UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
IZTAPALAPA



Casa abierta al tiempo

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLOGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE BIOTECNLOGIA

LAVADO Y COMPOSTEO EX-SITU DE UN SUELO INTEMPERIZADO CON HIDROCARBUROS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA

SERGIO ALEJANDRO MEDINA MORENO

TUTOR: Dr. MARIANO GUTIÉRREZ ROJAS
ASESOR: Dr. SERGIO HUERTA OCHOA
SINODAL: Dr. CARLOS REGALADO GONZÁLEZ
SINODAL: Dra. MA DEL REFUGIO TREJO

MÉXICO D.F. **JUNIO 1999**

CONTENIDO

RESUMEN.....*i*

INTRODUCCIÓN.....*ii*

INDICE DE FIGURAS.....*iv*

INDICE DE TABLAS.....*vii*

1.REVISIÓN BIBLIOGRAFICA.....1

1.1 EL SUELO.....1

1.2 SORCION Y BIODISPONIBILIDAD DE CONTAMINANTES.....2

1.2.1 Química de la sorción de contaminantes orgánicos.....3

1.3 HIDROCARBUROS COMO CONTAMINANTES DEL SUELO.....6

1.3.1 Bioquímica y propiedades físicas de Hidrocarburos.....6

1.4 LAVADO DE SUELOS.....16

1.4.1 Surfactantes y sus propiedades.....16

1.4.2 Desorción y emulsifación de un COH en suelo mediante una solución micelar.....19

I. Sorción de surfactantes en suelo.....20

II. Coeficiente de partición entre la fase acuosa y la pseudofase micelar (Km).....21

III. Distribución de los COH en un sistema suelo/solución micelar(Kd).....23

IV Desorción de COH con lavados sucesivos a bajas concentraciones de surfactante....25

1.5 TECNOLOGIAS DE BIORREMEDIACIÓN PARA TRATAMIENTO DE SUELOS.....26

1.5.1 Composteo.....28

1.5.2 Composteo en Biorreactores.....29

2.JUSTIFICACIÓN.....31

3.OBJETIVOS.....32

3.1 General.....32

3.2 Particulares.....32

4. MATERIAL Y MÉTODOS.....33

4.1 SUELO.....33

4.2 SURFACTANTE.....34

4.3 CUANTIFICACIÓN DEL TRITÓN X-100.....35

4.4 ISOTERMAS DE SORCIÓN DEL SURFACTANTE.....36
4.4.1 Isoterma de sorción variando la concentración de surfactante 36
4.4.2 Isoterma de sorción variando la relación suelo/solución micelar.....38
4.5 DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE LAVADO.....40
4.5.1 Factoriales.....40
4.5.2 Cuantificación de los hidrocarburos en el seno de la solución micelar.....41
4.5.3 Técnica de la demanda química de oxígeno(DQO).....42
4.5.4 Unidades experimentales, blancos y tratamiento.....43
4.6 CURVAS DE LAVADO Y DESORCIÓN DE LAS FRACCIONES DE HTPs.....44
4.6.1 Cuantificación de hidrocarburos totales del petróleo (HTPs) y surfactante en suelo.....44
4.6.2 Fraccionamiento de los contaminantes.....46
I. Separación y cuantificación de asfaltenos.....46
II. Separación y cuantificación de alifáticos, aromáticos y polares.....48
4.6.3 Curvas de lavado y tratamiento.....51
4.7 LAVADO Y COMPOSTEO DE SUELO CONTAMINADO.....53
4.7.1 Lavado de suelo.....53
4.7.2 Proceso de composteo.....54
I. Equipo para el proceso de composteo.....54
II. Composteo.....56
4.7.3 Técnicas analíticas.....58
I. Humedad.....58
II. pH.....58
III. Aw.....58
IV. Pérdida de materia seca.....59
V. Azucares Totales.....59
VI. Surfactante.....60
VII. HTPs y fraccionamiento.....61
4.7.4 Determinación de las cinéticas de gases y temperatura.....62

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....66
5.1 DETERMINACIÓN DE PARAMETROS PARA LA SORCION DEL SURFACTANTE EN EL SUELO EN ESTUDIO.....66

5.1.1 Sorción en función de la concentración de surfactante.....67
5.1.2 Sorción en función de la relación suelo solución micelar.....75
5.1.3 Parámetros fisicoquímicas para el lavado.....76
5.2 CONDICIONES DE LAVADO.....77
5.2.1 Concentración de surfactante y tiempo de lavado 78
5.2.2 Análisis del efecto de la agitación utilizando la metodología de superficies de respuesta.....81
5.3 CURVAS DE LAVADO.....84
5.3.1Determinación del número de lavados.....84
5.3.2 Determinación de la fracción emulsificada y el coeficiente de partición 86
5.3.3 Desorción y emulsificación selectiva durante el lavado 89
5.3.4 Curva de lavado del suelo para el composteo.....95
5.4 COMPOSTEO.....97
5.4.1 Cinéticas de degradación de hidrocarburos.....97
5.4.2 Cinéticas de degradación del surfactante.....102
5.5. CINÉTICAS DE GASES Y TEMPERATURA.....105
5.5.1 Cinéticas de temperatura.....105
5.5.2 Cinéticas de gases.....107
5.5.3 Balance de CO_2.....111
6. CONCLUSIONES.....117
6.1CONCLUSIONES PARTICULARES.....117
6.2 CONCLUSIÓN GENERAL.....118
7. PERSPECTIVAS.....119
APÉNDICES
APÉNDICE I. *NOMENCLATURA*.....120
APÉNDICE II. *Cinéticas de humedad, pH, aw y pérdida de materia seca*.....126
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....128

RESUMEN

Hasta finales de este siglo el hombre ha tomado conciencia del daño que ha provocado en el medio ambiente. La explotación de los recursos naturales ha traído consigo la contaminación directa o indirecta de los diferentes ecosistemas en el planeta. En el caso de la contaminación de suelos con productos químicos, se tienen lugares que han permanecido varias décadas con estos contaminantes. Particularmente en México, se presentan graves problemas de contaminación en suelos y sedimentos debido a los trabajos relacionados con la industria petrolera (exploración, perforación, explotación y refinería).

La presente tesis muestra los resultados obtenidos, durante la aplicación *ex-situ* de las tecnologías de lavado de suelos (con un surfactante no iónico) y composteo (en biorreactores), montadas a nivel laboratorio para la remediación de un suelo intemperizado con hidrocarburos, proveniente del estado de Chiapas.

Primero, se determinó de manera experimental la constante de saturación del surfactante no iónico Tritón X-100 (perteneciente a la familia de los alquilfenoletoxilatos) en el suelo en estudio ($Q_{máx}$ = 0.0114 g surf/g suelo), con lo cual se pudo determinar los parámetros necesarios para el primer lavado del suelo (CMC_{suelo}, W_{suelo}/V_{mic}). Posteriormente y mediante un diseño factorial y la construcción de superficies de respuesta, se establecieron las condiciones para el lavado (*Csurf*, *tl* y agitación).

Con los parámetros y condiciones de lavado establecidos, se prosiguió a construir curvas de lavado para determinar el número de lavados (*n*) más efectivo en la remoción de hidrocarburos del suelo contaminado. Las curvas mostraron que tres lavados son suficientes para remover de un 50-56% de los hidrocarburos presentes en el suelo. En esta misma etapa y mediante una técnica de fraccionamiento por cromatografía en columna (la cual permitió cuantificar cuatro diferentes grupos en los hidrocarburos presentes en el suelo: asfaltenos, alifáticos, aromáticos y polares), se determinó como el surfactante desorbe y emulsifica selectivamente a los hidrocarburos. Los alifáticos mostraron ser los de más fácil remoción, mientras que los asfaltenos no se desorbieron permaneciendo su concentración constante en el suelo.

Por último, se llevo a cabo el composteo en biorreactores y columnas de: *i*) suelo lavado bajo las condiciones y con el número de lavados determinados previamente y *ii*) suelo no lavado con concentraciones iniciales de hidrocarburos y surfactante similares a las del suelo lavado. Estos experimentos mostraron que el surfactante es fácilmente biodegradado en ambos casos, sin embargo solo se tuvo una degradación significativa de hidrocarburos en el suelo no lavado. También en esta etapa se fraccionó por cromatografía en columna a los hidrocarburos residuales durante el composteo, determinándose como son biodegradados selectivamente. Los alifáticos mostraron ser el grupo más fácilmente biodegradado, mientras que la concentración de los asfaltenos permaneció constante en el suelo.

INTRODUCCIÓN

El presente documento engloba la metodología y análisis realizados en el lavado y composteo de un suelo intemperizado con hidrocarburos. Para hacer esto se empleó un surfactante no iónico y dos suelos provenientes del estado de Chiapas (uno contaminado con hidrocarburos y otro sin contaminar).

La estructura del reporte es como sigue: en el *capítulo 1* se presenta una revisión bibliográfica, se mencionan aspectos generales referentes al suelo y los hidrocarburos como contaminantes. Se discuten estudios acerca del lavado de suelos y sus principales parámetros, así como de las tecnologías de biorremediación, recalcando de manera particular el composteo.

Los *capítulos 2* y *3* tocan lo concerniente a la justificación y objetivos planteados. El *capítulo 4* trata de los materiales y métodos empleados. En este capítulo se presenta una descripción detallada de cómo se establecieron las condiciones de lavado y los procesos de composteo, así como de las diferentes técnicas analíticas empleadas. Se muestran esquemas y fotografías de los mismos.

En lo que respecta al *capítulo 5*, se cubren los resultados y discusión referentes a: *i*) la sorción del surfactante en el suelo, *ii*) determinación de las condiciones de lavado, *iii*) construcción de curvas de lavado y la desorción selectiva de hidrocarburos, *iv*) cinéticas de degradación de hidrocarburos y el surfactante durante los composteos y *v*) cinéticas de temperatura, gases (CO_2 y O_2) y un balance de CO_2 durante los composteos. En el *capítulo 6* se presentan las conclusiones del trabajo.

Se anexan dos apéndices, en el primero se describe la nomenclatura que aparece a lo largo del texto, mientras que en el segundo, se presentan las cinéticas de diferentes parámetros del composteo como son: humedad, pH, a_w y pérdida de materia seca. Por último, se presentan las referencias bibliográficas en las que se apoyó este trabajo.

Deseo agradecer a varias personas por su apoyo durante el desarrollo de la parte experimental como en la escritura de la tesis: a los doctores Mariano Gutiérrez Rojas y Sergio Huerta Ochoa, por su paciencia durante las revisiones y sus valiosas sugerencias, sin las cuales no se hubiera concluido con éxito la tesis. A todos mis compañeros de trabajo de la PP4, principalmente a Rosario, Idelfonso, Erika y Luciano. A mi esposa Angélica, quién siempre me alentó y confió en la finalización de este trabajo.

Finalmente agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), así como al Instituto Mexicano del Petróleo (IMP, Proyecto IMP-FIES-96F-48-VI) por el financiamiento otorgado en la realización de este trabajo.

INDICE DE FIGURAS

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Fig. 1.1 Unidad estructural de un suelo.....1

Fig.1.2 Textura del suelo en función de los porcentajes de arena, arcilla y limo 2

Fig.1.3 Interacciones de diferentes compuestos orgánicos con la superficie de la sílica y medida de las energías de enlace derivadas de datos de tensión superficial.....5

Fig.1.4 Rutas seguidas para la degradación de parafinas.....8

Fig.1.5 Rutas para la degradación de compuestos alicíclicos.....9

Fig.1.6 Degradación aeróbia del benceno.....11

Fig 1.7 Principales vías oxidativas de degradación del naftaleno y fenantreno.....13

Fig.1.8 Principales reacciones en la degradación microbiana de compuestos polares.....14

Fig.1.9 Modelos propuestos para los asfaltenos.....15

Fig. 1.10 Dos moléculas representativas de los surfactantes iónicos.....17

Fig.1.11 Representación esquemática de la determinación de la *CMC*.....17

Fig.1.12 Diagrama esquemático del proceso abiótico de lavado en un sistema suelo/solución micelar.....19

Fig.1.13 Representación esquemática de la razón molar de emulsificación (RME).....21

Fig 1.14 Comportamiento de *F* a diferentes dosis de surfactante.....24

Fig. 1.15 Fracción de COH emulsificado en diferentes procesos de lavado, con diferentes *Wsurf* pero una misma *Tsurf* 26

Fig 1.16 Diferentes bioreactores utilizados en el proceso de composteo.....29

2. JUSTIFICACIÓN

Fig.2.1 Principales estados de la República Mexicana con problemas de contaminación de petróleo y sus derivados.....31

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Fig.4.1 Localización geográfica de los dos tipos de suelo muestreados.....33

Fig.4.2 Pretratamiento del suelo para su utilización en los diferentes experimentos.....34

Fig.4.3 Estructura del surfactante no iónico Tritón X-100.....34

Fig.4.4 Espectros de absorción para Tritón X-100.....35

Fig.4.5 Curva estándar para la cuantificación del Tritón X-100 en las isotermas de sorción.....35

Fig.4.6 Esquema experimental para la construcción de la isoterma de sorción variando la concentración de surfactante.....37

Fig.4.7 Esquema experimental para construcción de la isoterma de sorción variando la relación suelo/solución micelar.....39

Fig 4.8 Curva estándar de *DQO* para el análisis de los sobrenadantes en los factoriales.....42

Fig 4.9 Unidades experimentales, blancos y tratamiento seguido en ambos factoriales.....43

Fig.4.10 Sistema de extracción liquido-sólido.....45

Fig.4.11 Esquematización de la técnica de separación y cuantificación de asfaltenos.....46

Fig.4.12 Cromatografía en columna para la separación y cuantificación de alifáticos, aromáticos y polares.....49

Fig.4.13 Tratamiento de las muestras para la construcción de las curvas de lavado.....52

Fig. 4.14 Reactor empleado para el lavado del suelo contaminado.....53

Fig.4.15 Reactor modular de acero inoxidable y columna de vidrio.....55

Fig.4.16 Cámara para el control de temperatura.....55

Fig.4.17 Sistema de calefacción.....56

Fig. 4.18 Vista global del composteo.....57

Fig. 4.19 Curva estándar utilizada en la cuantificación de azucares totales.....59

Fig. 4.20 Curva estándar utilizada en la cuantificación del surfactante Tritón X-100 por HPLC.....60

Fig.4.21 Sistema empleado para la toma de datos, en la cinética de gases.....62

Fig.4.22 Método del trapecio utilizado para estimar los valores de A_{CO2} y A_{O2}.....64

Fig.4.23 Sistema empleado para la toma de datos, en la cinética de temperatura.....65

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fig. 5.1 Isoterma de Sorción de Tritón X-100 variando la *Csurf*.....67

Fig.5.2 Adsorción física del TX-100 en la arcilla del suelo en estudio.....68

Fig.5.3 Modelo propuesto para describir el proceso de adsorción-desorción y formación de micelas de un surfactante no iónico en presencia de suelo.....71

Fig.5.4 Linearización para la determinación de los parámetros K_{af} y $Q_{máx}$.....74

Fig.5.5 Ajuste a la isoterma de Langmuir, en el sistema Tritón X-100 y suelo.....75

Fig.5.6 Isoterma de sorción del Tritón X-100, variando la W_{suelo}/V_{mic}.....76

Fig.5.7 Superficie de respuesta generada con el modelo ajustado por regresión lineal múltiple a los datos del factorial con agitación.....82

Fig.5.8 Superficie de respuesta generada con el modelo ajustado por regresión lineal múltiple a los datos del factorial sin agitación.....83

Fig.5.9 Curvas de lavado con Tritón X-100, para el suelo intemperizado en estudio.....84

Fig.5.10 Datos de las curvas de lavado ajustadas a polinomios de cuarto grado.....85

Fig.5.11 Fracción de HTPs emulsificados (F_n) en función del número de lavado (*n*) 87

Fig.5.12 Variación del coeficiente de partición (*Kd*) con respecto al número de l avados (*n*).....88

Fig.5.13 Composición porcentual de los 4 grupos de hidrocarburos presentes en los HTPs residuales por lavado.....90

Fig.5.14 Curvas de lavado para los 4 grupos de hidrocarburos analizados.....91

Fig.5.15 Polinomios ajustados a los datos de lavado para los 4 grupos de hidrocarburos.....92

Fig.5.16 Gráficas de F_{ni} contra *n* para 3 grupos de hidrocarburos.....93

Fig. 5.17 Curva de lavado para el suelo utilizado en el composteo.....95

Fig. 5.18 Cinéticas de degradación de HTPs.....98

Fig. 5.19 Cinéticas de degradación para cada uno de los grupos presentes en los HTPs.....101

Fig.5.20 Cinéticas de degradación del surfactante no iónico Tritón X-100.....103

Fig.5.21 Ruta oxidativa para la biodegradación de la parte etoxilica de un *t-Octil-fenol etoxilato*.....103

Fig. 5.22 Cinéticas de temperatura en cuatro diferentes puntos para los procesos de composteo.....105

Fig.5.23 Cinéticas de gases en forma de porcentajes.....107

Fig.5.24 Gráficas de $\%CO_2$ generado y consumo de azúcar.....108

Fig.5.25 Tasas de producción y consumo de CO_2 y O_2.....109

Fig.5.26 Coeficientes respiratorios instantáneos.....110

Fig.5.27 Ajustes de las cinéticas de consumo y degradación de cada uno de los grupos presentes en el composteo del suelo no lavado.....112

Fig.5.28 Ajustes de las cinéticas de consumo y degradación de tres grupos en el composteo del suelo lavado.....113

Fig. 5.29 CO_2 acumulado teórico y experimental.....116

INDICE DE TABLAS

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Tabla 1.1 Propiedades de los diferentes tipos de arcillas presentes en suelos.....4

Tabla 1.2 Géneros de bacterias y hongos degradadoras de compuestos alifáticos.....7

Tabla 1.3 Principales propiedades físicas de los hidrocarburos aromáticos.....10

Tabla 1.4 Principales propiedades físicas de los hidrocarburos poliaromáticos (HPA).....12

Tabla 1.5 Porcentajes relativos de degradación de HPA.....13

Tabla 1.6 Propiedades de los principales surfactantes no iónicos.....18

Tabla 1.7 Valores de los principales parámetros para la emulsificación de HPA mediante surfactantes no iónicos.....23

Tabla 1.8 Tecnologías en los tratamientos de Bioremediación.....28

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Tabla 4.1 Propiedades fisicoquímicas de los suelos intemperizado con hidrocarburos y el no contaminado, ambos muestreados en Cactus en el Estado de Chiapas 34

Tabla 4.2 Interacciones y repeticiones para el factorial con agitación de 60 rpm.....40

Tabla 4.3 Interacciones y repeticiones para el factorial estático.....41

Tabla 4.4 Soluciones para determinación de *DQO*.....42

Tabla 4.5 Composición y condiciones para los procesos de composteo.....56

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 5.1 Datos experimentales de la isoterma de sorción variando la *Csurf*.....73

Tabla 5.2 Datos experimentales del proceso de sorción variando la relación suelo/solución micelar.....75

Tabla 5.3 Constantes fisicoquímicas considerados para el lavado del suelo en estudio.....77

Tabla 5.4 DQO_{Hidr} (mg/L) CON AGITACIÓN.....78

Tabla 5.5 DQO_{Hidr} (mg/L) SIN AGITACIÓN.....78

Tabla 5.6 ANOVA para el factorial CON AGITACIÓN.....80

Tabla 5.7 ANOVA para el factorial SIN AGITACIÓN.....80

Tabla 5.8 Eficiencias de desorción en las curvas de lavado.....86

Tabla 5.9 Composición de las diferentes fracciones presentes en los HTPs inicial y residuales para la curva de lavado con 63,900 ppm HTPs.....89

Tabla 5.10 Valores hasta el tercer lavado de ηi (g/ gramo suelo seco) predichos por el polinomio, eficiencias de remoción (g/gramo suelo seco lavado) y fracción emulsificada para cada uno de los grupos presentes en los HTPs.....93

Tabla 5.11 Valores hasta el tercer lavado del coeficiente de partición *Kd*, para tres grupos de hidrocarburos.....94

Tabla 5.12 Eficiencias de remoción del suelo lavado para el composteo.....96

Tabla 5.13 Composición de las diferentes fracciones presentes en los HTPs inicial y residuales para la cinética del suelo no lavado.....99

Tabla 5.14 Composición de las diferentes fracciones presentes en los HTPs inicial y residuales para la cinética del suelo lavado.....99

Tabla 5.15 Reportes referentes a la biodegradación aeróbia de t-octil fenol etoxilatos.....104

REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 EL SUELO

La unidad fundamental de la estructura del suelo está compuesta de material inorgánico (minerales), materia orgánica (humus), agua, aire y microorganismos. Estos elementos interactúan debido a la enorme cantidad de reacciones químicas en las que participan, donde aire y agua intemperizan muchas de las sustancias presentes en el sistema. Típicamente menos del 50% del volumen total del suelo está compuesto de material sólido (Sims y Overcash, 1981) el resto esta formado por espacios porosos en los cuales se encuentra agua y aire. La ***Fig. 1.1*** ilustra un agregado típico del suelo.

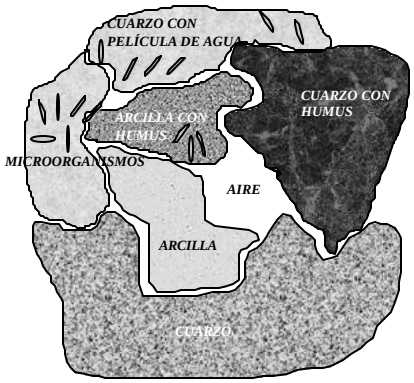


Fig. 1.1 Unidad estructural de un suelo. La formación del suelo agregado es el resultado de actividades físicas, químicas y biológicas en el suelo (Sims y Overcash, 1981).

La unidad estructural del suelo, le impone una gran heterogeneidad. Los microorganismos del suelo no están uniformemente distribuidos a través de la matriz del suelo, si no que se encuentran en zonas asociadas con la presencia de agua y materia orgánica.

Las propiedades del suelo pueden variar de una región a otra. Las propiedades que definen al tipo de suelo son las siguientes (Bates y Jackson, 1984; Dragun, 1988; Mercer *et al.*, 1990):

Capacidad de intercambio catiónico: Se refiere al intercambio de cationes entre el suelo y los disueltos en agua, mediante una suspensión.

Contenido de materia orgánica: Es la relación entre el carbono orgánico que se encuentra en el suelo y es expresado en forma de porcentaje.

pH: Se emplea para determinar la acidez o basicidad del suelo.

Porosidad efectiva: Expresado como un cociente, representa el porcentaje del volumen de los espacios vacíos disponibles para la transmisión de un fluido entre el volumen total de poros en el medio.

Retención limite: Es el contenido de agua asociado a las formas semilíquida y plástica del suelo. Es la cantidad máxima que el suelo puede retener de agua antes de que esta empiece a escurrir.

Tamaño de partícula: Es comúnmente medido por tamizado, determinación de las velocidades de sedimentación y/o área superficial por medio del microscopio. Se basa en la premisa de que su medición puede expresarse como el diámetro equivalente de una esfera.

Textura del suelo: La naturaleza física del suelo de acuerdo a las proporciones relativas de arena, limo y arcilla contenidas (***Fig.1.2***).

Tipo de arcilla: Las arcillas son un complejo grupo de minerales de silicato principalmente de aluminio. Los tipos de arcillas pueden clasificarse dentro de 3 grandes grupos: Caolinita, Montmorillonita e Illita.

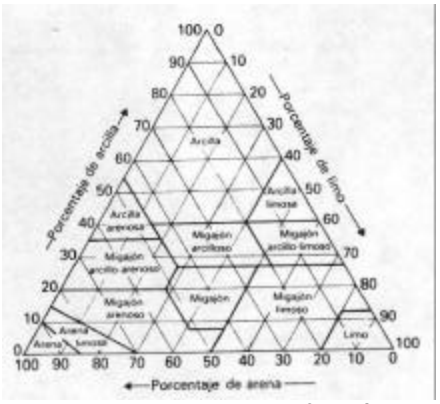


Fig.1.2. Textura del suelo en función de los porcentajes de arena, arcilla y limo (Cepeda, 1991)

En el caso de suelos contaminados, entender la heterogeneidad y naturaleza del suelo, es de gran importancia para mejorar la disponibilidad y eliminación de los contaminantes. La heterogeneidad tiene gran influencia sobre: *i*) el movimiento o sorción de los contaminantes, relacionado directamente con su disponibilidad y *ii*) la forma en que el agua y aire deben ser empleados para el diseño de sistemas de bioingeniería en la biodegradación de contaminantes.

1.2 SORCIÓN Y BIODISPONIBILIDAD DE CONTAMINANTES

Algunas sustancias no son biodegradables bajo ninguna circunstancia, por ejemplo, varios polímeros sintéticos como los bifenilos policlorados (BPCs). Sin embargo, muchos compuestos que son susceptibles al ataque microbiano en el laboratorio, no son degradados o transformados en el suelo. Diferentes razones pueden provocar que los microorganismos no lleven a cabo la biodegradación, algunas son (Martin, 1994): *a)* La concentración de sustancias tóxicas puede ser tan alta que el metabolismo microbiano es inhibido, *b)* Uno o más nutrientes necesarios para el crecimiento microbiano se encuentran a niveles tan bajos que no permiten un crecimiento apreciable y

c) El sustrato puede encontrarse en tal forma que no sea *disponible* para los microorganismos del suelo.

La disponibilidad de los contaminantes en el suelo para su conversión biológica o *biodisponibilidad* (Blackburn y William, 1993), es de suma importancia ya que esta asociada a la persistencia de ciertas sustancias normalmente biodegradables a no ser degradadas en el suelo. La indisponibilidad de una molécula orgánica, puede ser resultado de su sorción en los sólidos del suelo, encontrándose atrapada dentro de matrices físicas del suelo, sedimentos o acuíferos.

Las superficies de sólidos en muchos ambientes pueden afectar en forma dramática la actividad de los microorganismos nativos. Estas superficies pueden alterar la disponibilidad de compuestos orgánicos, cambiar la concentración de varios nutrientes orgánicos e inorgánicos, modificar el pH o las relaciones de O_2, retener a los microorganismos, o disminuir la actividad de enzimas extracelulares. Las superficies activas de sorción pueden ser: los minerales arcillosos, la fracción orgánica del suelo (humus), otros complejos de materia carbonada, o a veces sustancias amorfas de hidróxidos-óxidos de fierro (Fe) y aluminio (Al). La capacidad de *sorción* de los suelos puede ser por *adsorción,* que se refiere a la retención de los contaminantes (u otra sustancia) por la superficie del material sólido, o por *absorción,* que se refiere a la retención del contaminante en el interior de la masa del sólido y no a la superficie del mismo. Diferentes factores influyen en la sorción de compuestos orgánicos en suelos o sedimentos, estos incluyen el tipo y cantidad de arcillas minerales, la cantidad de materia orgánica en el suelo, pH, temperatura, y la naturaleza química del contaminante.

1.2.1 Química de la sorción de contaminantes orgánicos

La sorción de compuestos orgánicos se encuentra principalmente en la parte arcillosa y orgánica del suelo. Las arcillas minerales pueden ser de tres tipos: La primera del grupo de la Caolinita, en donde el Si y el Al se encuentran en proporción de 1:1; la segunda del grupo de la Illita donde el Si y el Al se encuentran en proporción 2:1 y el tercero del grupo de la Montmorillonita donde el Si y el Al se encuentran en proporción 2:1 y pueden ser sustituidos por átomos por Fe y Mg. Algunas de las propiedades más importantes de estos tres grupos de arcillas se presentan en la ***Tabla 1.1***. (Cepeda, 1991).

Tabla 1.1 Propiedades de los diferentes tipos de arcillas presentes en suelos**.**			
PROPIEDAD	***Caolinita***	***Illita***	***Montmorillonita***
Estructura	$Al_4Si_4O_{10}(OH)_8$	$Al_4Si_8O_{20}(OH)_4$	$Al_4Si_8O_{20}(OH)_4nH_20$
Capacidad de intercambio catiónico(meq/100g)	3-15	15-40	80-100
Capacidad de intercambio de aniones	Elevada	Media	Baja
Cohesión y plasticidad	Ninguna	Media	Muy alta
Porosidad y permeabilidad	Alta porosidad y permeabilidad	Mediana porosidad y plasticidad	Baja porosidad y plasticidad
Tamaño de Partícula	Grueso	Medio	Fino

Una descripción breve de la naturaleza química de la superficie mineral puede ayudar a entender los fenómenos de sorción de los compuestos orgánicos. Todas las arcillas exponen una superficie al exterior que consiste en oxhidrilos, en el que destaca un plano de átomos deficientes en electrones (p. ej Si, Al, Fe) y ligandos ricos en electrones (p. ej. oxígeno). Como las moléculas de agua, los oxhidrilos y ligandos de la superficie prefieren formar enlaces de hidrógeno con las moléculas adyacentes a la superficie mineral. Usando datos de atracción en sílica pura (Fowkes, 1964) se comprenden las fuerzas de interacción molécula-superficie (***Fig. 1.3***). Los *compuestos orgánicos hidrofóbicos* (COH) así como los compuestos orgánicos de baja polaridad, se atraen a la superficie de las arcillas por fuerzas de van der Waals o fuerzas dispersivas de grupos funcionales capaces de formar interacciones dipolo-dipolo como puentes de hidrógeno, lo cual incrementa fuertemente las atracciones por unidad de área en la superficie. Este tipo de interacciones para la sorción de compuestos orgánicos es preponderante en las arcillas Illinita y Caolonita.

De los tres tipos de arcillas, la Montmorillonita presenta una superficie con cargas negativas, las cuales atraen a todo tipo de partículas con carga total o parcial positiva, mientras que repele a todos los iones negativos o aniones, es así que estos suelos retienen moléculas orgánicas cargadas positivamente, nutrientes inorgánicos, y agua, los cuales pueden penetrar entre las capas internas y externas del mineral en forma cristalina. De esta manera la capacidad de intercambio catiónico de esta arcilla puede afectar la biodegradación de algunas moléculas. Así el proceso de sorción de los contaminantes en las arcillas, se lleva a cabo por adsorción, ya que se da al nivel de superficie.

En la fracción orgánica del suelo, la sorción es de naturaleza hidrofóbica. Muchos hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPAs) y otros contaminantes no polares son ejemplos de COH sorbidos principalmente por la materia orgánica nativa del suelo. La magnitud de esta retención puede correlacionarse en forma directa con el coeficiente de partición octanol-agua, (K_{ow}, moles de COH en la fase aceitosa u octanol entre los moles de COH en la fase acuosa). Se piensa, que el proceso de sorción de los COH se lleva a cabo por hidrofobicidad, es decir los contaminantes difunden al interior del suelo (Chiou, 1989). En otras palabras, el proceso de sorción de los COH en la materia orgánica del suelo es por absorción.

En cualquiera de las dos formas de retención de compuestos orgánicos, la sorción es un factor de gran impacto en la actividad y crecimiento de los microorganismos nativos, pues determina la biodisponibilidad de los contaminantes empleados como sustratos.

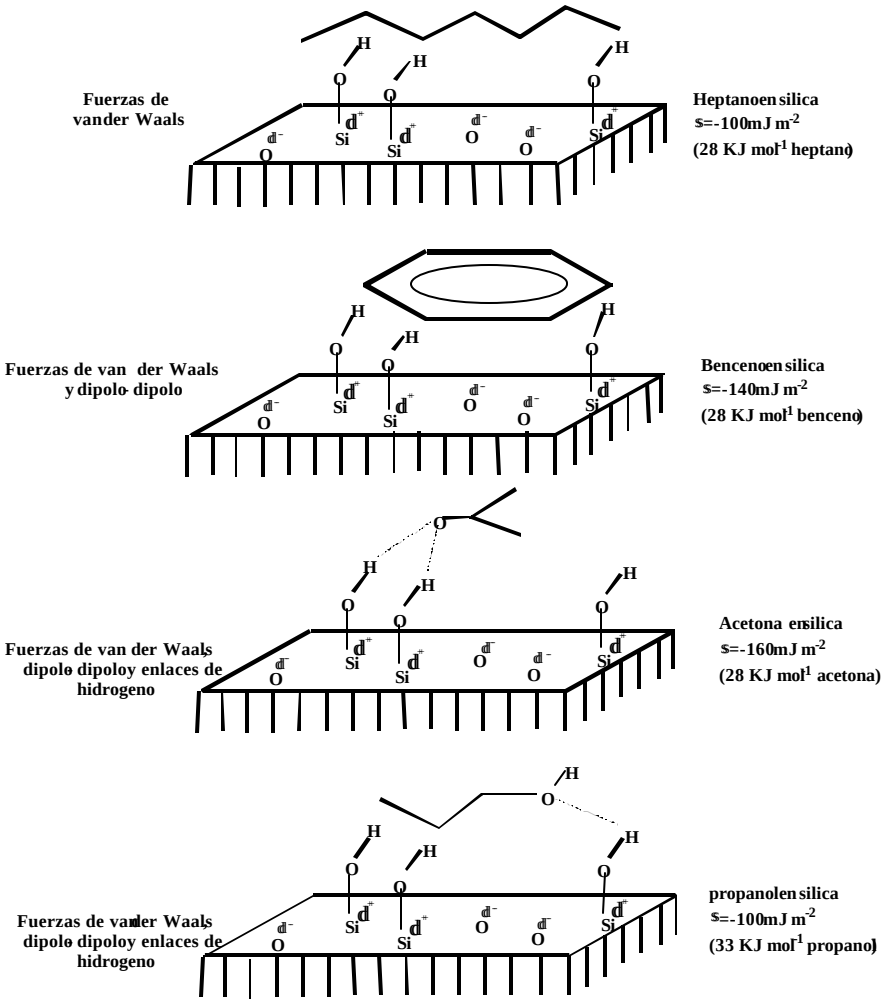


Fig.1.3 Interacciones de diferentes compuestos orgánicos con la superficie de la silica y medida de las energías de enlace (**s**) derivadas de datos de tensión superficial (Fowkes, 1964).

1.3 HIDROCARBUROS COMO CONTAMINANTES DEL SUELO

La sobre explotación del petróleo, ha ocasionado que este sea un contaminante usual del suelo y sedimentos. Una proporción significativa de los sitios contaminados se encuentra contaminado con una compleja variedad de compuestos derivados del petróleo. La naturaleza y composición de los hidrocarburos contaminantes del suelo cambia con el tiempo debido a procesos como la *volatilización, lixiviación* y reacciones *abióticas-bióticas* en el suelo. La mayoría de los hidrocarburos de cadena corta así como los de bajo peso molecular se volatilizan, los compuestos más solubles se filtran a través del suelo mediante las lluvias siendo transportados hacia aguas subterráneas, otros compuestos son transformados por reacciones químicas debidas a la acción de microorganismos o del medio ambiente. Los hidrocarburos que han permanecido como contaminantes del suelo por largos periodos de tiempo y cuya presencia persiste aún bajo la acción de los mecanismos antes mencionados, son los que *intemperizan* a los suelos. Este tipo de hidrocarburos presenta una fuerte sorción con el suelo. Debido a este hecho, estos hidrocarburos poseen una baja biodisponibilidad, siendo una limitante para su biodegradación. Estos compuestos se encuentran distribuidos en cuatro grandes grupos: *i*) asfaltenos (la fracción más pesada del petróleo), *ii*) hidrocarburos alifáticos de alto peso molecular (parafinas), *iii*) compuestos aromáticos policíclicos (HPAs), y *iv*) compuestos polares de alto peso molecular.

1.3.1 Bioquímica y propiedades físicas de Hidrocarburos

La transformación microbiana de los compuestos orgánicos frecuentemente se identifica con los términos de detoxificación, degradación y mineralización (Cookson, 1995). La *detoxificación* es la transformación del compuesto a una forma química menos tóxica. La *degradación* es la manera en que el compuesto desaparece del sitio contaminado. La *mineralización* se refiere a la conversión completa del compuesto a su forma inorgánica (CO_2 y H_2O). Entonces la detoxificación y degradación son consecuencias necesarias de la mineralización. Para comprender como se llevan a cabo las diferentes transformaciones debe conocerse la bioquímica y las propiedades de los hidrocarburos contaminantes de suelo y sedimentos.

Los hidrocarburos alifáticos presentes como contaminantes intemperizados del suelo van desde parafinas o alcanos de cadena larga (C_{20}-C_{34}) con puntos de fusión de 40-55°C, compuestos alicíclicos complejos denominados naftenos (C_{10}-C_{30}) y compuestos insaturados como los terpenos.

Bajo condiciones aerobias los hidrocarburos alifáticos de cadena larga o parafinas son degradados por una extensa variedad de microorganismos. Todo suelo contiene poblaciones

significativas de microorganismos que pueden usar en forma selectiva estos hidrocarburos como única fuente de carbono y energía (Bitton y Gerba, 1984; Rainwater y Scholze, 1991). Algunos de los principales géneros de microorganismos capaces de degradar estos compuestos se muestran en la ***Tabla 1.2.***

Tabla 1.2 ***Géneros de los principales microorganimos degradadores de compuestos alifáticos***

Acinetobacter	*Methylobacter*
Actinomyces	*Micromonospora*
Achromobacter	*Mycobacterium*
Aeromonas	*Mycotorula*
Alcaligenes	*Nitrosomonas*
Arthrobacter	*Nocardia*
Aspergillus	*Phanerochaete*
Bacillus	*Pichia*
Beneckea	*Pseudomonas*
Berijerinckia	*Rhodotorula*
Brevibacterium	*Saccharomyces*
Candida	*Selenotila*
Corynebacterium	*Serratia*
Cryptococcus	*Spirillum*
Debaryomyces	*Sporabolomyces*
Desulfomonile	*Sporidiobolus*
Endomyces	*Torulopis*
Flavobacterium	*Trametes*
Hansenula	*Trichosporon*
Hyphomicrobium	*Vibrio*
Inonotus	*Xanthobacter*

Fuente: Bitton y Gerba, 1984; Rainwater y Scholze, 1991.

La ruta más común en la degradación de estos hidrocarburos, se realiza mediante la *oxidación del grupo terminal metilo*, la cual puede llevarse a cabo por dos tipos de enzima: monoxigenasas y dioxigenasas (Wackett *et al.,* 1989). El alcano en condiciones aerobias se oxida a un alcohol y posteriormente a su ácido graso correspondiente. Una vez que se encuentra en forma de ácido graso, es

empleado en la ruta catabólica de la ***b-oxidación*** (***Fig.1.4a***), donde se remueven unidades de dos carbonos para la formación del acetil CoA, el cual posteriormente en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos y cadena respiratoria es llevado hasta CO_2 y H_2O.

