

Application of bacteria for the bioremediation of soils contaminated with hydrocarbons: a review of the scientific literature

Braulio Estefano Galvez Araujo¹, Yamilet Mileny Ramos Chanca¹

¹ Universidad Privada del Norte (UPN), Av. Tingo María 1122, Cercado de Lima, Perú, estefanogalvezara@gmail.com, yamileny1999@gmail.com

Abstract– Hydrocarbon pollution is a problem that seriously affects the biosphere constantly as a result of the oil industries, causing changes in the physical and chemical properties of the soil, contaminating groundwater and ultimately dissipating all forms of life necessary for an ecosystem. Given this, a systematic review was carried out on the application of bacteria for the bioremediation of soils contaminated with hydrocarbons globally, according to research journals published in scientific databases in the last 10 years, using the PRISMA methodology; in order to know what evidence exists on the use of bacteria in the bioremediation of soils contaminated by cycloalkanes. Information from undergraduate theses, articles and magazines indexed in Alicia, Dialnet, Redalyc, University Repositories, Scielo, Science Direct, Scopus was used considering the period 2013 - 2023 and in Spanish, Portuguese, and English. As a result, it was obtained that there is a diverse category of bacteria with different removal percentages. It is concluded that Pseudomonas and Bacillus present an efficiency where the percentage of hydrocarbon removal varies between 75% - 97% to reduce the contaminant present in the soil, these genera of bacteria being the most used in the field of bioremediation.

Keywords– bioremediation, bacteria, hydrocarbons, soils.

Digital Object Identifier: (only for full papers, inserted by LACCEI).
ISSN, ISBN: (to be inserted by LACCEI).
DO NOT REMOVE

Aplicación de bacterias para la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos: una revisión de la literatura científica

Resumen– *La contaminación por hidrocarburos es un problema que afecta gravemente a la biósfera de manera constante a raíz de las industrias petroleras, provocando cambios en las propiedades físicas y químicas del suelo, contaminando aguas subterráneas y terminando de disipar toda aquella forma de vida necesaria para un ecosistema. Ante ello, se llevó a cabo una revisión sistemática sobre la aplicación de bacterias para la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos a nivel global, de acuerdo con las revistas de investigación publicadas en bases de datos científicas en los últimos 10 años, utilizando la metodología PRISMA; con la finalidad de conocer, qué evidencias existen sobre el uso de bacterias en la biorremediación de suelos contaminados por cicloalcanos. Se empleó información de tesis de pregrado, artículos y revistas indexadas en Alicia, Dialnet, Redalyc, Repositorios universitarios, Scielo, Science Direct, Scopus considerando el periodo 2013 - 2023 y en los idiomas español, portugués e inglés. Como resultado, se obtuvo que existe una diversa categoría de bacterias con diferentes porcentajes de remoción. Se concluye que las *Pseudomonas* y *Bacillus* presentan una eficacia donde el porcentaje de remoción de hidrocarburos varía entre 75% - 97% para reducir el contaminante presente en el suelo, siendo estos géneros de bacterias las más utilizadas en el ámbito de la biorremediación.*

Palabras claves– *biorremediación, bacteria, hidrocarburos, suelos.*

I. INTRODUCCIÓN

El uso del petróleo y sus derivados son importantes fuentes económicas y energéticas para las actividades industriales [1]. Esta actividad se ha incrementado por la elevada demanda energética que existe actualmente, trayendo constantes accidentes ambientales, teniendo como causa principal los derrames de combustibles fósiles en el suelo durante su extracción, producción y transporte [2]. Parte de los derrames de hidrocarburos que ocurren en el suelo alteran el sustrato originario, componente que permite el crecimiento de la vegetación, exponiendo al suelo a la erosión y lixiviación, ocasionando la pérdida de fertilidad y el bajo rendimiento de regeneración durante tiempos prolongados [3], estos derrames tienen una amplia distribución geográfica en los últimos años, perjudicando diversos ecosistemas [4]. Desde este contexto, se ha realizado la siguiente revisión sistemática debido a las constantes afectaciones que tienen las industrias petroleras en la extracción de los hidrocarburos y que, con ineficaces métodos de contingencia provocan daños a nivel ecológico en los suelos de la zona afectada, así como problemas de salud hacia los pobladores aledaños al derrame [5].

La contaminación del suelo está ubicada como tercero de afectaciones en Europa y EuroAsia, cuarta en África del Norte, quinta en Asia, octavo en Norteamérica y novena en Latinoamérica [6]. Por otra parte, la contaminación por hidrocarburos ejerce efectos negativos dentro del suelo por los

minerales tóxicos, afectando sus propiedades fisicoquímicas [7] asimismo, el derrame origina deterioro estructural, pérdida del contenido de materia orgánica y pérdida de la microbiota autóctona del suelo [8]. Desde la perspectiva edafológica, el suelo contaminado por hidrocarburos es aquel que presenta alteraciones en el equilibrio de sus propiedades físicas, químicas y biológicas [9], debido a los accidentes ambientales de actividades antrópicas que representan un riesgo, tanto en el sitio afectado como en sus alrededores.

Una alternativa para abordar este tipo de contaminación es la biorremediación con bacterias, debido a que poseen un mayor porcentaje de crecimiento en corto tiempo y pueden ser modificadas genéticamente para sobrevivir a diversas condiciones ambientales, siendo muy significativo su efecto degradador [10]. Samame [11] explica que los consorcios microbianos metabolizan el petróleo hasta compuestos orgánicos, agua y dióxido de carbono. Este estudio empleó la bacteria *Pseudomona putida* que obtuvo una remoción del 21% de los hidrocarburos aromáticos, sin generar impactos significativos en los parámetros analizados ni en la fertilidad del suelo. Además, para biorremediar la calidad de suelo alterado por hidrocarburos, es crucial la selección del microorganismo. Se sugiere realizar una caracterización de las cepas bacterianas para identificar el método más efectivo según las condiciones específicas del suelo que se desea remediar, como se muestra en el estudio de Ochoa [12], que mediante tres tratamientos bacterianos se obtuvo una remoción de hasta 86%. Suarez [13] explica que la utilización de la bacteria va a depender de su capacidad degradativa frente al contaminante, el tiempo de contacto con el hidrocarburo, el entorno ambiental en el que se desarrollan, la clasificación del contaminante y las características fisicoquímicas del suelo.

