



CUANTIFICACIÓN DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DE SUELO CONTAMINADO CON ACEITES DIELECTRICOS

QUANTIFICATION OF MICROBIOLOGICAL AND PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF SOIL CONTAMINATED WITH DIELECTRIC OILS

Angela Maritza, Cajiao Pedraza¹; Alvaro Eulalio, Villamizar Villamizar²; Jacipt Alexander, Ramón Valencia³; Miguel Andrés Rojas Pabón^{4}*

Universidad de Pamplona, Km 1 vía Bucaramanga, Pamplona, Colombia

RESUMEN

La industria eléctrica utiliza aceites dieléctricos como aislantes en transformadores eléctricos; este aceite es un derivado del petróleo que se compone de hidrocarburos isoparafínicos, nafténicos, aromáticos, entre otros y es considerado un residuo tóxico y peligroso. Como alternativa para la degradación se pueden usar microorganismos por medio de técnicas de la biorremediación (bioestimulación y bioaumentación). Para establecer cuál de estas técnicas es la más eficiente se tiene que realizar primero una caracterización fisicoquímica y microbiológica del suelo, donde se pueda determinar los microorganismos autóctonos y la concentración de los nutrientes necesarios para su metabolismo. En este proyecto se hace esta caracterización, con el fin de proponer una alternativa de biorremediación para la degradación de aceites dieléctricos presentes en el suelo.

Palabras clave: Suelo, aceites dieléctricos, Biorremediación, contenido de Carbono y contenido de Nitrógeno

ABSTRACT

The electrical industry uses dielectric oils as insulators in transformers and power distribution, this oil is a petroleum derivative consisting of isoparaffin, naphthenic and aromatic hydrocarbons, and is considered a toxic and hazardous waste. Micro-organisms by means of techniques of bioremediation (biostimulation and bioaugmentation) can be used as an alternative to the degradation. To determine which of these techniques is the most efficient will have to perform a physicochemical and microbiological characteristics of the soil where they can determine the indigenous microorganisms and the concentration of nutrients necessary for metabolism. In this project, this characterization is made in order to propose an alternative to bioremediation for the degradation of dielectric oils present in the soil.

Keywords: Soil, oil dielectric, bioremediation, physicochemical properties and microbiological characterization.

I. INTRODUCCIÓN

En Colombia en el año 2011 según el IDEAM, la generación de residuos o desechos peligrosos fue de 174.418,7 toneladas, cifra superior a las 141.735,0 toneladas generadas en 2010, e inferior a las 176887,4 toneladas del año 2009. De estos residuos, 256,7 toneladas correspondieron para el 2011 a sustancias y artículos de desecho que contienen, o están contaminados por, bifenilos



policlorados (BPC), terfenilos policlorados (TPC) o bifenilos polibromados (BPB); compuestos orgánicos que están presentes en los aceites dieléctricos usados. En el 2010 la cantidad de estos residuos generados fue de 195,3 toneladas y en el 2009 fue de 204,7 toneladas, lo que da claramente una idea del aumento en la generación de estos residuos peligrosos en Colombia. Si se tienen en cuenta las otras clases de residuos que tienen asociados aceites dieléctricos esta cantidad puede aumentar a más de 300 toneladas por año (IDEAM, 2012).

El aceite dieléctrico es una mezcla adecuada de hidrocarburos isoparafínicos, nafténicos y aromáticos con moléculas entre 16 y 22 átomos de carbono, que en la industria eléctrica se utiliza como agente refrigerante, aislante y antioxidante en los transformadores eléctricos. En Colombia todas las ciudades cuentan con miles de transformadores de distribución, los cuales deben salir a mantenimiento varias veces durante su vida útil (Duran, 2006). Una vez el aceite es usado en el transformador, el aceite debe regenerarse y ser tratado para eliminar las impurezas. Para regenerarlo se usa un adsorbente llamado tierra Fuller, un mineral rico en silicatos de aluminio con la capacidad de retener moléculas ácidas (Gallo, 2005). Es común que las tierras Fuller contaminadas se dispongan en los rellenos sanitarios junto con las basuras urbanas sin tener conciencia del contenido de hidrocarburos. En otros casos son llevadas a sistemas de incineración, que además de ser muy costosos implican una emisión de grandes cantidades de gases altamente tóxicos al ambiente (Agudelo, 2011).

