

Detergentes y Biodetergentes en la Biorremediación de Suelo: Inconsistencias y Evidencias¹

Blanca Celeste Saucedo-Martínez², Liliana Márquez-Benavides³,
Gustavo Santoyo-Pizano⁴, Juan Manuel Sánchez-Yáñez⁵

Resumen

La contaminación del suelo por hidrocarburos (HICOS) es uno de los graves problemas ambientales. Cuando los HICOS contaminan el suelo, afectan la relación carbono: nitrógeno, causan la inhibición de la vida microbiana y pérdida de fertilidad. Una alternativa es la biorremediación, pero la baja solubilidad y la absorción de los HICOS en el suelo dificulta la eliminación. Por ello, al inicio de la biorremediación es necesaria la bioestimulación con un detergente (DEGE) o biodetergente (BIODET) para solubilizar los

HICOS. Sin embargo, algunas investigaciones señalan que estos detergentes actúan directamente en la eliminación de los HICOS, las evidencias señalan que el DEGE y BIODET solo permite la desorción de los HICOS para solubilizarlos, por la formación de micelas.

Otros trabajos de biorremediación, aseguran que el tipo de DEGE y BIODET que utilizan solubiliza todos los HICOS de las mezclas contaminantes, pero de acuerdo a la composición del detergente, no pueden solubilizar toda la diversidad de HICOS.

1 Artículo de Revisión derivado del proyecto de investigación 2.7 (2020), de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, ejecutado entre 2018 y 2020; Financiado por Universidad de Harvard, Cambridge, Ma, EUA, Fundación Rockefeller 2021.

2 Maestra en Ciencias en Ingeniería Ambiental obtenida en la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Licenciada en Ingeniería Bioquímica, estudiante de Doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Correo: 0617797j@umich.mx / ORCID: 0000-0003-3206-188X.

3 Doctora en Biociencias obtenido en Strathclyde University, UK, Licenciada en Ingeniería Bioquímica, investigadora, docente titular de Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Correo: lmarquez@umich.mx ORCID: 0000-0003-3738-6608.

4 Doctor en Ciencias obtenido en UNAM Cuernavaca, Morelos, investigador, docente titular de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Correo: gustavo.santoyo@umich.mx / ORCID: 0000-0002-0374-9661.

5 Doctor en Ciencias obtenido en University of North Texas/Universidad Autónoma de Nuevo León. Químico, Bacteriólogo y Parasitólogo, investigador, docente titular de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Correo: syanez@umich.mx. / ORCID: 0000-0002-1086-7180.

Autor para Correspondencia: Juan Manuel Sánchez-Yáñez, e-mail: syanez@umich.mx
Recibido: 28/08/2020 Aceptado: 30/06/2021

*Los autores declaran que no tienen conflicto de interés

Otras investigaciones afirman la síntesis “in situ” de BIODET por microorganismos inoculados en la bioaumentación de suelo impactado por HICOS, sin demostrarlo experimentalmente. El objetivo de esta revisión es analizar en la biorremediación de suelo contaminado por HICOS, la importancia

de DEGE, BIODET y las inconsistencias generadas por su aplicación.

Palabras clave: biorremediación, contaminación, detergente, hidrocarburos, suelo.

Detergents and Detergents in Soil Bioremediation: Inconsistencies and Evidence

Abstract:

Soil pollution by hydrocarbons (HYCOS) is one of the serious environmental problems. When HYCOS contaminate the soil, they affect the carbon: nitrogen ratio, causing inhibition of microbial life and loss of fertility. An alternative is bioremediation, but the low solubility and absorption of HYCOS in the soil makes it difficult to eliminate. Therefore, at the beginning of the bioremediation, biostimulation with a detergent (DEGE) or biodetergent (BIODET) is necessary to solubilize the HYCOS. However, some research indicates that the detergents acts directly in the extraction of the HYCOS,

the evidence indicates that the DEGE and BIODET only allows the desorption of the HYCOS to solubilize them, by the formation of mice. Other bioremediation works assure that the type of DEG and BIODET that it uses solubilizes all the HYCOS of the contaminating mixtures, but according to the composition of the detergent, it cannot emulsify the entire range of HYCOS. Other investigations affirm the synthesis “in situ” of BIODET by microorganisms inoculated in the bioaugmentation of soil impacted by HYCOS, without demonstrating it experimentally. The objective of this review is to analyze in the bioremediation of the soil contaminated by HYCOS, the importance of DEGE, BIODET and the inconsistencies generated by their application.

Keywords: bioremediation, pollution, detergent, hydrocarbons, soil.

Detergentes e Detergentes na Bioremediação do Solo: Inconsistências e Evidências

Resumo:

A poluição por Óleo por Hidrocarbonetos (HICOS) é um dos graves problemas

ambientais. Quando os HICOS poluem a água, eles afetam a relação carbono- nitrogênio, causando a inibição da vida microbiana e perda de fertilidade. Uma alternativa é a biorremediação, mas a baixa solubilidade e absorção do HICOS em sua eliminação dificulta sua eliminação. Portanto, no

início da biorremediação, a bioestimulação com detergente (DEGE) ou biodetergente (BIODET) é necessária para solubilizar o HICOS. Porém, algumas pesquisas indicam que esses detergentes atuam diretamente na eliminação dos HICOS, as evidências indicam que o DEGE e o BIODET só permitem a desorção dos HICOS para solubilizá-los, pela formação de micelas. Outros trabalhos de biorremediação garantem que o tipo de DEGE e BIODET usado solubilize todos os HICOS das misturas contaminantes, mas dependendo da composição do detergente, eles não podem solubilizar toda a diversidade de HICOS.

Outras investigações afirmam a síntese “in situ” de BIODET por microrganismos inoculados na bioaumentação de solos impactados por HICOS, sem demonstrá-la experimentalmente. O objetivo desta revisão é analisar na biorremediação de solos contaminados por HICOS, a importância do DEGE, do BIODET e as inconsistências geradas por sua aplicação.

Palavras-chave: biorremediação, contaminação, detergente, hidrocarbonetos, solo.

Introducción

Los hidrocarburos (HICOS) del petróleo están conformados por cadenas de 83 a 87 % de carbono (C) y de 11 a 14 % de hidrógeno (H), clasificados en alifáticos, aromáticos, asfáltenos y resinas (Hu *et al.*, 2013) que en la mayoría son insolubles o poco solubles, lo que representa un limitante en la eliminación en el suelo como se muestra en la Tabla N ° 1. Las fracciones alifáticas más sencillas tienen mayores valores de solubilidad como el n-pentano con 38.5 mg/L o 2-metil butano con 49.6 mg/L (Mackay & Shiu, 1981), mientras que disminuye cuando aumenta la complejidad como los aromáticos policíclicos, por ejemplo, benzo(a) pireno con 0.0038 mg/L y coroneno 0.00014 mg/L (Mackay & Shiu, 1977).