Otro beneficio de la técnica de biorremediación a comparación con otras tecnologías es que presenta un coste menor; además, contiene una menor intrusión en la zona afectada y, por lo tanto, durante el proceso de degradación de los productos contaminantes, presenta un daño ecológico menos significativo [14]. Mediante esta técnica de tratamiento se puede aplicar la bioestimulación (gases que promueven la proliferación de las bacterias) o bioaumentación (bacterias que catabolizan los contaminantes). Con la finalidad de degradar la mayor cantidad de cadenas de hidrocarburos, causando un efecto positivo en las propiedades del suelo, recuperando la microbiota originaria de la misma, restaurando la cobertura vegetal sin ningún tipo de afectaciones en su condición natural y permitiendo al suelo seguir cumpliendo sus funciones ecológicas de manera óptima [15].

II. METODOLOGÍA

La presente revisión sistemática ha sido elaborada utilizando la metodología PRISMA, y los resultados parten del objetivo general de la investigación: describir la efectividad que existe sobre la aplicación de bacterias para la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos a nivel mundial, de acuerdo con las revistas de investigación publicadas en base de datos científicos en el periodo 2013 - 2023.

A. Criterios de selección

En primer lugar, se tomó en cuenta investigaciones con información relevante acerca del uso de bacterias en suelos contaminados con hidrocarburos. Por este motivo, se optó el uso de fuentes principales como artículos científicos, tesis de pregrado y repositorios, que abarquen información detallada y cumplan con el nivel de autenticidad correspondiente a su idioma entre los años 2013 - 2023. En cuanto a la exclusión, se consideró lo siguiente: a) Trabajos de revisiones sistemáticas que no abarcan el tema de investigación, b) Trabajos sin acceso al artículo completo, c) Trabajos no establecidos en el rango de tiempo seleccionado.

B. Recursos de información

Para la indagación científica se usaron un conjunto de bases de datos confiables que facilitaron la recopilación de información relevante. Además, se obtuvieron artículos de revistas como la Revista Científica de Ecología y Medio Ambiente, World Journal of Microbiology and Biotechnology. (Ver tabla I).

TABLA I
TOTAL DE ARTÍCULOS CIENTÍFICOS Y TESIS ENCONTRADOS

Bases de datos	Año de la publicación										Inclusión de artículos y tesis	
	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022		2023
Alicia						1						1
Dialnet			1									1
Google Académico		1	2		1	2	3		1			10
Proquest							1					1
Redalyc		1					1					2
Repositorios Universitarios	1	2		3	1	2		2	2	3		16
Scielo	2	1	1	1		2		2	1	2		12
Science Direct			1					1	3			5
Scopus					1		1			1	2	5
Web Of Science	1			1								2
Total	4	5	5	5	3	7	6	5	7	6	2	55

Nota: se utilizaron 10 bases de datos con fuentes científicas del periodo 2013-2023.

C. Estrategia de Búsqueda

Se tomó en consideración la selección de palabras claves como “biorremediación de hidrocarburos”, “impacto de hidrocarburos en suelo”, “biorremediación con bacterias”, “bacterias biorremediadoras en suelo”; junto con la utilización de conectores AND, NOT Y OR en palabras claves como: biorremediar bacteria AND soil, bacterial bioremediation AND hydrocarbons, degradation AND hydrocarbons, bioremediation NOT plants AND spill, hydrocarbons NOT rivers, hydrocarbons NOT ocean, bacteria AND hydrocarbons. Priorizando el rango de tiempo establecido y que respondan a la pregunta de investigación planteada, obteniendo un total de 55 fuentes de investigación.

D. Descarte e inclusión

Para establecer una mayor eficiencia en la selección se utilizaron los siguientes criterios para el descarte e inclusión: a) Título de la investigación, b) Fecha de publicación, c) Revista de publicación, d) Procedimiento usado para el análisis de investigación, e) Análisis crítico de aportes y errores en la investigación. Esto se puede observar en la tabla II donde se muestran las fuentes de datos según los criterios de descarte e inclusión establecidos, obteniendo un total de 44 referencias.

TABLA II
ANÁLISIS Y CLASIFICACIÓN DE ARTÍCULOS Y TESIS

Base de datos	Descarte Artículos y tesis	Artículos y tesis finales después de la revisión
Alicia	0	1
Dialnet	0	1
Google Académico	2	8
Proquest	1	0
Redalyc	0	2
Repositorios Universitarios	2	14
Scielo	2	10
Science Direct	3	2
Scopus	0	5
Web Of Science	1	1
Total	11	44

Nota: las fuentes que no siguen el lineamiento del objetivo general se encontraron en 5 bases de datos, siendo Science Direct el que presentaba una mayor cantidad.

E. Selección de Datos

Después de la selección de fuentes de las diversas bases de datos, estas fueron revisadas en una matriz con los siguientes criterios: a) base de datos, b) objetivos de las investigaciones, c) metodología e instrumentos de selección de datos, d) resultados y conclusiones; de las cuales no debían sobrepasar el límite de tiempo propuesto de (10 años de antigüedad).

III. RESULTADOS

A. Proceso de Selección de Artículos Científicos

La consulta de investigaciones se realizó en 10 bases de datos: Alicia, Dialnet, Proquest, Google Académico, Redalyc, Scopus, Scielo, Science Direct, Web of Science y de repositorios Universitarios. Se obtuvieron 55 resultados entre artículos científicos y tesis; se aplicaron los criterios de descarte e inclusión en las investigaciones seleccionadas dentro del periodo 2013-2023, obteniendo un total de 44 artículos de investigación auténticos que fueron adaptados en un diagrama de flujo prediseñado para la metodología PRISMA (Ver la figura 1).

