



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

Maestría en Ciencia y Tecnología Ambiental

**Lavado de suelo contaminado de diésel empleando un
biotensoactivo obtenido de *Agapanthus africanus***

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestra en Ciencia y Tecnología Ambiental

Presenta

IA. Dana Yolitzin Martínez Aguilar

Dirigido por:

Dr. Jorge Noel Gracida Rodríguez

Co-Director:

Dr. Arturo Abreu Corona

Querétaro, Qro. a enero de 2023



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales de
Información



Lavado de suelo contaminado de diésel empleando un
biotensoactivo obtenido de *Agapanthus africanus*

por

Dana Yolitzin Martínez Aguilar

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](#).

Clave RI: FQMAC-300271-0323-223



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

Maestría en Ciencia y Tecnología Ambiental

**Lavado de suelo contaminado de diésel empleando un
bietensoactivo obtenido de *Agapanthus africanus***

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Maestra
en Ciencia y Tecnología Ambiental

Presenta

IA. Dana Yolitzin Martínez Aguilar

Dirigido por:

Dr. Jorge Noel Gracida Rodríguez

Co-dirigido por:

Dr. Arturo Abreu Corona

Dr. Jorge Noel Gracida Rodríguez

Presidente

Dr. Arturo Abreu Corona

Secretario

Dr. Aldo Amaro Reyes

Vocal

Dra. Evelyn Zamudio Pérez

Suplente

Dr. Miguel Angel Ramos López

Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

Enero 2023

México

ÍNDICE GENERAL	
Índice de figuras	5
Índice de tablas	6
Resumen	9
1. Introducción	12
2. Antecedentes	13
2.1 Suelo	13
2.1.1 Normatividad para suelo en materia de contaminación	13
2.2 Contaminación por hidrocarburos	14
2.2.1 Contaminación por diésel	14
2.3 Tratamientos para suelos contaminados con diésel	15
2.3.1 Tratamientos biológicos	16
2.3.2 Tratamientos químicos	16
2.3.3 Tratamientos físicos	16
2.3.3.1 Lavado de suelos	17
2.4 Tensoactivos	17
2.4.1 Biotensoactivos	18
2.3.1.1 Saponinas	20
2.5 <i>Agapanthus africanus</i>	21
3. Hipótesis	23
4. Objetivo general	24
4.1 Objetivos específicos	24
5. Metodología	25
5.1 Material biológico y reactivos	25
5.2 Suelo	25
5.3 Obtención de extracto	25
5.3.1 Cromatografía de capa fina (TLC)	26
5.3.2 Grupos funcionales	26
5.3.2.1 FTIR	26
5.3.3 Cuantificación de saponinas	26
Balance lipofílico hidrofílico (HLB)	27
5.4 Evaluación actividad tensoactivo de los extractos	27
5.4.1 Colapso de gota y vida media de la espuma	27
5.4.2 Índice de emulsificación	28
5.4.3 Tensión superficial y concentración micelar crítica	28

5.4.4 Actividad hemolítica	28
5.4.5 Remediación de suelo contaminado	29
5.4.5.1 Sintomatología de la planta y clorofila	29
5.5 Evaluación del lavado de suelos	30
5.5.1 Contaminación e intemperización de suelo	30
5.5.1.1 Propiedades físicas del suelo	30
5.5.1.2 Propiedades químicas del suelo	31
5.5.2 Lavado de suelo	32
5.5.3 Cuantificación de hidrocarburo	32
6. Análisis estadístico	33
7. Resultados y discusión	36
8. Conclusiones	53
9. Referencias	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismos de emulsificación y solubilización de los tensoactivos	18
Figura 2. Estructura química de las saponinas	20
Figura 3. Estructura de las agliconas triterpenoides y esteroidales	20
Figura 4. Flor de <i>Agapanthus africanus</i>	21
Figura 5. ER, ET y EH en placas de cromatografía a 254 nm	38
Figura 6. FTIR del reactivo <i>Quillaja saponaria</i> , EH, ER y ET	39
Figura 7. Colapso de gota en ER, ET, EH, agua y Tween 80	42
Figura 8. Vida media de la espuma de ER, ET y EH	43
Figura 9. Índice de emulsificación de ER, ET y EH	44
Figura 10. Tensión superficial vs concentración de extractos de AA	45
Figura 11. Actividad hemolítica de ET, ER y EH	47
Figura 12. Clorosis y marchitamiento de A. A. en suelo contaminado	48
Figura 13. Remoción de diésel a 6, 12 y 24 h de contacto con el ER de AA	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas del diésel	14
Tabla 2. Aplicaciones de los tensoactivos con base en su HLB	19
Tabla 3. Aporte de grupos en el método de Davies	27
Tabla 4. Diseño experimental 3 ^k de tiempo de contacto contra concentración	33
Tabla 5. Caracterización del suelo para el tratamiento	36
Tabla 6. Cantidad de extracto obtenido en las partes de la planta	37
Tabla 7. Factores de retención de los extractos de AA	38
Tabla 8. Contenido de saponinas en partes vegetativas	40
Tabla 9. Colapso de gota de extractos y controles	41
Tabla 10. Valor de la tensión superficial de los extractos de AA	46
Tabla 11. Actividad hemolítica de los extractos de AA	47
Tabla 12. Contenidos de clorofila a y b en AA	49
Tabla 13. Caracterización de los suelos antes y después del tratamiento	52

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por permitirme cursar este programa.

A mi asesor el Dr. Jorge Gracida por aceptarme como su tesista, guiarme, pero sobre todo por tenerme paciencia durante el desarrollo de la tesis.

A mi comité conformado por el Dr. Abreu, la Dra. Zamudio, Dr. Ramos y el Dr. Amaro por sus aportaciones y sugerencias.

Al Dr. Alejandro, por recibirme en su laboratorio y resolver todas las dudas que tenía.

A mi familia por su apoyo incondicional, en especial a mis padres por respetar y apoyar mis decisiones.

A mi novio por ser mi familia en Querétaro, gracias por siempre tener un consejo que dar, por pensar con claridad, por ser mi compañero de vida y elegirme cada día.

A mis amigos de la MCTA, Gio y Benja, a mis hermanas de la Planta Piloto de Biotecnología, Denisse, Dani, Odette, Mariana, Jessi y Kary, gracias por siempre sacarme una sonrisa.

A Carlos y Paco por su compromiso con el proyecto. También a los chicos de Biotecnología, David, Aldo, Dante, Wendy, Isidoro, Nelly, las Andreas y Elisa por hacer que me diera cuenta de que tengo madera de maestra.

Por último, pero no menos importante, a mí misma, parafraseando a la Dra. Swift: “no son cosas que pierdes sino pasos que das, toma el momento y saboréalo, no hay razón para tener miedo”.

Abreviaturas y siglas

AA	<i>Agapanthus africanus</i>
CMC	Concentración micelar crítica
E ₂₄	Índice de emulsificación
EH	Extracto de hoja
ER	Extracto de raíz
ET	Extracto de tallo
HLB	Balance hidrofílico lipofílico
TS	Tensión superficial
R _f	Factor de retención

Resumen

Los derrames de diésel en México han generado gran cantidad de sitios contaminados que deben ser atendidos. El lavado de suelos con tensoactivos es una de las técnicas que ha reportado una buena remoción de hidrocarburos, sin embargo, existe una preocupación creciente debido al uso de tensoactivos por su naturaleza no biodegradable, es por lo que se ha dirigido la investigación a alternativas biológicas extraídas de microorganismos y plantas, conocidos como biotensoactivos. Estos tienen la característica de reducir la tensión superficial y ser biodegradables. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la remoción de diésel en suelo empleando un biotensoactivo obtenido de *Agapanthus africanus* mediante la técnica de lavado de suelos. La metodología empleada abarcó la extracción con metanol, la semipurificación y caracterización del extracto en función de sus propiedades tensoactivas como colapso de gota, índice de emulsificación y estabilidad de la espuma, debido a sus características, se eligió el extracto de raíz (ER) para el tratamiento. Se realizó la intemperización del suelo a tratar, se caracterizó y contaminó con 50 g/kg de diésel. Posteriormente se realizaron lavados de suelo a 6, 12 y 24 h de tiempo de contacto, así como concentraciones 1, 2 y 3 CMC (concentración micelar crítica). El ER logró remover hasta 94.32 % de diésel (3 CMC-24 h). Sin embargo, los tratamientos de 2 y 3 CMC-12 h son los que cumplen con el límite máximo establecido para suelo industrial/comercial de la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012. La extracción de biotensoactivos de plantas y su uso en el lavado de suelos es una opción viable para remediar suelos contaminados con hidrocarburos.

Palabras clave: Contaminación de suelos, diésel, biotensoactivo, *Agapanthus africanus*, lavado de suelos.

Abstract

Diesel spills in Mexico should be attended, soil washing using surfactants is a technique that has reported high percentages of hydrocarbons remotion, however, there is a constant concern between society about the use of this non-biodegradable products, investigation has been directed to biologic extracts from microorganism and plants known as biosurfactants, these compounds reduce surface tension and are biodegradable. The objective of the present thesis was to evaluate diesel remotion on a contaminated soil using a biosurfactant extract from *Agapanthus africanus* by the technique of soil washing. The methodology covered the extraction with methanol, semi purification and characterization of the extract in function of its surfactants properties like drop collapse, emulsification index and foam stability. The extract from the root (RE) was selected for the treatment, the soil to be treated was weathered, characterized, and contaminated with 50 g/kg of diesel. Subsequently, soil washings were performed at 6, 12 and 24 h of treatment time and 1, 2 and 3 CMC (critic micellar concentration). Although the RE achieved 94.32 % of diesel removal with 3 CMC and 24 h of treatment time, the treatments that comply with the regulation are 2 and 3 CMC with 12 h of treatment. The extraction of biosurfactant from plants and its use on soil washing is a viable option to remediate hydrocarbon contaminated soils.

Keywords: soil pollution, diesel, biosurfactant, *Agapanthus africanus*, soil washing.

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DEL ESTUDIANTE

Declaro que los datos obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.

Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentada en el documento.

1. Introducción

La degradación del suelo es causada por procesos naturales como la erosión y acidificación del suelo (Ahmad *et al.*, 2018). Algunas de las actividades antropogénicas que impactan el suelo son la deforestación, el uso intensivo para el cultivo, la contaminación por fertilizantes e hidrocarburos, entre otros (Gomiero, 2016).

Dentro de estas causas, la industria petroquímica y actividades como el almacenamiento, transporte y derrames son cruciales debido a los efectos negativos que generan en los ecosistemas (Ramírez *et al.*, 2017; Ossai *et al.*, 2020). Tan sólo de 2020 a 2022, el número de tomas clandestinas incrementó en el país, se tiene registro de al menos 35,196 tomas (Ramírez, 2022).

Se han utilizado técnicas *in situ* y *ex situ* para reducir las concentraciones de los hidrocarburos en suelo (Azubuike *et al.*, 2016). Una de estas técnicas *ex situ* es el lavado de suelos, en este tratamiento se adicionan tensoactivos, los cuales de acuerdo con su origen se clasifican en químicos y biológicos, diferentes especies vegetales como *Chelidonium majus* y *Helianthus annuus* son fuentes de biotensoactivos (Marchut-Mikolajczyk *et al.*, 2018; Posada-Baquero *et al.*, 2020). Asimismo, se han utilizado biotensoactivos para mejorar la degradación de contaminantes en suelo y agua, lo que los convierte en un método viable para rehabilitar suelos contaminados con hidrocarburos (Bai *et al.*, 2019; Marcelino *et al.*, 2020).

Agapanthus africanus (AA) es una planta ornamental que se ha reportado produce saponinas, un grupo de biotensoactivos que, por su origen microbiano o vegetal, no generen un impacto en otros seres vivos en comparación con sus homólogos. A pesar de esto, no se ha utilizado esta planta como fuente de tensoactivos para el lavado de suelos (Cawood *et al.*, 2015; De Anda *et al.*, 2018, Idika *et al.*, 2020). En este trabajo se realizaron lavados de suelo con el extracto de *Agapanthus africanus* caracterizado y se determinó la remoción de diésel en un suelo contaminado.

2. Antecedentes

2.1 Suelo

El suelo es el ecosistema que alberga el 25 % de la diversidad biológica mundial (Trap *et al.*, 2016). Tiene funciones importantes como el cultivo, el pastoreo, el soporte para las plantas, hogar para la fauna, entre otras. Sus funciones biológicas e hidrológicas se encuentran en riesgo por el uso excesivo y manejo antropogénico, que provoca tanto su erosión como su degradación (Kirchhoff *et al.*, 2017).

La contaminación del suelo es el resultado de la acumulación de compuestos generados durante procesos naturales e industriales (Saha y Rao, 2017). Entre los contaminantes que degradan la fertilidad del suelo se encuentran los plaguicidas, los metales pesados y los hidrocarburos (Saravanan *et al.*, 2020).

La intemperización también conocida como meteorización es el proceso en el que se descompone el material geológico de la superficie terrestre a través de alteraciones físicas y químicas que dan lugar al suelo (Arce *et al.*, 2015). Los suelos contaminados con hidrocarburos que además han pasado por el proceso de intemperización se caracterizan por la acumulación y la persistencia de estos contaminantes (Velasco *et al.*, 2003).

2.1.1 Normatividad para suelo

La NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 establece los límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y los lineamientos para el muestreo en la caracterización, así como especificaciones para la remediación. Dentro de esta norma se especifica que el diésel pertenece a la fracción media que es la mezcla de hidrocarburos cuyas moléculas contienen entre 10 y 28 átomos de carbono. De igual manera, se establecen los límites máximos permisibles de 1,200 mg/kg y 5,000 mg/kg para suelo agrícola e industrial/comercial, respectivamente.

2.2 Contaminación por hidrocarburos

Los hidrocarburos llegan al suelo a través de fugas durante la extracción, corrosión en tuberías o tanques de almacenamiento, extracción ilegal, derrames de pipas y en estaciones de servicio (Ranieri *et al.*, 2016; Befkadu y Chen, 2018), pueden trasladarse a través de la cadena trófica, causando mutaciones genéticas (Guarino *et al.*, 2017; Patowary *et al.*, 2018).

En las plantas, los hidrocarburos se transportan al sistema vascular y deterioran tanto las células como los tejidos, tienden a acumularse en los cloroplastos por lo que estas lesiones pueden inhibir la fotosíntesis (Arellano *et al.*, 2017), no permiten el acceso a nutrientes y agua ya que restringen el movimiento de la planta a través del suelo (Truskewycz *et al.*, 2019). También tiene efectos en el sector económico, cuando sucede un derrame, se requiere de una inversión económica para remediar la zona afectada y evitar daños a la población (Zhang *et al.*, 2019).

