con la fijación biológica, contribuyen en mucho menor grado a la entrada de nitrógeno a la biósfera.

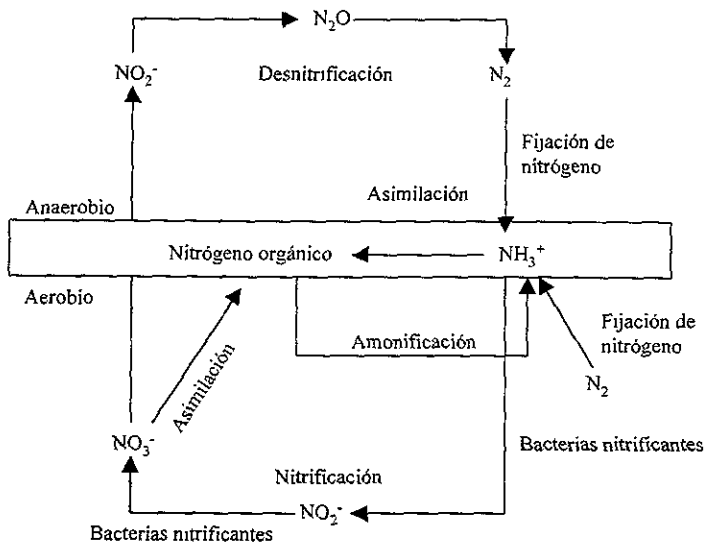


Figura III.3 Ciclo del nitrógeno (Lim, 1998).

### 6.3. Ciclo del fósforo

El fósforo se encuentra en el suelo, plantas y microorganismos en cierto número de compuestos orgánicos e inorgánicos. Después del nitrógeno es el segundo de los nutrientes inorgánicos requeridos tanto por plantas como por microorganismos; su principal función fisiológica es la acumulación y liberación de energía durante el metabolismo celular. Este elemento puede agregarse al suelo en forma de fertilizantes químicos o puede ser incorporado como hojarasca, residuos vegetales o restos animales. De esta manera, el fósforo es importante, tanto en el crecimiento vegetal como en la biología del suelo (Alexander, 1994).

La cantidad de fósforo en los suelos depende de la textura, de las condiciones ambientales y disminuye con la profundidad debido a la disminución de la materia orgánica



y de los fosfatos orgánicos (Fassbender, 1987). En el suelo el fósforo puede encontrarse en forma orgánica como fosfolípidos, ácidos nucleicos, fosfatos metabólicos, fosfoproteínas y fosfatos de inositol de los cuales los fosfolípidos pueden proceder de plantas, animales o microorganismos y los ácidos nucleicos son, al menos parcialmente, de origen microbiano, mientras que en las formas inorgánicas se tiene la apatita que es el mineral fosfatado más frecuente en las rocas; otras formas inorgánicas son la crandallita que es un fosfato cálcico aluminico y la vivianita, un fosfato ferroso, entre otros (Wild, 1992).

Los iones fosfato son adsorbidos fuertemente por el suelo o son precipitados como compuestos de muy baja solubilidad y, por ello, no se pierden por lixiviación, excepto en los suelos arenosos. Otra diferencia reside en que las pérdidas de fósforo gaseoso (como  $\text{PH}_3$ ) son raras o no existen (Wild, 1992).

Los microorganismos llevan a cabo cierto número de transformaciones del elemento. Estas incluyen:

- a) Alteración de la solubilidad de compuestos inorgánicos de fósforo.
- b) Mineralización de compuestos orgánicos con liberación de fosfato inorgánico
- c) Conversión del anión inorgánico aprovechable en componentes celulares, proceso de inmovilización análogo al que ocurre con el nitrógeno.
- d) Oxidación o reducción de compuestos inorgánicos de fósforo.

La mineralización microbiana y las reacciones de inmovilización son de particular importancia para el ciclo del fósforo en la naturaleza, el cual involucra el movimiento del elemento entre formas orgánicas e inorgánicas mostradas en la Figura III.4 (Alexander, 1994).

Los microorganismos del suelo están activos en el ciclo del fósforo siguiendo dos vías importantes:

- 1) Los microorganismos rompen los fosfatos orgánicos de los microorganismos descompuestos a fosfatos inorgánicos.
- 2) Los microorganismos convierten los fosfatos inorgánicos a ortofosfatos ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) un nutriente soluble en agua usado tanto por plantas como por microorganismos.

Estas funciones son particularmente importantes porque el fósforo es frecuentemente el nutriente limitante en muchos ambientes (Black, 1996).

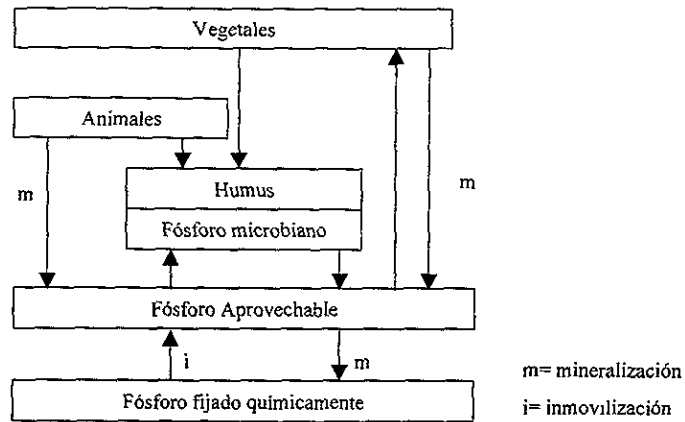


Figura III.4 Ciclo del fósforo (Alexander, 1992)

## IV. ANTECEDENTES

### 1. Aguas residuales como fuente de contaminación del subsuelo

El agua es un compuesto esencial para el desarrollo de la vida en nuestro planeta. Las riberas de los cuerpos de agua natural son los sitios ideales para el asentamiento de poblaciones, dedicadas a la agricultura y a la pesca. Actualmente sitios de desarrollo urbano e industrial demandan cantidades cada vez mayores de agua, debido al aumento creciente de la población mundial y a la relativamente poca disponibilidad de este preciado elemento; y son los que aportan más contaminantes al descargar sus aguas residuales (municipales e industriales) en los cuerpos receptores, en la mayoría de los casos sin tratamiento alguno. Así las características naturales del territorio se han visto afectadas, demostrado por el hecho de que los principales focos de contaminación y deterioro de los ecosistemas se localizan en las ciudades más importantes y puertos industriales o tiene su origen en ellos, afectando las cuencas hidrológicas y los diversos ecosistemas (Ramírez, 1992)

Esto ha traído consigo en los últimos cincuenta años, la producción de una gran cantidad de residuos, muchos de los cuales son vertidos directamente al suelo y a los ríos, con el fin de diluirlos y dispersarlos (Doménech, 1994).

Una de las principales fuentes de contaminación del agua es la fuente industrial, la cual está integrada por una variedad muy amplia de procesos, contándose entre ellos la industria azucarera, textil, alimentaria, agrícola, vitivinícola, metalúrgica, petroquímica, celulosa y papel. Cada una de las industrias descarga volúmenes considerables de desechos líquidos y sólidos, generando la mayor parte de desechos tóxicos que se vierten en los

cuerpos de agua, los cuales se han detectado en años recientes como una gran problemática alarmante (Robles, 1998). El uso de sustancias químicas orgánicas sintéticas ha tenido un gran crecimiento durante este siglo, en particular desde 1940 (NRC, 1984).

En términos generales, las actividades industriales son las que más inciden en los problemas de contaminación ambiental. Muchas zonas industriales van degradando paulatinamente la calidad de las áreas vecinas hasta niveles peligrosos. El desarrollo industrial acelerado de México, especialmente en las últimas décadas, ha originado situaciones anómalas de difícil solución, ya que dicho desarrollo avanzó durante mucho tiempo sin planeación previa de la ubicación y el funcionamiento de las empresas (Vizcaíno, 1986).

La Zona Metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM) es el principal centro urbano e industrial de México y contiene el 25% de la población del país y cerca del 50% de la actividad industrial. Muchos estudios realizados en el mundo han reportado muchos tipos y fuentes de contaminantes de importancia potencial para la calidad del agua subterránea (Mazari, 1992).

Así diferentes tipos de contaminantes suelen encontrarse en las aguas residuales clasificándose como contaminantes biológicos y químicos tanto orgánicos como inorgánicos.

## **2. Contaminantes biológicos**

En general los contaminantes de más preocupación y los de mayor impacto son los de naturaleza microbiana, los que incluyen patógenos, bacterias y virus. En México las enfermedades infecciosas y parasitarias continúan entre las causas más comunes de muerte, especialmente para los infantes. Algunos de estos problemas están relacionados con la mala calidad del agua potable. La fuente más común de bacterias y virus son los residuos domésticos sólidos y las aguas residuales domésticas los cuales son desechados en fosas sépticas o letrinas ya que cerca del 26% de la población en la ZMCM no tienen servicio de drenaje. Estas pueden ser filtradas a través del suelo, desde sus fuentes de origen al agua

subterránea. Así también los contaminantes microbiológicos están presentes en los residuos de servicios médicos (Lee *et al.* 1991), los cuales muy probablemente se colectan y depositan en basureros municipales principalmente (Mazari, 1992). Es de todos estos sitios de donde los microorganismos patógenos pueden migrar a través del suelo y llegar al acuífero.

### **3. Contaminantes químicos**

Los contaminantes de gran preocupación para la calidad del agua en áreas urbanas incluyen las sustancias químicas orgánicas e inorgánicas que son ampliamente usadas en actividades industriales.

#### **3.1. Compuestos inorgánicos**

Las actividades industriales en la ZMCM usan una variedad de compuestos inorgánicos como materia prima. Dentro de los contaminantes inorgánicos se encuentran las sustancias tóxicas entre las que podemos destacar las siguientes: arsénico, cianuros, mercurio, plomo y cromo entre otras (Robles, 1998). Muchos tipos de residuos inorgánicos probablemente son liberados al ambiente ya sea accidentalmente o directamente como desechos residuales inadecuados.

#### **3.2. Compuestos orgánicos**

La contaminación por materia orgánica es la más importante en magnitud. Los principales productos que la componen son la materia fecal humana y animal, residuos vegetales, animales y sustancias sintéticas como son los hidrocarburos, plaguicidas y detergentes entre otros, los cuales son desechados a cuerpos de agua sin un tratamiento previo. Más del 90% de los residuos líquidos industriales generados en la ciudad de México son desechados directamente al sistema de alcantarillado sin un tratamiento previo. De entre todos estos contaminantes los detergentes presentan un alto contenido de fosfatos, los cuales son nutrientes, provocando una sobrepoblación de la flora acuática, la cual al morir

sufre una acción degradativa microbiana, ocasionando una mayor demanda de oxígeno que perjudica a la fauna y al propio cuerpo de agua (proceso de eutroficación).