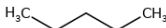
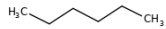
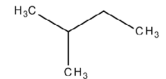
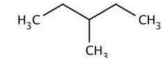
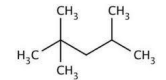
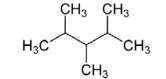




Los HICOS causan contaminación de suelo por derrames que han incrementado hasta en un 50 % en los últimos 15 años. Anualmente en el mundo, se estima que entre 1.7 y 8.8

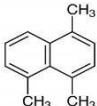
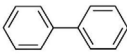
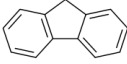
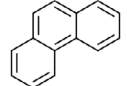
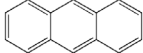

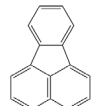
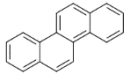
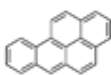

millones de toneladas métricas de HICOS del petróleo, son liberados al ambiente (Sihag *et al.*, 2014). En los últimos 10 años en China se registraron más de 6000 suelos contaminados en diversas regiones de ese país (Zhang & Chen, 2017; Li *et al.*, 2019), mientras que, en Australia, esta cifra fue de 96,000 sitios en el 2015 (Duan *et al.*, 2015). Las cantidades de sitios contaminados por HICOS varían de país en país, posiblemente relacionadas con la cantidad de HICOS procedentes de la industria petroquímica o el grado de tecnificación. Por ejemplo, en 2013 en Alemania, se reportaron 474 sitios contaminados, mientras que, en Turquía en 2015, se identificaron solo 20 sitios (Aichner *et al.*, 2015; Karaca, 2016). En Estados Unidos, cerca del 90 % de sitios impactados, se relacionan a vertidos por HICO (Das & Chandran, 2011); de acuerdo a la USEPA, el número de sitios reportados fue alrededor de 600. En 2017 en México, particularmente en Tabasco, una de las mayores zonas

petroquímicas en el país, se reportaron 114 incidentes ambientales de derrames y fugas de HICOS (Vargas *et al.*, 2017). En ese mismo año, la Procuraduría de Protección al Ambiente Mexicana (PROFEPA) recibió al menos 259 notificaciones de emergencias por derrames de HICOS tanto en agua como en suelo. En suelo, a nivel internacional, son considerados compuestos de alta prioridad para removerse de áreas contaminadas, sin

embargo, las leyes sobre límites permisibles, son distintas de acuerdo a cada país, con base en volumen/peso. Por ejemplo, en Estados Unidos, la USEPA permite como límite máximo permisible de HICOS 3,308 ppm para las fracciones ligera, mediana y pesada (Tomlinson & Ruby, 2016). Mientras que la norma mexicana NOM-138-SEMARNAT/SSAI-2012 (NOM-138), permite una concentración mayor como límite máximo de 4,400 ppm.

Tabla N° 1. Estructura química y solubilidad de algunos hidrocarburos contaminantes del suelo.

Tipo de hidrocarburo	Nombre	Estructura	Solubilidad (mg/L)	Referencia
Alifáticos	n-Pentano		38.5	Mackay & Shiu, 1981
	n-Hexano		9.5	Mackay & Shiu, 1981
	2-Metilbutano		49.6	Polak & Lu, 1973
	3-Metilpentano		17.9	Mackay & Shiu, 1981
	2,2,4-Trimetilpentano		2.05	Mackay & Shiu, 1981
	2,3,4-Trimetilpentano		2.30	Mackay & Shiu, 1981
	Aromáticos	Benceno		1755
Tolueno			526	Mackay & Shiu, 1981
Naftaleno			31.7	Mackay & Shiu, 1981
1-Metilnaftaleno			28.5	Mackay & Shiu, 1981

Tipo de hidrocarburo	Nombre	Estructura	Solubilidad (mg/L)	Referencia
	1,4,5-Trimetilnaftaleno		2.1	Mackay & Shiu, 1977
	Bifenilo		7	Mackay & Shiu, 1977
	Fluoreno		1.98	Mackay & Shiu, 1977
	Fenantreno		1.10	Mackay & Shiu, 1977
	Antraceno		0.073	Mackay & Shiu, 1977
	Pireno		0.135	Mackay & Shiu, 1977
Policíclicos	Fluorantreno		0.26	Mackay & Shiu, 1977
	Criseno		0.0020	Mackay & Shiu, 1977
	Benzo(a)pireno		0.0038	Mackay & Shiu, 1977
	Coroneno		0.00014	Mackay & Shiu, 1977

Fuente: Elaborada por el autor: Blanca Celeste Saucedo Martínez

La contaminación de suelo por HICOS en concentraciones excesivas, por lo que primero se hace una remoción mecánica y luego un lavado de suelo con un detergente (DEGE). Posteriormente se utilizan métodos biológicos como la biorremediación para

eliminar los HICOS remanentes, ahí se utiliza primero un DEGE o biodetergente (BIODET) bajas concentraciones para emulsificar los HICOS y hacerlos disponibles para que los microorganismos los mineralicen.

Materiales y Métodos

La búsqueda de la literatura se realizó con fuentes primarias como lo son artículos científicos, de revisión, así como capítulos de libros. Para ello inicialmente se seleccionaron las bases de datos a emplear para obtener datos homogéneos recuperables actualmente por internet. Estas bases de datos fueron:

1. Scimago Journal & Country Rank
2. Scopus
3. Google académico
4. Springer Open

Posteriormente, para la estrategia de búsqueda, se seleccionaron las palabras clave y sinónimos en diferentes combinaciones en el idioma inglés, para identificar estudios relevantes relacionados al tema de investigación. Algunas de ellas fueron: hydrocarbons, bioremediation, soil, detergent, biodetergent, surfactant, emulsification detergent, emulsification surfactant hydrocarbon, bioremediation of soil hydrocarbons detergent, phytoremediation soil hydrocarbons detergent, synthesis biosurfactants soil hydrocarbon, biostimulation soil hydrocarbon detergent.

Se incluyeron referencias desde el año 1977 hasta el 2020, siendo en su mayoría del 2011 al actual.

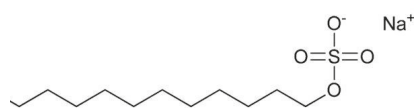
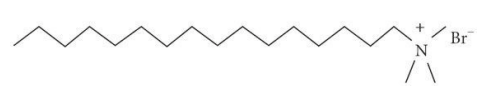
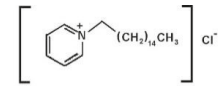
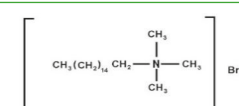
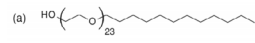
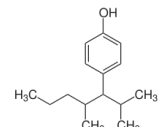
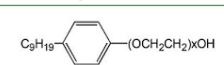
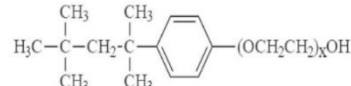
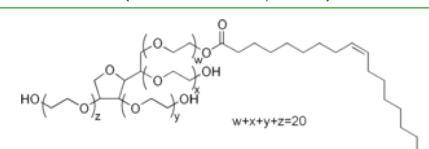
Composición Química de los Detergentes y Biodetergentes

Los microorganismos utilizan los HICOS como fuente de carbono y energía, por lo que requieren BIODET para emulsificarlos y que, en un suelo impactado por HICOS, la cantidad de BIODET sería insuficiente para la alta concentración de HICOS, lo que no permitiría la actividad microbiana, a diferencia de los DEGE que se aplican independientemente del nivel de concentración de HICOS después de la remoción mecánica y en la biorremediación. A continuación, se muestran algunos de los DEGE y BIODET más usados en la biorremediación.

Detergentes (DEGE)

Los detergentes (DEGE) son moléculas anfífilas, con una parte hidrofílica y otra hidrofóbica, con la propiedad fundamental de formar micelas lo que facilita la humectación, dispersión y solubilización de moléculas hidrófobas en soluciones acuosas (Banat *et al.*, 2000; Koopal, 2012; Castiglione *et al.*, 2016). Existe una amplia variedad química de DEGE del tipo aniónicos, catiónicos, y no iónicos como los mostrados en la Tabla N° 2, los iónicos y aniónicos son los más usados en la remediación y biorremediación (Lamichhane *et al.*, 2017).

Tabla N ° 2. Estructura química de detergentes comúnmente empleados para la solubilización de hidrocarburos en el suelo.