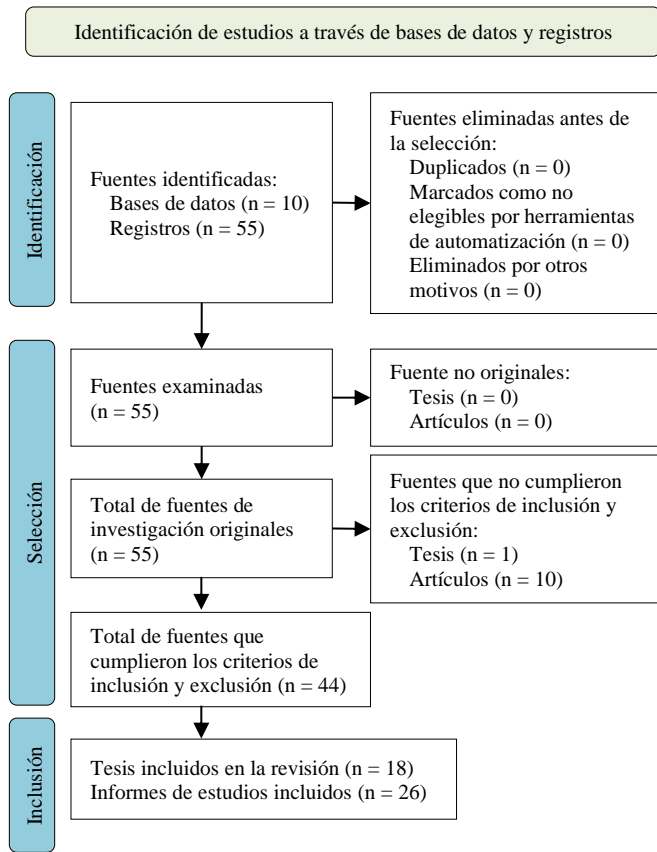


Fig. 1 Diagrama de flujo Prisma. [16]

Nota: La letra “n” representa el número o cantidad de artículos y tesis recolectados en la revisión sistemática.

A partir de lo descrito, los artículos se sintetizaron mediante la cantidad de fuentes seleccionadas, donde se observó que la base de datos de Scielo incluye la mayor cantidad de artículos científicos con 10 y Web of Science la menor cantidad con 1 artículo. (Ver figura 2).

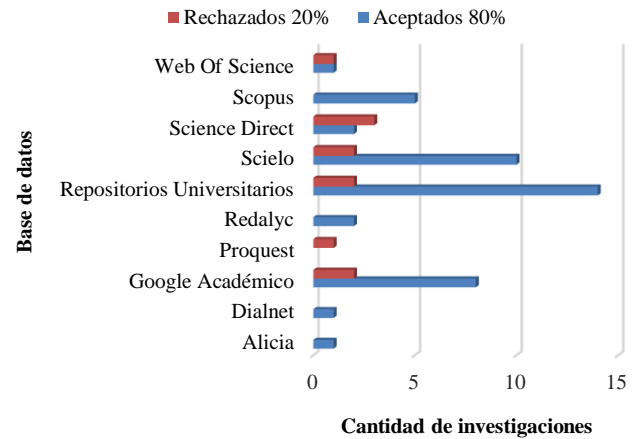


Fig. 2 Cantidad de investigaciones rechazadas y aceptadas según la base de datos

Nota: se tuvo un mayor porcentaje en las investigaciones aceptadas con un 80%, la base de datos que más resaltaba en cuanto a la cantidad son los repositorios universitarios.

B. Características de los estudios

Las bases de datos que más aportaron para la inclusión de investigaciones científicas en términos de porcentaje: Scielo con 23% de aportaciones, seguido de Google Académico con 18%, Scopus con 11%, Science Direct con 5%, Redalyc con 5%; Web of Science, Alicia y Dialnet con 2% cada una y los repositorios representaron un 32% de fuentes relevantes para la investigación (Ver figura 3).

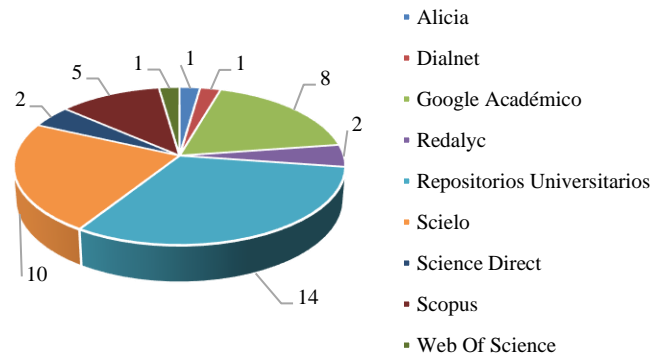


Fig. 3 Cantidad de investigaciones seleccionadas por cada base de datos

En la tabla III se muestran las 44 investigaciones científicas incluidas para la revisión sistemática del cual se realizó la clasificación temporal. Las fuentes del 2013 y 2014 equivalen un 14%; las publicaciones del 2015, 2016 y 2020 representan un 27%; las investigaciones del 2017 representan un 2%; las del 2019 y 2021 un 11%; las publicaciones del 2018 un 16%; las publicaciones del 2022 un 14% y las del 2023 un 5%. (Ver tabla III)

TABLA III
ANÁLISIS Y CLASIFICACIÓN DE ARTÍCULOS Y TESIS

Año de publicación	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	Total
Cantidad	3	3	4	4	1	7	5	4	5	6	2	44
Total (%)	7	7	9	9	2	16	11	9	11	12	5	100

Nota: Caracterización de los documentos según el año de publicación, la cantidad de estudios con su representación en porcentaje.

Asimismo, según el tipo de investigación científica de las 44 fuentes incluidas, 27 fuentes de investigación fueron de artículos científicos representando un 61% y los 17 restantes fueron tesis seleccionadas de las diferentes bases de datos equivalentes a un 39% del total de investigaciones utilizadas para la revisión sistemática. (Ver figura 4)

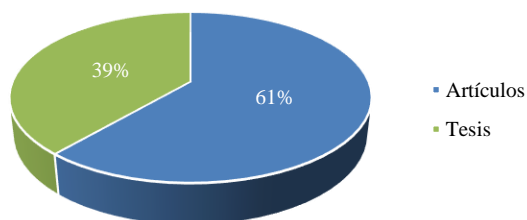


Fig. 4 Porcentaje de trabajos de investigación encontrados por cada base de datos

Nota: El mayor porcentaje es de artículos científicos.

Para la clasificación del idioma de las fuentes seleccionadas, se determinó que el 61% de los artículos científicos, 9 están redactados en inglés y 18 en español. Además, el 39%, corresponde a 18 tesis, de las cuales 16 presentan en español y 1 en inglés (Ver figura 5).

