

COMPOSTAJE EN BIOPILAS PARA LA LIMPIEZA DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS DEL PETRÓLEO

COMPOSTING IN BIO-PILES FOR THE CLEAN-UP OF SOILS CONTAMINATED WITH PETROLEUM HYDROCARBONS

Delgadillo-Martínez, J.^{1*}; Ronald Ferrera-Cerrato, R.¹; Hernández-Ortega, H.A.²

¹Área de Microbiología, Edafología, *Campus* Montecillo, Colegio de Postgraduados, km 36.5 carretera Federal México-Texcoco, Montecillo 56230 Texcoco, Estado de México. ²Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima, km 40 autopista Colima-Manzanillo, Colonia La Estación; Tecomán 28100, Colima.

***Autor de correspondencia:** juliandm@colpos.mx

RESUMEN

Existen varias tecnologías de biorremediación para recuperar los suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo a consecuencia de la actividad petrolera. La biolabranza es una tecnología de limpieza de uso frecuente. Sin embargo, cuando no es factible se recurre a tecnologías emergentes, tales como el compostaje en biopilas. En este documento se describen las bases del proceso de compostaje en biopilas y se revisan a detalle las condiciones que favorecen su funcionamiento en la recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo. Además, se enlistan ventajas sobre otras tecnologías de biorremediación y destacan características que la hacen una tecnología cada vez más aplicada. Por último, se revisan las variantes más modernas de esta tecnología, las cuales incluyen el conteo periódico de grupos funcionales de microorganismos por métodos moleculares de expresión génica.

Palabras clave: biorremediación, *ex situ*, biolabranza, actividad microbiana.

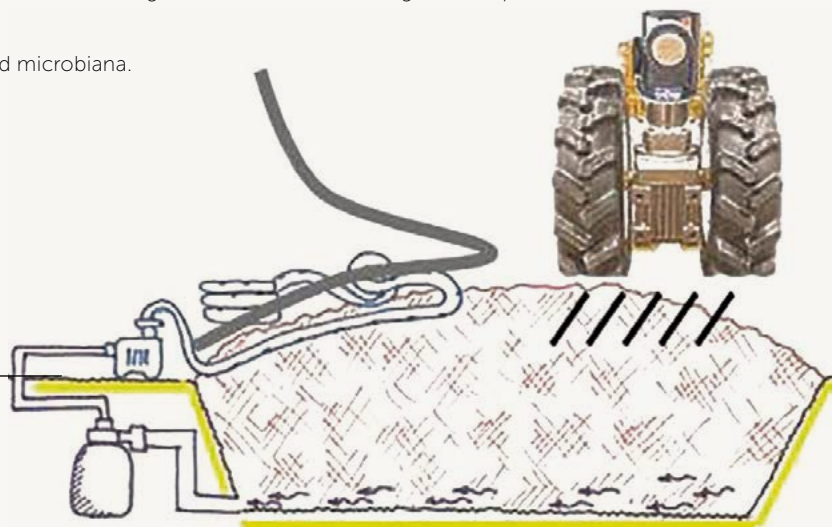
ABSTRACT

There are several bioremediation technologies used to recover soils contaminated with petroleum hydrocarbons as consequence of oil production. Landfarming is a cleaning technology of frequent use. However, when it is not feasible, emerging technologies can be used, such as composting in bio-piles. In this document, the bases of the composting process in bio-piles are described, as well as the conditions that favor their functioning in the recuperation of soils contaminated with petroleum hydrocarbons. In addition, the advantages over other bioremediation technologies are presented, and the characteristics which make a technology become increasingly implemented are highlighted, which include the periodic counting of functional groups of mechanisms through molecular methods of genetic expression.

Keywords: biorremediación, *ex situ*, biolabranza, actividad microbiana.

Agroproductividad: Vol. 9, Núm. 8, agosto, 2016. pp: 24-30.

Recibido: julio, 2015. **Aceptado:** abril, 2016.