La agencia de protección del medio ambiente de los Estados Unidos (EPA, 1996) recomienda la técnica de extracción con solventes para el tratamiento de suelos contaminados con compuestos persistentes por ser eficiente, segura y económica y posee una guía (Guía del ciudadano para la biorremediación EPA 542-F-12-003) para el tratamiento de suelos contaminados con sustancias peligrosas. En otro estudio de la EPA, esta recomienda la degradación biológica, específicamente la bioaumentación para eliminar compuestos orgánicos clorinados, y advierten de lo ventajoso desde el punto de vista económico y ambiental de tales tecnologías (EPA, 2005). En el estudio de Vargas y colaboradores para el 2004, resaltaron la importancia de la selección de microorganismos nativos aislados del lugar contaminado y con estos llevar a cabo el proceso de biorremediación. Estos microorganismos se encuentran mejor adaptados al contaminante, a diferencia de otros foráneos que, aunque con una gran actividad biorremediadora, pueden no funcionar bajo las condiciones ambientales del lugar (Vargas et al, 2004).

La investigación realizada por Monika Čvančarová junto con sus colaboradores destaca el uso de diferentes cepas de hongos ligninolíticos como alternativa para la biodegradación de PCB's en mezcla con diferentes medios complejos y minerales encontrando que todas las cepas fúngicas fueron capaces de remover el contaminante significativamente después de 6 semanas de incubación en los diferentes medios inoculados. Esto nos permite establecer que la biorremediación es una alternativa ambientalmente sostenible útil a la hora de descontaminar residuos altamente peligrosos (Čvančarová et al, 2012)

Por tanto, esta investigación busca proponer e implementar un sistema que permita la degradación de suelos contaminados con aceites dieléctricos a partir de técnicas de biorremediación y modelos dinámicos (Gualdron Guerrero & Torres Chavez 2013).



II. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

2.1 Caracterización fisicoquímica del suelo

Los análisis fueron realizados en los laboratorios de control de calidad y de operaciones unitarias de la Universidad de Pamplona. Para realizar la caracterización fisicoquímica del suelo contaminado con aceites dieléctricos se usaron normas internacionales estándares (ver tabla 1).

Tabla 1. Normas usadas para la caracterización fisicoquímica del suelo

Prueba	Norma
Densidad real	ASTM D 854
Densidad aparente	ASTM 1298
pH	ASTM D 4972
Contenido de agua	ASTM D 2216
Conductividad eléctrica	IEEE Std 81-183
Fracción de espacios vacíos	ASTM D 7263
Determinación del material orgánico	ASTM D 2974
Métodos de prueba estándar para el nitrito	ASTM D3867-09
Métodos de prueba estándar para el fosforo	ISO 14869-1

Fuente: Normas internacionales.

2.2 Caracterización microbiológica del suelo

Preparación de medios de cultivo para microorganismos y hongos

En un erlenmeyer de 500 mL se mezclaron 100 g de la muestra de suelo y 250 mL de agua destilada estéril (proporción 1:2). Esta mezcla se dejó reposar 24 horas y luego, el agua fue filtrada con la ayuda de gasa estéril. El agua filtrada se autoclavó 3 veces a condiciones estándar (15 lb/ 120 °C/ 15 minutos) en un autoclave All American model No. 75x. Se empleó en la preparación del medio de cultivo SPC, agar (MERCK, DE) para la determinación de bacterias y un medio específico para el crecimiento de hongos (Agar Papa Dextrosa, PDA). Siguiendo las indicaciones del fabricante (Merck) se sometió de nuevo a la autoclave y una vez alcanzó una temperatura de aproximadamente 50°C, se procedió a servir en cajas de petri estériles donde se dejaron solidificar para la posterior siembra de la muestra.

Aislamiento de microorganismos

Se pesó una muestra de 11 g y se diluyó en un volumen de 99 mL de solución salina estéril 0.85%. A partir de esta dilución se realizaron 2 diluciones más (1 en 9), llegando a una dilución 10⁻³. Se realizó la siembra de las diluciones -1, -2 y -3 en superficie sobre las cajas de agar preparados previamente. Las cajas fueron selladas y dejadas a temperatura ambiente durante una semana, con revisión diaria de la aparición de colonias de microorganismos.

Caracterización fenotípica para bacterias

Las colonias obtenidas en el agar SPC modificado fueron caracterizadas macroscópicamente, evaluando su forma, tamaño, elevación, margen, color y superficie. Luego de esto, se realizó la caracterización microscópica de las colonias por medio de la técnica de tinción de Gram, detectando así la morfología y el tipo de pared celular de las mismas.