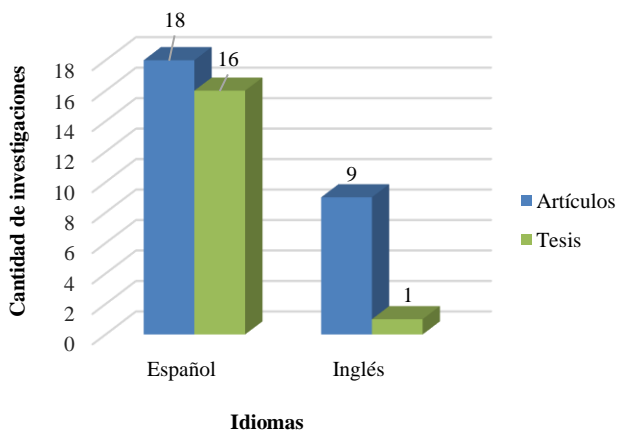


Fig. 5 Trabajos de investigación clasificados según el idioma publicado

Nota: El idioma con mayor predominancia en las bases de investigaciones es el español.

C. Análisis global de los estudios

De acuerdo con las fuentes de investigación seleccionadas, se identificó un total de 44 géneros de bacterias con la capacidad de degradar diversos tipos de hidrocarburos, entre ellas tenemos las del género *Acidovorax*, *Acinetobacter*, *Alkaligenes*, *Actinobacteria*, *Acidophilus*, *Alteromonas*, *Burkholderia*, *Bacilo*, *Bacillus*, *Dietzia*, *Desulfuromonas*, *Escherichia*, *Enterococcus*, *Flavobacterium*, *Geobacillus*, *Klebsiella*, *Lactobacillus*, *Ochrobactrum*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Raultella*, *Streptomyces*, *Stearothermophilus*, *Serratia*, *Sphingomonas*, *Sinorhizobium*, *Stenotrophomonas*, *Nocardioides*, *Pelobacter*, entre otras. Los resultados muestran una tendencia en la utilización de bacterias del género *Pseudomonas* y *Bacillus* para degradar hidrocarburos en suelos del cual, al momento de la aplicación sobre el contaminante de HTP mostraron una remoción de 78% [15]

La utilización de *Pseudomonas* y *Bacillus* representaron frente a HAP una remoción del 98.47% [17]. Mediante la aplicación de las bacterias mencionadas para disminuir el impacto de suelo contaminado de HAP tuvo una remoción del >72,7% y >75. 2%, respectivamente [18].

Las bacterias termófilas del género *Bacillus* pueden biodegradar o biotransformar benzo [a] pireno (BaP), que está identificado como un hidrocarburo potencialmente cancerígeno y mutágeno, a formas menos tóxicas [19].

Algunas bacterias del género *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, han evidenciado tener la capacidad de metabolizar hidrocarburos, ya que estas bacterias utilizan este compuesto orgánico como su fuente de carbono y energía [8].

Por lo tanto, en promedio el porcentaje de efectividad con las bacterias seleccionadas para la revisión sistemática es > 70%, sin embargo, las de género *Pseudomonas* y *Bacillus* tienen un porcentaje de efectividad promedio de >80% [20].

D. Respondiendo al objetivo de la investigación

El objetivo principal es describir la efectividad que existe sobre la aplicación de bacterias para la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos a nivel mundial, de acuerdo con las revistas de investigación publicadas en base de datos científicos en el periodo 2013 - 2023. En la tabla IV, se muestra una comparativa de los resultados obtenidos en las 44 investigaciones científicas seleccionadas para la revisión sistemática, extrayendo los puntos relevantes como: autor, bacterias utilizadas, hidrocarburo biodegradado y porcentaje de remoción. (Ver tabla IV).

TABLA IV
ESTUDIOS INCLUIDOS SOBRE EL PORCENTAJE DE REMOCIÓN
DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS APLICANDO
LAS BACTERIAS

Ref.	Mecanismos de acción (consorcio/individual)	T (°C)	pH	Tipo de bacteria	Hidrocarburo	% de remoción
[15]	Consorcio	30	7.3	<i>Acinetobacter, Bacillus, Enterobacter, Pseudomonas</i>	HTP	78%
[17]	Consorcio	37 - 40	7.5	<i>Pseudomonas aeruginosa, Vibrio (vulnificus, cholerae pacini, parahaemolyticus), Enterococcus (faecalis, faeca, faecium), Streptococcus bovis</i>	HAP	98.47%
[2]	Individual	30	-	<i>Acinetobacter rudis, Proteus terrae, Pseudomonas (koreensis, moraviensis)</i>	HTP	75%, 41.5%, 95%, 90%
[21]	Individual	-	-	<i>Burkholderia, Escherichia, Klebsiella, Proteobacteria</i>	HAP	10%, 30%, 41.5%, 40%
[18]	Individual	-	-	<i>Bacillus Pseudomonas</i>	HAP	72,7% - 75.2%
[22]	Individual	26	8.1	<i>Pseudomonas sp. Mt1a3</i>	HTP	86,98%
[23]	Individual	25	-	<i>Rhodococcus sp. strain</i>	TPH	66%
[24]	Consorcio	-	-	<i>Mycobacterium sp. Y Pseudomonas</i>	HAP	66%
[25]	Consorcio	-	-	<i>Pseudomonas (koreensis, moraviensis, prosekii)</i>	TPH	57,7 %
[26]	Consorcio	25	7.1	<i>Achromobacter xylooxidans, Acinetobacter sp, Alkanindiges, Alteromonas, Arthrobacter mysorensis, P. aeruginosa</i>	TPH, Fenantreno, Fenol, Fluoranteno, Pireno (HAP's)	75%
[27]	Consorcio	28	8	<i>P. alcaliphila y caldo de cultivo de P. alcaliphila,</i>	Alifáticos, Alcanos y Fenol	87,14%

