

Extracto hidroalcohólico de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) como bioestimulador en un suelo de sabana contaminado con petróleo

Marín Velásquez, T¹

Fecha de recepción: 06 de mayo de 2017– Fecha de aprobación: 12 de agosto de 2017

RESUMEN

La contaminación de suelos por derrames de petróleo es uno de los principales problemas ambientales que se presentan en la República Bolivariana de Venezuela, que aunado a que los campos petroleros más importantes se encuentran en ecosistemas de sabana requiere que se busquen alternativas de biorremediación. Se ha comprobado que la técnica más idónea para el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos es la biorremediación con microorganismos autóctonos. El objetivo de la investigación fue evaluar la aplicabilidad del extracto hidroalcohólico de cáscaras de naranja dulce (*Citrus sinensis*) como bioestimulador en el tratamiento de un suelo de sabana contaminado con petróleo crudo liviano. Se aplicó un diseño experimental factorial sobre muestras de suelo de sabana proveniente de la población de El Furrial contaminado con 100 mL por kilogramo con petróleo liviano del campo productor de la misma zona. La variable dependiente fue el porcentaje de aceites y grasas según la norma EPA 9071b y los factores, el tiempo de monitoreo en días, el porcentaje de extracto en agua y la dosis de extracto utilizado en mililitros por kilogramo de suelo contaminado. Se obtuvo que los tres factores tuvieron efecto estadísticamente significativo sobre la variable dependiente con un nivel de confianza de 95.0% con un porcentaje máximo de remoción de petróleo de 90.9% para una dosis de 150 mL/kg de extracto al 5% de concentración.

Palabras clave: Biorremediación, bioestimulación, *Citrus sinensis*, petróleo crudo, suelo contaminado

Hydroalcoholic extract orange peel (*Citrus sinensis*) as bioestimulador in a sabana soil contaminated with oil

ABSTRACT

The soil contamination by oil spills is one of the major environmental problems in the Bolivarian Republic of Venezuela, which together with the largest oil fields are in savanna ecosystems requires that alternatives be bioremediation. It was found that the most suitable technique for the treatment of soil contaminated with hydrocarbons is bioremediation with indigenous microorganisms. The objective of the research was to evaluate the applicability of the hydroalcoholic extract of sweet orange peel (*Citrus sinensis*) as biostimulator in the treatment of a savanna soil contaminated with light crude oil. A factorial experimental design on savanna soil samples from the town of El Furrial contaminated with 100 mL per kilogram with light oil producer in the same area. The dependent variable was the percentage of oils and fats EPA 9071b norm factors, the monitoring time in days, the percentage of water extract and the dose of extract used in milliliters per kilogram of contaminated soil. It was found that the three factors had statistically significant effect on the dependent variable with a confidence level of 95.0% with a maximum oil removal rate of 90.9% for a dose of 150 mL/kg extract at 5% concentration.

Key words: Bioremediation, biostimulation, *Citrus sinensis*, crude oil, contaminated soil

¹ Ingeniero Químico, Magister en Ingeniería Ambiental, Profesor del Departamento de Ingeniería de Petróleo de la Universidad de Oriente Núcleo de Monagas, Venezuela.

Correo electrónico: tmarin@udo.edu.ve

Nota: Este artículo de investigación es parte de Ingeniería–Revista Académica de la Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Yucatán, Vol. 21, No. 2, 2017, ISSN: 2448-8364.

INTRODUCCIÓN

La actividad petrolera a nivel mundial representa una de las más susceptibles a producir daños al medio ambiente tanto natural como social, debido a la naturaleza de los hidrocarburos y otros productos químicos que se manejan en las operaciones propias de esta industria. Las consecuencias ambientales de los procesos asociados a la industria petrolera (exploración, perforación, producción, refinación, almacenamiento, transporte, distribución y comercialización) producen graves daños ambientales entre los que se encuentran la deforestación, los cambios del paisaje y la contaminación traducida en peligrosas emisiones atmosféricas, generación de desechos y efluentes que contaminan el aire, las aguas y el suelo, además de la biota asociada a ellos (Galvan *et al.*, 2007).