INTRODUCCIÓN

La contaminación del aire, el suelo y el agua con hidrocarburos del petróleo es usual en México, que basa gran parte de su economía en los recursos económicos generados por el petróleo y sus derivados (Ferrera-Cerrato *et al.*, 2006). Como consecuencia de la actividad petrolera (extracción, conducción, refinamiento y transporte), muchas zonas del sureste y noreste de México presentan contaminación de los suelos con hidrocarburos del petróleo, ya sea crudo u otros, con concentraciones superiores a los límites permisibles (NOM-EM-138-ECOL-2002). Para mantener y recuperar la fertilidad edáfica de los suelos contaminados se implementan tecnologías físicas y químicas costosas y agresivas con el ambiente (Ball *et al.*, 2012). En contraste, la biorremediación es más barata y ecológicamente amigable, y dentro de las tecnologías de biorremediación recomendadas para nuestro país está el compostaje en biopilas, el cual se basa en la mezcla de suelo contaminado con materiales que mejoran las características físicas y la adición de nutrientes para favorecer la acción degradadora de los microorganismos nativos (Ma *et al.*, 2015) o introducidos (Fan *et al.*, 2014). Esta tecnología permite controlar al máximo los factores que determinan la acción de los microorganismos degradadores, como pH, humedad, aireación y equilibrio nutrimental; con esto se favorece la transformación microbiana de los contaminantes (Rojas-Avelizapa *et al.*, 2007). La primera bacteria degradadora de hidrocarburos fue descrita hace más de un siglo, y en la actualidad se han aislado e identificado (Yakimov *et al.*,

2007) 200 géneros de bacterias, cianobacterias, algas y hongos incluidos en más de 500 especies.

Tecnologías de biorremediación

Se han aplicado con éxito diferentes tecnologías de limpieza de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo, utilizando seres vivos: microorganismos y plantas (Ferrera-Cerrato *et al.*, 2006). En las tecnologías de biorremediación es factible inocular microorganismos externos con capacidad para degradar hidrocarburos (bioaumentación) y favorecer los procesos de recuperación edáfica (Ramírez-Elías *et al.*, 2014). Las tecnologías *ex situ*, es decir, aquellas en las que el suelo contaminado se extrae de su lugar de origen y se transporta a los lugares donde será establecido el sistema de limpieza, han sido ampliamente utilizados (Lin *et al.*, 2012). En años recientes se establecieron tecnologías *in situ*, las cuales se caracterizan porque la limpieza se realiza en el lugar del derrame. Entre las tecnologías *ex situ* utilizadas con mayor frecuencia se encuentran: 1) Remediación en fase de lodo, la cual se caracteriza por agregar agua al suelo contaminado para separar los contaminantes hidrofóbicos y favorecer la degradación de los hidrocarburos. 2) Biorremediación en camas de tratamiento, en las cuales se agregan nutrientes a camas de alrededor de 1 m de altura y se mezcla continuamente de manera mecánica hasta que la actividad microbiana reduzca los niveles del contaminante al mínimo. 3) Biolabranza o landfarming, en la que el suelo contaminado se distribuye en un terreno agrícola limpio, se agregan nutrientes y se realizan las actividades de labranza tradicionales que favorecerán la transformación de los contaminantes. 4) Biopilas, las cuales se describirán detalladamente a continuación (Lin *et al.*, 2012; Volke-Sepúlveda y Velasco, 2003).

Compostaje en biopilas, una alternativa a la biolabranza

La tecnología denominada biolabranza es ampliamente usada por su bajo costo, manejo sencillo, bajo consumo de energía y posibilidad de tratar grandes volúmenes de suelo *in situ*. Esta tecnología aprovecha la capacidad de los microorganismos del suelo para degradar los contaminantes, en especial aquellos aeróbicos (Frutos *et al.*, 2012). Este método varía en diseño; no obstante, se caracteriza por una cavidad de contención y manejo del material contaminado a procesar. Se usa maquinaria y actividades de labranza similares a las que se realizan en cultivos agrícolas (Figura 1). Con este proceso de biorremediación los principales fenómenos involucrados en la desaparición de los contaminantes del suelo son la evaporación de compuestos volátiles y la lixiviación de compuestos solubles (Bhattacharyya y Shekdar, 2003; Butt *et al.*, 2008). Se realizan actividades de labranza periódicas que favorecen la aireación del material y la degradación del contaminante (Figura 1A). En situaciones que impidan establecer la tecnología de biolabranza se utilizan tecnologías como el compostaje en biopilas (Jeong *et al.*, 2015). Tal es el caso de:

- Residuos con cantidades tan grandes de contaminantes que hagan imposible el crecimiento de las poblaciones microbianas.
- Residuos con alta cantidad de compuestos volátiles junto con normas locales estrictas en cuanto a la emisión de estos a la atmósfera.