[28]	Individual	30	7.1 - 7.3	<i>Pseudomonas / Bacillus</i>	TPH	95,82% - 91,83%
[29]	Individual	28	7.1	<i>Stenotrophomonas maltophilia.</i>	HT	95.2%
[30]	Consorcio	25	-	<i>Hydrogenophaga, Sphingomonas, Novosphingobium, Acidovorax, y Pseudomonas (Gammaproteobacteria)</i>	HAP's	67,8%
[31]	Consorcio	-	6 - 8	<i>Pseudomonas, Burkholderia, Sphingomonas, Rhodococcus, Mycobacterium o Flavobacterium, Agrobacterium, Bacillus</i>	HAP's, benzo(a)pireno	70%
[32]	Consorcio	26	5	<i>Azotobacter spp. y Azospirillum spp.</i>	TPH	71 %
[33]	Consorcio	28	-	<i>Pseudomonas y Stenotrophomonas</i>	HAP's, Tolueno y benceno	99,9%
[4]	Individual	-	-	<i>Acinetobacter, Pseudomonas aeruginosa</i>	TPH	47.1% - 19.8%
[34]	Individual	-	7.7	<i>Bacillus subtilis</i>	TPH	85%
[9]	Individual	30	7.0, 6.9, 7.0	<i>T1 Suelo + Trichoderma sp, T2 Suelo + P. fluorescens y T3 Suelo con Trichoderma sp + P. fluorescens</i>	TPH	98.3%, 99%, 99.1%
[35]	Consorcio	-	-	<i>P. aeruginosa, Bacillus (subtilis, cereus y megaterium)</i>	HTP, Asfaltenos, HAP's	84,2%
[36]	Consorcio	27	5 - 9	<i>Escherichia coli, P. aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii y Enterococcus faecalis.</i>	Benzoapieno	91,3%
[37]	Consorcio	19.4	7.4	<i>Lactobacillus (crispatus, jensenii, iners, acidophilus y delbrueckii), Staphylococcus aureus y Streptococcus agalactiae</i>	HC	70,4%

[38]	Consorcio	-	6.4	<i>Bacillus (cereus, subtilis, megaterium), Enterobacter aerogenes, Klebsiella oxytoca, Pseudomonas aeruginosa y Staphylococcus saprophyticus</i>	HAP's	60% - 71%
[39]	Individual	27	-	<i>Pseudomonas aeruginosa y Bacillus subtilis</i>	HAPs, Naftalen, HTP's	25% y 85%
[40]	Consorcio	30	4.5	<i>Desulfuromonas (25.4%), Nocardioides (19%), Pelobacter</i>	HAPs, Naftaleno, HTPs	53%
[41]	Individual	28	-	<i>Bacillus thuringiensis</i>	HAPs, HT	75 - 90%
[42]	Consorcio	35	5	<i>Las cepas de Bacillus, a saber, Bacillus pumilus KS2 y B. cereus R2</i>	HAP's, TPH	84,15%
[3]	Individual	37	6 - 8	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	HAP's, TPH's	99,25% - 97,50%
[43]	Individual	35	7.2	<i>P. putida, Acinetobacter baumannii</i>	HAP's, TPH's	51,94% y 57,14%
[44]	Consorcio	27	6.6	<i>Ochrobactrum anthropi y bacterias hidrocarburolíticas</i>	HTP	64.93% y 57.89%
[45]	Consorcio	27	7.1	<i>Serratia sp., Pseudomonas, Bacillus sp., Enterobacter sp. y Raoultella sp</i>	HC	30%
[14]	Consorcio	-	-	<i>Sphingobium, Sphingomonas, Acidovorax, Alkaligenes, Actinobacteria, Rhizobium sp., Burkholderia sp., Pseudomonas sp., Sinorhizobium y Stenotrophomonas</i>	HC	80% - 98.9%
[12]	Consorcio	35	7.5 - 7.8	<i>Streptomyces y un bacilo gram + B8</i>	TPH y HAPs	98.9%

[46]	Consorcio	30	-	<i>Pseudomonas aeruginosa, P. luteola, Sphingomonas paucimobilis y P. fluorescens.</i>	Diesel	40,3%
[11]	Individual	30	7.52 - 7.05	<i>Pseudomonas Putida y Penicillium Sp.</i>	TPH's.	26% y 53%
[10]	Consorcio	37	6 - 8	<i>Pseudomonas, Rhodococcus, Bacillus, Achromobacter, Nocardia.</i>	HAP	60%
[13]	Individual	20 - 30	6 - 8	<i>Bacillus</i>	TPH	63,4%
[47]	Consorcio	30	5,5	<i>Pseudomonas, Acinetobacter, Rhodococcus, Microbacterium, Arenibacter, Dietzia, Georgania, Nocardioides y Pseudoxanthomonas</i>	TPH	50% - 94,5 %
[48]	Consorcio	20 - 35	6 - 8	<i>Pseudomonas (putida y fluorescens)</i>	HTP, HPA's	82.38%
[1]	Individual	40	-	<i>Pseudomonas</i>	TPH	80%
[49]	Individual	37 - 50	5.5 - 7.5	<i>Bacillus y Pseudomonas</i>	HTP Y HAP	75% - 89%, 80% - 86.11%
[50]	Individual	45	7	<i>Geobacillus stearothermophilus A-2, Bacillus subtilis YB7, Bacillus methylotrophicus USTBa, Pseudomonas sp BP 10, Bacilo subtilis BL-27</i>	Hexadecano, Petróleo crudo	83.9%, 72-95%, 62,0%, 70%, 35%
[51]	Individual	20 - 40	-	<i>Microbacterium</i>	TPH	58.08%

Nota: La bacteria más usada en la remoción de hidrocarburos son las *Pseudomonas sp.* donde su mayor porcentaje de remoción llegó a 99.25%

IV. CONCLUSIONES

Durante la presente revisión sistemática, se consultaron diversas fuentes de investigación empírica, incluyendo tesis y artículos, seleccionados bajo ciertos criterios. Estas fuentes proporcionan ideas relevantes para abordar el objetivo central de la investigación. A pesar de encontrar algunas dificultades, se logró reunir y extraer la siguiente conclusión: el porcentaje de remoción de hidrocarburos mediante bacterias demuestra ser altamente eficaz. Este rendimiento alcanza niveles significativos cuando se utilizan *Pseudomonas* y *Bacillus*. No obstante, estas bacterias pueden ser aún más eficientes al asociarse de forma mutualista con hongos, lo que contribuye a aumentar el porcentaje de remoción en diversas concentraciones de hidrocarburos presentes en el suelo.

En función al objetivo propuesto se concluye que, el empleo de *Pseudomonas* y *Bacillus* como degradadores de hidrocarburos en suelos varía entre 75% - 97%, siendo una óptima alternativa para reducir el impacto ambiental en suelos afectados por derrames de hidrocarburos, además al ser una alternativa natural sin ningún componente químico resulta ser eco amigable con el entorno natural, ya que no trae un efecto o consecuencia adversa a su uso y los costos en su proceso de tratamiento no son altos por lo que es rentable.