El impacto de los derrames petroleros varía de acuerdo al tipo de crudo transportado, el tamaño del derrame, las condiciones climáticas al momento del derrame y de los ecosistemas aledaños (Bravo, 2007). El impacto de los derrames petroleros en el suelo, aunque es generalmente dejado en segundo plano respecto a la contaminación de agua y aire, no deja de tener un gran impacto pues por la gran cantidad de compuestos químicos que contiene, afecta a suelos de vocación agropecuaria, llegando incluso a inutilizarlos.

Las tecnologías de remediación pueden clasificarse de diferentes maneras, con base en los siguientes principios: estrategia de remediación; lugar en que se realiza el proceso de remediación, y tipo de tratamiento. Es importante mencionar que cada una de estas clasificaciones proporciona diferente información acerca de las tecnologías de remediación. Para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos se han utilizado diversas técnicas tradicionales como la biorremediación y tratamientos fisicoquímicos (Volke y Velasco, 2004).

La bioestimulación es una técnica que se basa

en el uso de nutrientes, sustratos o aditivos con actividad superficial para estimular el crecimiento y desarrollo de organismos capaces de biodegradar compuestos contaminantes del medio ambiente (Volke y Velasco, 2004). Esta técnica es muy útil en el tratamiento de extensas zonas contaminadas de centros industriales donde no es posible o conveniente parar el proceso operativo para realizar el tratamiento requerido. Para que sea efectiva el suelo debe ser homogéneo, con buenas características de porosidad y permeabilidad, con pH entre 6 y 8, humedad de 12% a 30%, temperaturas de 0 °C a 40 °C y los nutrientes del suelo en relación N:P de 10:1 (Torres y Zuluaga, 2009).

Esta investigación tiene como principal propósito, demostrar que el extracto de cáscaras de naranja dulce (*Citrus sinensis*) obtenido con alcohol isopropílico, puede ser utilizado como bioestimulante para la remediación de suelos que han sido contaminados por petróleo crudo, realizando una serie de experimentos bajo condiciones controladas (invernadero) tomando en cuenta todas las variables involucradas, monitorizando de manera periódica el parámetro porcentaje de aceites y grasas. El trabajo se fundamenta en un análisis estadístico por prueba de varianza para así demostrar el efecto del tratamiento sobre el suelo contaminado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación de la investigación y obtención de los insumos

La investigación se realizó en el laboratorio de Procesamiento de Hidrocarburos del Departamento de Ingeniería de Petróleo, de la Universidad de Oriente, Núcleo de Monagas, Campus Los Guaritos, Venezuela. Se utilizó una muestra de petróleo crudo extraída del Campo El Furrial en el norte del Estado Monagas, Venezuela. Las cáscaras de naranja fueron obtenidas de vendedores de jugo de naranja ubicados en la ciudad de Maturín, Estado Monagas, Venezuela, para los cuales éstas son un desecho y el solvente utilizado fue alcohol isopropílico comercializado como

antiséptico, el cual posee un 70% V/V del mismo.

Obtención y caracterización del extracto hidroalcohólico de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*)

La obtención del extracto de cáscaras de naranja dulce (*Citrus sinensis*) se realizó mediante un proceso de extracción sólido-líquido, utilizando un equipo de extracción Soxhlet de 500 mL de capacidad. Las cáscaras de naranja se despojaron de la parte blanca interna para aprovechar al máximo su contenido de aceites esenciales, se secaron al sol por una semana, se molieron y se colocaron en una batería de seis (6) extractores, cada uno con 300 mL de alcohol isopropílico y se realizó el proceso de extracción por un periodo de 4 horas a una temperatura de 80 °C. El extracto fue secado en un horno marca Termolite a una temperatura de 100 °C por 24 horas, luego filtrado al vacío con papel de filtro Watman no. 42 y envasado en frasco ámbar. Con el extracto se prepararon 3 disoluciones aleatorias al 1%, 3% y 5% de 1000 mL cada una. Las 3 disoluciones preparados fueron caracterizadas en base a su índice de refracción según norma ASTM D1218, utilizando un refractómetro digital ABBE marca Leica MII, densidad según norma ASTM D891 mediante un picnómetro de 25 mL y pH por la norma ASTM E70 utilizando un pHmetro digital portátil de bolsillo marca Hanna Instruments modelo HI 98127.

