

REMEDIACIÓN DE SUELO CONTAMINADO CON FENANTRENO EMPLEANDO REACTIVO FENTON

PHENANTHRENE CONTAMINATED SOIL REMEDIATION USING FENTON REAGENT

N.M. VILLALBA¹; M. PELUFFO³; M.V. MARTIN³; V.C. MORA²

¹Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Química, Universidad Nacional de Asunción. San Lorenzo. Paraguay. E-mail: nadiavillalba86@gmail.com

²Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. Argentina.

³Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. Argentina.

Resumen: La contaminación del suelo se encuentra en constante incremento debido al crecimiento de la población, el cual propicia la producción y la liberación de compuestos de hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH) en el ambiente. Se realizaron ensayos para la remediación de suelos contaminados con fenantreno utilizando reactivo Fenton y peróxido de hidrógeno. Los mismos se contrastaron con un control biológico para comparar la eficiencia de degradación y evaluar si estos tratamientos afectan a la comunidad microbiana nativa del suelo. Los ensayos fueron realizados durante 28 días con las muestras incubadas a 24 ± 2 °C. Se monitorearon propiedades fisicoquímicas y parámetros microbiológicos. Con las dosis empleadas de H_2O_2 y $H_2O_2/Fe:EDTA$ se obtuvo una degradación del 80% del fenantreno presente en las muestras de suelo, los mismos no provocan efectos negativos sobre la comunidad microbiana del suelo.

Palabras Clave: Remediación, Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos, Fenantreno, Reactivo Fenton, Comunidad Microbiana.

Abstract: Soil contamination is increasing due to the global population growth. This promotes the production and release of the Polycyclic Aromatic Hydrocarbon compounds (PAH) in the environment. In this work were tested chemical oxidants to find sustainable methods that efficiently degrade the phenanthrene present in a contaminated soil without affect the autochthonous microbial populations of the soil. Two treatments: hydrogen peroxide (H_2O_2) and hydrogen peroxide catalyzed by ferrous ions and ethylenediaminetetraacetic as chelating agent ($H_2O_2/Fe:EDTA$) were carried out compared against a biological control. The assays were performed during 28 days with the samples incubated at 24 ± 2 °C. The physicochemical properties and microbiological properties were carried out. The H_2O_2 and $H_2O_2/Fe:EDTA$ showed good degradation with an 80% of the phenanthrene eliminated, and these treatments do not produce negative effects on the soil microbial community.

Key Words: Remediation, Polycyclic Aromatic Hydrocarbon, Phenanthrene, Fenton reagent, microbial community.

INTRODUCCIÓN

El suelo, es un cuerpo natural que comprende a sólidos (minerales y materia orgánica), líquidos y gases que se encuentran en la superficie de la tierra, que ocupa un espacio y se caracteriza por capas que se distinguen del material inicial como resultado de adiciones, pérdidas, transferencias y transformaciones de energía y materia o por la habilidad de soportar plantas en un ambiente natural (USDA, 2010).

Los suelos contaminados son aquellos suelos en los cuales se encuentran presentes sustancias o compuestos de carácter peligroso de origen humano, los cuales representan un riesgo a la salud pública o el medio ambiente (Sabroso y Eixarch, 2004). La contaminación es un problema a escala mundial por esta razón encontrar métodos eficientes y sustentables para la descontaminación de suelos se ha convertido en un importante desafío no solo tecnológico sino también social, por su efecto sobre

los seres vivos y sobre la calidad de vida de los seres humanos.

Los Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos (PAHs) que se encuentran presentes en suelos y sedimentos contaminados, son los mayores componentes del petróleo crudo, creosota, alquitrán de hulla, desechos de la combustión de petróleo; desechos de la gasificación del carbón, de la incineración de desechos industriales han recibido mucha atención desde que se conoció que son potencialmente mutagénicos o carcinogénicos para los seres humanos y para otros microorganismos (Seo y Bishop, 2007; Mallick et al., 2007). Están considerados como la familia de compuestos potencialmente carcinogénicos mas distribuida en el

medio ambiente (Rivas, 2006).