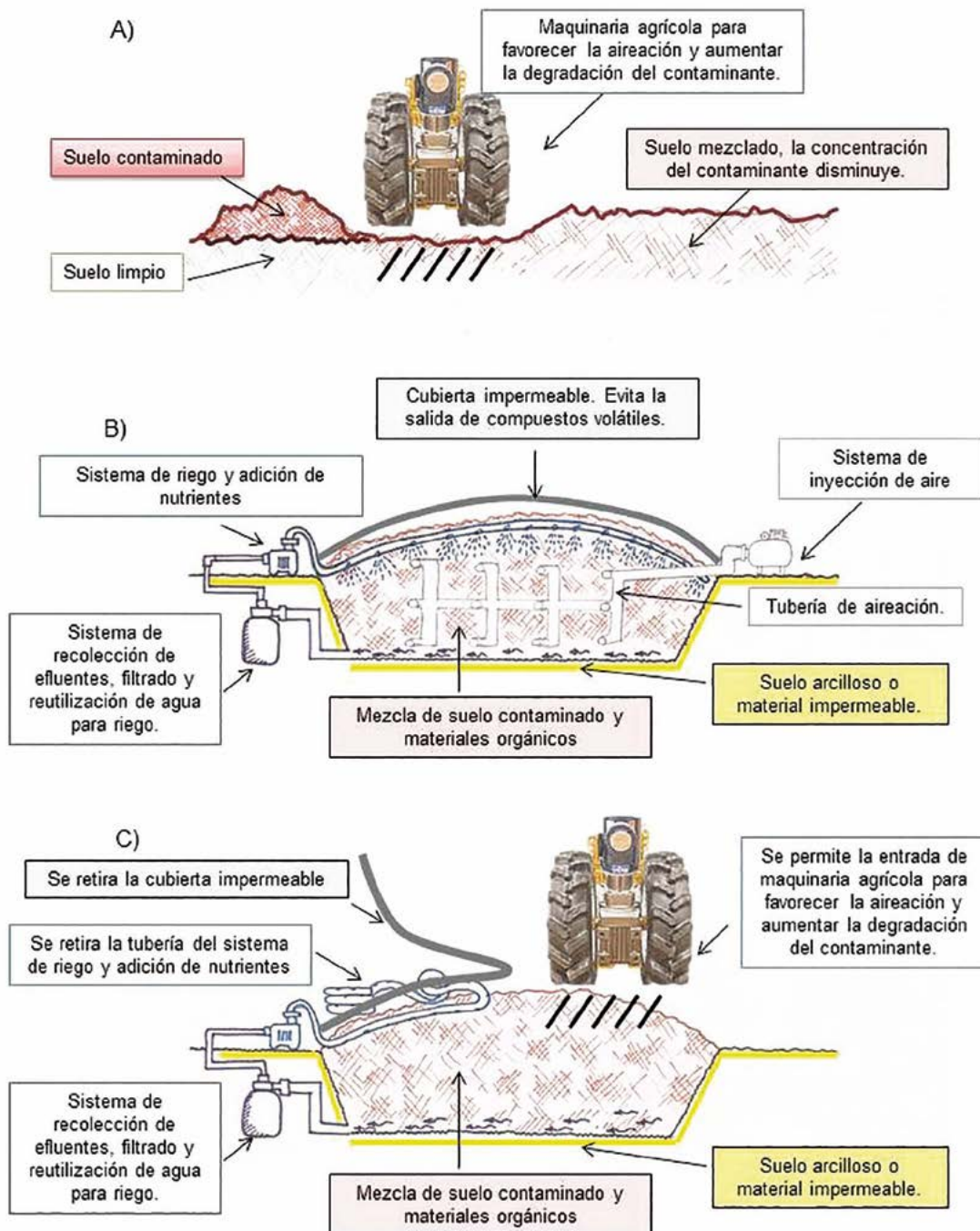


Figura 1. Ejemplos de tecnologías *ex situ* para biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo (Figura original de los autores). A) biolabranza o "landfarming", B) biopilas estáticas (con aireación forzada) y C) biopilas con movimiento (aireación mecánica).

- Insuficiencia de terreno, ya que se requieren áreas extensas para aplicar la tecnología de biolabranza.
- Factibilidad de utilizarse en climas muy fríos, ya que en el interior de las biopilas se alcanzan

temperaturas de hasta 70 °C, las cuales no se pueden alcanzar con la biolabranza.

- Limpieza en cortos tiempos, ya que la biolabranza requiere periodos habituales de seis meses a dos años.

¿Qué son las biopilas?