Las grasas y aceites comprenden una amplia variedad de sustancias orgánicas tanto naturales como sintéticas con características especiales que se refieren a su baja solubilidad en agua y su tendencia a formar películas muy finas en la superficie de aquella. Aquí se incluyen a los ácidos grasos, jabones, grasas, ceras, aceites y a los hidrocarburos, componentes de bajo a elevado peso molecular y de origen mineral, que abarca desde gasolina hasta combustibles y aceites lubricantes.

En la ZMCM una fuente de contaminación significativa proviene principalmente de las refinerías, de las áreas de explotación y depósito, de los derrames accidentales, de los drenajes de las ciudades así como de los residuos de combustión (Robles, 1998). Investigaciones recientes sugieren que muchos de los compuestos del petróleo son móviles por lo cual estos pueden irse degradando durante la migración al subsuelo, especialmente si el oxígeno disponible es suficiente.

Entre muchos otros tipos de industrias que existen en la ZMCM están las fabricas de electrónicos y metales. Estos tipos de industrias desde el pasado han utilizado grandes cantidades de disolventes orgánicos de tipo halogenado de origen sintético para propósitos de limpieza.

De entre los varios contaminantes orgánicos encontrados en el agua subterránea están los solventes o combustibles más ampliamente usados en la industria como son los hidrocarburos monoaromáticos volátiles BTEX. (benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos). Estos tienen densidades menores a la unidad, siendo el benceno el más soluble con hasta 1780 mg/l a temperatura ambiente, por lo que en el agua intersticial llegan a encontrarse pequeñas concentraciones de este. En muestras de agua intersticial del Gran Canal del Desagüe se detectaron concentraciones pequeñas de BTEX, hasta una profundidad de 5.58 m (García, 1998).

#### 4. Descarga de las aguas residuales en la ZMCM

El sistema de las aguas residuales de la ZMCM es un esquema combinado que lleva tanto aguas de lluvia como aguas residuales tanto de origen industrial como de origen doméstico. Este sistema incluye tres principales canales de alcantarillado sin forro que son Gran Canal del Desagüe, Río de los Remedios y Canal Nacional (DDF, 1982,1988).

La mayoría de las aguas residuales generadas por la ZMCM son desechadas al sistema de drenaje sin un tratamiento previo. Algunas de las tuberías de alcantarillado son vaciadas o bombeadas a un sistema abierto, a canales sin forro, lo que esta permitiendo una penetración de las aguas contaminadas al subsuelo. El Gran Canal del Desagüe, construido a comienzos de siglo es operado por bombeo de agua de una parte baja del sistema de drenaje hacia el origen del Gran Canal, siguiendo el flujo de salida del agua de la ZMCM por gravedad. El subsecuente crecimiento demográfico lleva a la necesidad de contar con estaciones de bombeo a lo largo del canal. El Río de los Remedios, originalmente un río natural que cruza la parte norte de la ZMCM, ha sido usado desde hace varias décadas para transportar aguas residuales tanto de origen industrial como doméstico. Es un río que no ha sido forrado por lo que se le considera como un sistema abierto, solamente se encuentra forrado en los sitios donde existe algún cruce o empalme con otro canal o en los sitios que están sujetos a erosión (Mazari, 1992).

Debido a que los canales y ríos están sin forro, existe el potencial para la infiltración de agua y contaminantes hacia el subsuelo descendiendo hacia los acuíferos. Esto es de preocupación especial en la parte norte del Valle de México, ya que investigaciones realizadas en la confluencia del Gran Canal del Desagüe y de Río de los Remedios confirman que la infiltración de agua contaminada hacia el subsuelo sí existe (Pitre, 1992).

Varios contaminantes orgánicos han sido detectados en bajas concentraciones a varias profundidades, estos hallazgos son consistentes con una migración dominada por un flujo de fractura.

Estudios sobre la distribución ambiental de hidrocarburos aromáticos policíclicos fueron iniciados en 1947 cuando Kern reportó la presencia de hidrocarburos en muestras de suelo. La llegada de nuevas y mejores técnicas analíticas, tales como la cromatografía de

gases acoplada a espectrofotometría de masas, y otros métodos mejorados para la extracción y aislamiento de hidrocarburos aromáticos policíclicos permiten ahora la preparación de extractos de muestras de suelo y sedimento los cuales pueden contener miles de compuestos aromáticos, muchos de ellos en mínimas concentraciones.

Pequeñas moléculas tales como benceno, tolueno, etilbenceno, m, p, o-xileno y naftaleno han sido detectados en varios tipos de suelo. En vista del importante manejo de combustibles en México es de esperarse que ellos puedan encontrarse también en muestras de suelo y sedimento. Las propiedades físicas de los hidrocarburos aromáticos de bajo peso molecular indican que también pueden ser localizados en la atmósfera. (Gibbson, 1984).

La biodegradación de los hidrocarburos aromáticos que están presentes en forma natural en el ambiente representan un proceso normal en la transformación en el ciclo del carbono. Sin embargo, la introducción de los productos sintetizados al ambiente puede provocar alteraciones al ciclo biogeoquímico. Gracias a la capacidad de ciertos microorganismos que se pueden adaptar a la presencia de estos compuestos, se puede reducir su impacto en el ambiente. Muchos microorganismos, especialmente las bacterias del género *Mycobacterium*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas* y *Rhodococcus*, han mostrado la capacidad de oxidar diversos hidrocarburos.

La capacidad de las bacterias para utilizar hidrocarburos aromáticos como fuente para su crecimiento fue primero demostrado en 1908 por Storer quien aisló *Bacillus hexacarborum* quien tenía la capacidad de crecer en tolueno y xileno.

En 1913 Söhngen reportó la utilización del benceno por microorganismos, y un año más tarde Wagner aisló dos organismos *Bacterium bezoli a* y *b* los cuales fueron capaces de crecer con benceno, tolueno y xileno. La distribución ubicua de las bacterias del suelo capaces de metabolizar compuestos aromáticos fue demostrada por Gray y Thornton. Estos investigadores examinaron 245 muestras de suelo y mostraron que 146 muestras contenían bacterias capaces de oxidar naftaleno, fenol o cresol. Estas observaciones detallaron el camino sobre la degradación de hidrocarburos aromáticos los cuales comenzaron después de la segunda guerra mundial.



En 1968 Gibson, Koch y Kallio aislaron a *Pseudomonas putida* la cual crecía con etilbenceno como única fuente de carbono y energía. Esta cepa podía también crecer con tolueno y las células que crecen con tolueno rápidamente oxidan benceno a catecol.

Dado que cada día la contaminación en la ZMCM y el manejo de aguas residuales es un grave problema, es necesario que se lleven a cabo investigaciones que permitan conocer el camino por el cual entran, migran y se dispersan los contaminantes en el subsuelo, tomando como referencia que la ciudad de México no cuenta con canales de drenaje protegidos con una barrera para impedir el paso de los contaminantes.

De aquí surge la necesidad de conocer el grado de contaminación de cualquier sitio afectado, así como el potencial de atenuación natural para aprovechar el potencial metabólico de los microorganismos nativos del suelo para la degradación de contaminantes en el mismo sitio.

Todos estos antecedentes llevaron a la conformación del presente trabajo, cuyas metas fueron realizar una caracterización física, química y microbiológica para conocer algunas propiedades microambientales del sitio en estudio y evaluar la capacidad de las bacterias autóctonas para tolerar compuestos orgánicos, utilizando al tolueno como substrato modelo.

## V.-METODOLOGÍA

### 1.- Sitio de muestreo

El estudio se realizó en una zona del río de los Remedios Edo. de México, donde el río es utilizado para el vertimiento de aguas residuales de la zona industrial aledaña. La ubicación del sitio de muestreo se presenta en la Figura V.1. El río de los Remedios también recibe aguas residuales de origen doméstico, pero la mayor proporción corresponde a las aguas residuales de origen industrial, una de las zonas donde se encuentra la mayor parte de las industrias de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México (Mazari, 1992). Los puntos exactos de muestreo se localizaron antes del punto de confluencia con Gran Canal del Desagüe.

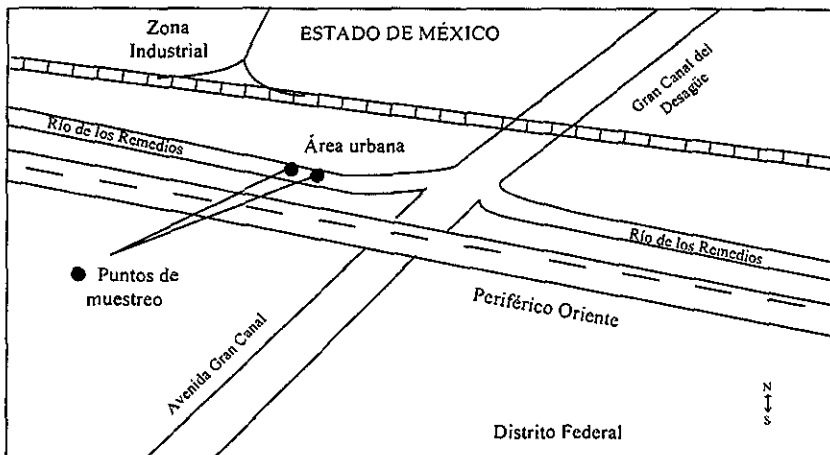


Figura V.1 Ubicación del sitio de muestreo

## 2.- Obtención de las muestras de suelo profundo.

Se llevó a cabo un muestreo continuo de subsuelo con ayuda de una maquina perforadora a la cual se le acoplaron tubos de aluminio, como se puede apreciar en la Figura V.2



Figura V.2. Sitio de muestreo y maquinaria de perforación

La perforación se llevó a cabo en un ángulo de aproximadamente  $40^\circ$  con respecto a la horizontal, adyacente al río de los Remedios, como se observa en las Figuras V.3 y V.4 respectivamente.