No solo por esto merecen especial atención, sino también porque son hidrofóbicos, con lo cual permanecen absorbidos en la materia orgánica del suelo durante años, convirtiendo este compartimiento en un depósito de PAH, con el alto riesgo de que se contaminen tanto las aguas subterráneas como otras porciones del suelo (de Souza e Silva *et al.*, 2009). La remediación de suelos crónicamente contaminados con PAH es uno de los principales objetivos perseguidos por los profesionales dedicados a disminuir los impactos ambientales (Schippers *et al.*, 2000; Rivas, 2006; Ferrarese et al., 2008).

Los PAHs son un grupo de moléculas orgánicas compuestas por la fusión de los anillos del benceno

Tabla 1. Características de los Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos (PAHs).

Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHs)	Estructura (número de anillos)	Peso Molecular (g/mol)	Solubilidad (mg/L)	Presión de Vapor (mmHg)
Naftaleno	2	128,17	31	8,89 x 10 ²
Acenafteno	3	154,21	3,8	3,75x 10 ³
Acenaftileno	3	152,20	16,1	2,90x 10 ²
Antraceno	3	178,23	0,045	2,55 x 10 ⁵
Fenantreno	3	178,23	1,1	6,80 x 10 ⁴
Fluoreno	3	166,22	1,9	3,24 x 10 ³
Fluorantreno	4	202,26	0,26	8,13 x 10 ⁶
Benzo(a)antraceno	4	228,29	0,011	1,54 x 10 ⁷
Criseno	4	228,29	0,0015	7,80 x 10 ⁹
Pireno	4	202,26	0,132	4,25 x 10 ⁶
Benzo(a)pireno	5	252,32	0,0038	4,89 x 10 ⁹
Benzo(b)fluorantreno	5	252,32	0,0015	8,06 x 10 ⁸
Benzo(k)fluorantreno	5	252,32	0,0008	9,59 x 10 ¹¹
Dibenzo(a,h)antraceno	6	278,35	0,0005	2,10 x 10 ¹¹
Benzo(g,h,i)perileno	6	276,34	0,00026	1,00 x 10 ¹⁰
Indeno(1,2,3-cd)pireno	6	276,34	0,062	1,40 x 10 ¹⁰

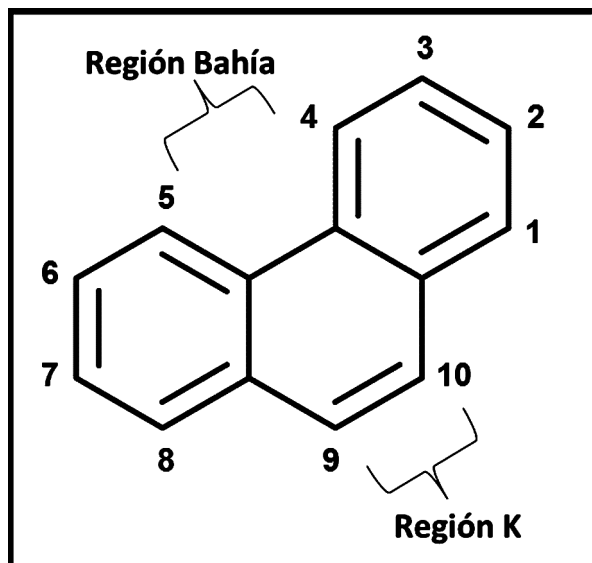


Figura 1. Estructura del Fenantreno.

los cuales son clasificados dentro del grupo de los compuestos orgánicos hidrofóbicos (HOCs, de las siglas en inglés Hydrophobic Organic Compounds) (Ferrarese *et al.*, 2008).

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US EPA, de las siglas en inglés United States Environmental Protection Agency) ha clasificado a dieciséis de los PAHs como contaminantes prioritarios Tabla 1, basados en la toxicidad, en la exposición potencial de los seres humanos, en la frecuencia de aparición en los sitios de desechos peligrosos (Bojes y Pope, 2007).

El fenantreno (Figura 1) es un PAH de bajo peso molecular, compuesto por tres anillos bencénicos fusionados en un modelo angular, posee principalmente dos regiones llamadas “región Bahía” y “región K” y es frecuentemente utilizado como sustrato modelo para estudios sobre metabolismo carcinogénico de los PAHs (Mallick *et al.*, 2007).