Las biopilas son una forma de tratamiento de suelos contaminados de tipo *ex situ*; el suelo a limpiar es extraído de su sitio original y llevado a un lugar de tratamiento. En seguida es depositado en la superficie o en una piscina previamente excavada; se forman montones de suelo y se permite la acción degradadora de microorganismos propios del suelo o externos inoculados (Figura 1A). La altura común de las biopilas va de 2 a 4 m pero, como lo indican Kriipsalu y Nammari (2010), pueden encontrarse grandes variaciones de humedad y temperatura a las distintas profundidades de la cama. Por lo anterior, la altura ideal de la biopila deberá estar en función de la facilidad que se tenga, en equipo y mano de obra, para mantener un sustrato lo más homogéneo posible a lo largo y a lo ancho de la biopila (Wang *et al.*, 2014). Se diferencian dos tipos de biopilas de acuerdo con el método de aireación. Para las primeras, denominadas biopilas estáticas, se implementan dispositivos de aireación forzada. Se forman biopilas de suelo contaminado mezclado con materiales orgánicos y con el fondo y los laterales recubiertos con un material impermeable. En la parte superior de la pila se coloca una cubierta para evitar emisión de compuestos volátiles a la atmósfera y, por debajo de ésta, las tuberías del sistema de riego y adición de nutrientes. Mediante tuberías se hace entrar aire al interior de la pila (Figura 1B). En la parte baja se recolectan los efluentes, a los que se les da un tratamiento de limpieza (separación de los compuestos orgánicos) para reutilizar el agua que contienen. Durante el periodo de limpieza del suelo no se retira la cubierta impermeable (Coulon *et al.*, 2010). Otra variante es en biopilas con movimiento o aireación mecánica (Figura 1C), similar a la anterior, con la diferencia de que periódicamente se retira la

cubierta impermeable superior y la tubería del sistema de riego para permitir la remoción del material con maquinaria agrícola en la mayoría de los casos (Beskoski *et al.*, 2011). Las biopilas estáticas son recomendadas para suelos de texturas arenosas o medias. Los suelos arcillosos deben procesarse en biopilas con movimiento constante del sustrato o adicionar mayor proporción de materiales que mejoran la porosidad (Coulon *et al.*, 2010). Los contaminantes orgánicos que pueden ser degradados en biopilas son diversos. Los hidrocarburos del petróleo se encuentran entre los más estudiados, aunque a pequeña escala o escala de laboratorio (Figura 2).

Existen reportes de casos exitosos a gran escala, en los que se ha aplicado la tecnología de compostaje en biopilas para suelos contaminados

con petróleo crudo, hidrocarburos aromáticos policíclicos, asfaltenos, benceno, tolueno y xileno (Cuadro 1).

Se deben tomar en cuenta algunas consideraciones iniciales a fin de decidirse por el uso de la tecnología de compostaje en biopilas. Por ejemplo, se planifica alcanzar la concentración final del contaminante(s) presente(s) en el suelo a remediar; mineralización, evaporación, incorporación a la biomasa microbiana, uniones estables con la materia orgánica, etcétera; periodo de tiempo dispuesto para llevar a cabo la remediación del suelo; y costo de esta tecnología comparada con otras (Coulon *et al.*, 2010); además, los efectos de la inoculación de microorganismos externos, de la bioaumentación de

aquellos nativos y de la adición de compuestos que facilitan la degradación de los contaminantes (por ejemplo, surfactantes no iónicos) deben ser comprobados en estudios de laboratorio (Lladó *et al.*, 2013). Esta tecnología de biorremediación

ha sido implementada con éxito en la limpieza de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo (Wang *et al.*, 2014), ya que esto permite el manejo de muchas condiciones del material, como la relación carbono:nitrógeno:fósforo (C:N:P), la aireación (mediante mezclado del material o inyección de

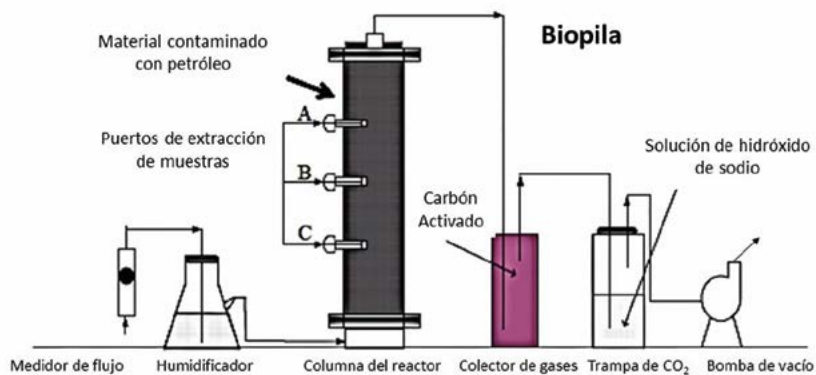


Figura 2. Esquema de una biopila para estudios de degradación de hidrocarburos del petróleo en laboratorio.