Caracterización de la muestra de petróleo

La muestra de petróleo crudo fue obtenida como una mezcla de petróleos producidos en el Campo El Furrial, Estado Monagas, Venezuela y a la misma se le determinaron sus características principales como: Gravedad API (norma ASTM D287) mediante un termohidrómetro de 19 a 32 API, Viscosidad Dinámica (ASTM D2196) utilizando un Viscosímetro Brookfield Modelo LVDV-E, Constante Viscosidad – Gravedad (norma ASTM D250) y porcentaje de insolubles en n-hexano (ASTM D6560) utilizando un Extractor de Soxhlet de 500 mL y una balanza analítica marca Sartorius de

210 gramos de capacidad.

Obtención y caracterización de la muestra de suelo

La muestra de suelo se obtuvo de un campo destinado a actividades agropecuarias de la población de El Furrial, Estado Monagas, Venezuela. Para la toma de muestra se delimitó un área de 25 m² tomándose 10 muestras puntuales de 1 kg cada una y luego fueron mezcladas para obtener una muestra compuesta representativa del área. La muestra compuesta fue caracterizada para determinar sus propiedades como: el color del suelo empleado la tabla de colores Munsell (Munsell, 1994), textura por sedimentación (Cano, 2000), densidad aparente por el método del cilindro (Hernández, 2007), densidad real por el método del picnómetro según la norma ASTM D854, porosidad calculada a partir de la ecuación 1, pH por el método potenciométrico por la norma ASTM D4972, materia orgánica por calcinación (Zagal y Sadzawka, 2007) y porcentaje de aceites y grasas por extracción con n-hexano según la norma EPA Method 9071B.

$$\theta = \frac{\text{densidad aparente}}{\text{densidad real}} \times 100 \quad (1)$$

Montaje experimental

Se prepararon 10 unidades experimentales en bandejas de aluminio de 1 kg cada una y fueron contaminadas con 100 mL de petróleo crudo. Se tomaron nueve (9) unidades y se dividieron en grupos de tres (3); al primer grupo se le trató con 50 mL, 100 mL y 150 mL de la disolución al 1% de extracto de cáscaras de naranja, al segundo con las mismas dosis de disolución al 3% y al tercero con las mismas dosis de disolución al 5%. La unidad experimental número 10 se dejó contaminada sin tratar para ser usada como muestra patrón. Se determinó al contenido de aceite y grasas de cada unidad experimental cada siete (7) días por un tiempo de 42 días y con los datos obtenidos se realizó un análisis estadístico ANOVA multifactorial para analizar la influencia de los tres factores en estudio (porcentaje de disolución, dosis aplicada y tiempo) sobre la variable

dependiente porcentaje de aceite y grasas. También se comparó el comportamiento de las unidades experimentales tratadas con el de la muestra patrón.

RESULTADOS

Características del extracto hidralcohólico de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*)

En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos de la caracterización las disoluciones preparadas con el extracto de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*)

Se observa una proporcionalidad inversa entre el porcentaje de extracto y la densidad, proporcionalidad directa entre el porcentaje de extracto y el índice de refracción y un pH que se mantuvo constante independiente del porcentaje de extracto.

Características de la muestra de petróleo crudo.

En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos de la caracterización de la muestra de petróleo crudo utilizada para contaminar el suelo en estudio.

Se observan características propias de un petróleo de grado liviano, composicionalmente mixto relativamente

nafténico según su VGC.

Características de la muestra de suelo.

En la Tabla 3 se muestran las propiedades obtenidas luego de la caracterización de la muestra de suelo.

Se observan en las características del suelo de sabana utilizado para el estudio, que destaca su predominancia de arena y arcilla, una porosidad que indica que el 50% del mismo está formado por espacios vacíos, un pH de tendencia ácida, con un 15,5% de materia orgánica dentro de su composición y un porcentaje de aceites y grasas original de 1,6% que será tomado como referencia durante el proceso de biorremediación a aplicar.

Resultados de porcentaje de aceite y grasa respecto al tiempo en cada una de las unidades experimentales.

En la Tabla 4 se muestran los resultados obtenidos al determinar el porcentaje de aceites y grasas en cada una de las unidades experimentales utilizadas para la evaluación de la efectividad del extracto de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) como bioestimulente en el proceso de biorremediación.