2.2.1 Contaminación por diésel

El diésel es un hidrocarburo derivado del petróleo crudo, compuesto de un 25 % de hidrocarburos aromáticos como los alquilbencenos y naftalenos, el otro 75 % está compuesto de alcanos como las parafinas (Jimoh y Lin, 2019). En la Tabla 1, se mencionan algunas de sus características.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas del diésel (Atmanli, 2016; Fayyazbakhsh y Pirouzfard, 2016).

Propiedad	Valor	Propiedad	Valor
Peso molecular	211.29 g/mol	Viscosidad	2.8 cSt
Punto de ebullición	190-280 °C	Calor latente de vaporización	250 kJ/kg
Densidad	840 kg/m ³	Relación C/H	0.51

Los derrames de diésel se dispersan y evaporan debido a su naturaleza: baja gravedad específica, baja viscosidad y volatilidad moderada, sin embargo, este contaminante puede persistir después de adherirse a sedimentos (Sardi *et al.*, 2016).

El diésel genera cambios en las propiedades físicas, químicas y mecánicas del suelo como la infiltración, la humedad, la temperatura y los nutrientes (Ghasemzadeh y Tabaiyan, 2017, Ramadass *et al.*, 2017). Estos cambios en las propiedades del suelo suceden debido a que los hidrocarburos forman películas entre las partículas del suelo ocasionando hidrofobicidad y repelencia al agua (Gordon *et al.*, 2018).

La presencia de diésel en suelo desequilibra la relación C:N:P debido a su alto contenido de carbono, lo que provoca una competencia por los nutrientes, reduce la disponibilidad para las comunidades microbianas e impacta tanto el crecimiento como desarrollo de las plantas (Sutton *et al.*, 2013; Hawrot-Paw *et al.*, 2020).

Uno de los procesos mediante los cuales se reduce este contaminante del suelo es la atenuación natural, que implica la transformación a productos inocuos a través de procesos naturales como la degradación microbiana, volatilización, sorción e inmovilización. Sin embargo, este proceso puede no funcionar si el sitio no tiene los microorganismos o nutrientes que degradan los contaminantes (Megharaj y Naidu, 2017). Además, la tasa de degradación del diésel en el suelo es de hasta 12 meses, por lo que su remediación es un campo de gran interés. Se han estudiado y propuesto diferentes alternativas para remover este contaminante del suelo (Baymar, 2020; Huang *et al.*, 2020).

2.3 Tratamientos para suelos contaminados con diésel

Los métodos para la remediación de suelos contaminados con diésel pueden ser biológicos, químicos y físicos, a continuación, se describen algunos de los tratamientos reportados para remover este contaminante (Ossai *et al.*, 2020).

2.3.1 Tratamientos biológicos

Uno de estos tratamientos es la bioaumentación que consiste en añadir microorganismos al suelo capaces de metabolizar un contaminante específico, algunos ejemplos son microorganismos genéticamente modificados y biomasa autóctona enriquecida en presencia del contaminante (Bosco *et al.*, 2020).

Otro ejemplo es la vermirremediación, este tratamiento consiste en introducir lombrices a suelos contaminados puesto que facilitan la remoción del contaminante, transforman las propiedades químicas del suelo, mejoran la aireación y hacen accesibles los contaminantes para los microorganismos (Chachina *et al.*, 2016).

2.3.2 Tratamientos químicos

La oxidación química transforma a los hidrocarburos de cadena larga en compuestos menos complejos y biodegradables tanto en suelo como en aguas subterráneas. Los procesos oxidantes más utilizados son: el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), ion persulfato ($S_2O_8^{2-}$), ion permanganato (MnO_4^-), ozono (O_3) y el proceso Fenton (Apul *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2019).

Por otra parte, la remedicación electrocinética es un tratamiento que utiliza bajos niveles de corriente eléctrica entre electrodos formando un campo eléctrico en el suelo contaminado. Sin embargo, el proceso puede alterar el pH y no es efectivo en bajas concentraciones de hidrocarburos (Lim *et al.*, 2016).

2.3.3 Tratamientos físicos

Entre estos tratamientos se encuentran la aglomeración con carbón, que utiliza este tratamiento para recuperar el contaminante de los sedimentos, puesto que el diésel actúa como un aglutinante que une las partículas de carbón. Es una técnica sencilla, económica, que requiere baja presión y temperatura (Agarwal y Liu, 2015).

2.3.3.1 Lavado de suelos

Es un proceso físico *ex situ* e *in situ* que remueve contaminantes orgánicos e inorgánicos del suelo (Olasanmi y Thring, 2020). El lavado facilita el transporte de hidrocarburos del suelo a la fase acuosa mediante la aplicación de agentes extractores llamados tensoactivos que aumentan la solubilidad entre las fases hidrocarburo-agua. Los hidrocarburos se separan del suelo porque son absorbidos por las micelas que forman los tensoactivos (De Melo *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2020).

La detergencia es una aplicación de los tensoactivos, los cuales la mejoran al reducir la tensión interfacial entre la solución y el suelo, el contaminante se puede remover posteriormente por mecanismos de desprendimiento (Attaphong y Sabatini, 2017).

2.4 Tensoactivos

Los tensoactivos son compuestos anfifílicos por lo tanto cuentan con una parte hidrofílica y una hidrofóbica. La parte hidrofílica puede ser un carbohidrato, aminoácido, péptido cíclico, fosfato, ácido carboxílico, una amina o un alcohol, mientras que la parte hidrofóbica es una cadena larga de ácidos grasos, hidroxiácidos o α -alquil- β -hidroxilo (Santos *et al.*, 2016; Elkhawaga, 2018).

Los tensoactivos se clasifican según su estado de ionización en la solución acuosa como: aniónicos con el grupo hidrofílico negativo, catiónicos con el grupo hidrofílico positivo, anfóteros con características aniónicas y catiónicas, finalmente, los no iónicos que no se ionizan en solución acuosa (Kamal *et al.*, 2017; Santos *et al.*, 2018).

A través de la adición de tensoactivos al suelo, se puede mejorar la remoción de hidrocarburos mediante los mecanismos de solubilización y movilización. El primer mecanismo aumenta la solubilidad de los contaminantes de carácter hidrófobo y los transfiere a la fase acuosa, esto sucede por debajo de la concentración micelar crítica (CMC) del tensoactivo, que es la

concentración de tensoactivo que se requiere para la formación de micelas. Posteriormente, en la movilización se desplaza el hidrocarburo a través de una reducción en la tensión superficial entre el agua y el contaminante como se

muestra en la Figura 1 (Scholz *et al.*, 2018; Karthick *et al.*, 2019).

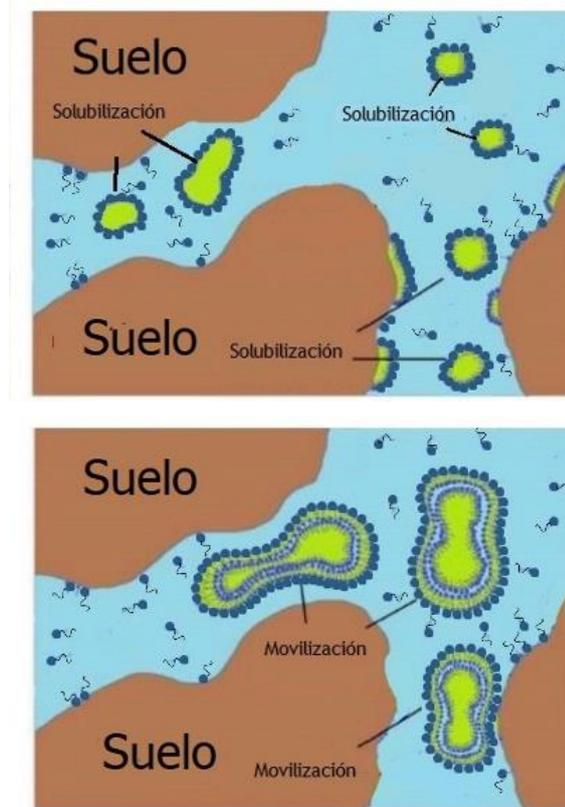


Figura 1. Mecanismos solubilización y movilización de los tensoactivos

(Adaptado de Karthick *et al.*, 2019).

Una de las propiedades que caracteriza a los tensoactivos es el balance hidrofílico lipofílico (HLB), el cual es un valor que se calcula a partir de la estructura molecular del tensoactivo, ayuda a clasificar a los tensoactivos no iónicos de acuerdo con sus aplicaciones. El HLB del tensoactivo se compara con los valores establecidos para el ácido oleico (HLB=1) y oleato de sodio (HLB=20), valores cercanos a 1 indican emulsiones estables en el sistema agua-aceite y valores cercanos a 20 representan valores de emulsiones

estables en aceite-agua (Linke, 2009; Jiménez *et al.*, 2010). En la Tabla 2 se mencionan algunas de las aplicaciones de los tensoactivos no iónicos de acuerdo con su rango de HLB.

Tabla 2. Aplicaciones de los tensoactivos no iónicos con base en su HLB (Jiménez *et al.*, 2010, Hong *et al.*, 2018).

HLB	Aplicación
1-3	Cosmética, alimentos e industria farmacéutica
4-6	Emulsionantes para sistemas agua-aceite
7-9	Agentes humectantes
8-18	Emulsionantes para sistemas aceite-agua
13-20	Detergentes

Los tensoactivos tienen muchas aplicaciones, algunas industrias donde se utilizan son: alimentaria, cosmética, farmacéutica, detergentes, lubricantes, así como la remediación de sitios contaminados, recuperación y limpieza de tanques de petróleo (Ferreira *et al.*, 2017; Farias *et al.*, 2019).

2.4.1 Biotensoactivos

Son tensoactivos de origen biológico, algunas de sus fuentes son los microorganismos como: *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida lipolytica* y otros provenientes de plantas como: *Zea mays* (Maíz) que produce fosfolípidos y *Polypodiophyta* (Helechos) que genera glicolípidos. Algunas plantas productoras de saponinas son: *Quillaja saponaria* (Quillay), *Sapindus mukorossi* (Jaboncillo), *Sida cordifolia* (Escobilla), *Camellia* (Camelia) y *Agapanthus africanus* (Lirio africano) (Ballesteros *et al.*, 2013; Ahmad *et al.*, 2018).

Estas sustancias tienen mayor actividad superficial que los tensoactivos químicos, mayor biodegradabilidad, alta tolerancia a factores ambientales como pH y temperatura (Lima *et al.*, 2017 y Karlapudi *et al.*, 2018).

2.4.1.1.1 Saponinas

Las saponinas son metabolitos secundario que poseen propiedades detergentes y producen espuma estable en agua (Sofla *et al.*, 2016). La presencia de saponinas en las plantas les permite defenderse contra patógenos y herbívoros, su estructura consiste en dos partes: una aglicona llamada sapogenina conectada con una, dos o tres cadenas de carbohidratos como se muestra en la Figura 2 (Ligor *et al.*, 2018).

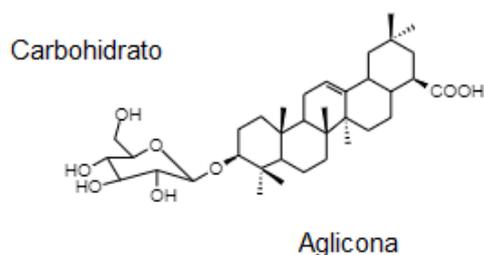


Figura 2. Estructura química de las saponinas.

Las agliconas pueden ser: (a) triterpenoides o (b) esteroidales. Las primeras contienen un anillo furano y un anillo pirano. Por otra parte, las triterpenoides son agliconas unidas a uno o más carbohidratos como se muestra en la Figura 3 (Zhao y Li, 2018; Nguyen *et al.*, 2020).

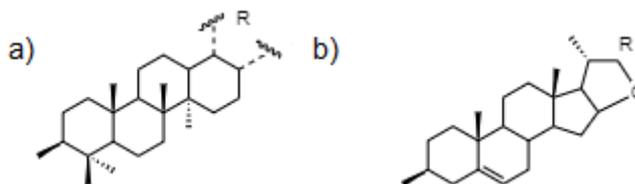


Figura 3. Estructura química de las agliconas triterpenoides y esteroidales.

La concentración micelar crítica de estos compuestos varía entre saponinas y sus extractos, por ejemplo, la CMC para la *Quillaja saponaria* oscila entre 0.013 a 0.7 g/L (Böttcher y Drusch, 2017).

Se ha reportado el uso de saponinas para remover contaminantes como metales pesados e hidrocarburos. En un estudio realizado por Cay (2016) se utilizaron 25 mg de saponinas extraída de *Camellia sp.* por kilogramo de suelo para mejorar la remediación de cadmio en *Amaranthus caudatus*, logrando una acumulación de 74.28 mg de cadmio/kg de suelo. Por otra parte, Huang *et al.* (2020) lograron una remoción de 30 % de diésel en suelo contaminado con 1 g/L de saponinas mediante lavado de suelos.

2.5 *Agapanthus africanus*

La familia Amaryllidaceae es un grupo de plantas perennes originarias del sur de África que se cultivan alrededor del mundo. El grupo está conformado por 10 especies, de las cuales tres se consideran perennes y siete de hoja caduca (De Souza *et al.*, 2017).

Esta familia tiene la característica de desarrollarse bien en condiciones secas debido a su gran masa de raíces (Singh y Baijnath, 2018). Los principales componentes de *Agapanthus africanus* (Figura 4) son espirostano, furostano, saponinas y sapogeninas (Balogun y Ashafa, 2019). Se han aislado tres saponinas esteroidales de las raíces de *Agapanthus africanus* (Agyare *et al.*, 2013).



Figura 4. Flor de *Agapanthus africanus* (Boshoff, 2016).

Las hojas de AA se utilizan en la industria cosmética, es una especie conocida por sus valores ornamentales y medicinales (Mwinga *et al.*, 2019). De igual manera, el extracto de *Agapanthus africanus* posee propiedades antibacterianas, además se utiliza como antifúngico contra *Botrytis cinerea* y *Sclerotium rolfsii* en otras plantas vegetales (Šernaitė, 2017)

3. Hipótesis

Las saponinas extraídas de *Agapanthus africanus* tienen capacidad biotensoactiva que favorecerá la bioremediación de suelo contaminado con diésel mediante la técnica de lavado de suelos.