### Río de los Remedios

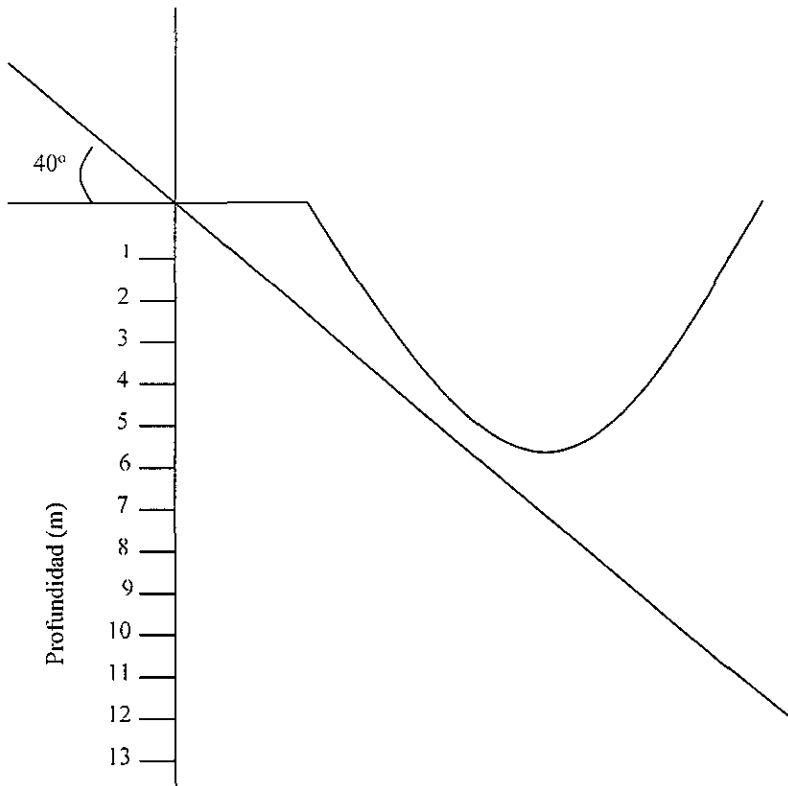


Figura V.3 Posición de la perforación respecto a un corte transversal del canal



Figura V.4 Profundidad del canal

Los núcleos continuos de subsuelo que se tomaron alcanzaron una longitud de aproximadamente 12 m, equivalente a 9.80 m de profundidad vertical. Los núcleos fueron tapados inmediatamente después de ser extraídos para evitar la pérdida de compuestos volátiles y se mantuvieron en hielo hasta que fueron transportados al laboratorio donde se almacenaron en cuarto frío a 4° C. Los núcleos fueron submuestreados y mantenidos en refrigeración hasta su análisis.

Del subsuelo se determinaron las características físicas, químicas y microbiológicas, así como los hidrocarburos monoaromáticos volátiles BTEX (Benceno, Tolueno, Etilbenceno y Xilenos) adsorbidos.

### **3.- Caracterización física**

#### **Textura**

La textura se determinó por el método de Boyoucos. Las lecturas se realizaron con un hidrómetro (Cole-Parmer) (Klute, 1986).

#### **Porosidad**

Para calcular la porosidad fue necesario determinar tanto la densidad real como la densidad aparente del suelo (Klute, 1986).

#### **Humedad**

Se utilizó la técnica gravimétrica, la cual se basa en la pérdida de peso que sufre la muestra al perder agua (NOM-AA-16-1984; Allison, 1985).

### **4.- Caracterización química**

#### **pH**

Para determinar el pH de las muestras fue necesario pesar 10 g de suelo al cual se le agregaron 25 ml de agua destilada, esto es, en una proporción de 1:2.5, se agitó y se dejó reposar durante 30 min, posteriormente leyó en un potenciómetro (Conductronic) previamente calibrado.

#### **Materia orgánica**

La materia orgánica fue determinada por el método de Walkley y Black (Jackson, 1982).

#### **Nitrógeno total**

El nitrógeno total se hizo en muestras digeridas en una unidad de digestión Büchi 435 y una unidad de destilación Büchi 323 (Jackson 1982).

### **Nitratos**

Para la determinación de los nitratos se utilizó la técnica colorimétrica con ácido nitrofenildisulfónico (Jackson 1982). Las lecturas se obtuvieron en un espectrofotómetro (Milton Roy Spectronic 20D).

### **Fosfatos**

El fósforo, en forma de ortofosfatos, se determinó mediante el método de Bray P-1, el cual ha sido extensamente empleado como un índice de fósforo disponible en los suelos siguiendo la técnica de Jackson (1982). La concentración de fosfatos en las muestras de suelo se determinó con ayuda de un espectrofotómetro (Milton Roy Spectronic 20D).

## **5.- Determinación de hidrocarburos monoaromáticos volátiles (BTEX) adsorbidos al subsuelo**

Para detectar los hidrocarburos monoaromáticos volátiles (BTEX) presentes en el subsuelo fue necesario tomar, aproximadamente, 2.45 g de suelo por muestra y se colocaron en viales de 10 ml a los cuales se les agregó 5 ml de metanol como disolvente, para la extracción de los BTEX. Cada uno fue sellado con septos de silicón con cubierta de teflón y arillos de aluminio para evitar fugas. Todo esto se realizó en un cuarto frío con temperatura de 4° C para evitar la volatilización de los hidrocarburos. Todos los viales se agitaron y, posteriormente, se dejaron sedimentar ya que lo que se utilizó fue la solución que quedó sobre el sedimento.

A viales de 20 ml se les agregaron 4 ml de agua destilada y 1 ml de la solución que contenía los hidrocarburos y cada uno fue tapado perfectamente con tapones de teflón y arillos de aluminio. Estos viales fueron colocados en un equipo head-space (Genesis Varian) durante 40 minutos y, posteriormente, la muestra fue inyectada automáticamente al cromatógrafo de gases (Varian 3350), con detector de ionización de flama (FID). Se utilizó una columna capilar J&B DB-1, 100% metil silicona (no polar) con una longitud de 60 m, y un diámetro interno de 0.25µm y espesor de película de 1µm. Los gases acarreadores

fueron H y He. La temperatura de la columna a la cual se trabajo fue de 110°C, para el inyector fue de 250°C y para el detector fue de 300°C.

## **6.- Caracterización microbiológica**

### **Cuenta total por microscopía directa**

La cuenta total de bacterias por microscopía directa se realizó de acuerdo a la técnica de anaranjado de acridina (APHA-AWWA-WPCF, 1992), adaptada a suelos. Las bacterias fueron observadas con un microscopio de epifluorescencia (Microstar American Optical).

### **Cuenta viable de bacterias heterótrofas**

Las bacterias heterótrofas se hicieron crecer en un medio de cultivo PYG (peptona, levadura, glucosa) (Merck) en cajas petri. Las cajas se incubaron a 26° C durante 48 horas y el conteo se realizó con un contador de colonias (Manostat).

### **Cuenta de bacterias tolerantes a tolueno**

Las bacterias tolerantes a tolueno se hicieron crecer en agar bacteriológico (Bioxon) mezclado con extracto de suelo y sales, utilizando como única fuente de carbono al tolueno. La cuenta de estas bacterias se llevó a cabo con un contador de colonias (Manostat).



## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 1.- Características físicas y químicas del subsuelo

Los resultados de las características físicas y químicas del subsuelo del río de los Remedios se presentan en las Figura VI.1. En todos los casos, se pudo observar que la mayor influencia que tiene el agua del río sobre el subsuelo es de aproximadamente 5.50 m de profundidad. Esto es importante, porque se observa el efecto del agua que corre por el río sobre las condiciones del subsuelo.

#### Textura

La textura es una característica física muy importante del suelo, ya que de ésta van a depender las condiciones microambientales tales como: la retención de humedad disponible para la actividad biológica, la facilidad para la circulación del agua, la capacidad para almacenar nutrientes, la filtración de sustancias y la absorción y adsorción de componentes químicos y biológicos de los cuales van a depender los microorganismos del suelo para su sobrevivencia (Pérez, 1999). La textura a lo largo de un perfil puede variar, como se muestra en los resultados obtenidos, en donde a las profundidades de 2.37, 2.73, 5.02 y 5.58 m, se tiene un subsuelo de tipo migajón arcillo-limoso; para las profundidades de 5.96 a 8.49 m, la textura del subsuelo fue de tipo migajón-limoso, mientras que a profundidades de 9.44 y 9.80 m, la textura fue de tipo migajón-arenoso. Como se muestra en la Tabla VI.1, hasta la profundidad de 5.58 m, las texturas del subsuelo fueron más arcillosas, las cuales tienen como característica principal el retener gran cantidad de agua, así como de nutrientes, mientras que la textura de tipo migajón-limoso retiene menor

cantidad de agua y de nutrimentos que las arcillas, aunque mayores cantidades que las arenas, a diferencia de la textura migajón-arenoso.

Tabla VI.1. Textura para el subsuelo del río de los Remedios

PROF.(m)	% ARCILLA	% LIMO	% ARENA	TEXTURA
2.37	36.5	42.0	21.5	Migajón arcillo-limoso
2.73	35.5	39.0	25.5	Migajón arcillo-limoso
3.52	46.0	43.0	11.0	Arcillo-limoso
3.87	46.0	43.0	11.0	Arcillo-limoso
5.02	34.0	44.5	21.5	Migajón arcillo-limoso
5.58	34.0	44.5	21.5	Migajón arcillo-limoso
5.96	25.5	41.0	33.5	Migajón-limoso
6.88	25.5	41.0	33.5	Migajón-limoso
7.21	25.5	41.0	33.5	Migajón-limoso
8.20	25.5	41.0	33.5	Migajón-limoso
8.49	25.5	41.0	33.5	Migajón-limoso
9.44	8.5	27.0	64.5	Migajón-arenoso
9.80	8.5	27.0	64.5	Migajón-arenoso

Las características de las muestras de subsuelo con textura migajón arcillo-limoso, además de impartir al suelo una alta capacidad de retención de agua y de almacenamiento de nutrimentos, también presenta altos porcentajes de porosidad. Estas características físicas son favorables para el desarrollo de microorganismos, ya que permiten que se almacene el agua necesaria y que se lleve a cabo un adecuado intercambio de gases. Las muestras con textura migajón-limoso también permiten el desarrollo de microorganismos, ya que los limos también tienen capacidad para retener agua y nutrimentos, a diferencia de las muestras con textura de tipo migajón arenoso, caracterizadas por tener baja capacidad de retención de agua y nutrimentos, un bajo porcentaje de porosidad, así como también debido a la escases de oxígeno por la profundidad en la que se encuentra, siendo estas últimas condiciones poco favorables para la actividad microbiana.