Aislamiento de bacterias en medios selectivos

Las colonias obtenidas fueron sembradas en agar nutritivo e incubadas a temperatura ambiente. A partir de estas se realizó la siembra en medios selectivos y diferenciales de acuerdo a las



características microscópicas encontradas previamente. Durante un primer ensayo, los medios fueron enriquecidos con aceites dieléctricos. Las colonias fueron repartidas así: para cocos Gram (+) se sembró en medio Salado Manitol, para bacilos Gram (-) se utilizaron los medios EMB y Cetrimide y para bacilos Gram (+) se utilizó el medio MYP.

Aislamiento de hongos

A partir del crecimiento en los medios modificados se tomaron inóculos y se realizaron siembras por punción central en medio adicionado con aceites dieléctricos, y se dejaron a temperatura ambiente durante 15 días.

Caracterización Macroscópica y Microscópica para hongos

Una vez se obtuvo crecimiento fúngico, se realizó la descripción macroscópica teniendo en cuenta el color y la textura. Posteriormente se realizaron montajes en portaobjetos con azul de lactofenol para observarlos en el microscopio y verificar la presencia de estructuras de reproducción típicas para cada uno.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para los análisis de las propiedades fisicoquímicas del suelo, se realizó una comparación con los resultados de la investigación de Agudelo (Agudelo, 2011).

Tabla 2. Resultados pruebas fisicoquímicas.

Propiedad	Valor	Valor Agudelo
Densidad Real	1,3688 g/mL	1,575 g/mL
Densidad aparente	0,9985 g/mL	0,788 g/mL
Fracción de espacios vacíos	27,05%	50%
% Humedad	6,24	6.41
% Material orgánico	84,4627	N. A
pH	6,89	N. A
Conductividad eléctrica	0,238 dS/m, suelo no salino	N. A
PO ₄ (fosfatos)	15,5012 mg/kg	N. A
P (fósforo)	5,0534 mg/kg	N. A
NO ₂ (Nitritos)	0,122 mg/L, 0,366 mg/kg	N. A

Fuente: Autores y Agudelo (Agudelo, 2011).

Caracterización fisicoquímica

Densidad real y densidad aparente

Con la densidad real y aparente es posible determinar cuál es la porosidad o fracción de espacios vacíos en la que se encuentra el suelo y observar cómo afecta él contaminante la naturaleza de este. Es necesario aplicarle la biorremediación al suelo contaminado con aceites dieléctricos ya que es un parámetro que nos permite analizar la eliminación de los aceites dieléctricos. La densidad relativa además, es una medida de la cantidad de contaminante que está inmerso en los poros del sólido, para esta investigación es necesario realizar un análisis fisicoquímico de un suelo sin presencia de contaminante para así poder comparar y verificar que ambos suelos presentan densidades similares (Agudelo,2011).



Fracción de espacios vacíos

Al poder hallar la fracción de espacios vacíos o porosidad del suelo se puede saber la cantidad de poros por volumen que existe en el suelo, entre mayor porosidad tenga, mayor materia orgánica habrá en él. La porosidad de este suelo contaminado con aceites dieléctricos es del 27% (ver tabla 2) lo cual nos indica que tiene poco material orgánico. Al comparar los resultados obtenidos con el trabajo de Agudelo (2011), se observa una gran diferencia entre los dos suelos. Se podría pensar que, el suelo analizado no tiene la capacidad de adsorber grandes cantidades de aceite por su porosidad.

Determinación del material orgánico

Por el método de cenizas, se observa que el carbono se encuentra en gran cantidad en el suelo contaminado con aceites dieléctricos, esto puede ser porque el contaminante está compuesto de grandes cadenas hidrocarbonadas. Los microorganismos nativos del suelo se ven afectados con esto debido a que por la alta presencia de carbono va a aumentar la ausencia de algunos nutrientes esenciales para sus metabolismos (ver tabla 2).