Con relación a cómo se llegó a realizar esta revisión sistemática de investigación científica; fue primordial seguir los pasos adecuados, para los criterios de selección, logrando una recopilación bibliográfica apropiada, que se efectuaron durante el periodo de tiempo correspondido de una manera breve y accesible referente al tema de interés del estudio.

Dentro del marco de las limitaciones presentadas en las fuentes de investigación, se encuentra la inaccesibilidad de ciertos documentos para lograr una mayor cantidad de recopilación de datos, el incumplimiento del objetivo principal del estudio de ciertas investigaciones, el rango de años de las publicaciones y la escasez de información sobre el tema seleccionado en otros idiomas, por ser relativamente nuevo. Por ello, se sugiere realizar una exhaustiva revisión en la base de datos y fuentes para que, de esta forma se evite la escasez de artículos y tesis de investigación a nivel nacional o global, asimismo, es indispensable contar con conocimientos y manejo en idiomas como el inglés o tener un método o aplicación tecnológica el cual permita la traducción de los documentos.

Finalmente, se recomienda no solo usar *Pseudomonas* y *Bacillus* como opción biorremediadora para hidrocarburos, ya que existe una extensa taxonomía de microorganismos bacterianos que pueden ser empleados para futuros proyectos de remediación. Adicionalmente, se aconseja a los próximos investigadores que aborden temas similares a la revisión sistemática, que tomen en cuenta parámetros fisicoquímicos (temperatura y pH) ya que es otro factor que influye en el porcentaje de remoción.

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro sincero agradecimiento a nuestras familias por el constante apoyo emocional que fue una fuente inagotable de motivación para culminar esta investigación. Agradecemos también a nuestros profesores por su invaluable guía académica, paciencia y valiosos comentarios que enriquecieron significativamente el desarrollo de este trabajo. Estamos agradecidos por haber contado con su apoyo a lo largo de este desafiante pero gratificante proceso.

REFERENCIAS

- [1] F. Viera Ancajima & D. Yesquen Aldana. "Revisión sistemática: Biopila como técnica de tratamiento para suelos contaminados por crudo de petróleo y derivados". Tesis de posgrado, Fac. Ing. y Arquitectura, Univ. César Vallejo, Lima, Perú, 2022. [En línea]. Disponible: <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/104120>
- [2] R. Castillo Rogel, et al., "Aislamiento de bacterias con potencial biorremediador y análisis de comunidades bacterianas de zona impactada por derrame de petróleo en Condorcanqui - Amazonas - Perú", Rev. investig. Altoandín., vol. 22, no. 3, pp. 215–225, ene. - jul., 2020. Consultado: 27 ene. 2024. [En línea]. Disponible: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2313-29572020000300215&lang=es
- [3] R. Pérez Pozo. "Evaluación de la biorremediación en suelos contaminados con hidrocarburos utilizando *Pseudomonas fluorescens*". Tesis de posgrado, Fac. CC. de la vida, Univ. Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador, 2018. [En línea]. Disponible: <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/15446>
- [4] D. De La Rosa Martínez & R. Rabelo Florez, "Bacterias biodegradadoras de hidrocarburos", Biociencias (UNAD), vol. 2, no. 1, pp. 1–12, nov., 2018. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: <https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/Biociencias/article/view/4331>
- [5] I. Ossai, et al., "Remediation of soil and water contaminated with petroleum hydrocarbon: A review", Environ. Technol. Innov., vol. 17, no. 100526, pp. 100526, feb., 2020. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S235218641830364X>
- [6] I. Rodríguez, et al., "Biorremediación de suelos contaminados con Hidrocarburos". Entre ciencia e Ing., vol. 8, no. 2, pp 89–69, ago., 2019. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.22533/at.ed.4772203089>
- [7] Serrano, M.; Torrado, L. & Pérez "Impacto de los derrames de crudo en las propiedades mecánicas de suelos arenosos", Rev. Cient. Gen. José María Córdova, vol. 11, no.12, pp. 233–244, jul.-dic., 2013. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1900-65862013000200012
- [8] E. Mirzakhani & F. Nejad. "Grasses and *Rhodococcus erythropolis* bacteria for bioremediation of naturally polluted soils with hydrocarbons", Chem. Eng. Technol., vol. 39, no. 9, pp. 1731–1737. jul., 2016. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ceat.201500461>
- [9] S. Muñoz Cuaical. "Evaluación de la eficacia de *Trichoderma sp* y *Pseudomona sp* para biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos". Tesis de posgrado, Fac. CC. de la vida. Univ. Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador, 2016. [En línea]. Disponible: <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/13228>
- [10] D. Sihuacollo Flores. "Biorremediación por microorganismos degradadores de hidrocarburos". Tesis de posgrado, Fac. Med. Humana y Ciencias de la salud, Univ. Alas Peruanas. Lima, Perú,