Cuadro 1. Reportes de la aplicación del compostaje en biopilas para la limpieza de suelos contaminados.

Contaminante(s) y su degradación	Condiciones de estudio	Referencia
Pristano, JP5, benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos. Remoción de 90% de los hidrocarburos totales en 15 días.	Suelo de gasolinera que se inoculó con <i>Acinetobacter</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp. y <i>Rhodococcus</i> sp. y se adicionaron nutrientes en forma de solución nutritiva.	Genovese et al., 2008.
Petróleo en proceso de mineralización. Análisis de 34 hidrocarburos diferentes por cromatografía de gases. Remoción de 90% de HTP en 18 semanas.	Solución nutritiva comercial añadida (TerraKem, Kemira Belgium Inc.). Suelo con 10% de arcilla.	Mao et al., 2009.
Petróleo crudo. Remoción de 68% de hidrocarburos de 10 a 40 átomos de C en 370 días.	Biopila estática de inyección de aire los 120 días iniciales y mezcla con maquinaria el resto de la evaluación. Biopila con lodo contaminado con petróleo (40%) mezclado con compost.	Kriipalu y Namhari, 2010.
Petróleo crudo pesado. Remoción de 83% a 95% de hidrocarburos alifáticos, aromáticos y asfaltenos; 53% de isoprenoides, fitano y pristano en 150 días.	Biopila con aireación mecánica. N, P y K adicionados. Inoculación y reinoculación periódica con microorganismos nativos.	Beskoski et al., 2011.

*JP5 es un combustible altamente inflamable utilizado en aeronáutica, con queroseno como componente principal y con alcanos, naftenos e hidrocarburos aromáticos policíclicos.

aire forzado), la humedad y la temperatura (Beskoski et al., 2011).

Condiciones que favorecen el funcionamiento de las biopilas

La eficiencia de degradación de los contaminantes se mejora controlando la humedad, la aireación, la adición de nutrimentos o mejoradores de las características físicas (Akbari y Ghoshal, 2014), de los cuales destacan los materiales con celulosa y lignina (Lladó et al., 2013), como pajas, rastrojos, cachaza de caña, aserrín y residuos de aserradero. Estos materiales aumentan la porosidad de los suelos contaminados y favorecen la distribución y movimiento del agua y aire. A la mezcla de materiales orgánicos con el suelo contaminado depositado en la biopila se le denomina compostaje (Souza et al., 2009).

Importancia de los microorganismos en la biopila

Muchos de los trabajos de limpieza basados en biopilas se centran en aspectos mecánicos, como la implementación de la maquinaria para mover el suelo, mantener la humedad, la tubería de entrada de aire, etcétera. En años recientes los estudios se encaminan a los microorganismos, principales responsables de la degradación de los contaminantes (Pessoa et al., 2013). No obstante que desde la más mínima contaminación con hidrocarburos del petróleo se reducen las poblaciones microbianas, en casi todos los ambientes hay microorganismos con capacidad de degradar hidrocarburos (Cerqueira et al., 2012). En estudios recientes se determinó que el tipo y la concentración del contaminante y el manejo que se haga de la biopila (excavación, aireación y fertiliza-

ción) repercute drásticamente en el tamaño y la composición de las poblaciones microbianas (Pessoa et al., 2013). Yergeau et al. (2012) mencionan que las bacterias aeróbicas degradadoras de hidrocarburos (*Caulobacter*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Sphingomonas*) se ven beneficiadas por las condiciones en las biopilas, y la dominancia relativa de éstas se reduce con el compostaje, al ir disminuyendo la disponibilidad de los compuestos que se degradan con mayor facilidad. En referencia a los cambios en las poblaciones de microorganismos durante el compostaje, Gao et al. (2014) mencionaron que la composición de la comunidad microbiana dentro de la biopila varía a través del tiempo. Primero es dominada por proteobacterias y actinobacterias, las cuales son las pioneras en la degradación de hidrocarburos. Al final, son los firmicutes los que se encuentran en mayor proporción, siendo los encargados de la degradación de los compuestos más recalcitrantes. Wang et al. (2012) describen un proceso de biorremediación de un suelo contaminado con hidrocarburos mediante biopilas en las que se adiciona paja de algodón. Estos autores indican la importancia de la relación C:N:P en la velocidad de degradación de los contaminantes. La adición de paja de algodón favoreció la diversidad y la actividad de los microorganismos, así como la degradación de 49% de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) en 220 días, mientras que en el testigo sin paja la degradación fue 20%. Sin embargo, al aplicar N en forma de urea, la actividad microbiana se redujo. Liu et al. (2010) registraron que la adición de abonos orgánicos en la biopila provocó incrementos en la biodiversidad microbiana y su actividad. La degradación de HTP fue de 58% durante un año de experimentación, mientras que en las biopilas sin