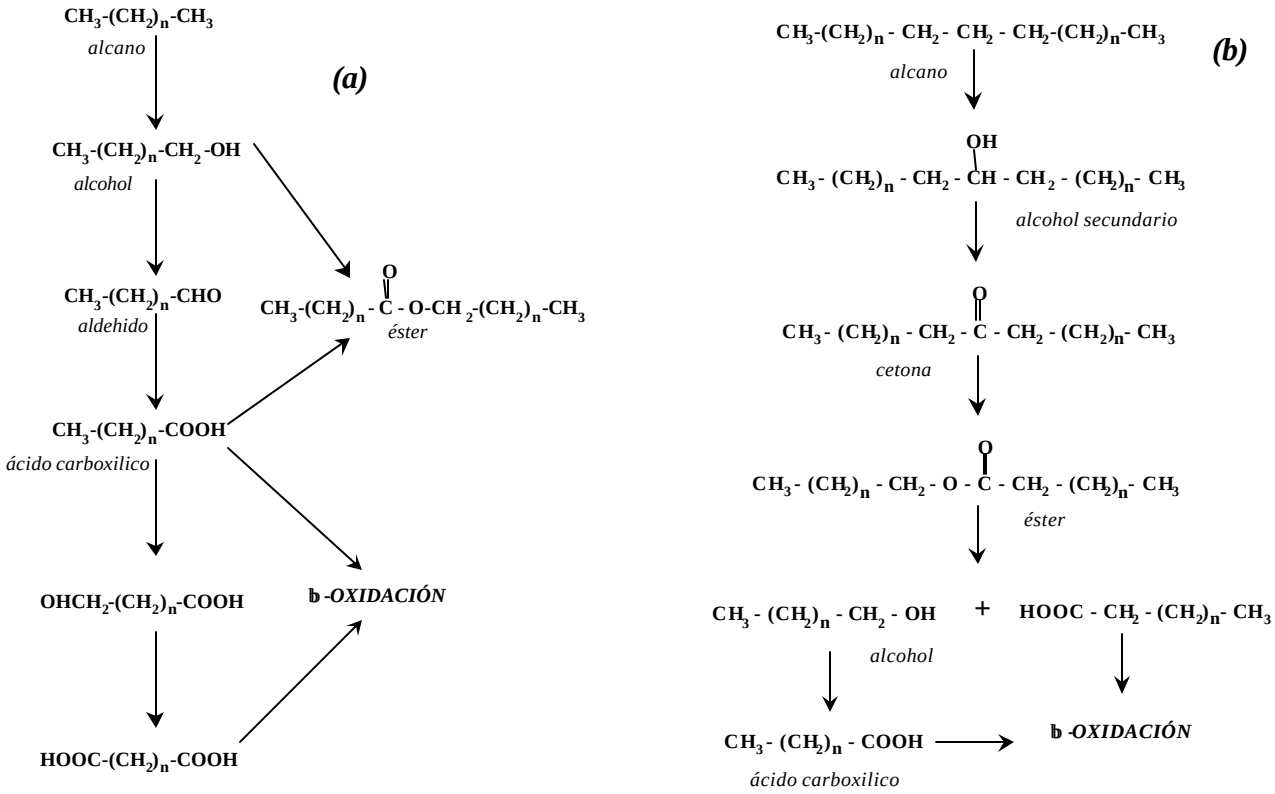


Fig.1.4. Rutas seguidas para la degradación de parafinas. *a)* Oxidación al grupo terminal metilo *b)* oxidación subterminal (Bitton y Gerba, 1984)

Otra ruta alterna a la oxidación del grupo terminal metilo, es la oxidación subterminal, la cual se presenta en menor medida y también conduce a la β-oxidación (***Fig. 1.4 b***). La degradación de los alquenos es más variada en el ataque microbiano, el cual puede ocurrir en los grupos metilo y en los dobles enlaces. La velocidad y variedad de productos de degradación de alquenos en general es menor y menos especifica a la de los alcanos, rindiendo productos tales como alcoholes secundarios, metilcetonas, e póxidos y 1,2 dioles. Sin embargo, la oxidación del grupo metilo es considerada la ruta de mayor degradación para los hidrocarburos alifáticos (Bitton y Gerba, 1984; Zehnder y Edward, 1993). En lo que se refiere a los hidrocarburos con cadenas ramificadas, estos son menos susceptibles a la degradación, sin embargo algunos microorganismos son capaces de utilizarlos como única fuente de carbono y energía (Cookson, 1995). Finalmente, la degradación de compuestos alicíclicos se basa en la hidroxilación, para así rendir un cicloalcanol y posteriormente una cicloalcanona (Trudgill, 1984) los

cuales son fácilmente metabolizados por un gran número de microorganismos como se ilustra en la ***Fig. 1.5***.

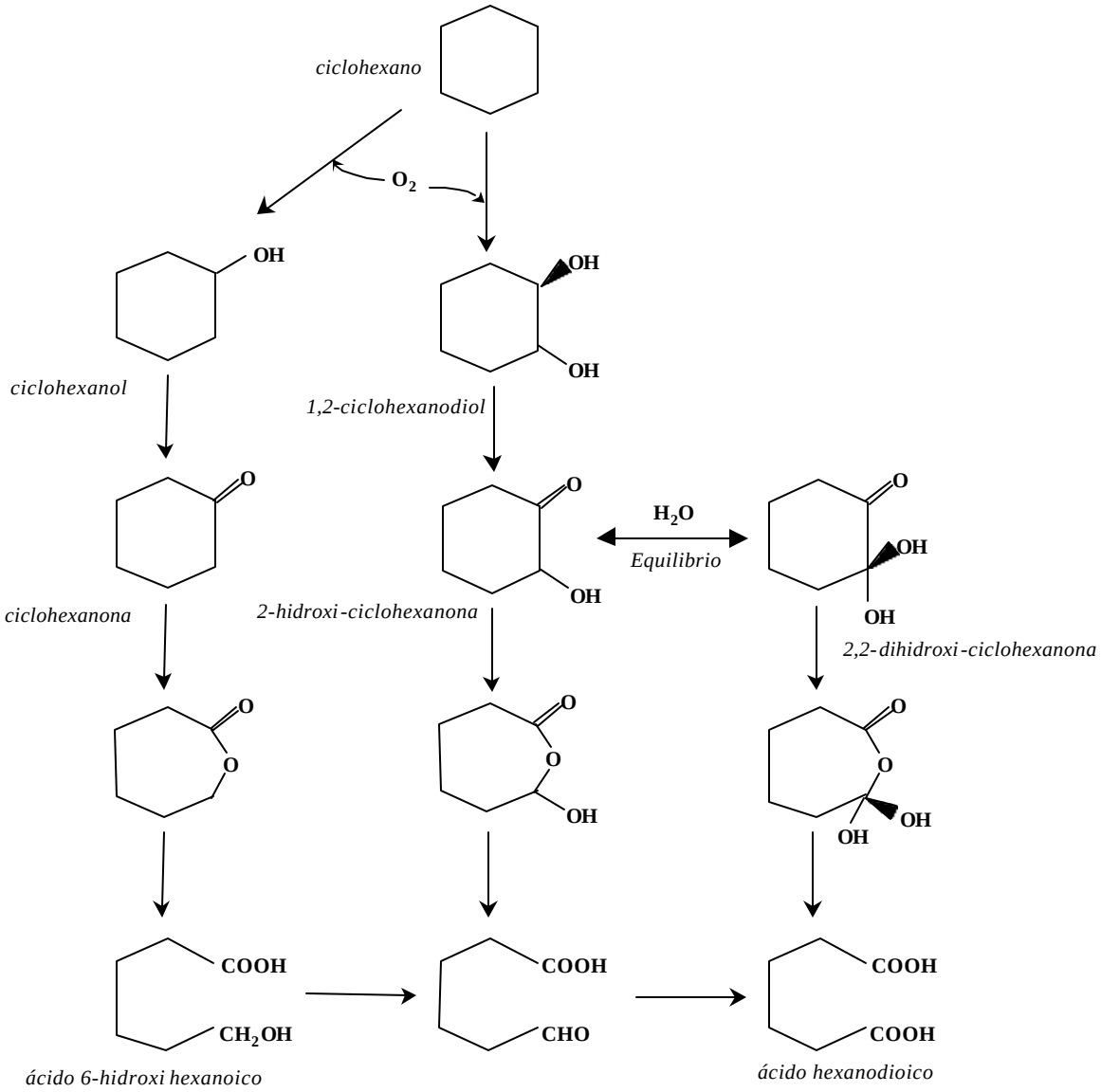
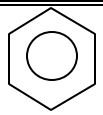
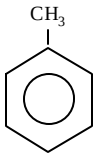
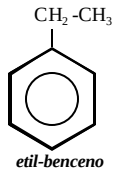
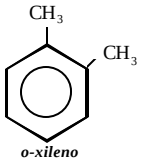
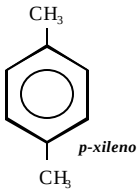
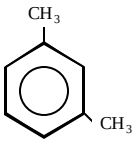


Fig.1.5. Rutas para la degradación de compuestos alicíclicos (*Trudgill, 1984*)

Los *hidrocarburos aromáticos* monocíclicos, con un benceno como estructura primaria y que se encuentran como contaminantes frecuentes del suelo son: benceno, tolueno, etilbenceno y los tres isómeros del xileno (orto, meta y para). Estos hidrocarburos aromáticos por lo general son referidos como los compuestos BTEX. Sus principales propiedades físicas y estructura se muestran en la ***Tabla 1.3.***

Tabla 1.3. Principales propiedades físicas de los hidrocarburos aromáticos**.**

Nombre y estructura	***Peso Molecular***	***Gravedad especifica***	***Punto de fusión (°C)***	***Punto de ebullición (°C)***	***Solubilidad en agua (mg/L)***
 ***Benceno***	***78.11***	***0.879 $^{20°C}$***	***5.5***	***80.1***	***700***
 ***Tolueno***	***92.13***	***0.866 $^{20°C}$***	***-95***	***110.8***	***500***
 ***etil-benceno***	***106.16***	***0.867 $^{20°C}$***	***-94.4***	***136.2***	***100***
 ***o-xileno***	***106.6***	***0.881 $^{20°C}$***	***-25***	***144***	***insoluble***
 ***p-xileno***	***106.6***	***0.861 $^{20°C}$***	***13.2***	***138.5***	***insoluble***
 ***m-xileno***	***106.6***	***0.867 $^{20°C}$***	***-42.4***	***139.3***	***insoluble***

Fuente: Perry y Green, 1984

La degradación de este grupo de compuestos es mediante dos rutas oxidativas alternas (Gibson y Subramanian, 1984). La primera, consiste en el ataque microbiano a estructuras de anillos no substituidos ya sean mono o poli (como benceno y naftaleno), llevando a la formación de dihidrodioles. En esta misma ruta, el siguiente paso en el metabolismo oxidativo es el ataque en los

núcleos aromáticos para la formación del catecol, un intermediario común durante la oxidación de muchos compuestos aromáticos. Finalmente la oxidación resulta en la ruptura del anillo, para formar aldehídos y ácidos grasos (***Fig. 1.6***).

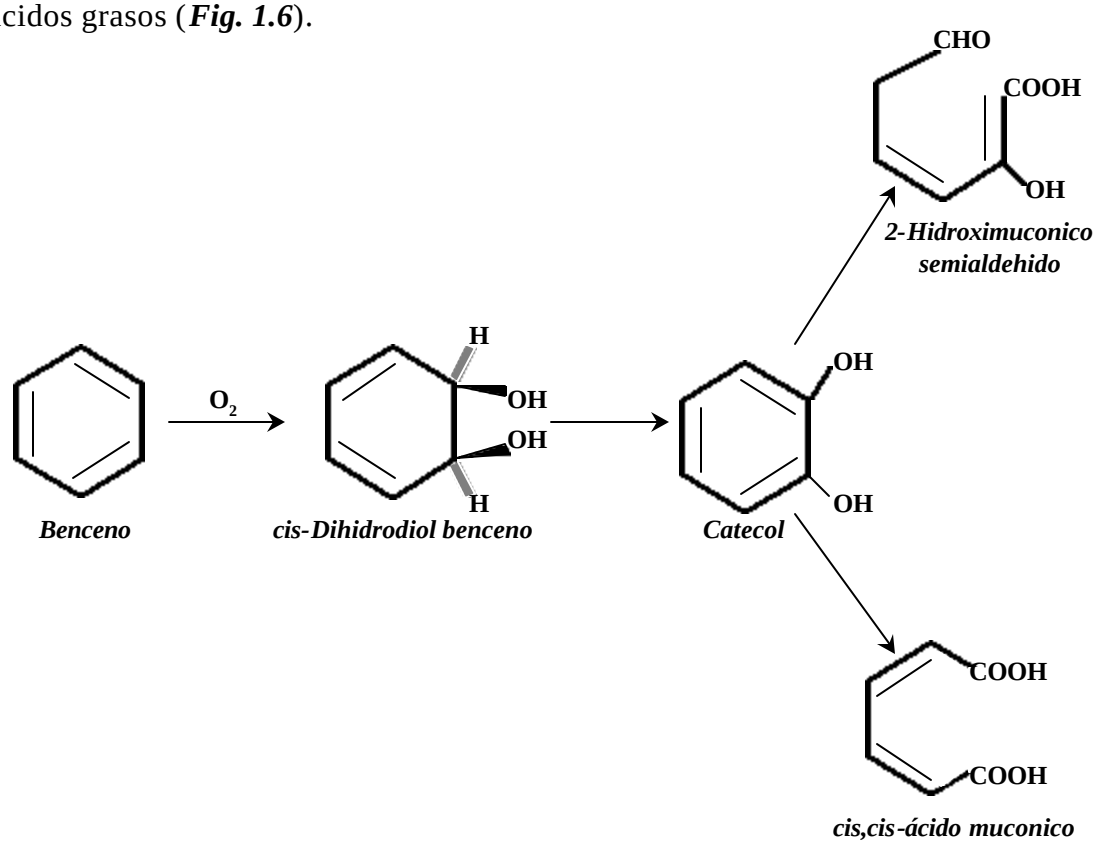
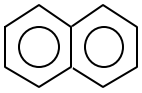
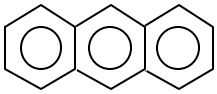
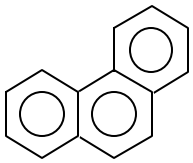
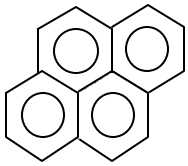


Fig.1.6. Degradación aerobia del benceno.
Fuente: Gibson y Subramanian, 1984.

El segundo mecanismo para la degradación es la oxidación de anillos alquil substituidos (tolueno, etilbenceno y xileno), resultando en la formación de ácidos carboxílicos aromáticos, los cuales son posteriormente oxidados a dihidroxi dioles, empleados como sustrato en la ruptura del anillo para la formación de aldehídos y ácidos carboxílicos. A medida que se presenta un mayor número de grupos alquilo en los anillos, la degradación de estos compuestos se hace más difícil. En general los compuestos aromáticos, presentan menor grado de degradación que los hidrocarburos alifáticos.

Los *hidrocarburos poliaromáticos (HPA)*, están relacionados con la refinería y destilación del petróleo. Un gran número y concentración de HPA puede encontrarse en suelos contaminados, cercanos a refinerías (Díaz *et al.*, 1993). Las propiedades físicas así como la estructura de los principales HPA, se presentan en la ***Tabla 1.4.***

Tabla 1.4. Principales propiedades físicas de los hidrocarburos poliaromáticos (HPA).

Nombre y estructura	*Peso Molecular*	*Gravedad especifica*	*Punto de fusión (°C)*	*Punto de ebullición (°C)*	*Solubilidad en agua (mg/L)*
 *Naftaleno*	*128.28*	*1.145 $^{20°C}$*	*80.2*	*217.9*	*30*
 *Antraceno*	*178.22*	*1.25 $^{20°C}$*	*217-218*	*340-342*	*0.05*
 *Fenantreno*	*178.22*	*1.179 $^{20°C}$*	*99-100*	*340*	*1.1*
 *Pireno*	*202.24*	*1.277 $^{20°C}$*	*149-150*	*>360*	*0.13*

Fuente: Perry y Green, 1984.

La degradación oxidativa de los HPA es llevada a cabo por un cierto número de bacterias del suelo. El efecto del número de anillos fusionados, los grupos alquilo substituidos y la posición de estos últimos en la oxidación de los HPA esta claramente ilustrado en el trabajo de McKenna (1976). En general, a medida que aumenta el número de anillos fusionados y/o grupos alquilo substituidos, el proceso de degradación se hace más difícil. Existe una considerable cantidad de información del metabolismo microbiano del naftaleno, fenantreno y antraceno (Gibson y Subramanian, 1984; Dagley, 1986; Zehnder y Edward, 1993). La degradación de estos compuestos aromáticos ha sido confirmada para los géneros de bacterias *Aeromonas, Beijerinckia, Flavobacterium y Pseudomonas* (Cookson, 1995). En la ***Fig. 1.7*** se muestran las principales rutas oxidativas para la degradación del naftaleno y fenantreno, mientras en la ***Tabla 1.5*** se presentan porcentajes relativos de degradación de cuatro diferentes poliaromáticos, para dos diferentes microorganismos.

Tabla 1.5. Porcentajes relativos de degradación de HPA.		
Compuesto	***degradación relativa (%)***	
	Pseudomonas putida	*Flavobacterium sp*
Naftaleno	100	80
Antraceno	10	36
Fenantreno	67	100
Pireno	1	10

Fuente McKenna 1976.

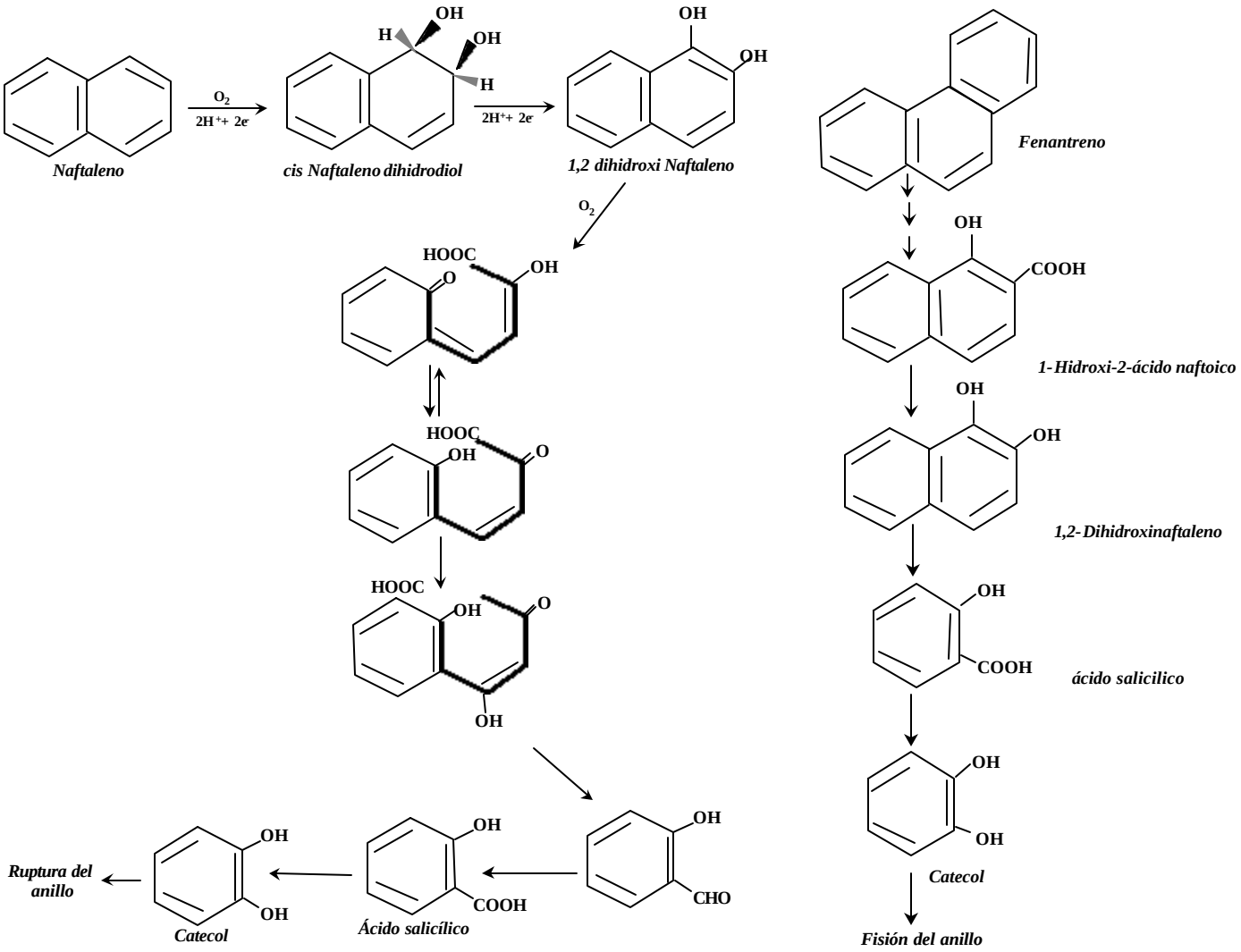


Fig 1.7. Principales vías oxidativas de degradación del naftaleno y fenantreno

Fuente: Gibson y Subramanian, 1984.

Todas las rutas de degradación de los HPA, comienzan con la oxidación en los sitios 1,2 de alguno de los anillos fusionados, produciendo compuestos 1,2 dihidropoliaromáticos. Ya abierto uno de los anillos, prosigue una serie de ataques a los demás para fisionarlos y así generar compuestos más fácilmente degradables.

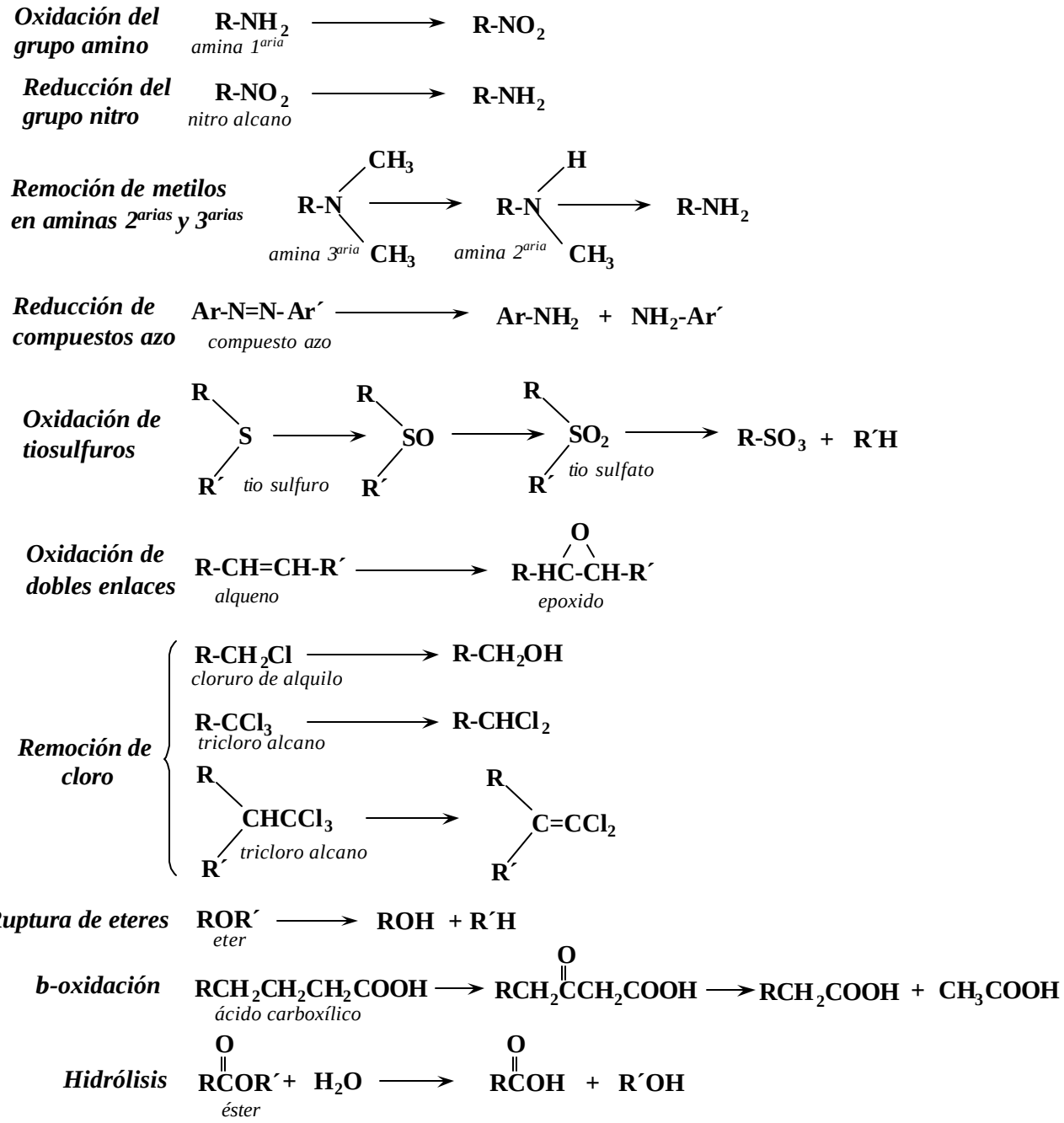


Fig.1.8. Principales reacciones en la degradación microbiana de compuestos polares (Cookson, 1995)

Los hidrocarburos *polares*, están integrados por una extensa diversidad de familias (alcoholes, fenoles, cetonas, aldehídos, ácidos carboxílicos, aminas, amidas, compuestos halogenados, compuestos heterocíclicos, etc) todas con la característica de tener uno o algunos átomos de carbono o hidrogeno substituidos por átomos de halógenos, oxigeno, nitrógeno o azufre. Los hidrocarburos polares que se encuentren como contaminantes en suelos intemperizados, son compuestos de alto peso molecular con bajas solubilidades y altos puntos de ebullición (Wallnöfer *et al.*, 1984; Cookson, 1995). Las reacciones más típicas en la degradación de este tipo de compuestos se presenta en la ***Fig. 1.8.***

Finalmente, el grupo de los *asfaltenos* constituyen la fracción más pesada en el petróleo y los químicos la definen como el grupo de compuestos que precipita en presencia de un alcano de bajo punto de ebullición como el n-pentano. Hay una relación íntima entre los asfaltenos, resinas y los hidrocarburos policiclicos de alto peso molecular. Es natural suponer que los asfaltenos se forman como resultado de la oxidación de resinas naturales. Algunas propiedades químicas de los asfaltenos son: *i*) la hidrogenación de estos produce hidrocarburos poliheterocíclicos aromáticos (hidrocarburos policíclicos aromáticos con átomos de oxígeno y azufre en cantidades variadas), *ii*) un calentamiento por encima de los 300-400 °C, no los funde, pero si los descompone, formando carbono y productos volátiles, *iii*) la reacción con ácido sulfúrico forma ácido sulfónico, como podría esperarse basándose en su estructura poliaromática de estos componentes.

Se han realizado esfuerzos considerables por caracterizar los asfaltenos mediante estudios de estructura química y análisis elemental (Dikie y Yen, 1967; Espinat, 1993; Yen, 1994; Mansoori, 1996). Se ha intentado postular una estructura modelo basándose en métodos físicos y químicos. En la ***Fig. 1.9*** se muestran estructuras propuestas para este tipo de compuestos.

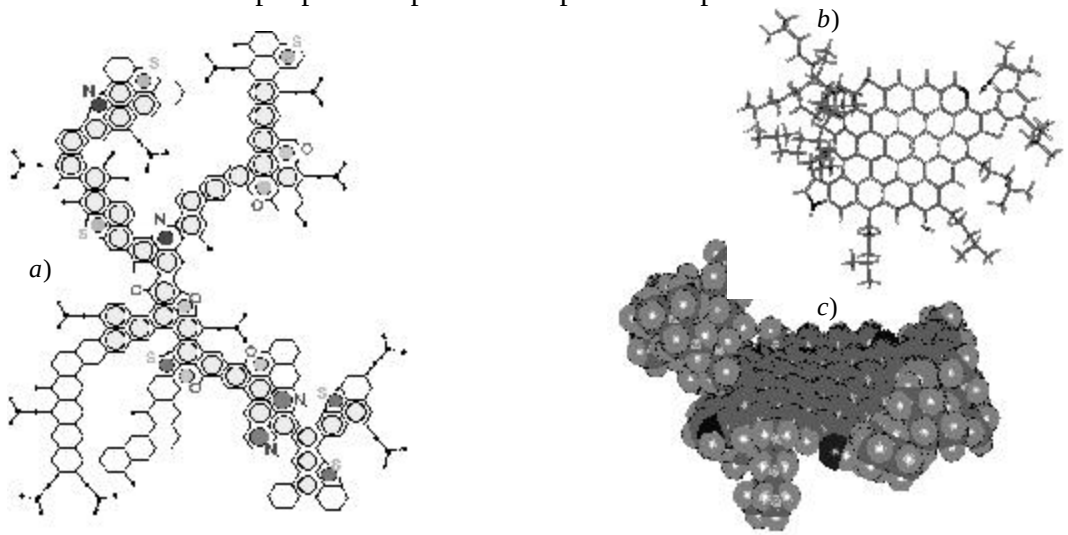


Fig.1.9. Modelos propuestos para los asfaltenos. *a*) modelo bidimensional; *b*) y *c*) modelos tridimensionales (Mansoori, 1995).

Debido a su complejidad, los asfaltenos con mucha certeza son una fracción nobiodegradable de los contaminantes en suelos intemperizados.

1.4 LAVADO DE SUELOS

Los compuestos orgánicos hidrófobos (COH) son comunes en muchos lugares contaminados. Debido a su baja solubilidad en agua estos compuestos abundan en sitios como suelos y sedimentos acumulándose en las denominados *fases no acuosas* (*FNA*). Los métodos de biorremediación son poco efectivos en sitios que presentan altos niveles y periodos largos de contaminación, ya que presentan problemas de disponibilidad y/o toxicidad para los microorganismos.

Durante los últimos años se ha investigado y desarrollado la tecnología de lavado de suelos con surfactantes que permitan desorber y emulsificar a los COH de la fase sólida a la fase acuosa. Este proceso, aunque en sí no es una tecnología de remediación, sirve de apoyo a estas. El lavado de suelos con surfactantes, puede ser utilizado en forma preliminar o simultánea a los procesos de remediación y es recomendable para la desorción de contaminantes tales como metales pesados e hidrocarburos, ambos en altos niveles de concentración. Esta tecnología implica varios factores a tomarse en cuenta para su aplicación: *i)* eficiencia en la recuperación, rehuso y/o eliminación del surfactante utilizado, *ii)* modificación del coeficiente de partición de los COH en sistemas de FNA/agua y *iii)* adsorción de los surfactantes en el suelo.

Es muy importante entender cómo los surfactantes facilitan el transporte de los COH del suelo a fases acuosas. El proceso de lavado se fundamenta en los coeficientes de partición (*Km, Kd*) del contaminante entre el suelo ó sedimento y una pseudofase líquida (el surfactante en forma micelar), donde las moléculas agregadas de surfactantes ó micelas actúan como coloides orgánicos que incrementan la movilidad de los contaminantes en el suelo (Huling, 1989).

1.4.1 Surfactantes y sus propiedades

Una molécula de surfactante es amfipática, es decir, posee dos partes estructurales distintas, una hidrófila y otra hidrófoba. La parte hidrófila presenta afinidad por agua y otras substancias polares, mientras la parte hidrófoba no. En general los surfactantes se clasifican como iónicos y no iónicos. Dentro del primer grupo se distinguen los surfactantes catiónicos y aniónicos, donde la parte hidrófila es un ión con carga positiva o negativa respectivamente (***Fig. 1.10***). En los surfactantes no iónicos la parte hidrófila es de naturaleza polar.

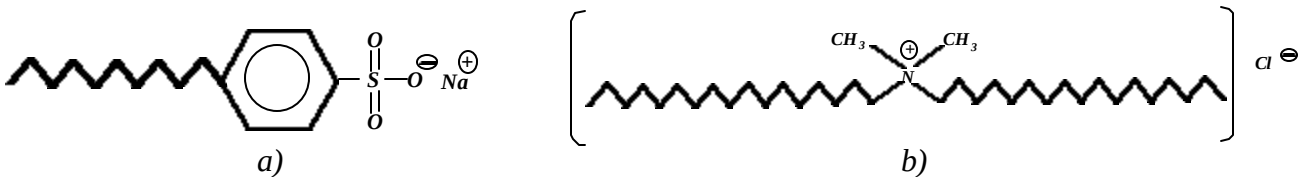


Fig. 1.10. Dos moléculas representativas de los surfactantes iónicos: *a*) Surfactante aniónico dodecil bencen sulfonato de sodio (LAS), *b*) Surfactante catiónico cloruro cuaternario de amonio (QAC)

Por su naturaleza, una molécula de surfactante puede disolverse en agua como un monómero adsorbido en la interface líquido-gas ó formar parte de una micela. La concentración de surfactante a la cual los monómeros se agregan para formar las micelas se denomina *concentración micelar critica* (CMC). Para valores inferiores a esta concentración, todo el surfactante presente en solución, se encuentra en forma de monómeros, los cuales incrementan la tensión superficial de la solución, mientras que a valores superiores todo el surfactante se encuentra en forma micelar (Tanford, 1980). El valor de la CMC es característico para cada surfactante, y puede determinarse experimentalmente mediante la técnica del anillo, empleando un tensómetro (William y Hubert, 1930; Attwod y Florence, 1983). Al graficar la tensión superficial (Dinas/cm^2) contra el logaritmo base diez de la dosificación del surfactante (mol/L), se obtienen curvas como la mostrada en la ***Fig.1.11***, donde el punto de inflexión corresponde al CMC.

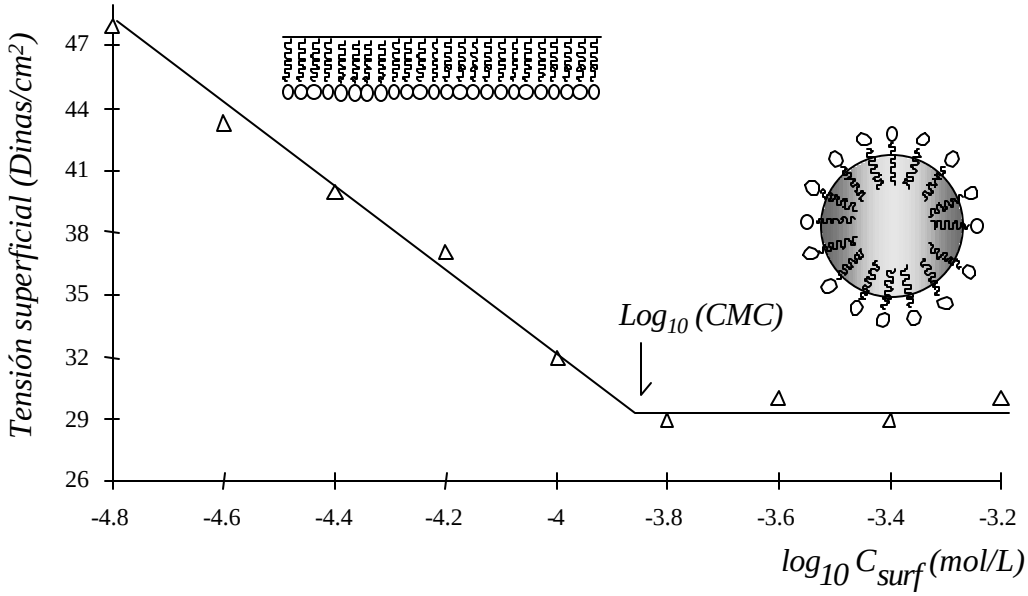
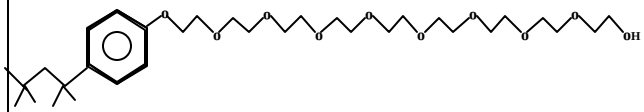
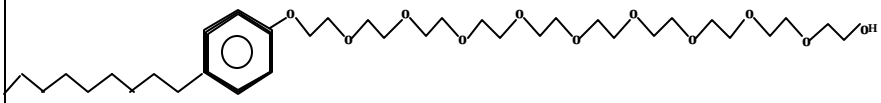
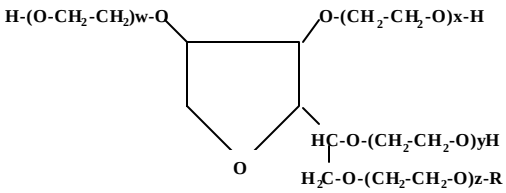


Fig.1.11. Representación esquemática de la determinación de la CMC.

Tabla 1.6. Propiedades de los principales surfactantes no iónicos.

Grupo de surfactante no iónico	*PM promedio*	*CMC (mM)*	*Número de Agregación*
Alquil etoxilato eteres 			
i) C_{12}-$_{15}E_3$ (Neodol 25-3) *n = 3*	318		
ii) $C_{12}E_4$ (Brij-30) *n = 4*	363	0.02-0.04	
i) C_{12}-$_{15}E_4$ (Neodol 25-9) *n = 9*	583	0.09	120
ii) $C_{12}E_{23}$ (Brij-35) *n = 23*	1200	0.06-0.08	53
Alquilfenol etoxilato eteres 			
i) $C_8PE_{9.5}$ (Triton X-100) *n = 9.5*	625	0.24	140
ii) C_8PE_{12} (Igepal CA-720) *n = 12*	735	0.6	120
			
iii) $C_9PE_{10.5}$ (Tergitol NP-10) *n =10.5*	682	0.054-0.08	100
Polyoxietileno sorbital esteres 			
i)Tween 20 (monolaurato) *w+x+y+x =20,* *R = $C_{12}H_{24}O_2$*	1200	0.49	
i)Tween 80 (monoeloato) *w+x+y+x =20,* *R = $C_{18}H_{34}O_2$*	1300	0.01	59

Fuente: Laha y Luthy, 1992.

Otra propiedad característica de un surfactante es el *número de agregación*, el cual representa el promedio de moléculas de surfactante que forman una micela.

Los surfactanes no iónicos son los más empleados en la tecnología de lavado, las principales razones son: *i*) los surfactantes catiónicos tienden a ser adsorbidos en forma irreversible por la arcilla presente en el suelo y los no ionicos no, *ii*) los surfactantes aniónicos presentan valores muy altos de CMC (Baker y Herson, 1994), *iii*) ambos tipos de surfactantes ionicos, muestran una mayor toxicidad para los microorganismos que los no ionicos. En la ***Tabla 1.6*** se muestra la estructura y propiedades de algunos de los surfactantes no iónicos que se usan con mayor frecuencia en los estudios de lavado de suelos (Laha y Luthy, 1992).

1.4.2 Desorción y emulsifación de un COH en suelo mediante una solución micelar

La introducción de un surfactante a sistemas suelo contaminado/agua, conduce a tres procesos simultáneos y acoplados: *i*) la sorción del surfactante en el suelo, *ii*) la *desorción* de los COH del suelo y *iii*) la *emulsificación* de los COH en el seno de la solución. En un sistema de este tipo, puede asumirse que los COH se distribuyen en tres compartimentos físicos: *el suelo, la pseudofase micelar (micela) y la fase acuosa*. Así, del total de moléculas de COH, una parte se encuentra sorbida en el suelo, otra es emulsificada en la pseudofase micelar y las restantes están en la fase acuosa en forma libre o asociadas con monómeros, dímeros, trímeros, etc del surfactante (Hayase y Hayano, 1977; Edwards *et al.,* 1994***a***). Estos acontecimientos son ilustrados en la ***Fig.1.12***.