### **Porosidad**

La porosidad de un suelo es una característica importante, porque en los poros es donde se almacena el agua y el aire que son necesarios para los microorganismos (Aguilera, 1989). En los resultados obtenidos de este estudio se observa que la porosidad tiene una variación entre el 62.81 % y 72.09 % en todo el perfil. El porcentaje de poros es alto en la mayor parte del perfil analizado, ya que las texturas finas presentan una gran cantidad de poros de tamaño pequeño, pero en gran número que finalmente dan un espacio poroso alto debido a que el tipo de subsuelo en la mayor parte del perfil es de tipo migajón arcillo-limoso y migajón limoso, lo que le imparte una adecuada capacidad para retener agua y nutrimentos, y con esto estimular la actividad microbiana. A la profundidad de 3.87 m y 7.21m se observaron los mayores porcentajes de porosidad siendo estos de 70.43% y 72.09%, respectivamente, mientras que en todas las demás profundidades analizadas se observó uniformidad en cuanto a la porosidad. Las cifras obtenidas fueron menores a las observadas para la porosidad de subsuelos de la misma región, publicados por Mazari, 1992 que es entre el 80% y 90%. Esta diferencia pudo deberse a la técnica utilizada así como también a que el punto de muestreo fue diferente, observando con esto la gran heterogeneidad que presenta el suelo.

### **Humedad**

Por lo que respecta a la humedad, los mayores porcentajes se encontraron en los puntos más superficiales, entre 2.33 m y 5.58 m lo cual era de esperarse, ya que es donde se tiene la mayor influencia del río sobre el subsuelo debido, básicamente, a la infiltración del agua observándose que conforme aumenta la profundidad, el porcentaje de humedad va disminuyendo. Los mayores porcentajes de humedad a esta profundidad fueron entre 48.62% y 64.91% que corresponden al subsuelo que es migajón arcillo-limoso y arcillo limoso, así como al alto porcentaje de porosidad para esta sección del perfil, características que como se mencionó anteriormente le confieren al suelo una mayor capacidad para retener gran cantidad de agua, y con ello un ambiente adecuado para el desarrollo de bacterias, que según la literatura requieren entre 50% y 75% de humedad

El porcentaje de humedad entre 5.96 m a 9.80 m varió de 25.54% a 17.37% profundidad a la cual ya no hay influencia del río, y además coincide con el cambio de textura del subsuelo, que es de tipo migajón-limoso a migajón-arenoso, el cual tiene como característica el retener poca cantidad de agua.

Como se verá más adelante, al relacionar el perfil microbiológico con la humedad, se detectó el mayor número de microorganismos en los puntos con mayor porcentaje de humedad y, por consiguiente un menor número de microorganismos en los puntos con menor humedad, lo que coincide con lo consultado en la literatura (Alexander, 1989).

### **pH**

Una de las características más importantes del suelo es su capacidad de reacción química. Los microorganismos responden notablemente al microambiente químico. Algunos tienen una muy baja tolerancia a las variaciones del pH, mientras que otros pueden tolerar una amplia gama (Aguilera, 1989). Esto ocurre porque el grado de acidez o alcalinidad influye en gran medida sobre la actividad metabólica y la abundancia relativa de los microorganismos presentes. Los valores de pH obtenidos en este estudio fueron ligeramente alcalinos ya que, a lo largo de todo el perfil, se observó una variación entre 7.57 y 8.78, lo que favorece principalmente el crecimiento de bacterias. A las profundidades de 2.3, 2.73 y 3.87 m los valores de pH fueron 7.57, 7.73 y 7.79 respectivamente, mientras que a las siguientes profundidades los valores fueron por arriba de 8, tratándose de un subsuelo ligeramente alcalino. El intervalo de pH observado está dentro de los intervalos comunes que varían entre 4.0 y 10.0 (Cepeda, 1991). El valor más alto de 8.78 se encontró a 5.02 m, profundidad a la cual se observa la influencia de las aguas residuales sobre el subsuelo, ya que el pH varía la forma iónica y con ello la solubilidad de muchos compuestos. La variación del pH con la profundidad es una evidencia de que el suelo es un material heterogéneo.

### **Materia Orgánica**

En los análisis realizados se puede observar una variación en el contenido de materia orgánica a lo largo de todo el perfil, que va de 2.93% a 10.14%, encontrándose los mayores porcentajes en la superficie, mientras que a mayor profundidad va disminuyendo. A la profundidad de 2.37 m y 2.73 m los porcentajes de materia orgánica fueron de 10.04% y 10.14% respectivamente, siendo los mayores porcentajes a lo largo de todo el perfil, mientras que hasta la profundidad de 5.96 m se observó en porcentaje de materia orgánica por arriba del 5%. Estos valores reflejan, nuevamente, la influencia de la materia orgánica que arrastran las aguas del río de los Remedios y que penetran al subsuelo, además de que la textura de tipo migajón arcillo-limoso y arcillo limoso favorecen la adsorción de compuestos orgánicos muchos de ellos contaminantes. A las profundidades de 6.88 m y 9.80 m el porcentaje de materia orgánica presentó valores entre 2.93% y 4.37% debido a que el material fue menos arcilloso, y más arenoso, por lo que se observó que el porcentaje de materia orgánica fue menor. En trabajos previos, la materia orgánica se ha detectado en un valor promedio de 10.9% para río de los Remedios, y para sedimentos lacustres, en una localidad dentro de la misma Cuenca de México se ha encontrado entre 1% y 7% (Mazari, 1992), siendo estos valores muy similares a los obtenidos en este estudio.

### **Nitrógeno total**

El nitrógeno es un elemento esencial para la actividad biológica del suelo. Al contrario de otros elementos, el nitrógeno presente en el suelo no proviene de la disolución ni de la erosión de las rocas subyacentes, sino que su principal aportación procede de la atmósfera y de la materia orgánica que se recicla, además de ciertas aportaciones antropógenicas tales como el uso de fertilizantes, emisiones de la industria y el vertido de aguas residuales y domésticas. Además de todas estas contribuciones, hay que tener en cuenta que el suelo almacena una cierta cantidad de nitrógeno de reserva (Doménech, 1994). En los resultados de este estudio se observó una gran variación en la concentración de nitrógeno de 67 a 4987 mg/kg. Como era de esperarse, las concentraciones más altas se encontraron en los puntos más superficiales de 2.37 a 5.96 m siendo estas concentraciones

de 1580 mg/kg a 4987 mg/kg con excepción del punto a 3.52 m donde se observó una importante disminución. Estas concentraciones elevadas indudablemente provienen de la cantidad, origen y grado de descomposición de la materia orgánica que arrastran las aguas del río de los Remedios, lo cual es un elemento más que confirma la influencia que tiene las aguas de río sobre el subsuelo. A las profundidades que van de 6.88 m a 9.80 m la cantidad de nitrógeno total disminuyó a concentraciones entre 842 mg/kg a 67 mg/kg siendo la menor concentración la que se encontró en los últimos dos metros de profundidad. Lo anterior pudo ser debido a que en estos dos últimos metros el tipo de subsuelo cambió de migajón limoso a migajón arenoso el cual tiene como características el no retener gran cantidad de nutrimentos, a diferencia de los otros metros, donde se tiene una textura de tipo migajón arcillo-limoso y migajón limoso, los cuales por su capacidad de adsorción pueden retener mayores cantidades de nutrimentos.

### Nitratos

En cuanto a los nitratos, se observó también una importante variación que va de 0.04 a 6.1 mg/kg encontrándose los valores más altos a las profundidades de 3.52 m con 4.70 mg/kg y para 5.58 m de 6.1 mg/kg. Por la alta concentración de nitrógeno total podría ser que se este llevando a cabo el proceso de nitrificación, esto es, la formación biológica de nitrato a partir de compuestos que contienen nitrógeno en forma de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) mediante los microorganismos nativos del suelo. Este es un proceso aerobio por lo que, debido a esto, es que se hayan encontrado las mayores concentraciones de nitratos en los puntos más superficiales, así como también por la aportación de materia orgánica que proviene de las aguas residuales que llegan al río lo que proporciona un ambiente idóneo para la actividad bacteriana.

Las mayores concentraciones de nitratos de 0.319 mg/kg a 6.11 mg/kg, se encontraron a la profundidad que va de 2.37 m a 5.58 m, donde existe un mayor porcentaje de humedad, ya que los nitratos son muy solubles en agua y tienden a lixiviarse fácilmente pues no son fijados por el complejo adsorbente, mientras que a las profundidades de 5.96 m a 9.80 m, las concentraciones de nitratos disminuyeron de 0.154 mg/kg a 0.048 mg/kg A

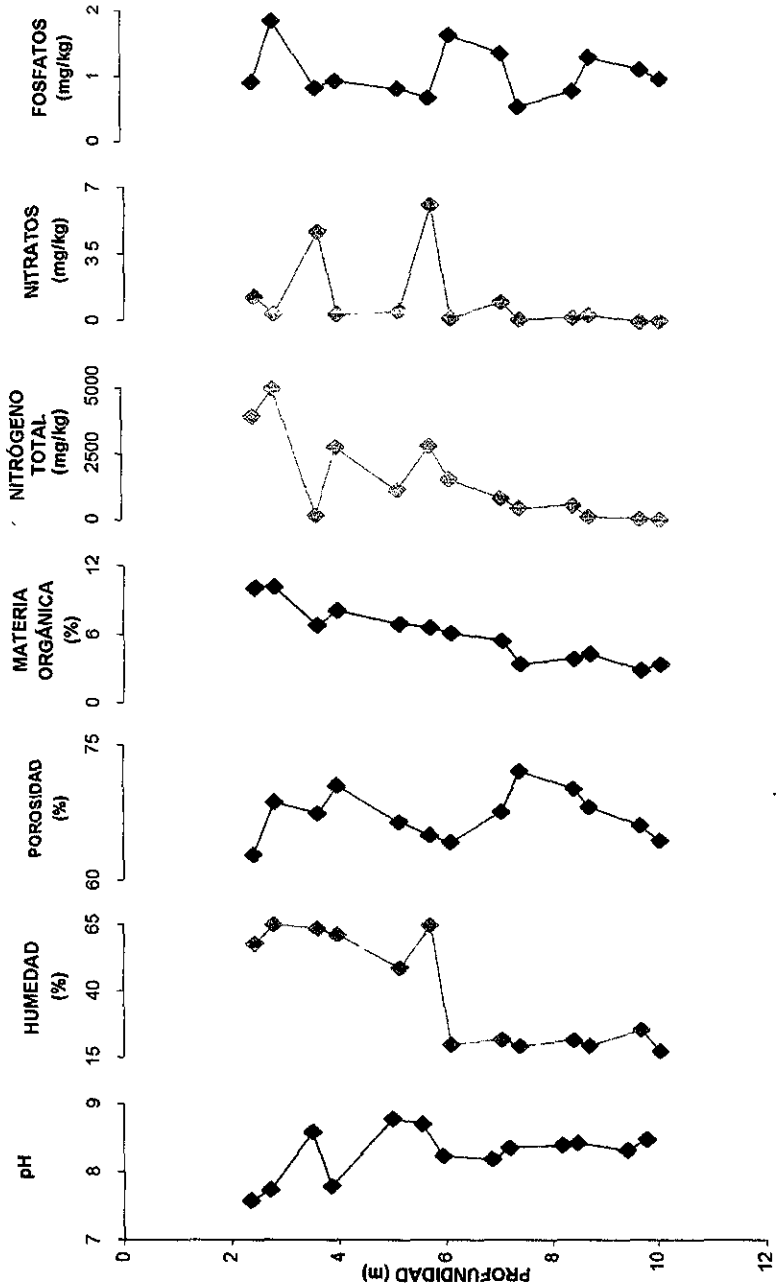
estas profundidades se tuvieron los mas bajos porcentajes de humedad por lo que los nitratos ya no pudieron lixiviarse tan fácilmente. Muy probablemente esto también pueda deberse a que la densidad de microorganismos existentes a estas profundidades es menor, y por lo tanto el proceso de nitrificación se hay visto disminuído, produciéndose bajas concentraciones de nitratos. Se sabe que los microorganismos nitrificadores, pueden producir cantidades apreciables de nitratos aun con contenidos de humedad inferiores al punto de marchitez de las plantas (Wild, 1992).