Porcentaje de humedad

El contenido de humedad del suelo es de suma importancia ya que sin ella se inactiva la microbiota nativa por lo que sus procesos de metabolismo y producción de enzimas se ven afectados. El suelo contaminado con aceites dieléctricos presenta una humedad de 6,24% (ver tabla 2) lo que se traduce en una microbiota nativa con la humedad suficiente para mantener su actividad. No obstante, el metabolismo se ve afectado posiblemente por la presencia de hidrocarburos como contaminantes del suelo, debido a que genera saturación por carbono. Adicionalmente, tener un suelo con exceso de agua puede generar lixiviados en los cuales es posible remover el contaminante. Se puede observar de la tabla 2 que los resultados que obtuvo la investigación de Agudelo son similares a los que reportamos pero es recomendable que el valor de la humedad este en un rango de 30-40% para aumentar el contacto entre la población microbiana, el contaminante y los nutrientes.

pH y Conductividad eléctrica

El pH es importante para determinar las condiciones óptimas de desarrollo y crecimiento de los microorganismos y determinar que análisis colorimétrico usar para la determinación de fósforo en el suelo contaminado con aceites dieléctricos. En la tabla 2 se puede observar un valor medido de pH de 8,69 en el suelo contaminado. Es de suma importancia no exceder un valor de 9 al momento de iniciar el proceso de biorremediación debido a que la microbiota nativa se ve sumamente afectada por los cambios de pH, causando desde fallas en el desarrollo, crecimiento y reproducción, hasta la destrucción total de esta por el nivel de toxicidad que puede generar el pH. Con la conductividad eléctrica del suelo y el pH se puede conocer su salinidad. La conductividad eléctrica del suelo contaminado con aceites dieléctricos fue de 0,238 dS/m de acuerdo al Manual de Técnicas de análisis de suelos aplicados a la remediación de sitios contaminados realizado por el Instituto Mexicano del Petróleo (Petróleo, 2006) este suelo es poco salino por lo que carece de nutrientes esenciales para el metabolismo de los microorganismos nativos o autóctonos del suelo. Este resultado se puede confirmar con la determinación de fosfatos y nitritos (ver tabla 2).

Determinación de fosfatos ($PO_4^{=}$) fósforo (P) y nitritos (NO_2^-) por espectrofotometría

De acuerdo a los ensayos realizados, el contenido de fosfatos del suelo es 15,5012 mg/kg, al convertir este contenido en fósforo su concentración fue de 5,0534 mg/kg (ver tabla 2) el cual es muy bajo teniendo en cuenta el Manual de Técnicas de análisis de suelos aplicados a la remediación de sitios contaminados (Petróleo, 2006). Los análisis de fósforo sirven fundamentalmente para el control de la dosificación de productos químicos en tratamientos de



agua o suelos, o como un medio para determinar que un sistema presenta contaminación por exceso de este compuesto (Muñoz et al., 2000). En este caso hace falta una mayor concentración de fósforo para que los microorganismos puedan desarrollarse y degradar los aceites dieléctricos presentes en el suelo.

De otra parte, los nitritos se pueden emplear para estimular la biodegradación de hidrocarburos contaminantes (Petróleo, 2006). La concentración de nitritos en el suelo fue muy baja (0,366 mg/kg), por tanto, el suelo no es fértil y es recomendable adicionar nutrientes a los microorganismos y aumentar la velocidad de degradación del suelo.

Caracterización microbiológica

Bacterias aisladas en medios selectivos

Conforme a las características microscópicas encontradas de las bacterias que crecieron en medios selectivos y diferenciales se lograron estimar posibles géneros como, *Bacillus* spp, *Micrococcus* spp, *Staphylococcus* spp, *Klebsiella* spp, *Proteus* spp, *Shigella* spp y *Pseudomonas* spp (ver tabla 3).

Tabla 3. Caracterización de microorganismos en medios de cultivos selectivos y diferenciales

Medio	Colonia	Descripción	Identificación
Mossel	1	Irregular, completa, Grande, Blanco-crema, mucosa	<i>Bacillus</i> spp
	3	Irregular, ondulado, mediana, rosa-blanquecinas, seca (medio cuarteado)	<i>Bacillus</i> spp
McCk	7	Circular, completo, grande, centro pigmentado rojo, mucosa	<i>Klebsiella</i> spp
	8	Puntiforme, completa, pequeña, roja	<i>Serratia</i> spp
Cetrim	13	Circular, completa, pequeña, verde fluorescente	<i>Pseudomonas</i> spp
SalMan	17	Circular, completa, mediana, amarilla	<i>Micrococcus</i> spp

Fuente:Autores.