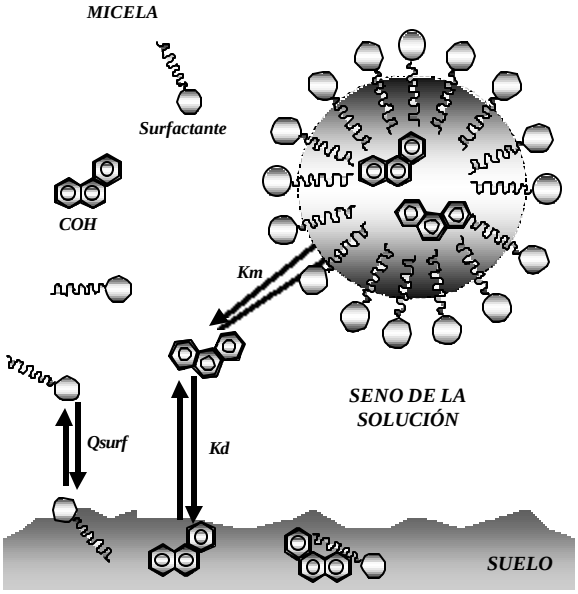


Fig.1.12. Diagrama esquemático del proceso abiótico de lavado en un sistema suelo/solución micelar, con un compuesto orgánico hidrofóbico(COH), y suelo con materia orgánica. *Fuente: Edwards et al., 1991.*

Los fenómenos de emulsificación y desorción, están mediados por los coeficientes de partición (***Fig.1.12***) de los COH entre la fase acuosa y la pseudofase micelar (***Km***), así como entre el suelo y el seno de la solución (***Kd***), mientras que la sorción del surfactante por la constante de saturación $Q_{máx}$. Para comprender el proceso de lavado, es indispensable conocer un poco acerca de estos parámetros.

I. Sorción de surfactantes en suelo

Los surfactantes pueden ser sorbidos por la superficie mineral y/o por la parte orgánica que se encuentra en suelos y sedimentos. Los mecanismos para la adsorción de surfactantes en suelos minerales, han sido descritos en forma extensa (Partyka *et al.,* 1984; Levitz y Van Damme, 1986; Somasundaran *et al.,* 1991). De igual manera ejemplos de surfactantes absorbidos dentro de fases orgánicas (humus), también han sido descritos (Crook *et al.,* 1965; Harasawa *et al.,* 1980).

La sorción de los surfactantes, puede ser caracterizada por el parámetro $Q_{máx}$, (gramos totales de surfactante sorbido por gramo de suelo). Antes de proseguir con este parámetro, debe distinguirse la diferencia entre los valores de la CMC (Concentración Micelar Crítica en Solución) y CMC_{suelo} (Concentración Micelar Crítica en presencia de suelo), cada valor representa la concentración a la cual los monómeros del surfactante comienzan a agregarse para formar las micelas, sin embargo el primero se refiere a sistemas surfactante/agua, mientras que el segundo a sistemas suelo/solución micelar.

En un sistema suelo/solución micelar, con W_{suelo} gramos de suelo y V_{mic} litros de una solución micelar a una concentración *Csurf* de surfactante, las micelas de surfactante están ausentes del seno de la solución cuando se da la condición que $Csurf(V_{mic}/ W_{suelo}) < Q_{máx}$. Esto es debido a que gran parte del surfactante se encuentra sorbido en el suelo. Al aumentar surfactante al sistema, se llega a la saturación del suelo y se alcanza el valor de $Q_{máx}$ en donde se cumple $Csurf(V_{mic}/ W_{suelo}) = Q_{máx}$. Al seguir aumentando la *Csurf*, se tiene que $Csurf(V_{mic}/ W_{suelo}) > Q_{máx}$, las moléculas de surfactante permanecen como monómeros, hasta que se alcanza la concentración en la que comienzan a formarse las micelas, momento en el cual se llega a la CMC_{suelo}. Tomando en cuenta lo anterior, la CMC_{suelo} vendrá dada por:

$$CMC_{suelo} = CMC + Q_{máx}\left(\frac{W_{suelo}}{V_{mic}}\right) \text{- - - - - - -} (1.1)$$

Esta expresión implica que primero debe saturarse el suelo con el surfactante para posteriormente alcanzar la CMC en la fase acuosa, de aquí se desprende que la determinación de $Q_{máx}$, es muy importante en un sistema de lavado para estimar la concentración de surfactante a utilizar.

II. Coeficiente de partición entre la fase acuosa y la pseudofase micelar (Km)

La medida en que un surfactante es capaz de emulsificar un COH en sistemas COH/agua, se conoce como la razón molar de emulsificación (RME). Este valor es definido como los moles del COH emulsificado por mol de surfactante adicionado (Attwod y Florence, 1983). El incremento en la concentración emulsificada de COH por unidad molar de surfactante adicionado, es equivalente a la RME. En presencia de un exceso de COH, la RME puede obtenerse de la pendiente de la curva que resulta al graficar la concentración del COH emulsifcado contra la concentración del surfactante adicionado.(***Fig. 1.13***). Mediante este tipo de gráficas también se pueden determinar valores del CMC del surfactante, que corresponden al punto de inflexión en la gráfica, debido a la emulsificación de los COH por las micelas formadas.

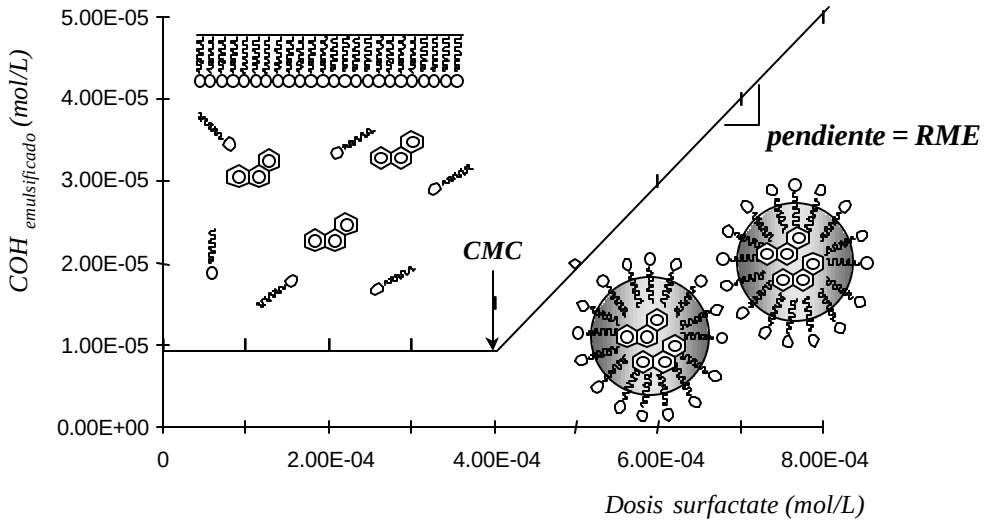


Fig.1.13 Representación esquemática de la razón molar de emulsificación (RME).

La RME para un surfactante y un COH específicos se estima mediante:

$$RME = \frac{(S_{COHmic} - S_{COHcmc})}{(C_{surf} - CMC)} \text{ - - - - - - - - (1.2)}$$

Donde S_{COHcmc} es la concentración aparente del COH en mol/L en el seno de la solución a una concentración de surfactante igual a su CMC; S_{COHmic} es la concentración aparente del COH en mol/L en el seno de la solución a la *Csurf* en estudio y la cual debe ser mayor al CMC.

El *coeficiente de partición de un COH entre una pseudofase micelar y una fase acuosa* (*Km*), sin presencia de una fase sólida (suelo), se define como el cociente entre la fracción molar del COH en la fase pseudomicelar (*Xm*) y la fracción molar del COH en la fase acuosa (*Xa*). Así se puede escribir:

$$Km = Xm/Xa \text{ - - - - - - - - (1.3)}$$

La fracción molar del COH en la pseudofase micelar, se puede volver a escribir en términos de la RME. Primero se define a *Xm*, como:

$$Xm = \frac{(S_{COHmic} - S_{COHcmc})}{(S_{COHmic} - S_{COHcmc}) + (Csurf - CMC)} \text{ - - - - - - - - (1.4)}$$

Multiplicando la ec (1.4) por (C_{surf}-*CMC)/(*C_{surf}-*CMC)* = 1, y basándose en la ec (1.2), se puede escribir:

$$Xm = \frac{RME}{1 + RME} \text{ - - - - - - - - (1.5)}$$

Debido a la baja solubilidad de los COH en agua, puede suponerse que las $\boldsymbol{moles_{H2O}} >> \boldsymbol{moles_{COH}}$ por lo que la fracción molar del COH en la fase acuosa, puede determinarse en forma aproximada por:

$$Xa = S_{COH}\, Vw \text{ - - - - - - - - (1.6)}$$

Donde *Vw* es el volumen molar del agua (0.01805 L/mol a 25°C) y S_{COH} es la solubilidad del COH en agua. Combinando las ecuaciones (1.5) y (1.6) vemos que *Km* puede ser determinada mediante:

$$Km = \frac{RME}{S_{COH}\, Vw\, (1 + RME)} \text{ - - - - - - - - (1.7)}$$

Los valores de *Km*, $S_{COH,cm}$ y RME para los HPA naftaleno, fenantreno y pireno, se han determinado para varios tipos de surfactantes no iónicos (Edwards *et al.*, 1991), estos valores se muestran en la ***Tabla 1.7.***

Tabla 1.7. Valores de los principales parámetros para la emulsificación de HPA mediante surfactantes no iónicos. Coeficiente de partición para HPA en fase micelar / fase acuosa (*Km*).

Surfactante	***HPA***	$S_{COH,cm}$***(mol/L)***	***RME***	***log Km***
Brij 30	*naftaleno*	$3.4X10^{-4}$	$3.17X10^{-1}$	*4.59*
	fenantreno	$2.0X10^{-5}$	$1.52X10^{-1}$	*5.57*
	pireno	$1.1X10^{-6}$	$7.15X10^{-2}$	*6.53*
Igepal CA-720	*naftaleno*	$3.2X10^{-4}$	$3.23X10^{-1}$	*4.63*
	fenantreno	$1.1X10^{-5}$	$1.04X10^{-1}$	*5.68*
	pireno	$2.1X10^{-6}$	$4.25X10^{-2}$	*6.01*
Tergitol NP-10	*naftaleno*	$4.0X10^{-4}$	$3.68X10^{-1}$	*4.57*
	fenantreno	$1.5X10^{-5}$	$1.60X10^{-1}$	*5.72*
	pireno	$1.2X10^{-6}$	$5.76X10^{-2}$	*6.41*
Triton X-100	*naftaleno*	$3.2X10^{-4}$	$3.38X10^{-1}$	*4.64*
	fenantreno	$1.3X10^{-5}$	$1.11X10^{-1}$	*5.70*
	pireno	$1.9X10^{-6}$	$3.52X10^{-2}$	*6.03*

Fuente: Edwards et al., 1991.

III. Distribución de los COH en un sistema suelo/solución micelar (Kd)

La distribución de un COH en un sistema suelo/solución micelar, se puede definir a través de dos parámetros: *i*) el *coeficiente de partición del COH en un sistema suelo/solución micelar* (*Kd*) y *ii*) *la fracción de COH en el seno de la solución micelar* (*F*). El coeficiente de partición puede estimarse por la siguiente expresión (Edwards *et al.*, 1994***b***):

$$Kd = \frac{n_{COHsuelo} \cdot V_{mic}}{n_{COHmic} W_{suelo}} \text{- - - - - - - -} \quad (1.8)$$

Por otra parte la fracción de COH en el seno de la solución micelar, viene expresada por:

$$F = \frac{n_{COHmic}}{n_{COHmic} + n_{COHsuelo}} \text{- - - - - - - - (1.9)}$$

Se han llevado a cabo estudios de la distribución de COH en sistemas de suelo/solución micelar con relaciones V_{mic} /W_{suelo} de 1:6 a 1:10 (Edwards *et al.,* 1994***b***), utilizando fenantreno y/o pireno marcados radiactivamente con ^{14}C. Estos experimentos han mostrado que ha medida que aumenta la concentración del surfactante aplicado en una s ola dosis, la fracción de COH en el seno de la solución micelar aumenta de manera asintótica (***Fig. 1.14***), lo que significa una disminución en la capacidad de un surfactante en la desorción y emulsión de COH.

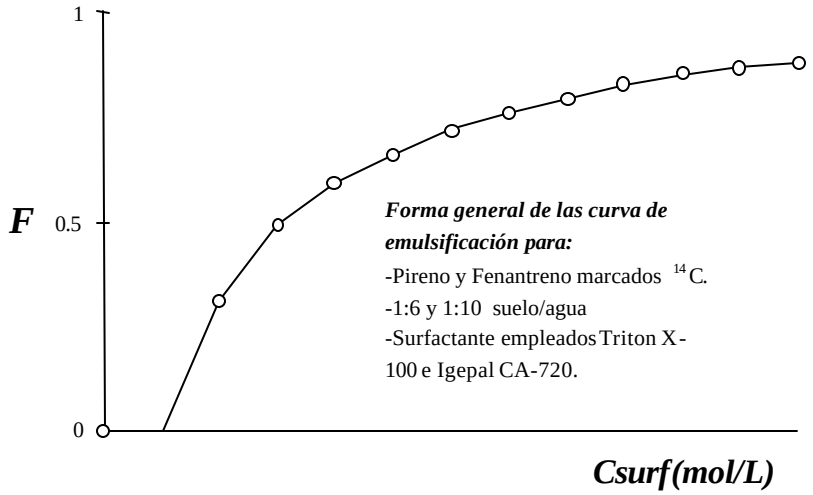


Fig 1.14. Comportamiento de ***F*** a diferentes dosis de surfactante. *Fuente:Edwards et al., 1994b.*

Para valores de *Csurf* > CMC_{suelo}, la fracción mol de un COH en el seno de la solución micelar (*F*), puede relacionarse con el coeficiente *Kd* (Edwards *et al.,* 1994***b***), mediante la ecuación:

$$Kd = \frac{(1-F)V_{mic}}{FW_{suelo}} \text{- - - - - - - - (1.10)}$$

Para cada tipo de surfactante y su concentración, así como relación W_{suelo}/V_{mic}, se producirá un coeficiente de partición característico, es decir *Kd =f* (*Tipo surfactante, F, Csurf,* W_{suelo}/V_{mic}). La mayoría de los trabajos que se encuentran en la literatura (Edward *et al.,* 1994***b***; Liu *et al.,* 1991; Laha y Luthy, 1992) se han realizado encaminados a entender la distribución de los COH en sistemas suelo/solución micelar, así como a la determinación de los parámetros que predigan la distribución. Los puntos más relevantes se resumen a continuación:

a) Se han empleado *sistemas ideales* bien caracterizados, en la que *un solo tipo de molécula* (generalmente un HPA), marcada radiactivamente, se mezcla en una suspensión de suelo/solución micelar (W_{suelo}/V_{mic}), a una concentración conocida de un surfactante no iónico (*Csurf*), determinándose la distribución de la molécula.

b) Paralelo al proceso de desorción-emulsificación con surfactantes no iónicos para aumentar la biodisponibilidad, se ha seguido la mineralización de los COH por acción de los microorganismos nativos del suelo, presentándose efectos tóxicos de los diferentes surfactantes utilizados a *Csurf* no mayores de 20g/L.

c) Son pocos los estudios llevados a cabo en *sistemas reales*, con COH sorbidos en suelo durante periodos largos de tiempo (meses o años), ni estudios referentes a la determinación de los tiempos de lavado y mezclado como variables nuevas no consideradas en los estudios antes mencionados.

IV Desorción de COH con lavados sucesivos a bajas concentraciones de surfactante

Estudios en el mismo tipo de sistema descritos y referentes al número de lavados para la desorción de COH (Edwards *et al.*, 1994***b***), han mostrado que la eficiencia de emulsificación de un surfactante en sistemas por lote, aumenta en forma significativa cuando la cantidad total de surfactante empleado es distribuido en series sucesivas de lavado con bajas concentraciones del surfactante (pero mayores al CMC_{suelo}), respecto a cuando la cantidad total se aplica en un solo lavado. La cantidad de surfactante empleado en cada lavado (W_{surf}), está dada por:

$$W_{surf} = \frac{\left(T_{surf} - CMC_{suelo} \cdot V_{mic}\right)}{n} \text{ - - - - - - - - (1.11)}$$

Donde T_{surf}, representa el número total de moles de surfactante en contacto con el suelo y *n* es el número de lavados que se llevaran a cabo. En la ***Fig.1.15***, se muestran las curvas de emulsificación de cuatro procesos de lavado, para un mismo tipo de sistema suelo/solución micelar. En cada proceso, se efectuaron 1, 2, 4 y 16 lavados respectivamente, donde la T_{surf} utilizada fue la misma, de 0.0015 moles de surfactante. Como se observa, a medida que aumenta el número de lavados (disminuyendo el valor de W_{surf}), la fracción emulsificada del COH fue mayor.

Un incremento en el número de lavados, parecería una desventaja por el requerimiento de más agua. Sin embargo, en aplicaciones prácticas, este problema parece ser menor a la ventaja de usar soluciones micelares de baja concentración de surfactante, beneficiando el proceso de biorremediación en el

tratamiento de las aguas de lavado, pues concentraciones de surfactante no iónicos ≥ 2% son tóxicas para los microorganismos (Laha y Luthy, 1992; Tiehm, 1994; Volkering *et al.*, 1995).

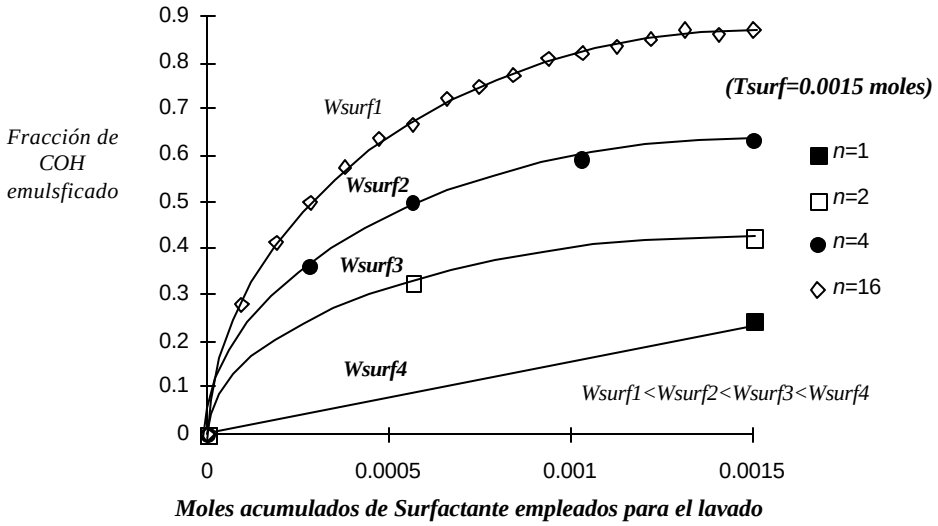


Fig. 1.15. Fracción de COH emulsificado en diferentes procesos de lavado, con diferentes W_{surf} pero una misma T_{surf}.

1.5 TECNOLOGÍAS DE BIORREMEDIACIÓN PARA TRATAMIENTO DE SUELOS

Uno de los mayores problemas que afectan al mundo industrializado de hoy es la contaminación de suelos, sedimentos, mantos acuíferos, agua superficial y aire con químicos peligrosos y tóxicos. Mientras se ponen en marcha los pasos regulatorios para reducir o eliminar la producción y liberación al ambiente de estos químicos, en el pasado han ocurrido contaminaciones significativas y probablemente continúen en el futuro. Dos ejemplos de la magnitud del problema son:

1) El Instituto de Ecología y Protección al Medio Ambiente (IEPM), ha reportado que en México han sido producidos en promedio 5.3 millones de toneladas de residuos tóxicos por año desde 1992.

2) En Estados Unidos de Norteamerica, la EPA (Agencia de Protección al Ambiente) ha identificado 32,000 sitios potenciales con desperdicios tóxicos y peligrosos, para los cuales ha estimado que se requiere una inversión aproximada de 500 mil millones de dólares y algunas décadas para lograr su remediación (Martin, 1994)

La necesidad de remediar los diferentes nichos ecológicos, ha impulsado la creación de tecnologías nuevas orientados a la detoxificación y destrucción de contaminantes. La *Biorremediación*, es una tecnología que emplea microorganismos o procesos biológicos para transformar, detoxificar y/o mineralizar contaminantes del ambiente a través de diferentes procesos. Aunque esta es vista como una tecnología nueva, los microorganismos han sido usados en forma rutinaria para el tratamiento y transformación de contaminantes en aguas residuales por los últimos 100 años.

Una de las recientes aplicaciones de los procesos microbianos, está relacionada con la remediación de suelos y sedimentos. Estos sistemas difieren de los de tratamiento de agua en términos de los tipos de contaminantes que van a ser degradados y la matriz en la que ocurre la degradación.

Los suelos y sedimentos son frecuentemente contaminados con mezclas complejas de compuestos semejantes como petróleo y sus derivados, pesticidas, metales pesados, compuestos halógenados, etc. En estos sitios se presentan ambientes heterogéneos multifásicos, en los cuales los contaminantes pueden estar asociados con partículas o estar disueltos en el líquido y/o atmósfera del mismo. Otro factor importante es la composición y concentración de los contaminantes, la cual puede variar significativamente de un lugar a otro imponiendo una alta heterogeneidad en contraste con los sistemas de tratamientos de aguas los cuales se manejan en condiciones de homogeneidad.

Las tecnologías empleadas en *Biorremediación* pueden ser clasificadas como *ex-situ* o *in-situ*. La ***Tabla 1.8*** resume algunas de las tecnologías más empleadas. Las tecnologías *ex-situ* son modalidades que requieren el transporte del material contaminado a otra área para su tratamiento posterior. Biorreactores, composteo y algunas formas de tratamiento en fase sólida son ejemplos de estas técnicas. En contraste, las técnicas *in-situ* consideran el tratamiento del material contaminante en el lugar con el problema. La labranza del suelo (landfarming), el bioventeo y la bioestimulación son ejemplos de este tipo de técnicas.

La tecnología de biorremediación de composteo en forma *ex-situ*, es preferida para la biodegradación de los hidrocarburos contaminantes de suelos intemperizados, pues permite un mejor control del proceso y produce un material orgánico estable (composta), que puede reintegrarse al suelo.

1.5.1 Composteo

El composteo s e puede definir como (Doelle *et al.,* 1992): un proceso biooxidativo controlado, que involucra lodos activados y sustratos orgánicos heterogéneos en estado sólido, el cual evoluciona incluyendo una fase termofílica produciendo dióxido del carbono, agua, minerales y un material orgánico estabilizado (composta).

El composteo de suelos contaminados es significativamente diferente al de desechos sólidos municipales y lodos activados recolectados de aguas residuales. Unos lodos activados o desechos municipales típicos, contienen de un 70-80% de sólidos orgánicos. No es común tener tan altos porcentajes en suelos contaminados con compuestos tóxicos y peligrosos como hidrocarburos, pesticidas, compuestos halogenados, etc. En el composteo de desechos municipales o lodos activados, la energía contenida en los sólidos orgánicos genera calor debido a la actividad microbiana, generando temperaturas de 60 a 70°C. El composteo de suelos contaminados por otra parte, se lleva a cabo a temperaturas menores, alcanzando como máximo los 45 o 50°C (Cookson, 1995).

Tabla 1.8. Tecnologías en los tratamientos de Biorremediación

Bioaumentación	Adición de cultivo de microorganismos a el medio contaminado; frecuentemente usado *in-situ* y en biorreactores.
Biofiltros	Uso de columnas con microorganismos expuestos a las emisiones de gases a tratar
Bioestimulación	Adición de nutrientes para las poblaciones de la flora nativa en suelos y/o aguas subterráneas; esta puede ser *in-situ* o *ex-situ*.
Biorreactores	La biodegradación tiene lugar en contenedores o reactores en condiciones controladas; puede ser usado tanto para tratamiento en líquido como sólido.
Bioventeo	Método de tratamiento de suelos contaminados por bombeo de aire u oxigeno a través del suelo para estimular el crecimiento microbiano y su actividad.
Composteo	Proceso con tratamiento aeróbico y termofílico en el cual el material contaminado es mezclado con un agente empacante; puede ser usando pilas estáticas, pilas aireadas, o reactores empacados.
Landfarming	Sistema de tratamiento en fase sólida para suelos contaminados; puede ser *in-situ* o construirse celdas para el tratamiento del suelo.

Fuente: Baker y Herson, 1994.

Muchos sistemas de composteo, emplean agentes de volumen y empaque, con el fin de controlar parámetros como la humedad y porosidad del medio. La humedad en el proceso de composteo para la degradación de muchos compuestos tóxicos se encuentra alrededor de un 60%. Para el tratamiento de suelos, la utilización de un agente empacante ayuda a incrementar la porosidad, lo cual contribuye a una mejor aireación, mejorando los procesos aerobios de composteo.

Los sistemas modernos de composteo, pueden ser clasificados en tres grandes grupos: Filas venteadas, pilas estáticas y biorreactores (Cookson, 1995). El primero de ellos es *in-situ*, siendo el más sencillo de operar así como de menor costo, sin embargo el más difícil de controlar y requiere de espacios muy grandes. Por otro lado el sistema de composteo con Biorreactores, es *ex-situ*, siendo el de mayor nivel de operación y costo, pero de mejor control sobre el proceso, además que el espacio de operación es menor. El sistema de composteo con pilas estáticas puede verse como un proceso intermedio entre los dos anteriores.

1.5.2 Composteo en Biorreactores

Los biorreactores empleados para el composteo aerobio son de dos tipos: r*eactores de lecho empacado* y r*eactores de lecho mezclado*. En los primeros el aire se alimenta con un flujo perpendicular al área transversal del biorreactor. En algunos reactores de lecho empacado, la mezcla (suelo contaminado más agente empacante), puede ser transportada por un piso en movimiento, o una puerta hidráulica de tal manera que el flujo es perpendicular a este movimiento. Los biorreactores de lecho mezclado, emplean sistemas mecánicos para mantener en movimiento el material a compostear de tal forma que este se conserve aireado. En la ***Fig.1.16*** se muestran diferentes diseños de ambos tipos de biorreactores (Doelle *et al.*, 1992; Cookson, 1995).

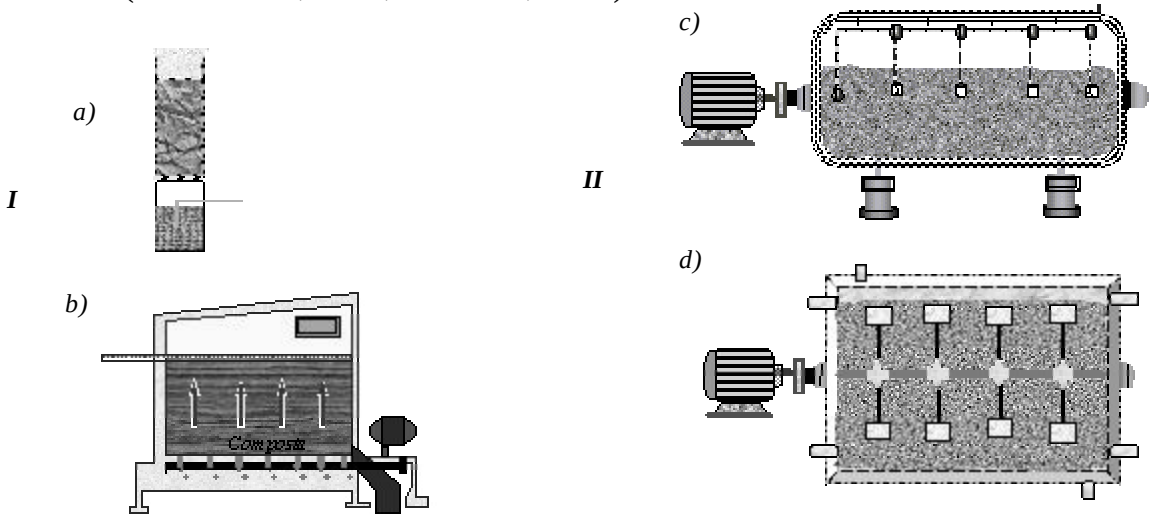


Fig 1.16. Diferentes bioreactores utilizados en el proceso de composteo. **I**. Lecho Empacado *a) tubular* y *b) celda* **II**. Lecho Mezclado *c) tambor rotatorio* y *d) aspas.*

La geometría de los biorreactores empleados en composteo, debe tenerse muy en cuenta, pues la distribución del flujo para que se tenga una correcta aireación es dependiente de esta. Otro factor importante es la *Bioaumentación*, es decir la adición de flora microbiana exógena, con la finalidad de mejorar la degradación. Es usual emplear lodos activados de plantas de tratamiento como inóculo en este tipo de procesos (Beaudin *et al.,* 1996; Aguilera, 1998).

JUSTIFICACIÓN

2. JUSTIFICACIÓN

México ha sido un país productor de petróleo desde hace más de sesenta años. Los trabajos de exploración, perforación y refinería realizados durante este tiempo, han traído consigo la contaminación de un gran número y diversidad de nichos ecológicos durante décadas (suelos, sedimentos, mantos acuíferos, lagos, aire, etc). Las regiones más afectadas por este tipo de industria (***Fig. 2.1***), se ubican en estados al sureste de la República Mexicana tales como: Veracruz, Tabasco, Campeche y Chiapas (Díaz *et al.*, 1993).

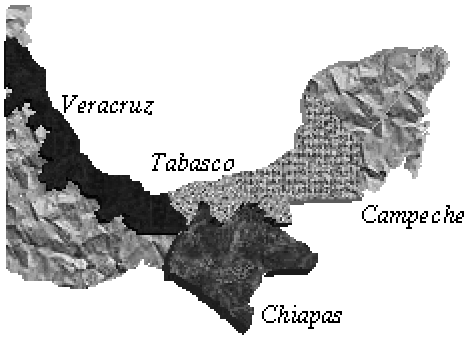


Fig.2.1 Principales estados de la República Mexicana con problemas de contaminación de petróleo y sus derivados.

En el caso de la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos y a diferencia de las tecnologías aplicadas en otras regiones del mundo, en México la remediación requiere procesos capaces de desorber y degradar contaminantes que no sólo se encuentren en altas concentraciones, sino que además han permanecido por largos períodos de tiempo en el sitio a remediar. Las técnicas fisicoquímicas como el lavado de suelos con surfactantes no iónicos y de biorremediación como el composteo en biorreactores, son opciones capaces de lograr la restauración de suelos intemperizados con hidrocarburos. El estudio y cuantificación de estas técnicas, con una aplicación *ex-situ,* para el tratamiento de un suelo intemperizado con hidrocarburos, proveniente de la zona de perforación en Cactus en el estado de Chiapas, son las actividades centrales que justifican este trabajo. Para la realización de esta tarea los objetivos se detallan a continuación.

OBJETIVOS

3.OBJETIVOS

3.1 General

Evaluar los procesos de lavado y composteo para la desorción y biodegradación de hidrocarburos en un suelo intemperizado.

3.2 Particulares

3.2.1 Determinar los parámetros fisicoquímicos ($Q_{máx}$ y CMC_{suelo}) en la sorción de un surfactante no iónico (Tritón X-100) en el suelo en estudio.

3.2.2. Estimar las condiciones más favorables para el lavado del suelo en estudio, empleando el surfactante no iónico Tritón X-100.

3.2.3. Determinar el número de lavados (*n*), más efectivo en la remoción de hidrocarburos del suelo contaminado.

3.2.4. Determinar la cantidad y fracciones de los hidrocarburos totales del petróleo que son desorbidos y emulsificados por el Tritón X-100 en el proceso de lavado.

3.2.5. Evaluar el proceso de composteo *ex-situ,* para la degradación de los hidrocarburos y surfactante remanentes en el suelo después del lavado.

MATERIAL Y MÉTODOS

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 SUELO

Se emplearon dos suelos, uno contaminado con hidrocarburos y otro limpio, sin contaminar. El sitio donde se hicieron los muestreos de los suelos se localiza al noreste del poblado Reforma en el estado de Chiapas (***Fig. 4.1***).

El *suelo contaminado* se muestreó del pozo Cactus 61 hasta una profundidad de 40 cm. El pozo se encuentra a pocos kilómetros de la zona industrial Cactus y no está en o peración actualmente. El *suelo no contaminado* se muestreó hasta una profundidad de 40 cm en un campo de cultivo localizado a 1 kilómetro de distancia del pozo.

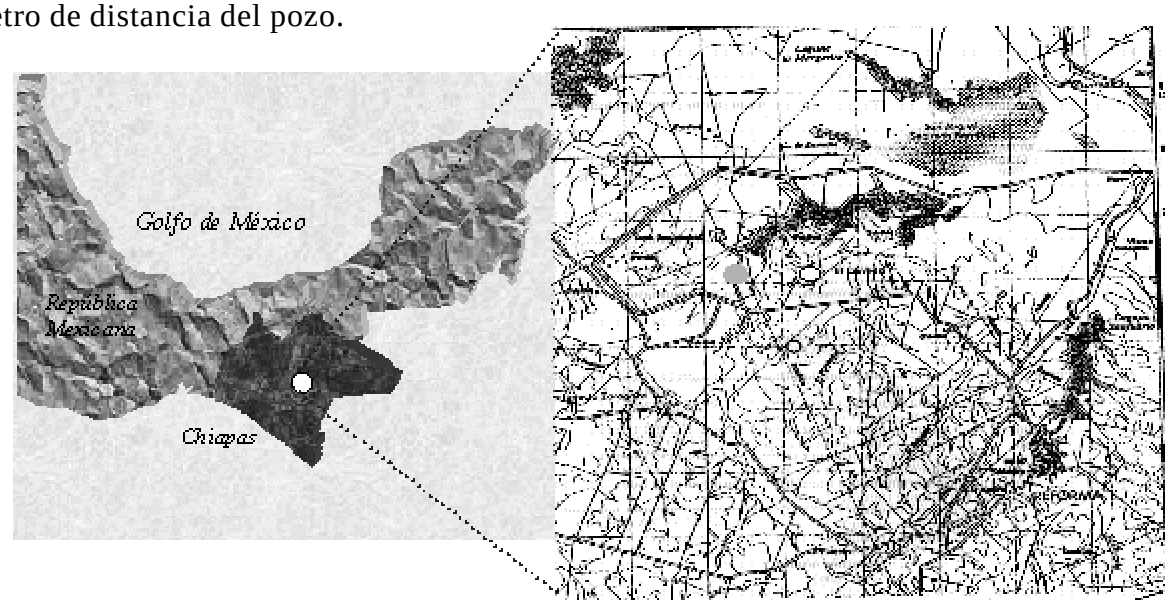


Fig.4.1. Localización geográfica de los dos tipos de suelo muestreados: ● suelo contaminado; ○ suelo limpio sin contaminar.

Después de un análisis edafológico (***Tabla 4.1***), ambos tipos de suelo mostraron una textura arcillosa con niveles de materia orgánica de un 3.5% para el no contaminado y 4% para el contaminado (no tomando en cuenta los hidrocarburos). Para su utilización en los diferentes experimentos, ambos suelos se les retiró varas, hojas y piedras, secándoseles a temperatura ambiente (***Fig.4.2***). Finalmente se molieron y tamizaron en mallas del No. 8 (para los estudios de sorción, condiciones de lavado y curvas de lavado) y No. 20 (para el proceso de composteo).

Tabla.4.1 Propiedades fisicoquímicas de los suelos intemperizado con hidrocarburos y el no contaminado, ambos muestreados en Cactus en el Estado de Chiapas.		
Propiedades Fisicoquímicas	**Suelo no contaminado**	**Suelo intemperizado**
pH	5	7.7
Humedad	21	15
Capacidad de retención de agua	0.45g H_2O/g suelo seco	0.25g H2O /g suelo seco
Densidad aparente	1 g/L	1.1 g/L
Materia orgánica	3.5%	4%
Fósforo	1.8 ppm	3.1 ppm
Metales(ppm) Cu, Zn, Pb	1.5ppm, 1.3ppm	0.7ppm, 7.7ppm, 14ppm
Textura Arena, Limo y Arcilla	Arcillosa 29%, 31%,40%	Arcillosa 23%,36%,41%

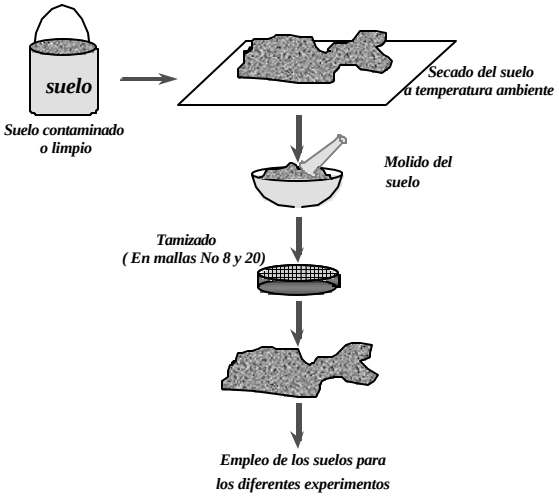


Fig.4.2. Pretratamiento del suelo para su utilización en los diferentes experimentos.

4.2 SURFACTANTE

Se utilizó el surfactante no iónico de SIGMA Tritón X-100 grado laboratorio, obtenido del Proveedor Científico en la Cd. de México. Este surfactante no iónico es un octilfenoletoxilato con un promedio de 9.5 grupos etoxilato (CH_2-CH_2-O-) por molécula, un peso molecular de 625 g/mol y un CMC de 1.8 x 10^{-4} mol/L (0.1125 g/L). La estructura de este compuesto se muestra en la ***Fig. 4.3***

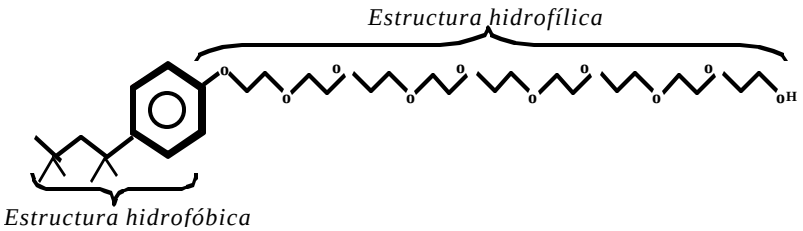


Fig.4.3 Estructura del surfactante no iónico Tritón X-100

4.3. CUANTIFICACIÓN DEL TRITÓN X-100

El surfactante fue cuantificado espectrofotométricamente para las isotermas de sorción. Se utilizó un espectofotómetro U.V. Shimadzu modelo 160-A. Se realizaron dos barridos en un intervalo de longitud de onda (λ) de 200 a 400 nm. La primera en una solución de 250 ppm de Tritón X-100 en agua destilada. La segunda fue de una solución de 250 ppm del surfactante y 100 ppm de azida de sodio (NaN_3, con la finalidad de mantener condiciones abióticas) en un extracto del suelo no contaminado (***Fig. 4.4***). Debe señalarse que el extracto se obtuvo bajo las mismas condiciones en que se construyeron las isotermas de sorción.