adición de abonos orgánicos la degradación fue de solo 15%. En trabajos como el de Ouyang *et al.* (2005) se planteó la posibilidad de inocular microorganismos para acelerar la degradación de HTP en las biopilas. Estos autores reportan degradación de entre 46% y 53% de los HTP en un periodo de 56 días en las biopilas inoculadas, y 31% en aquellas sin inoculación en el mismo tiempo. Kadali *et al.* (2012) indicaron que los microorganismos nativos tienen la enorme ventaja de estar adaptados a las condiciones edáficas del suelo a limpiar, pero la inoculación de las biopilas con microorganismos externos de probada eficiencia en degradación es un paso que favorece la limpieza de los suelos. Cabe señalar que el proceso de aislamiento y selección de microorganismos suele ser largo y costoso, por lo que hoy en día se buscan metodologías que faciliten y abaraten la obtención de microorganismos especializados en degradación de contaminantes. En otra variante de inoculación, Juteau *et al.* (2003) utilizaron residuos de refinería como inoculante bacteriano en biopilas conteniendo suelos contaminados con petróleo. Después de 126 días, el material en las biopilas inoculadas fue cinco veces menos tóxico que el testigo. En específico, la concentración de hidrocarburos poliaromáticos de mayor número de anillos se redujo con la inoculación, por lo que estos autores recomiendan el uso de subproductos de la actividad petrolera como fuente de inoculante. Una de las variantes más modernas de la tecnología de compostaje en biopilas es la SEMBT (Systematic Environmental Molecular Bioremediation Technology), la cual incluye el conteo periódico de los grupos funcionales de microorganismos. Esto se realiza por métodos mole-

culares de expresión génica, como los microarreglos (Liu *et al.*, 2010) o la transcriptasa inversa asociada a PCR en tiempo real (Yergeau *et al.*, 2012). Con base en la medición de la dominancia de los grupos funcionales se toman decisiones de inoculación de aquellos grupos cuyo número va a la baja y su función es importante por los contaminantes que falta por degradar (Rodríguez-Rodríguez *et al.*, 2014). También se pueden realizar ajustes en la aireación, la humedad (Coulon *et al.*, 2010), los nutrimentos adicionados o el pH para favorecer uno u otro grupo de microorganismos (Kriipsalu y Nammari, 2010). Otras modificaciones útiles para mejorar el proceso de compostaje son la adición de solventes y surfactantes, y el establecimiento de sistemas de electroremediación (Volke-Sepúlveda y Velasco, 2003).

El tratamiento electroquímico es una tecnología emergente muy efectiva en la remoción de metales pesados y compuestos orgánicos solubles en agua (Gill *et al.*, 2014). Este proceso incluye la aplicación de una corriente directa de bajo voltaje o de un gradiente de potencial bajo a través de un electrodo positivo (ánodo) y uno negativo (cátodo) que se insertan en el suelo. Durante la aplicación de una corriente eléctrica se crea un campo eléctrico entre los dos electrodos, donde las sustancias solubles emigran hacia uno de los dos electrodos de acuerdo con su carga, polaridad y movilidad. La migración de los compuestos depende de electromigración (transporte de iones), electro-ósmosis (transporte del agua de solvatación de iones) y/o, el proceso dominante, electroforesis (arrastre mecánico de coloides y/o microorganismos). Con esta

tecnología se pueden tratar suelos con metales pesados, especies radioactivas, aniones tóxicos, mezclas de contaminantes orgánicos/iónicos, hidrocarburos del petróleo, cianuros y explosivos (Volke-Sepúlveda y Velasco, 2003). En cuanto a los solventes y surfactantes se ha determinado que no es suficiente adicionar cepas con altas eficiencias degradadoras si existen factores que limitan su potencial. La etapa limitante de la biodegradación de la mayoría de compuestos es su biodisponibilidad; en especial, con los hidrocarburos que son altamente insolubles en agua. Por lo anterior, la investigación en biorremediación se ha dirigido al uso de surfactantes y solventes que aumentan la biodisponibilidad y, en consecuencia, la degradación de los contaminantes (Volke-Sepúlveda y Velasco, 2003).