Detergentes	Estructura
Aniónicos	
Dodecil sulfato de sodio	 <p>(Bhardwaj <i>et al.</i>, 2014)</p>
Catiónicos	
Bromuro de cetiltrimetilamonio	 <p>(Karaca <i>et al.</i>, 2012)</p>
Cloruro de cetilpiridinio	 <p>(Khachane & Nagarsenker., 2011; Choi <i>et al.</i>, 2014)</p>
Bromuro de dimetil dodecil amonio	 <p>(Khachane & Nagarsenker., 2011)</p>
No iónicos	
Brij® 35	 <p>(Wong & Ho, 2009)</p>
Nonilfenol®	 <p>(Hung <i>et al.</i>, 2010)</p>
Tergitol® NP-10	 <p>(Vicente <i>et al.</i>, 2017)</p>
Triton® X-100	 <p>(Kareem <i>et al.</i>, 2015)</p>
Tween® 80	 <p>(Souza <i>et al.</i>, 2012)</p>

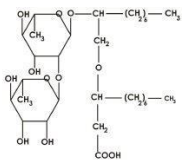
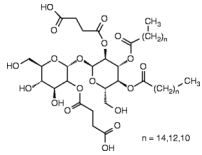
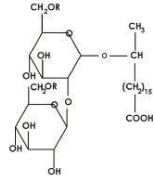
Fuente: elaborada por el autor: Blanca Celeste Saucedo Martínez

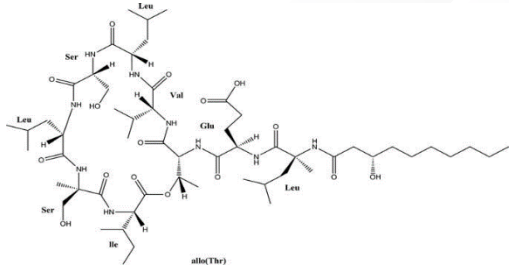
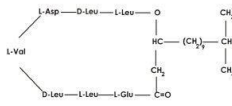
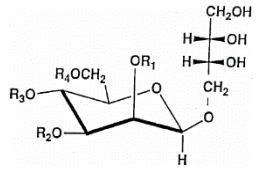
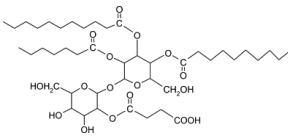
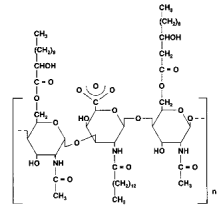
Biodetergentes

Los biodetergentes (BIODET) son metabolitos secundarios sintetizados por géneros de especies como *Bacillus* y *Pseudomonas* (Silva *et al.*, 2014) y levaduras como *Candida bombicola*, *C. lipolytica* y *Saccharomyces cerevisiae* (Santos *et al.*, 2016). Los BIODET contienen la fracción hidrófila de naturaleza polisacárica con PO_4 , y la hidrófoba con cadenas alifáticas (Pacwa-Plociniczak *et al.*, 2011). En el suelo

para la biorremediación, existe una amplia diversidad química de BIODET aplicados del tipo: glicolípidos, ramnolípidos, soforolípidos o trehalolípidos; lipopéptidos y lipoproteínas como el surfactin y el emulsan (Tabla N° 3). Debido a la estructura anfílica al igual que los DEGE, tienen la capacidad de aumentar el área de superficie de sustancias hidrófobas como los HICO para moverse cuando son absorbidos en el suelo (Lai *et al.*, 2009; Whang *et al.*, 2009; Kang *et al.*, 2010; Mnif *et al.*, 2017).

Tabla N° 3. Estructura química de biodetergentes usados en la solubilización de hidrocarburos del suelo.

Biodetergente	Estructura
Glicolípidos	
Ramnolípidos	 <p>(Plaza <i>et al.</i>, 2014)</p>
Trehalolípidos	 <p>(Shao, 2011)</p>
Soforolípidos	 <p>(Plaza <i>et al.</i>, 2014)</p>

Biodetergente	Estructura
Lipopeptidos y lipoproteínas	
Viscosin	 <p>(Khattari <i>et al.</i>, 2015)</p>
Surfactin	 <p>(Plaza <i>et al.</i>, 2014)</p>
Mannosylerythritol lipídico	 <p>(Salihu <i>et al.</i>, 2009)</p>
Lípido trehalosa	 <p>(Teruel <i>et al.</i>, 2014)</p>
Polimericos	
Emulsan	 <p>(Salihu <i>et al.</i>, 2009)</p>

Fuente: elaborada por el autor: Blanca Celeste Saucedo Martínez

En el suelo, de acuerdo a la literatura, tienen ventajas potenciales sobre los DEGE, como estabilidad en ambientes extremos de pH, temperatura y salinidad (Uzoigwe *et al.*, 2015; Lamichhane *et al.*, 2017; Gupta *et al.*, 2019).

En la estructura química de los DEGE (Tabla N° 2) y BIODET (Tabla N° 3) se puede apreciar que tienen una parte similar como fracciones carbonadas y otra parte polar que permiten la solubilización de compuestos. En la biorremediación de suelo impactado por

HICOS, se puede bioestimular con mezclas de detergentes complementarios para acciones sinérgicas de ampliar el espectro de emulsificación, a diferencia de la aplicación individual como se reporta en la literatura (Gudiña *et al.*, 2015, de la Cueva *et al.*, 2016 o da Rocha *et al.*, 2019).

Biorremediación de Suelo Impactado por Hidrocarburos

Contaminación de suelo por hidrocarburos

En suelo cuando los HICOS se derraman, afectan drásticamente las propiedades fisicoquímicas. Inicialmente se forma una película en la superficie del suelo que disminuye la permeabilidad del suelo (Gordon *et al.*, 2018), limita la aireación, e infiltración de agua, donde los HICOS se adhieren por absorción a la materia orgánica y a las fracciones minerales, y lentamente se difunden en la columna de suelo. En consecuencia, se inhibe la mineralización de la materia orgánica y pérdida de fertilidad (Klamerus-Iwan *et al.*, 2015; Koshlaf & Ball, 2017).

La contaminación de suelo por HICOS es un problema complejo y por ello requiere de estrategias similares para reducir la concentración por debajo de los límites máximos permisibles por las regulaciones ambientales como la mexicana NOM-138 o la norteamericana Agencia de Protección Ambiental (EPA).

En suelo las soluciones comunes para resolver la contaminación por HICOS, involucra primero, una remoción mecánica para disminuir el exceso de HICOS; luego

la remediación con agentes químicos, que oxidan la mayor parte de los HICOS, pero generan compuestos secundarios tóxicos al ambiente y agravan el problema (Bezza & Chirwa 2015; Effendi *et al.*, 2017).

Removido el exceso de HICOS, se aplican métodos biológicos como la biorremediación, por tres formas: bioestimulación, bioaumentación y fitorremediación (Das & Chandran, 2011; Azubuike *et al.*, 2016). La bioestimulación consiste en el enriquecimiento del suelo para la mineralización de los HICOS, la bioaumentación es la introducción de microorganismos individuales o consorcios con capacidad de oxidar HICOS (Herrero & Stuckey, 2015; Agnello *et al.*, 2016). Mientras que en FITO se usan plantas en conjunto con microorganismos de la rizosfera para degradar HICOS del suelo (Shaw & Burns, 2003; Akhundova & Atakishiyeva, 2015). En cualquiera de las tres formas se debe bioestimular el suelo con un DEGE o BIODET para solubilizar los HICOS remanentes (Sáenz-Marta *et al.*, 2015; Cheng *et al.*, 2017), para la posterior bioestimulación con soluciones minerales a base de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K), para reestablecer la relación C:N, derivada del exceso de C. Luego la bioestimulación complementaria con una fuente de O₂ que aceleran la mineralización y el contenido de humedad al 80 % de la capacidad de campo, ya que facilita la aireación e intercambio gaseoso para mantener el paso del O₂ e inducir la actividad oxidante de los HICOS por la microbiota nativa (Kumar, 2019).