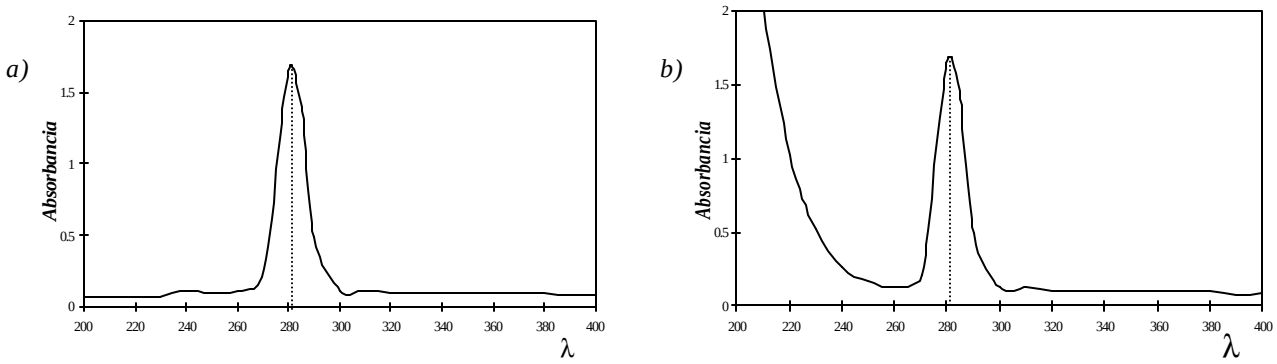


Fig.4.4. Espectros de absorción para Tritón X-100. *a)* Solución 250 ppm Tritón X-100, *b)* Solución 250 ppm Tritón X-100 y azida de sodio (NaN_3) en un extracto de suelo no contaminado.

Los barridos mostraron un máximo de absorción a los 280 nm, sin interferencia apreciable de los sólidos solubles del suelo ni de la azida de sodio. Posteriormente y por triplicado se construyó la curva estándar (***Fig. 4.5***) para la cuantificación del surfactante en las isotermas de sorción, empleándose para ello agua de extracto de suelo con azida de sodio (obtenido en las mismas condiciones que las isotermas).

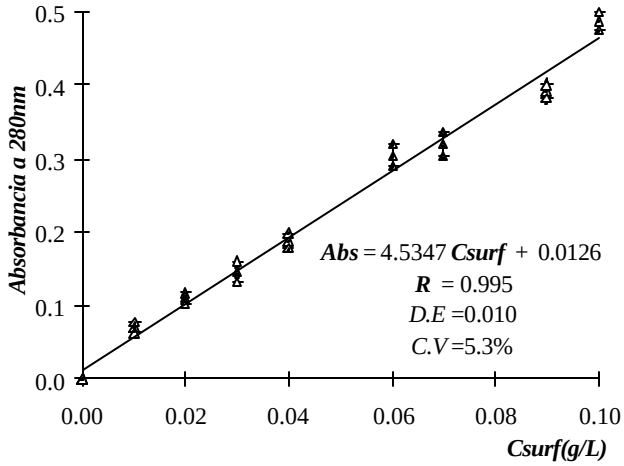


Fig.4.5. Curva estándar para la cuantificación del Tritón X-100 en las isotermas de sorción.

4.4 ISOTERMAS DE SORCIÓN DEL SURFACTANTE

Para determinar los parámetros $Q_{máx}$ y CMC_{suelo}, se construyeron isotermas de sorción del Tritón X-100 por dos métodos diferentes: variando la concentración de surfactante y variando la relación suelo/solución micelar.

4.4.1 Isoterma de sorción variando la concentración de surfactante

La construcción de esta isoterma, se basa en que el incremento de la sorción del surfactante es directamente proporcional al aumento en su concentración (*Csurf*), cuando la relación suelo/solución micelar W_{suelo}/V_{mic} se mantiene constante. El surfactante sorbido por unidad en peso de suelo (*Qg*) puede ser expresado como (Liu *et al*., 1992):

$$Qg = (Csurf - Csurf^{*})\frac{V_{mic}}{W_{suelo}} \text{ - - - - - - - -(4.1)}$$

Donde *Qg* es el surfactante sorbido por unidad de peso del suelo y *Csurf** es la concentración del surfactante en el equilibrio.

Los datos obtenidos se ajustaron a una isoterma de Langmuir. Se emplearon siete concentraciones de surfactante (*Csurf*): 0.3, 0.5, 0.8, 1, 3, 5 y 8 g/L. Se dispuso de 14 unidades experimentales y un blanco por duplicado, cada una consistente en un matraz de 250 ml con 6.25 g suelo sin contaminar, 0.05L de solución a la concentración de surfactante correspondiente (en el caso del blanco agua destilada) y azida de sodio (con la finalidad de mantener las condiciones abióticas) en una concentración de 0.01% p/v. Todas las unidades experimentales junto con el blanco, se sometieron a agitación y temperatura constante de 150 rpm y 30°C durante 24 horas (para alcanzar el equilibrio). Al final de este tratamiento, se dejaron en reposo durante 2 hrs para permitir la sedimentación de las partículas más pesadas. Posteriormente de cada unidad experimental y el blanco se tomaron alicuótas de 25 ml, llevándose a filtración por vacío en papel Whatman del No 42. De cada filtrado se tomaron 1.5 ml, los que fueron sometidos a una centrifugación de 56 ***g*** (rotor de 2.6cm y una velocidad de 14,000 rpm) durante 15 minutos, manteniéndose la temperatura controlada en 30°C. Finalmente de cada centrifugado se tomo 1 ml del sobrenadante. Se hicieron diluciones de 1 en 10 (para las unidades con *Csurf* de 0.3 a 1 g/L) y 1 en 100 (para las unidades con *Csurf* de 3 a 8 g/L) que fueron leídas a 280 nm en el espectrofotómetro.



La concentración leída correspondió a *Csurf**. El desarrollo del experimento se presenta en la ***Fig.4.6***.

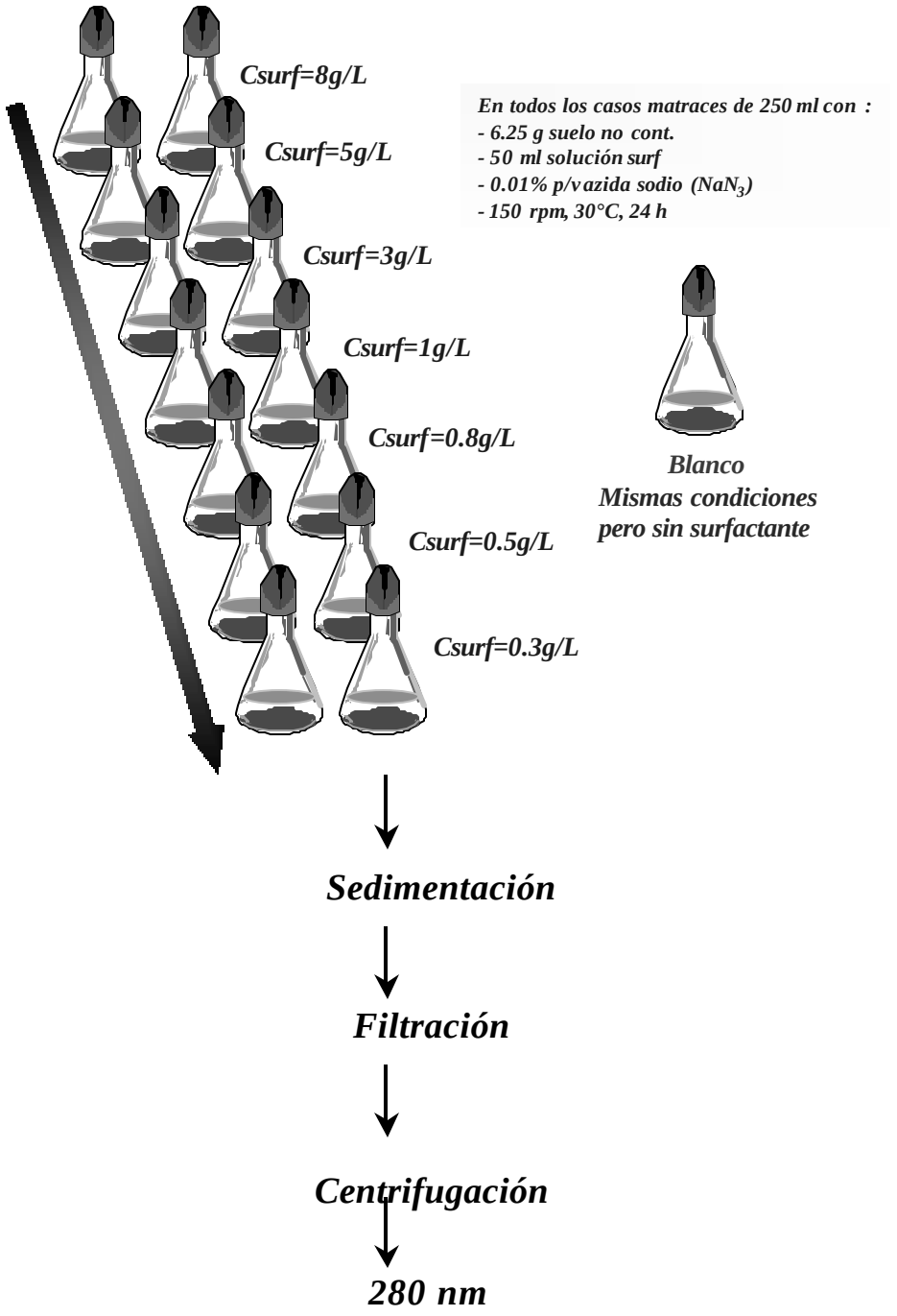


Fig.4.6. Esquema experimental para la construcción de la isoterma de sorción variando la concentración de surfactante.

4.4.2 Isoterma de sorción variando la relación suelo/solución micelar

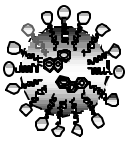
Este método se aplica cuando *Csurf* >> CMC y se basa en que en esta condición se alcanza un máximo de sorción del surfactante ($Q_{máx}$), en donde la cantidad de surfactante sorbido es constante (Edwards *et al.*, 1994***b***). A partir de la ecuación (4.1) se puede escribir:

$$(Csurf - Csurf\ *) = Q_{máx}\frac{W_{suelo}}{V_{mic}} \text{- - - - - - - -(4.2)}$$

Definiendo la diferencia (*Csurf-Csurf**)= C_{sorb} donde C_{sorb} es la concentración de surfactante sorbido (g surf/ L), se obtiene:

$$C_{sorb} = Q_{máx}\frac{W_{suelo}}{V_{mic}} \text{- - - - - - - - (4.3)}$$

Así una gráfica de C_{sorb} contra W_{suelo}/V_{mic}, será la de una recta que pasa por el origen y cuya pendiente es $Q_{máx}$. Se experimentó con cinco relaciones suelo/solución micelar (W_{suelo}/V_{mic}, g suelo/L): 180, 140, 100, 60 y 20. Para cada relación W_{suelo}/V_{soluc} se dispuso de 2 unidades experimentales, y un blanco de corrección. Las 10 unidades experimentales, consistieron en matraces de 250 ml con 0.05L de una solución de surfactante a una concentración de 4 gsurf/L y con azida de sodio (NaN_3) en una concentración de 0.01% p/v. Los blancos de corrección contenían el mismo volumen y concentración de azida de sodio, solo que sin surfactante. To das las unidades experimentales junto con los blancos de corrección, se agitaron a 150 rpm y una temperatura constante de 30°C durante 24 horas para alcanzar el equilibrio. Pasado este tiempo, las unidades experimentales junto con los blancos de corrección se dejaron en reposo durante 2 hrs para permitir la sedimentación de las partículas más pesadas. De cada una de las unidades experimentales y los blancos de corrección, se tomaron alícuotas de 25 ml, llevándose estas a filtración por vacío en papel Whatman del No 42. De cada filtrado fueron tomados 1.5 ml, que fueron sometidos a una centrifugación de 56***g*** (rotor de 2.6cm y velocidad de 14000 rpm) durante 15 minutos, manteniéndose la temperatura controlada en 30°C. Finalmente de cada centrifugado se tomaron alicuótas de 1 ml que fueron leídas a 280 nm en espectofotómetro (en todos los casos se hizo dilución de 1 en 100). Debe hacerse notar que se preparó un extracto de suelo con las mismas condiciones que los blancos de corrección, pero una relación W_{suelo}/V_{soluc} de 1:8. Este extracto se empleó como blanco. El desarrollo esquemático del experimento se presenta en la ***Fig.4.7.***



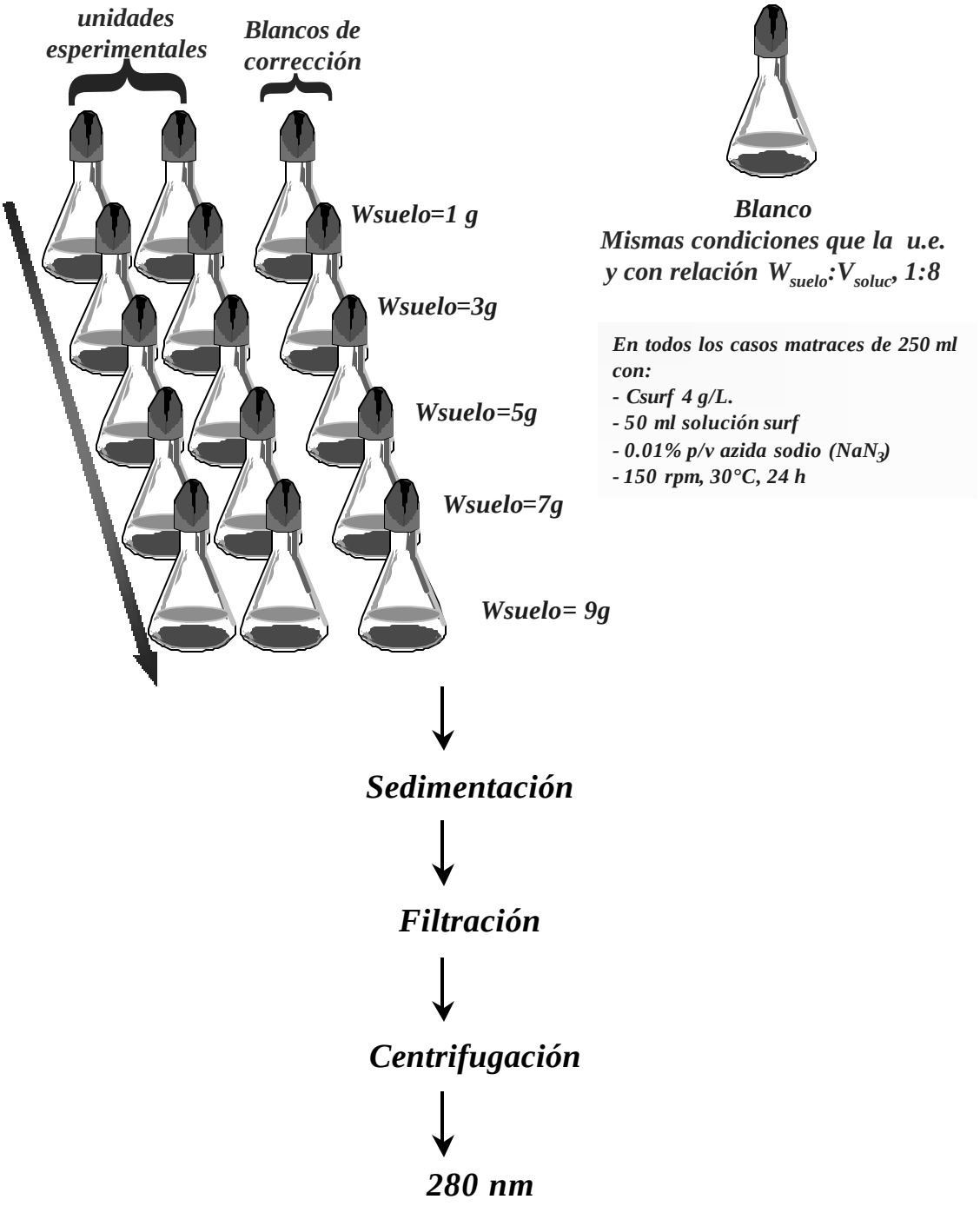


Fig.4.7. Esquema experimental para construcción de la isoterma de sorción variando la relación suelo/solución micelar

4.5 DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE LAVADO

Para determinar las condiciones de lavado, se empleó suelo intemperizado (cuyo tiempo de contaminación es de por lo menos 10 años) con un nivel inicial de HTPs superior a las 60,000 ppm. A continuación se detallan los diseños factoriales y técnicas analíticas utilizados para la determinación de las condiciones de lavado.

4.5.1 Factoriales

Se plantearon dos diseños factoriales. Ambos diseños fueron completos y se utilizó como factores (variables independientes) la concentración de surfactante (*Csurf*) y el tiempo de lavado (*tl*), estableciéndose 3 niveles para cada factor:

♠ ***Primer factor***: Tiempo de lavado (***tl***), con los niveles:

* $\boldsymbol{tl_1}$=2.5 h * $\boldsymbol{tl_2}$=5h * $\boldsymbol{tl_3}$=7.5h

♠ ***Segundo factor***: Concentración de surfactante (***Csurf***), con los niveles:

* $\boldsymbol{Csurf_1}$= 1 CMC (0.11g/L) * $\boldsymbol{Csurf_2}$=20 CMC (2.2g/L) * $\boldsymbol{Csurf_3}$ = 40 CMC (4.4g/L)

Para este segundo factor se tomó en cuenta y de manera cuantitativa, la sorción del surfactante en el suelo de Cactus para establecer la *Csurf* correcta. El nivel inferior fue de 1 CMC_{suelo}, ya que solo en forma micelar el surfactante tiene la capacidad de desorción y emulsificación de los hidrocarburos. Para cada factorial el número de combinaciones fue:

$$\textbf{niveles}^{\text{factores}} = 3^2 = \textbf{9 combinaciones}$$

Para prescindir de la posibilidad de agitación, en un factorial se utilizó una agitación de 60 rpm, mientras que el otro se mantuvo estático En las ***Tablas 4.2*** y ***4.3***, se muestran las interacciones, así como las repeticiones para cada uno de los factoriales realizados.

Tabla 4.2. Interacciones y repeticiones para el factorial con agitación de 60 rpm.

	$\boldsymbol{tl_1}$	$\boldsymbol{tl_2}$	$\boldsymbol{tl_3}$
$\boldsymbol{Csurf_1}$	$\boldsymbol{Csurf_1 * tl_1}$ 3 rep	$\boldsymbol{Csurf_1 * tl_2}$ 3 rep	$\boldsymbol{Csurf_1 * tl_3}$ 3 rep
$\boldsymbol{Csurf_2}$	$\boldsymbol{Csurf_2 * tl_1}$ 3 rep	$\boldsymbol{Csurf_2 * tl_2}$ 3 rep	$\boldsymbol{Csurf_2 * tl_3}$ 3 rep
$\boldsymbol{Csurf_3}$	$\boldsymbol{Csurf_3 * tl_1}$ 3 rep	$\boldsymbol{Csurf_3 * tl_2}$ 3 rep	$\boldsymbol{Csurf_3 * tl_3}$ 3 rep

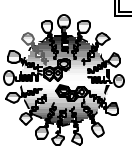


Tabla 4.3. Interacciones y repeticiones para el factorial estático.			
	tl_1	tl_2	tl_3
$Csurf_1$	$Csurf_1*tl_1$ 2 rep	$Csurf_1*tl_2$ 2 rep	$Csurf_1*tl_3$ 2 rep
$Csurf_2$	$Csurf_2*tl_1$ 2 rep	$Csurf_2*tl_2$ 2 rep	$Csurf_2*tl_3$ 2 rep
$Csurf_3$	$Csurf_3*tl_1$ 2 rep	$Csurf_3*tl_2$ 2 rep	$Csurf_3*tl_3$ 2 rep

Para el factorial con agitación se manejaron 3 repeticiones por interacción. Para el factorial estático se manejaron 2 repeticiones por interacción.

Para determinar el efecto de los factores en el lavado, se seleccionó como variable de respuesta la concentración de hidrocarburos desorbidos y emulsificados, medidos mediante un balance de ***DQO*** (demanda química de oxígeno).

4.5.2 Cuantificación de los hidrocarburos en el seno de la solución micelar

Debido a que el ***DQO*** es una técnica óxido-reductiva, que cuantifica toda la materia oxidable (orgánica e inorgánica) presente en una dispersión homogénea, el ***DQO*** total cuantificable en el sobrenadante, se deberá al aporte de 3 fuentes: *1)* la materia orgánica de los hidrocarburos desorbidos y emulsificados del suelo (DQO_{Hidr}), *2)* la materia orgánica debida al surfactante (DQO_{surf}) y *3)* todos los sólidos solubles oxidables provenientes del suelo (DQO_{suelo}), es decir:

$$DQO_{Tot} = DQO_{Hidr} + DQO_{surf} + DQO_{suelo} \text{ - - - - - - - - } (4.4)$$

donde el ***DQO*** debido a los hidrocarburos, vendrá dado por:

$$DQO_{Hidr} = DQO_{Tot} - (DQO_{surf} + DQO_{suelo}) \text{ - - - - - - - - } (4.5)$$

Para aplicar este balance en la cuantificación de los hidrocarburos mediante el ***DQO***, se supuso que los dos tipos de suelo muestreados, tenían como única diferencia la contaminación con hidrocarburos.



4.5.3 Técnica de la demanda química de oxígeno (DQO)

La determinación del ***DQO*** por esta técnica es colorimétrica, y se basa en el nivel de reducción del Cromo (Cr^{+6} a Cr^{+3}) presente en el dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$, agente oxidante). Para poder llevar a cabo esta prueba, es necesario preparar una curva estándar con biftalato de potasio, para cuantificar el ***DQO*** como mgO_2/L. Las soluciones reactantes necesarias para la técnica y su composición se muestran en la ***Tabla 4.4***.

Tabla 4.4. Soluciones para determinación de DQO	
Solución Digestora	***Solución de ácido con plata***
g/L	Solución de ácido con plata en proporción de ¨5.5g **Ag_2SO_4/kg H_2SO_4**
$K_2Cr_2O_7$ 42.256	
$HgSO_4$ 33.3	
H_2SO_4 167 ml	

Los pasos para aplicar la técnica son los siguientes:

I) Colocar 2 ml de muestra en un tubo con rosca y añadir 1 ml de la solución digestora.

II) A la solución anterior adicionar lentamente y por la pared 2 ml de la solución ácido con plata, y cerrar perfectamente el tubo, homogeneizando la mezcla con agitación suave.

III) Poner a digestión los tubos a 150°C durante 2 horas. Pasado este tiempo dejarlos enfriar a temperatura ambiente y leer a 620 nm.

En la ***Fig.4.8***, se presentan los datos (por triplicado) con los que se construyo la curva estándar de ***DQO*** empleada en los análisis. En todas las muestras se hicieron diluciones de 1 en 10.

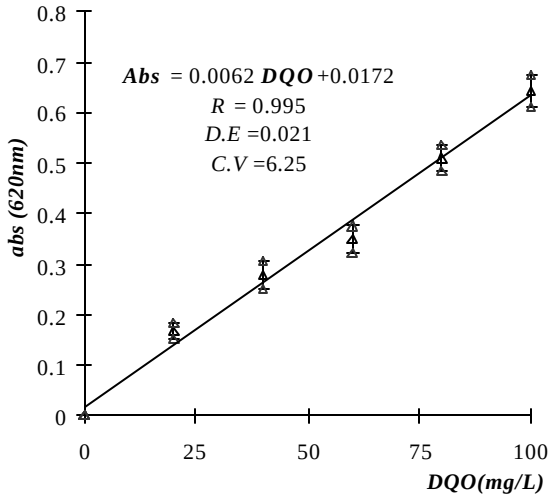


Fig 4.8. Curva estándar de ***DQO*** para el análisis de los sobrenadantes en los factoriales.

4.5.4 Unidades experimentales, blancos y tratamiento.

Experimentalmente, para cuantificar los hidrocarburos del sobrenadante, en ambos factoriales y para cada interacción $\boldsymbol{Csurf}_i$*$\boldsymbol{tl}_j$, se utilizó un blanco como el mostrado en la ***Fig 4.9*** junto con las unidades experimentales correspondientes. En todos los casos, se emplearon botellas serológicas de 120 ml conservándose la relación W_{suelo}/V_{mic} de 1 a 10 (5 g suelo por 50 ml de solución micelar). En la figura, se muestra el tratamiento seguido para las unidades experimentales y blancos.

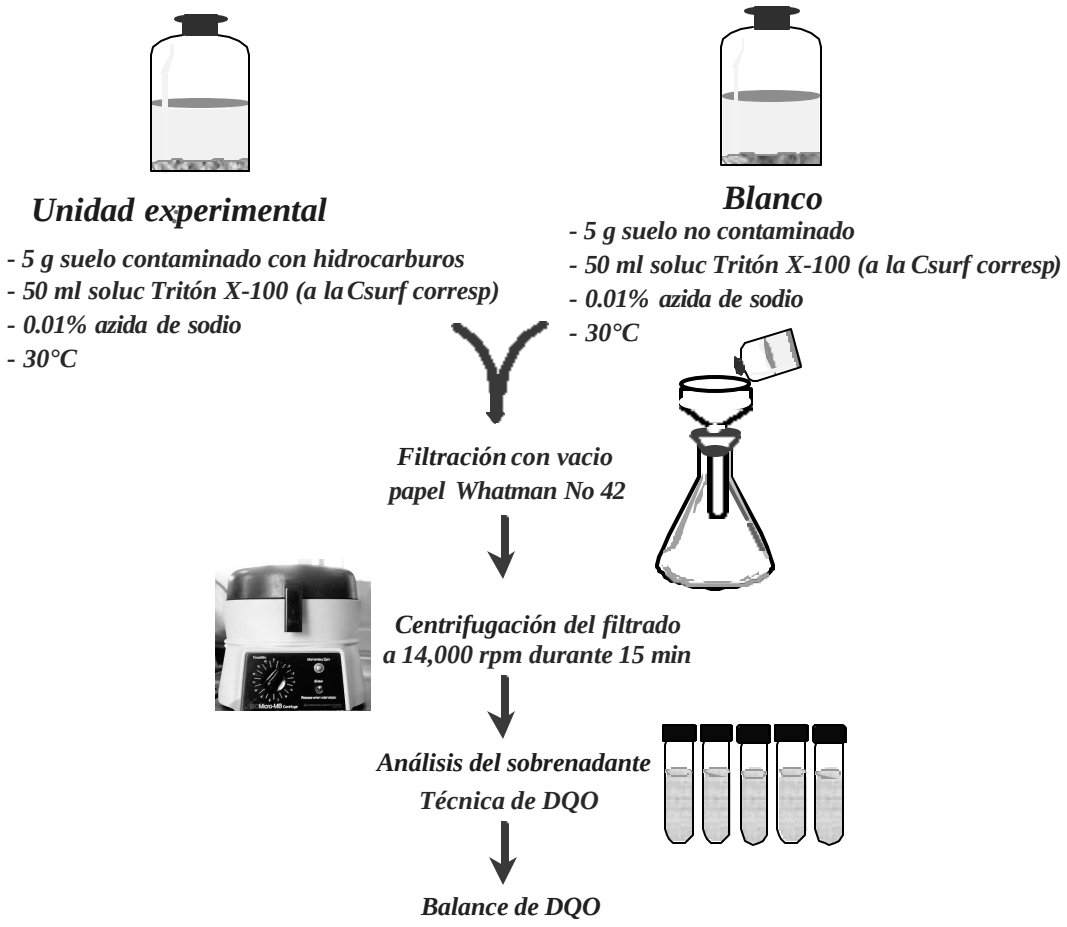


Fig 4.9. Unidades experimentales, blancos y tratamiento seguido en ambos factoriales.

Cada blanco proporcionó los valores de la relación ($\boldsymbol{DQO}_{suelo}$+$\boldsymbol{DQO}_{surf}$), mientras que las unidades experimentales el $\boldsymbol{DQO}_{Tot}$ correspondiente. Con estos valores y mediante la ecuación 4.5, se estimaron los valores del $\boldsymbol{DQO}_{Hidr}$.

4.6 CURVAS DE LAVADO Y DESORCIÓN DE LAS DIFERENTES FRACCIONES DE HTPs

Para establecer el número de lavados y determinar las fracciones de los hidrocarburos que son desorbidas y emulsificadas por el Tritón X-100, fue necesario cuantificar y fraccionar los contaminantes del suelo y el surfactante como se describe a continuación.

4.6.1 Cuantificación de hidrocarburos totales del petróleo (HTPs) y surfactante en suelo.

Para la cuantificación en suelo de hidrocarburos totales del petróleo (HTPs) iniciales y residuales así como el surfactante, se utilizó el método 3540 de la EPA (extracción sólido-líquido de compuestos orgánicos semivolátiles y no volátiles en suelo y sedimentos) con determinaciones gravimétricas,. El desarrollo de la técnica es como sigue:

i) Se colocaron de 5 a 10 g secos de muestra, en cartuchos de celulosa de 135 x 80 mm, adicionando a cada uno sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) en la misma cantidad que la muestra.

ii) Cada cartucho fue colocado en un equipo de extracción Soxhlet de 250 ml. A cada equipo se le adicionó 160 ml de una solución 1:1 v/v de hexano-acetona y perlas de ebullición al matraz de ebullición.

iii) Cada muestra, se mantuvo en proceso continuo de extracción, mediante reflujo durante 24 horas y a una temperatura controlada de 70°C (***Fig.4.10***).

iv) Cada extracto, se colocó en una charola de aluminio a peso constante. El exceso de solvente se eliminó por evaporación hasta sequedad en campana, a una temperatura de 45°C. Posteriormente, cada charola con el residuo, se mantuvo en desecador durante 12 horas, para tomar su peso.

El análisis mediante esta técnica, fue aplicada a tres diferentes tipo de muestras:

1.- Muestras de suelo contaminado sin tratamiento de lavado. Con la finalidad de determinar el nivel inicial de hidrocarburos totales de petróleo (HTPs) presente en el suelo contaminado.

2.- Suelo no contaminado intemperizado con el surfactante. Esto permitió inferir el aporte del surfactante presente en las muestras de suelo del inciso anterior, además de corroborar el valor de $Q_{máx}$.

3.- Suelo contaminado tratado mediante el proceso de lavado. En este caso, el método cuantifica a los HTPs y surfactante remanentes en el suelo.



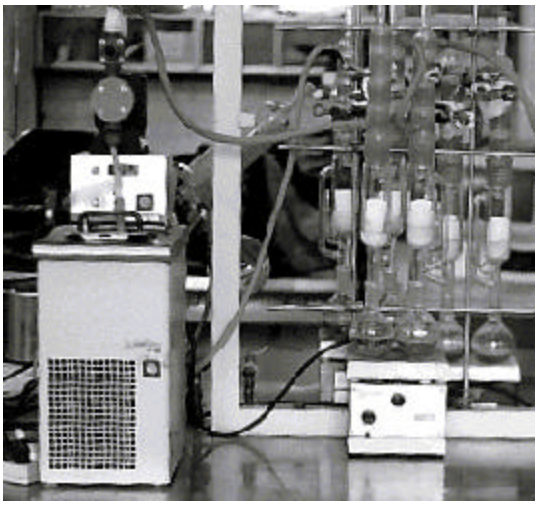


Fig.4.10. Sistema de extracción liquido-sólido.

La concentración en base seca de HTPs en el suelo contaminado sin tratamiento, (correspondientes al primer tipo de muestra), se estimó mediante la relación:

$$\boldsymbol{h}_{HTPs} = \frac{W_{HTPS+ch} - W_{ch}}{W_{SC}} \text{ - - - - - - - - (4.6)}$$

Donde $W_{HTPs+ch}$ es el peso seco de los HTPs más la charola, W_{ch} es el peso seco de la charola y W_{SC} el peso seco del suelo contaminado sin tratamiento. De manera similar, la concentración en base seca del surfactante en el suelo intemperizado con el Tritón X-100 (correspondientes al segundo tipo de muestra) se estimó mediante la relación:

$$\boldsymbol{h}_{surf} = \frac{W_{surf+ch} - W_{ch}}{W_{surf}} \text{ - - - - - - - - (4.7)}$$

Donde $W_{surf+ch}$ es el peso del surfactante más la charola y W_{surf} el peso seco del suelo no contaminado intemperizado con el surfactante. Finalmente, para cuantificar la concentración en base seca de los HTPs residuales en muestras de suelo contaminado tratado (correspondientes al tercer tipo de muestra), se utilizó la relación:

$$\boldsymbol{h}'_{HTPs} = \frac{W_{RES+ch} - W_{ch}}{W_{SCT}} - \boldsymbol{h}_{surf} \text{ - - - - - - - - (4.8)}$$

Donde W_{RES+ch} es el peso seco del residuo extraído (HTPs y surfactante) más la charola y W_{SCT} es el peso seco del suelo contaminado con tratamiento. Durante el proceso de lavado la cantidad $\boldsymbol{h}_{surf}$ es una constante que permitió estimar los HTPs residuales.

4.6.2 Fraccionamiento de los contaminantes

Esta es una técnica que permite distinguir y cuantificar cuatro grupos orgánicos en una muestra compleja de hidrocarburos: asfaltenos, alifáticos, aromáticos y polares (Wang *et al.*, 1994). La técnica, se divide en dos partes: ***i***) separación de los asfaltenos por precipitación y ***ii***) separación de las fracciones restantes mediante cromatografía en columna. La separación por cromatografía se basa en la afinidad de los diferentes componentes de la muestra con la silica gel, y en los gradientes de solubilidad y polaridad al usar diferentes solventes.

La técnica se utilizó para el análisis de los extractos de muestras de suelo contaminado con y sin lavado. El procedimiento fue el siguiente:

I. Separación y cuantificación de Asfaltenos

Se colocaron de 0.25 a 0.5 g del extracto obtenido en la extracción previa en vasos de precipitado. Se adicionaron 20 ml de n-pentano con la finalidad de precipitar los asfaltenos. Se filtro al vacío con papel Whatman del No. 42 efectuándose entre 3 y 5 lavados de 10 ml con n-pentano caliente para solubilizar los componentes de las demás fracciones. Los asfaltenos se cuantificaron gravimétricamente. En la ***Fig.4.11*** se esquematiza la técnica.

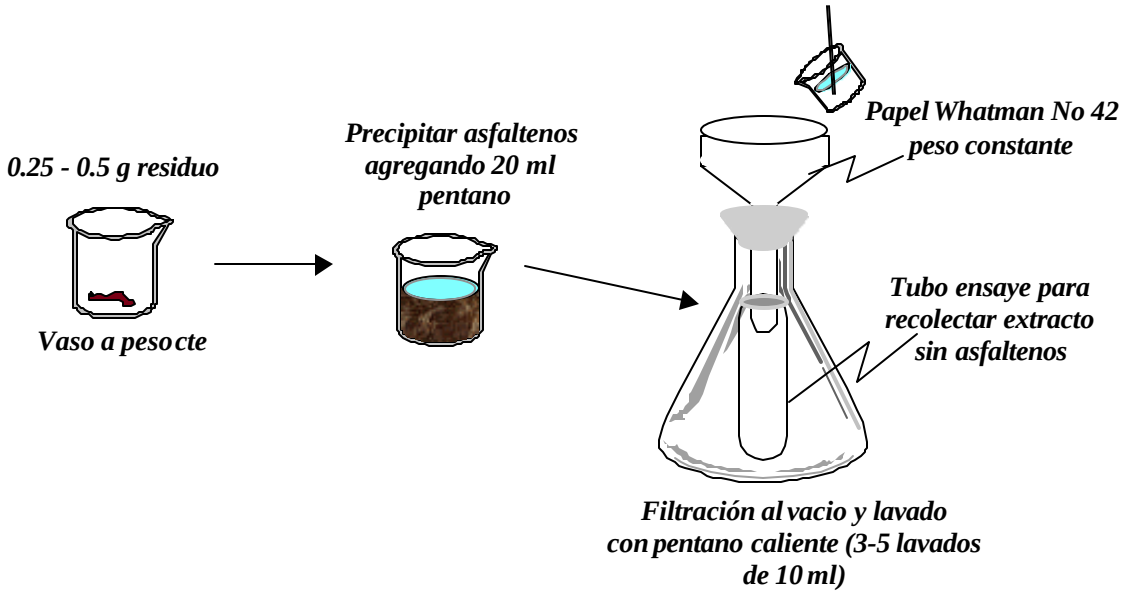


Fig.4.11. Esquematización de la técnica de separación y cuantificación de asfaltenos

La fracción de asfaltenos presente en los HTPs de las muestras de *suelo contaminado sin tratamiento* se estimo mediante la relación:

$$F_{asf} = \frac{(W_{pasf} - W_p) + (W_{vasf} - W_v)}{W_{ext}^{asf}} \text{ - - - - - - - - (4.9)}$$

Donde W_{pasf} es el peso seco del papel filtro con asfaltenos, W_p el peso seco del papel filtro, W_{vasf} el peso seco del vaso de precipitado con asfaltenos, W_v el peso seco del vaso de precipitado y W_{ext}^{asf} el peso seco del extracto de HTPs iniciales empleado en la determinación de los asfaltenos. Por otra parte, en la estimación de la fracción de asfaltenos para las muestras de *suelo contaminado con tratamiento (lavado)*, debe considerarse el aporte del surfactante extraído, así se puede escribir:

$$F'_{asf} = \frac{W_{res} - W_{res}^{surf}}{W_{ext}^{res} - Wp_{ext}^{surf}} \text{ - - - - - - - - (4.10)}$$

Donde W_{res} es el peso seco del residuo precipitado (asfaltenos y surfactante), W_{rest}^{surf} el peso seco del surfactante presente en el residuo, W_{ext}^{res} el peso seco del extracto usado para la precipitación del residuo y Wp_{ext}^{surf} el peso seco del surfactante presente en el extracto usado para el precipitado. Los términos W_{res}, Wp_{ext}^{surf} y W_{res}^{surf} a su vez vienen dados por:

$$W_{res} = (W_{pres} - W_p) + (W_{vres} - W_v) \text{ - - - - - - - - (4.11)}$$

$$Wp_{ext}^{surf} = \left(\frac{\eta_{surf} \cdot W_{SCT}}{W_{ext}^{tot}} \right) W_{ext}^{res} \text{ - - - - - - - - (4.12)}$$

$$W_{res}^{surf} = Wp_{ext}^{surf} \cdot f_{asf}^{surf} = \left(\frac{\eta_{surf} \cdot W_{SCT}}{W_{ext}^{tot}} \right) W_{ext}^{res} \cdot f_{asf}^{surf} \text{ - - - - - - - - (4.13)}$$

Donde W_{pres} es el peso del papel filtro con el residuo, W_{vres} el peso seco del vaso de precipitado con el residuo, W_{ext}^{tot} el peso seco del extracto total (HTPs y surfactante) extraído de la muestra de suelo contaminado lavado y f_{asf}^{surf} es la fracción del surfactante presente en Wp_{ext}^{surf} que precipito junto con los asfaltenos.