Tabla 1. Propiedades las disoluciones preparadas

Disolución	Densidad a 25°C (g/mL)	Índice de Refracción a 20 °C	pH a 25 °C
1%	0,998	1,336	3,9
3%	0,995	1,337	3,9
5%	0,985	1,340	3,9

Tabla 2. Propiedades de la muestra de petróleo crudo

Propiedad	Valor	Unidad	Método
Gravedad API	31,10	°API	ASTM D287
Viscosidad a 26,3 °C	10,80	cP	ASTM D2196
Viscosidad a 40 °C	7,60	cP	ASTM D2196
VGC	0,84	Adm.	ASTM D2501

Insolubles en hexano	0,20	%	ASTM D6560
----------------------	------	---	------------

Tabla 3. Propiedades del suelo

Propiedad	Valor	Método
Color	5YR3/2 (seco) 5YR3/4 (húmedo)	Munsell
Textura	55% Arena 30% Arcilla 15% Limo	Sedimentación
Densidad Aparente (g/mL)	1,2	Cilindro
Densidad Real (g/mL)	2,4	Picnómetro
Porosidad (%)	50	Calculada
pH (1:2,5)	5,5	Potenciométrico
Materia Orgánica Total (MOT)	15,5	Calcinación
Aceite y Grasas (%AyG)	1,6	EPA 9071B

Tabla 4. Resultados de porcentaje de aceites y grasas (%AyG) respecto al tiempo

Tiempo (Días)	Dosis (mL) de 1%			Dosis (mL) de 3%			Dosis (mL) de 5%			Patrón
	50	100	150	50	100	150	50	100	150	
0	9,8	9,7	9,5	9,7	9,4	9,9	9,5	9,2	9,5	9,8
7	9,4	7,4	6,8	7,3	7,2	6,2	6,0	5,2	4,9	6,2
14	6,8	5,8	4,4	6,1	4,2	3,1	5,7	4,8	3,1	5,1
21	5,9	4,7	3,8	4,0	3,3	2,9	4,3	3,3	2,6	4,1
28	4,9	4,2	2,3	3,9	2,9	2,4	2,9	2,0	1,3	3,8
35	2,9	2,4	2,1	3,0	2,5	1,8	2,7	1,6	1,1	3,6
42	2,5	2,1	1,5	2,3	1,6	1,3	2,0	1,4	0,9	3,4
%Disminución	74,5	78,7	84,6	75,9	83,0	87,2	78,9	84,8	90,9	65,0

Tabla 5. ANOVA multifactorial para la variable %AyG

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Coefficiente-F	P-Valor
A: Tiempo	419,475	6	69,9125	207,78	0,0000
B: Dosis	17,9203	2	8,96016	26,63	0,0000
C: Porcentaje de Disolución	14,8384	2	7,41921	22,05	0,0000
RESIDUOS	17,4968	52	0,336477		
TOTAL (CORREGIDO)	469,731	62			

Se observa una disminución en el %AyG en cada unidad experimental al transcurrir el tiempo, incluso en la muestra patrón la cual no fue tratada con extracto. El porcentaje de disminución de %AyG siempre fue mayor en las unidades experimentales que fueron tratadas con el extracto, en comparación con la muestra patrón.

Resultados del análisis estadístico

En la Tabla 5 se muestra el resultado del análisis de varianza (ANOVA multifactorial) aplicado con los valores obtenidos.

Se destaca en la tabla 5 que según el resultado del Valor-P de la tabla ANOVA (< 0,05), todos los factores estudiados tienen influencia estadísticamente significativa sobre la variable dependiente %AyG, es decir que el comportamiento de la variable dependiente se ve influenciada por cada una de las variables independientes.

En las Tabla 6, 7 y 8 se muestran los

resultados del análisis de contraste múltiple de rangos aplicando la diferencia mínima significativa de Fisher para cada uno de los tres factores analizados.

Se destaca en la tabla 6 que los valores de %AyG son estadísticamente diferentes hasta el día 28, luego para los días 35 y 42, no existe diferencia significativa, es decir el proceso de biorremediación es eficiente hasta los 35 días a partir de los cuales se mantiene constante.

Se observa que en el caso de la influencia del factor Dosis sobre los %AyG obtenidos, existe diferencia significativa con la aplicación de cada dosis, es decir que por cada 50 mL de extracto aplicado se genera una influencia estadísticamente significativa en los valores de %AyG en el suelo, siendo este factor determinante en la biorremediación.