Tomando en consideración que la cuenta de bacterias totales por microscopía directa fue muy alta puede ser posible que también se este llevando a cabo una desnitrificación por los microorganismos nativos del suelo y que debido a esto se tengan valores de pH elevados, ya que el intervalo de pH óptimo para ello está entre 8 y 8.6 (Fassbender, 1987) es decir la perdida de nitrógeno, y que se tengan menores concentraciones de nitratos.

### **Fosfatos**

En cuanto a los fosfatos, se puede observar una ligera variación a lo largo de todos los puntos de muestreo presentándose las mayores concentraciones a una profundidad de 2.73 m con una concentración de 1.86 mg/kg y a 5.96 m con una concentración de 1.65 mg/kg. Así también se observan concentraciones mayores a 1 mg/kg en las profundidades de 6.88, 8.49 y 9.44 m, mientras que a las profundidades restantes las concentraciones fueron mayores a 0.5 mg/kg y menores a 1 mg/kg. Este comportamiento puede ser resultado del aporte de materia orgánica presente en el subsuelo así como también debido a que el fósforo en los suelos es relativamente estable lo que le da la propiedad de tener baja solubilidad y deficiencia en la disponibilidad de fósforo para los microorganismos. Se sabe que el contenido de fósforo total depende de la textura, ya que cuanto más fina es la textura mayor es el contenido de fósforo total (Fassbender, 1987). Probablemente estas bajas concentraciones de fosfatos también son debidas al pH, ya que se presentan valores por arriba de 8 y, generalmente la concentración de fosfatos es mayor en suelos ligeramente ácidos, esto es suelos que presentan un pH comprendido entre 5.5 y 6.5 (Wild, 1992).

Figura VI.1 Perfil de características físicas y químicas en muestras de subsuelo del río de los Remedios





## 2.- Determinación de hidrocarburos monoaromáticos volátiles (BTEX)

Los hidrocarburos monoaromáticos volátiles BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos) son componentes típicos de gasolinas, diesel, disolventes orgánicos y otros productos químicos, por ello, suelen encontrarse en el subsuelo como resultado de la descarga de aguas residuales de origen industrial que son vertidas a ríos y canales sin un tratamiento previo. Por ello se decidió verificar la presencia de éstos en las muestras de subsuelo y los resultados fueron los siguientes. Como se observa en la Figura VI.2, las más altas concentraciones se detectaron en las muestras más superficiales, el tolueno presentó una concentración máxima de 1.54 mg/kg, seguido del benceno con una concentración de 0.373 mg/kg a una profundidad de 4.80 m. Posteriormente se determinaron los *m,p*-xilenos a una concentración de 0.498 mg/kg, a diferencia del *o*-xileno que se encontró en una menor concentración de 0.365 mg/kg y, por último, el etilbenceno que se encontró a una concentración de 0.212 mg/kg. Los BTEX muestran una parcial solubilidad en agua, por lo que pueden migrar hacia el subsuelo. Esto explica su presencia en los puntos más cercanos a la superficie. De estos compuestos el que recibe mayor atención es el benceno debido a que es cancerígeno y a que el 35% de este compuesto es soluble en agua, (1780 mg/l a 20°C), a diferencia del tolueno el cual tiene una solubilidad menor (515 mg/l a 20°C) y es menos tóxico a los humanos, con respecto al benceno (Graham, 1989).

El movimiento de los hidrocarburos monoaromáticos en el subsuelo está influenciado por el tipo y características de suelo a través del cual circulan. Probablemente estas bajas concentraciones de BTEX que se detectaron fueron debidas a que el subsuelo de la ZMCM es básicamente arcilloso y presenta una permeabilidad reducida, lo cual limita el movimiento de agua y de sus contaminantes, los que circulan en forma muy lenta. Esto retarda la contaminación y muy probablemente, por ello se encontraron las pequeñas concentraciones a profundidades mayores, en contraste con suelos de alta permeabilidad, que permiten la libre circulación del contaminante hacia el subsuelo.

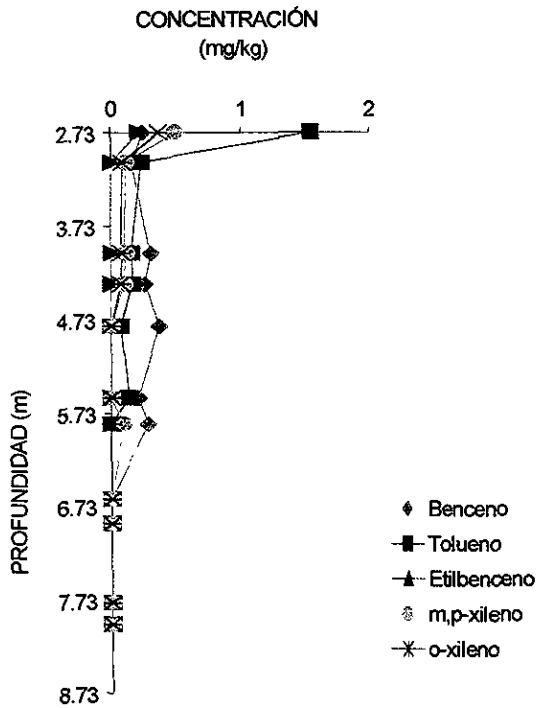


Figura VI.2. Hidrocarburos monoaromáticos volátiles (BTEX) adsorbidos en suelo profundo del río de los Remedios

### 3.- Caracterización microbiológica

La degradación de hidrocarburos por poblaciones naturales de microorganismos representa uno de los mecanismos primarios por los cuales éstos son eliminados del ambiente (Leahy, 1990). De acuerdo a esto y a otras experiencias realizados en el

laboratorio (Deyta 1999, Pérez 1999 y García 2000) indican que los hidrocarburos monoaromáticos volátiles (BTEX) sí son biodegradables por la acción de los microorganismos nativos que se encuentran en el suelo los cuales tienen capacidades metabólicas particulares. Con base en lo anterior, se cuantificó el contenido de bacterias adsorbidas a las partículas de suelo, y se encontró un conteo alto de bacterias totales por microscopía directa en promedio  $10^{14}$  bac/g de suelo seco a diferencia de las bacterias heterótrofas donde se obtuvieron conteos con orden de magnitud entre  $10^6$  y  $10^7$  ufc/g de suelo seco, mientras que las bacterias tolerantes a tolueno, presentaron un orden de magnitud entre  $10^4$  y  $10^5$  ufc/g de suelo seco. Lo anterior se presenta en la Figura VI.3

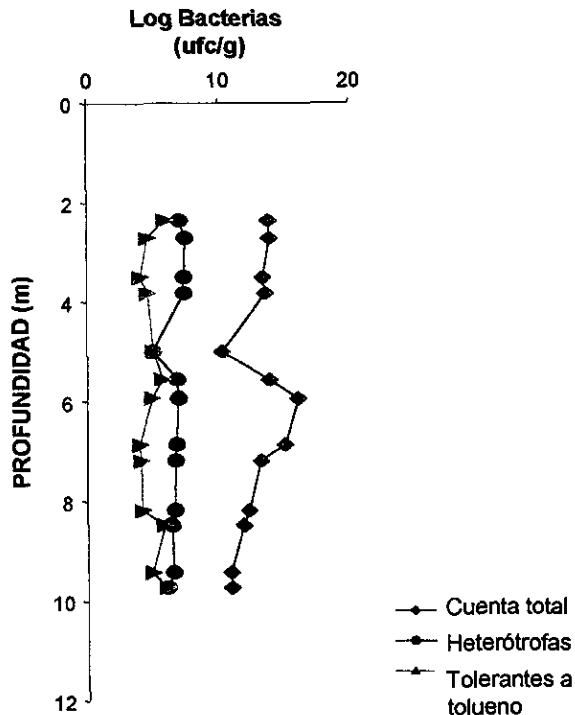


Figura VI.3 Perfil microbiológico en muestras de subsuelo del río de los Remedios

El número de bacterias totales en el subsuelo por microscopía directa fue mayor a profundidades entre 5.96 m y 6.88 m con ordenes de magnitud de  $10^{16}$  y  $10^{15}$  bac/g de suelo seco, correspondiente a la profundidad a la cual se tuvieron menores porcentajes de humedad y de nutrimentos, pero donde se observó un alto porcentaje de materia orgánica y pH entre 8.23 y 8.18, así como un subsuelo de tipo migajón-limoso, condiciones que en conjunto probablemente ayudaron a la sobrevivencia de un gran número de bacterias. En contraste, a la profundidad de 5.02 m se observó una disminución en el conteo, teniendo un orden de magnitud de  $10^{10}$  bac/g de suelo seco. También se observa que conforme va aumentando la profundidad, el número de bacterias va disminuyendo, entre  $10^{10}$  y  $10^{11}$  bac/g de suelo seco, muy probablemente porque el porcentaje de materia orgánica, de humedad, así como la concentración de nutrimentos también disminuye. Esto indica que a mayores profundidades sí es posible encontrar microorganismos, aunque en menor número, probablemente debido a que la cantidad de oxígeno es menor a diferencia de los puntos más superficiales donde el conteo fue mayor. Muy probablemente pudieran encontrarse bacterias anaerobias que no fueron cuantificadas, o existe algún tipo de competencia entre los organismos del suelo (depredación o competencia por alimento). Numerosos estudios han demostrado que existen poblaciones de bacterias a cientos de metros de profundidad sobre el suelo, donde la distribución y abundancia de estos microorganismos es debido a que existe movimiento de agua en las zonas profundas, lo que aumenta la biodisponibilidad y el transporte de nutrimentos entre los micrositios asociados a sedimentos (Stevens, 1993).