Análisis de la biorremediación de suelo impactado por hidrocarburos: inconsistencias y evidencias del papel de los detergentes.

En la biorremediación de suelo impactado por HICOS que incluye: bioestimulación, bioaumentación y fitorremediación se deben emplear DEGE y BIODET, dado que las mezclas de HICOS son insolubles, lo que impide que se solubilizan y en consecuencia los microorganismos los mineralicen (Jimoh y Lin, 2020), sin embargo, en diversas investigaciones sobre biorremediación de suelo, se han detectado inconsistencias sobre el papel de DEGE y BIODET como se muestra a continuación.

Inconsistencia 1. Señalar que en el suelo el detergente empleado es responsable directo de la reducción parcial de los hidrocarburos.

a) Bioestimulación con detergente o biodetergente.

Existen algunos trabajos de bioestimulación de suelo impactado por HICOS que asumen que la reducción de la concentración de HICOS en suelo fue por el DEGE y/o BIODET, imposible pues solo los emulsifican y para que la microbiota nativa los oxide (Shi *et al.*, 2020) Algunas investigaciones que muestran esta inconsistencia son las siguientes:

Moldes *et al.*, 2011 bioestimularon un suelo impactado por 70,000 ppm de octano mediante BIODET, donde después de 45 días reportaron que lo redujo a 26,040 ppm de octano.

Posteriormente Gudiña *et al.*, 2015 bioestimularon un suelo contaminado por 10,000 ppm de petróleo donde asumieron que el BIODET redujo el petróleo hasta 4,500 ppm y que el DEGE Enordet a 5,500 ppm.

da Rocha *et al.*, 2019 bioestimularon un suelo impactado por 40,000 ppm de HICOS por 42 días mediante BIODET ramnolipidos que reportaron lo redujo hasta 28,020 ppm y que el Tween® 80 a 29,900 ppm de HICOS.

En los trabajos anteriores, se señala erróneamente que el DEGE o BIODET decreció los HICOS, aunque solo emulsificaron parte de los HICO al disminuir la tensión interfacial entre la fase no acuosa del suelo y la acuosa, de esta manera fueron parcialmente disponibles para que los microorganismos, estimulados por los minerales del suelo, los oxidaran de forma limitada, ante la ausencia de una solución rica en minerales de nitrógeno y fósforo (Li & Chen, 2009; Lamichhane *et al.*, 2017; Ortega *et al.*, 2018).

b) Bioestimulación con detergente, biodetergente y solución mineral.

Mientras que existen investigaciones que aplican bioestimulación con solución mineral, para que los microorganismos oxiden los HICOS, en los resultados afirman que el DEGE y/o BIODET fueron responsables directos de la eliminación de los HICO, tales casos son los siguientes:

de la Cueva *et al.*, 2016 bioestimularon un suelo contaminado por 36,616 ppm de petróleo mediante DEGE Tween® 80, solución mineral y después de 90 días reportaron una reducción a 16,176 ppm. Luego Bezza & Chirwa, 2017 bioestimularon

un suelo impactado por 6,745 ppm de HICO aromáticos policíclicos, mediante BIODET y solución mineral con NH_4NO_3 y KH_2PO_4 , que después de 64 días registraron 2,552 de concentración final de HICO. López-Miranda *et al.*, 2018 bioestimularon un suelo contaminado por 33,616 ppm mediante DEGE Tween® 80, y solución mineral con una reducción a 12,933 ppm.

El decremento en la concentración de HICO en los trabajos anteriores, se debe a que los DEGE o BIODET en la bioestimulación del suelo emulsificaron una parte de los HICO para que la microbiota los oxidara y para equilibrar la relación C: N derivada del exceso de C de los derivados del petróleo (Lawniczak *et al.*, 2020).

c) Bioaumentación y bioestimulación con detergente y biodetergente.

Del mismo modo que en las investigaciones anteriores, existen trabajos de bioaumentación donde se introducen géneros y especies de microorganismos que oxidan HICOS en el suelo (Lawniczak *et al.*, 2020), que se bioestiman con DEGE o BIODET que asumen que oxidan los HICOS. A continuación, algunos ejemplos:

Jorfi *et al.*, 2013 bioaumentaron un suelo impactado por 10,0000 ppm de pireno mediante microorganismos no especificados y bioestimulación con BIODET glicolípido, donde afirmaron que después de 63 días de incubación redujo el pireno a 1,540 ppm. Lo que indica que el BIODET únicamente solubilizó la mayor parte del pireno para que en seguida los microorganismos lo mineralizara.

Similarmente Bezza & Chirwa, 2015, realizaron bioaumentación de lodo contaminado por 40,000 ppm de petróleo con *Ochrobactrum intermedium* CN3 y que señalan que bioestimulado mediante el BIODET glicolípido, redujo la concentración final de petróleo a 12,000 ppm después de 21 días.

En las investigaciones anteriores el papel de DEGE y BIODET fue únicamente de solubilizar los HICOS contaminantes del suelo, y lo que los eliminó fue la acción oxidante de los microorganismos introducidos en la bioaumentación, que fue inducida por los nutrientes naturales del suelo.

También se han documentado investigaciones de bioaumentación de suelos contaminados por HICOS, que, aunque realizan bioestimulación mediante DEGE o BIODET y solución mineral, siguen asegurando que el detergente es la razón principal de la reducción de los HICOS, tal es el caso de Xu *et al.*, 2018 que bioestimularon un suelo impactado por 50,000 ppm de petróleo mediante DEGE Tween® 80, SDS, solución nutritiva y bioaumentación con microorganismos de géneros no especificados. Después de 80 días asumieron que el DEGE influyó directamente para que el petróleo se redujera a 11,500 ppm, lo que no es posible, ya que la única función de DEGE fue la emulsificación parcial del petróleo. Mientras que los microorganismos estimulados por la solución nutritiva, que regula la relación C/ N / P, utilizaran el petróleo como fuente de carbono para su crecimiento (Shahi *et al.*, 2016).

d) *Fitorremediación y bioestimulación con detergente o biodetergente.*

Algunos autores que realizaron fitorremediación con diversas plantas cuyo sistema radical degrada HICO en conjunto con microorganismos y bioestimulación con DEGE y/o BIODET, señalan la misma inconsistencia sobre los detergentes como agentes directos del decremento de HICO, algunos ejemplos a continuación:

Akhundova & Atakishiyeva, en el 2015 fitorremediaron un suelo impactado por 10,000 ppm de petróleo mediante *Artemiza fragans*, con un consorcio microbiano y bioestimulación con BIODET, después de 56 días mostraron que el petróleo se redujo a 1,500 ppm en el suelo fitorremediado con *Artemiza fragans* sin el consorcio, afirmaron que el BIODET intervino en la eliminación del petróleo.

Más tarde Almansoory *et al.*, 2015 fitorremediaron un suelo impactado con 2,000 ppm de gasolina mediante *Ludwigia octovalvis* y bioestimulado con el DEGE dodecil sulfato de sodio que le atribuyen la reducción de la gasolina a 274 ppm.

Liao *et al.*, 2016 que fitorremediaron un suelo impactado por 5,000 ppm de petróleo mediante *Zea mays* y bioestimularon con DEGE Tween® 80, que después de 3 meses señalaron que la mayor parte del petróleo se redujo a 2,650 ppm por el DEGE.