La “región Bahía” se forma entre los carbonos 4 y 5, mientras que la “región K” se forma entre los carbonos 9 y 10. La importancia de estas regiones estriba en el hecho de que el ataque microbiológico es específico en alguna de ellas dependiendo del microorganismo y la enzima producida (Sanchez *et al.*, 2010).

El uso de procesos naturales como parte de la remediación de un sitio es llamada “atenuación natural”. Algunos de los procesos que se producen pueden transformar contaminantes a formas menos tóxicas para inmovilizarlos reduciendo los riesgos (Committee On In Situ Bioremediation *et al.*, 2011).

El principio más importante de la biorremediación es que los microorganismos (principalmente las bacterias) pueden ser utilizados para degradar a los contaminantes o transformarlos en formas menos peligrosas (Committee On Intrinsic Remediation *et al.*, 1993).

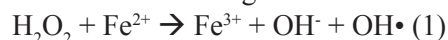
En la remediación química la tecnología de oxidación química está basada en el poder oxidante de los compuestos químicos específicos. A través de los procesos de oxidación los contaminantes son degradados a dióxido de carbono y agua (ITCR, 2005).

La Oxidación Química In Situ (ISCO, de las siglas en inglés In Situ Chemical Oxidation) es una innovadora tecnología de tratamiento en la cual los oxidantes químicos son inyectados en el sitio contaminado para oxidar los contaminantes (Killian *et al.*, 2007).

Habitualmente se emplean cinco oxidantes en este tipo de tecnologías: ozono (O_3), permanganato de potasio ($KMnO_4$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), peroxodisulfato (o persulfato) de sodio ($Na_2S_2O_8$) y peróxido de calcio (CaO_2) (García *et al.*, 2009).

Los procesos de remediación química en los que se emplea al peróxido de hidrógeno (H_2O_2) como agente oxidante involucran la generación de radical libre hidroxilo ($OH\cdot$) y la oxidación directa con peróxido de hidrógeno. Este compuesto químico es un efectivo agente oxidante (ITCR, 2001).

Cuando las soluciones acuosas de hierro se mezclan con peróxido de hidrógeno, la mezcla se conoce como reactivo Fenton; el cual es empleado debido a la producción de radicales hidroxilos. La reacción básica es la siguiente:



Estos radicales sirven como un agente oxidante no específico, efectivo y muy poderoso (ITCR, 2001).

En un estudio realizado por Bavel (2006) se demostró que la degradación de PAH más efectiva

se obtuvo al utilizar el reactivo Fenton, con el cual se alcanzó una eficiencia de degradación del 40 al 86%, mientras que empleando como oxidante químico al ozono se logró una eficiencia de degradación del 10 al 70%.

Se investigó como extender el rango de aplicabilidad al valor de pH natural del suelo y de esta forma producir radicales hidroxilos para lograr una degradación eficiente de contaminantes orgánicos a valores de pH cercanos a la neutralidad. Para ello se utilizaron minerales de hierro o agentes complejantes (Usman *et al.*, 2012). Estos últimos, por ejemplo: ácido cítrico, ciclodextrinas, EDTA, catecol, se emplearon para incrementar la disponibilidad del Fe^{2+} (Ferrarese, 2008).

MATERIALES Y MÉTODOS

En este trabajo se utilizaron los reactivos que se detallan a continuación, tal como se recibieron y sin posterior purificación: peróxido de hidrógeno (Biopack), etilendiamintetraacético (Anedra), fenantreno (Carlo Erba).

Los solventes, metanol (J.T. Baker), acetato de etilo (Sintorgan), ácido fosfórico (Riedel-de Haëd), grado HPLC.

El agua destilada utilizada se filtró mediante un sistema Millipore ($>18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$, $< 20 \text{ ppb}$ de carbono orgánico).

Para los ensayos se utilizó suelo contaminado artificialmente con fenantreno y con dos años de atenuación natural; proveniente del proyecto de investigación del grupo dirigido por la Dra. Teresa del Panno y la Dra. Irma Morelli. La muestra seleccionada para el estudio fue un suelo no contaminado de un área cercana a la ciudad de La Plata, Argentina ($34^{\circ}50' \text{ S}$, $58^{\circ}10' \text{ O}$). Ésta fue analizada y caracterizada en el Laboratorio de Ciencias del Suelo en la Universidad Nacional de La Plata. La misma fue tamizada con una malla de 2mm.