4. Objetivo general

Determinar la remoción de diésel mediante lavado en un suelo intemperizado empleando un biotensoactivo de tipo saponinas obtenido de *Agapanthus africanus*

4.1 Objetivos específicos

- Obtener y evaluar la actividad tensoactiva de los extractos metanólicos obtenidos de raíz, tallo y hojas de *Agapanthus africanus*.
- Evaluar los parámetros de concentración y tiempo de contacto en el lavado de suelo contaminado con diésel utilizando el extracto de *Agapanthus africanus*.
- Comprobar que el tratamiento que cumple con los límites máximos permisibles establecidos por la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 para suelo agrícola e industrial.

5. Metodología

5.1 Material biológico y reactivos

Se obtuvo un lote de plantas de *Agapanthus africanus* en fase desarrollo vegetativo con un proveedor en Querétaro, Qro, México. Todos los reactivos empleados fueron de grado técnico, excepto aquellos para técnicas analíticas.

5.2 Suelo

El suelo fue extraído de las áreas verdes aledañas al Parque Biotecnológico de la Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, mediante un muestreo aleatorio estratificado.

5.3 Obtención de extracto

Se utilizó el método de maceración, para ello la raíz, tallo y hojas de *Agapanthus africanus* fueron lavadas con agua de la llave, se pesaron y secaron a 60 °C en un horno (AP120 Dynamica) por 24 h. A la materia seca de cada parte de la planta se le añadieron 150 mL de metanol al 70 %, las muestras se homogenizaron (Ultra turrax T25) durante 2 ciclos de 30 min cada uno. Después se colocaron en la incubadora (Eppendorf AG 22331 Thermomixer, Brinkmann Instruments) con agitación a 140 rpm por 24 h, se filtraron usando papel filtro Whitman número 1, las muestras filtradas se colocaron en el rotovapor a 60 °C para remover el metanol y concentrar la muestra (Chávez-Santoscoy *et al.*, 2013; Mostafa *et al.*, 2013).

La semipurificación se realizó con la metodología propuesta por Tagousup *et al.* (2018) con ligeras modificaciones. En un embudo de separación, se añadieron 10 mL de extracto y 10 mL de acetato de etilo, se decantó, este procedimiento se repitió dos veces, la solución se lavó con 10 mL de butanol, finalmente se evaporó el solvente para obtener el extracto semipurificado, este procedimiento se realizó para las tres partes de la planta.

5.3.1 Cromatografía de capa fina (TLC)

Para la TLC se utilizaron placas de sílice gel F₂₅₄ como fase estacionaria, como fase móvil CHCl₃:MeOH: H₂O (70:28:2, v/v). Las muestras se aplicaron en las placas con capilares a 0.8 cm de altura. Se dejaron secar las placas, se insertaron en la cámara que contenía la fase móvil, posteriormente se esperó a que eluyeran las muestras, se retiró la placa de la cámara cuando llegó a la línea de referencia, se observó a luz UV a 254 y 366 nm (Sánchez-Medina, 2010).

Posteriormente se calcularon los factores de retención (R_f) de cada extracto con la Ecuación 1:

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por el compuesto desde el origen}}{\text{distancia recorrida por la fase móvil}} \dots\dots\dots(1)$$

5.3.2 Grupos funcionales

5.3.2.1 FTIR

Para identificar los grupos funcionales en el biotensoactivo se utilizó la espectroscopia infrarroja de la transformada de Fourier (FTIR) (PerkinElmer Spectrum 100) de 400 a 4000 cm⁻¹. Se midió la absorbancia de cada uno de los extractos en seco (Almansoory *et al.*, 2019).

5.3.3 Cuantificación de saponinas

Se preparó una curva de calibración con concentraciones de 0.5, 2, 5, 8 y 10 mg/mL de reactivo saponinas (Sigma-Aldrich, sapogeninas 8-25 %). Para la cuantificación se prepararon soluciones con 1 mg/mL de extracto, se colocaron 500 µL de esta solución, 500 µL de vainillina al 4 % en CHCl₃ (p/v) y 2.5 mL de H₂SO₄ al 2 % (v/v). Estas muestras se calentaron a 60 °C por 15 min, después se colocaron en un baño frío por 5 min. Se realizó un barrido para determinar la longitud de onda adecuada, se leyó en el espectro UV-Vis, el contenido de saponinas se reportó en mg/g (Le *et al.*, 2018).

5.3.4 Balance lipofílico hidrofílico (HLB)

Se calculó el HLB de la molécula propuesta por Cawood *et al.* (2015) con el método de Davies que propone la Ecuación 2, se utilizó la Tabla 3 para determinar el aporte de cada grupo.

:

$$\text{HLB} = 7 + \Sigma \text{ grupos hidrofílicos} - \Sigma \text{ grupos lipofílicos} \dots \dots \dots (2)$$

Tabla 3. Aporte de grupos en el método de Davies (Navarro, 2017).

Grupo	Aporte del grupo
CH	-0.475
-CH ₂ -	-0.475
Éster (libre)	2.4
-OH (libre)	1.9
-O- (éter)	1.3
-COOH	2.1

5.4 Evaluación de la actividad tensoactiva de los extractos

5.4.1 Colapso de gota y vida media de la espuma

La prueba de colapso se realizó con una gota de petróleo crudo, se midió el diámetro de la gota, posteriormente se agregó una gota de cada uno de los extractos acuosos por separado, se dejó reposar durante 1 min, transcurrido el tiempo, se midió nuevamente el diámetro de la gota. Se registró como + si el petróleo se esparció de 0.5 a 1.5 mm respecto al control y como – si el diámetro fue menor a 0.5 mm. Se realizó la comparación con agua destilada como control negativo y Tween 80 como control positivo, por triplicado (Yalçın *et al.*, 2018).

Para determinar la vida media de la espuma, se prepararon 60 mL de extractos de raíz (ER), tallo (ET) y hoja (EH) a una concentración de 0.4 %. Se bombeó aire con una bomba a través de una columna graduada a un caudal de 35 mm³/s. La generación de espuma se detuvo cuando la espuma alcanzó un

volumen de 150 mL. Se inició a contar el tiempo, se detuvo cuando la espuma bajó por la columna hasta 75 mL, el resultado se reportó en función del tiempo (Yekeen *et al.*, 2020).

5.4.2 Índice de emulsificación

También conocido como E_{24} , se utilizaron 2 mL de diferentes solventes orgánicos (CHCl_3 , C_8H_{10} y C_7H_8) y 2 mL de cada uno de los extractos, se agitó mecánicamente (Corning Vortex) durante 2 min. La medición de la altura de la emulsión se realizó después de 24 h y el resultado se expresó como porcentaje de acuerdo con la Ecuación 3 (Almansoori *et al.*, 2019).

$$\text{Índice de emulsificación} = \left(\frac{\text{Altura de la emulsión}}{\text{Altura total}} \right) \times 100 \% \dots \dots \dots (3)$$

Los resultados se compararon con agua destilada como control negativo.

5.4.3 Tensión superficial y concentración micelar crítica

Para medir la tensión superficial (TS) se utilizó el tensiómetro Krüss con el anillo de Du Noüy, se calentó el anillo hasta que estuvo al rojo vivo para eliminar cualquier contaminante y se dejó enfriar a temperatura ambiente, se sumergió en los extractos, se determinó este valor a concentraciones de 0.01, 1, 5, 10 y 25 g/L, se graficó la concentración vs la TS, la cual se reportó en mN/m (Machale *et al.*, 2019). La CMC se obtuvo mediante el método gráfico, el cual consistió en trazar dos líneas que pasaban por los puntos de la gráfica de concentración vs TS, el punto donde se interceptan estas líneas representa la CMC de cada extracto (Ayele *et al.*, 2020).

5.4.4 Actividad hemolítica

Para esta prueba se utilizó sangre de ratas macho cepa Wistar de 275 a 325 g. Los eritrocitos se lavaron tres veces con solución de Alsever (D-glucosa 120 mM, citrato de Sodio 30 mM, NaCl 7 mM y ácido cítrico 2 mM), se centrifugaron durante 4 min a 4 °C (Hermle Z 323 K, Lab-Tech Instrumentation). Posteriormente, los eritrocitos se diluyeron en solución Alsever al 1 % (v/v) y se añadieron diferentes concentraciones (0.0001,

0.000316, 0.001, 0.01, 1, 10 y 100 mg/mL) a los extractos. Las muestras se incubaron a 37 °C durante 30 min (Eppendorf AG 22331 Thermomixer, Brinkmann Instruments). Después se centrifugaron durante 4 min a 2,500 rcf, el sobrenadante que contenía la hemoglobina liberada de los eritrocitos se midió en un espectrofotómetro a 415 nm. Una unidad hemolítica (UH50) se definió como la cantidad de muestra necesaria para provocar una hemólisis del 50 % (García-Arredondo *et al.*, 2014).

Adicionalmente, se llevó a cabo una prueba en donde se puso en contacto *Agapanthus africanus* con suelo contaminado, sin la extracción del biotensoactivo, se midió el impacto de la contaminación en la planta a través del contenido de clorofila.

5.4.5 Remediación de suelo contaminado

La remediación se realizó con suelo intemperizado. Se realizaron dos tratamientos: 1) AA con suelo contaminado y 2) AA con suelo control, por triplicado cada muestra. Las muestras se mantuvieron a 25 ± 2 °C durante 30 d (Mendarte-Alquisira *et al.*, 2017).

5.4.5.1 Síntomas y clorofila de las plantas

Se registró los síntomas en las hojas y tallos de las plantas como: (1) clorosis, (2) marchitamiento, (3) rizado de los bordes de las hojas al ser expuestas al suelo contaminado (Balliana *et al.*, 2017).

El efecto de diésel en las plantas se midió a través del contenido de clorofila en las hojas, para ello se utilizaron 0.5 g de hoja fresca recortada, se añadieron 10 mL de acetona a 4 °C, se centrifugaron las muestras a 2,400 rpm por 10 min. Se midió la absorbancia del sobrenadante a 645 nm y 663 nm en el espectrofotómetro UV-vis, se utilizó acetona como blanco (Gürtler *et al.*, 2018, Baoune *et al.*, 2019). Para calcular la clorofila a y b se usaron las Ecuaciones 4 y 5, los resultados se reportaron en mg/g (Ruiz-Santiago *et al.*, 2019):

$$\text{Clorofila A} = (12.7 \times \text{lectura}_{663}) - (2.69 \times \text{lectura}_{645}) \dots \dots \dots (4)$$

$$\text{Clorofila B} = (22.9 \times \text{lectura}_{645}) \dots \dots \dots (5)$$

5.5 Evaluación del lavado de suelos

5.5.1 Contaminación e intemperización de suelo

Se tamizó el suelo tomado de las áreas verdes adjuntas al Parque Biotecnológico (20.590499, -100.412633) en malla de 2 mm, posteriormente se contaminó con 50 g de diésel/kg de suelo. Se colocaron 16 kg de suelo en ciclos de 12 h a 4 °C (Vr08 Imbera) y de 12 h a 40 °C (AP120 Dynamica) por tres semanas para su intemperización, a la par se tomaron muestras de 100 g de suelo y se almacenaron (Corona, 2020). Las propiedades fisicoquímicas de los suelos que se enlistan a continuación fueron evaluadas de acuerdo con la metodología establecida en la NOM-021-RECNAT-2000 y otros autores.

5.5.1.1 Propiedades físicas del suelo

La textura se obtuvo a través del procedimiento de Bouyoucos establecido por la NOM-021-RECNAT-2000. Se pesaron 60 g de suelo, se le añadieron 20 mL de H₂O₂ al 35 %, se evaporó el peróxido de hidrógeno en el horno y se repitió este paso para oxidar la materia orgánica. Posteriormente se añadieron 125 mL de agua destilada, 2.5 mL de oxalato de sodio al 30 % y 2.5 mL de carbonato de sodio (0.5 %) al suelo, se agitó la muestra por 5 min, se transfirió la solución a una probeta de 1 L y se aforó a un litro. Se agitó manualmente la muestra y se tomó la lectura de temperatura y densidad a los 40 s con el densímetro de Bouyoucos, se dejó reposar 2 h, nuevamente se tomó la lectura de temperatura y densidad. Estos ensayos fueron realizados por duplicado.

Para obtener la textura del suelo se corrigió la medición de temperatura, añadiendo $|0.36|$ por cada grado centígrado arriba de 19.5 °C. La lectura corregida de temperatura a los 40 s es igual al porcentaje de arcilla y limo (AL), los porcentajes de arena, limo y arcilla se determinaron con las Ecuaciones 6, 7 y 8:

$$\% \text{ arena} = 100 - AL \dots \dots \dots (6)$$

$$\% \text{ arcilla} = \text{temperatura corregida a las 2 h} \dots \dots \dots (7)$$

$$\% \text{ limo} = 100 - \% \text{ arena} - \% \text{ arcilla} \dots \dots \dots (8)$$

La densidad aparente se obtuvo a través del método de la parafina, se formaron cuatro terrones de suelo de 2 cm de diámetro cada uno, se les amarraron hilos y se pesaron (peso húmedo), se secaron a 105 °C por 24 h y se volvieron a pesar (peso seco). Posteriormente se calentó parafina, se sumergieron los agregados, se dejaron solidificar y se pesaron (peso parafina), finalmente se pesaron los agregados sumergidos en un vaso de precipitados con agua de la llave (peso de volumen desplazado) (Villaseñor, 2015). Se determinó la densidad aparente con las Ecuaciones 9, 10 y 11:

$$V_p = \frac{\text{Peso parafina} - \text{Peso seco}}{0.9} \dots \dots \dots (9)$$

$$V_t = \text{Peso de volumen desplazado} - V_p \dots \dots \dots (10)$$

$$D_a = \frac{\text{Peso seco}}{V_t}; \frac{\text{g}}{\text{cm}^3} \dots \dots \dots (11)$$

5.5.1.2 Propiedades químicas del suelo

Para la determinación de pH de los suelos, se pesaron 10 g de suelo, se añadieron 20 mL de agua destilada, se agitó manualmente, se dejó reposar 15 min, se insertó el electrodo del potenciómetro (Orion Star A211) en la solución y se registró el valor obtenido de pH.