Tabla 6. Contraste múltiple de rangos para el factor Tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD

Tiempo (Días)	Recuento	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
0	9	9,58		A
7	9	6,71		B
14	9	5,22		C
21	9	3,87	0,19	D
28	9	2,98		E
35	9	2,23		F
42	9	1,73		F

Tabla 7. Contraste múltiple de rangos para el factor Dosis

Método: 95,0 porcentaje LSD

Dosis (mL)	Recuento	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
50	21	5,31		A
100	21	4,52	0,13	B
150	21	4,02		C

Tabla 8. Contraste múltiple de rangos para el factor Porcentaje de Disolución

Método: 95,0 porcentaje LSD

Disolución (%)	Recuento	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
----------------	----------	----------	----------	-------------------

1	21	5,19		A
3	21	4,67	0,13	B
5	21	4,00		C

Se observa en la tabla 8 que al igual que con el factor Dosis, el factor Porcentaje de Disolución tiene una influencia estadísticamente significativa sobre el %AyG, notándose que la cantidad de extracto utilizado en la disolución influye de manera importante en el proceso de biorremediación, al igual que la dosis aplicada de cada una.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de la caracterización realizada a las disoluciones formuladas a partir del extracto hidroalcohólico de cáscaras de naranja dulce (*Citrus sinensis*) en agua, muestran que la densidad de las disoluciones disminuye con el aumento de la cantidad de extracto, debido a que el mismo es menos denso y al aumentar su cantidad en la mezcla la densidad disminuye. El valor del índice de refracción se comporta de manera directa al porcentaje de extracto en la disolución, esto debido a que el extracto posee un índice de refracción mayor al del agua, lo que hace que su aumento en la formulación, aumente este parámetro. El pH de todas las disoluciones se mantuvo constante en un valor de 3,9 lo que las caracteriza como líquidos ácidos; este resultado de pH concuerda con el reportado por Cerón-Salazar y Cardona-Alzate (2011) los cuales indican que la cáscara de naranja dulce tiene un pH de $3,93 \pm 0,03$. La composición del extracto de las cáscaras de naranja depende en gran medida del tipo de solvente que se utilice. Cuando se aplican solventes polares (como el caso del agua o de solventes en solución acuosa como los alcoholes) los principales compuestos en el extracto son los flavonoides debido a que son altamente polares (Cartaya, 2001), lo que promueve la solubilización del mismo en agua, haciéndolo ideal para su uso como agente bioestimulador en el proceso de remediación del suelo.

Las características principales de la muestra

de petróleo crudo indican que según su gravedad API, se clasifica como Petróleo Liviano o Ligero (31,1 °API) con una buena viscosidad para su transporte y procesamiento (10,5 cP a 26,3 °C) con una composición estimada de crudo mixto con tendencia a Nafténico según lo que establece la Norma Técnica Colombiana NTC2731, tomando como referencia el valor de VGC de 0,84. El contenido de insolubles en n-hexano indica la cantidad de componentes pesados (tipo asfaltenos) presente en la composición del crudo, lo que es una característica de suma importancia para el estudio de biodegradabilidad, debido a que estos compuestos pesados son difíciles de degradar por los microorganismos del suelo, además se debe tomar en cuenta este porcentaje (0,2%) debido a que este es el límite de %AyG que se puede obtener al usar el n-hexano como solvente. Una causa de la baja biodegradación de asfaltenos por microorganismos podría ser la baja solubilidad en agua, además de que los asfaltenos son compuestos macromoleculares policondensados que resultan en un bajo nivel de biodegradación (Shkidchenko *et al.*, 2013)

El suelo utilizado presenta buenas características para uso agrícola, ya que posee una cantidad muy alta de materia orgánica (Rioja, 2002), lo que lo clasifica como de tipo Molisol, que es un suelo propio de pradera donde la descomposición de las hojas de las gramíneas induce la gran concentración de materia orgánica (SOIL SURVEY STAFF, 2006), una textura franco arenosa arcillosa que le da propiedades de buena porosidad (50%) con densidades propias de suelo de textura fina (Giménez, 2004). El pH indica que se trata de un suelo de características ácidas con pH de 5,5 fuertemente ácido, lo que es característico de las sabanas venezolanas, sobre todo en los llanos orientales donde se observan bajos valores de esta propiedad (López y Ojeda, 1996). El

contenido de aceites y grasas aunque está por encima del valor máximo permitido que es de 1% según norma venezolana Decreto 2635, puede estar influenciado por el contenido de materia orgánica, ya que esta propiedad se refiere a cualquier aceite de origen animal, vegetal o mineral que esté presente en el suelo y que puede ser extraído con hexano, según lo establecido en la norma EPA Method 9071B. Con respecto al color, según lo establecido en la escala Munsell, el suelo seco presenta un color pardo, el cual se vuelve más oscuro al humedecerse.