Se colocó en recipientes adecuados para su almacenamiento. Se contaminó artificialmente con 10.000 ppm de fenantreno y se dejó en incubadora a 20°C durante 6 meses. Luego se humedeció, se volvió a contaminar varias veces y se dejó a 5°C durante 18 meses. De esta manera se obtuvo suelo

contaminado artificialmente con dos años con atenuación natural.

A partir de este suelo; se prepararon microcosmos para los ensayos, a los cuales se le aplicaron dos tratamientos: peróxido de hidrógeno en una dosis de fenantreno: H_2O_2 de $1,3 \pm 0,3$ y peróxido de hidrógeno catalizado con hierro complejoado con etilendiamintetraacético (EDTA) - ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe:EDTA}$), en una dosis de fenantreno: $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe:EDTA}$ de $1,3 \pm 0,3$ con una relación (1:1,2) de metal: agente complejante (Saelee y Bunyakan, 2012). Los mismos fueron contrastados con un control biológico. Todos los sistemas fueron preparados por triplicados.

Los ensayos tuvieron un tiempo de duración de 28 días con las muestras incubadas a $(24 \pm 2)^{\circ}\text{C}$. Durante el transcurso de los cuales se sacaron muestras periódicas cada siete días. Se monitorearon las propiedades fisicoquímicas: pH empleando un pH-metro (Multi-parameteranalyser. Consort C830), concentración de fenantreno utilizando equipo HPLC-UV de la marca Waters; conductividad eléctrica (CE) empleando un conductímetro (Multi-parameteranalyser. Consort C830) y se determinó la humedad del suelo; también se midieron los parámetros microbiológicos: recuentos de bacterias heterótrofas cultivables en medios de cultivo R2A expresados como log UFC/KgTs (Reasoner y Geldreich, 1985) y recuento de bacterias degradadoras de PAH en medio mineral líquido expresados como NMP/KgTs (Schippers *et al.*, 2000) empleando solución patrón de PAH para bacterias degradadoras de estos compuestos.

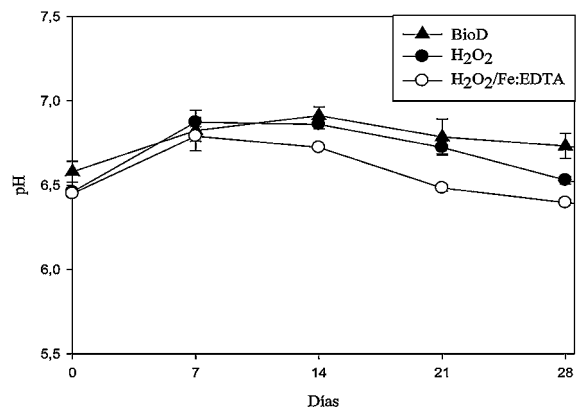


Figura 2. Valores de pH del suelo vs días.

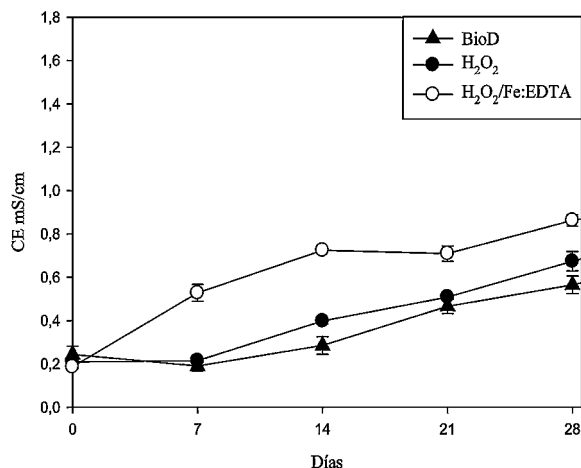


Figura 3. Valores de Conductividad Eléctrica vs días.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 2 se presentan los valores de pH de cada sistema en el transcurso del tiempo de acuerdo al tipo de tratamiento aplicado: H₂O₂, H₂O₂/Fe:EDTA y el control biológico: BioD.