Por su parte, Liduino *et al.*, 2018 que fitorremediaron un suelo impactado con 18,145 ppm de petróleo mediante *Helianthus annuus* y bioestimularon con BIODET ramnolipidos, que indican que tuvo que

ver directamente con la disminución del petróleo a 7,145 ppm.

Contrario a lo que afirman los estudios anteriores, la composición química de DEGE o BIODET empleado tuvo la única función de emulsificar una parte de los HICO, donde la planta utilizada para la fitorremediación los degradó y los microorganismos rizosféricos mineralizaron una parte de los HICOS en CO₂ y H₂O (González-Moscoso *et al.*, 2019).

Inconsistencia 2. El uso de un detergente o biodetergente emulsifica todos los tipos de hidrocarburos.

En la biorremediación de suelo impactado por HICO, para que los microorganismos del suelo oxiden los HICOS, deben ser emulsificados por DEGE o BIODET, sin embargo, las mezclas de HICOS tienen diferente composición química y grado de solubilidad (Tabla N ° 1), por lo que no se emulsifican totalmente con un solo tipo de DEGE o BIODET. El análisis de la literatura muestra que entre el 80 y 90 % de trabajos solo aplica un detergente:

de la Cueva *et al.*, 2016, realizaron bioestimulación de suelo impactado por 36,616 ppm de petróleo mediante DEGE Tween® 80 y solución mineral, donde asumieron que el DEGE emulsificó todos los HICO del petróleo, que los microorganismos estimulados por la solución mineral decrecieron el petróleo hasta 16,176 ppm después de 90 días. López-Miranda *et al.*, 2018 bioestimularon un suelo impactado por 33,616 ppm de hidrocarburos totales del petróleo, que fueron emulsificados en un 61.5 % con Tween® 80 y por bioestimulación con una

solución mineral los microorganismos los disminuyeron hasta 12,933 ppm.

Los resultados anteriores muestran que la fracción remanente de HICO, no se emulsificó y por lo tanto no se mineralizó. Por ello es necesario conocer la composición química de la mezcla de HICOS contaminantes para seleccionar mezclas de DEGE y BIODET químicamente afines que emulsifiquen la mayor concentración posible de HICOS para que con la bioestimulación del suelo con una solución mineral los microorganismos del suelo los eliminen.

Inconsistencia 3. La síntesis “in situ” de biodetergentes por microorganismos inoculados en la bioaumentación de suelo impactado por hidrocarburos.

En la bioaumentación de suelo impactado por HICO, algunos autores que inoculan microorganismos que se supone sintetizan BIODET, asumen que en efecto lo hicieron, sin mostrar las evidencias, tales como:

Ángeles & Refugio en el 2013, bioaumentaron un suelo impactado por 32,421 ppm de petróleo mediante microorganismos productores de BIODET y bioestimularon con solución mineral, después de 10 días reportaron reducción del petróleo a 23,517 ppm en suelo.

Luego Mnif *et al.*, 2017 bioaumentaron un suelo contaminado por 50,000 ppm diésel con consorcio microbiano, dos bacterias productoras de BIODET y bioestimularon mediante BIODET y solución mineral. Después de 3 semanas registraron una concentración final de HICO 25,600 ppm de diesel.

Así como Vargas *et al.*, 2017 que bioaumentaron un suelo impactado con 120,000 ppm de HICO, mediante microorganismos productores de BIODET, donde después de 16 meses registraron 20,000 ppm de concentración final de HICO.

Estos estudios descritos anteriormente, señalan que los microorganismos inoculados en el suelo produjeron BIODET para emulsificar los HICOS, sin embargo, sin ninguna técnica de detección o cuantificación de los BIODET sintetizados en el suelo. Mientras que es complejo demostrar la síntesis de BIODET, ya que cuando los microorganismos se someten a pruebas a nivel de laboratorio, las condiciones son controladas y limitadas (Phulpoto *et al.*, 2020) a diferencia de lo que ocurre naturalmente en un suelo contaminado por HICO, donde existen múltiples interferencias (Cachada *et al.*, 2018).

Evidencias en la biorremediación de suelo, el detergente o biodetergente solubiliza los hidrocarburos contaminantes y la eliminación se debe a la actividad microbiana.

a) *Bioestimulación con detergente o biodetergente.*

Existen investigaciones de bioestimulación de suelo impactado por HICO que señalan que el papel de DEGE y BIODET, es emulsificar los HICO mientras que la bioestimulación por solución mineral de N, P, y K para los microorganismos del suelo, hace posible que los oxide como se señala a continuación:

Effendi *et al.*, 2017 bioestimularon un suelo impactado por 48,000 ppm de HICO donde el

DEGE Tween® 80 emulsificó parte de los HICO, para que con la bioestimulación con urea y triple superfosfato los microorganismos disminuyeran los HICOS hasta 14,400 ppm. Similarmente Ali *et al.*, 2019 bioestimulación de suelo contaminado por 10,000 ppm de aceite residual automotriz con DEGE Triton® X-100 para emulsificar el aceite y posteriormente la bioestimulación de la microbiota con una solución mineral, fuera posible reducir el aceite residual automotriz a 3,150 ppm en 10 días.

Ambos trabajos anteriores muestran que el DEGE no interviene en la eliminación de los HICOS, puesto que solo podría emulsificar los HICOS, mientras que la microbiota nativa solo por bioestimulación con solución mineral podría mineralizarlos.

b) Bioaumentación y bioestimulación detergente o biodetergente.

Trabajos de bioaumentación y bioestimulación con BIODET y/o DEGE, también señalan que el papel del detergente es emulsificar los HICO y que la reducción de la concentración es derivada de los microorganismos inoculados como:

Szulc *et al.*, 2014 bioaumentaron un suelo impactado por 10,000 ppm de diésel con un consorcio microbiano, y bioestimulación mediante BIODET ramnolipidos, que después de 365 días señalaron que los microorganismos lo redujeron a 937 ppm.

Yanto & Tachibana en el 2014 bioaumentaron un suelo estéril impactado por 30,000 ppm de HICO, con microorganismos no especificados y bioestimularon con DEGE Tween® 80

Después de 60 días mostraron que el DEGE emulsificó los HICO y los microorganismos oxidaron en un 80 % los HICO alifáticos, 19.2 % asfáltenos y 21.7 % de resinas.

c) Bioaumentación y bioestimulación con detergente o biodetergente y nutrientes.

En la literatura se encuentran trabajos de bioaumentación de suelos contaminados por HICOS, con bioestimulación por medio de DEGE o BIODET y solución mineral. Tales estudios reconocen que la única función del detergente es solubilizar los HICO, mientras que la mineralización de la concentración fue por los microorganismos inoculados estimulados por la solución mineral, como:

Yan *et al.*, 2016 bioestimularon un suelo impactado por 13,000 ppm de diésel mediante DEGE Tween® 80, solución mineral y bioaumentación con un consorcio microbiano, que después de 50 días reportaron una reducción del diésel a 6,903 ppm. Otro ejemplo es Xue *et al.*, 2020 que realizaron bioestimulación de suelo impactado con 35,000 ppm de HICO mediante BIODET ramnolipido, solución mineral con NH_4NO_3 , KH_2PO_4 oxigenación y bioaumentación con un consorcio microbiano, después de 5 semanas registraron una reducción de HICO a 7,000 ppm. Los dos trabajos señalan que el DEGE y BIODET se aplicaron para solubilizar los contaminantes, para ser disponibles a la oxidación por la acción microbiana que solo es posible si se estimula con nutrientes esenciales como N y P.