Los resultados de la monitorización del porcentaje de aceites y grasas (%AyG) en cada una de las unidades experimentales definidas en el estudio muestran que éstos disminuyeron en todos los casos al aumentar el tiempo, incluso en la unidad patrón la cual no fue tratada. En la unidad patrón se reportó un porcentaje de disminución de 65,0% lo que indica una buena capacidad del suelo para remediarse por atenuación natural, indicando esto que los microorganismos presentes en el suelo son capaces de biodegradar los hidrocarburos, lo que puede ser estimulado por el alto contenido de materia orgánica, ya que la misma provee de una fuente de energía para los procesos metabólicos de los microorganismos (López, 2007); pero el menor %AyG obtenido fue de 3,4: el cual está por encima del valor máximo establecido en las normativas ambientales venezolanas para suelos y desechos (Decreto 2365) la cual establece que debe ser máximo 1%. En todas las muestras tratadas el porcentaje de disminución de %AyG fue superior al de la unidad patrón notándose que los porcentajes de disminución para una misma disolución es directamente proporcional a la cantidad (Dosis) aplicada, siendo la dosis de 150 mL la que reportó los mayores porcentajes de disminución, llegándose a obtener para el caso de la disolución al 5% un valor menor al establecido en el Decreto 2635, de 0,9 %AyG. Esto confirma la efectividad de los productos aplicados como bioestimulantes para la remediación del suelo, el cual por poseer hidrocarburos polares y solubles en

agua proveen de una fuente de energía adicional a los microorganismos (Torres y Zuluaga, 2009)

Los resultados en la tabla 5 indican que los tres factores en estudio tienen influencia estadísticamente significativa sobre el porcentaje de aceites y grasas con un nivel de confianza de 95%, es decir, los resultados de %AyG fueron influenciados por el tiempo, la cantidad de extracto de cáscaras de naranja dulce en la disolución y la dosis aplicada. Una vez realizados los contrastes de rango se observa en la tabla 6 como la disminución de %AyG con el tiempo es estadísticamente significativa hasta el día 35 a partir del cual se hace no significativa debido a que el valor obtenido en este tiempo y a los 42 días son estadísticamente iguales. Respecto a la influencia de los factores Dosis y Porcentaje de Disolución (tablas 7 y 8) el contraste de rangos indica que es significativo, es decir que la variación de estos factores provoca un efecto sobre el %AyG. Estos resultados estadísticos demuestran que la aplicación del extracto de cáscaras de naranja dulce (*Citrus sinensis*) actúa como bioestimulador y se debe tener presente el porcentaje de éste en la disolución y la cantidad aplicada, así como el tiempo de exposición al suelo contaminado con petróleo crudo liviano.

CONCLUSIONES

Según lo obtenido en la investigación el suelo de sabana con textura franco arenosa arcillosa contaminado con un petróleo crudo liviano tiene una buena capacidad de biorremediación por atenuación natural, pero el proceso se acelera al aplicar extracto de cáscaras de naranja dulce (*Citrus sinensis*) como bioestimulante.

Se determinó que para las condiciones de este estudio, el porcentaje de aceites y grasas va disminuyendo con el tiempo hasta el día 35 a partir del cual no hay cambio significativo.