Se puede apreciar que en los sistemas tratados con H₂O₂ y H₂O₂/Fe:EDTA los valores de pH no varían con respecto a los valores de pH del control biológico (BioD).

En la Figura 3 se observan los valores de la CE de cada sistema para los diferentes tratamientos aplicados y el control biológico durante el periodo del ensayo.

Los sistemas tratados con H₂O₂ y H₂O₂/Fe:EDTA no presentan cambios muy marcados en los valores de CE y presentan valores similares a los del BioD.

El uso de H₂O₂, H₂O₂/Fe:EDTA en las cantidades agregadas en estos sistemas parecen no afectar de forma apreciable las propiedades fisicoquímicas del suelo, ya que el pH y la CE durante los tratamientos presentan valores comparativos con los del BioD.

En la Figura 4 se muestran las curvas normalizadas de las concentraciones de fenantreno de cada uno de los distintos tratamientos aplicados y el control biológico durante el periodo del estudio.

Se puede observar que el ensayo BioD es el que presenta mayor degradación (superior al 80% a los 7 días) a tiempos más cortos, esto se debe a que a pesar de haber atenuado el suelo durante dos años,

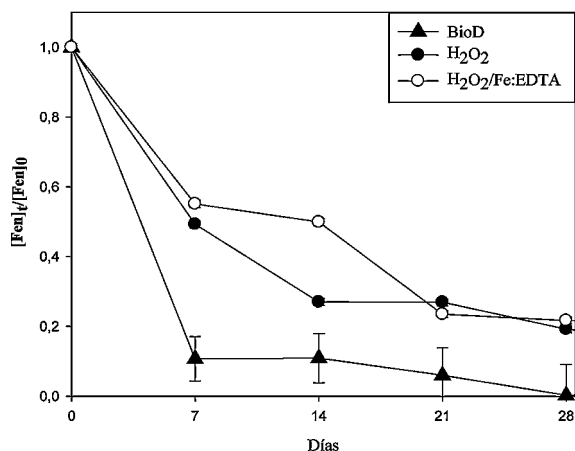


Figura 4. Curvas de concentración de fenantreno normalizadas.

el contaminante, igualmente, quedó biodisponible, es decir accesible a las bacterias. Debido a esto, el control biológico se usará como blanco de los otros tratamientos; es decir nos indica las condiciones normales de este suelo.

Se compararon entre sí los dos tratamientos químicos, para luego decidir entre ellos cual sería la mejor opción cuando la biorremediación no puede degradar totalmente el contaminante o se quieran acelerar los tiempos.

Los sistemas tratados con H₂O₂ y H₂O₂/Fe:EDTA en general describen comportamientos similares entre sí, ya que al día 7 del tratamiento ambos degradan aproximadamente el 50% del fenantreno presente.

Estos tratamientos logran una degradación de aproximadamente el 80% del fenantreno presente inicialmente. El 20 % del fenantreno no degradado se pudo deber a que la presencia de los oxidantes interfirió en la metabolización de este compuesto por las bacterias, ya que una evidencia de las misma es el cambio en la diversidad de estos microorganismos; por lo cual la degradación biológica no fuera total dando así una menor eficiencia en la degradación del compuesto, ya que la degradación química solo ocurre durante los primeros días del tratamiento.

En la Tabla 2 se listan los valores de los Log UFC/gTS y de los Log NMP/gTS correspondientes a los días 0, 7 y 28 días de los distintos tipos de

Tabla 2. Valores de los Log UFC/gTS y de los Log NMP/gTS correspondientes a los 0, 7 y 28 días de los distintos tipos de tratamientos aplicados a los sistemas y del control biológico.

Tratamiento	Log UFC/gTS			Log NMP/gTS		
	Día 0	Día 7	Día 28	Día 0	Día 7	Día 28
BioD	8,9 ± 0,2	9,0 ± 0,5	8,4 ± 0,2	4,5 ± 0,9	4,2 ± 0,1	4,4 ± 0,1
H ₂ O ₂	9,2 ± 0,1	9,2 ± 0,1	8,1 ± 0,1	4,2 ± 0,3	4,2 ± 0,2	5,3 ± 0,6
H ₂ O ₂ /Fe:EDTA	9,2 ± 0,1	9,3 ± 0,1	8,5 ± 0,1	4,1 ± 0,3	4,3 ± 0,2	7,6 ± 0,7

tratamientos aplicados a los sistemas y del control biológico.