CONCLUSIONES

El compostaje en biopilas para la limpieza de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo se puede implementar de manera muy sencilla o muy tecnificada de acuerdo con el objetivo de la actividad y la inversión disponible. Además, se trata de una tecnología surgida como una alternativa a la biolabranza y su futuro se encamina hacia el control total del proceso de biorremediación. Los puntos a controlar son tres principales: las condiciones de compostaje (humedad, aireación, pH y nutrimentos), la proporción de los grupos funcionales de microorganismos y tasa de degradación de los contaminantes.

LITERATURA CITADA

Akbari A., Ghoshal S. 2014. Pilot-scale bioremediation of a petroleum hydrocarbon-contaminated clayey soil from a sub-Arctic site. *Journal of Hazardous Materials* 280: 595-602.

- Ball A.S., Stewart R.J., Schliephake, K. 2012. A review of the current options for the treatment and safe disposal of drill cuttings. *Waste Management Research* 30: 457-473.
- Beskoski V.P., Gojic-Cvijovic G., Milic J., Ilic M., Miletic S., Solecic T., Vrvic M.M. 2011. *Ex situ* bioremediation of a soil contaminated by mazut (heavy residual fuel oil) a field experiment. *Chemosphere* 83(1): 34-40.
- Bhattacharyya J.K., Shekdar A.V. 2003. Treatment and disposal of refinery sludges: Indian scenario. *Waste Management and Research* 21: 249-261.
- Butt T. E., Lockley E., Oduyemi K.O. 2008. Risk assessment of landfill disposal sites-State of the art. *Waste Management* 28 (6): 952-964.
- Cerqueira V.S., Hollenbach E.B, Maboni F., Camargo F.A, Peralba C., Bento F.M. 2012. Bioprospection and selection of bacteria isolated from environments contaminated with petrochemical residues for application in bioremediation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 28(3): 1203-1222.
- Coulon F., Al Awadi M., Cowie W., Mardlin D., Pollard S., Cunningham C., Risdon G., Arthur P., Semple K.T., Paton G.I. 2010. When is a soil remediated? Comparison of biopiled and windrowed soils contaminated with bunker-fuel in a full-scale trial. *Environmental Pollution* 158(10): 3032-3040.
- Fan Y.Y., Wang G.G., Fu J.H., Zheng X.H. 2014. The remediation of waste drilling muds by a combined plant-microbe system. *Petroleum Science and Technology* 32: 2086-2092.
- Ferrera-Cerrato R., Rojas-Avelizapa N.G., Poggi-Varaldo H.M., Alarcón A., Cañizares-Villanueva R.O. 2006. Procesos de biorremediación de suelo y agua contaminados por hidrocarburos del petróleo y otros compuestos orgánicos. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 48(2): 179-187.
- Frutos F.J., Pérez R., Escolano O., Rubio A., Gimeno A., Fernández M.D., Carbonell G., Perucha C., Laguna J. 2012. Remediation trials for hydrocarbon-contaminated sludge from a soil washing process: evaluation of bioremediation technologies. *Journal of Hazardous Materials* 199-200: 262-271.
- Gao Y.C., Guo S.H., Wang J.N., Li D., Wang H., Zeng D.H. 2014. Effects of different remediation treatments on crude oil contaminated saline soil. *Chemosphere* 117: 486-493.
- Gill R.T., Harbottle M.J., Smith J.W., Thornton S.F. 2014. Electrokinetic-enhanced bioremediation of organic contaminants: a review of processes and environmental applications. *Chemosphere* 107: 31-42.
- Jeong S.W., Jeong J., Kim J. 2015. Simple surface foam application enhances bioremediation of oil-contaminated soil in cold conditions. *Journal of Hazardous Materials* 286: 164-170.
- Juteau P., Bisailon J.G., Lépine F., Ratheau V., Beaudet R., Villemur R. 2003. Improving the biotreatment of hydrocarbons-contaminated soils by addition of activated sludge taken from the wastewater treatment facilities of an oil refinery. *Biodegradation* 14(1): 31-40.