Se demostró mediante un análisis ANOVA que la cantidad de extracto de cáscaras de naranja dulce (*Citrus sinensis*) presente en la disolución y la cantidad o dosis aplicada tiene influencia significativa en el porcentaje de

aceites y grasas presentes en el suelo contaminado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASTM D287. (2012). Standard Test Method for API Gravity of Crude Petroleum and Petroleum Products (Hydrometer Method). ASTM International, West Conshohocken, PA, USA

ASTM D891. (2009). Standard Test Methods for Specific Gravity, Apparent, of Liquid Industrial Chemicals. ASTM International, West Conshohocken, PA, USA

ASTM D1218. (2012). Standard Test Method for Refractive Index and Refractive Dispersion of Hydrocarbon Liquids. ASTM International, West Conshohocken, PA, USA

ASTM D2501. (2014). Standard Test Method for Calculation of Viscosity-Gravity Constant (VGC) of Petroleum Oils. ASTM International, West Conshohocken, PA, USA

ASTM D2196. (2010). Standard Test Methods for Rheological Properties of Non-Newtonian Materials by Rotational Viscometer, ASTM International, West Conshohocken, PA, USA

ASTM D6560. (2012). Standard Test Method for Determination of Asphaltenes (Heptane Insolubles) in Crude Petroleum and Petroleum Products. ASTM International, West Conshohocken, PA, USA

Bravo, M. (2007). Los impactos de la explotación petrolera en ecosistemas tropicales y la biodiversidad. Acción Ecológica Ecuador. Página web en línea. Disponible en http://www.inredh.org/archivos/documentos_ambiental/impactos_explotacion_petrolera_esp.pdf.

Cano, A. (2000). Manual de Prácticas de la Materia Edafología. Gobierno del Estado de Chiapas. Chiapas, México.

Cartaya, O. (2001). Obtención y caracterización del complejo de bioflavonoides del limón (CBL) de diferentes fuentes cítricas. Tesis de Maestría en Química Orgánica, Universidad de la Habana, Facultad de química. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana, Cuba.

Cerón-Salazar, I., Cardona-Alzate, C. (2011). Evaluación del proceso integral para la obtención de aceite esencial y pectina a partir de cáscara de naranja. "Revista Ingeniería y Ciencia", 7(13), 65-86

Galván, L., Reyes, R., Guédez, C., De Armas, D. (2007). Los macroprocesos de la industria petrolera y sus consecuencias ambientales. "Revista Universidad, Ciencia y Tecnología", 11(43), 91-97

Giménez, R. (2004). Física del Suelo. Cátedra de Edafología. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Tucumán. Tucumán, Argentina

Hernández, J. (2007). Métodos para el Análisis Físico de los Suelos. Manual de Laboratorio. Instituto Nacional de Ciencias Agrarias (INCA). La Habana, Cuba

López, D., Ojeda, A. (1996). Alternativas en el manejo agroecológico de los suelos de las sabanas del norte de Suramérica. "Revista ECOTRÓPICOS", 9(2), 101-117

López, A. (2007). Biorremediación y fitorremediación en suelos contaminados. Real Academia

Nacional de Farmacia. Madrid, España. Página web en línea. Disponible en <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/view/598>

Munsell Color Co. (1994). Munsell Soil Color Charts. U.S. Dept. Agriculture Handbook 18-Soil Survey Manual, New York, USA

Rioja, L. (2002). Apuntes de Fitotecnia General. Escuela de Ingenieros Agrónomos de Ciudad Real E.U.I.T.A. Ciudad Real. Universidad de Castilla-La Mancha, España

Shkidchenko, A., Akhmetov, L., Gafarov, A. (2013). Degradation of asphaltenes by individual oil-utilizing aerobic bacterial strains. "Revista Ciencias Naturales", 1(1), 251-259

SOIL SURVEY STAFF. (2006). Keys to Soil Taxonomy. United States Department of Agriculture. Natural Resources Conservation Service, Washington, D.C. USA

Torres, K., Zuluaga, T. (2009). Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos. Tesis de Grado de Ingeniería Química, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia

Volke, T., Velasco, J. (2004). Tecnologías de remediación para suelos contaminados con metales. Instituto Nacional de Ecología. México D.F. México. Página web en línea. Disponible en http://www.inecc.gob.mx/descargas/dgcenica/metales_ei2004.pdf

Zagal, E., Sadzawka, A. (2007). Protocolo de Métodos de Análisis para Suelos y Lodos. Universidad de Concepción Facultad de Agronomía. Chillán, Chile

Este documento debe citarse como: Marín Velásquez, T. (2017). **Extracto hidroalcohólico de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) como bioestimulador en un suelo de sabana contaminado con petróleo.** Ingeniería, Revista Académica de la FI-UADY, 21-2, pp. 1-10, ISSN 2448-8364.