Para los tratamientos H₂O₂ y H₂O₂/Fe:EDTA, el recuento de las bacterias heterótrofas cultivables fueron similares a los del BioD durante el periodo de los ensayos. Los sistemas tratados con H₂O₂ y H₂O₂/Fe:EDTA presentan valores de Log NMP/gTS próximos a los encontrados en el BioD, excepto en el día 28 del tratamiento en el cual se puede

observar un mayor valor de este parámetro. Esto se pudo deber a que aún se encontraba presente un 20 % de fenantreno en las muestras. En la Figura 5 se puede apreciar que la diversidad ya no es la misma que al comienzo de los ensayos.

En cuanto al empleo de estos oxidantes H₂O₂ y H₂O₂/Fe:EDTA y en las dosis utilizadas resultan en un porcentaje de degradación importante del fenantreno. En ambos casos los cambios en el pH,

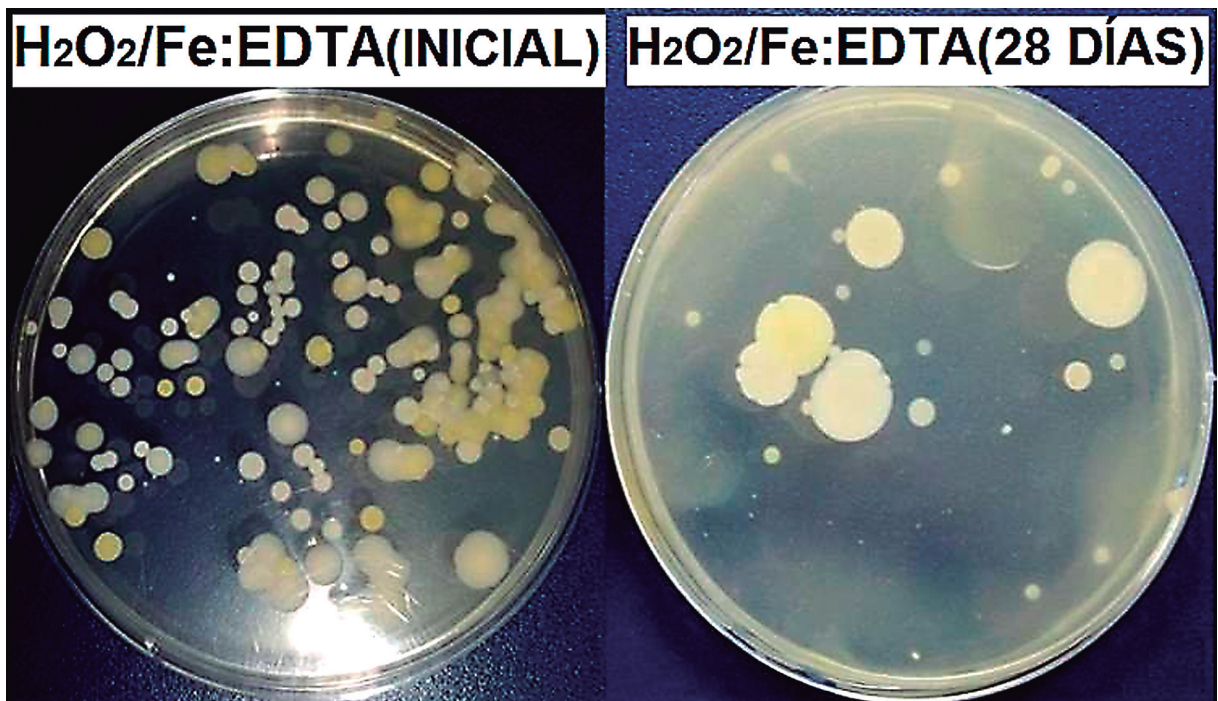


Figura 5. Bacterias heterótrofas cultivables. Tratamiento con H₂O₂/Fe:EDTA.

la CE y en los valores de los recuentos no son muy marcados a lo largo de todo el tratamiento; con lo cual se logra la recuperación del suelo pero con un leve cambio en la diversidad de la población y la comunidad microbiana autóctona del suelo.