El gran número de microorganismos cuantificados  $10^{13}$  bac/g de suelo seco puede estar influenciado por la textura que en la mayor parte fue de tipo migajón arcillo-limoso, magajón arcilloso y migajón limoso, los cuales son suelos adecuados para albergar bacterias, ya que la mayor parte de ellas se adhieren a estas partículas, muy probablemente por atracción electrostática de las bacterias. A diferencia de lo anterior en los puntos 9. 44 m y 9.80 m el conteo disminuyó a  $10^{10}$  bac/g de suelo seco, donde la textura reportada fue de tipo migajón arenoso, suelos que tienen baja capacidad de retención de humedad y de nutrientes y que por lo tanto no tienen las condiciones adecuadas para la sobrevivencia de microorganismos.

En cuanto al conteo de microorganismos heterótrofos, se puede observar que el orden de magnitud fue menor que la cuenta total por microscopía directa por varios ordenes de magnitud. A las profundidades de 2.37 m a 3.84 m se tuvo el mayor número de colonias presentándose ordenes de magnitud de  $10^7$  UFC/ g de suelo seco. Este número de colonias pudo deberse a que en estos puntos es donde se tienen los mayores porcentajes de humedad así como de materia orgánica y pH cercanos a la neutralidad, condiciones que muy probablemente ayudaron a la sobrevivencia de un mayor número de microorganismos.

El menor número de colonias se observa a la profundidad de 5.02 m al igual que para la cuenta total por microscopía directa, muy probablemente a que a esta profundidad el pH fue alto siendo de 8.78, y a que el porcentaje de humedad fue menor, factores que probablemente pudieron afectar el crecimiento, ya que las condiciones optimas para el crecimiento de bacterias son un pH cercano a la neutralidad y una humedad entre el 50 y el 75%. A mayores profundidades entre 5.58 m y 9.80 m el conteo de colonias fue muy uniforme presentándose ordenes de magnitud de  $10^6$  UFC/ g de suelo seco, esta disminución pudo deberse a que los valores de pH en estos puntos, están por arriba de 8, así como también se observó una disminución en el porcentaje de humedad, de materia orgánica y concentración de nutrimentos.

Las bacterias heterótrofas se cultivaron en un medio conteniendo peptona, extracto de levadura y glucosa que son fuentes de carbono fácilmente degradables pero, al mismo tiempo, y muy probablemente son nutrimentos ajenos al microambiente de donde se tomaron las muestras. De hecho Roszak y Colwell (1987), así como otros autores tales como Kieft y Fredrickson (1993), además de Schmidt y Paul (1982) mencionan que esta determinación no necesariamente representa el contenido real, ni en número ni en diversidad de las bacterias presentes en el medio natural, sólo son un indicativo de que están metabólicamente activas.

En cuanto a las bacterias tolerantes a tolueno, el conteo fue mucho menor a diferencia de la cuenta de bacterias totales por microscopía directa y heterótrofas presentándose valores con ordenes de magnitud entre  $10^4$  y  $10^5$  UFC/ g de suelo seco, ya que fueron sometidas a crecer en presencia de tolueno el cual es un compuesto ajeno al

ambiente natural, creciendo solamente las bacterias que toleraron la presencia del hidrocarburo el cual provocó, seguramente, la inducción de enzimas y los cambios genéticos, necesarios para su sobrevivencia o incluso capacidad de degradación.

Así, la menor proporción de microorganismos tolerantes a tolueno a mayores profundidades puede deberse a la disminución de humedad, de nutrimentos y de materia orgánica, así como también a la limitación de oxígeno y principalmente a la menor concentración de tolueno a mayores profundidades.

Los resultados de la cuenta de bacterias totales por microscopía directa, heterótrofas y las tolerantes a tolueno, dan un comportamiento real, ya que del total de bacterias sólo un 0.000001% fueron heterótrofas y, de ahí, un todavía menor porcentaje de 1% fueron tolerantes a tolueno y muy probablemente degradadoras.

Por lo que respecta a la cuantificación de bacterias totales por microscopía directa, se utilizó el método de anaranjado de acridina, mediante el cual fue posible distinguir entre células metabólicamente activas, que suelen teñirse de rojo, y células inactivas las cuales fluorescen en color verde. La coloración que adoptan se debe a que el anaranjado de acridina se intercala con los ácidos nucleicos y fluorescen rojo naranja en asociación con ácido ribonucleico (RNA) y verde en asociación con ácido desoxirribonucleico (DNA), sin embargo, deben tomarse en cuenta otros factores como el pH del colorante al momento de la preparación, el tiempo de incubación con el anaranjado de acridina y la concentración de este colorante ya que han mostrado influencia en la coloración final (Levin, 1992).

Las observaciones hechas indicaron que la mayor parte de las bacterias que fueron observadas al microscopio dieron coloración verde, lo que corresponde a un suelo con baja actividad metabólica.

Es posible encontrar gran cantidad de microorganismos en suelos que sufren de contaminación, ya que una presencia prolongada de estos contaminantes ha ocasionado que muchos de ellos desarrollen una capacidad bioquímica para tolerar los contaminantes o incluso, llegar a transformarlos o degradarlos.

Los resultados obtenidos en el presente estudio fueron comparados con los que obtuvieron Pérez (1999) y García (2000) en otros sitios de canal que fueron Canal de

Chalco y Gran Canal del Desagüe respectivamente. El pH para Gran Canal del Desagüe presentó valores dentro de un intervalo de 7.91 a 9.38, esto es, un subsuelo ligeramente alcalino, para Río de los Remedios de 7.57 a 8.78, siendo subsuelos que tienden a una ligera alcalinidad a diferencia de canal de Chalco que presentó un intervalo de pH entre 3.9 y 8.7, observando un punto con pH ácido. También se observó variación en cuanto al contenido de humedad, ya que en Gran Canal se encontró un intervalo de humedad amplio entre 31.68 y 81.18%, y para el Río de los Remedios, fue de 17.3 a 64.91% a lo largo de todo el perfil, con disminución en los puntos más profundos mientras que, para Canal de Chalco, el intervalo fue de 25.50 a 73.92%; así, se observa que los tres sitios presentaron altos porcentajes de humedad debido a los lugares de los cuales se tomó la muestra, confirmando con esto que existe infiltración de las aguas hacia el subsuelo. Respecto al contenido de materia orgánica, para el Gran Canal del Desagüe el contenido de materia orgánica fue de 2.44 a 17.14%, poco mayor al observado para el Río de los Remedios, con valores entre 2.93 y 10.14%, a diferencia de Canal de Chalco que presentó valores entre 6% y 9.15%, materia orgánica que muy probablemente proviene de la infiltración de las aguas que arrastran los canales hacia el subsuelo.

Para Gran Canal del Desagüe se observó un alto contenido de bacterias totales, con ordenes de magnitud entre  $10^{15}$  y  $10^{16}$  bac/g de suelo seco incluso hasta una profundidad de 13.34 m (García, 1998). En Río de los Remedios también se observó un alto contenido de bacterias totales con ordenes de magnitud entre  $10^{10}$  y  $10^{13}$  bac/g de suelo seco a una profundidad de 9.80 m; esto a diferencia de Canal de Chalco, el cual mostró un bajo contenido de bacterias totales, entre  $10^5$  y  $10^6$  bac/g hasta una profundidad de 5.49 m (Pérez, 1999). Se puede observar la gran diferencia en cuanto a los ordenes de magnitud que presenta cada lugar, mostrándonos la gran heterogeneidad que un suelo presenta.

En cuanto a las bacterias heterótrofas se encontró, en el Gran Canal del Desagüe, una concentración similar a la encontrada en el Río de los Remedios, con ordenes de magnitud de alrededor de  $10^7$  ufc/g, mientras que, en Canal de Chalco este valor fue menor, de  $10^4$  a  $10^5$  ufc/g. Al respecto, se puede mencionar que los ordenes de magnitud por debajo de  $10^4$  se consideran bajos.

De las bacterias tolerantes a tolueno se obtuvo un conteo alto en Gran Canal del Desagüe entre  $10^5$  y  $10^6$  ufc/g, mientras que para los sitios del Canal de Chalco y de Río de los Remedios los ordenes de magnitud fueron menores, entre  $10^4$  y  $10^5$  ufc/g.

Los resultados muestran diferencias importantes entre los tres sitios referidos, en los que los componentes de las aguas residuales que se vierten son diferentes; así como también las características físicas y químicas del subsuelo, que ofrecen condiciones microambientales diferentes las cuales, finalmente, determinan el tipo y concentración de las bacterias presentes.



## VII. CONCLUSIONES

- ◆ De acuerdo a los resultados se observó que la influencia del río sobre el subsuelo llega hasta los 5.50 m de profundidad.
- ◆ En la mayor parte del perfil se determinó una textura de tipo migajón arcillo-limoso aunque, en la parte más profunda la textura fue de tipo arenoso, por lo que los porcentajes de porosidad en esta zona fueron elevados. Se nota la influencia de la textura en la permeabilidad y, por lo tanto, en las propiedades físicas y químicas del subsuelo.
- ◆ Los altos porcentajes de materia orgánica detectados reflejan en parte la influencia del material orgánico que arrastran las aguas del río de los Remedios y que penetran al subsuelo, notándose que los mayores contenidos de materia orgánica, corresponden a los puntos menos profundos y los menores a las muestras más profundas.
- ◆ El pH del subsuelo mostró tendencia a la alcalinidad a lo largo del perfil lo que, preferentemente, favoreció la sobrevivencia de bacterias.
- ◆ El contenido de nitrógeno fue muy variable y el de fósforo, en forma de fosfatos, parece ser bajo como para soportar una atenuación natural de biodegradación.