- Kadali K.K., Simons K.L., Skuza P.P., Moore R.B., Ball A.S. 2012. A complementary approach to identifying and assessing the remediation potential of hydrocarbonoclastic bacteria. *Journal of Microbiology Methods* 88(3): 348-355.
- Kriipsalu M., Nammari D. 2010. Monitoring of biopile composting of oily sludge. *Waste Management and Research* 28(5): 395-403.
- Lin T.C., Pan P.T., Cheng S.S. 2012. *Ex situ* bioremediation of oil-contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials* 176(1-3): 27-34.
- Liu W.X., Luo Y.M., Teng Y., Li Z.G., Ma L.Q. 2010. Bioremediation of oily sludge-contaminated soil by stimulating indigenous microbes. *Environmental Geochemistry Health* 32: 23-29.
- Ma J., Yan G., Ma W., Cheng C., Wang Q., Guo S. 2015. Isolation and characterization of oil-degrading microorganisms for bench-scale evaluations of autochthonous bioaugmentation for soil remediation. *Water, Air and Soil Pollution* 226: 1-10.
- NOM-EM-138-ECOL-2002. Norma oficial mexicana de emergencia, que establece los límites máximos permisibles de contaminación en suelos afectados por hidrocarburos, la caracterización del sitio y procedimientos para la restauración. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 20 de Agosto de 2002.
- Ouyang D., Bartholic J., Selegan J. 2005. Assessing sediment loading from agricultural croplands in the Great Lakes Basin. *The Journal of American Science* 1(2): 15-21.
- Pessoa T.B., De Souza S.S., Cerqueira A.F., Rezende R.P., Pirovani C.P., Dias J.C. 2013. Construction and validation of metagenomic DNA libraries from landfarm soil microorganisms. *Genetics and Molecular Research* 12(2): 2148-2155.
- Ramírez-Eliás M.A., Ferrera-Cerrato R., Alarcón A., Almaraz J.J., Ramírez-Valverde G., De-Bashan L.E., Esparza-García F.J. García-Barradas O. 2014. Identification of culturable microbial functional groups isolated from the rhizosphere of four species of mangroves and their biotechnological potential. *Applied Soil Ecology* 82: 1-10.
- Rodríguez-Rodríguez C.E., Lucas D., Barón E., Gago-Ferrero P., Molins-Delgado D., Rodríguez-Mozaz S., Eljarrat E., Díaz-Cruz M.S., Barceló D., Caminal G., Vicent T. 2014. Re-inoculation strategies enhance the degradation of emerging pollutants in fungal bioaugmentation of sewage sludge. *Bioresource Technology* 168: 180-189.
- Rojas-Avelizapa N.G., Roldán-Carrillo T., Zegarra-Martínez H., Muñoz-Colunga A.M., Fernández-Linares L.C. 2007. A field trial for an *ex-situ* bioremediation of a drilling mud-polluted site. *Chemosphere* 66(9): 1595-1600.
- Souza T.S., Hencklein F.A., Angelis D.F., Gonçalves R.A., Fontanetti C.C. 2009. The *Allium cepa* bioassay to evaluate landfarming soil, before and after the addition of rice hulls to accelerate organic pollutants biodegradation. *Ecotoxicological and Environmental Safety* 72(5): 1363-1368.
- Volke-Sepúlveda T., Velasco J.A. 2003. Biodegradación de hidrocarburos del petróleo en suelos intemperizados mediante composteo. Centro Nacional de Capacitación e Investigación Ambiental, Instituto de Ecología, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México. 34 pp.
- Wang X., Wang Q., Wang S., Li F., Guo G. 2012. Effect of biostimulation on community level physiological profiles of microorganisms in field-scale biopiles composed of aged oil sludge. *Bioresource Technology* 111: 308-315.
- Wang X., Li F., Guo G., Wang S., Boronin A., Wang Q. 2014. Temporal changes in microbial metabolic characteristics in field-scale biopiles composed of aged oil sludge. *Environmental Engineering Sciences* 31(9): 507-513.
- Yakimov M.M., Timmis K.N., Golyshin P.N. 2007. Obligate oil-degrading marine bacteria. *Current Opinion in Biotechnology* 18: 257-266.
- Yergeau E., Sanschagrín S., Beaumier D., Greer C.W. 2012. Metagenomic analysis of the bioremediation of diesel-contaminated canadian high arctic soils. *PLoS One* 7(1): e30058.