En base a los valores de los parámetros físicos, químicos y microbiológicos obtenidos antes y después de haber aplicado cada tratamiento se pudo evaluar la efectividad y conveniencia de utilizar este método para cumplir con el objetivo de la descontaminación del suelo y sobre todo su remediación; es decir, si este suelo luego de pasar por todos los procesos de oxidación son capaces de seguir manteniendo la vida y el desarrollo de los microorganismos. Lo que si se puede observar es que la diversidad microbiológica presenta diferencias con respecto a las de la muestra inicial.

CONCLUSIÓN

Se avanzó respecto de la información de literatura en la aplicación de técnicas oxidativas para la degradación de Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos.

Los tratamientos empleando H_2O_2 y $H_2O_2/Fe:EDTA$ con las dosis utilizadas en el estudio, logran una buena degradación del fenantreno. Estos tratamientos no presentan diferencias significativas entre sí en la capacidad de degradación del fenantreno ya que con ambos se logra un 80% de degradación.

A partir del monitoreo de los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, fue posible obtener información útil para la evaluación del efecto de los tratamientos oxidativos sobre la comunidad microbiana propia del suelo y sobre la calidad del suelo.

La ventaja que tiene el empleo de estos oxidantes es que no producen cambios fisicoquímicos y microbiológicos marcados en el suelo, por lo que son agentes oxidantes con los cuales se logra una degradación importante del contaminante modelo sin afectar de forma negativa a la calidad del suelo.

A partir de los beneficios que tienen el uso de estos oxidantes para la remediación de suelos, es importante seguir realizando mas ensayos para aumentar la eficiencia de degradación de fenantreno empleando a estos oxidantes y aplicando distintas

dosis o utilizando otros agentes complejantes. De esta forma se estaría investigando nuevas condiciones y distintas dosis que degraden eficientemente al fenantreno y así aumentar el uso potencial de estos oxidantes para la recuperación de suelos contaminados.

Para lograr la degradación completa del fenantreno se podría aumentar la dosis; pero antes de los ensayos se deben optimizar las condiciones ya que un exceso de oxidante genera un autoconsumo de los mismos.

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI); a la Universidad Nacional de La Plata (UNLP); a la Universidad Nacional de Asunción (UNA) y a la Asociación de Universidades del Grupo Montevideo (AUGM), por proveer el apoyo financiero para la realización de este trabajo de investigación.

LITERATURA CITADA

- BAVEL, B. V. 2006. Comparison of Fenton's Reagent and Ozone Oxidation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Aged Contaminated Soils. *Journal of Soils and Sediments*, núm. 4, vol. 6, pp. 208–214.
- BOJES, H. K., POPE, P. G. 2007. Characterization of EPA's 16 priority pollutant polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in tank bottom solids and associated contaminated soils at oil exploration and production sites in Texas. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, núm.3, vol. 47, pp. 288–295.
- COMMITTEE ON IN SITU BIOREMEDIATION; NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1993. *In situ Biorremediation. When does it work?*. The National Academies Press. Disponible: <http://books.nap.edu/catalog/2131.html>. (Consultado: 2013, Marzo 13).
- COMMITTEE ON INTRINSIC REMEDIATION; WATER SCIENCE AND TECHNOLOGY BOARD; BOARD ON RADIOACTIVE WASTE MANAGEMENT; NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 2011. *Natural*