Conclusiones

En este estudio se aclaró que, en la biorremediación de suelo impactado por HICOS, el DEGE o BIODET son necesarios al inicio únicamente para emulsificar los HICO y que los microorganismos estimulados por solución mineral los oxiden. Es necesario seleccionar las mezclas adecuadas de detergentes que sean químicamente afines a la composición química de los HICO que contaminan el suelo. Por su parte en la bioaumentación de suelo impactado por HICO, la única forma de comprobar la síntesis de BIODET en el suelo, es con técnicas que los detecten y cuantifiquen, como el marcaje molecular de los microorganismos. Es importante aclarar el papel de cada componente de la biorremediación, para evitar errores y malinterpretaciones en los ensayos, y obtener una recuperación de suelo eficiente.

Agradecimientos

Se agradece a la Universidad de Harvard, Cambridge, Ma, EUA, Fundación Rockefeller 2021. Proyecto 2.7 (2021) y BIONUTRA, SA CV Maravatio, Mich, México y a Conacyt por el apoyo.

Referencias

- Aichner, B., Bussian, B. M., Lehnik-Habrink, P., & Hein, S. (2015). Regionalized concentrations and fingerprints of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in German forest soils. *Environmental Pollution*, 203, 31-39. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.03.026>
- Agnello, A. C., Bagard, M., van Hullebusch, E. D., Esposito, G., & Huguenot, D. (2016). Comparative bioremediation of heavy metals and petroleum hydrocarbons co-contaminated soil by natural attenuation, phytoremediation, bioaugmentation and bioaugmentation-assisted phytoremediation. *Science of the Total Environment*, 563, 693-703. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.061>
- Akhundova, E., & Atakishiyeva, Y. (2015). Interaction between plants and biosurfactant producing microorganisms in petroleum contaminated Absheron soils. In *Phytoremediation for Green Energy* (pp. 115-122). Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7887-0_7
- Ali, N., Bilal, M., Khan, A., Ali, F., & Iqbal, H. M. (2019). Effective exploitation of anionic, nonionic, and nanoparticle-stabilized surfactant foams for petroleum hydrocarbon contaminated soil remediation. *Science of The Total Environment*, 704, 135391. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135391>
- Almansoori, A. F., Hasan, H. A., Idris, M., Abdullah, S. R. S., & Anuar, N. (2015). Potential application of a biosurfactant in phytoremediation technology for treatment of gasoline-contaminated soil. *Ecological Engineering*, 84, 113-120. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2015.08.001>

- Ángeles, M. T., & Refugio, R. V. (2013). In situ biosurfactant production and hydrocarbon removal by *Pseudomonas putida* CB-100 in bioaugmented and biostimulated oil-contaminated soil. *Brazilian Journal of Microbiology*, *44*(2), 595-605. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822013000200040>
- Azubuiké, C. C., Chikere, C. B., & Okpokwasili, G. C. (2016). Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *32*(11), 1-18. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2137-x>
- Banat, I. M., Makkar, R. S., & Cameotra, S. S. (2000). Potential commercial applications of microbial surfactants. *Applied microbiology and biotechnology*, *53*(5), 495-508. <https://doi.org/10.1007/s002530051648>
- Bhardwaj V., Bhardwaj T., Sharma K., Gupta A., Chauhan S., Cameotra S. S.,...Sharma P. (2014) Drug-surfactant interaction: thermo-acoustic investigation of sodium dodecyl sulfate and antimicrobial drug (levofloxacin) for potential pharmaceutical application. *Royal Society of Chemistry Advances*, *4*(47): 24935-24943. <https://doi.org/10.1039/C4RA02177K>
- Bezza, F. A., & Chirwa, E. M. N. (2015). Production and applications of lipopeptide biosurfactant for bioremediation and oil recovery by *Bacillus subtilis* CN2. *Biochemical Engineering Journal*, *101*, 168-178. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.05.007>
- Bezza, F. A., & Chirwa, E. M. N. (2017). The role of lipopeptide biosurfactant on microbial remediation of aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated soil. *Chemical Engineering Journal*, *309*, 563-576. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.10.055>
- Cachada, A., Rocha-Santos, T., & Duarte, A. C. (2018). Soil and pollution: an introduction to the main issues. In *Soil pollution* (pp.1-28). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-849873-6.00001-7>
- Castiglione, M. R., Giorgetti, L., Becarelli, S., Siracusa, G., Lorenzi, R., & Di Gregorio, S. (2016). Polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soils: bioaugmentation of autochthonous bacteria and toxicological assessment of the bioremediation process by means of *Vicia faba* L. *Environmental Science and Pollution Research*, *23*(8), 7930-7941. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6049-y>
- Cheng M., Zeng G., Huang D., Yang C., Lai C. & Liu Y. (2017). Advantages and challenges of Tween® 80 surfactant-enhanced technologies for the remediation of soils contaminated with hydrophobic organic compounds. *Chemical Engineering*

- Journal, 314: 98-113. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.12.135>
- Choi K., Bae S. & Lee W. (2014) Degradation of pyrene in cetylpyridinium chloride-aided soil washing wastewater by pyrite Fenton reaction. *Chemical Engineering Journal*, 249, 34-41. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.03.090>
- da Rocha, D. L., Servulo, E. F. C., Taketani, R. G., Videira, S. S., de Lima Rizzo, A. C., & da Cunha, C. D. (2019). Application of surfactants and biosurfactants in the bioremediation of multi-contaminated soils: microcosms and bench scale bioreactor trials. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science*, 6(11). <https://dx.doi.org/10.22161/ijaers.611.14>
- Das, N., & Chandran, P. (2011) Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. *Biotechnology Research International*, 11, 1- 13. <https://doi.org/10.4061/2011/941810>
- de la Cueva, S. C., Rodríguez, C. H., Cruz, N. O. S., Contreras, J. A. R., & Miranda, J. L. (2016). Changes in bacterial populations during bioremediation of soil contaminated with petroleum hydrocarbons. *Water, Air, & Soil Pollution*, 227(3), 91. <https://doi.org/10.1007/s11270-016-2789-z>
- Duan R., Naidu R., Thavamani P. y Meaklim J., & Megharaj M. (2015) Managing long-term polycyclic aromatic hydrocarbon contaminated soils: a risk-based approach. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(12): 8927-8941. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2270-0>
- Effendi A. J., Kamath R., McMillen S., Sihota N., Zuo E., Sra K., Kong D., Wisono T. & Syakir J. (2017) Strategies for Enhancing Bioremediation for Hydrocarbon-Impacted Soil. SPE Asia Pacific Health, Safety, Security, Environmental and Social Responsibility Conference held in Kuala Lumpur, Malaysia. <https://doi.org/10.2118/185196-MS>
- González-Moscoso, M., Rivera-Cruz, M. D. C., & Trujillo-Narcía, A. (2019). Decontamination of soil containing oil by natural attenuation, phytoremediation and chemical desorption. *International journal of phytoremediation*, 21(8), 768-776. <https://doi.org/10.1080/15226514.2019.1566879>
- Gordon G., Stavi I., Shavit U. & Rosenzweig R. (2018) Oil spill effects on soil hydrophobicity and related properties in a hyper-arid region. *Geoderma*, 312,114-120. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.10.008>
- Gudiña E. J., Rodrigues A. I., Alves E., Domingues M. R., Teixeira J. A. & Rodrigues L. R. (2015). Bioconversion of agro-industrial by-products in rhamnolipids toward applications in enhanced oil recovery and bioremediation. *Bioresource*