Combinando las ecuaciones 4.11, 4.12 y 413 con la 4.10 se llega a la relación (4.14), con la cual se estimó la fracción de asfaltenos en los HTPs residuales para muestras de suelo contaminado lavado:

$$F'_{asf} = \frac{W_{ext}^{tot}\left[(W_{pres} - W_p) + (W_{vres} - W_v)\right] - \eta_{surf} \cdot W_{SCT} \cdot W_{ext}^{res} \cdot f_{asf}^{surf}}{W_{ext}^{res}\left(W_{ext}^{tot} - \eta_{surf} \cdot W_{SCT}\right)} \text{ - - - - - - - - (4.14)}$$



II. Separación y cuantificación de alifáticos, aromáticos y polares

Los tres restantes grupos (alifáticos, aromáticos y polares), se separaron y cuantificaron mediante cromatografía en columna. El desarrollo de la técnica es la siguiente:

i) Se activó sílica gel grado análisis con número de malla 60-200, colocándose 12.5g en horno a 105°C durante 24.

ii) Para la cromatografía en columna se utilizaron columnas de vidrio de 10cm de altura y 1cm de diámetro. Se empacaron en seco de la siguiente manera: primero se colocó fibra de vidrio (0.2 g), enseguida se agregaron de 2.3-2.5 g de sílica activada, nuevamente se colocó una cantidad similar de fibra de vidrio, y finalmente se adicionó 0.5g de sulfato de sodio anhidro. Como siguiente paso, se formó el gel, eluyéndose volúmenes de 20 ml de n-hexano.

iii) Formado el gel, de 0.05 a 0.1 g del extracto ya libre de asfaltenos se solubilizó en n-hexano caliente y se adicionó a la columna. Para el fraccionamiento de la muestra se emplearon cuatro solventes de diferente polaridad: n-hexano, benceno, metanol y acetona

iv) Primero se usaron eluciones de 20 ml de n-hexano, con lo que de forma casi inmediata se tuvo el desplazamiento de una franja amarilla. Las eluciones con este solvente, se detuvieron en el momento en que la franja no mostró desplazamiento.

v) Enseguida se realizó un cambio de solvente, empleándose una mezcla de n-hexano-benceno, realizando una sola elución de 20 ml. Se prosiguió con eluciones de 20 ml de benceno, las cuales se detuvieron en el momento en que la franja amarilla se desplazó completamente hasta salir de la columna.

vi) Enseguida se volvió a hacer un cambio de solvente, en el cual se empleó una mezcla 1:1 de benceno-metanol, realizándose una sola elución de 20 ml. Finalmente se llevó a cabo una elución de 20 ml con una mezcla 1:1 de metanol-acetona.

vii) Las fracciones se recolectaron en viales de 30 ml a peso constante. El exceso de solvente en los viales se eliminó por evaporación en campana con calentamiento controlado a 45°C. Los viales se mantuvieron en desecador durante 24 horas, para posteriormente cuantificarse gravimétricamente cada fracción. En la ***Fig. 4.12***, se presenta una vista global del proceso de cromatografía en columna.





Fig.4.12. Cromatografía en columna para la separación y cuantificación de alifáticos, aromáticos y polares.

El criterio para decidir la separación de cada grupo, se basó en los solventes utilizados. Los viales en que se recolectaron las eluciones con n-hexano, correspondieron al grupo de los alifáticos; los viales en que se recolectaron las eluciones con n-hexano-benceno y benceno, correspondieron al grupo de los aromáticos; finalmente los viales en que se recolectaron las eluciones con benceno-metanol y metanol-acetona, correspondieron al grupo de los polares.

De forma similar que en la cuantificación de la fracción de asfaltenos con respecto a los HTPs, el conjunto de ecuaciones con las que se determinó este valor para los restantes grupos (alifáticos, aromáticos y polares), dependió de sí la muestra provino de un suelo contaminado con o sin tratamiento.La relación con que se determinó la fracción de cada grupo presente en los HTPs provenientes de una muestra de *suelo contaminado sin tratamiento* fue:

$$Fi = \left(\frac{\sum_{j=1} \left(W_j^i - W_j \right)}{W_{ext}} \right) \left(1 - F_{asf} \right) \text{- - - - - - - - (4.15)}$$

Donde W_j^i es el peso seco del *j-ésimo* vial con *i* gramos del *i-ésimo* grupo para los HTPs iniciales, W_j el peso seco del *j-ésimo* vial y W_{ext} el peso seco del extracto de HTPs iniciales sin asfaltenos utilizados para la cromatografía.

Para el caso de extracto proveniente de *suelo contaminado con tratamiento (lavado)*, la relación que involucra el aporte debido al surfactante en la determinación de la fracción de cada grupo, se baso en la relación:

$$F'i = \left(\frac{W_{i+surf} - W_i^{surf}}{W_{ext+surf} - Wc_{ext}^{surf}} \right) \left(1 - F'_{asf}\right) \text{ - - - - - - - - (4.16)}$$

Donde W_{i+surf} es el peso seco del extracto correspondiente al *i-ésimo* grupo más el surfactante, W_i^{surf} el peso seco del surfactante en el *i-ésimo* grupo, $W_{ext+surf}$ el peso seco del extracto de los residuales (HTPs+surfactante) utilizado para la cromatografía y Wc_{ext}^{surf} el peso seco del surfactante presente en el extracto utilizado para la cromatografía. Los términos W_{i+surf}, Wc_{ext}^{surf} y W_i^{surf} a su vez vienen dados por:

$$W_{i+surf} = \sum_{j=1} \left(W_j^{i+surf} - W_j \right) \text{ - - - - - - - - (4.17)}$$

$$Wc_{ext}^{surf} = \left(\frac{\boldsymbol{h}_{surf} \cdot W_{SCT}}{W_{ext}^{tot}} \right) W_{ext+surf} \text{ - - - - - - - - (4.18)}$$

$$W_i^{surf} = Wc_{ext}^{surf} \cdot f_i^{surf} = \left(\frac{\boldsymbol{h}_{surf} \cdot W_{SCT}}{W_{ext}^{tot}} \right) W_{ext+surf} \cdot f_i^{surf} \text{ - - - - - - - - (4.19)}$$

Donde W_j^{i+surf} es el peso seco del *j-ésimo* vial con *i* gramos del *i-ésimo* grupo más el surfactante y f_i^{surf} la fracción del surfactante presente en el Wc_{ext}^{surf} que se fracciono con el *i-ésimo* grupo. Remplazando las ecuaciones 4.17,4.18 y 4.19 en la 4.16, se llega a la relación final con que se estimó la fracción del *i-ésimo* grupo con respecto a los HTPs residuales:

$$F'_i = \left[\frac{W_{ext}^{tot} \cdot \sum_{j=1}^{n} \left(W_j^{i+surf} - Wj \right) - \boldsymbol{h}_{surf} \cdot W_{SCT} \cdot W_{ext+surf} \cdot f_i^{surf}}{W_{ext+surf} \left(W_{ext}^{tot} - \boldsymbol{h}_{surf} \cdot W_{SCT} \right)} \right] \left(1 - F'_{asf}\right) \text{ - - - - - - - - (4.20)}$$

A excepción de los valores de f_i^{surf} que aparecen en las relaciones 4.14 y 4.20, todos los demás términos, son datos experimentales ya determinados ($\boldsymbol{h}_{surf}$) o que se obtienen de forma directa. Para conocer la distribución del surfactante Tritón X-100 presente en los extractos obtenidos en las muestras de suelo lavado y así determinar los valores de las fracciones $f_i^{surf} = f_{asf}^{surf}, f_{alif}^{surf}, f_{arom}^{surf}, f_{polar}^{surf}$, el surfactante extraído de los blancos fue sometido al proceso de fraccionamiento, desde la precipitación con n-pentano, hasta la cromatográfia en columna.



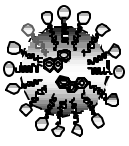
4.6.3 Curvas de lavado y tratamiento

Se construyeron dos curvas de lavado, empleando para cada una suelo intemperizado con concentraciones iniciales de HTPs promedio de $63{,}900 \pm 10{,}700$ y $73{,}200 \pm 9{,}500$ ppm respectivamente. En cada experimento se utilizaron 21 unidades experimentales con las siguientes características: cada unidad consistió de una botella serológica de 120ml, en cuyo interior se colocaron 5g de suelo contaminado y 50ml de una solución micelar, manteniéndose una relación W_{suelo} V_{mic} 1:10. El proceso de lavado se llevó a cabo en condiciones abióticas, por lo que en cada unidad experimental se empleó azida de sodio (NaN_3) en una concentración de 0.01g/L (0.1%p/v). Se efectuaron siete lavados.

Además de las unidades experimentales, se dispuso de 6 blancos. Cada uno consistió también de una botella serológica de 120ml, en cuyo interior se colocaron 5 g de suelo intemperizado con el surfactante tritón X-100. Este suelo intemperizado, en realidad fue suelo seco sin contaminar que fue mezclado con surfactante en una proporción de 0.333g surf/g suelo, dejándose la mezcla por un período de 1 mes a temperatura ambiente. A diferencia de las unidades experimentales, en los blancos los lavados únicamente se efectuaron con volúmenes constantes de 50ml de agua destilada, la cual contenía azida de sodio en la misma proporción que las unidades experimentales, para mantener las condiciones abióticas. El uso de los blancos, tuvo como objetivo principal cuantificar la interferencia del surfactante en la medición de los HTPs residuales del suelo.

El tratamiento que se aplicó a las unidades experimentales y blancos, para construir las curvas de lavado, se presenta en forma esquemática en la ***Fig.4.13.*** A excepción del primer lavado (en el que se empleó una concentración mayor con la finalidad de saturar el suelo de acuerdo a la $Q_{máx}$ y el CMC_{suelo}), a todas las unidades experimentales, se les adicionó una solución de surfactante a concentración constante de 4.4 g/L (40 CMC), sometiéndose a una agitación continua de 60 r.p.m. durante 7.5 horas y a una temperatura de 30°C (condiciones de lavado). Al final del tiempo de lavado, de manera aleatoria 3 unidades experimentales fueron retiradas y sometidas a filtración en papel Whatman del No 1, en donde la fase líquida (filtrado) fue acumulada, mientras que la fase sólida que se obtuvo (suelo) se llevó a sequedad a temperatura ambiente para su posterior análisis (HTPs residuales y fraccionamiento).

Las restantes unidades experimentales, se dejaron 30 minutos para sedimentación del suelo. Al final de este tiempo, el sobrenadante fue removido por decantación. Posteriormente se añadió solución nueva de surfactante, repitiéndose el tratamiento hasta completar siete lavados.



Con los blancos fue el mismo tratamiento, con dos diferencias: La primera fue que únicamente se empleó agua destilada (con azida de sodio) para los lavados, y la segunda que los blancos se retiraron en forma aleatoria de dos en dos pero cada tres lavados, llevándose a cabo nueve lavados.

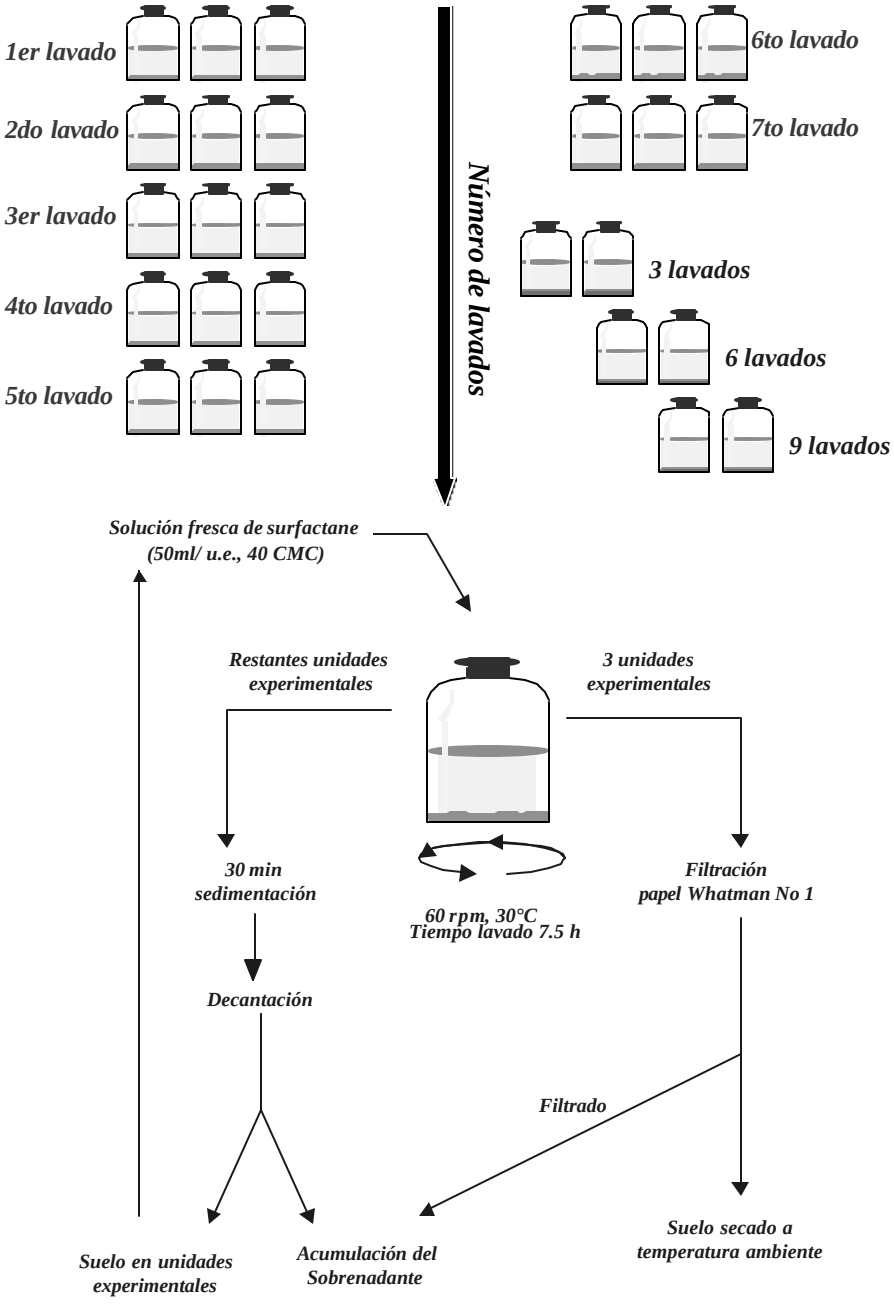


Fig.4.13 Tratamiento de las muestras para la construcción de las curvas de lavado.

4.7 LAVADO Y COMPOSTEO DE SUELO CONTAMINADO

Para evaluar el proceso de composteo *ex-situ*, en la degradación de los hidrocarburos y surfactante remanentes en el suelo después del lavado, se utilizó la metodología que se describe a continuación.

4.7.1 Lavado de suelo

Para el lavado de una muestra suficientemente grande de suelo intemperizado (con una concentración inicial promedio de 62,300 ± 7,500 ppm de HTPs), se empleó un reactor de acero inoxidable con un volumen nominal de 5 L de la serie Biostat®B, con un impulsor de 3 turbinas de disco con palas (***Fig.4.14***).



Fig. 4.14. Reactor empleado para el lavado del suelo contaminado.

Se efectuaron tres lavados consecutivos a una muestra de 400 g de suelo contaminado, con una relación suelo/solución micelar de 1:10 p/v y sin azida de sodio. Las condiciones para cada lavado fueron las siguientes: *i*) se manejó una concentración constante de surfactante de 4.4 g/L ó 40 CMC (en el primer lavado se utilizó una concentración un poco mayor tomando en cuenta el $Q_{máx}$), *ii*) el proceso se llevó con una agitación constante de 150 r.p.m durante 7.5 horas y a una temperatura de 30°C. Al final de cada lavado se permitió la sedimentación del suelo y se decantó el sobrenadante, tomándose muestras de suelo de 5 g por duplicado. A las muestras se les determinó la concentración de HTPs y se fraccionaron.

4.6.2 Proceso de composteo

Se llevó a cabo el composteo de suelo contaminado con y sin tratamiento (lavado). En ambos casos se empleó el mismo equipo y metodología que se describe a continuación.

I. Equipo para el proceso de composteo.

El equipo para el composteo fue el siguiente:

i) ***Reactor y columnas***: Se utilizó un reactor modular con geometría tubular de acero inoxidable de 1/8 de pulgada y cédula 80. El reactor consiste de un módulo superior y otro inferior. El módulo superior tiene 30 cm de altura, 10.8 cm de diámetro y 12 entradas distribuidas en 3 columnas separadas por ángulos de 127° junto con una tapa del mismo material. El módulo inferior con el mismo diámetro superior, posee 4 orificios (o entradas), separados por ángulos de 90°. Junto con el módulo inferior, se empleó una tapa de distribución con la finalidad de servir como base para el material empacado, y distribuir el aire de entrada al reactor. También se emplearon columnas de vidrio de 50 g de capacidad, acopladas a humidificadores de vidrio para evitar el secado del material (***Fig.4.15***).

ii) ***Cámara para el control de temperatura***: Para el control de la temperatura alrededor del reactor modular y las columnas, se utilizó una cámara integrada por 3 caras de policarbonato (dos de las cuales se encuentran aisladas con capas de unicel de 2 cm de espesor), 2 de acrílico y 1 domo (o tapa). Las paredes de acrílico (paralelas y frontales entre sí) poseen una serie de orificios por donde se introducen las diferentes conexiones. En el interior de la cámara, se encuentra un sistema de tubería de PVC para distribuir el aire de calentamiento (***Fig.4.16***).

iii) ***Sistema de calefacción de la cámara***: El sistema de calefacción empleado para la recirculación del aire, consta de un turbo ventilador de 1/4 HP de potencia (***Fig.4.17***). Este a su vez posee una resistencia conectada directamente a un reostato. El turboventilador y el reóstato están conectados a un control de encendido-apagado.

iv) ***Humidificador de aire para el reactor***: El aire se saturó a la temperatura del material empacado, por lo que se utilizó al interior de la cámara de control de temperatura. El humidificador es de vidrio con geometría cilíndrica (altura de 60 cm y radio de 5 cm) con tapa de nylon.

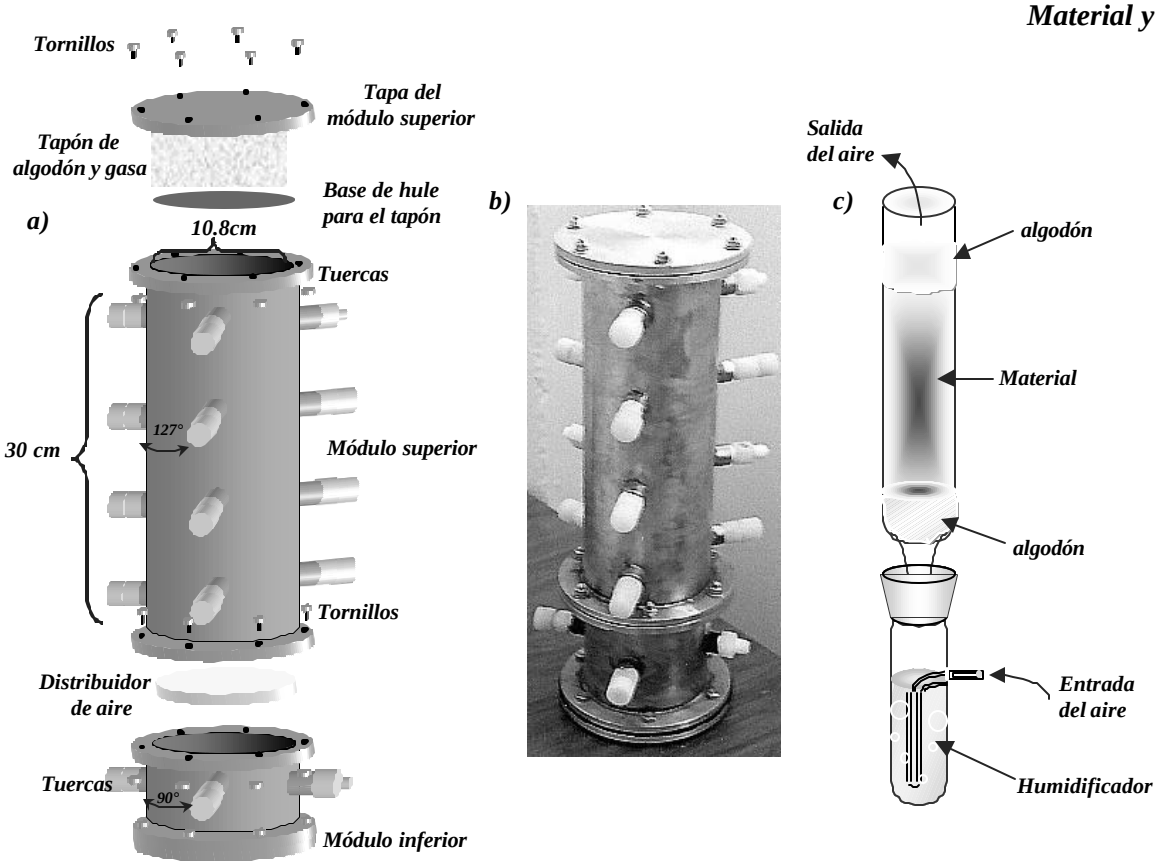


Fig.4.15. Reactor modular de acero inoxidable y columna de vidrio. ***a)*** partes que integran al reactor; ***b)*** imagen del reactor y ***c)*** columna de vidrio.

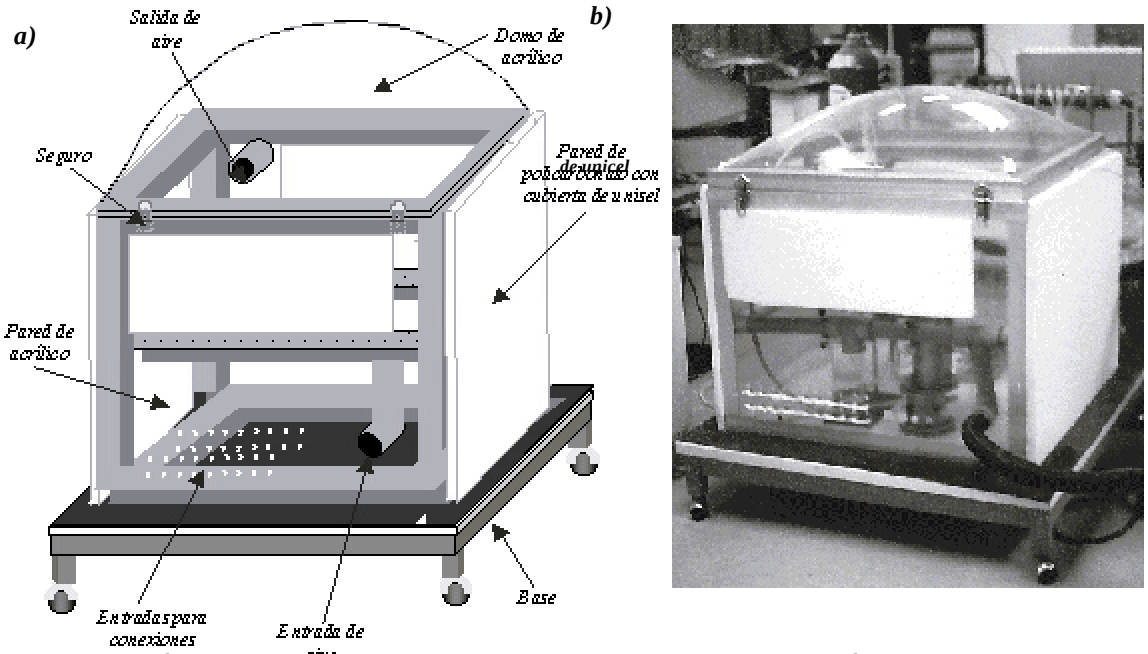


Fig.4.16. Cámara para el control de temperatura. ***a)*** Partes que integran a la cámara; ***b)*** imagen de la cámara.

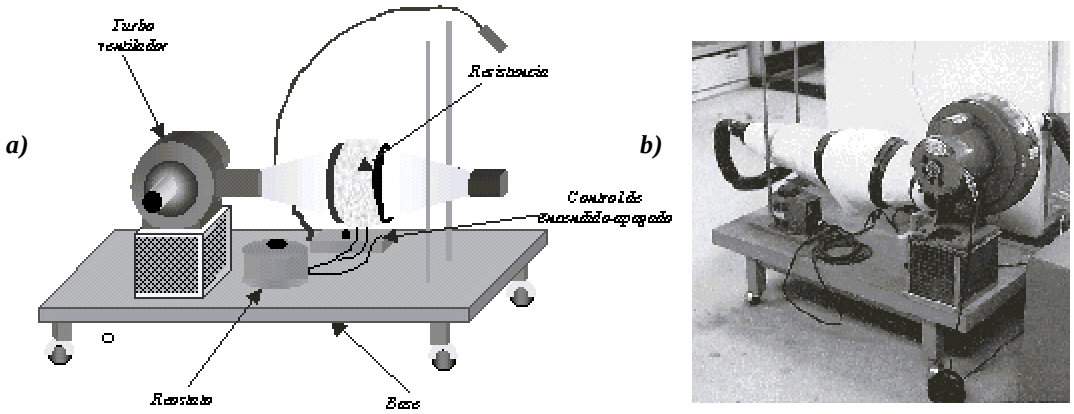


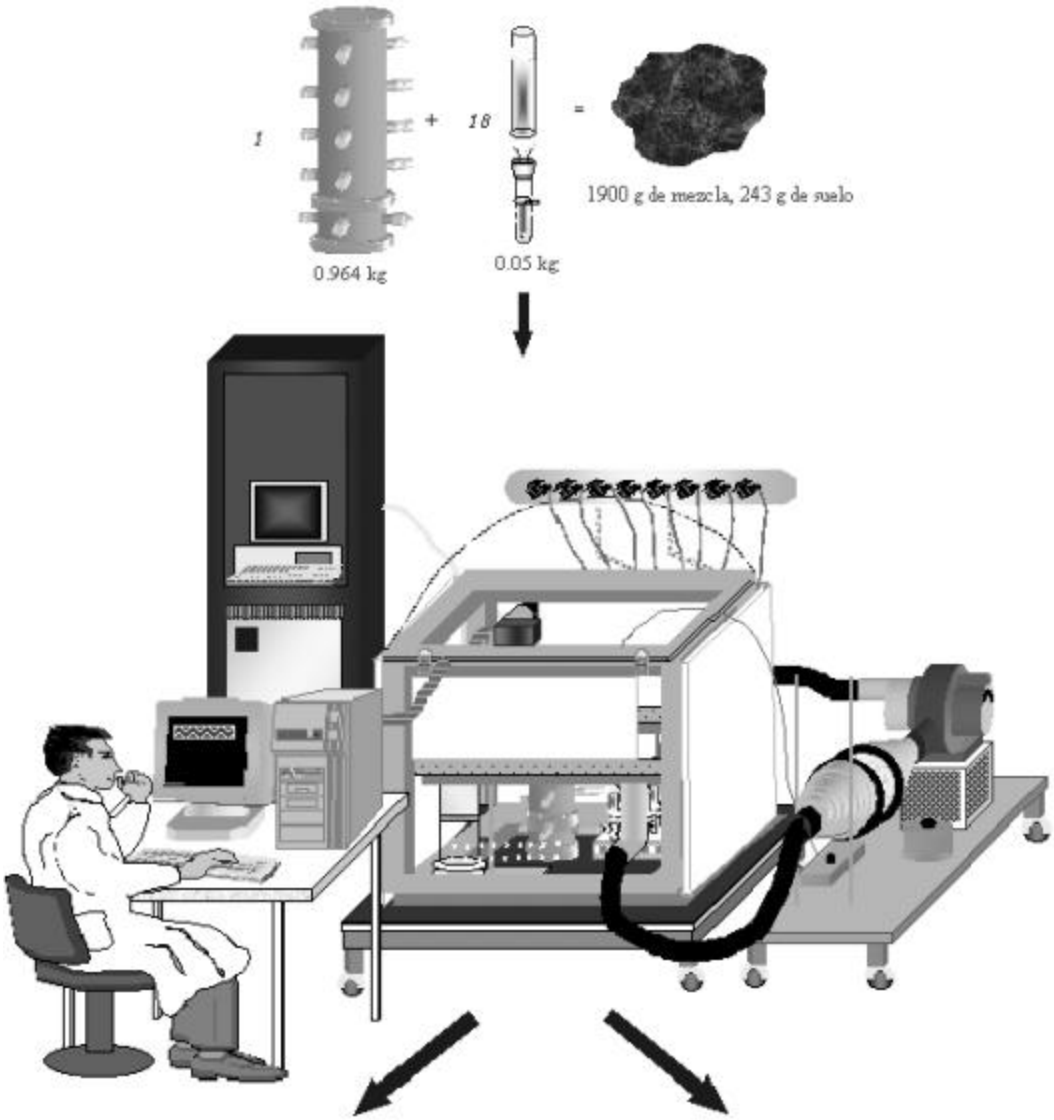
Fig.4.17. Sistema de calefacción***. a)*** partes que integran al sistema; ***b)*** Imagen del sistema de calefacción.

II. Composteo

En la ***Tabla 4.4***, se muestra la composición de la mezcla y las condiciones utilizadas durante el proceso de composteo (Aguilera, 1998).

Tabla 4.5. Composición y condiciones para los procesos de composteo.			
Composición de la mezcla de composteo (%p/p)		***Condiciones del composteo***	
Suelo	*13*	*Tasa especifica de aireación (Laire/kg medio min)*	3
Bagacillo de caña	*14*		
Agua	*59.7*	*Densidad de empaque (kg/m^3)*	350
Lodos	*2*	*Tamaño partícula (Bagacillo y suelo)*	*mallas 20-30*
Sacarosa	*7*	*Humedad (% p/p)*	*60*
K_2HPO_4	*2*		
Urea	*2*		
Oligoelementos	*0.3*		

El composteo se llevó a cabo para suelo contaminado con y sin tratamiento (lavado). En el caso del composteo con suelo contaminado sin tratamiento, este se diluyó con suelo no contaminado hasta alcanzar un nivel de HTPs similar al del suelo contaminado lavado, y se adicionó Tritón X-100 (previamente solubilizado) en la cantidad necesaria para alcanzar la misma concentración que en el suelo con tratamiento. En ambos casos, el composteo se llevó de la siguiente manera: Se prepararon 1900 g de la mezcla mostrada en la ***Tabla 4.5***, de la cual 964 g se utilizaron para empacar el reactor y el material restante para empacar 18 columnas de vidrio con capacidad de 50 g de material. Tanto el reactor como las columnas, se mantuvieron en la cámara de control de temperatura. El reactor se utilizó para determinar cinéticas de gases (CO_2 y O_2) y temperatura, mientras que las columnas se emplearon para determinar cinéticas de pH, humedad, actividad de agua (a_w), pérdida de materia seca, consumo de azúcar, así como la degradación de HTPs y surfactante. Ambos composteos, se llevaron a cabo en un periodo de 7 días (168 hrs). En la ***Fig.4.18*** se muestra una vista global del proceso de composteo.



Columnas
(análisis por punto, cinética 7 días)
degradación de HTPs y surfactante, pérdida de materia seca, pH, humedad, a_w, azúcares totales

Reactor
(cinética 7 días)
- Cinética de gases
- Cinética de temperatura

Fig. 4.18. Vista global del composteo.

4.7.3 Técnicas analíticas

En esta sección, se describe el procedimiento seguido en las diferentes técnicas analíticas realizadas a cada composta para determinar los valores de: humedad, pH, actividad de agua, pérdida de materia seca, consumo de azúcar, degradación del surfactante y HTPs.

I. Humedad

Se determinó por diferencia de peso entre el material húmedo y el material seco. Cinco gramos del material húmedo de cada muestra, fueron colocados en charolas de aluminio a peso constante y secados en estufa durante 24 hr a 60°C. El porcentaje de humedad se determinó mediante la ecuación:

$$\Re = \left[1 - \left(\frac{W_{ch+\sec} - W_{ch}}{W_{hum}}\right)\right] \cdot 100 \text{ - - - - - - - -(4.21)}$$

Donde W_{ch+sec} es el peso seco del material de composta seco más la charola y W_{hum} es el peso húmedo del material de composta.

II. pH

A un gramo del material húmedo de cada muestra, se les adicionó 10 ml de agua destilada. La suspensión formada, fue sometida a agitación constante mediante agitador magnético durante 10 min. Al cabo de este tiempo y manteniendo la agitación, se midió el pH con un potenciómetro digital (Conductronic pH 20) provisto de un electrodo combinado.

III Actividad de agua (a_w)

Se utilizó un equipo CX-2 (DECAGON), el cual consta de un pequeño ventilador en su interior que permite la recirculación del aire sobre la superficie de la muestra introducida (0.5g), acelerando el equilibrio a la presión de vapor del agua. Un sensor infrarrojo mide la temperatura de la superficie de la muestra y un espejo interno enfría el vapor hasta llegar a la condensación del agua a la temperatura de rocío. Con las temperaturas de superficie y el punto de rocío, un sistema interno calcula la actividad de agua. La técnica consiste en colocar la muestra en una pequeña celda de plástico e introducirla al equipo, para que al cabo de unos minutos muestre el valor de la a_w.

IV. Pérdida de materia seca

La pérdida de materia seca, se estimó a partir de los porcentajes de humedad y pesos de las columnas con el material de composteo al inicio y al tiempo de muestreo mediante la siguiente ecuación:

$$PMS = \left(\frac{W_{hum+col}^{tn} - W_{col}}{W_{hum+col}^{to} - W_{col}} \right) \left(\frac{100 - \Re^{tn}}{100 - \Re^{to}} \right) \text{- - - - - - - - (4.22)}$$

Donde $\Re^{to}$ y $\Re^{tn}$ son los porcentajes de humedad del material de composteo al inicio y al momento del muestreo respectivamente, $W_{hum+col}^{to}$ y $W_{hum+col}^{to}$ son los pesos de las columnas de vidrio con el material de composteo al inicio y al momento del muestreo respectivamente y W_{col} es el peso seco de la columna de vidrio.

V. Azúcares Totales

Se determinaron por el método del fenol-sulfúrico. A cinco gramos del material húmedo de cada muestra, se les adicionó 50 ml de agua destilada. Cada suspensión se mantuvo en agitación constante mediante agitador magnético durante 20 min. Se permitió la sedimentación del material tomándose 5 ml del sobrenadante, sometiéndose a una centrifugación de 56***g*** (rotor de 2.6cm y velocidad de 14,000 rpm) durante 15 min. Finalmente un mililitro de cada sobrenadante posterior a la centrifugación, se filtró en membrana de millipore de 0.2 µm de diámetro. Para el análisis mediante la técnica de fenol-sulfúrico, se utilizó una solución de fenol al 5% p/v y ácido súlfurico concentrado. Se realizaron diluciones de 1:100 en todas las muestras, mientras que para la curva estándar (que se construyó por triplicado) se empleó una solución de sacarosa de 0.1g/L (***Fig. 4.19***). A dos mililitros de muestra se les adicionó 1 ml de la solución de fenol y 5 ml de ácido sulfúrico, la mezcla resultante se puso en baño maría durante 5 min enfriándose con agua fría para ser leída a 480 nm.

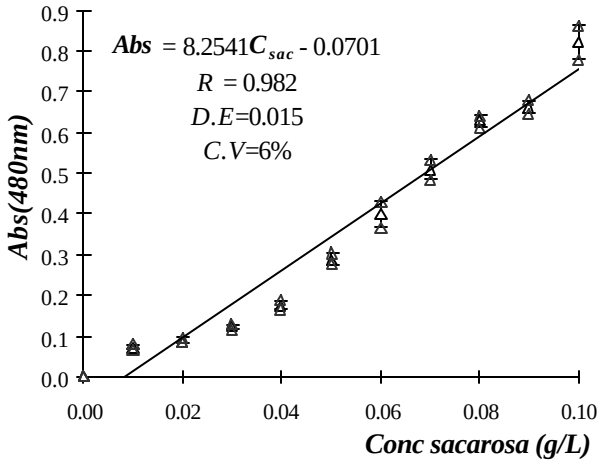


Fig. 4.19. Curva estándar utilizada en la cuantificación de azucares totales

La ecuación con que se determinó la concentración en base seca inicial de los azúcares totales en la composta fue:

$$g_{azúc} = \frac{C_{azúc} \cdot V_{ext} \cdot PMS}{W_{hum}\left(1 - \frac{\Re}{100}\right)} \cdot 1000 \text{ - - - - - - - - - (4.23)}$$

Donde $C_{azúc}$ es la concentración del azúcar determinada por el método de fenol sulfúrico y V_{ext} el volumen del agua destilada empleada para extraer el azúcar de la muestra húmeda.

VI. Surfactante

La cuantificación del surfactante no iónico tritón X-100, se llevó a cabo mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC), para lo cual se utilizó una columna prodigy ODS-2 de 15 cm de longitud, un inyector manual TPS 207095 y un detector serial spectrometric 4100. Como fase móvil se empleó una solución de acetonitrilo-agua-ácido acético (80-15-5 v/v) con un flujo de 1ml/min. El tiempo de retención del surfactante fue de 4.8 minutos.

En la ***Figura 4.20***, se muestra la curva estándar (construida por duplicado). La preparación de las muestras fue de la siguiente manera: Cinco gramos del material húmedo de cada muestra, se les adicionó 50 ml de agua destilada. Cada suspensión se mantuvo en agitación constante mediante agitador magnético durante 40 min. Se permitió la sedimentación del material tomándose 5 ml del sobrenadante y sometiéndolo a una centrifugación de 56***g*** (rotor de 2.6cm y velocidad de 14,000 rpm) durante 15 min. Finalmente un mililitro de cada sobrenadante posterior a la centrifugación, se filtró en membrana millipore de 0.2µm de diámetro.

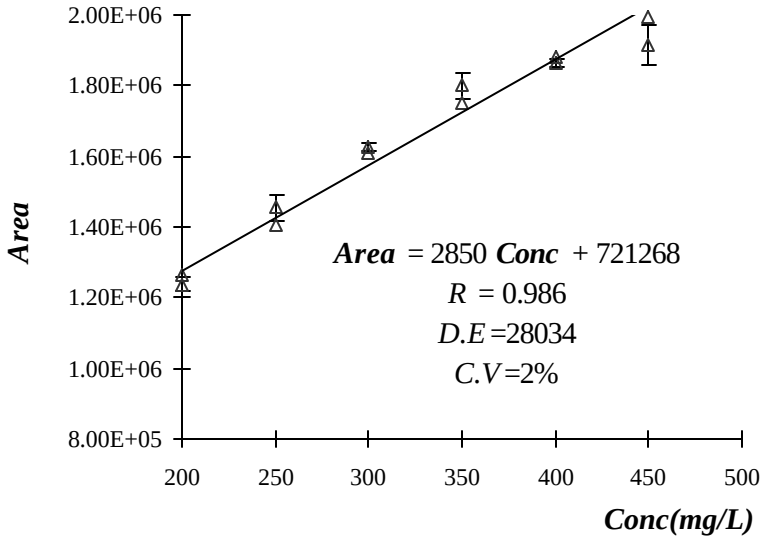


Fig. 4.20. Curva estándar utilizada en la cuantificación del surfactante Tritón X-100 por HPLC

La ecuación con la cual se determinó la concentración en base seca inicial del surfactante en la composta fue:

$$g_{surf} = \frac{Csurf \cdot V_{ext} \cdot PMS}{W_{hum}\left(1-\frac{\Re}{100}\right)} \cdot 1000 \text{ - - - - - - - - - (4.24)}$$

Donde *Csurf* es la concentración del surfactante en el extracto medida mediante HPLC.