2015. [En línea]. Disponible: <https://repositorio.uap.edu.pe/handle/20.500.12990/9462>
- [11] I. Samame Pisfil. “*Pseudomonas putida* Y *Penicillium Sp.* para la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos”. Tesis de posgrado, Fac. Ing. y Arquitectura, Univ. César Vallejo, Chiclayo, Perú, 2020. [En línea]. Disponible: https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/55512/Samame_PIS-SD.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- [12] E. Rodríguez Ochoa. “Biorremediación de los suelos contaminados con hidrocarburos provenientes de la Estación de Secoya utilizando un consorcio bacteriano aerobio a escala de laboratorio”. Tesis de posgrado, Fac. CC., Esc. Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador, 2018. [En línea]. Disponible: <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/10468>
- [13] R. Suarez Beltrán. “Guía de métodos de biorremediación para la recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos”. Tesis de posgrado, Fac. Ing. Amb., Univ. Libre, Bogotá, Colombia, 2013. [En línea]. Disponible: https://repositorio.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/10607/TR_ABAJO%20FINAL%20cd.pdf
- [14] A. Rodríguez Gonzales, S. Zárate Villarro, y A. Bastida Codina, “Biodiversidad bacteriana presente en suelos contaminados con hidrocarburos para realizar biorremediación”, *Rev. Cienc. Ambient.*, vol. 56, no. 1, pp. 178–208, ene.-jun., 2022. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S2215-38962022000100178&script=sci_arttext
- [15] K. Baca Llontop, “Eficiencia de la bioaumentación y bioestimulación en la biodegradación de petróleo por bacterias nativas, provincia de Talara, región Piura”, Tesis de maestría, Esc. Posgr., Univ. Nacional de Trujillo, Piura, Perú, 2019. [En línea]. Disponible: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNIT_e65f9bdfcd1a8e77cf6ca8f60c794b71
- [16] M. J. Page, *et al.*, “The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews”, *BMJ*, vol. 372, no. 71, pp. 9, mar., 2021. [En línea]. Disponible: [10.1136/bmj.n71](https://doi.org/10.1136/bmj.n71)
- [17] M. Castañeda Chávez, *et al.*, “Identificación de especies dominantes en un consorcio microbiano eficiente en la degradación de diésel”, *Rev. Int. Contam. Ambie.*, vol. 38, no. 1, pp. 155–167, ene.-jun., 2021. Consultado: 27 ene. 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.20937/RICA.54235>
- [18] X. Chen Ming, *et al.*, “Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavy metals by composting: applications, microbes, and future research needs”. *Biotechnol. Adv.*, vol. 33, no. 6 pp. 745–55, nov. 2015. Consultado: 27 ene. 2024. [En línea]. Disponible: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26008965/>
- [19] I. Purwanti, *et al.*, “Bioremediation of trivalent chromium in soil using bacteria”, *IJAER*, vol. 12, no. 20, pp. 9346–9350, ago., 2017. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: https://www.ripublication.com/ijaer17/ijaer12n20_17.pdf
- [20] G. Morales Guzmán, “Biorremediación de suelo contaminado con petróleo intemperizado mediante bioestimulación y bioaumentación en presencia de *Clitoria ternatea* L.”, Tesis doctoral, Inst. Enseñanza Investig. En Cienc. Agrícolas, Texcoco, 2017. [En línea]. Disponible: <http://hdl.handle.net/10521/3647>
- [21] J. Ccance Ayamamai “Determinación de bacterias heterótrofas en suelos contaminados con hidrocarburos y su capacidad de tolerar concentraciones crecientes de petróleo in vitro”. Tesis de pregrado, Fac. CC., Univ. Nacional del Altiplano, Puno, Perú, 2018. [En línea]. Disponible: <https://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/3577134>
- [22] D. Conde Molina, *et al.*, “Biorremediación de suelos crónicamente contaminados con hidrocarburos por la cepa autóctona *Pseudomonas sp.* Mt1a3”, *Rumb. Tec.*, vol. 13, no. 1, 37–50, may.-jul., 2021. Consultado: 27 ene. 2024. [En línea]. Disponible: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/164396>
- [23] M. Cubitto & A. Gentili. “Bioremediation of crude oil-contaminated soil by immobilized bacteria on an agroindustrial waste—sunflower seed husks”, *Bioremediat. J.*, vol. 19, no. 4, 277–286, oct. 2015. Consultado: 27 ene. 2024. Recuperado de: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10889868.2014.995376>
- [24] C. García Delgado. “Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos aromáticos policíclicos mediante aplicación de sustrato post-cultivo de champiñón (*Agaricus bisporus*)” Tesis de doctorado, Dpto. Quim. Agric., Univ. Autónoma de Madrid, Madrid, España, 2015. [En línea]. Disponible: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=67002>
- [25] L. Feng, *et al.*, “Petroleum hydrocarbon-contaminated soil bioremediation assisted by isolated bacterial consortium and sophorolipid”, *Environ. Pollut.*, vol. 273, no. 116476, pp. 116476, ene.-jun., 2021. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S026974912100543?via%3DIihub>
- [26] Y. Fukuhara, *et al.*, “Distribution of hydrocarbon-degrading bacteria in the soil environment and their contribution to bioremediation”, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 170, no. 2, pp. 329–339, may.-mar., 2013. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: <https://webofscience.bibliotecaupn.elogim.com/wos/woscc/full-record/WOS:000317924000009>
- [27] A. Ghoniem, *et al.*, “*Pseudomonas alcaliphila* NEWG-2 as biosorbent agent for methylene blue dye: optimization, equilibrium isotherms, and kinetic processes”, *Sci. Rep.*, vol. 13, no. 1, pp. 1–17, mar., 2023. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: <https://www.nature.com/articles/s41598-023-30462-w>
- [28] V. Guzmán, *et al.* “Ensayos de biodegradación de mezclas comerciales de diésel y biodiésel empleando bacterias degradadoras aisladas de suelos contaminados con hidrocarburos de la región de Santa Fe”. Tesis de pregrado, Fac. Ing. Quim., Univ. Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina, 2016. [En línea]. Disponible: <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8443/bitstream/handle/11185/1571/2.3.5.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- [29] N. Hernández. Castellanos. “Establecimiento de un proceso de biorremediación usando *Stenotrophomonas maltophilia*”. Tesis de maestría, Fac. CC. Biológicas y Agropecuarias, Univ. de Veracruzana, Tuxpan, México, 2016. [En línea]. Disponible: https://www.uv.mx/pozarica/mca/files/2019/05/G04_NANCY-DEYANIRA-HERNANDEZ-CASTELLANOS.pdf
- [30] A. Izquierdo Romero. “Biodegradación de HAPs durante la biorremediación aeróbica de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo. Análisis de poblaciones bacterianas y genes funcionales”. Tesis de doctorado, Dpto. Microbiol., Univ. de Barcelona, Barcelona, España, 2013. [En línea]. Disponible: <http://hdl.handle.net/10803/132994>
- [31] V. Jiménez Vélez. “Evaluación de bacterias y hongos potencialmente utilizables para la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos”. Tesis de posgrado, Fac. CC Agrarias., Univ. Agraria del Ecuador, Guayaquil, Ecuador, 2020. [En línea]. Disponible: <https://www.studocu.com/pe/document/universidad-privada-del-norte/microbiologia/jimenez-velez-vilma-cecibel/55513751>
- [32] J. López Jiménez, *et al.*, “*Laguncularia racemosa* (Combretaceae) y bacterias terrestres asociadas medio siglo después de la contaminación crónica por hidrocarburos”. *Rev. Biol. Trop.*, vol. 67, no. 6, pp. 1194–1209, ene.-nov. 2019. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77442019000601194&script=sci_abstract&tlng=es
- [33] R. Lozano Mahecha & K. López López. “Aislamiento y caracterización de bacterias endémicas colombianas con capacidad de degradar tolueno”. *Rev. colomb. biotecnol.* ; vol. 24, no. 1, pp. 6–18, ene.-jun. 2022. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752022000100006&lang=es
- [34] J. Medina, *et al.*, “Biodegradación de petróleo por microorganismos autóctonos en suelos contaminados provenientes de la bahía de Amuay del Estado Falcón”, *Rev. Ing. UC*, vol. 21, no. 1, pp. 62–69, ene.-nov., 2014. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: <https://www.redalyc.org/pdf/707/70732642007.pdf>