- Technology, 177, 87-93. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.069>
- Gupta, G., Kumar, V., & Pal, A. K. (2019). Microbial degradation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons with emphasis on pyrene. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 39(2), 124-138. <https://doi.org/10.1080/10406638.2017.1293696>
- Herrero, M., & Stuckey, D. C. (2015). Bioaugmentation and its application in wastewater treatment: a review. *Chemosphere*, 140, 119-128. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.10.033>
- Hu G., Li J. & Zeng G. (2013) Recent development in the treatment of oily sludge from petroleum industry: a review. *Journal Hazardous Materials*, 261, 470-490. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.07.069>
- Hung C. H., Yuan C. & Chen K. C. (2010) Effect of processing fluid and initial concentration on electrokinetic removal of environmental hormone-nonylphenol (NP) from soil matrix. *Journal of Applied Electrochemistry*, 40(6), 1123-1130. <https://doi.org/10.1007/s10800-010-0081-2>
- Jimoh, A. A., & Lin, J. (2020). Bioremediation of contaminated diesel and motor oil 237 through the optimization of biosurfactant produced by *Paenibacillus* sp. D9 on waste canola oil. *Bioremediation Journal*, 24(1), 21-40. <https://doi.org/10.1080/10889868.2020.1721425>
- Jorfi, S., Rezaee, A., Mobeh-Ali, G. A., & Jaafarzadeh, N. A. (2013). Application of biosurfactants produced by *Pseudomonas aeruginosa* SP4 for bioremediation of soils contaminated by pyrene. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 22(8), 890-911. <https://doi.org/10.1080/15320383.2013.770439>
- Kang, S. W., Kim, Y. B., Shin, J. D., & Kim, E. K. (2010). Enhanced biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial biosurfactant, sophorolipid. *Applied biochemistry and biotechnology*, 160(3), 780-790. <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8580-5>
- Kareem S. H., Ali I. H. & Jalhoom M. Q. (2015) Kinetic and thermodynamic study of Triton® X-100 removal from aqueous solution of functionalized mesoporous silica. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research*, 21(2), 293-308.
- Karaca S., Gürses A. & Korucu M. E. (2012) Investigation of the orientation of CTA⁺ ions in the interlayer of CTAB pillared montmorillonite. *Journal of Chemistry*, 2013, 1-13. <https://doi.org/10.1155/2013/274838>
- Karaca, G. (2016). Spatial distribution of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) concentrations in soils from Bursa, Turkey. *Archives of environmental contamination and*

- toxicology, *70*(2), 406-417. <https://doi.org/10.1007/s00244-015-0248-2>
- Khachane, P., & Nagarsenker, M. S. (2011). Positively charged polymeric nanoparticles: application in improving therapeutic efficacy of meloxicam after oral administration. *Die Pharmazie- An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, *66*(5), 334-338. <https://doi.org/10.1691/ph.2011.0324>
- Khattari Z., Al-Abdullah T., Maghrabi M., Khasim S., Roy A. & Fafous I. (2015) Interaction study of lipopeptide biosurfactant viscosin with DPPC and cholesterol by langmuir monolayer technique. *Soft Materials*, *13*(4), 254-262. <https://doi.org/10.1080/1539445X.2015.1085873>
- Klamerus-Iwan A., Blonska E., Lasota J., Kalandyk A. & Waligórski P. (2015). Influence of oil contamination on physical and biological properties of forest soil after chainsaw use. *Water Air Soil Pollution*, *226*(11), 1-9. <https://doi.org/10.1007/s11270-015-2649-2>
- Koopal, L. K. (2012). Wetting of solid surfaces: fundamentals and charge effects. *Advances in colloid and interface science*, *179*, 29-42. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2012.06.009>
- Koshlaf E. & Ball A. S. (2017). Soil bioremediation approaches for petroleum hydrocarbon polluted environments. *AIMS Microbiology*, *3*(1), 25-49. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2017.1.25>
- Kumar, P. S. (2019). Soil bioremediation techniques. In *Advanced Treatment Techniques for Industrial Wastewater* (pp.35-50). IGI Global. <https://doi.org/10.4018/978-1-5225-5754-8.ch003>
- Lai, C. C., Huang, Y. C., Wei, Y. H., & Chang, J. S. (2009). Biosurfactant-enhanced removal of total petroleum hydrocarbons from contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, *167*(1-3), 609-614. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.01.017>
- Lamichhane S., Krishna B. K. C. & Sarukkalige R. (2017) Surfactant-enhanced remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: A review. *Journal of Environmental Management*, *199*, 46-61. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.05.037>
- Ławniczak, Ł., Woźniak-Karczewska, M., Loibner, A. P., Heipieper, H. J., & Chrzanowski, Ł. (2020). Microbial degradation of hydrocarbons—basic principles for bioremediation: a review. *Molecules*, *25*(4), 856. <https://doi.org/10.3390/molecules25040856>
- Li, J. L., & Chen, B. H. (2009). Effect of nonionic surfactants on biodegradation of phenanthrene by a marine bacteria of *Neptunomonas naphthovorans*. *Journal of hazardous materials*, *162*(1), 66-73. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.05.019>

- Li Y., Liao X., Huling S. G., Xue T., Liu Q., Cao H. & Lin Q. (2019) The combined effect of surfactant solubilization and chemical oxidation on the removal of polycyclic aromatic hydrocarbon from soil. *Science of the Total Environment*, 647, 1106-1112.
- <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.420>
- Liao, C., Xu, W., Lu, G., Deng, F., Liang, X., Guo, C., & Dang, Z. (2016). Biosurfactant-enhanced phytoremediation of soils contaminated by crude oil using maize (*Zea mays*. L). *Ecological engineering*, 92, 10-17. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.03.041>
- Liduino, V. S., Servulo, E. F., & Oliveira, F. J. (2018). Biosurfactant-assisted phytoremediation of multi-contaminated industrial soil using sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 53(7), 609-616. <https://doi.org/10.1080/10934529.2018.1429726>
- López-Miranda, J., Cisneros-de la Cueva, S., Páez-Lerma, J. B., Rojas-Contreras, J. A., & Soto-Cruz, N. O. (2018). Changes in Hydrocarbon Composition and Autochthonous Microorganism Growth of Contaminated Mining Soil During Bioremediation. *Water, Air, & Soil Pollution*, 229(5), 1-12. <https://doi.org/10.1007/s11270-018-3798-x>
- Mackay, D., & Shiu, W. Y. (1977). Aqueous solubility of polynuclear aromatic hydrocarbons. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 22(4), 399-402. <https://doi.org/10.1021/je60075a012>
- Mackay, D., & Shiu, W. Y. (1981). A critical review of Henry's law constants for chemicals of environmental interest. *Journal of physical and chemical reference data*, 10(4), 1175-1199. <https://doi.org/10.1063/1.555654>
- Mnif, I., Sahnoun, R., Ellouz-Chaabouni, S., & Ghribi, D. (2017). Application of bacterial biosurfactants for enhanced removal and biodegradation of diesel oil in soil using a newly isolated consortium. *Process Safety and Environmental Protection*, 109, 72-81. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2017.02.002>
- Moldes A. B., Paradelo R., Rubinos D., Devesa R. R., Cruz J. M. & Barral M. T. (2011). Ex situ treatment of hydrocarbon-contaminated soil using biosurfactants from *Lactobacillus pentosus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59(17), 9443-9447. <https://doi.org/10.1021/jf201807r>
- Norma oficial mexicana. NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 que establece los límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y lineamientos para el muestreo en la caracterización y especificación para la remediación. México. <https://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/6646/1/nom-138-semarnat.ssa1-2012.pdf>