La materia orgánica se determinó realizando una curva de calibración a partir de una solución patrón de sacarosa al 5 % a concentraciones de 5, 10, 20, 25 y 30 mL en 100 mL. Posteriormente se pesó 1 g de muestra de suelo control y suelo contaminado, se añadieron 5 mL de K₂Cr₂O₇ y 10 mL de H₂SO₄ al 96 %, se aforaron y se dejaron reposar 24 h, pasado el tiempo se leyeron a 590 nm en el espectrofotómetro y se calculó el contenido de materia orgánica con la Ecuación 12 (Aleman y Guido, 2016).

$$[\text{CO}] \left(\frac{\text{g}}{\text{kg}} \right) = \frac{\text{Lectura de absorbancia}}{\text{Pendiente de la curva masa de la muestra}} \dots \dots \dots (12)$$

5.5.2 Lavado de suelo

El lavado se realizó con la metodología propuesta por Zamudio-Pérez *et al.* (2013) con modificaciones. Se colocaron 18 g de muestras de suelo contaminado en frascos de vidrio de 355 mL, se añadieron 30 mL de extractos en concentraciones de 0.7, 1.4 y 2.1 mg/mL. Se mezclaron con agitación de 200 rpm utilizando la incubadora para mantener la temperatura a 30 °C durante 6, 12 y 24 h. Se utilizó agua y Triton X-100 como control negativo y positivo, respectivamente. Transcurrido el tiempo, se detuvo la agitación, se dejó sedimentar el suelo para la posterior decantación de la solución de lavado. Estos ensayos fueron realizados por triplicado.

5.5.3 Cuantificación de diésel

El diésel residual se determinó por el método gravimétrico propuesto por Muñoz (2021). Las muestras se centrifugaron a 3 rcf por 5 min para separar la solución de lavado del suelo. Se añadieron 100 mL de hexano al suelo y se colocó en agitación a 200 rpm por 2 h. Posteriormente, se evaporó el hexano en el rotovapor y se pesó el diésel residual. El porcentaje de remoción se determinó de acuerdo con las Ecuaciones 13 y 14:

$$\text{Diésel removido: } \frac{\text{diésel después del tratamiento}}{\text{diésel inicial en el suelo}} \dots\dots\dots(13)$$

$$\% \text{ remoción: } \frac{\text{diésel removido}}{\text{diésel inicial en el suelo}} \times 100 \dots\dots\dots(14)$$

6. Análisis estadístico

El diseño experimental que se utilizó para el lavado de suelo fue factorial (Tabla 4), de dos factores y tres niveles cada uno: tiempo de contacto (6, 12 y 24 h) y la concentración de biotensoactivo (1, 2 y 3 CMC). Cada muestra se realizó por triplicado. Se determinaron la CMC y el tiempo de contacto a la que se removió la mayor cantidad de diésel, se examinó por análisis de varianza de una vía con prueba de Tukey $p < 0.05$ en el software Minitab.

Tabla 4. Diseño experimental factorial 3^k de tiempo de contacto contra concentración.

Corrida	Tiempo de contacto (h)	Concentración	
		CMC	(mg/mL)
1	6	1	0.7
2	12	2	1.4
3	24	3	2.1
4	6	1	0.7
5	12	2	1.4
6	24	3	2.1
7	6	1	0.7
8	12	2	1.4
9	24	3	2.1

Bioética en la investigación y buenas prácticas de laboratorio

Durante la realización de este trabajo se cumplieron buenas prácticas de laboratorio y se siguieron los lineamientos establecidos por el comité de seguridad e higiene de la Facultad de Química. Se utilizó equipo de seguridad personal como bata, guantes y lentes, se realizó el registro de procedimientos y resultados en la bitácora personal y de los equipos, respectivamente. Así mismo, se almacenaron y dispusieron de manera adecuada de los residuos y reactivos empleados. El laboratorio tuvo los requerimientos de seguridad como lavaojos, botiquín de primeros auxilios y manuales de equipos.

7. Resultados y discusión

7.1 Suelo

De acuerdo con el método de Bouyoucos, el suelo pertenece a la fracción franco arcillo arenoso, la caracterización se muestra en la Tabla 5. La textura franca arcillo arenosa permite que se utilicen técnicas de remediación ya que el suelo no retiene el contaminante (Abdel-Moghny *et al.*, 2012).

Tabla 5. Caracterización del suelo para el tratamiento

Parámetro	Valor obtenido	Valor de referencia	Autor
pH	7.42±0.03 ^a	7.2 ^a	Candemir y Gülser, 2010
Conductividad eléctrica (Ds/cm)	7.16±1.25 ^b	2.10 ^b	Candemir y Gülser, 2010
Densidad aparente (g/cm ³)	1±0.18 ^c	*1.55 ^c	Prieto-Méndez <i>et al.</i> , 2014
Textura	Arena 77.10 %, limo 0.68 % y arcilla 22.22 %	***Arena 67.25 %, limo 5.75 %	Chaudhari <i>et al.</i> , 2013
Materia orgánica (g/kg)	2.95±0.06 ^d	***8.38 ^d	Chaudhari <i>et al.</i> , 2013

Se muestra el promedio de 3 repeticiones. Letras diferentes en cada renglón se consideran estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

Se ha reportado que la remoción de diésel mediante lavado de suelo aumenta en el rango de pH de 7 a 10, debido a la naturaleza no iónica del biotensoactivo, este parámetro no debería verse afectado (Huang *et al.*, 2020). Por otra parte, la conductividad se encuentra entre 0 a 20 Ds/cm, por lo que se

trata de un suelo no salino, lo que no representa un inconveniente en el tratamiento de lavado (Ali, 2010).

La biodisponibilidad del contaminante se ve impactada por la adsorción de diésel en la materia orgánica, lo cual afecta el proceso de remediación (Chen *et al.*, 2020). Sin embargo, el uso de tensoactivos puede evitar esta limitante (Taccari *et al.*, 2012). Particularmente, las saponinas se unen débilmente al suelo debido a la repulsión electrostática entre la parte hidrofílica de las moléculas de saponina y la superficie del suelo. Esto se convierte en una ventaja en la remediación de suelos con bajo contenido orgánico (Soltaninejad *et al.*, 2016).

7.2 Obtención de extracto

Se obtuvieron los resultados mostrados en la Tabla 6 para las tres partes de A.A.:

Tabla 6. Cantidad de extracto obtenido en las partes de la planta.

Parte de la planta	mg/g de planta
Raíz	9.66±3.26 ^a
Tallo	6.16±0.29 ^a
Hoja	9.19±0.28 ^a

Se muestra el promedio de 6 repeticiones. Letras diferentes en cada renglón se considera estadísticamente diferentes ($p < 0.05$)

Mientras que para *Olea Europea* se obtuvo 0.27 mg/g de extracto de tallo/hoja mediante maceración, con AA se extrajo casi 57 veces más mg/g de ET/EH (Dauber *et al.*, 2022). El tiempo de extracción es un factor importante, se han reportado tiempos de hasta semanas, por lo tanto, se optó por la

agitación mecánica para reducir el tiempo de contacto entre la planta y el solvente a 24 h (Cheok *et al.*, 2014). La maceración presenta las ventajas de no requerir energía para el calentamiento, además esta extracción facilita la penetración del solvente debido a que rompe la membrana lipídica y favorece la liberación de saponinas (Saleri *et al.*, 2017).

7.3 Caracterización del extracto

7.3.1 Cromatografía de capa fina (TLC)

En la Figura 5, se muestran las placas de TLC con los tres extractos aplicados, mientras que la Tabla 7 se reportan los factores de retención (Rf) de cada extracto.

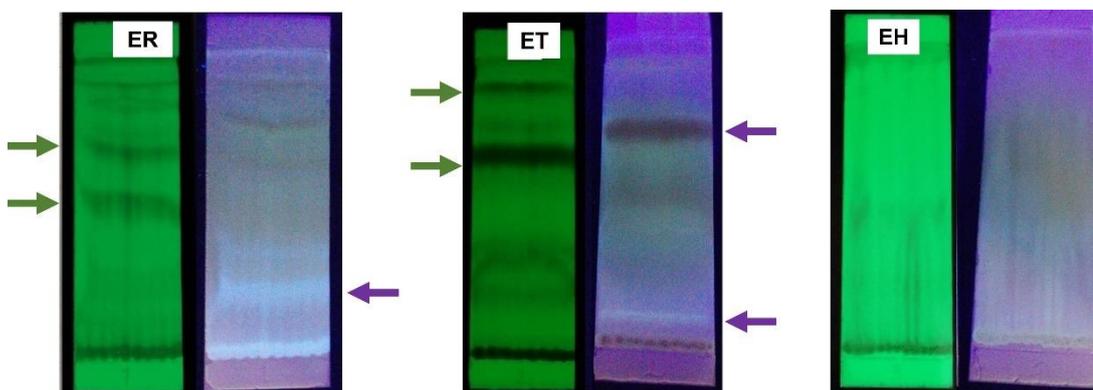


Figura 5. ER, ET y EH en placas de cromatografía a 254 nm (izquierda) y 366 nm (derecha).

Tabla 7. Factores de retención de los extractos de AA.

No.	ER	ET	EH	ER	ET	EH
254 nm				366 nm		
1	0.27 cm	0.69 cm	-	0.30 cm	0.08 cm	-
2	0.52 cm	0.89 cm	-	-	0.69 cm	-

Los extractos que presentaron los mismos valores de factores de retención (Rf) contienen compuestos similares (Sharma y Paliwal, 2013). El

estándar de Quillaja saponaria presentó Rf de 0.13, 0.17 y 0.21, mientras que ET mostró una banda en 0.08 cm, que pueden asociarse a la presencia de saponinas polares como los bidesmósidos en estas partes de la planta (Sastre *et al.*, 2016, Thalhamer y Buchberger, 2021).

7.3.2 Grupos funcionales

7.3.2.1 Espectroscopia infrarroja de la transformada de Fourier (FTIR)

El FTIR para los extractos de raíz, tallo y hojas se muestra en la Figura 6. Las bandas encontradas se relacionaron al grupo hidroxilo (3329 cm^{-1} y 3345 cm^{-1} , vibración de tensión), el grupo metilo (2929 cm^{-1} , tensión simétrica), los grupos carboxílicos se encontraron en los picos de 2800 a 3000 cm^{-1} , el grupo alqueno (1630 cm^{-1} y 1639 cm^{-1} , vibración de tensión), la señal detectada entre 1039 y 1377 cm^{-1} es característica del grupo éter (vibración de tensión) (Yu y He, 2018; Rani *et al.*, 2021). Estas absorciones también han sido reportadas por Almutari y Ali (2015), así como por Machale *et al.* (2019). La presencia de estos grupos funcionales en el FTIR de los extractos y la similitud con el reactivo saponina sugiere la presencia de saponinas.

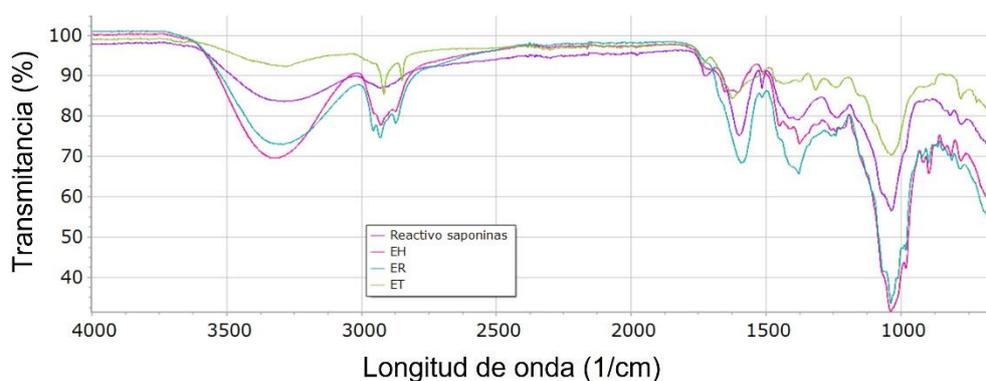


Figura 6. FTIR del reactivo *Quillaja saponaria*, EH, ER y ET.

7.3.3 Cuantificación de saponinas

En la Tabla 8 se muestra el contenido por parte de la planta, los valores se presentan como contenido de saponinas, las cuales conforman parte de este grupo.

Tabla 8. Contenido de saponinas en partes vegetativas.

Extracto <i>Agapanthus africanus</i> (mg saponina/ g extracto)	
Raíz	0.70±0.90 ^a
Tallo	0.20±0.03 ^a
Hoja	0.59±0.41 ^a

Se muestra el promedio de 3 repeticiones. Letras diferentes en cada renglón se consideran estadísticamente diferentes ($p < 0.05$)

Huhman *et al.* (2005) extrajeron saponinas de *Medicago truncatula* mediante maceración y obtuvieron 0.69, 0.28 y 0.23 mg/g de saponinas en raíz, tallo y hojas. Para *Opuntia dillenii* se reportó un promedio de 0.326 mg/g de saponinas con extracción por maceración con etanol como solvente, mientras que para *Opuntia ficus* se obtuvo 0.18 mg/g de saponinas mediante el mismo método de extracción con metanol (Benyong *et al.*, 2014; Dasgupta *et al.*, 2021). *Agapanthus africanus* presentó mayor contenido de saponinas que estas tres plantas, la raíz contenía la mayor cantidad de saponinas seguidas de hoja y tallo, respectivamente. La producción de saponinas varía entre órganos y tejidos de las plantas, muchas especies almacenan saponinas en las raíces para protegerse de los microorganismos del suelo, a esto se adjudica que este órgano tenga mayor contenido del biotensoactivo (Faizal y Geelen, 2013).

7.1.1 Balance hidrofílico-lipofílico (HLB)

El HLB se calculó a partir de la molécula propuesta por Cawood *et al.* (2015), el valor obtenido fue de 20.05, de acuerdo con la clasificación y aplicaciones de los tensoactivos, este valor se encuentra dentro de los detergentes. Los tensoactivos con HLB superiores a 13.5 han demostrado la capacidad de solubilizar las proteínas de las membranas, lo que nos brinda una idea del uso que se le puede dar a estos extractos (Urner *et al.*, 2022).

7.2 Evaluación de la actividad tensoactiva de los extractos

7.2.1 Colapso de gota

Se midió el diámetro de las gotas de petróleo crudo antes y después de 1 min de aplicación de los extractos y los controles, en la Tabla 9 se presentan los resultados.

Tabla 9. Colapso de gota de extractos y controles.

Muestra	Agua	ER	ET	EH	Tween 80
Colapso de gota	-	+	+	+	+

Donde (+) el petróleo se esparció de 0.5 a 1.5 mm respecto al control,
(-) menor a 0.5 mm

En la Figura 7, se muestra el colapso de gota por los extractos y los controles: en el control negativo (d), se observó que la gota fue estable, es decir, no aumentó su diámetro debido a que las moléculas polares de agua son repelidas por el petróleo crudo. Por el contrario, en las muestras a-c, se observó una separación debido a la presencia del tensoactivo que transportó una parte del petróleo crudo al interior de la gota y provocó el aumento del diámetro (Adnan *et al.*, 2021).