VII. HTPs y fraccionamiento.

Los HTPs residuales en el proceso de composteo, se determinaron mediante el procedimiento descrito en la sección ***4.5.1*** (método 3540 de la EPA con cuantificación gravimétrica). La ecuación con que se determinó la concentración en base seca inicial de los HTPs en la composta fue:

$$g_{HTPs} = \frac{1000\left(W_{RES+ch} - W_{ch}\right)PMS}{W_{hum}\left(1-\frac{\Re}{100}\right)} - g_{surf} \text{ - - - - - - - - (4.25)}$$

También se realizó el fraccionamiento de las muestras, de acuerdo al procedimiento descrito en la sección ***4.5.2***. Las ecuaciones con que se estimaron cada una de las fracciones fueron las mismas que las 4.14 y 4.20 con las siguientes modificaciones:

El término W_{SCT}, fue sustituido por W_{MS} (peso seco de la muestra del material de composta) el cual se estimó mediante:

$$W_{MS} = W_{hum}\left(1-\frac{\Re}{100}\right) \text{ - - - - - - - - (4.26)}$$

El término $\boldsymbol{h}_{surf}$, fue sustituido por $\boldsymbol{y}_{surf}$ (concentración en base seca del surfactante en la composta), este último se estimó mediante:

$$y_{surf} = \frac{C_{surf} \cdot V_{ext}}{W_{MS}} \text{ - - - - - - - - (4.27)}$$

Debe hacerse notar que $\boldsymbol{h}_{surf}$, es un valor constante que sirvió para las diferentes determinaciones en la construcción de las curvas de lavado, mientras que ψ_{surf} es un valor función del tiempo e inversamente proporcional a este (debido a que hay un consumo del surfactante durante el composteo).

4.7.4 Determinación de las cinéticas de gases y temperatura

Las ***cinéticas de gases*** (CO_2 y O_2) se determinaron a la salida de cada reactor (***Fig.4.21***). Para poder llevar a cabo la cuantificación, se utilizó un metabolímetro desarrollado en la UAM- Iztapalapa (Planta Piloto de Fermentaciones) que consta de los siguientes elementos:

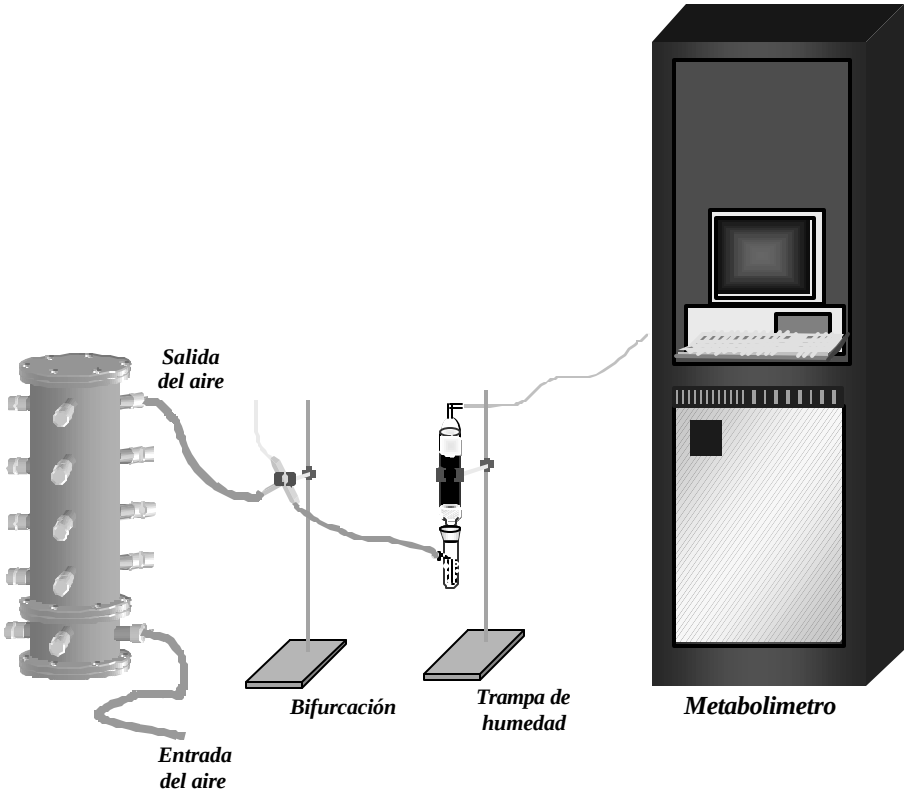


Fig.4.21. Sistema empleado para la toma de datos, en la cinética de gases

Medidor de flujo de la mezcla de gases: Neumotacómetro (Hans Rudolf Inc. 8300A) su principio de funcionamiento se basa en detectar la diferencia de presión que se crea en el flujo de gases al pasar por una malla muy fina, la diferencia de presión se convierte en una señal eléctrica proporcional al flujo de gases.

Detector de CO_2: Espectrofotómetro de absorción en infrarrojo (Servomex 1505). Su principio de funcionamiento se basa en detectar la diferencia de presión que se produce en un diafragma que separa dos cámaras una de medición y una de referencia, la diferencia de presión se relaciona con la diferencia

de concentraciones de CO_2 entre el gas de referencia y el gas medido y se convierte en una señal eléctrica proporcional a la concentración de CO_2 en el gas medido.

Detector de O_2: Paramagnético (Servomex 1111/000) Su principio de funcionamiento se basa en que las moléculas de oxígeno se orientan cuando al gas se le aplica un campo magnético, el sensor consta de una varilla con sendas esferas en los extremos suspendida en un campo magnético dentro de una cámara que se sella cuando entra el gas medido de tal forma que la varilla es empujada fuera del campo con una fuerza de torque proporcional a la concentración de O_2 en la muestra, para contrarrestar este torque el sistema genera una corriente de retroalimentación proporcional al torque y se mide por un voltaje de salida proporcional.

El sistema posee una computadora provista de un programa, desarrollado también en la UAM-Iztapalapa, que permite realizar la calibración automática de los detectores, la programación de la frecuencia de los análisis, y el almacenamiento de forma continua de los resultados de hasta 11 muestras de flujo de gases; de las cuales únicamente fueron empleadas 2 por composteo. La calibración se realizó cada 4 horas mediante el suministro de flujos de N_2 y de una mezcla de concentraciones conocidas de CO_2 y O_2. El programa es capaz de almacenar en una base de datos los análisis de CO_2 y O_2 en forma de por ciento v/v, así como el flujo de gas en ml/ min.

En los dos procesos de composteo, el análisis de resultados en las cinéticas de gases, se hizo de acuerdo a la metodología descrita por Saucedo y Trejo (1994). Basándose en los datos almacenados de los porcentajes de CO_2 y O_2, así como en el flujo total a la salida de cada reactor, se determinaron tasas de producción de CO_2 y consumo de O_2 por gramo de materia seca inicial, las cuales fueron estimadas por las siguientes ecuaciones:

$$G_{CO2} = \frac{dCO_2}{MSI \cdot dt} \equiv \left[\frac{mgCO_2}{h \cdot gMSI}\right] = 60 \cdot \frac{Qi \cdot f_{CO2}}{W_{MSI}} \left(\frac{P \cdot M_{CO2}}{R \cdot T}\right) \text{- - - - - - - - (4.28)}$$

$$G_{O2} = -\frac{dO_2}{MSI \cdot dt} \equiv \left[\frac{mgO_2}{h \cdot gMSI}\right] = 60 \cdot \frac{Qi \cdot (0.21 - f_{O2})}{W_{MSI}} \left(\frac{P \cdot M_{O2}}{R \cdot T}\right) \text{- - - - - - - - (4.29)}$$

El área bajo la curva en las gráficas de G_{CO2} y G_{O2} contra el tiempo, representa el CO_2 producido y/o O_2 consumido por gramo de materia seca inicial ($mgCO_2$/gMSI y mgO_2/gMSI). Estos valores se estimaron utilizando el método del trapecio (***Fig.4.22***).

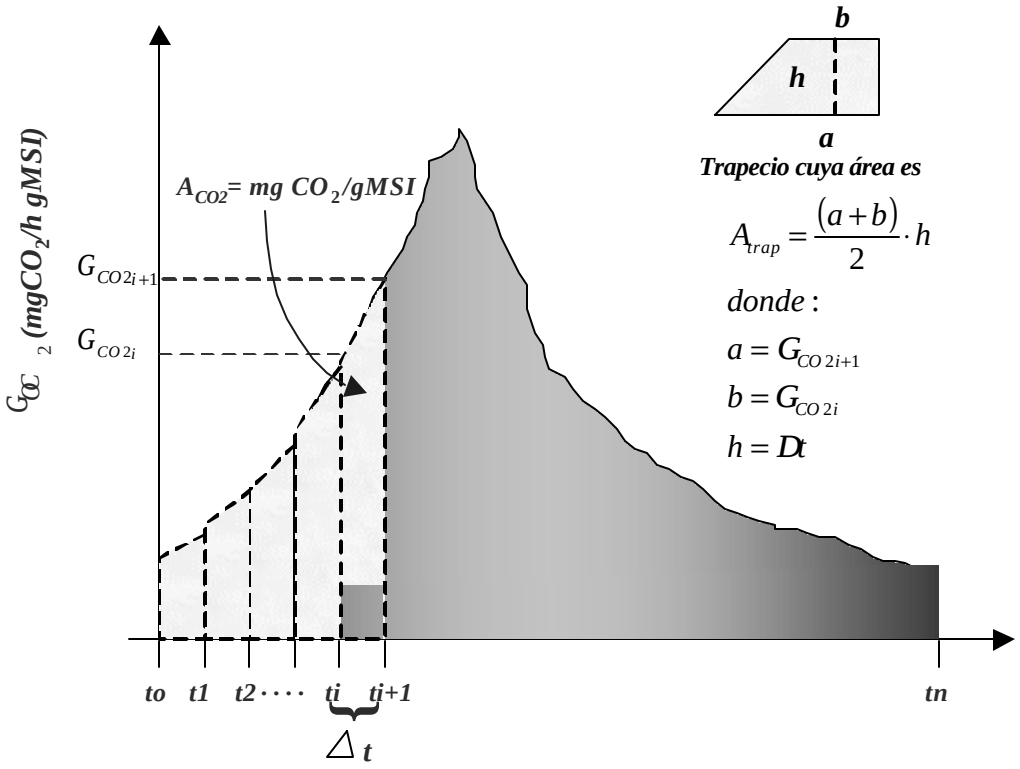


Fig.4.22.Método del trapecio utilizado para estimar los valores de A_{CO2} y A_{O2}

Con las ecuaciones:

$$A_{CO2} = \frac{mg \cdot CO_2}{gMSI} = \sum_{i=0}^{n} [G_{CO2\,i} + G_{CO2\,i+1}] \cdot \frac{(t_{i+1} - t_i)}{2} \quad \text{- - - - - - - - (4.30)}$$

$$A_{O2} = \frac{mg \cdot totO_{2\,tot}}{gMSI} = \sum_{i=0}^{n} [G_{O2\,i} + G_{O2\,i+1}] \cdot \frac{(t_{i+1} - t_i)}{2} \quad \text{- - - - - - - - (4.31)}$$

Para las cinéticas de temperatura en cada una de las compostas, la toma de datos se determinó en seis diferentes puntos (***Fig.4.23***): altura media y radio centro del reactor (***hmro***), altura media y radio

pared del reactor (***hmrp***), a la entrada y salida del reactor (***ER*** y ***SR*** respectivamente), al centro de la cámara del control de temperatura (***Tcam***) y al exterior de la cámara (***Tamb***).

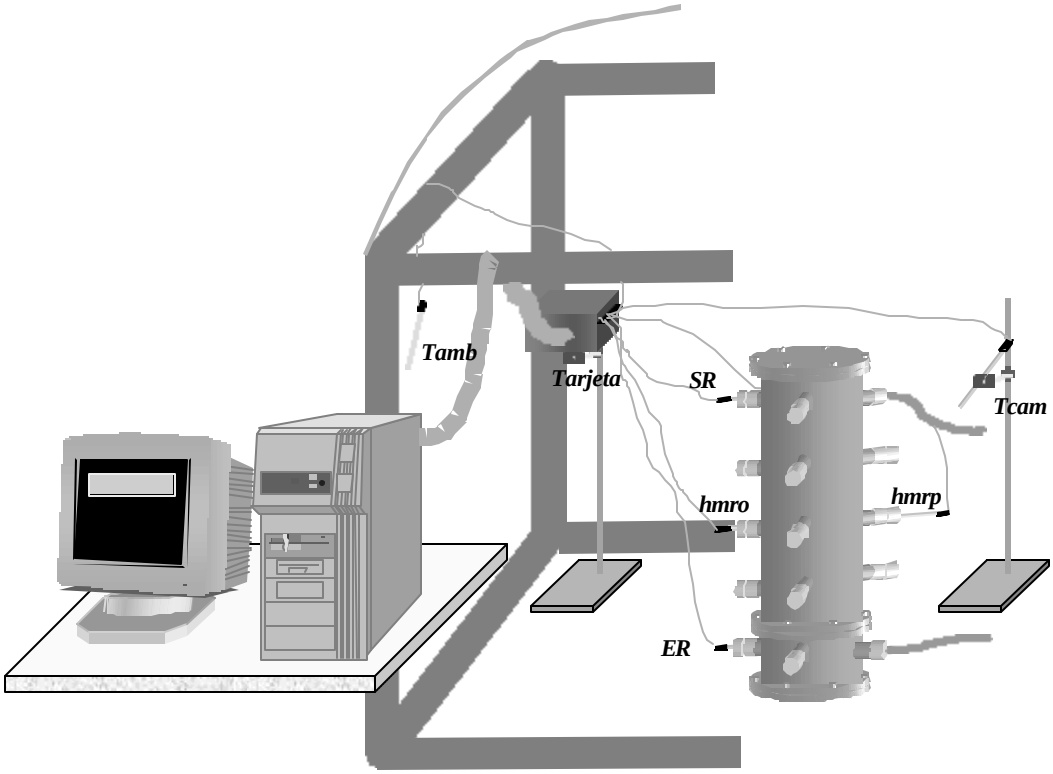


Fig.4.23. Sistema empleado para la toma de datos, en la cinética de temperatura

Para el seguimiento de la temperatura, se utilizó un sistema de sensores de temperatura de 6" de longitud por ¼" de diámetro, pertenecientes a la familia AD590 (dispositivos analógicos de material semiconductor). Junto con los sensores se dispuso de una tarjeta compatible para PC, que permitió convertir las señales analógicas tomadas por los sensores, en señales digitales, y así permitir la captura de datos. También se contó con un programa que llevaba a cabo la autocalibración de los sensores, así como su almacenamiento en una base de datos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 DETERMINACIÓN DE PARAMETROS PARA LA SORCIÓN DEL SURFACTANTE EN EL SUELO EN ESTUDIO

Para determinar la constante de saturación del surfactante en el suelo en estudio ($Q_{máx}$), se realizaron dos experimentos. En el primero, se construyó una isoterma de sorción, variándose la concentración del surfactante, manteniéndose constante la relación suelo/solución micelar. Los datos obtenidos se ajustaron a un modelo con el que se determinaron los valores de una constante de afinidad y de saturación. En el segundo experimento, se construyó una isoterma de sorción variándose la relación suelo/solución micelar, manteniéndose constante la concentración de surfactante. Los datos obtenidos, se ajustaron a una recta con lo que se determinó únicamente el valor de la constante de saturación. El uso de dos técnicas para la determinación de $Q_{máx}$, permitió: *i*) tener un modelo capaz de predecir los valores de sorción del surfactante a bajas concentraciones y *ii*) corroborar que la constante de saturación es independiente de la *Csurf* y la relación W_{suelo}/V_{mic}.

Con el valor de $Q_{máx}$ junto con el de la *CMC* del surfactante, se establecen los parámetros de la CMC_{suelo} y la *Csurf* para el primer lavado, esto mediante las ecuaciones:

$$CMC_{suelo} = Q_{máx}\left(\frac{W_{suelo}}{V_{mic}}\right) + CMC \quad \text{- - - - - - - - (5.1)}$$

$$Csurf = Q_{\text{máx}}\left(\frac{W_{suelo}}{V_{mic}}\right) + \boldsymbol{t} \cdot CMC \quad \text{- - - - - - - - (5.2)}$$

Estas ecuaciones toman en cuenta la cantidad de surfactante sorbido. La ecuación 5.1, permite determinar la concentración mínima de surfactante a la cual se forman las micelas en una suspensión suelo/solución micelar con una relación W_{suelo}/V_{mic} constante. De manera semejante, la ecuación 5.2, permite determinar la concentración de surfactante necesaria para el primer lavado en una suspensión suelo/solución micelar, como función de la CMC y para una relación W_{suelo}/V_{mic} constante.

5.1.1 Sorción en función de la concentración de surfactante

En la ***Fig.5.1***, se muestra la isoterma de sorción que se obtuvo al variar la concentración de surfactante (*Csurf*) manteniéndose constante la relación suelo solución micelar (W_{suelo}/V_{mic}). Esta se construyó gráficando la cantidad de surfactante sorbido por gramo de suelo (*Qg*) contra la concentración de surfactante en el equilibrio (*Csurf**).

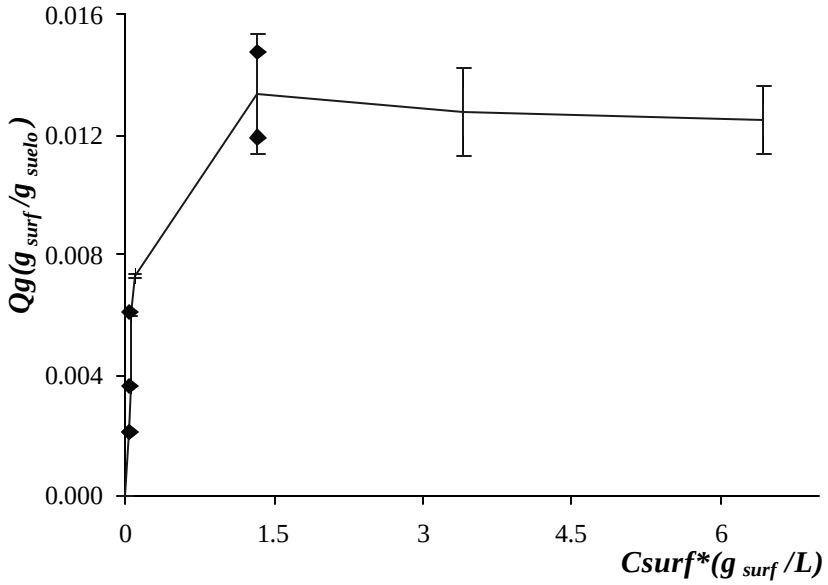


Fig. 5.1 Isoterma de Sorción de Tritón X-100 variando la *Csurf.*

En la gráfica, se observa que a partir de valores de la *Csurf** de 1.5 g surf/L, no se presentan diferencias significativas en los valores de sorción del surfactante en el suelo (*Qg*), lo cual es indicativo de la saturación. El valor promedio para la constate de saturación basándose en la gráfica de la ***Fig. 5.1*** es de 0.013 g surf/g suelo.

Keryou *et al.*, (1982), realizaron experimentos de adsorción por lotes, utilizando silicatos (simulando la arcilla del tipo montmorillonita) y tres diferentes alquilfenoletoxilatos (Tritón 130 o T130, Tritón 150 o N150 e Igepal 13 o NP13 cuya diferencia radica en la radicalización en el grupo alquilo y/o el número de alquilos que sustituyen al anillo arómatico). En sus experimentos, encontraron lo siguiente: *i*) todos los alquilfenoletoxilatos siguen comportamientos de adsorción de acuerdo a isotermas de Langmuir, *ii*) los máximos de adsorción en este tipo de experimentos a 30°C, se ubican en un intervalo de 63.36-91.74 mg surf/g silicato, *iii*) tanto el aumento en la temperatura como en el tiempo, incrementan los niveles de adsorción.

Por otra parte, Liu *et al.*, (1992), construyendo isotermas de sorción a 25°C para diferentes surfactantes no ionicos (tres de ellos los alquilfenoletoxilatos: Igepal CA-720, Tergitol NP-10 y Tritón X-100) en un suelo de naturaleza arcillosa (cuya fracción orgánica fue menor al 1%), encontraron lo siguiente: *i*) las isotermas de sorción presentan un comportamiento tipo Langmuir y *ii*) los valores de $Q_{máx}$ para cada sistema suelo/solución micelar fueron de 0.0103 g surf/g suelo para Igepal CA-720, 0.0077 g surf/g suelo para Tergitol NP-10 y 0.011 g surf/g suelo para Tritón X-100.

Este tipo de estudios, la naturaleza arcillosa del suelo estudiado y la similitud de la constante de saturación con los valores reportados, sugieren un peso muy importante en el proceso de adsorción del Tritón X-100 por parte de la fracción arcillosa del suelo, lo que lleva a pensar que a nivel monomolecular y a bajas concentraciones, existe una fuerte adsorción física favorecida por la estructura plana del grupo aromático y la parte lineal del grupo etoxilato, que promueve diferentes interacciones (fuerzas de Van der Waals, dipolo-dipolo y ión-dipolo) entre el surfactante y el suelo, como se muestra en la ***Fig. 5.2.***

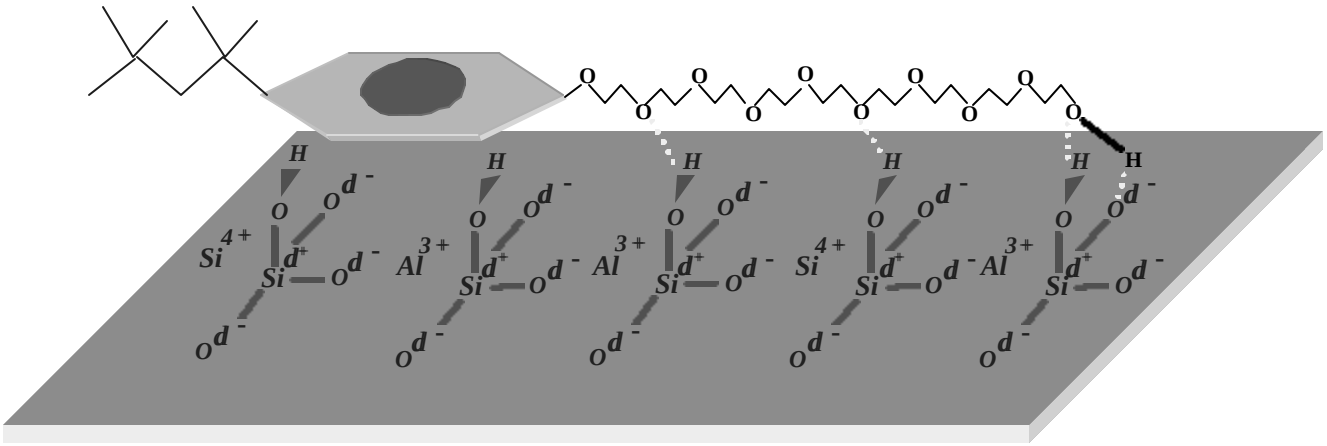


Fig.5.2. Adsorción física del TX-100 en la arcilla del suelo en estudio

Una cuestión importante que surge debido al fenómeno de adsorción del surfactante es: ¿qué efecto tiene la adsorción del surfactante en el suelo con respecto a la formación de las micelas?. Para responder esta pregunta, se tomara como punto de partida la forma de la isoterma mostrada en la ***Fig. 5.1***, la cual sugiere ser del tipo Langmuir, por lo que se empleara su fundamento teórico, suponiéndose que en solución el surfactante es adsorbido superficialmente por el suelo.

De acuerdo a Langmuir, a bajas concentraciones, cada molécula de surfactante que colisiona con la superficie del suelo, queda adsorbida al lugar que puede ocupar, pero al aumentar la concentración cabe

esperar que resulten adsorbidas aquellas moléculas que inciden en alguna parte de la superficie no cubierta todavía, es decir, la adsorción inicial de las moléculas sobre la superficie es más elevada y decrece conforme disminuye la superficie libre disponible. Por otra parte, una molécula adsorbida en la superficie, es capaz de liberarse al seno de la solución. La desorción dependerá a su vez de la superficie cubierta, aumentando hasta alcanzarse la saturación. Los fenómenos de adsorción y desorción alcanzan un momento en que se hacen iguales, es decir llegan al equilibrio. En la ***Fig. 5.3***, se muestra un modelo gráfico que describe el efecto de los fenómenos de adsorción-desorción sobre la *CMC*. Para el desarrollo del modelo es necesario definir los siguientes términos:

-***q***: Fracción de la superficie del suelo (adsorbente) cubierta por el surfactante (adsorbato).

-***N***: Número total de espacios disponibles para el surfactante en la superficie del suelo.

-*Csurf*: Concentración de la solución de surfactante.

-*Csurf********: Concentración del surfactante en equilibrio

-*1-****q***: Fracción de la superficie del suelo no cubierta por el surfactante.

-*Vs*: Velocidad de adsorción.

-*Vd*: Velocidad desorción.

Además, el modelo considera las siguientes condiciones: *i*) el proceso es isotérmico, *ii*) la *CMC* a la temperatura del proceso es de 8 moléculas por unidad de volumen, *iii*) existe una gran afinidad entre el adsorbato (surfactante) y el adsorbente (suelo) y *iv*) la relación W_{suelo}/V_{mic} es constante, teniéndose una cantidad de suelo con una ***N***=10 moléculas de surfactante por unidad de volumen, donde ***l*** es el número de moléculas adsorbidas por unidad de volumen y t_{eq} es el tiempo en que se alcanza el equilibrio.

Cuando la *Csurf*<*CMC* (***Fig. 5.3 I*** y ***5.3.II***), el surfactante es adsorbido↔desorbido hasta alcanzar el equilibrio (*Csurf**), sin embargo por debajo del *CMC* no se alcanza a saturar el suelo (***l***<***N***). Debido a la gran afinidad de las moléculas de surfactante por la superficie del suelo, la mayoría del adsorbato queda adsorbido (***l***>*Csurf**).

Para cuando la *Csurf*=*CMC* (***Fig. 5.3.III***), la solución al inicio (t=0) contiene al surfactante en forma de micelas. Sin embargo pasado un tiempo (t>0), estas micelas comienzan a disgregarse para que el surfactante en forma unimolecular entre al proceso de adsorción↔desorción, hasta alcanzar el equilibrio. Todavía a esta concentración no se alcanza a saturar el suelo (***l***<***N***) y en forma similar la mayoría del surfactante queda adsorbido (***l***>*Csurf**).

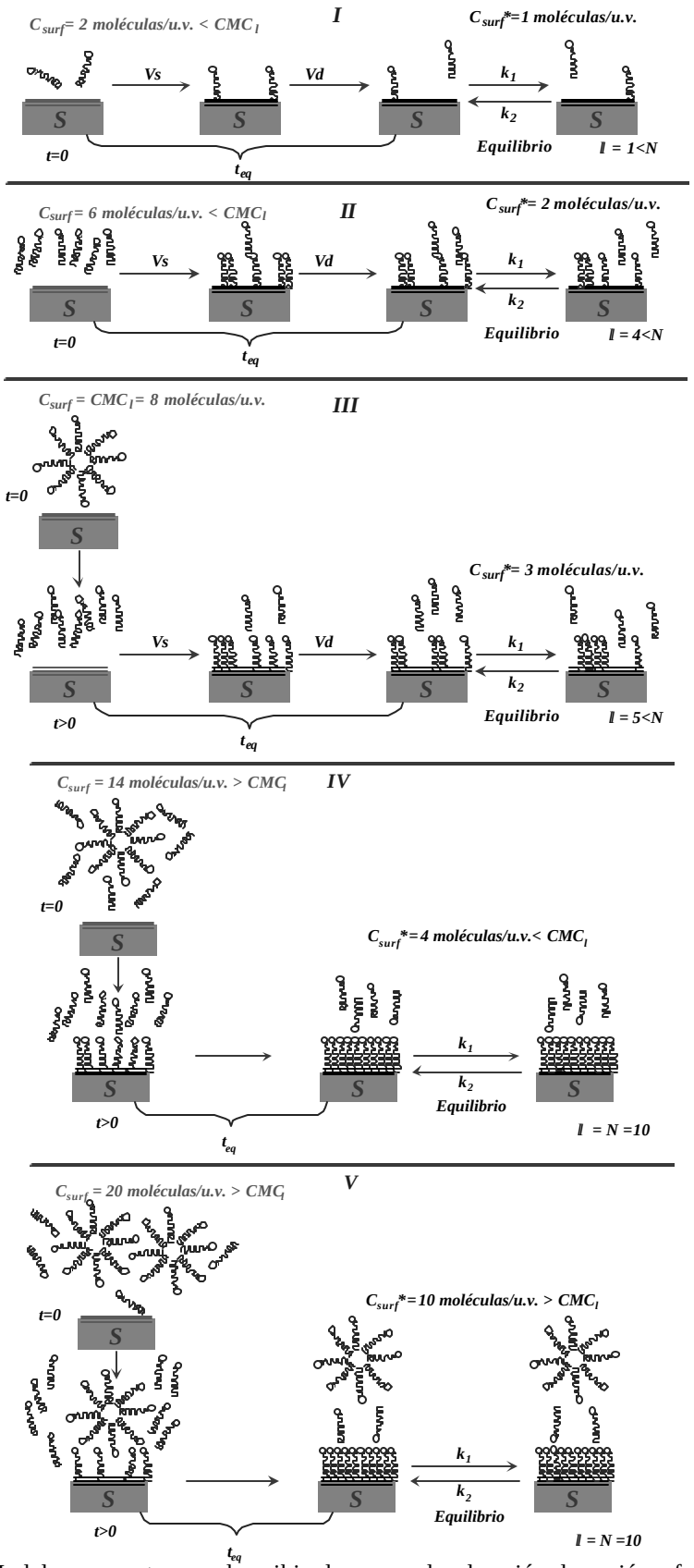


Fig.5.3. Modelo propuesto para describir el proceso de adsorción-desorción y formación de micelas de un surfactante no iónico en presencia de suelo.

Para cuando la *Csurf*>*CMC* (***Fig. 5.3.IV*** y ***5.3.V***) y al ir aumentando la concentración, se llegara a una concentración tal en que se alcanzara la saturación del adsorbente (suelo) por el adsorbato (surfactante), es decir ***I=N.*** Sin embargo si la *Csurf* no es lo suficientemente grande en el seno de la solución, la *Csurf**<CMC y no habrá formación de micelas (***Fig.5.3.IV***). Si seguimos aumentando la concentración, finalmente saturaremos al adsorbente y llegaremos a una *Csurf**≥CMC con lo cual habrá formación de micelas, que es la única forma en que el surfactante desorbe a los hidrocarburos presentes en un suelo contaminado.

Entendido el proceso de adsorción↔desorción del surfactante en el suelo, así como su relación con el CMC, es posible establecer matemáticamente un modelo capaz de predecir este fenómeno.

La velocidad de adsorción (*Vs*), puede verse como el aumento con respecto al tiempo de la fracción cubierta del adsorbente por el adsorbato. Cinéticamente, esta velocidad será directamente proporcional a la concentración del adsorbato (*Csurf*), así como del número de espacios disponibles (***N***(1-θ)) que pueden ser ocupados por el adsorbato, se puede escribir:

$$Vs = \frac{dq}{dt} = k_1 N(1-q)Csurf \quad \text{- - - - - - - -} \quad (5.3)$$

Por otra parte la velocidad de desorción(*Vd*), es la disminución con respecto al tiempo de la fracción cubierta del adsorbente. Cinéticamente, esta velocidad será directamente proporcional al número de espacios cubiertos (***N***θ) por el adsorbato:

$$Vd = -\frac{dq}{dt} = k_2 Nq \quad \text{- - - - - - - -} \quad (5.4)$$

En el equilibrio ambas velocidades son iguales por lo que igualando 5.3 y 5.4:

$$k_1 N(1-q)Csurf* = k_2 Nq \quad \text{- - - - - - - -} \quad (5.5)$$

Resolviendo para ***q*** se obtiene:

$$q = \frac{k_1 Csurf*}{k_2 + k_1 Csurf*} \quad \text{- - - - - - - -} \quad (5.6)$$

Multiplicando la ecuación (5.6) por $1 = \frac{1/k_2}{1/k_2}$ y definiendo:

$$\frac{1}{K_{af}} = \frac{k_1}{k_2} \text{ - - - - - - - - (5.7)}$$

Donde K_{af} corresponde a la constante de afinidad entre el surfactante y el suelo, la ecuación (5.7) queda como:

$$\boldsymbol{q} = \frac{Csurf^*}{K_{af} + Csurf^*} \text{ - - - - - - - - (5.8)}$$

La ecuación 5.8 corresponde a la expresión de Langmuir, en la cual se tiene a la fracción c ubierta de la superficie del suelo como una función de la concentración del surfactante en solución en equilibrio con la fase líquida.

La cantidad de surfactante adsorbido por unidad de suelo (Qg), dependerá en forma directamente proporcional de θ y tendrá un valor límite máximo ($Q_{máx}$), así cuando $Qg = Q_{máx}\ \boldsymbol{q}$ es decir:

$$Qg = Q_{máx}\frac{Csurf^*}{K_{af} + Csurf^*} \text{ - - - - - - - - - (5.9)}$$

Mediante la ecuación (5.9), es posible predecir la cantidad de surfactante adsorbido por unidad en peso de suelo como función de la $Csurf^*$. Para usar esta expresión es necesario determinar los parámetros $Q_{máx}$ y K_{af}, los cuales se pueden obtener linearizando la ecuación (5.9) de la siguiente manera:

$$\frac{Csurf^*}{Qg} = \left(\frac{1}{Q_{máx}}\right)Csurf^* + \left(\frac{K_{af}}{Q_{máx}}\right) \text{ - - - - - - - - (5.10)}$$

La cual corresponde a una gráfica de $Csurf^*/Qg$ contra $Csurf^*$, cuya pendiente (m) y ordenada (b) al origen son:

$$m = \left(\frac{1}{Q_{\text{máx}}}\right) \text{ - - - - - - - - (5.11)} \quad ; \quad b = \left(\frac{K_{af}}{Q_{\text{máx}}}\right) \text{ - - - - - - - - (5.12)}$$

Las ecuaciones (5.11) y (5.12), corresponden a un sistema de dos ecuaciones con dos incógnitas, que al resolverse, produce los parámetros buscados. Aplicando esta linearización a los datos experimentales de la ***Fig.5.1***, como se muestra en la ***Tabla 5.1***, se obtiene la gráfica mostrada en la ***Fig.5.4.***

Tabla 5.1. Datos experimentales de la isoterma de sorción variando la *Csurf* (***Fig. 5.1***) y su ajuste a la ec. 5.10		
Csurf(g/L)*	*Qg(gsurf/gsuelo)*	*Csurf*/Qg*
0.0379	0.00209	18.18
0.0397	0.00207	19.15
0.0401	0.00605	6.63
0.0423	0.00364	11.62
0.0434	0.00364	11.95
0.0534	0.00594	8.98
0.0836	0.00730	11.45
0.0904	0.00724	12.48
1.1555	0.01469	78.69
1.5084	0.01188	127.01
3.2725	0.01375	237.94
3.5372	0.01165	303.70
6.3378	0.01323	478.90
6.5363	0.01165	560.86

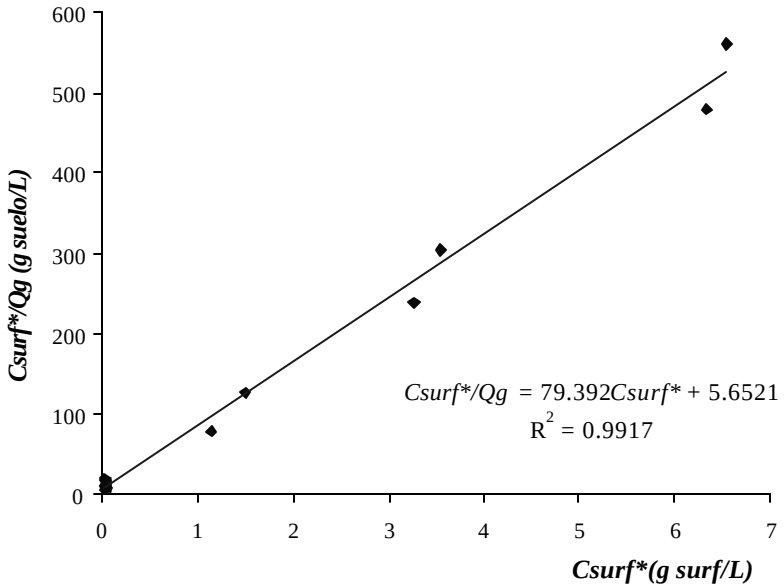


Fig.5.4. Linearización para la determinación de los parámetros K_{af} y $Q_{máx}$. ♦ Datos, ── Ajuste.

Resolviendo el sistema de ecuaciones (5.11) y (5.12), para $m=1/Q_{máx}$=79.392 g suelo/g surf y b=K_{af} /$Q_{máx}$=5.6521 g suelo/L, obtenemos lo valores de los parámetros:

$$Q_{máx}=0.0126\text{g surf/g suelo}$$

$$K_{af}= 0.0712 \text{ g surf/L}$$

Con estos valores, sustituyéndolos en la ecuación (5.9) se obtiene la expresión que permite predecir la cantidad de surfactante no iónico Tritón X-100 adsorbido por unidad en peso de suelo.

$$Qg = 0.0126\frac{Csurf\ *}{0.0712 + Csurf\ *} \text{- - - - - - - -} \quad (5.13)$$

En la ***Fig.5.5***, se muestra el ajuste con los datos experimentales para la isoterma de Langmuir en el proceso de adsorción del Tritón X-100 en el suelo.

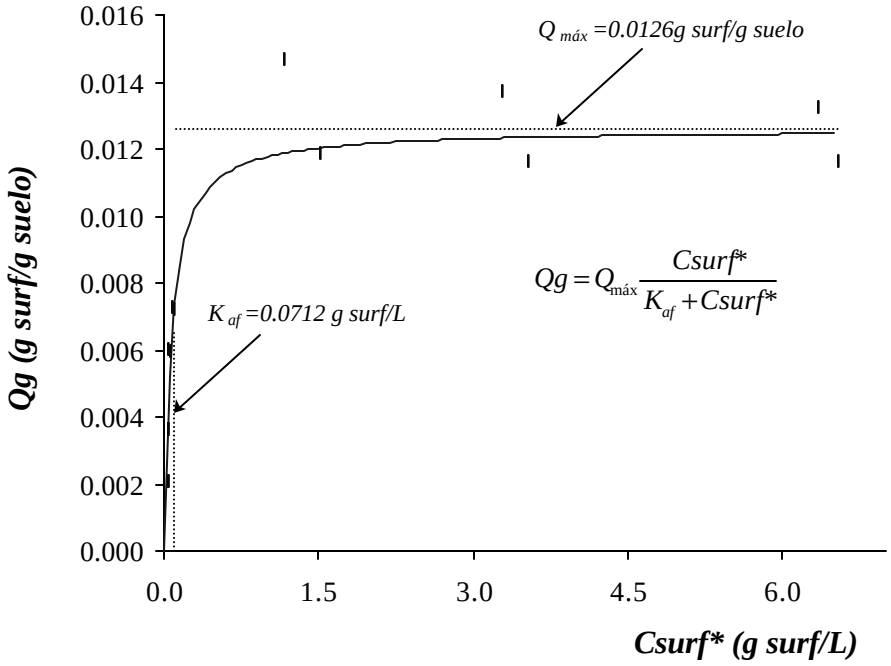


Fig.5.5. Ajuste a la isoterma de Langmuir, en el sistema Tritón X-100 y suelo. ♦ Datos, ⎯⎯ Ajuste.