- Ortega, M.F.; Guerrero, D.E.; García-Martínez, M.J.; Bolonio, D.; Llamas, J.F.; Canoira, L.; & Gallego, J.L.R. (2018). Optimization of landfarming amendments based on soil texture and crude oil concentration. *Water Air & Soil Pollut*, 229(7), 1-14. <https://doi.org/10.1007/s11270-018-3891-1>
- Pacwa-Plociniczak M., Plaza G.A., Piotrowska-Seget Z., & Cameotra S.S. (2011) Environmental applications of biosurfactants: recent advances. *International Journal of Molecular Sciences*. 12(1), 633–654. <https://doi.org/10.3390/ijms12010633>
- Plaza G. A., Chojniak J. & Banat I. M. (2014) Biosurfactant Mediated Biosynthesis of Selected Metallic Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*. 15(8), 13720-13737. <https://doi.org/10.3390/ijms150813720>
- Polak, J., & Lu, B. C. Y. (1973). Mutual solubilities of hydrocarbons and water at 0 and 25°C. *Canadian Journal of Chemistry*, 51(24), 4018-4023. <https://doi.org/10.1139/v73-599>
- Phulpoto, I. A., Yu, Z., Hu, B., Wang, Y., Ndayisenga, F., Li, J., ... & Qazi, M. A. (2020). Production and characterization of surfactin-like biosurfactant produced by novel strain *Bacillus nealsonii* S2MT and its potential for oil contaminated soil remediation. *Microbial cell factories*, 19(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01402-4>
- Sáenz-Marta C. I., Ballinas-Casarrubias M. L., Rivera-Chavira B. E., & Nevárez-Moorillón G. V. (2015). Biosurfactants as useful tools in bioremediation. *Advances in Bioremediation of Wastewater and Polluted Soil*, 93-109. <https://doi.org/10.5772/60751>
- Salihu, A., Abdulkadir, I., & Almustapha, M. N. (2009). An investigation for potential development on biosurfactants. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 4(5), 111-117. <https://doi.org/10.5897/BMBR2009.0001>
- Santos, D. K. F., Rufino, R. D., Luna, J. M., Santos, V. A., & Sarubbo, L. A. (2016). Biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21st century. *International journal of molecular sciences*, 17(3), 401. <https://doi.org/10.3390/ijms17030401>
- Shahi, A., Aydin, S., Ince, B., & Ince, O. (2016). Evaluation of microbial population and functional genes during the bioremediation of petroleum-contaminated soil as an effective monitoring approach. *Ecotoxicology and environmental safety*, 125, 153-160. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.11.029>
- Shao Z. (2011) Trehalolipids. In: Soberón-Chávez G. (eds) *Biosurfactants*. Microbiology Monographs, vol 20. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-14490-5_5
- Shaw, L. J., & Burns, R. G. (2003). *Biodegradation of organic pollutants*

- in the rhizosphere. *Advances in applied microbiology*, 53, 1-60. [https://doi.org/10.1016/s0065-2164\(03\)53001-5](https://doi.org/10.1016/s0065-2164(03)53001-5)
- Shi, Z., Wang, C., & Zhao, Y. (2020). Effects of surfactants on the fractionation, 279 vermicaccumulation, and removal of fluoranthene by earthworms in soil. *Chemosphere*, 250, 126332. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126332>
- Sihag, S., Pathak, H., & Jaroli, D. P. (2014). Factors affecting the rate of biodegradation of polyaromatic hydrocarbons. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 2(3), 185-202.
- Silva, R. D. C. F., Almeida, D. G., Rufino, R. D., Luna, J. M., Santos, V. A., & Sarubbo, L. A. (2014). Applications of biosurfactants in the petroleum industry and the remediation of oil spills. *International journal of molecular sciences*, 15(7), 12523-12542. <https://doi.org/10.3390/ijms150712523>
- Souza, P. M. S., Lobo, F. A., Rosa, A. H., & Fraceto, L. F. (2012). Development of nanocapsules of poly- ϵ -caprolactone containing herbicide atrazine. *Química Nova*, 35(1), 132-137. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000100024>
- Szulc, A., Ambrożewicz, D., Sydow, M., Ławniczak, Ł., Piotrowska-Cyplik, A., Marecik, R., & Chrzanowski, Ł. (2014). The influence of bioaugmentation and biosurfactant addition on bioremediation efficiency of diesel-oil contaminated soil: feasibility during field studies. *Journal of environmental management*, 132, 121-128. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.11.006>
- Teruel J. A., Ortiz A. & Aranda F. J. (2014) Interactions of a bacterial thehalose lipid with phosphatidylglycerol membranes at low ionic strength. *Chemistry and Physics of Lipids* 181, 34-39. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2014.03.005>
- Tomlinson, P., & Ruby, M. V. (2016). State and federal cleanup levels for petroleum hydrocarbons in soil: State of the states and implications for the future. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 22(4), 911-926. <https://doi.org/10.1080/10807039.2015.1120151>
- USEPA. (2015). Superfund Site Information. Available at: <https://cumulis.epa.gov/supercpad/cursites/srchrslt.cfm?start=1>.
- Uzoigwe, C., Burgess, J.G., Ennis, C.J., Rahman, P., 2015. Bioemulsifiers are not biosurfactants and require different screening approaches. *Frontiers in Microbiology*. 6, 245. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00245>
- Vargas, J. P., Carmona, S. E. V., Moreno, E. Z., Casado, N. A. R., & Calva, G. C. (2017). Bioremediation of soils from oil spill impacted sites using bioaugmentation with biosurfactants

- producing, native, free-living nitrogen fixing bacteria. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33, 105-114. <http://dx.doi.org/10.20937/RICA.2017.33.esp01.09>
- Vicente, F. A., Cardoso, I. S., Sintra, T. E., Lemus, J., Marques, E. F., Ventura, S. P., & Coutinho, J. A. (2017). Impact of surface active ionic liquids on the cloud points of nonionic surfactants and the formation of aqueous micellar two-phase systems. *The Journal of Physical Chemistry B*, 121(37), 8742-8755. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b02972>
- Whang, L.M., Liu, P.W.G., Ma, C.C., & Cheng, S.S. (2008). Application of biosurfactants, rhamnolipid, and surfactin, for enhanced biodegradation of diesel-contaminated water and soil. *Journal of hazardous materials*, 151(1), 155-163. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.05.063>
- Wong, I., & Ho, C. M. (2009). Surface molecular property modifications for poly(dimethylsiloxane)(PDMS) based microfluidic devices. *Microfluidics and nanofluidics*, 7(3), 291. <https://doi.org/10.1007/s10404-009-0443-4>
- Xu, R., Zhang, Z., Wang, L., Yin, N., & Zhan, X. (2018). Surfactant-enhanced biodegradation of crude oil by mixed bacterial consortium in contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(15), 14437-14446. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1604-3>
- Xue, S. W., Huang, C., Tian, Y. X., Li, Y. B., Li, J., & Ma, Y. L. (2020). Synergistic Effect of Rhamnolipids and Inoculation on the Bioremediation of Petroleum-Contaminated Soils by Bacterial Consortia. *Current Microbiology*, 77(6), 997-1005. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-01899-3>
- Yan, G., Ma, W., Chen, C., Wang, Q., Guo, S., & Ma, J. (2016). Combinations of surfactant flushing and bioremediation for removing fuel hydrocarbons from contaminated soils. *CLEAN-Soil, Air, Water*, 44(8), 984-991. <https://doi.org/10.1002/clen.201500571>
- Yanto, D. H. Y., & Tachibana, S. (2014). Enhanced biodegradation of asphalt in the presence of Tween® surfactants, Mn²⁺ and H₂O₂ by *Pestalotiopsis* sp. in liquid medium and soil. *Chemosphere*, 103, 105-113. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.11.044>
- Zhang, P., & Chen, Y. (2017). Polycyclic aromatic hydrocarbons contamination in surface soil of China: A review. *Science of the Total Environment*, 605, 1011-1020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.247>