Esto se debe a que los tensoactivos aumentaron la solubilidad del petróleo al reducir la tensión superficial entre la interfase extracto-hidrocarburo (Vreysen y Maes, 2005). Finalmente, en la muestra e, no se observó la separación, sólo la solubilización o el colapso de la gota, el diámetro resultó mayor lo que puede indicar mayor solubilidad del Tween 80 contra los extractos. Por ello, se realizaron pruebas cuantitativas para determinar las características y potenciales usos de los extractos.

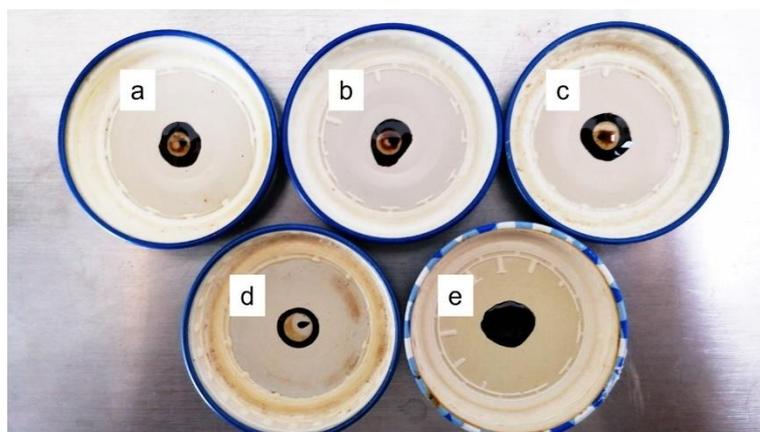


Figura 7. Colapso de gota en: a) ER, b) ET, c) EH, d) Agua, control negativo y e) Tween 80, control positivo.

Por otra parte, se determinó la vida media de la espuma, la prueba se llevó a cabo en un tubo de 24 mm de diámetro con concentraciones de 0.4 % p/v para los extractos. Se utilizó agua como control negativo y no se observó formación de espuma. La vida media de cada uno de los extractos se muestra en la Figura 8.

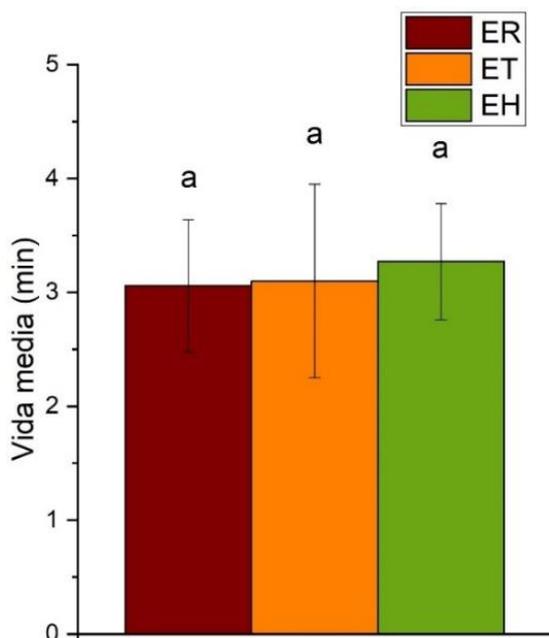


Figura 8. Vida media de la espuma de ER, ET y EH. Los valores son promedios de 3 repeticiones \pm DE.

La vida media de la espuma fue de 3.06, 3.10 y 3.27 min para ER, ET y EH, respectivamente, no hubo diferencia significativa de acuerdo con ANDEVA de una vía, sin embargo, la vida media de las saponinas de *Sapindus mukorossi* es 2.5 min con una concentración de 1.1 % y para laurilsulfato de sodio (SLS) es de 1.33 min con 1.5 % (Liu y Chen, 2016). Por otra parte, Li *et al.* (2020) reportaron que Span 20 obtuvo una vida media de 1.25 min con 0.4 %.

Los extractos de AA tuvieron una vida media mayor que la de tensoactivos comerciales y saponinas de otras fuentes, la formación de espuma de los tensoactivos es una medida de su detergencia, la cual es una de las propiedades que demuestra su eficacia para eliminar hidrocarburos del suelo (Urum y Pekdemir, 2004; Petkova *et al.*, 2012).

7.2.2 Índice de emulsificación

Para el porcentaje de emulsificación, se ordenaron los solventes de menor a mayor polaridad, en la Figura 9 se muestra la E_{24} para ER, ET y EH.

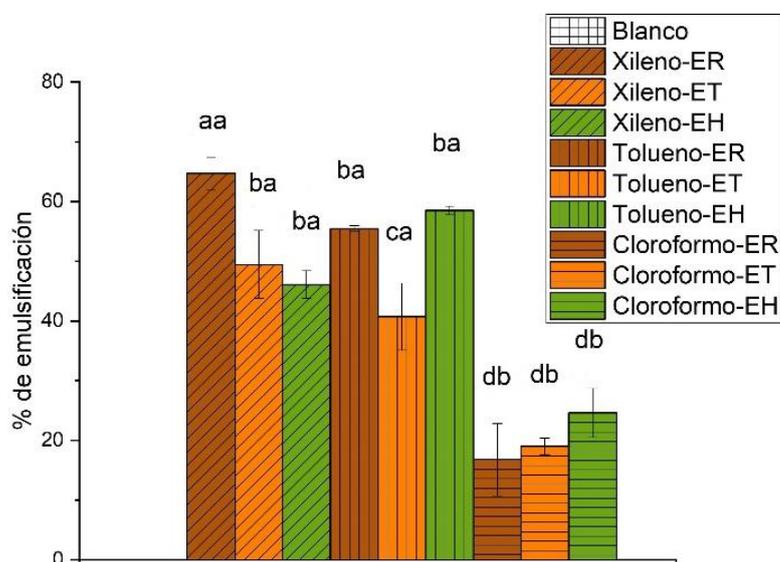


Figura 9. Índice de emulsificación de ER, ET y EH.

El valor más alto de porcentaje de emulsificación fue de 64.69 % para ER-Xileno, seguido de ET-Tolueno que presentó un 61.0 %. En cuanto al EH, se obtuvo el resultado de 49.46 % con xileno. Un índice de emulsificación del 30 % se considera actividad positiva por lo que los tres extractos presentaron actividad emulsionante (Adnan *et al.*, 2021). No se observaron diferencias estadísticamente entre las partes de la planta, pero se encontró diferencia significativa entre los tres solventes, esto coincide con lo reportado por Stancu (2016) y se atribuye a que la producción de emulsiones presenta variaciones entre los diferentes sistemas.

Los extractos obtenidos de AA tuvieron la capacidad de formar una emulsión entre la base acuosa del extracto y diferentes solventes inmiscibles en agua. La diferencia en los porcentajes de emulsión puede deberse a la naturaleza química de los solventes utilizados. Los hidrocarburos aromáticos (xileno y tolueno) tuvieron un alto porcentaje de emulsificación, esto se asocia a

la presencia de anillos de benceno que hacen a dichos solventes más afines hacia el tensoactivo (Alcantara *et al.*, 2010).

Estos métodos son pruebas rápidas más no selectivas puesto que muestran la separación de las interfaces, la formación de espuma y emulsiones, las cuales son características de varios tensoactivos, no sólo de las saponinas (Mishra *et al.*, 2021).

7.2.3 Tensión superficial y CMC

En la Figura 10 se muestran la tensión superficial a diferentes concentraciones de cada extracto.

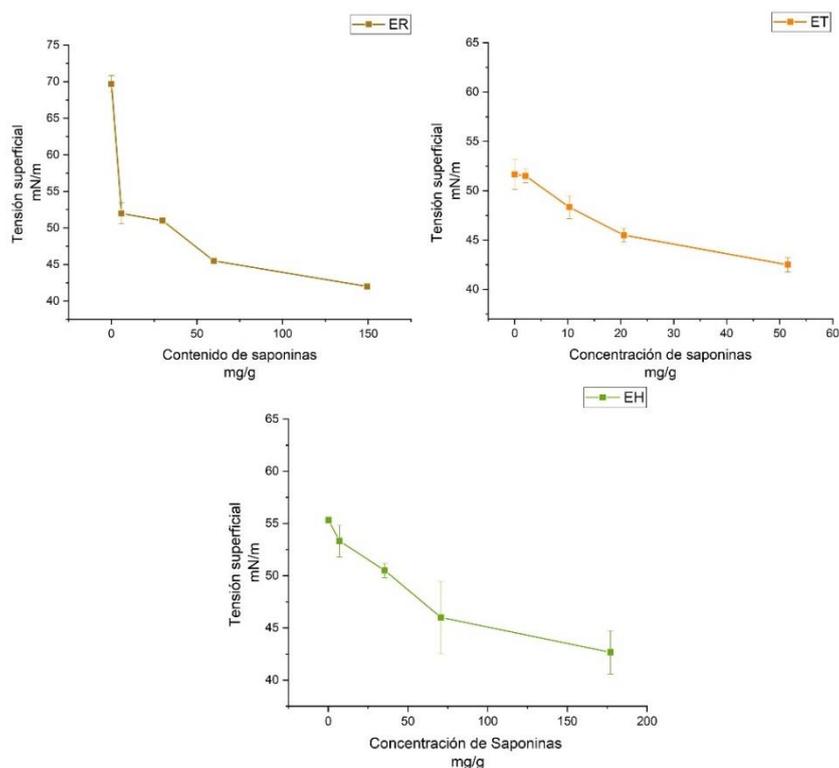


Figura 10. Tensión superficial (mN/m) vs concentración de extractos (mg/g) de AA.

Se observó una reducción en la tensión superficial al aumentar la concentración de los extractos, lo que indica que se alcanzó la saturación de la interfaz por el biotensoactivo (Machale *et al.*, 2019). EH, ET y ER redujeron la

tensión superficial hasta 43, 42.5 y 42.5 mN/m, respectivamente. En la Tabla 10, se muestra el promedio y el valor mínimo de tensión superficial de los extractos.

Tabla 10. Valor de la tensión superficial de los extractos de AA.

Muestra	TS_{media}	TS_{min}
EH	49.57±1.15 ^a	42.67±2.08 ^a
ET	47.90±0.37 ^a	42.50±0.71 ^a
ER	52.13±0.30 ^a	42.50±0.58 ^a

Se muestra el promedio de 3 repeticiones. Letras diferentes en cada renglón se consideran estadísticamente diferentes ($p < 0.05$)

Los tensoactivos comerciales como Triton X-100 y Tween 80, reducen la tensión de 67.84 mN/m a 52 mN/m (Tang *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2018). Los valores de tensión superficial de los extractos de AA indicaron que tienen una ventaja sobre los tensoactivos sintéticos porque redujeron la TS a valores menores que los compuestos comerciales.

Mediante el método gráfico se obtuvieron los valores de CMC de cada extracto, que fueron de 9.9, 8.75 y 0.7 g/L correspondientes a EH, ET y ER, respectivamente. Este valor brinda un punto de referencia de la cantidad necesaria de tensoactivo necesaria para el tratamiento, así como un punto de comparación con otras opciones comerciales, por ejemplo, la concentración micelar crítica del Triton X-100 (130 g/L), lo que les brinda una ventaja a los extractos, ya que se requiere menor cantidad de extracto para alcanzar la CMC (Harendra y Vipulanandan, 2013; Johnson *et al.*, 2021).

7.2.4 Actividad hemolítica

La dosis letal (HD50) fue de 2.31 mg/mL para ET, 2.43 mg/mL para ER y 2.91 mg/mL para EH en las células sanguíneas de ratas Wistar. En la Figura 11 se muestra la curva de concentración contra porcentaje de hemólisis.

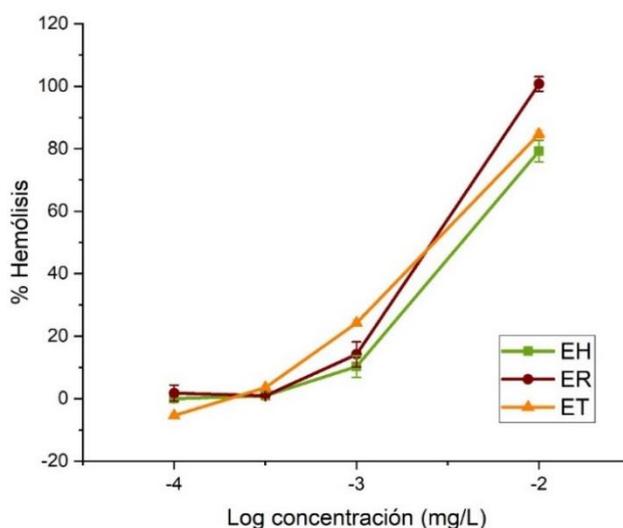


Figura 11. Actividad hemolítica de ET, ER y EH.

En la Tabla 11 se muestran las medias y la estadística de esta prueba, se confirma que los extractos de *Agapanthus africanus* producen hemólisis dependiendo de la concentración, sin embargo, estadísticamente no hay diferencia significativa entre la actividad hemolítica de los extractos. Esta actividad se debe a que la estructura de las saponinas causa una alteración en los carbohidratos de la superficie del eritrocito que genera su desestabilización y hemólisis (Amini *et al.*, 2014).

Tabla 11. Actividad hemolítica de los extractos de AA.

Muestra	Media ($\mu\text{g/mL}$)
EH	2.260 \pm 2.03 ^a
ET	2.940 \pm 2.30 ^a
ER	2.670 \pm 0.73 ^a

Letras diferentes en cada renglón se consideran estadísticamente diferentes ($p < 0.05$)

A pesar de que la citotoxicidad de este compuesto es mayor a la de tensoactivos comerciales como el Polisorbato 80 y el Triton X-100, a diferencia de estos tensoactivos comerciales, las saponinas son compuestos biodegradables que a bajas dosis no representan un riesgo para la salud humana puesto que se utilizan como complementos alimenticios (Ménard *et al.*, 2012; Singh *et al.*, 2017).

7.2.5 Remediación de suelo contaminado

7.2.5.1 Signos en las plantas

En la Figura 12 se muestra los signos de la contaminación en las hojas de AA. La presencia de diésel creó una película impermeable en el suelo alrededor de las raíces e interfirió con el crecimiento de las plantas. Al no tener acceso a los nutrientes esenciales, provocó pérdida de pigmento en las hojas debido a una deficiencia en la cantidad de clorofila que llevaron a la clorosis tanto de las hojas como de los tallos (Bamgbose y Anderson, 2015, Gürtler *et al.*, 2018).



Figura 12. Clorosis y marchitamiento de *Agapanthus africanus* en suelo contaminado.