El hecho de que el valor de la constante de afinidad (K_{af}) sea menor al de la *CMC*, es indicativo de la gran adsorción del surfactante por el suelo a bajas concentraciones, es decir el equilibrio esta desplazado al complejo adsorbato-adsorbente.

En este fenómeno de adsorción, pueden presentarse dos fenómenos codependientes (Giles *et al.*, 1960): *i*) poca competencia entre el solvente (agua) y el adsorbato (surfactante) por los sitios disponibles del adsorbente (suelo) y *ii*) debido a la planaridad y/o linearidad de la molécula de adsorbato, esta se alinea paralela a la superficie aumentando el área de contacto y con esto la probabilidad de adsorberse físicamente, tal y como se había supuesto.

5.1.2 Sorción en función de la relación suelo solución micelar

De acuerdo al comportamiento de la isoterma mostrada en la sección anterior, el surfactante Tritón X-100 muestra un máximo de adsorción ($Q_{máx}$), lo cual indica que la cantidad de surfactante adsorbido por unidad en masa de suelo (*Qg*), es independiente de la *Csurf* cuando esta concentración es mucho mayor a la *CMC* (*Csurf>>CMC*). Bajo estas condiciones de saturación, tenemos que $\theta=1$, por lo que la proporción en la cantidad de surfactante sorbido (C_{sorb}= *Csurf-Csurf**), es directamente proporcional al incremento en peso del suelo presente en la suspensión suelo-solución micelar. Basados en este principio, $Q_{máx}$ se estimó a partir de la ecuación 4.3 de material y métodos, la cual es una recta de C_{sorb} contra W_{suelo}/V_{mic}. En la ***Tabla 5.2***, se muestran los datos experimentales de la isoterma de sorción que se ajustaron a la recta, mientras que en la ***Fig.5.6*** se muestra el ajuste.

Tabla 5.2. Datos experimentales del proceso de sorción variando la relación suelo/solución micelar

W_{suelo}/V_{mic} *(g suelo/L)*	C_{sorb} *(g surf/L)*
0	0.0000
0	0.0000
20	0.1628
20	0.3148
60	0.4043
60	0.6190
100	1.2093
100	0.9589
140	1.3077
140	1.5313
180	1.6923
180	1.9249

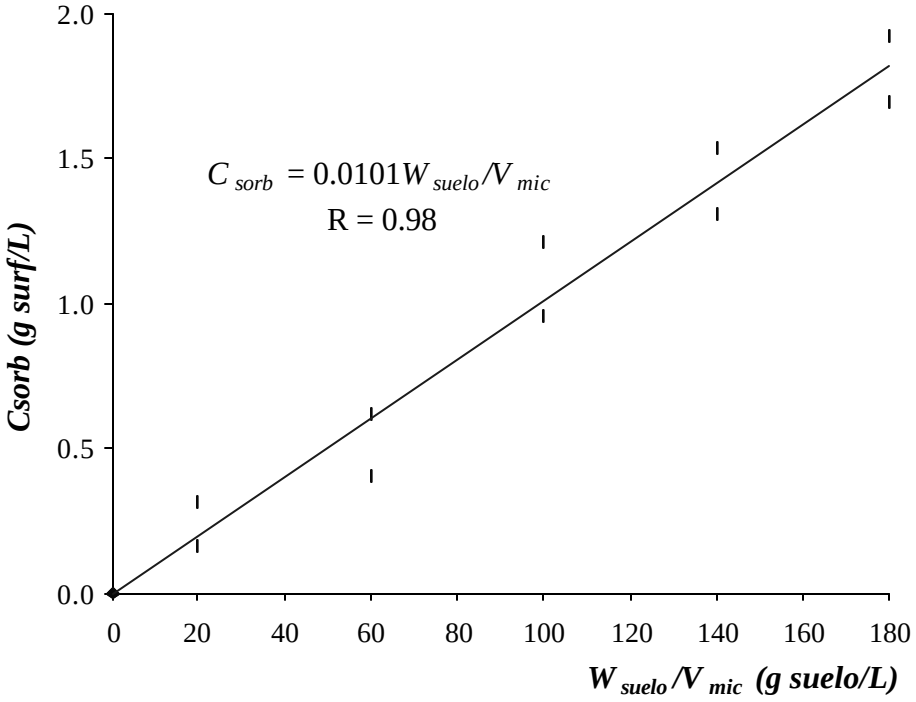


Fig.5.6. Isoterma de sorción del Tritón X-100, variando la W_{suelo}/V_{mic} ♦ Datos, ── Ajuste.

Basándose en el ajuste, el valor estimado de $Q_{máx}$ es de 0.0101g surf/g suelo. Utilizando la misma metodología, se ha determinado la constante de saturación de diferentes surfactantes no iónicos (principalmente alquiletoxilatos y alquilfenoletoxilatos) en diferentes tipo de suelos con fracciones orgánicas menores al 4%p/p (Valoras *et al.*, 1969; Edwards *et al.*, 1994***b***). En este tipo de trabajos, la magnitud de adsorción se encuentra en el orden de 10^{-3} a 10^{-2} g surf/g suelo.

La similitud entre los valores de $Q_{máx}$ (0.0126 y 0.0101 g surf/g suelo), determinados por dos métodos diferentes, muestran la independencia de este parámetro con respecto a la concentración de surfactante y/o la relación suelo/solución micelar empleados.

5.1.3 Parámetros fisicoquímicos para el lavado

En la ***Tabla5.3***, se muestran las constantes fisicoquímicas consideradas para el lavado del suelo c on el surfactante no iónico Tritón X-100.

Tabla 5.3. Constantes fisicoquímicas considerados para el lavado del suelo en estudio
$K_{af} = 0.0763 g_{surf} / L$ *constante de afinidad*
$Q_{máx} = 0.0114 \pm 0.002 g_{surf} / g_{suelo}$ *constante de saturación*
$CMC = 0.11 g_{surf} / L$ *concentración micelar critica*

El valor de la constante de saturación, es el promedio de las dos $Q_{máx}$ determinadas antes. Tanto el valor de esta constante como el de la concentración micelar critica son necesarios para determinar los parámetros CMC_{suelo} y la $Csurf$ para el primer lavado. Substituyendo los valores de las constantes, en las ecuaciones 5.1y 5.2, se obtiene:

$$CMC_{suelo} = 0.0114\left(\frac{W_{suelo}}{V_{mic}}\right) + 0.11 \text{ - - - - - - - - (5.14)}$$

$$Csurf = 0.0114\left(\frac{W_{suelo}}{V_{mic}}\right) + \boldsymbol{t} \cdot 0.11 \text{ - - - - - - - - (5.15)}$$

Las ecuaciones (5.14) y (5.15), son exclusivas del sistema Tritón X-100 y el suelo en estudio. La ecuación 5.13, se utilizó para determinar la concentración de surfactante en el primer lavado para los estudios de las condiciones de lavado, como en la construcción de las curvas de lavado.

5.2 CONDICIONES DE LAVADO

La concentración del surfactante, el tiempo de lavado y la agitación, son variables de gran importancia en el lavado de suelos, ya que están directamente relacionadas con la capacidad del surfactante para desorber y emulsificar a los hidrocarburos de un suelo intemperizado. Hasta este momento, se han llevado a cabo pocos estudios que indiquen de manera clara el efecto de la agitación y el tiempo de lavado en la desorción y emulsificación de hidrocarburos (Edwards *et al.*, 1994***b***).

5.2.1 Concentración de surfactante y tiempo de lavado

La concentración de surfactante (*Csurf*) y el tiempo de lavado (*tl*), se determinaron basándose en los datos de DQO_{Hidr} y su análisis estadístico. En las ***Tablas 5.4*** y ***5.5***, se presentan los datos experimentales en la demanda química de oxígeno de los hidrocarburos desorbidos y emulsificados ($\boldsymbol{DQO_{Hidr}}$), para los dos factoriales realizados: con agitación y sin agitación. En ambos casos, los datos se obtuvieron mediante un balance de ***DQO*** de acuerdo a la ecuación (4.5) de material y métodos.

Tabla 5.4 DQO_{Hidr} (mg/L) AGITACIÓN			
INTERACCIÓN	***DQO_{Hidr} I***	***DQO_{Hidr} II***	***DQO_{Hidr} III***
$\boldsymbol{Csurf_1*tl_1}$	11.61	14.84	10.00
$\boldsymbol{Csurf_1*tl_2}$	26.13	22.90	29.35
$\boldsymbol{Csurf_1*tl_3}$	22.58	16.13	22.58
$\boldsymbol{Csurf_2*tl_1}$	103.23	119.35	119.35
$\boldsymbol{Csurf_2*tl_2}$	345.16	329.03	361.29
$\boldsymbol{Csurf_2*tl_3}$	258.06	225.81	225.81
$\boldsymbol{Csurf_3*tl_1}$	174.19	141.94	141.94
$\boldsymbol{Csurf_3*tl_2}$	464.52	432.26	496.77
$\boldsymbol{Csurf_3*tl_3}$	1064.52	1064.52	1096.77

Tabla 5.5 DQO_{Hidr} (mg/L) SIN AGITACIÓN		
INTERACCIÓN	***DQO_{Hidr} I***	***DQO_{Hidr} II***
$\boldsymbol{Csurf_1*tl_1}$	14.52	10.48
$\boldsymbol{Csurf_1*tl_2}$	11.29	12.10
$\boldsymbol{Csurf_1*tl_3}$	12.10	8.87
$\boldsymbol{Csurf_2*tl_1}$	88.71	79.03
$\boldsymbol{Csurf_2*tl_2}$	98.39	106.45
$\boldsymbol{Csurf_2*tl_3}$	59.68	96.77
$\boldsymbol{Csurf_3*tl_1}$	54.84	64.52
$\boldsymbol{Csurf_3*tl_2}$	138.71	96.77
$\boldsymbol{Csurf_3*tl_3}$	258.06	225.81

En la primera columna de cada tabla, se indica la interacción de los factores (o variables independientes), mientras que en las columnas de la derecha, se muestran los valores de $\boldsymbol{DQO_{Hidr}}$ para cada una de las repeticiones (3 en el factorial con agitación y 2 en el estático). Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis estadístico con la ayuda del paquete computacional *SAS* (*Statistical Analysis System*).

El modelo lineal seguido para ambos factoriales fue el siguiente:

$$\boldsymbol{d}_{ijp} = m + \boldsymbol{j}_i + \boldsymbol{J}_j + (\boldsymbol{j}\,\boldsymbol{J})_{ij} + \boldsymbol{x}_{ijp} \text{ - - - - - - - - (5.16)}$$

i = 1,2,3 Niveles Csurf
j = 1,2,3 Niveles tl
p = 1,2,3 Número de repetición

Las pruebas de hipótesis, para cada uno de los factores así como para la interacción fueron:

Para la variable *Csurf*:

Ho: En los 3 niveles de la *Csurf* experimentados, la desorción-emulsificación promedio de hidrocarburos es la misma.

Ha: Al menos en uno de los 3 niveles de la *Csurf* experimentados, la desorción-emulsificación promedio de hidrocarburos difiere.

Para la variable *tl*

Ho: En los 3 niveles del *tl* experimentados, la desorción y emulsificación-promedio de hidrocarburos es la misma.

Ha: Al menos en uno de los 3 niveles del *tl* experimentados, la desorción-emulsificación promedio de hidrocarburos difiere.

Para la interacción de las variables $Csurf_i * tl_j$

Ho: No hay efecto de la interacción $Csurf_i * tl_j$, sobre la desorción-emulsificación de hidrocarburos.

Ha: Hay efecto de la interacción $Csurf_i * tl_j$, sobre la desorción y emulsificación-hidrocarburos.

En las ***Tablas 5.6*** y ***5.7***, se muestran las ANOVAS obtenidas mediante el paquete computacional (SAS), para ambos factoriales.

Tabla 5.6 *ANOVA para el factorial CON AGITACIÓN*

Variable dependiente: DQO

Fuente de Variación	***Grados de libertad***	***Suma de cuadrados***	***Cuadrados medios***	***Valor de F***	***Pr > F (a)***
Modelo	8	2757712.0593	344714.0074	1260.85	**0.0001**
Csurf	2	1356417.5405	678208.7702	2480.66	**0.0001**
tl	2	555442.3884	277721.1942	1015.81	**0.0001**
*Csurfi*tlj*	4	845852.1304	211463.0326	773.46	**0.0001**
Error	18	4921.1716	273.3984		
Corrección Total	26	2762633.2309			

Tabla 5.7 *ANOVA para el factorial SIN AGITACIÓN*

Variable dependiente: DQO

Fuente de Variación	***Grados de libertad***	***Suma de cuadrados***	***Cuadrados medios***	***Valor de F***	***Pr > F (a)***
Modelo	8	85215.281578	10651.910197	43.05	**0.0001**
Csurf	2	49895.26321	24947.63161	100.82	**0.0001**
tl	2	10217.81381	5108.90691	20.65	**0.0004**
*Csurfi*tlj*	4	25102.20456	6275.55114	25.36	**0.0001**
Error	9	2226.992600	247.443622		
Corrección Total	17	66921.071978			

En ambos diseños, los niveles de significancia en las ANOVAS muestran diferencias significativas para cada uno de los factores (*Csurf* y *tl*, donde la $\alpha \leq 0.0001$), así como para sus interacciones ($Csurf_i * tl_j$, donde $\alpha \leq 0.0004$) por lo que se rechazan las hipótesis nulas ***Ho***.

Para determinar en qué valores e interacciones se tiene el mayor efecto de desorción-emulsificante, se realizaron pruebas de Duncan, las cuales mostraron que en ambos experimentos, este efecto se alcanza en los niveles más altos de cada factor como en sus interacciones.

Los estudios realizados en sistemas limpios bien definidos (un solo tipo de hidrocarburo, surfactante y suelo por sistema), para observar el efecto de la *Csurf* en la distribución de hidrocarburos poliaromáticos en sistemas suelo/solución micelar (Liu *et al.*, 1991; Edwards *et al.*, 1994 ***a*** y ***b***), han demostrado que el uso de altas concentraciones del surfactante ($\geq$ 20g/L), disminuye en gran medida la

eficiencia de desorción-emulsificación. Estos trabajos también han señalado que el uso de una misma cantidad de surfactante, distribuido en un mayor número de lavados, incrementa la eficiencia de desorción-emulsificación, siempre que la *Csurf* sea mayor que la *CMC* (***Fig. 1.14*** de la revisión bibliográfica). El intervalo de concentraciones utilizadas para el Tritón X-100 fue de $1\,CMC \leq Csurf \leq 40$ CMC (0.11g/L a 4.4g/L). Mediante el análisis estadístico, se esperaba no rechazar la hipótesis nula, pues esto significaría que cualquiera de las concentraciones utilizadas tendría el mismo efecto, sin embargo, este mismo análisis demostró que no fue así, por lo que la *Csurf* usada para el lavado será de 40 CMC (4.4 g/L).

Por otra parte, el tiempo de lavado (*tl*) es el tiempo que debe proporcionarse para que se lleve a cabo la desorción-emulsificación del hidrocarburo por parte del surfactante. De manera similar que con la *Csurf*, se esperaba no rechazar la hipótesis nula pues esto significaría que cualquiera de los tiempos utilizados tendría el mismo efecto, lo cual no fue así, por lo que el *tl* usado para el lavado será de 7.5 horas.

5.2.2 Análisis del efecto de la agitación mediante superficies de respuesta

Es claro que la agitación facilita el contacto entre el hidrocarburo y el surfactante, mejorando la transferencia del primero hacia la pseudofase micelar. Con la finalidad de determinar la importancia de la agitación en el proceso de lavado, los datos obtenidos de $\boldsymbol{DQO_{Hidr}}$ para cada uno de los diseños factoriales, se ajustaron a modelos estadísticos mediante regresión lineal múltiple, con la finalidad de generar superficies de respuesta de la forma:

$$DQO_{Hidr} = f(Csurf, tl) + \varepsilon$$

Para el experimento con agitación, el modelo que mejor se ajusto a los datos fue:

$$DQO_{Hidr} = \beta_o e^{\left(b_1\sqrt{Csurf} + b_2 \cdot tl\right)} + \varepsilon \quad \text{- - - - - - - -} \quad (5.17)$$

Debe aclararse que los coeficientes β_i de este modelo, se obtuvieron del ajuste por regresión lineal múltiple de la expresión:

$$\ln DQO_{Hidr} = \ln \beta_o + \beta_1 \cdot \sqrt{Csurf} + \beta_2 \cdot tl + \varepsilon' \quad \text{- - - - - - - -} \quad (5.18)$$

Las pruebas de hipótesis hechas para este modelo fueron:

Ho: Todos los coeficientes del modelo son iguales a cero, es decir $\beta_o = \beta_1 = \beta_2 = 0$

Ha: Al menos uno de los coeficientes del modelo es diferente de cero.

Mediante el paquete computacional *SAS* (*Statistical Analysis System*), se estimó el nivel de significancia del modelo (α), el coeficiente de determinación (R^2) y los coeficientes ($\boldsymbol{bo}$, $\boldsymbol{b_1}$ y $\boldsymbol{b_2}$). Los valores se muestran en la ecuación (5.19).

$$\widehat{DQO}_{Hidr} = 1.33e^{\left(0.603\sqrt{Csurf}+0.214tl\right)}$$
$$\boldsymbol{a} = 0.0001 \qquad \text{- - - - - - - - (5.19)}$$
$$R^2 = 0.92$$

Basándose en el valor de α, la ***Ho*** se rechaza y por lo tanto hay regresión en el modelo. En lo que respecta al valor de R^2, este indica que un 92% de los datos es explicado por el modelo. Utilizando la ecuación (5.19), se generó la superficie de respuesta mostrada en la ***Fig. 5.7.***

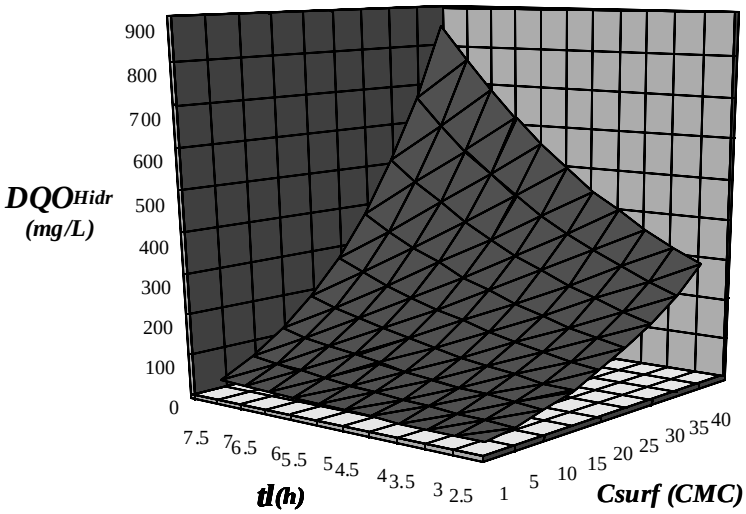


Fig.5.7. Superficie de respuesta generada con el modelo ajustado por regresión lineal múltiple a los datos del factorial con agitación

En lo que respecta al experimento sin agitación, el modelo por regresión lineal múltiple que mejor se ajustó a los datos fue:

$$DQO_{Hidr} = \boldsymbol{b}_1 Csurf + \boldsymbol{b}_2\sqrt{tl^7} + \boldsymbol{x} \text{ - - - - - - - - (5.20)}$$

Las pruebas de hipótesis hechas para el modelo fueron:

Ho: Todos los coeficientes del modelo son iguales a cero, es decir $\boldsymbol{b_1}=\boldsymbol{b_2}=0$

Ha: Al menos uno de los coeficientes del modelo es diferente de cero.

Utilizando nuevamente el paquete computacional *SAS*, se estimaron α, R^2 y los coeficientes $\boldsymbol{b_1}$ y $\boldsymbol{b_2}$. Los valores se muestran en la ecuación (5.21).

$$\widehat{DQO}_{Hidr} = 3.057 \cdot Csurf + 0.042 \cdot \sqrt{tl^7}$$
$$a = 0.0001 \qquad \text{- - - - - - - -} \ (5.21)$$
$$R^2 = 0.86$$

De acuerdo al valor de α, la ***Ho*** se rechaza habiendo regresión en el modelo. El valor de R^2, indica que un 86% de los datos es explicado por el modelo. Utilizando la ecuación (5.21), se generó la superficie de respuesta mostrada en la ***Fig. 5.8.***

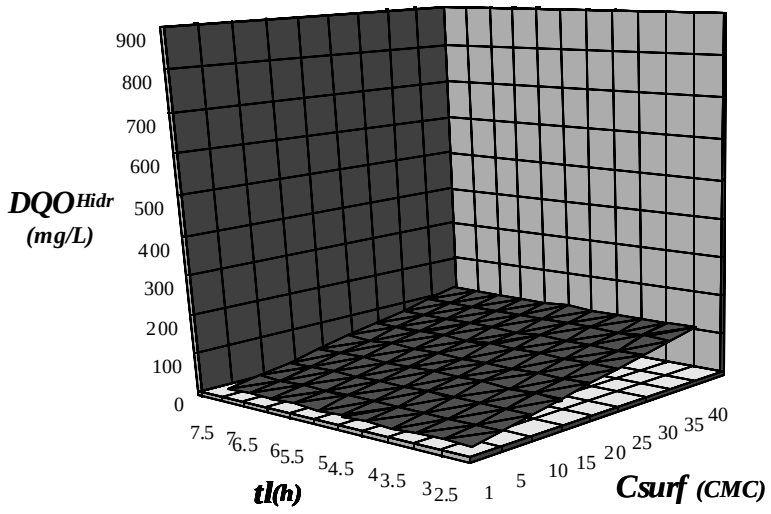


Fig.5.8. Superficie de respuesta generada con el modelo ajustado por regresión lineal múltiple a los datos del factorial sin agitación

En ambos modelos se observa que en los niveles más bajos de la concentración del surfactante y el tiempo de lavado, no hay una clara diferencia en el efecto de desorción-emulsificación para los procesos con agitación y sin agitación. Sin embargo, para el experimento con agitación, a medida que aumentan los niveles de cada factor, el efecto de desorción-emulsificación crece rápidamente y de manera exponencial, alcanzando su valor más alto de DQO_{Hidr} = 854 mg/L, en la interacción $Csurf_{i*}\ tl_j$ = 40 CMC, 7.5 h. En lo que respecta al experimento sin agitación, a medida que aumentan los niveles de cada factor, el efecto de desorción-emulsificación crece lentamente y de forma lineal, alcanzando su valor más alto de DQO_{Hidr} = 123 mg/L, en la interacción $Csurf_i * tl_j$= 40 CMC, 7.5 h. Comparando los valores, se observa que la agitación tiene un efecto significativo en el lavado. Basándose en este análisis, se decidió que para el proceso de lavado, se requiere de la agitación, la cual será la misma a la utilizada en el factorial es decir de 60 r.p.m.

5.3 CURVAS DE LAVADO

Una vez obtenidos los parámetros (CMC_{suelo} y $Q_{máx}$) y establecidas las condiciones de lavado (*Csurf*= 40 CMC, *tl*= 7.5 h y una agitación de 60 r.p.m), se procedió a la construcción de curvas de lavado, con el objetivo de determinar: *i*) el número de lavados a realizar en el suelo en estudio y *ii*) la cantidad y fracciones de los HTPs desorbidos y emulsificados durante el lavado.

Para estimar si el efecto del número de lavados es el mismo, se utilizaron dos muestras del suelo contaminado, cuya diferencia radicó en la concentración inicial de HTPs.

5.3.1 Determinación del número de lavados

En la ***Fig. 5.9***, se presentan las curvas de lavado, obtenidas con los datos de concentración en base seca de HTPs residuales en el suelo (η'_{HTPs}) graficados contra el número de lavados (n). Se construyeron curvas para muestras del suelo con concentraciones iniciales promedio de 0.0639 (***Fig. 5.9a***) y 0.0732 g HTPs/g.suelo (***Fig. 5.9b***) (63,900 y 73,200 ppm HTPs respectivamente).

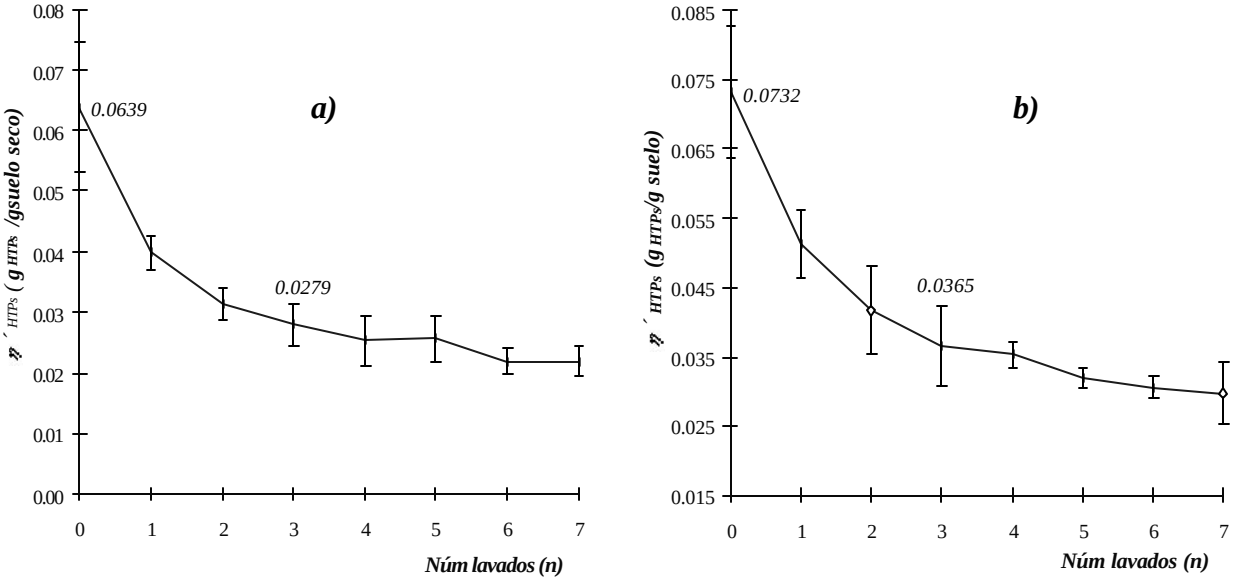


Fig.5.9 Curvas de lavado con Tritón X-100, para el suelo intemperizado en estudio para dos concentraciones iniciales de HTPs, 63,900 ppm (a) y 73,200 ppm (b).

Hasta el tercer lavado en ambas curvas se observan reducciones significativas de 0.0360 y 0.0367 gHTPs/gsuelo respectivamente. Con lavados posteriores, la disminución de HTPs residuales ya no es significativa. El porcentaje de HTPs residuales acumulado después de los tres primeros lavados fue de un 43.6 y 49.9% respectivamente.

Con el objetivo de determinar la eficiencia específica de cada lavado, los datos de las curvas de lavado se ajustaron a polinomios de cuarto grado (***Fig.5.10***). Para obtener las eficiencias y poder compararlas, los polinomios se derivaron obteniéndose las siguientes ecuaciones:

$$\frac{dh'_{HTPs}}{dn} = 0.0004n^3 - 0.0054n^2 + 0.0232n - 0.0334 \text{ - - - - - - - - (5.22)}$$

$$\frac{dh'_{HTPs}}{dn} = 0.00032n^3 - 0.0042n^2 + 0.0190n - 0.0298 \text{ - - - - - - - - (5.23)}$$

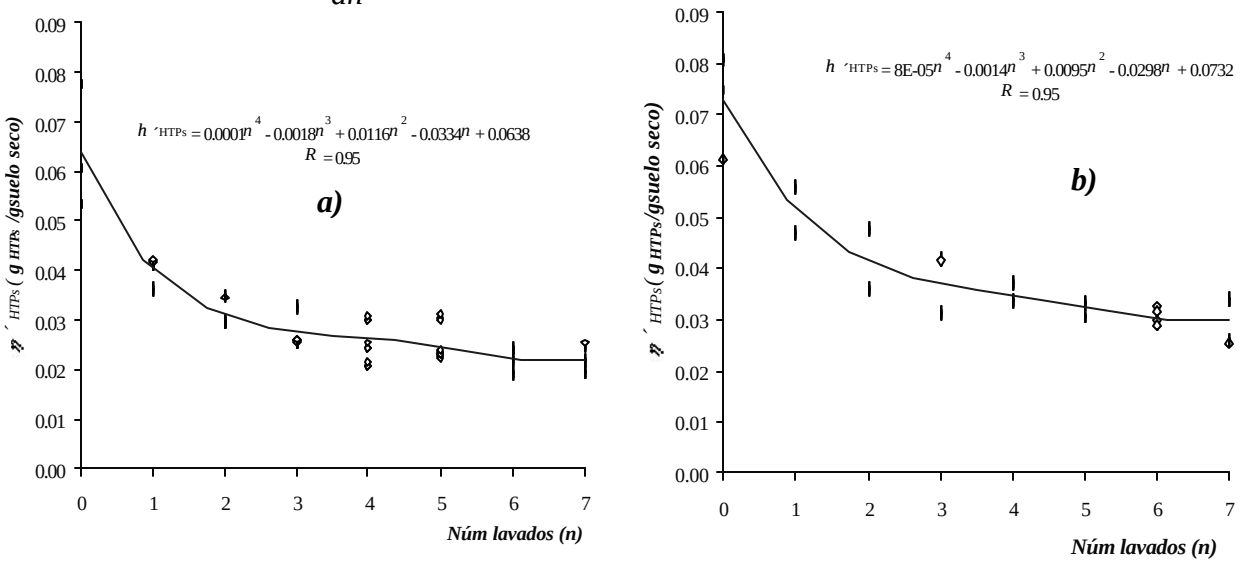


Fig.5.10. Datos de las curvas de lavado ajustadas a polinomios de cuarto grado.

La ecuación (5.22), corresponde a la derivada de h'_{HTPs} con respecto a *n* para el suelo con una concentración inicial promedio de 63,900 ppm de HTPs (***Fig.5.10a***), mientras que la ecuación (5.23) a la derivada del suelo con una concentración inicial promedio de 73,200 ppm de HTPs (***Fig.5.10b***). En la ***Tabla 5.8***, se muestran los valores en las eficiencias de ambas curvas para los tres primeros lavados.

Tabla 5.8. Eficiencias de desorción en las curvas de lavado		
n	$\frac{dh'_{HTPs}}{n}$ (g HTPs/g suelo·lavado) *ec. 5.22*	$\frac{dh'_{HTPs}}{n}$ (g HTPs/g suelo·lavado) *ec. 5.23*
1	-0.0152	-0.0147
2	-0.0054	-0.0060
3	-0.0016	-0.0020

Comparando ambas curvas, los valores de las eficiencias especificas de la ***Tabla 5.8***, muestran una gran similitud en los tres primeros lavados. Estos mismos valores permiten observar una disminución en las eficiencias a medida que se prosigue con el número de lavados. Un comportamiento similar ha sido reportado por Edwards *et al.*, (1994 ***a*** y ***b***) para sistemas ideales de suelo solución micelar, en los que se ha trabajado con un solo hidrocarburo (naftaleno, fenantreno o pireno) y surfactante no iónico (Tritón X-100, igepal CA 730 o Brij 30).

De acuerdo a los resultados obtenidos, el realizar tres lavados sucesivos, es suficiente para disminuir en forma significativa la concentración de HTPs en el suelo en un poco más del 50%. Sin embargo, para entender mejor el efecto del lavado en el suelo contaminado en estudio, es necesario determinar más parámetros.

5.3.2 Determinación de la fracción emulsificada y el coeficiente de partición

Otros parámetros utilizados para cuantificar la desorción-emulsificación de HTPs en sistemas ideales de suelo/solución micelar (Liu *et al.*, 1991; Laha y Luthy, 1992; Edwards *et al.*, 1994 ***a*** y ***b***) son la fracción de HTPs emulsificados (F) y el coeficiente de partición de contaminantes entre el suelo y la solución micelar (Kd). En lo que respecta al primero de estos parámetros y basándose en la ecuación (1.9) de revisión bibliográfica, se puede escribir:

$$F_n = \frac{n_{HTPs\ mic}}{n_{HTPs\ mic} + n_{HTPs\ suelo}} \text{ - - - - - - - - (5.24)}$$

Como los HTPs son una mezcla compleja, para poder utilizar la ecuación 5.24, debe emplearse un peso molecular ponderado (PM_{HTPs}) para la mezcla de HTPs. Además, obsérvese que los $n_{HTPs\ mic}$ pueden expresarse como la diferencia ($n_{HTPs\ ini} - n_{HTPs\ suelo}$), donde $n_{HTPs\ ini}$ son los moles iniciales de HTPs en el suelo. Con estas consideraciones la ultima ecuación, puede escribirse como:

$$F_n = \frac{\dfrac{\left(W_{HTPsini} - W_{HTPs\ suelo}\right)}{PM_{HTPs}}}{\dfrac{\left(W_{HTPsini} - W_{HTPs\ suelo}\right) + W_{HTPs\ suelo}}{PM_{HTPs}}} = \frac{\left(W_{HTPsini} - W_{HTPs\ suelo}\right)}{\left(W_{HTPsini} - W_{HTPs\ suelo}\right) + W^{suelo}_{HTPsrem}} \text{ - - - - - - - - (5.25)}$$

Donde $W_{HTPs\ ini}$, es el peso en gramos de HTPs iniciales en el suelo, mientras que $W_{HTPs\ suelo}$ es el peso en gramos de los HTPs residuales en el suelo después del *n-esimo* lavado. Multiplicando la ecuación 5.26 por $(1/W_{suelo}/1/W_{suelo})=1$ y generalizando para *n* lavados, se obtiene la expresión:

$$F_n = \frac{\left(\eta_{HTPs} - \eta'^{n}_{HTPs}\right)}{\eta_{HTPs}} \text{ - - - - - - - - (5.26)}$$

Donde F_n, es la fracción de hidrocarburos emulsificados hasta el *n-ésimo* lavado. La ecuación (5.26) es función de datos experimentales fácilmente medibles (η_{HTPs} es la concentración inicial en base seca de HTPs en el suelo, mientras que η'^{n}_{HTPs} es la concentración en base seca de HTPs posteriores al *n*-ésimo lavado). En la ***Fig. 5.11***, se muestran curvas de F_n como función de *n*, para los suelos sometidos al proceso de lavado.

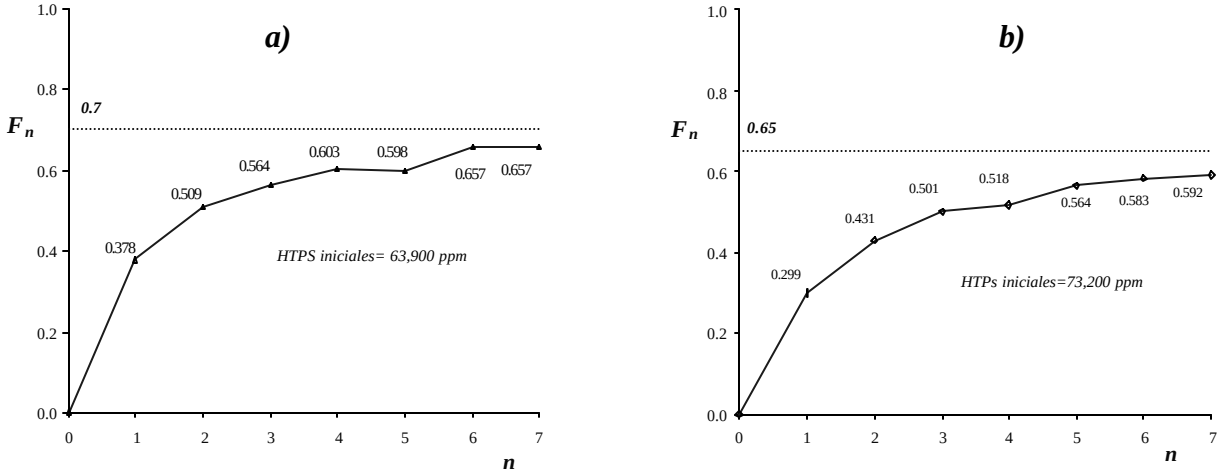


Fig.5.11. Fracción de HTPs emulsificados (F_n) en función del número de lavado (***n***) para dos concentraciones iniciales de HTPs: *a*) 63,900 ppm, *b*) 73,200 ppm.

Para ambos casos, las gráficas en la ***Fig.5.11*** muestran que después del tercer lavado la fracción de HTPs emulsificada se aproxima a valores asintóticos no mayores a 0.7 y 0.65 respectivamente. Basándose en este comportamiento, no se puede esperar que aumentando el número de lavados (***n***>7) y bajo las condiciones utilizadas, sé obtenga una mayor desorción-emulsificación de los HTPs en el suelo intemperizado.

En lo que concierne al coeficiente de partición (*Kd*), por cada lavado se producirá un valor diferente, pues $Kd=f(F_{n-1}, Csurf, W_{suelo}/V_{mic})$, donde F_{n-1} a diferencia de F_n, es la fracción emulsificada de hidrocarburos en un solo lavado, es decir:

$$F_{n-1} = \frac{\left(\eta'^{n-1}_{HTPs} - \eta'^{n}_{HTPs}\right)}{\eta'^{n-1}_{HTPs}} \text{ - - - - - - - - (5.27)}$$

El coeficiente *Kd,* puede determinarse de acuerdo a la ecuación 1.10 de revisión bibliográfica. En la ***Fig.5.12,*** se muestran para cada suelo, las gráficas de *Kd* contra *n* hasta el cuarto lavado. En las gráficas, se observa que *Kd* aumenta a medida que se prosigue con el número de lavados. En este caso, el coeficiente de partición representa la distribución de los moles de HTPs entre una fase sólida (suelo) y una fase liquida (solución micelar) en el equilibrio ($Kd=[HTPs]_{fase\ sólida}/[HTPs]_{fase\ acuosa}$), el hecho de que aumente el valor de este parámetro con cada lavado, es indicativo que al alcanzarse el equilibrio, el número de moléculas de hidrocarburos transferidas a la fase líquida con respecto a las residuales en la fase sólida es menor.