- ◆ La humedad fue adecuada para la sobrevivencia de bacterias, en la superficie la humedad fue mayor y, por lo tanto, mayor el número de microorganismos.
- ◆ La presencia de BTEX aunque en baja concentración, indicó que estos compuestos si se infiltran al subsuelo, por lo tanto existe migración.
- ◆ Las condiciones del sitio resultaron favorables para la sobrevivencia de bacterias heterótrofas, aunque representan una muy baja proporción respecto a la cuenta total por microscopía directa.
- ◆ La presencia de tolueno, probablemente, está promoviendo la población de bacterias tolerantes y que seguramente son verdaderas degradadoras de este hidrocarburo.

## VIII. BIBLIOGRAFIA

Aguilera N., 1989. Tratado de edafología de México. Facultad de Ciencias. UNAM.

Alcamo E., 1997. Fundamentals of microbiology. Benjamin Cummings. USA.

Alexander M., 1994. Microbiología del Suelo. AGT Editor, S.A. México.

Allison L.E y Richards L.A., 1985. Diagnóstico y rehabilitación de suelos salinos y sódicos. Editorial Limusa. México.

APHA-AWWA-WPCF, 1992. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Diaz Santos Editores. España. Cap. 9.

Artreta R., 1991. Nueva edafología. Regiones tropicales y áreas templadas de México. Editorial Fontamara. México.

Black J., 1996. Microbiology. Principles and applications. 3a Edición. Prentice Hall, Ney Jersey, USA.

Bohn L. H, Meneal B.L, O'Connor G.A., 1993. Química del suelo. Editorial Limusa. México.

Cepeda J.M., 1991. Química de suelos. Editorial Trillas. México.

Deyta A. L. 1999. Caracterización de dos suelos contaminados con gasolina y evaluación de su capacidad degradadora de hidrocarburos monoaromáticos. Tesis de Maestría en Biotecnología Unidad Académica de los Ciclos Profesionales y de Posgrado. UNAM.

Doménech X., 1994. Química Ambiental. El impacto ambiental de los residuos. Editorial Mariguano. Madrid. 254 p.

Fassbender W. H., 1987. Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica

Fitzpatrick E.A., 1984. Suelos, su formación, clasificación y distribución. Editorial CECSA. México.

Forsythe W., 1985. Física de Suelos. Manual de laboratorio. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. Costa Rica.

Foth H., 1992. Fundamentos de la ciencia del suelo. Editorial Continental. Mexico. 527 p.

García D. 1997. Potencial de biodegradación de compuestos monoaromáticos en el subsuelo del Gran Canal del Desagüe. Congreso, Mazatlán Sin.

García D., 2000. Caracterización fisicoquímica y microbiológica en el Gran Canal del Desagüe, Estado de México. Tesis de maestría en preparación. DEPFI, UNAM.

Gavande S., 1991. Física de Suelos. Principios y aplicaciones. Editorial Limusa. México.

Gibson D.T., 1984. Microbial degradation of organic compounds. Marcel Dekker Ed, Inc. New York and Basel USA.

Graham T. H., 1989. Chemical Safety Data. Solvents Vol. 1. The Royal Society of Chemistry. Cambridge, USA.

Jackson M.L., 1982. Análisis químico de suelos. Editorial Omega. Barcelona, España.

Kieft T. L., Amy P. S., Brockman F. J. and Fredrickson J. K., 1993. Microbial Abundance and Activities in Relation to Water Potential in the Zones of Arid and Semiarid Sites. Microbial Ecology.

Klute A., 1986. Laboratory Methods. In Methods of Soil Analysis Part. 1. Physical and Mineralogical Methods. Edited by Klute A., American Society of Agronomy. Inc.

Lee C.C., Hoffman G. L. and Nalesnik R. P., 1991. Medical Waste Management. Environ. Sci. Technol. 25(3):360-363.

Leahy J. and Colwell R., 1990. Microbial Degradation of Hydrocarbons in the Environment. Microbiological Reviews. 54(3): 305-315.

Levin A., Seidler R.J. and Rogul M., 1992. Microbial Ecology. Principles, methods and applications. McGraw-Hill, USA.

Lim D., 1998. Microbiology. McGraw-Hill. USA.

Mazari M., 1992. Potential Groundwater Contamination by Organic Compounds in the México City Metropolitan Area. Tesis. de Doctorado en Ciencias Ambientales e Ingeniería. Universidad de California. USA.

Morgan P. and Watkinson R.J., 1989. Hydrocarbon Biodegradation in Soil and Methods for Soil Biotreatment, *CRC Crit. Rev. in Biotechnol.* 8(4): 305-318.

Norma Oficial Mexicana. NOM-AA-16-198. Protección al ambiente-Contaminación de suelos-Residuos sólidos municipales.

Pitre, 1992. Analysis of induced recharge from a waste water canal through fractured clays in México City. Thesis. Earth Science. University of Waterloo. Ontario Canada.

Porta J., Lopez-Acevedo M. y Roquero C. 1994. Edafología para la agricultura y el medio ambiente. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España 807 p.

Pérez N., 1999. Caracterización microbiológica del subsuelo subyacente a canales de aguas residuales en la zona de Chalco, Estado de México. Tesis Biología. Facultad de Ciencias, UNAM.

Ramírez C., 1992. Tratamiento de aguas residuales industriales. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Azcapotzalco.

Robles E. 1998. Contaminación química del agua. Proyecto CyMA, UNAM, Campus Iztacala. Memorias Hacia una renovación ambiental en México.

Rogers J., Tedaldi D. and Kavanaugh M., 1993. A Screening Protocol for Bioremediation of Contaminated Soil. *Environ Progress.* 12(2):146- 156.

Rozsak D. and Colwell R., 1987 Survival Strategies of Bacterial in the Environment. *Microbiol Rev.* 51(3): 365-379.

Saval S., 1997. La responsabilidad jurídica en el daño ambiental. La reparación del daño. Aspectos técnicos: Remediación y Restauración. Instituto de Investigaciones Jurídicas, UNAM, Petróleos Mexicanos.

Stevens T. O., Mckinley J. P. and Fredrickson J.K., 1993. Bacteria Associated with Deep, Alkaline, Anaerobic Groundwaters in Southeast Washington. *Microb Ecol.* 25:35-50.

Tan K.H., 1994. Environmental soil science. Macel Dekker, Inc. USA.

Thompson L.M., 1988. Los suelos y su fertilidad. Reverté. Barcelona, España.

Vizcaíno F., 1986. La contaminación en México. Fondo de Cultura Económica. México.

Wild A., 1992. Condiciones del Suelo y Desarrollo de las Plantas según Russell. Editorial Mundi-Prensa. Madrid.

**APÉNDICE 1**

**ANÁLISIS FÍSICO Y QUÍMICO DE  
MUESTRAS DE SUBSUELO**



Resultados obtenidos de las características físicas y químicas del suelo profundo del río de los Remedios

PROFUNDIDAD (m)	pH	HUMEDAD (%)	POROSIDAD (%)	MATERIA ORGÁNICA (%)	NITRÓGENO TOTAL (mg/kg)	NITRATOS (mg/kg)	FOSFATOS (mg/kg)
2.37	7.57	57.78	62.81	10.04	3931	1.2134	0.9095
2.73	7.73	64.91	68.6	10.14	4987	0.3721	1.858
3.52	8.59	63.55	67.41	6.83	192	4.7006	0.8367
3.87	7.79	61.14	70.43	8.08	2745	0.3188	0.9366
5.02	8.78	48.62	66.47	6.93	1158	0.4986	0.8154
5.58	8.7	64.7	64.98	6.62	2835	6.1096	0.6827
5.96	8.23	19.92	64.29	6.17	1580	0.1547	1.6496
6.88	8.18	21.67	67.61	5.49	842	0.9906	1.3672
7.21	8.35	19.44	72.09	3.47	486	0.0943	0.5536
8.2	8.39	21.52	70.15	3.9	588	0.1976	0.7963
8.49	8.42	19.45	68.16	4.37	156	0.347	1.319
9.44	8.32	25.54	66.12	2.93	94	0	1.1267
9.8	8.47	17.37	64.48	3.45	67	0.0484	0.9832

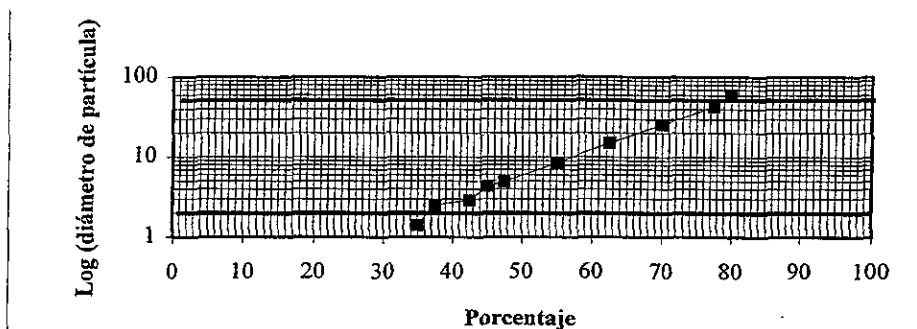
## APÉNDICE 2

### DETERMINACIÓN DE TEXTURA DEL SUBSUELO

**TEXTURA**

Peso de mue 100 g  
Co = 40 g

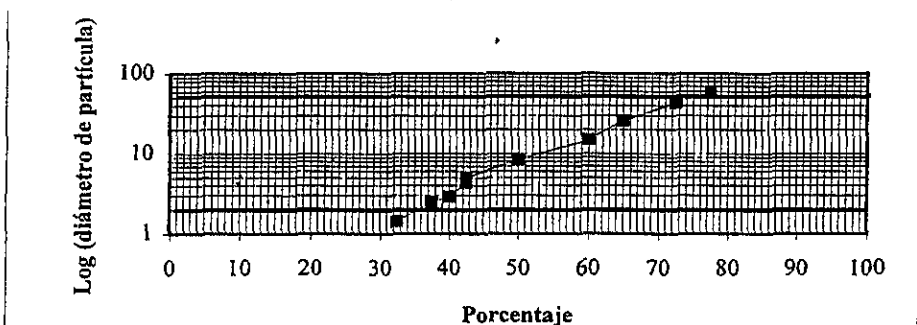
muestra = Muestra 1 Profundidad 2.37 m  
Migajón arcillo-limoso