7.2.5.2 Clorofila

La cantidad de clorofila a y b en las hojas de las plantas se muestran en la Tabla 12. Al término del ensayo los contenidos de clorofilas a y b no

mostraron diferencias significativas entre las plantas con y sin diésel en el suelo intemperizado de acuerdo con la prueba T-student.

Tabla 12. Contenidos de clorofila a y b en AA.

Suelo control		Suelo contaminado	
Clorofila a	Clorofila b	Clorofila a	Clorofila b
2.52 ± 1.25	4.67 ± 2.01	5.82 ± 3.57	4.22 ± 4.78

Galindo-Pérez *et al.* (2016) reportaron valores de 0.9 y 1.7 mg/g de clorofila a y b, respectivamente, para *Vicia faba* con el mismo contaminante. El diésel no tuvo un efecto en el contenido de pigmento evaluado como contenido de clorofila, lo que puede implicar una tolerancia de la planta ante el contaminante y otra posible aplicación en la biorremediación.

7.3 Lavado de suelo

Se eligió el extracto de raíz para el lavado de suelo ya que mostró mejores propiedades tensoactivas como mayor emulsión (64.69 %), además de mayor contenido de saponinas (9.66 mg/g), se evaluó el tiempo de contacto en el lavado de suelo empleando diferentes concentraciones de extracto. En la Figura 13 se observa los diferentes tratamientos.

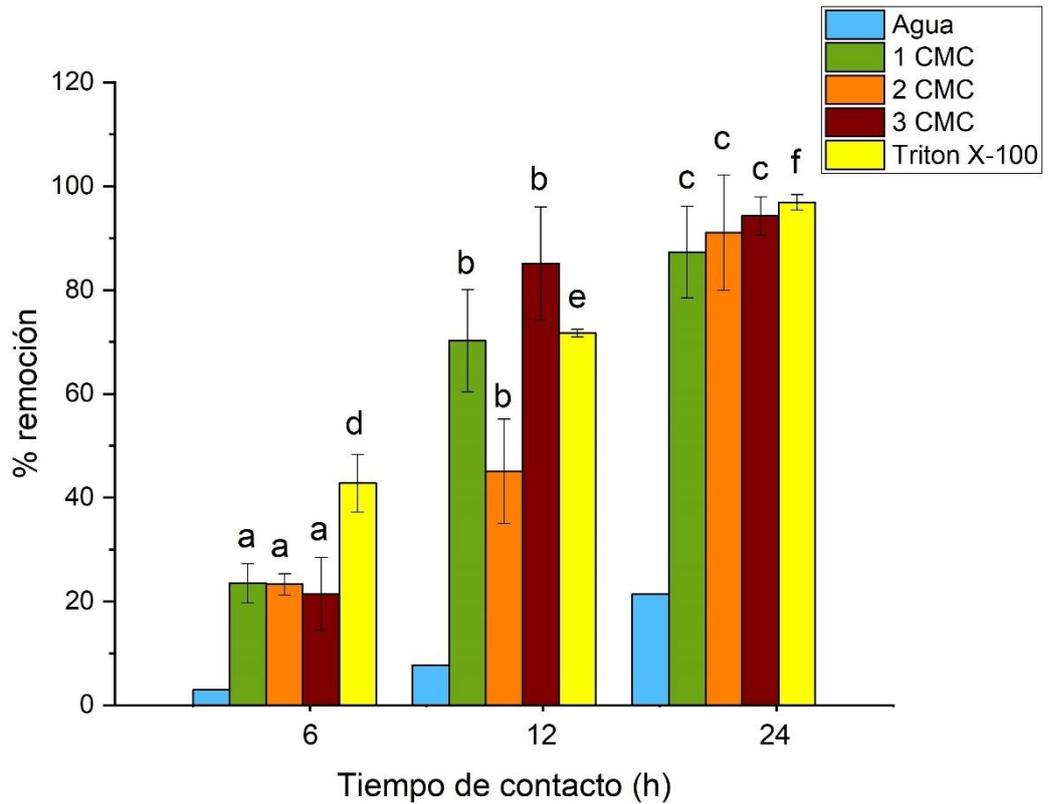


Figura 13. Remoción de diésel a 6, 12 y 24 h de contacto con el ER de AA.

Se logró una remoción del 23.51 % de diésel durante las primeras 6 h del período de lavado. La eficiencia de remoción aumentó a 85.10 % con 12 h a una concentración de 3 CMC. El incremento en el tiempo de lavado aumenta el tiempo de contacto entre extracto-suelo, favoreciendo los mecanismos de micelización y solubilización del diésel en la superficie del suelo y su transferencia hacia la solución de lavado (Ayele *et al.*, 2020).

El tiempo de contacto con mayor remoción de diésel fue de 94.32 % a 24 h y 3 CMC, sin embargo, de acuerdo con la prueba de Tukey, no existe diferencia significativa entre este tratamiento y el de 12 h, por lo que se puede lograr una remoción considerable desde la 2 CMC con el mismo tiempo de tratamiento (70.03 %).

Se utilizó agua destilada como control negativo y Triton X-100 como control positivo, la remoción con agua fue menor al 20 %, resulta similar a lo

reportado por Moon *et al.* (2015), donde el control negativo obtuvo una remoción del 21.62 %, lo que se atribuye a la agitación mecánica que induce una mezcla a macroescala, generando la desorción del contaminante de la superficie del suelo al agua (Son *et al.*, 2012). Por otra parte, el Tween 80 removió 42.81, 71.72 y 96.91 % para 6, 12 y 24 h, respectivamente, a pesar de tener una considerable remoción, se debe considerar que se utilizó una concentración mayor de este tensoactivo (50 g/L).

Los tratamientos a 2 y 3 CMC con 24 h de tiempo de contacto cumplieron con los límites máximos permisibles establecidos por la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 para suelo agrícola y suelo industrial/comercial.

Dos de los tratamientos lograron cumplir con los límites que establece la norma, el resto de los tratamientos podrían alcanzar los límites mediante biodegradación de los microorganismos propios del suelo o por atenuación natural (Serrano *et al.*, 2008).

7.4 Caracterización del suelo después del tratamiento

En la Tabla 13 se observan los parámetros y los cambios observados después del lavado de suelo.

Tabla 13. Caracterización de los suelos antes y después del tratamiento.

	Suelo inicial	Suelo contaminado	Suelo después del tratamiento
pH	7.42 ^a	7.88 ^a	7.59 ^a
D. A. (g/cm³)	1±0.14 ^a	1±0.07 ^a	0.97±0.08 ^a
M. O. (mg/g)	1.69 ^a	3.85 ^b	0.17 ^c

Se muestra el promedio de 3 repeticiones. Estos datos fueron analizados con ANDEVA. Letras diferentes en cada renglón se consideran estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

El pH se mantuvo constante antes y después del tratamiento, de igual manera, la densidad aparente del suelo inicial y el suelo tratado permaneció estable, por lo que la contaminación de suelo no representó un impacto en estos parámetros. Finalmente, se observó la disminución de la materia orgánica en el suelo tratado, debido a que el lavado de suelo favoreció la transferencia a la fase acuosa (Haapea y Tuhkanen, 2006).

8. Conclusiones

Se evaluó la actividad tensoactiva en los extractos de hojas, tallo y raíz de *Agapanthus africanus*, estos generaron emulsiones y se observaron algunos de los grupos representativos de las saponinas. Por otra parte, las plantas en suelo contaminado no presentaron diferencias significativas entre el contenido de clorofila con respecto a las de suelo control, lo que indica que son tolerantes a estas concentraciones de diésel, lo cual podría atribuirse a la acción o efecto sinérgico que tienen las saponinas. El extracto de raíz presentó el mayor contenido de saponinas comparado con el tallo y las hojas.

Se evaluaron los parámetros de concentración de biotensoactivo y tiempo de contacto en el lavado de suelo, las condiciones de 2 y 3 CMC-24 h cumplen con el límite máximo para suelo industrial/comercial de la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012. La extracción de biotensoactivos en plantas por maceración y su uso en el lavado de suelos podría ser una opción viable para remediar suelos contaminados con hidrocarburos como el diésel ya que presentan altos porcentajes de remoción y tiempos de tratamiento más cortos en comparación con otros tensoactivos comerciales.

Referencias

Abdel-Moghny, T., Mohamed, R. S., El-Sayed, E., Mohammed Aly, S. y Snousy, M. G. (2012). Effect of soil texture on remediation of hydrocarbons-contaminated soil at El-Minia district, Upper Egypt. *International Scholarly Research Notices*, 2012(1), 1-3.

Adnan, M., Siddiqui, A. J., Hamadou, W. S., Ashraf, S. A., Hassan, M. I., Snoussi, M. y Patel, M. (2021). Functional and structural characterization of *pediococcus pentosaceus*-derived biosurfactant and its biomedical potential against bacterial adhesion, quorum sensing, and biofilm formation. *Antibiotics*, 10(11), 1371.

Agarwal, A. y Liu, Y. (2015). Remediation technologies for oil-contaminated sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 101(2), 483-490.

Agyare, C., Obiri, D. D., Boakye, Y. D. y Osafo, N. (2013). Anti-inflammatory and analgesic activities of African medicinal plants. *Medicinal Plant Research in Africa*. Elsevier Inc.

Ahmad, Z., Imran, M., Qadeer, S., Hussain, S., Kausar, R., Dawson, L. y Khalid, A. (2018). Biosurfactants for sustainable soil management. *In Advances in Agronomy*, 150, 81-130.

Ahumada, A., Ortega, A., Chito, D. y Benítez, R. (2016). Saponins of quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*): A by-product with high biological potential. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 45(3), 438-469.

Alcantara, V. A., Pajares, I. G., Simbahan, J. F., Villarante, N. R. y Rubio, M. L. D. (2010). Characterization of biosurfactant from *Saccharomyces cerevisiae* 2031 and evaluation of emulsification activity for potential application in bioremediation. *Philippine Agricultural Scientist*, 93(1), 22-30.

Alemán, I. M. y Guido, F. P. (2016). Comparación de dos técnicas para la determinación de carbono orgánico del suelo, en el LAFQA Departamento de Química, UNAN-Managua, Septiembre-Diciembre, 2015 [Tesis de licenciatura]. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.

Ali, M. (2011). Management of Salt-Affected Soils. *Practices of Irrigation & On-farm Water Management* (2a edición). Springer.

Almansoor, A. F., Hasan, H. A., Abdullah, S. R. S., Idris, M., Anuar, N. y Al-Adiwish, W. M. (2019). Biosurfactant produced by the hydrocarbon-degrading bacteria: Characterization, activity and applications in removing TPH from contaminated soil. *Environmental Technology & Innovation*, 14, 1-27.

Almutairi, M. S. y Ali, M. (2015). Direct detection of saponins in crude extracts of soapnuts by FTIR. *Natural Product Research*, 29(13), 1271-1275.

Amini, E., Nabiuni, M., Baharara, J., Parivar, K. y Asili, J. (2014). Hemolytic and cytotoxic effects of saponin like compounds isolated from Persian Gulf brittle star (*Ophiocoma erinaceus*). *Journal of Coastal Life Medicine*, 2(10), 762-768.

Apul, O. G., Dahlen, P., Delgado, A. G., Sharif, F. y Westerhoff, P. (2016). Treatment of heavy, long-chain petroleum-hydrocarbon impacted soils using chemical oxidation. *Journal of Environmental Engineering*, 142(12), 60-65.

Arce, G. A., Alberto, J. A., Gómez, C. V. y Sánchez, M. E. (2015). Meteorización. Parte II: meteorización química, procesos y formas resultantes. Recuperado el 01 de junio de 2021. Geográfica Digital de <https://revistas.unne.edu.ar/index.php/geo/article/view/2168/1893>

Arellano, P., Tansey, K., Balzter, H. y Tellkamp, M. (2017). Plant family-specific impacts of petroleum pollution on biodiversity and leaf chlorophyll content in the Amazon rainforest of Ecuador. *Plos One*, 12(1), 1-18.

Atmanli, A. (2016). Effects of a cetane improver on fuel properties and engine characteristics of a diesel engine fueled with the blends of diesel, hazelnut oil and higher carbon alcohol. *Fuel*, 172, 209-217.

Attaphong, C. y Sabatini, D. A. (2017). Optimized microemulsion systems for detergency of vegetable oils at low surfactant concentration and bath temperature. *Journal of Surfactants and Detergents*, 20(4), 805-813.

Ayele, B. A., Lu, J., y Chen, Q. (2020). Optimization of aeration enhanced surfactant soil washing for remediation of diesel-contaminated soils using response surface methodology. *Peer Journal*, 8, 1-24.

Azubuike, C. C., Chikere, C. B. y Okpokwasili, G. C. (2016). Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(11), 180.

Bai, X., Wang, Y., Zheng, X., Zhu, K., Long, A., Wu, X. y Zhang, H. (2019). Remediation of phenanthrene contaminated soil by coupling soil washing with Tween 80, oxidation using the UV/S2O8²⁻ process and recycling of the surfactant. *Chemical Engineering Journal*, 369, 1014-1023.

Balogun, F. O. y Ashafa, A. O. T. (2019). A review of plants used in South African Traditional Medicine for the management and treatment of hypertension. *Planta Médica*, 85(04), 312-334.

Ballesteros, O. J. V., Perea, E. M., Méndez, J. J., Arango, W. M. y Noreña, D. A. (2013). Quantification, chemical and biological characterization of the saponosides material from *Sida cordifolia* L.(escobilla). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(2), 298-314.

Balliana, A. G., Moura, B. B., Inckot, R. C. y Bona, C. (2017). Development of *Canavalia ensiformis* in soil contaminated with diesel oil. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(1), 979-986.

Bamgbose, I. y Anderson, T. A. (2015). Phytotoxicity of three plant-based biodiesels, unmodified castor oil, and diesel fuel to alfalfa (*Medicago sativa* L.), lettuce (*Lactuca sativa* L.), radish (*Raphanus sativus*), and wheatgrass (*Triticum aestivum*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 122, 268-274.

Baoune, H., Aparicio, J. D., Acuña, A., El Hadj-khelil, A. O., Sanchez, L., Polti, M. A. y Alvarez, A. (2019). Effectiveness of the *Zea mays*-*Streptomyces* association for the phytoremediation of petroleum hydrocarbons impacted soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 184, 1-8.

Baymar (2020). Depósitos para almacenar gasoil. Recuperado el 01 de junio de 2021. Gasóleos Baymar de <https://www.exclusivasbaymar.com/depositos-para-almacenar-gasoil/>

Benyong, H., Ying, C., Ying, R. y Chaoyin, C. (2014). Content determination of total saponins from *Opuntia*. *An Indian Journal of Biotechnology*, 10(18), 10400-10404.