Aunque no se realizaron ensayos de biorremediación de los suelos contaminados con aceites dieléctricos para determinar la efectividad de las bacterias aisladas en la biodegradación, el solo hecho de aislarlos y lograr una previa identificación se traduce en una ventaja para futuros estudios donde, se deseen llevar a cabo la detoxificación de suelos contaminados. Si tenemos en cuenta el estudio realizado por Egorova y colaboradores (2013), se ha demostrado la eficiencia del proceso de biorremediación con porcentajes de remoción de PCBs por bacterias de hasta 96 %

Aislamiento de Hongos

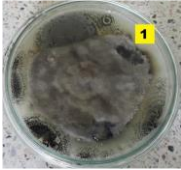

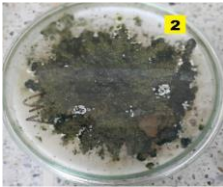
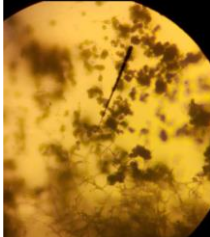
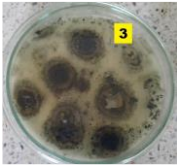
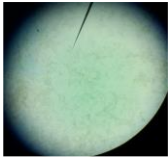
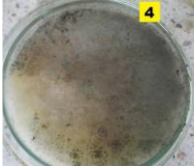
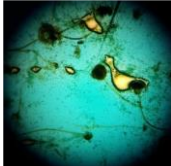
A partir de las colonias aisladas de los hongos, se ejecutó una descripción macroscópica de color y textura; además, una descripción microscópica para la observación de estructuras vegetativas (hifas) y de reproducción (esporas, conidias, etc.), a través de montajes en cinta con Azul de Lactofenol (ver tabla 4).

Se aislaron 7 hongos de un total de 21 diferentes crecimientos iniciales, obteniendo un porcentaje de aislamiento de sólo 33%. Este valor es un indicativo de que en los ambientes naturales los microorganismos no crecen solos sino por el contrario establecen asociaciones con el fin de realizar el menor consumo energético.

Este tipo de fenómeno se conocen como consorcios microbianos los cuales muestran mayor efectividad de remoción de contaminantes en comparación con microorganismos aislados (Chen et al., 2014) (Stella et al, 2015).

A través de la caracterización macro y microscópica se identificaron los hongos como pertenecientes a los géneros *Penicillium spp.*, *Trichoderma spp.*, *Aspergillus spp.* y *Mucor spp.*, estos resultados concuerdan con los obtenidos por Mouhamadou, 2013.

Tabla 4. Resultados caracterización macroscópica y microscópica para hongos

MACROSCÓPICAS		MICROSCÓPICAS		Posibles microorganismos
IMAGEN	DESCRIPCIÓN	IMAGEN (aumento 400)	DESCRIPCIÓN	
	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Textura aterciopelada ✓ Evidencia de un pliegue radial ✓ Color marrón con tonos grisáceos 		<ul style="list-style-type: none"> ✓ Conidióforos que asemejan los dedos de la mano ✓ Se observan alrededor largas cadenas de conidias esféricas, originadas en las fiáldes. 	<i>Penicillium spp.</i>
	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Colonias lanosas ✓ Color verde, con aglomerados blancos 		<ul style="list-style-type: none"> ✓ Conidióforos hialinos ramificados ✓ Fiáldes unidas a los conidióforos perpendicularmente 	<i>Trichoderma spp.</i>
	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Colonias negras ✓ Formación de anillos ✓ Textura lanosa 		<ul style="list-style-type: none"> ✓ Hifas hialinas, septadas 	<i>Aspergillus spp.</i>
	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Micelio abundante ✓ Colores gris a marrón, algodonosa 		<ul style="list-style-type: none"> ✓ Micelio aceptado ✓ Esporangio globoso 	<i>Mucor spp.</i>

Fuente: Autores.

IV. CONCLUSIONES

A partir de los análisis fisicoquímicos se logró determinar la ausencia de nutrientes esenciales para los microorganismos como lo son fosfatos, fósforo y nitratos por lo que una alternativa para la degradación de suelo contaminado con aceites dieléctricos a partir de la biorremediación sería la bioestimulación.

El suelo contaminado con aceites dieléctricos presentó una baja conductividad eléctrica según lo establecido en la norma por lo que es un suelo poco salino.

Se logró el aislamiento e identificación fenotípica de los géneros bacterianos *Pseudomonas spp.*, *Klebsiella spp.*, *Serratia spp.*, *Proteus spp.*, *Bacillus spp.* y *Micrococcus spp.* a partir de muestras de suelo contaminado con aceites dieléctricos.