- Attenuation for Groundwater Remediation. The National Academies Press. Disponible: <http://www.nap.edu/catalog/9792.html>. (Consultado: 2013, Marzo 12).
- DE SOUZA E SILVA, P. T., DA SILVA, V. L., NETO, B. B. Y SIMONNOT, M. 2009. "Potassium permanganate oxidation of phenanthrene and pyrene in contaminated soils". En: "Journal of Hazardous Materials", num. 2 - 3, vol.168, pp. 1269–1273.
- EPA - METHOD 9045D. SOIL AND WASTE pH. (Revisión 4, Noviembre 2004). Disponible: <http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/9045.d>. (Consultado: 2012, Mayo 10).
- EPA - METHOD 9050A. SPECIFIC CONDUCTANCE. (Revisión 1, Diciembre 1996). Disponible:<http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/9050a.pdf>. (Consultado: 2012, Mayo 10).
- FERRARESE, E., ANDREOTTOLA, G., OPREA, I. A. 2008. Remediation of PAH-contaminated sediments by chemical oxidation. *Journal of Hazardous Materials*, num. 1, vol. 152, pp. 128–139.
- GARCÍA, F., MORA, V., CARLOS, L., VERCHER, R., AMAT, A. M. 2009. Métodos Térmicos y Fotoquímicos. Autores Varios. Procesos químicos y fotoquímicos ambientalmente benignos para la degradación de efluentes acuosos industriales, 1ra ed., Valencia, Marfil S.A. pp. 117-126.
- ITRC - Technical and Regulatory Guidance for In Situ Chemical Oxidation of Contaminated Soil and Groundwater. 2005. The Interstate and Regulatory Council In Situ Chemical Oxidation Team, 2nd ed., Enero de 2005. Disponible: www.itrcweb.org/Guidance/GetDocument?documentID=44. (Consultado: 2012, Noviembre 19).
- MALLICK, S., CHATTERJEE, S., DUTTA, T. 2007. A novel degradation pathway in the assimilation of phenanthrene by *Staphylococcus* sp. strain PN/Y via meta-cleavage of 2-hydroxy-1-naphthoic acid: formation of trans-2,3-dioxo-5-(2'-hydroxyphenyl)-pent-4-enoic acid. *Microbiology*, num. 7, vol. 153, pp. 2104–2115.
- REASONER, D. J., GELDREICH, E. 1985. A New Medium for the Enumeration and Subculture of Bacteria from Potable Water. *Applied Environmental Microbiology*, num. 1, vol. 49, pp. 1–7.
- RIVAS, F. J. 2006. Polycyclic aromatic hydrocarbons sorbed on soils: A short review of chemical oxidation based treatments. *Journal of Hazardous Materials*, num. 2, vol. 138, pp. 234–251.
- SABROSO, M. C., EIXARCH, A. P. 2004. Guía sobre suelos contaminados. CEPYME ARAGON. GOBIERNO ARAGON. Disponible: http://www.conectapyme.com/files/medio/guia_suelos_contaminados.pdf. (Consultado: 2013, 13 de Marzo).
- SAELEE, R., BUNYAKAN, C. 2012. "Degradation Kinetics of Fe-EDTA in Hydrogen Sulfide Removal Process". En: "ISRN Chemical Engineering", vol. 2012, pp.1–8.
- SANCHEZ, R. M., RODRIGUEZ, T. M., LEAL, E., CRUZ, C. M., ESPARZA, F. J. 2010. Determinación de subproductos de biotransformación del fenantreno por *Mucorrouxii* IM-80. Segundo Congreso, 2010, Cancún, Q Roo – Mexico. Sociedad Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal (SO-LABIAA). Resumen, pp. 310. Disponible: <http://www3.inecol.edu.mx/solabiaa/>. (Consultado: 2013, Marzo 12).
- SCHIPPERS, C., GEBNER, K., MÜLLER, T., SCHEPER, T. 2000. Microbial degradation of phenanthrene by addition of a sophorolipid mixture. *Journal of Biotechnology*, num. 3, vol.83, pp. 189–198.
- SEO, Y., BISHOP, P. L. 2007. Influence of Nonionic Surfactant on Attached Biofilm Formation and Phenanthrene Bioavailability during Simulated Surfactant Enhanced Bioremediation. *Environmental Science and Technology*, num. 20, vol. 41, pp. 7107–7113.
- USDA – United States Department of Agriculture.

Keys to Soil Taxonomy. Natural Resources Conservation Service, 10° ed., Washington, DC., 2010. Disponible: ftp://ftp-fc.sc.egov.usda.gov/NSSC/Soil_Taxonomy/keys/2010_Keys_toSoil_Taxonomy.pdf. (Consultado: 2012, Julio 23).

USMAN, M., FAURE, P., RUBY, C., HANNA, K. 2012a. Application of magnetite-activated persulfate oxidation for the degradation of PAHs in contaminated soils. *Chemosphere*, vol. 87, pp. 234–240.