Bosco, F., Casale, A., Mazzarino, I., Godio, A., Ruffino, B., Mollea, C. y Chiampo, F. (2020). Microcosm evaluation of bioaugmentation and biostimulation efficacy on diesel-contaminated soil. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 95(4), 904-912.

Boshoff, W. (2016). *Agapanthus africanus*. Recuperado el 10 de octubre de 2020. University of the Free State de <https://scholar.ufs.ac.za/handle/11660/3289>

- Böttcher, S. y Drusch, S. (2017). Saponins—Self-assembly and behavior at aqueous interfaces. *Advances in Colloid and Interface Science*, 243, 105-113.
- Candemir, F. y Gülser, C. (2010). Effects of different agricultural wastes on some soil quality indexes in clay and loamy sand fields. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 42(1), 13-28.
- Cawood, M. E., Pretorius, J. C., Van Der Westhuizen, J. H. y Van Heerden, F. R. (2015). A saponin isolated from *Agapanthus africanus* differentially induces apoplastic peroxidase activity in wheat and displays fungicidal properties. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(11), 1-8.
- Cay, S. (2016). Enhancement of cadmium uptake by *Amaranthus caudatus*, an ornamental plant, using tea saponin. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188(6), 320.
- Chachina, S. B., Voronkova, N. A. y Baklanova, O. N. (2016). Biological remediation of the petroleum and diesel contaminated soil with earthworms *Eisenia fetida*. *Procedia Engineering*, 152, 122-133.
- Chaudhari, P. R., Ahire, D. V., Ahire, V. D., Chkravarty, M. y Maity, S. (2013). Soil bulk density as related to soil texture, organic matter content and available total nutrients of Coimbatore soil. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 3(2), 1-8.
- Chávez-Santoscoy, R. A., Gutiérrez-Urbe, J. A. y Serna-Saldívar, S. O. (2013). Effect of flavonoids and saponins extracted from black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed coats as cholesterol micelle disruptors. *Plant Foods for Human Nutrition*, 68(4), 416-423.
- Chen, Y. A., Liu, P. W. G., Whang, L. M., Wu, Y. J. y Cheng, S. S. (2020). Effect of soil organic matter on petroleum hydrocarbon degradation in diesel/fuel oil-contaminated soil. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 129(5), 603-612.
- Cheok, C. Y., Salman, H. A. K. y Sulaiman, R. (2014). Extraction and quantification of saponins: A review. *Food Research International*, 59, 16-40.
- Corona, A. (2020). Evaluación de la relación C/N y la concentración de NaCl en la biosíntesis de biotensoactivos producidos por *Bacillus cereus* para su uso en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos [Tesis de maestría]. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Dasgupta, S., Khatarani, A., Pithadiya, N. y Zaveri, S. H. (2021). Qualitative and quantitative determination of phytochemicals of fruit extracts of *Opuntia ficus-indica* (L) grown in Gujarat. *Environments*, 3, 4.
- Dauber, C., Carreras, T., González, L., Gámbaro, A., Valdés, A., Ibañez, E. y Vieitez, I. (2022). Characterization and incorporation of extracts from olive leaves obtained through maceration and supercritical extraction in Canola oil: Oxidative stability evaluation. *LWT*, 160, 1-10.
- De Anda, J., López-López, A., Villegas-García, E. y Valdivia-Aviña, K. (2018). High-strength domestic wastewater treatment and reuse with onsite passive methods. *Water*, 10(2), 99.
- De Melo Henrique, J. M., De Andrade, D. C., Barros Neto, E. L., Da Silva, D. R. y Dos Santos, E. V. (2019). Solar-powered BDD-electrolysis remediation of soil washing fluid spiked with diesel. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 94(9), 2999-3006.
- De Souza, F. R., Campos, V. R., Franco, A. L., Reis, A. C., Viccini, L. F. y De Sousa, S. M. (2017). Karyology of *Agapanthus africanus* (L.) Hoffmanns (Agapanthaceae). *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, 38, 195.

Documento Oficial de la Federación (DOF) (2002). NOM-021-RECNAT-2000. Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y lineamientos para el muestreo en la caracterización y especificaciones para la remediación. Recuperado el 13 de septiembre de 2020 de http://diariooficial.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5313544&fecha=10/09/2013

Documento Oficial de la Federación (DOF) (2013). NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012. Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y lineamientos para el muestreo en la caracterización y especificaciones para la remediación. Recuperado el 13 de septiembre de 2020 de http://diariooficial.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5313544&fecha=10/09/2013

Elkhawaga, M. A. (2018). Optimization and characterization of biosurfactant from *Streptomyces griseoplanus* NRRL-ISP 5009 (MS 1). *Journal of Applied Microbiology*, 124(3), 691-707.

Faizal, A. y Geelen, D. (2013). Saponins and their role in biological processes in plants. *Phytochemistry Reviews*, 12(4), 877-893.

Farias, J. M., Stamford, T. C. M., Resende, A. H. M., Aguiar, J. S., Rufino, R. D., Luna, J. M. y Sarubbo, L. A. (2019). Mouthwash containing a biosurfactant and chitosan: An eco-sustainable option for the control of cariogenic microorganisms. *International Journal of Biological Macromolecules*, 129, 853-860.

Fayyazbakhsh, A., y Pirouzfard, V. (2016). Determining the optimum conditions for modified diesel fuel combustion considering its emission, properties and engine performance. *Energy Conversion and Management*, 113, 209-219.

Ferreira, A., Vecino, X., Ferreira, D., Cruz, J. M., Moldes, A. B. y Rodrigues, L. R. (2017). Novel cosmetic formulations containing a biosurfactant from *Lactobacillus paracasei*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 155, 522-529.

Galindo Pérez, E. J., Ocaña Soto, R. R., Chávez Sandoval, B. E., Naranjo Castañeda, F. A., Martínez García, M., Campos Contreras, J. E. y García Franco, F. (2017). Evaluación de la fitotoxicidad de aceite automotriz usado con *Vicia faba* y *Phaseolus coccineus*. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33(3), 421-435.

García-Arredondo, A., Murillo-Esquivel, L. J., Rojas, A. y Sanchez-Rodriguez, J. (2014). Characteristics of hemolytic activity induced by the aqueous extract of the Mexican fire coral *Millepora complanata*. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 20, 01-09.

Ghasemzadeh, H. y Tabaiyan, M. (2017). The effect of diesel fuel pollution on the efficiency of soil stabilization method. *Geotechnical and Geological Engineering*, 35(1), 475-484.

Gomiero, T. (2016). Soil degradation, land scarcity and food security: Reviewing a complex challenge. *Sustainability*, 8(3), 281.

Gordon, G., Stavi, I., Shavit, U. y Rosenzweig, R. (2018). Oil spill effects on soil hydrophobicity and related properties in a hyper-arid region. *Geoderma*, 312, 114-120.

Guarino, C., Spada, V. y Sciarrillo, R. (2017). Assessment of three approaches of bioremediation (Natural Attenuation, Landfarming and Bioaugmentation-Assisted Landfarming) for a petroleum hydrocarbons contaminated soil. *Chemosphere*, 170, 10-16.

Gürtler, S., Souza Filho, C. R., Sanches, I. D., Alves, M. N. y Oliveira, W. J. (2018). Determination of changes in leaf and canopy spectra of plants grown in soils contaminated with petroleum hydrocarbons. *Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 146, 272-288.

- Haapea, P. y Tuhkanen, T. (2006). Integrated treatment of PAH contaminated soil by soil washing, ozonation and biological treatment. *Journal of Hazardous Materials*, 136(2), 244-250.
- Harendra, S. y Vipulanandan, C. (2013). Sorption and transport studies of cetyl trimethylammonium bromide (CTAB) and Triton X-100 in clayey soil. *Journal of Environmental Sciences*, 25(3), 576-584.
- Hawrot-Paw, M., Koniuszy, A., Zając, G. y Szyszlak-Bargłowicz, J. (2020). Ecotoxicity of soil contaminated with diesel fuel and biodiesel. *Scientific Reports*, 10(1), 1-9.
- Hong, I. K., Kim, S. I. y Lee, S. B. (2018). Effects of HLB value on oil-in-water emulsions: Droplet size, rheological behavior, zeta-potential, and creaming index. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 67, 123-131.
- Huang, Z., Wang, D., Befkadu, A. A., Zhou, J., Srivastava, I., Pan, D. y Chen, Q. (2020). Enhancement of auxiliary agent for washing efficiency of diesel contaminated soil with surfactants. *Chemosphere*, 252, 1-8.
- Huhman, D. V., Berhow, M. A. y Sumner, L. W. (2005). Quantification of saponins in aerial and subterranean tissues of *Medicago truncatula*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1914-1920.
- Idika, J., Ugwu, E., Martínez Villegas, N. V. y SenGupta, B. (2020). A comparative study on effectiveness of soapnut, rhamnolipid and EDTA in cleaning diesel oil contaminated soil from a commercial site in Edinburgh. *Research Journal of Chemistry and Environment*, 13(4), 575-596.
- Jiménez Islas, D., Medina Moreno, S. A. y Gracida Rodríguez J. N. (2010). Propiedades, aplicaciones y producción de biotensoactivos: una revisión. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 26(1), 65-84.
- Jimoh, A. A. y Lin, J. (2019). Production and characterization of lipopeptide biosurfactant producing *Paenibacillus* sp. D9 and its biodegradation of diesel fuel. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16(8), 4143-4158.
- Johnson, P., Trybala, A., Starov, V. y Pinfield, V. J. (2021). Effect of synthetic surfactants on the environment and the potential for substitution by biosurfactants. *Advances in Colloid and Interface Science*, 288, 102340.
- Kale, S. N. y Deore, S. L. (2017). Emulsion micro emulsion and nano emulsion: a review. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 8(1), 39.
- Kamal, M. S., Hussein, I. A. y Sultan, A. S. (2017). Review on surfactant flooding: phase behavior, retention, IFT, and field applications. *Energy & Fuels*, 31(8), 7701-7720.
- Karlapudi, A. P., Venkateswarulu, T. C., Tammineedi, J., Kanumuri, L., Ravuru, B. K., Ramu Dirisala, V. y Kodali, V. P. (2018). Role of biosurfactants in bioremediation of oil pollution-a review. *Petroleum*, 4(3), 241-249.
- Karthick, A., Roy, B. y Chattopadhyay, P. (2019). A review on the application of chemical surfactant and surfactant foam for remediation of petroleum oil contaminated soil. *Journal of Environmental Management*, 243, 187-205.
- Kirchhoff, M., Rodrigo-Comino, J., Seeger, M. y Ries, J. B. (2017). Soil erosion in sloping vineyards under conventional and organic land use managements (Saar-Mosel valley, Germany). *Cuadernos de Investigación Geográfica*, 43(1), 119-140.

- Le, A., E Parks, S., H Nguyen, M. y D Roach, P. (2018). Improving the vanillin-sulphuric acid method for quantifying total saponins. *Technologies*, 6(3), 84.
- Li, S., Wang, Q., Zhang, K. y Li, Z. (2020). Monitoring of CO₂ and CO₂ oil-based foam flooding processes in fractured low-permeability cores using nuclear magnetic resonance (NMR). *Fuel*, 263, 116648.
- Ligor, M., Ratiu, I. A., Kielbasa, A., Al-Suod, H. y Buszewski, B. (2018). Extraction approaches used for the determination of biologically active compounds (cyclitols, polyphenols and saponins) isolated from plant material. *Electrophoresis*, 39(15), 1860-1874.
- Lim, M. W., Von Lau, E. y Poh, P. E. (2016). A comprehensive guide of remediation technologies for oil contaminated soil—Present works and future directions. *Marine Pollution Bulletin*, 109(1), 14-45.
- Lima, R. A., Andrade, R. F., Rodríguez, D. M., Araújo, H. W., Santos, V. P. y Campos, G. M. (2017). Production and characterization of biosurfactant isolated from *Candida glabrata* using renewable substrates. *African Journal of Microbiology Research*, 11(6), 237-244.
- Linke, D. (2009). Detergents: an overview. *Methods in Enzymology*, 463, 603-617.
- Liu, G. y Chen, L. (2016). Development of a new type of green switch air entraining agent for wet-mix shotcrete and its engineering application. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2016, 1-9.
- Liu, F., Oturan, N., Zhang, H. y Oturan, M. A. (2020). Soil washing in combination with electrochemical advanced oxidation for the remediation of synthetic soil heavily contaminated with diesel. *Chemosphere*, 249, 1-29.
- Machale, J., Majumder, S. K., Ghosh, P. y Sen, T. K. (2019). Development of a novel biosurfactant for enhanced oil recovery and its influence on the rheological properties of polymer. *Fuel*, 257, 1-12.
- Marcelino, P. R. F., Gonçalves, F., Jimenez, I. M., Carneiro, B. C., Santos, B. B. y Da Silva, S. S. (2020). Sustainable Production of Biosurfactants and Their Applications. *Lignocellulosic Biorefining Technologies*, 159-183.
- Marchut-Mikolajczyk, O., Drożdżyński, P., Pietrzyk, D. y Antczak, T. (2018). Biosurfactant production and hydrocarbon degradation activity of endophytic bacteria isolated from *Chelidonium majus* L. *Microbial Cell Factories*, 17(1), 1-9.
- Megharaj, M. y Naidu, R. (2017). Soil and brownfield bioremediation. *Microbial Biotechnology*, 10(5), 1244-1249.
- Ménard, N., Tsapis, N., Poirier, C., Arnauld, T., Moine, L., Lefoulon, F. y Fattal, E. (2012). Drug solubilization and in vitro toxicity evaluation of lipoamino acid surfactants. *International Journal of Pharmaceutics*, 423(2), 312-320.
- Mendarte-Alquisira, C., Gutiérrez-Rojas, M., González-Márquez, H. y Volke-Sepúlveda, T. (2017). Improved growth and control of oxidative stress in plants of *Festuca arundinacea* exposed to hydrocarbons by the endophytic fungus *Lewia* sp. *Plant and Soil*, 411(1-2), 347-358.
- Mishra, N., Agsar, D., Deepthi, S. S., Kattagouda, U. M., Shetty, P. R. y Pandey, V. (2021). Novel application of Nerium leaf and Image J software in drop collapse assay for rapid screening of biosurfactant producing microorganisms. *Indian Journal of Experimental Biology (IJE)*, 59(7), 484-492.

Moghimpour, E. y Handali, S. (2015). Saponin: properties, methods of evaluation and applications. *Annual Research & Review in Biology*, 207-220.