**TEXTURA**

Peso de mue 100 g  
Co = 40 g

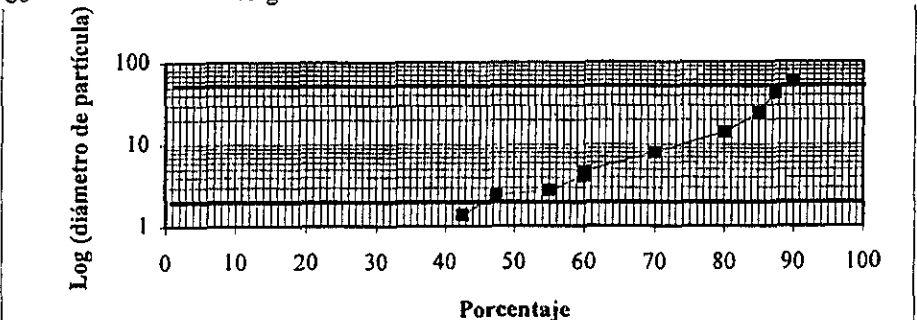
muestra = Muestra 2 Profundidad 2.73 m  
Migajón arcillo-limoso



**TEXTURA**

Peso de mue 100 g  
Co = 40 g

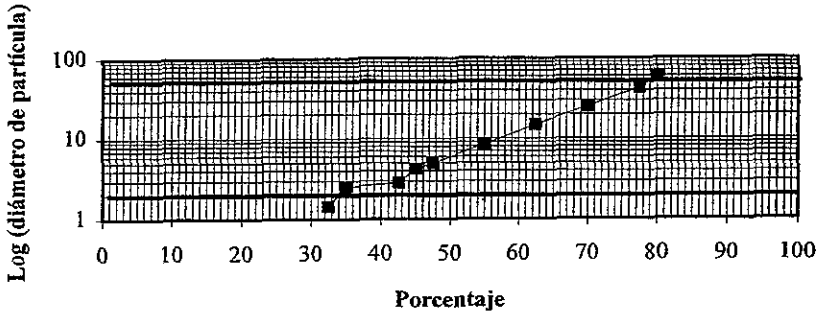
muestra = 3 Profundidad 2.53-3.87 m  
Arcillo limoso



**TEXTURA**

Peso de mue 100 g  
 Co = 40 g

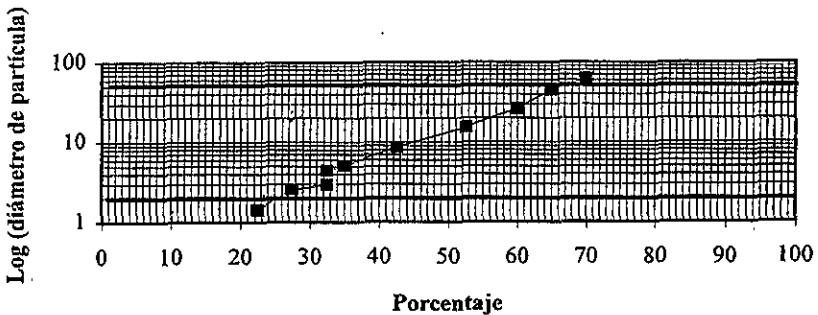
muestra = Muestra 4 Profundidad 5.02-5.58 m  
 Migajón arcillo-limoso



**TEXTURA**

Peso de mue 100 g  
 Co = 40 g

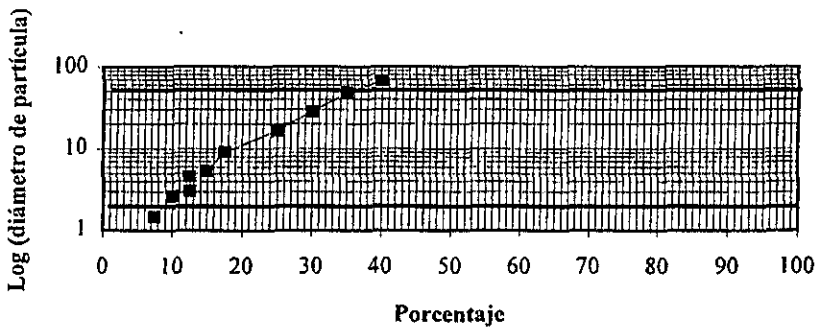
muestra = 5 Profundidad 5.96-9.18 m  
 Migajón limoso



**TEXTURA**

Peso de mue 100 g  
 Co = 40 g

muestra = 6 Profundidad 9.44-9.80 m  
 Migajón arenoso



APÉNDICE 3

**DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS  
MONOAROMÁTICOS VOLÁTILES (BTEX)**

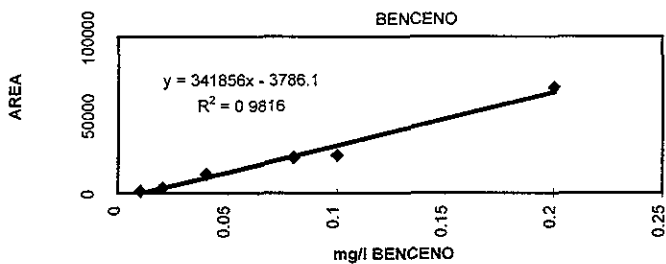
**HIDROCARBUROS MONOAROMÁTICOS VOLÁTILES (BTEX)**

PROFUNDIDAD (m)	BENCENO (mg/kg)	TOLUENO (mg/kg)	ETILBENCENO (mg/kg)	m,p-XILENO (mg/kg)	o-XILENO (mg/kg)
2.73	0.2428	1.5449	0.2122	0.4979	0.3653
3.05	0.1633	0.2286	ND	0.1122	0.0796
4.02	0.3082	0.1571	ND	0.1102	0.0755
4.35	0.2628	0.1592	ND	0.0979	0.0735
4.8	0.3735	0.0755	ND	ND	ND
5.57	0.2143	0.1367	ND	ND	ND
5.85	0.2857	ND	ND	0.0959	ND

**CURVA DE CALIBRACIÓN PARA HIDROCARBUROS  
MONOAROMÁTICOS VOLÁTILES (BTEX)**

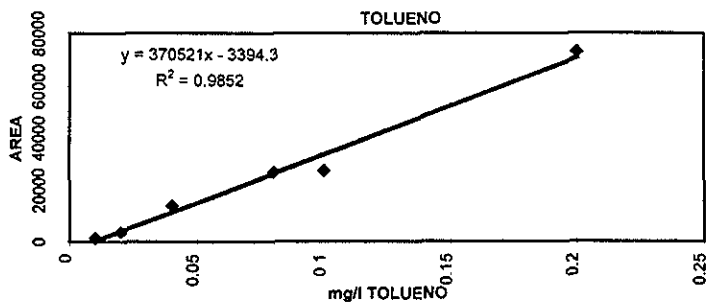
**BENCENO**

CONCENTRACIÓN (mg/l)	AREA
0.01	1257
0.02	3360
0.04	12083
0.08	22721
0.1	24255
0.2	67443



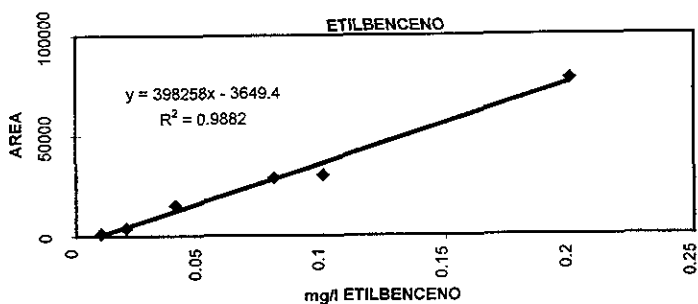
**TOLUENO**

CONCENTRACIÓN (mg/l)	AREA
0.01	1352
0.02	3681
0.04	13994
0.08	26786
0.1	27529
0.2	73027



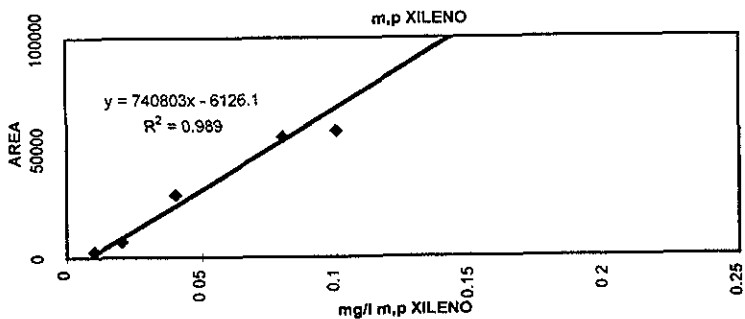
### ETILBENCENO

CONCENTRACIÓN (mg/l)	AREA
0.01	1057
0.02	3788
0.04	15063
0.08	28963
0.1	30398
0.2	78051



### m,p-XILENOS

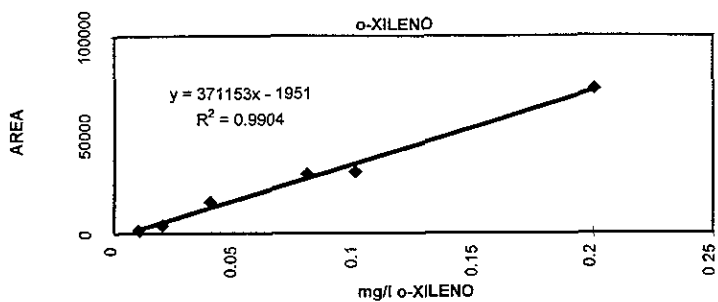
CONCENTRACIÓN mg/l	AREA
0.01	2590
0.02	7238
0.04	28660
0.08	54950
0.1	57662
0.2	145505





### o-XILENO

CONCENTRACIÓN mg/l	AREA
0.01	1387
0.02	4038
0.04	15870
0.08	29921
0.1	31080
0.2	73017



**APÉNDICE 4**

**ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO  
DEL SUBSUELO**

**Resultados de la caracterización microbiológica**

<b>PROFUNDIDAD (m)</b>	<b>Cuenta total (Log bac/g)</b>	<b>Heterótrofas (Log UFC/g)</b>	<b>Tolerantes a tolueno (Log UFC/g)</b>
2.37	13.8	7.03	5.91
2.73	13.9	7.47	4.56
3.52	13.4	7.37	4.08
3.84	13.6	7.4	4.61
5.02	10.27	5.01	5.07
5.58	13.87	6.82	5.71
5.96	16.04	6.93	4.91
6.88	15.05	6.78	4
7.21	13.23	6.72	4.1
8.2	12.3	6.67	4.22
8.49	11.86	6.39	5.84
9.44	10.9	6.51	4.91
9.8	10.91	6.06	6.01