Los hongos obtenidos por sus características morfológicas macroscópicas y microscópicas pertenecen a los géneros *Penicillium spp.*, *Trichoderma spp.*, *Aspergillus spp.* y *Mucor spp.*. Es recomendable usar técnicas moleculares para confirmar que estos microorganismos hallados por caracterización microscópica y macroscópica estén presentes en el suelo contaminado con aceites dieléctricos.

Los resultados obtenidos permiten establecer las condiciones iniciales para la aplicación de la bioaumentación o la bioestimulación con el fin de escoger cuál de ellas es la más eficiente para la remoción de dicho contaminante.

TRABAJOS FUTUROS

Al realizar la caracterización fisicoquímica y microbiológica nos da una pauta para la posterior biorremediación del suelo. En una futura investigación se desea conseguir la remoción del contaminante utilizando y comparando con cuál de las técnicas bioaumentación y biorremediación nos da mejores resultados.

REFERENCIAS

AGUDELO, E. A., Cardona Gallo, S. (2011). Análisis preliminar del tratamiento fisicoquímico y biológico del aceite dieléctrico presente en tierra Fuller. *Dyna*, año 78, Nro. 167, Pág. 193-202

Čvančarová, M., Křesinová, Z., Filipová, A., Covino, S., Cajthaml, T. (2012) Biodegradation of PCBs by ligninolytic fungi and characterization of the degradation products, *Chemosphere*, Volume 88, Issue 11, 1317-1323.

Chen, F., Hao, S., Qu, J., Ma, J. and Zhang, S. (2014). Enhanced biodegradation of polychlorinated biphenyls by defined bacteria-yeast consortium. *Ann Microbiol*, 65(4), pp.1847-1854.

Egorova, D., Demakov, V., & Plotnikova, E. (2013). Bioaugmentation of a polychlorobiphenyl contaminated soil with two aerobic bacterial strains. *Journal of Hazardous Materials*, 261, 378- 386.

EPA U.S. (2005) Reference guide to non-combustion technologies for remediation of persistent organic pollutants in stockpiles y soil. Solid Waste EPA-542-R-05-006 y Emergency Response (5102G) <http://www.clu-in.org/POPs> Internet Address (URL) <http://www.epa.gov>.

EPA. U. S. (1996). Organismo para la protección del medio ambiente. Guía del ciudadano: la extracción con solventes. Desechos Sólidos y Respuesta en Situaciones de Emergencia (5102G) EPA 542-F-96-019.

GALLO, E. (2005). Diagnóstico y mantenimiento de transformadores en campo. *Transequipos*. Pag.105.

IDEAM, (2012), Informe nacional sobre generación y manejo de residuos o desechos peligrosos en Colombia, año 2011. Bogotá, D. C., 2012. Pág. 62.

Oscar Eduardo Gualdrón Guerrero, Ivaldo Torres, (2013). "Identificación de un modelo dinámico del generador de vapor de la caldera en la planta termotasajero colgener". *RCTA*, ISSN 1692-7257, v.1 p.52 – 59.

Mouhamadou, B., Faure, M., Sage, L., Marçais, J., Souard, F., & Geremia, R. A. (2013). Potential of autochthonous fungal strains isolated from contaminated soils for degradation of polychlorinated biphenyls. *Fungal Biology*, 117(4), 268–274. <http://doi.org/10.1016/j.funbio.2013.02.004>



Muñoz I. D. J., Mendoza C. A., López G. F., Soler A. A., Hernández M. Petróleo, I. M. (2006). Manual de Técnicas de análisis de suelos aplicados a la remediación de sitios contaminados. México: Deporte Mexicano.

Stella, T., Covino, S., Burianová, E., Filipová, A., Křesinová, Z., Voříšková, J., Větrovský, T., Baldrian, P. and Cajthaml, T. (2015). Chemical and microbiological characterization of an aged PCB-contaminated soil. *Science of The Total Environment*, 533, pp.177-186.

VARGAS, P., Cuéllar, R., y Dussán, J. (2004). Biorremediación de Residuos del Petróleo. Ecopetrol. Hipótesis. Apuntes Científicos Uniandinos No. 4. Colombia.

Martínez, R. (2007). Biblioteca Digital: conceptos, recursos y estándares. Buenos Aires: Alfagrama.

Wink, D. M., & Killingsworth, E. K. (2011). Optimizing use of library technology. *Nurse Educator*, 36(2), 48-51.