Mostafa, A., Sudisha, J., El-Sayed, M., Ito, S. I., Ikeda, T., Yamauchi, N. y Shigyo, M. (2013). Aginoside saponin, a potent antifungal compound, and secondary metabolite analyses from *Allium nigrum* L. *Phytochemistry Letters*, 6(2), 274-280.

Moon, D. H., Jo, R., Koutsospyros, A., Cheong, K. H. y Park, J. H. (2015). Soil washing of fluorine contaminated soil using various washing solutions. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 94(3), 334-339.

Muñoz, L. (2021). Evaluación de cepas bacterianas aisladas de espeleotemas con capacidad en la biorremediación mejorada por contaminación de hidrocarburos [Tesis de maestría]. Universidad Autónoma de Querétaro

Mwinga, J. L., Makhaga, N. S., Aremu, A. O. y Otang-Mbeng, W. (2019). Botanicals used for cosmetic purposes by Xhosa women in the Eastern Cape, South Africa. *South African Journal of Botany*, 126, 4-10.

Nguyen, L., Fărcas, A. C., Socaci, S. A., Tofană, M., Diaconeasa A, Z. M., POP, O. L. y Salantă, L. C. (2020). An Overview of Saponins—A Bioactive Group. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Food Science and Technology*, 77, 1.

Nollet, M., Boulghobra, H., Calligaro, E., y Rodier, J. D. (2019). An efficient method to determine the Hydrophile-Lipophile Balance of surfactants using the phase inversion temperature deviation of CiEj/n-octane/water emulsions. *International Journal of Cosmetic Science*, 41(2), 99-108.

Olasanmi, I. O. y Thring, R. W. (2020). Evaluating rhamnolipid-enhanced washing as a first step in remediation of drill cuttings and petroleum-contaminated soils. *Journal of Advanced Research*, 21, 79-90.

Ossai, I. C., Ahmed, A., Hassan, A. y Hamid, F. S. (2020). Remediation of soil and water contaminated with petroleum hydrocarbon: A review. *Environmental Technology & Innovation*, 17, 1-81.

Patowary, R., Patowary, K., Kalita, M. C. y Deka, S. (2018). Application of biosurfactant for enhancement of bioremediation process of crude oil contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 129, 50-60.

Pérez Robles, S. L., Silva Melo, I. C., Peñuela Mesa, G. A. y Cardona Gallo, S. A. (2015). Evaluation of biofuels and petroleum hydrocarbons (gasoline and diesel) in soil: Transportation and bioremediation processes. *Revista de Escuela Ingeniería Antioquia*, (SPE2), 21-46.

Petkova, R., Tcholakova, S. y Denkov, N. D. (2012). Foaming and foam stability for mixed polymer–surfactant solutions: effects of surfactant type and polymer charge. *Langmuir*, 28(11), 4996-5009.

Posada-Baquero, R., Jiménez-Volkerink, S. N., García, J. L., Vila, J., Cantos, M., Grifoll, M. y Ortega-Calvo, J. J. (2020). Rhizosphere-enhanced biosurfactant action on slowly desorbing PAHs in contaminated soil. *Science of The Total Environment*, 720, 137608.

Pradhan, A. y Bhattacharyya, A. (2017). Quest for an eco-friendly alternative surfactant: Surface and foam characteristics of natural surfactants. *Journal of Cleaner Production*, 150, 127-134.

Prieto-Mendez, J., Prieto Garcia, F., Acevedo Sandoval, O. A. y Mendez Marzo, M. A. (2014). Correlation of Moisture, pH and Zeta Potential (ζ) in Sandy-Clay-Loam Soils of the Southern State of Hidalgo, Mexico. *Asian Journal of Chemistry*, 26(10).

Ramadass, K., Megharaj, M., Venkateswarlu, K. y Naidu, R. (2017). Ecotoxicity of measured concentrations of soil-applied diesel: Effects on earthworm survival, dehydrogenase, urease and nitrification activities. *Applied Soil Ecology*, 119, 1-7.

Ramírez, M. I., Arévalo, A. P., Sotomayor, S. y Bailon-Moscoso, N. (2017). Contamination by oil crude extraction–Refinement and their effects on human health. *Environmental Pollution*, 231, 415-425.

Ramírez, P. (2022). Pemex registra 176 derrames y fugas de alto impacto ambiental de 2018 a 2021. Causa Natura. Recuperado 23 de mayo de 2022, de <https://causanatura.org/periodismo-cn/pemex-registra-176-derrames-y-fugas-de-alto-impacto-ambiental-de-2018-a-2021#:~:text=Si%20consideramos%20dichos%20informes%20de,176%20a%20%20mil%20935>.

Rani, M., Choudhry, P., Kumar, A. y Chhokar, V. (2021). Evaluation of saponins in *Aloe vera* by High-performance liquid chromatography and Fourier transform infrared spectroscopy. *The Pharma Innovation Journal*. 10(9), 1925-1933.

Ranieri, E., Bombardelli, F., Gikas, P. y Chiaia, B. (2016). Soil pollution prevention and remediation. *Applied and Environmental Soil Science*, 2016, 1-2.

Ruiz-Santiago, F. L., Ruiz Velázquez, J. A., Hernández Becerra, J. A., García Jiménez, R. y Valadez Villarreal, A. (2019). Extracción y cuantificación de clorofila en hojas comestibles del estado de Tabasco. *Revista Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 4, 944-949.

Saha, P. y Rao, K. V. (2017). Biosurfactants-A Current Perspective on Production and Applications. *Nature Environment & Pollution Technology*, 16(1), 181-188.

Sánchez-Medina, A., Peña-Rodríguez, L. M., May-Pat, F., Karagianis, G., Waterman, P. G., Mallet, A. I. y Habtemariam, S. (2010). Identification of sakurasosaponin as a cytotoxic principle from *Jacquinia flammea*. *Natural Product Communications*, 5(3), 365-368.

Santos, D. K. F., Rufino, R. D., Luna, J. M., Santos, V. A. y Sarubbo, L. A. (2016). Biosurfactants: multifunctional biomolecules of the 21st century. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(3), 401.

Salari, F. D., Chen, G., Li, X. y Guo, M. (2017). Comparative analysis of saponins from different phytolaccaceae species and their antiproliferative activities. *Molecules*, 22(7), 1077.

Santos, A. P. P., Silva, M. D. S., Costa, E. V. L., Rufino, R. D., Santos, V. A., Ramos, C. S. y Porto, A. L. F. (2018). Production and characterization of a biosurfactant produced by *Streptomyces* sp. DPUA 1559 isolated from lichens of the Amazon region. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 51(2), 1-10.

Saravanan, A., Jeevanantham, S., Narayanan, V. A., Kumar, P. S., Yaashikaa, P. R. y Muthu, C. M. (2020). Rhizoremediation–A promising tool for the removal of soil contaminants: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(2), 1-41.

Sardi, A. E., Sandrini-Neto, L., Pereira, L. D. S., De Assis, H. S., Martins, C. C., da Cunha Lana, P. y Camus, L. (2016). Oxidative stress in two tropical species after exposure to diesel oil. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(20), 20952-20962.

- Sastre, F., Ferreira, F. y Pedreschi, F. (2016). TLC fingerprint of phenolics and saponins in commercial extracts of *Yucca schidigera* Roezl. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 39(15), 698-701.
- Scholz, N., Behnke, T. y Resch-Genger, U. (2018). Determination of the critical micelle concentration of neutral and ionic surfactants with fluorometry, conductometry, and surface tension—a method comparison. *Journal of Fluorescence*, 28(1), 465-476.
- Šernaitė, L. (2017). Plant extracts: antimicrobial and antifungal activity and appliance in plant protection. *Sodininkystė ir Daržininkystė*, 36(4), 58-68.
- Serrano, A., Gallego, M., González, J. L. y Tejada, M. (2008). Natural attenuation of diesel aliphatic hydrocarbons in contaminated agricultural soil. *Environmental Pollution*, 151(3), 494-502.
- Singh, B., Singh, J. P., Singh, N. y Kaur, A. (2017). Saponins in pulses and their health promoting activities: A review. *Food Chemistry*, 233, 540-549.
- Sharma, V. y Paliwal, R. (2013). Isolation and characterization of saponins from *Moringa oleifera* (moringaceae) pods. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 5(1), 179-183.
- Singh, Y. y Baijnath, H. (2018). 876. *Agapanthus campanulatus*: Amaryllidaceae–Agapanthoideae. *Curtis's Botanical Magazine*, 35(2), 106-124.
- Sofla, S. J. D., Sharifi, M. y Sarapardeh, A. H. (2016). Toward mechanistic understanding of natural surfactant flooding in enhanced oil recovery processes: the role of salinity, surfactant concentration and rock type. *Journal of Molecular Liquids*, 222, 632-639.
- Soltani, M., Parivar, K., Baharara, J., Kerachian, M. A. y Asili, J. (2014). Hemolytic and cytotoxic properties of saponin purified from *Holothuria leucospilota* sea cucumber. *Reports of Biochemistry & Molecular Biology*, 3(1), 43.
- Soltaninejad, H., Lotfabad, T. B. y Yaghmaei, S. (2016). Enhanced Soil Remediation via Plant-Based Surfactant Compounds from *Acanthophyllum Laxiusculum*. *Tenside Surfactants Detergents*, 53(4), 324-331.
- Son, Y., Nam, S., Ashokkumar, M. y Khim, J. (2012). Comparison of energy consumptions between ultrasonic, mechanical, and combined soil washing processes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19(3), 395-398.
- Stancu, M. M. (2016). Response mechanisms in *Serratia marcescens* IBBPo15 during organic solvents exposure. *Current Microbiology*, 73(6), 755-765.
- Sutton, N. B., van Gaans, P., Langenhoff, A. A., Maphosa, F., Smidt, H., Grotenhuis, T. y Rijnaarts, H. H. (2013). Biodegradation of aged diesel in diverse soil matrixes: impact of environmental conditions and bioavailability on microbial remediation capacity. *Biodegradation*, 24(4), 487-498.
- Taccari, M., Milanovic, V., Comitini, F., Casucci, C. y Ciani, M. (2012). Effects of biostimulation and bioaugmentation on diesel removal and bacterial community. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 66(1), 39-46.
- Tagousop, C. N., Tamokou, J. D. D., Kengne, I. C., Ngnokam, D. y Voutquenne-Nazabadioko, L. (2018). Antimicrobial activities of saponins from *Melanthera elliptica* and their synergistic effects with antibiotics against pathogenic phenotypes. *Chemistry Central Journal*, 12(1), 1-9.

Thalhamer, B. y Buchberger, W. (2021). Discrepancies in the German Pharmacopoeia procedure for quality control of *Quillaja saponin* extracts. *Archiv der Pharmazie*, 354(12), 2100262.

Tang, X., Huston, K. J. y Larson, R. G. (2014). Molecular dynamics simulations of structure–property relationships of Tween 80 surfactants in water and at interfaces. *The Journal of Physical Chemistry B*, 118(45), 12907-12918.

Trap, J., Bonkowski, M., Plassard, C., Villenave, C. y Blanchart, E. (2016). Ecological importance of soil bacterivores for ecosystem functions. *Plant and Soil*, 398(1-2), 1-24.

Truskewycz, A., Gundry, T. D., Khudur, L. S., Kolobaric, A., Taha, M., Aburto-Medina, A. y Shahsavari, E. (2019). Petroleum hydrocarbon contamination in terrestrial ecosystems—fate and microbial responses. *Molecules*, 24(18), 3400.

Urner, L. H., Ariamajd, A. y Weikum, A. (2022). Combinatorial synthesis enables scalable designer detergents for membrane protein studies. *Chemical Science*, 13(35), 10299-10307.

Urum, K. y Pekdemir, T. (2004). Evaluation of biosurfactants for crude oil contaminated soil washing. *Chemosphere*, 57 (9), 1139-1150.

Velasco, N., Velasco, J. A., Volke-Sepúlveda, T. y Gutiérrez-Rojas, M. (2003). Efecto de tratamientos fisicoquímicos en la degradación de hidrocarburos en un suelo intemperizado por composteo. Cartel presentado en el Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, Puerto Vallarta, Jalisco.

Villaseñor, D. (2015). Fundamentos y procedimientos para análisis físicos y morfológicos del suelo. UTMACH.

Vreysen, S. y Maes, A. (2005). Remediation of a diesel contaminated, sandy-loam soil using low concentrated surfactant solutions (5 pp). *Journal of Soils and Sediments*, 5(4), 240-244.

Woźniak-Karczewska, M., Lisiecki, P., Białas, W., Owsianiak, M., Piotrowska-Cyplik, A., Wolko, Ł. y Chrzanowski, Ł. (2019). Effect of bioaugmentation on long-term biodegradation of diesel/biodiesel blends in soil microcosms. *Science of the Total Environment*, 671, 948-958.

Yalçın, H. T., Ergin-Tepebaşı, G. y Uyar, E. (2018). Isolation and molecular characterization of biosurfactant producing yeasts from the soil samples contaminated with petroleum derivatives. *Journal of Basic Microbiology*, 58(9), 782-792.

Yekeen, N., Malik, A. A., Idris, A. K., Reepi, N. I. y Ganie, K. (2020). Foaming properties, wettability alteration and interfacial tension reduction by saponin extracted from soapnut (*Sapindus Mukorossi*) at room and reservoir conditions. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 195, 1-15.

Yu, X. L. y He, Y. (2018). Development of a rapid and simple method for preparing tea-leaf saponins and investigation on their surface tension differences compared with tea-seed saponins. *Molecules*, 23(7), 2-12.

Zamudio-Pérez, E., Bandala, E. R., Fernandez, L. C. y Torres, L. G. (2013). Surfactant enhanced washing of soil contaminated with petroleum hydrocarbons and treatment of produced wastewaters using a biofilter. *Journal of Environmental Treatment Techniques*, 1(2), 110-116.

Zhang, R., Sun, C., Kou, J., Zhao, H., Wei, D. y Xing, Y. (2018). Enhancing the leaching of chalcopyrite using *Acidithiobacillus ferrooxidans* under the induction of surfactant triton X-100. *Minerals*, 9(1), 11.

Zhang, B., Matchinski, E. J., Chen, B., Ye, X., Jing, L. y Lee, K. (2019). Marine oil spills—Oil pollution, sources and effects. *In World Seas: An Environmental Evaluation*. 391-406.

Zhao, Y. J. y Li, C. (2018). Biosynthesis of plant triterpenoid saponins in microbial cell factories. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(46), 12155-12165.

Zhou, Z., Liu, X., Sun, K., Lin, C., Ma, J., He, M., y Ouyang, W. (2019). Persulfate-based advanced oxidation processes (AOPs) for organic-contaminated soil remediation: A review. *Chemical Engineering Journal*, 372, 836-851.