- [35] D. Navarrete Carriola, et al., “Producción de biosurfactantes de bacterias con potencial para degradar hidrocarburos”, RCFB, vol. 4, no. 1, pp. 30–30, feb., 2022. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: <https://rcfb.uanl.mx/index.php/rcfb/article/view/392>
- [36] A. Nzila, et al., “Benzo[A]pyrene biodegradation by multiple and individual *mesophilic* bacteria under axenic conditions and in soil samples”, *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 20, no. 3, p. 1855, ene., 2023. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.3390/ijerph20031855>
- [37] D. Núñez Cuartas, D. Paredes Cuervo, et al., “Biorremediación para la degradación de hidrocarburos totales presentes en los sedimentos de una estación de servicio de combustible”, *Rev. Tec. Ing. Univ. Zulia*, vol. 37, no. 1, pp. 20–28, abr., 2014. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: https://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0254-07702014000100004&script=sci_arttext
- [38] M. Ojeda Morales & I. Juárez Palacios, “Biorremediación mejorada con preoxidación química de suelos arcillosos contaminados con petróleo”, *J. Basic Sci.*, vol. 5, no. 15, pp. 82–23, sep.-dic., 2019. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: <https://revistas.ujat.mx/index.php/jobs/article/view/3570>
- [39] D. Ordoñez Burbano, et al., “Biodegradación de hidrocarburos alifáticos saturados por microorganismos aislados de suelo contaminado con derivados del petróleo”. *Revista CC*, vol. 22, no. 2, pp. 33–44, jul.-ag., 2018. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-19352018000200033&lang=es
- [40] J. Ortiz Maya, et al., “Dinámica de poblaciones bacterianas y actividad deshidrogenasa durante la biorremediación de suelo recién contaminado e intemperizado con hidrocarburos”. *Rev. Int. Contam. Ambie.*, vol. 33, no. 2, pp. 237–246, nov.-ago., 2017. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: https://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/view/RI_CA.2017.33.02.05/46658
- [41] O. Patiño Hermoza, H. Robles Castillo, et al., “Biodegradación de petróleo por *Bacillus thuringiensis* como alternativa para la recuperación de suelos agrícolas”, *Arnaldoa*, vol. 28, no. 2, pp. 339–348, may.-ago., 2021. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2413-32992021000200339&script=sci_arttext&tlng=en
- [42] K. Patowary, et al., “Development of an efficient bacterial consortium for the potential remediation of hydrocarbons from contaminated sites”, *Front. Microbiol.*, vol. 7, no. 1, pp. 14, abr.-jul., 2016. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.01092/full>
- [43] D. Pinto Varón & V. Sánchez Vargas. “Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante la utilización de diferentes cepas bacterianas a escala de laboratorio”. Tesis de posgrado, Fac. Ing. Amb., Univ. Libre, Bogotá, Colombia, 2018. [En línea]. Disponible: <https://repository.unilibre.edu.co/handle/10901/15451>
- [44] V. Reyes Solís. “Biorremediación de sedimentos contaminados por hidrocarburos empleando la bacteria *Ochrobactrum anthropi* a diferentes técnicas de estimulación”. Tesis de maestría, Fac. CC. Biológicas y Agropecuarias, Univ. de Veracruzana, Tuxpan, México, 2021. [En línea]. Disponible: <https://cdigital.uv.mx/handle/1944/50624>
- [45] M. Reyes Reyes, et al., “Inmovilización de bacterias potencialmente degradadoras de petróleo crudo en matrices orgánicas naturales y sintéticas”. *Rev. Int. de Contam.*, vol. 34, no. 4, pp. 597–609, oct., 2018. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: https://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/view/RI_CA.2018.34.04.04
- [46] A. Ruiz Marín, J. Zavala Loria, et al., “Aislamiento de bacterias tropicales en suelo de mangle contaminado por hidrocarburos: biorremediación por atenuación natural y bioaumentación”. *Rev. Mex. Ing. Quím.*, vol. 12, no. 3, pp. 553–560, oct., 2013. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1665-27382013000300017&script=sci_abstract&tlng=pt
- [47] N. Tamayo Doria & J. Cariga Plaza. “Aplicaciones de microorganismos para remediar suelos contaminados por petróleo y sus residuos o derivados: Revisión Sistemática, 2021”. Tesis de posgrado, Fac. Ing. y Arquitectura, Univ. César Vallejo, Lima, Perú, 2021. [En línea]. Disponible: <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/66398>
- [48] J. Velásquez Campos & S. León Zamora. “Eficiencia degradadora de hidrocarburos por *Pseudomona putida* y *Pseudomona fluorescens* en suelos contaminados por talleres mecánicos en Carabayllo”. Tesis de posgrado, Fac. CC., Univ. César Vallejo, Lima, Perú, 2022. [En línea]. Disponible: <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/99457>
- [49] R. Vizuete García, A. Pascual-Barrera, et al., “Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos a base de bacterias utilizadas como bioproductos”, *Rev. Lasallista Investig.*, vol. 17, no. 1, 2020, pp. 177-187, mar.-ago., 2020. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479720315735>
- [50] D. Wang, et al., “Biodegradation of petroleum hydrocarbons by *Bacillus subtilis* BL-27, a strain with weak hydrophobicity”, *Molecules*, vol. 24, no. 17, pp. 3021, jul.-ago., 2019. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.3390/molecules24173021>
- [51] B. Zhang, et al., “Bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil by petroleum-degrading bacteria immobilized on biochar”, *RSC Adv.*, vol. 9, no. 60, pp. 35304–35311, 2019. Consultado: 28 ene. 2024. [En línea]. Disponible: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2019/ra/c9ra06726d>