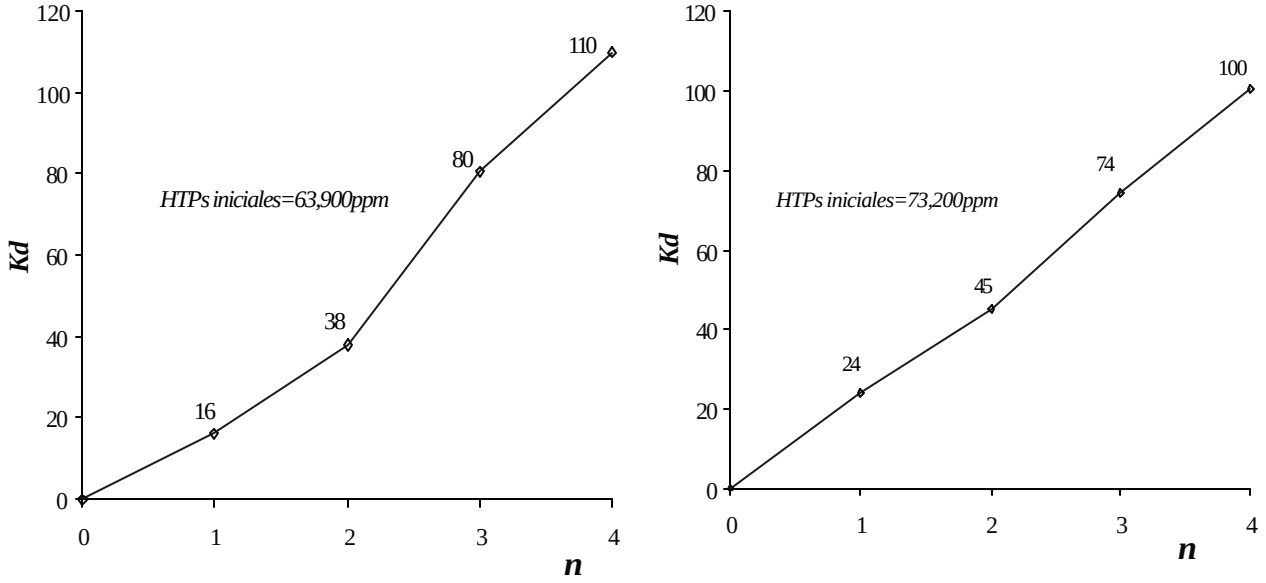


Fig.5.12. Variación del coeficiente de partición (*Kd*) con respecto al número de lavados (*n*) para dos concentraciones iniciales de HTPs: *a)* 63,900 ppm, *b)* 73,200 ppm.

La disminución en la eficiencia de desorción y la fracción de HTPs emulsificado, así como el aumento en el coeficiente de partición, todo esto por efecto del lavado, puede atribuirse a una desorción selectiva debida a una mayor complejidad en la estructura de las diferentes moléculas residuales al final de cada lavado en el suelo, lo que dificulta su transferencia de la fase sólida a la fase líquida. Los resultados mostrados hasta aquí, solo representan una respuesta global. Un análisis similar al realizado en las curvas de lavado, pero para cada una de los grupos presentes en la mezcla de hidrocarburos, mostraría las fracciones preferentemente desorbidas y emulsificadas durante el lavado.

5.3.3 Desorción y emulsificación selectiva durante el lavado

Para explicar la disminución en la eficiencia de desorción y fracción emulsificada de HTPs, se llevó a cabo el fraccionamiento de los HTPs residuales en cada lavado. En la ***Tabla 5.9***, se muestra la composición en forma de fracción (F'_i, g *i-esimo* grupo/gHTPs), de los cuatro diferentes grupos detectados (asfaltenos, alifáticos, aromáticos y polares) en los HTPs inicial (n=0) y residuales, correspondientes a la curva de lavado con un nivel inicial promedio de 63,900ppm HTPs.

Tabla 5.9. Composición de las diferentes fracciones presentes en los HTPs inicial y residuales para la curva de lavado con 63,900 ppm HTPs

Núm lavado (n)	F'_{asf} (g/gHTPs) *Asfaltenos*	F'_{alif} (g/gHTPs) *Alifáticos*	F'_{arom} (g/gHTPs) *Aromáticos*	F'_{pol} (g/gHTPs) *Polares*
0	0.081	0.636	0.137	0.146
1	0.154	0.517	0.154	0.175
2	0.159	0.477	0.177	0.186
3	0.193	0.433	0.190	0.184
4	0.258	0.357	0.179	0.205
5	0.298	0.335	0.196	0.172
6	0.291	0.277	0.233	0.199
7	0.286	0.270	0.209	0.235

A medida que se realizan los lavados sucesivos, los asfaltenos van concentrándose en el total de HTPs residuales, mientras que los alifáticos disminuyen. También se observa que con lavados sucesivos el grupo de los aromáticos y de los polares al igual que los asfaltenos se concentran en los HTPs residuales. Aunque los valores de composición mostrados en la tabla muestran un cierto comportamiento en lo que respecta al cambio de los diferentes grupos de hidrocarburos presentes después de cada lavado, debe tenerse presente que este cambio es con respecto al peso en gramos de los HTPs residuales. Para una mayor claridad, en la ***Fig. 5.13***, se esquematiza la composición porcentual de cada uno de los grupos en los HTPs residuales para cada etapa en la curva de lavado.

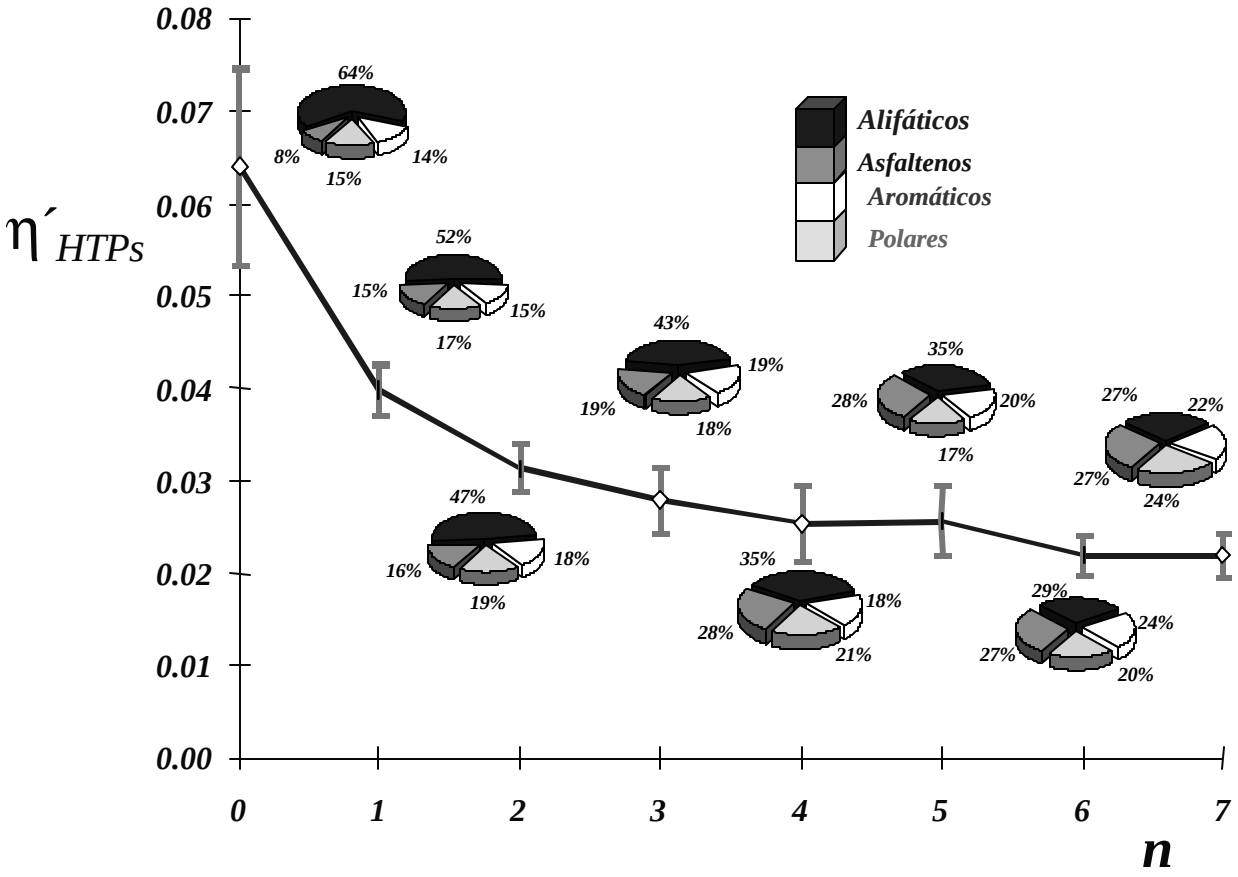


Fig.5.13. Composición porcentual de los 4 grupos de hidrocarburos presentes en los HTPs residuales por lavado.

Para analizar el efecto neto del lavado en cada grupo de hidrocarburo en particular y con respecto al peso seco de suelo, se utilizó la expresión:

$$h_i = F_i \cdot h'_{HTPs} \text{ - - - - - - - - (5.28)}$$

Donde h_i, es la concentración en base seca del *i-ésimo* grupo residual en el suelo. Mediante la ecuación (5.28), se construyeron las curvas de lavado que se muestran en la ***Fig. 5.14***. En cada curva se gráfica η_i contra el número de lavados. La curva de lavado correspondiente al grupo de los asfaltenos (***Fig. 5.14a***), muestra que no hay reducción significativa de este grupo después de siete lavados. Por otra parte, en la curva de lavado de los alifáticos (***Fig. 5.14b***), se observa una reducción significativa hasta el cuarto lavado. En lo que respecta al grupo de los aromáticos y los polares, aunque las curvas de lavado (***Fig. 5.14c y d***) muestran una clara tendencia en la disminución de estos en el suelo, se tiene una reducción significativa únicamente en el primer lavado.

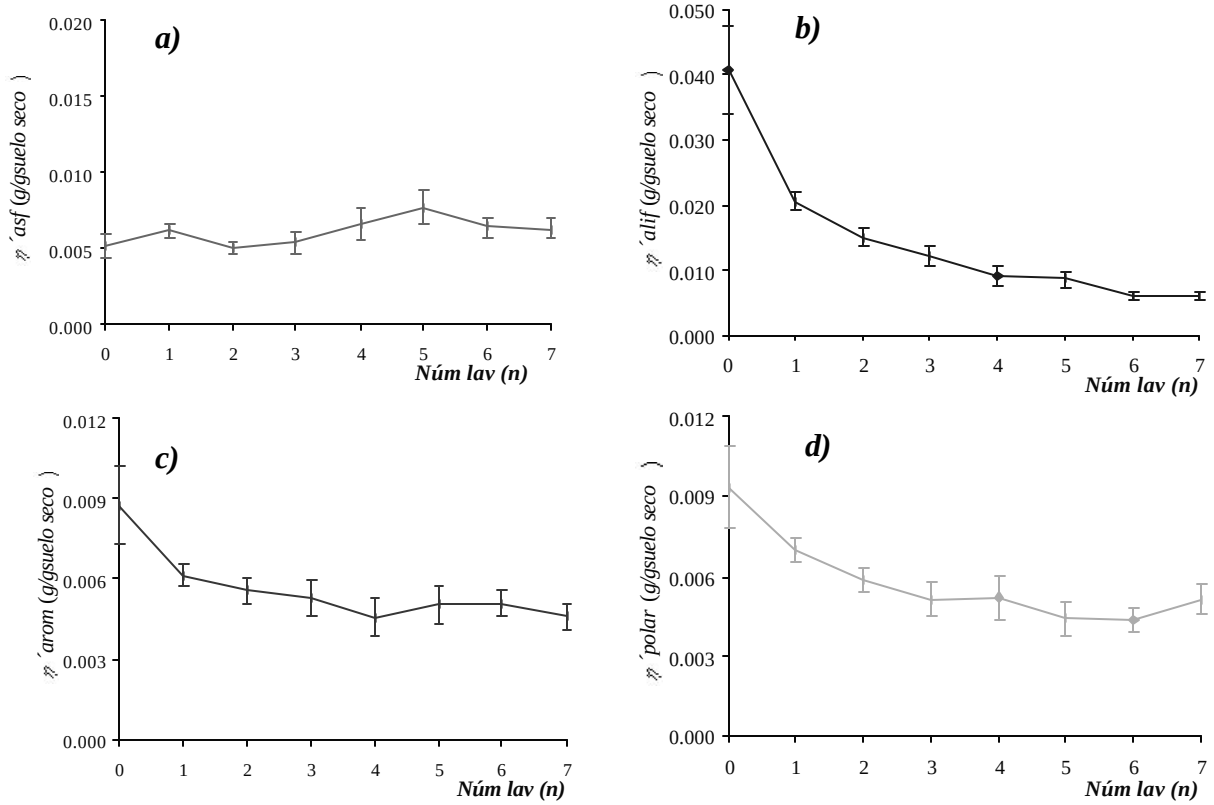


Fig.5.14. Curvas de lavado para los 4 grupos de hidrocarburos analizados: ***a)*** asfaltenos; ***b)*** alifáticos; ***c)*** aromáticos y ***d)*** polares.

Para un análisis más profundo, las curvas de lavado de cada uno de los grupos se ajustaron a polinomios de cuarto grado (***Fig.5.15***) y se derivaron, para obtener expresiones que permitan determinar las eficiencias de remoción de cada grupo. Las derivadas resultantes son:

$$\frac{d\eta_{asf}}{dn} = -0.00004n^3 + 0.0003n^2 - 0.0008n + 0.0004 \text{ - - - - - - - - (5.29)}$$

$$\frac{d\eta_{alif}}{dn} = 0.00036n^3 - 0.0048n^2 + 0.0198n - 0.0272 \text{ - - - - - - - - (5.30)}$$

$$\frac{d\eta_{arom}}{dn} = 0.000016n^3 - 0.0003n^2 + 0.0018n - 0.003 \text{ - - - - - - - - (5.31)}$$

$$\frac{d\eta_{pol}}{dn} = 0.00008n^3 - 0.0006n^2 + 0.0026n - 0.0035 \text{ - - - - - - - - (5.32)}$$

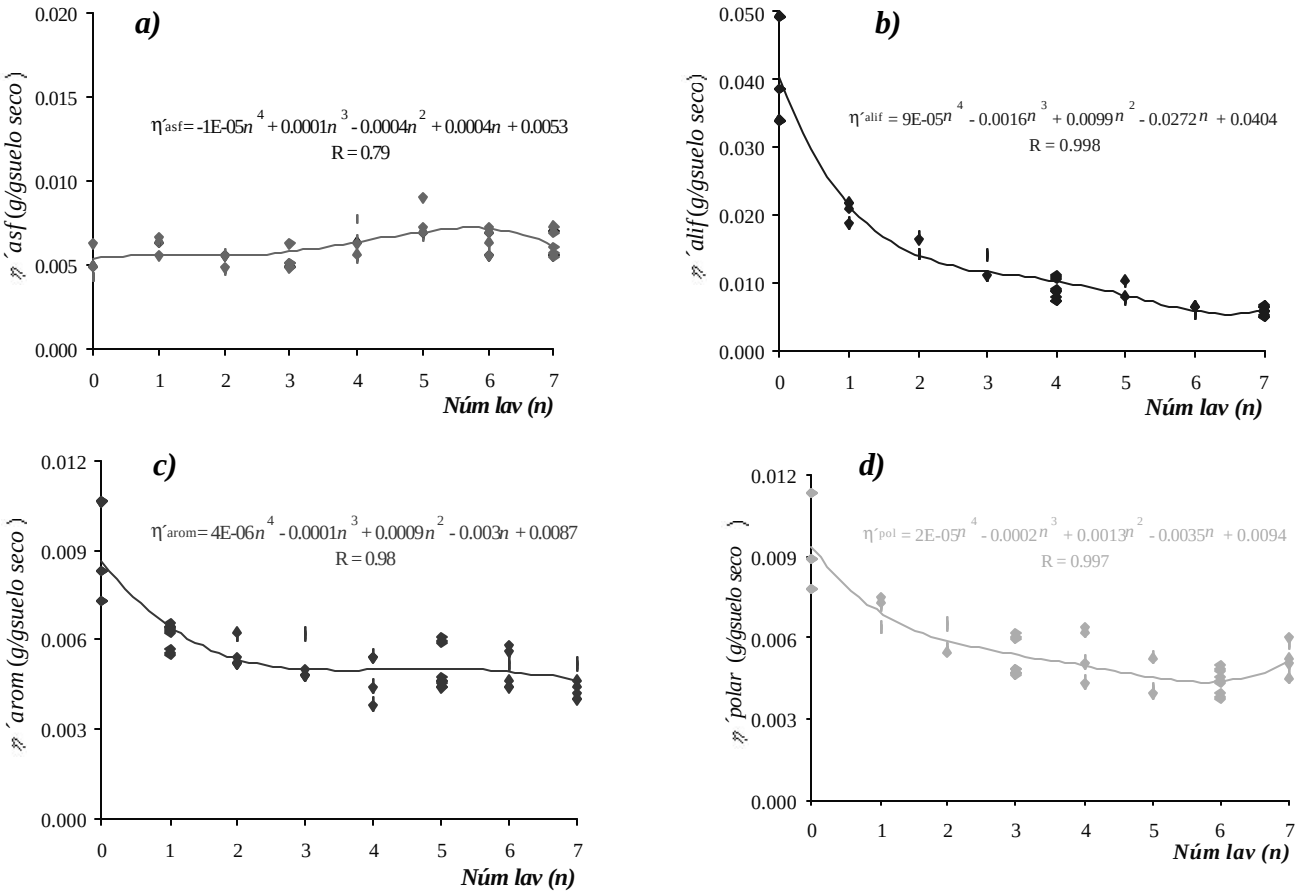


Fig.5.15. Polinomios ajustados a los datos de lavado para los 4 grupos de hidrocarburos: ***a)*** asfaltenos; ***b)***alifáticos; ***c)*** aromáticos y ***d)*** polares.

Por otra parte y tomando como base la ecuación (5.26), también se determinaron fracciones de emulsificación para cada grupo, empleando para ello la expresión:

$$F_{ni} = \frac{\left(\eta_i - \eta'^{n}_{i}\right)}{\eta_i} \text{ - - - - - - - - (5.33)}$$

En la ***Fig. 5.16***, se muestran gráficas de F_{ni} como función de n para alifáticos, aromáticos y polares; los asfaltenos no se incluyen debido a que no son desorbidos ni emulsificados en el lavado. En la ***Tabla 5.10,*** para cada grupo y hasta el tercer lavado, se muestran los valores que predice el polinomio correspondiente de η_i, así como las eficiencias de remoción ($d\eta_i/dn$) y fracción emulsificada (F_{ni}).

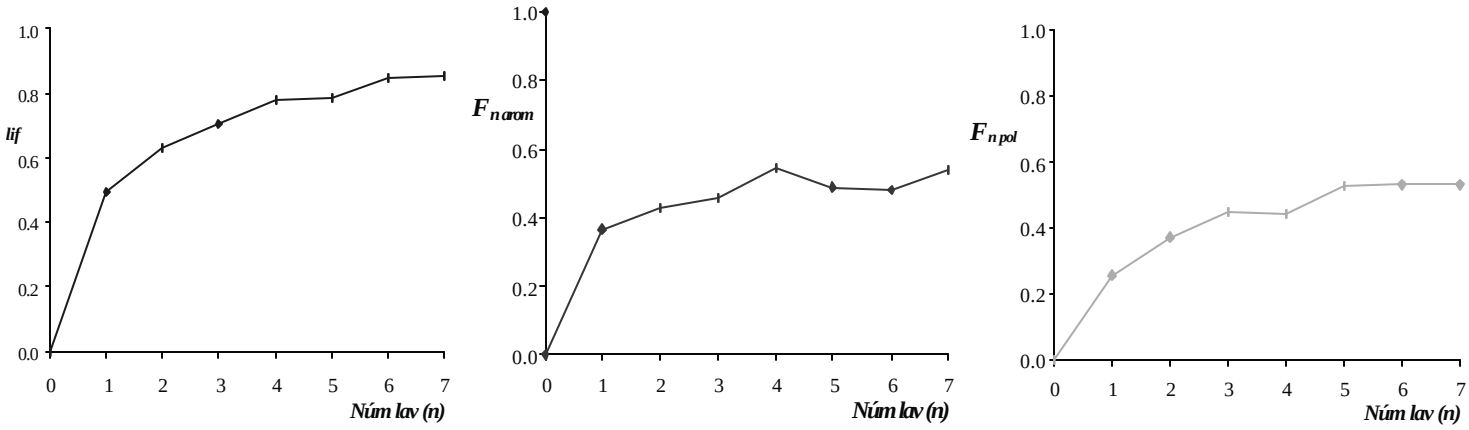


Fig.5.16 Gráficas de F_{ni} contra *n* para 3 grupos de hidrocarburos: ***a)*** alifáticos; ***b)*** aromáticos y ***c)*** polares.

Tabla 5.10. Valores hasta el tercer lavado de η_i (g/ gramo suelo seco) predichos por el polinomio, eficiencias de remoción (g/gramo suelo seco·lavado) y fracción emulsificada para cada uno de los grupos presentes en los HTPs.

	Asfaltenos			***Alifáticos***			***Aromáticos***			***Polares***		
n	h_{asf}	$\frac{dh_{asf}}{dn}$	$F_{n\ asf}$	h_{alif}	$\frac{dh_{alif}}{dn}$	$F_{n\ alif}$	h_{arom}	$\frac{dh_{arom}}{dn}$	$F_{n\ arom}$	h_{pol}	$\frac{dh_{pol}}{dn}$	$F_{n\ pol}$
0	0.0053	*	0.0000	0.0404	*	0.0000	0.0087	*	0.0000	0.0094	*	0.0000
1	0.0054	-0.0001	0.0000	0.0216	-0.01184	0.4945	0.0065	-0.0015	0.3653	0.0070	-0.0014	0.2543
2	0.0051	-0.0003	0.0000	0.0142	-0.00392	0.6315	0.0056	-0.0005	0.4294	0.0063	-0.0001	0.3728
3	0.0048	-0.0004	0.0000	0.0120	-0.00128	0.7033	0.0054	0.0001	0.4605	0.0068	0.0005	0.4494

Basándose en la ***Tabla 5.10***, se observa que para los asfaltenos, el valor de η_{asf} durante los tres primeros lavados prácticamente es constante, por lo que al evaluar la derivada para cada uno de los lavados se obtienen eficiencias de remoción con valores muy próximos a cero. Con respecto a los demás grupos, los alifáticos muestran la mayor disminución en el valor de η_{alif}, así como los valores más altos en la eficiencia de remoción y fracción emulsificada. Para los dos grupos restantes, y aunque los aromáticos muestran un nivel inicial de η mayor al de los polares, ambos poseen valores muy similares en la disminución de este parámetro, así como en las eficiencias y fracciones emulsificadas.

Es claro que de los cuatro grupos, los asfaltenos no pueden ser removidos del suelo mediante el proceso de lavado. Este grupo posee a los componentes con mayor peso molecular y complejidad estructural (Dikie y Yen, 1967; Yen, 1994; Mansoori, 1996), lo que influye de manera directa en la dificultad para la remoción de este grupo y que probablemente se deba a: *i*) una fuerte adsorción de los asfaltenos, debido al gran número de interacciones con las partículas arcillosas del suelo (Fowkes, 1964; Schwarzenbach *et al.*, 1993), y *ii*) la incapacidad del surfactante en la emulsificación de moléculas tan complejas y de alto peso molecular (Liu *et al.*, 1991; Laha y Luthy, 1992; Edwards *et al.*, 1994***b***).

Estos resultados también muestran que el grupo de los alifáticos posee a las moléculas más fáciles de desorber y emulsificar. Por su naturaleza no polar, los compuestos de este grupo deben presentar una adsorción casi nula por la parte mineral del suelo, lo que favorece su desorción. Además, por su misma naturaleza y estructura, también poseen una gran afinidad por la parte hidrofóbica de la micela, facilitando su emulsificación.

Por último, en la ***Tabla 5.11***, se presentan los valores de *Kd* hasta el tercer lavado para los grupos de alifáticos, aromáticos y polares.

Tabla 5.11. Valores hasta el tercer lavado del coeficiente de partición *Kd* para tres grupos de hidrocarburos

n	***Alifáticos***	***Aromáticos***	***Polares***
1	9.9	22.6	28.5
2	27.4	100.7	53.9
3	42.3	199.3	73.7

Estudios realizados en la distribución de hidrocarburos en sistemas limpios (Laha y Luthy, 1992; Edwards *et al.*, 1994***a*** y ***b***), en donde se utilizaron condiciones similares de *Csurf* y W_{suelo}/V_{mic}, se han alcanzado valores de *Kd* entre 6 y 7. Comparando los valores reportados con los obtenidos, se observa que para los aromáticos y polares las *Kd* son mayores hasta en un orden de magnitud. Estas diferencias con seguridad se deben a la distribución del surfactante en la desorción y emulsificación de las diferentes moléculas segregadas en los diferentes grupos de hidrocarburos.

Es interesante observar que para el segundo y tercer lavado, los valores de *Kd* para el grupo de los aromáticos son mayores que para el grupo de los polares, siendo que ambos presentan eficiencias de remoción muy similares. Esto hace pensar que existe una mayor sorción de los compuestos aromáticos en

el suelo, sin embargo por tener ambos valores similares en las eficiencias de remoción, también se puede interpretar como una menor capacidad del surfactante en la emulsificación de los polares.

Una razón por la cual los aromáticos presenten una mayor sorción con el suelo (Schwarzenbach *et al.*, 1993; Edwards *et al.*, 1994***a***), se debe a su absorción por parte de la fracción orgánica (*fom*). Se ha demostrado que en sistemas suelo/agua, donde el suelo posee $fom \geq 0.03$ (similar al utilizado), los HPA presentan valores de *Kd* mayores a 1,200 L/Kg (Means *et al.*, 1980; Karickhoff, 1981), en donde el coeficiente de partición de los hidrocarburos en el sistema suelo-agua, se vuelve sólo función del coeficiente de partición del compuesto en la materia orgánica del suelo y el agua (*Kom*), es decir $Kd = fom \times Kom$. Para estos suelos, la *absorción HPA >> adsorción HPA.*

Con respecto a los polares las razones por las cuales el surfactante podría tener menor capacidad de emulsificación son: *i*) una menor afinidad por la parte hidrofóbica de la micela y *ii*) un mayor peso y complejidad molecular promedio que los aromáticos.

5.3.4 Curva de lavado del suelo para el composteo

En la ***Fig. 5.17a***, se presenta la curva de lavado correspondiente al suelo empleado para el proceso de composteo. Este se sometió a tres lavados sucesivos en un reactor de 5 L, bajo las mismas condiciones de *Csurf*, *tl* y W_{suelo}/V_{mic} utilizadas para las curvas de lavado de la sección ***5.3.1***. Sin embargo, se usó una agitación mayor (150 r.p.m.), con la finalidad de observar si el efecto de desorción por el lavado se incrementaba.

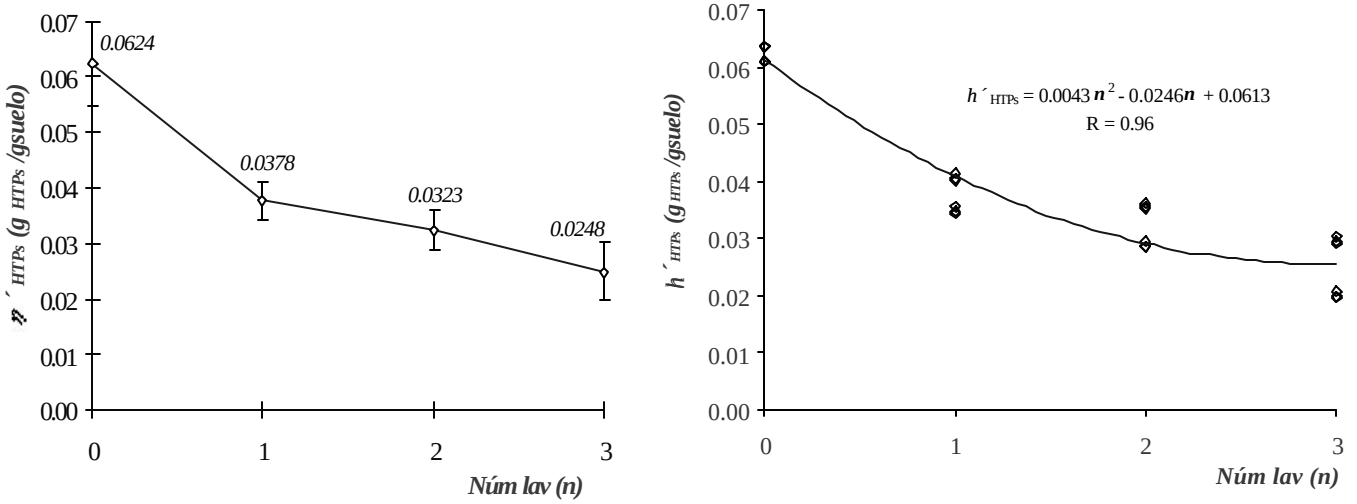


Fig. 5.17. a) curva de lavado para el suelo utilizado en el composteo; ***b)*** datos ajustados a polinomio de segundo grado

El nivel inicial de HTPs para esta muestra de suelo fue de 0.0624gHTPs/gsuelo (62,400 ppm HTPs). Hasta el tercer lavado se tuvo una disminución significativa en HTPs de 0.0376 gHTPs/gsuelo, con un porcentaje final de HTPs residuales de 39.8%. Para determinar eficiencias de remoción, los datos de la curva se ajustaron a un polinomio de segundo grado (***Fig.5.17b***), el cual se derivo (ecuación 5.34) y evalúo en cada lavado (***Tabla 5.12***).

$$\frac{d\eta'_{HTPs}}{dn} = 0.0086n - 0.0246 \quad \text{- - - - - - - -} \quad (5.34)$$

Tabla 5.12 Eficiencias de remoción del suelo lavado para el composteo

n	$\frac{d\eta'_{HTPs}}{dn}$ (g HTPs/g suelo lavado)
0	*
1	-0.0160
2	-0.0074
3	-0.0012

Comparando para la curva de la ***Fig.5.17***, el valor en la disminución de HTPs hasta el tercer lavado con los valores de las curvas de la ***Fig.5.9***, así como las eficiencias de remoción de la ***Tabla 5.12*** con las de la ***Tabla 5.8***, se observa un incremento en la remoción de HTPs. Sin embargo, este *pequeño* incremento debido al uso de una agitación dos veces y media mayor a la utilizada (de 60 r.p.m. a 150 r.p.m.) es indicativo de la limitación del proceso de lavado en la desorción y emulsificación de los HTPs mas pesados y complejos en el suelo, no atribuible a una agitación deficiente.

5.4 COMPOSTEO

Posterior al lavado, se utilizó el composteo como proceso para la degradación del surfactante y HTPs remanentes en el suelo, es decir aquella fracción que no pasó a la fase líquida por efecto del lavado. Con la finalidad de evaluar esta tecnología, se manejo la siguiente hipótesis junto con su alternativa:

Hipótesis	***Hipótesis alterna***
El lavado ocasionará que los HTPs remanentes se encuentren más disponibles para su biodegradación, por lo que durante el proceso de composteo se observará una disminución significativa de estos.	El lavado removerá los HTPs de más bajo peso molecular y por tanto de más fácil biodegradación, por lo que en el composteo no se observará una disminución significativa de los HTPs remanentes.

Para aceptar la hipótesis o su alternativa, se llevaron a cabo dos experimentos. En el primero se realizó el composteo de suelo contaminado sin lavar, adicionándosele Tritón X-100 y diluyéndose con suelo limpio para alcanzar concentraciones de HTPs y surfactante similares a las de un suelo lavado. En el segundo experimento, se realizó el composteo de suelo contaminado que fue sometido a tres lavados sucesivos (***sección 5.3.4***)

De resultar verdadera la hipótesis, al final de ambos composteos, se observaría una reducción significativa de los HTPs y el surfactante.

5.4.1 Cinéticas de degradación de hidrocarburos

En la ***Fig. 5.18***, se muestran las cinéticas de degradación de HTPs para ambos procesos de composteo. En la ***Fig. 5.18a,*** correspondiente a la cinética del suelo no lavado, la concentración inicial promedio de hidrocarburos (γ_{HTPs}) fue de 17mg HTPs/gMSI. A las 48 horas, se observa una reducción significativa, llegándose a una concentración de 10 mg HTPs/gMSI. Para esta misma cinética, a las 168 horas, se alcanza un nivel final promedio de 8 mg HTPs/gMSI, que en porcentaje representa una reducción del 53%. Por otra parte, en la ***Fig.5.18b,*** correspondiente a la cinética del suelo lavado, la concentración inicial promedio de hidrocarburos fue de 13 mg HTPs/gMSI. Aunque se observa una tendencia de descenso de HTPs, no se da una disminución significativa de estos. A las 168 horas se alcanza un nivel final promedio de 10 mg HTPs/gMSI, lo cual representa una reducción del 23%. Se han reportado la degradación de HTPs mediante diferentes sistemas de composteo (Hogan *et al.*, 1988; Phelps

et al., 1990; Beaudin *et al.*, 1996; Aguilera, 1998), en el que los porcentajes de degradación varían en intervalos de un 40-98%, en períodos de tiempo que oscilan desde los 7 a 50 días.

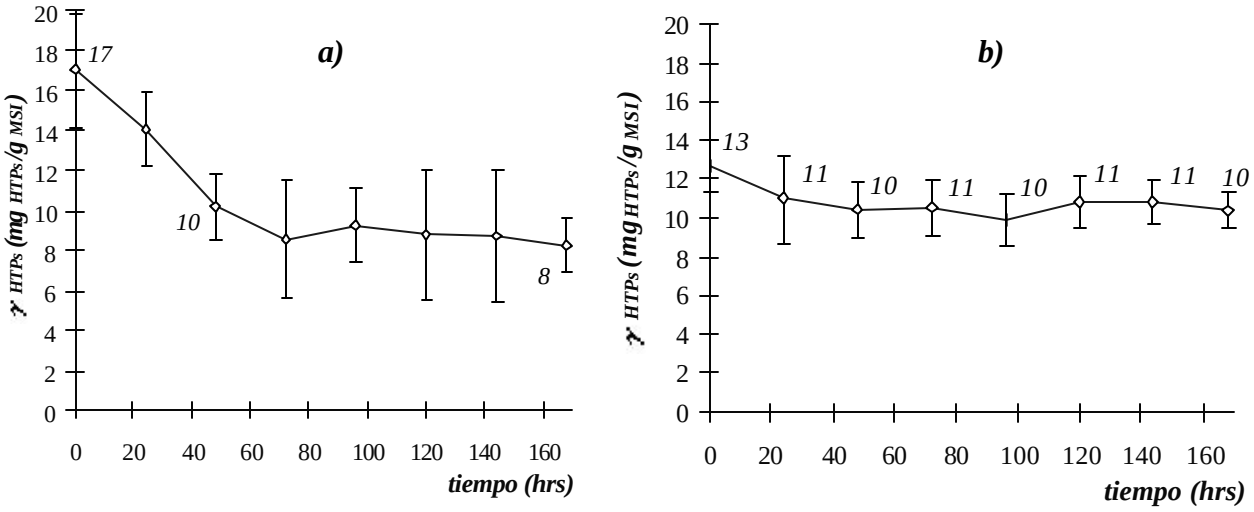


Fig. 5.18. Cinéticas de degradación de HTPs. ***a)*** suelo no lavado; ***b)*** suelo lavado.

En ambas cinéticas se observa una tendencia a la disminución en la concentración de HTPs como una respuesta global. Es claro que el éxito en los procesos de composteo para la biodegradación de hidrocarburos como contaminantes en el suelo, depende de factores diversos como: *i*) el nivel inicial y composición de los contaminantes, *ii*) la carga genética de los microorganismos utilizados (endógenos y/o exógenos), y *iii*) el manejo y control de las condiciones y parámetros del sistema de composteo tales como aireación, humedad, pH, pérdida de materia seca etc (cuyas cinéticas se muestran en el ***apéndice II***).

En lo correspondiente a la composición de los contaminantes, una cuestión interesante es obtener cinéticas para cada uno de los grupos que integran a los HTPs y observar cuales son biodegradados con mayor facilidad. Empleando la técnica de fraccionamiento y los valores de cada cinética, se pueden determinar cinéticas para cada uno de los grupos de hidrocarburos integrantes de los HTPs (asfaltenos, alifáticos, aromáticos y polares), utilizando la ecuación:

$$g_i = F'_i \cdot g_{HTPs} \text{ - - - - - - - - } (5.35)$$

Donde g_i es la concentración en base seca inicial del *i-ésimo* grupo de hidrocarburo (*i* = asfaltenos, alifáticos, aromáticos, polares). En las ***Tablas 5.13*** y ***5.14***, se presentan las composiciones en forma de

fracción (F'_i, g *i-esimo* grupo/gHTPs) para los HTPs, correspondientes a las cinéticas de los suelos no lavado y lavado respectivamente.

Tabla 5.13. Composición de las diferentes fracciones presentes en los HTPs inicial y residuales para la cinética del suelo no lavado.				
Tiempo (hrs)	F'_{asf} (g/gHTPs) *Asfaltenos*	F'_{alif} (g/gHTPs) *Alifáticos*	F'_{arom} (g/gHTPs) *Aromáticos*	F'_{pol} (g/gHTPs) *Polares*
0	0.097	0.608	0.137	0.158
24	0.163	0.374	0.233	0.230
48	0.219	0.179	0.315	0.287
72	0.212	0.147	0.303	0.338
96	0.269	0.176	0.373	0.182
120	0.303	0.213	0.291	0.193
144	0.292	0.206	0.307	0.195
168	0.301	0.209	0.303	0.187

Tabla 5.14. Composición de las diferentes fracciones presentes en los HTPs inicial y residuales para la cinética del suelo lavado.				
Tiempo (hrs)	F'_{asf} (g/gHTPs) *Asfaltenos*	F'_{alif} (g/gHTPs) *Alifáticos*	F'_{arom} (g/gHTPs) *Aromáticos*	F'_{pol} (g/gHTPs) *Polares*
0	0.294	0.306	0.280	0.120
24	0.355	0.260	0.269	0.116
48	0.340	0.256	0.323	0.081
72	0.342	0.260	0.329	0.069
96	0.368	0.258	0.295	0.079
120	0.384	0.254	0.275	0.087
144	0.373	0.246	0.299	0.082
168	0.362	0.223	0.322	0.093

Nótese en ambas tablas como la composición inicial de los cuatro grupos de hidrocarburos difiere de un suelo a otro debido al efecto del lavado.

Para el suelo no lavado, el grupo de los alifáticos se encuentra en mayor porcentaje al inicio del composteo. Sin embargo, su porcentaje disminuye con el tiempo lo cual indica que son fácilmente degradados. En lo que respecta a los asfaltenos y aromáticos, sus porcentajes se incrementan con el tiempo, concentrándose así en los HTPs remanentes debido a su naturaleza recalcitrante. Por otra parte, el grupo de los polares durante las primeras 72 horas, sigue un comportamiento similar a los asfaltenos y aromáticos, para posteriormente disminuir en su porcentaje.

Para el suelo lavado, los alifáticos vuelven a mostrar un descenso en su porcentaje, sin embargo, este es cinco veces menor al observado en el suelo no lavado. Para este mismo suelo, aunque el porcentaje de asfaltenos y aromáticos vuelve a incrementarse, lo hace en menor medida que en el caso anterior, sin embargo, este incremento indica otra vez su concentración en los HTPs remanentes. Por último, los polares presentan un pequeño descenso en su porcentaje. En la ***Fig. 5.19***, se presentan las cinéticas de degradación para cada grupo de hidrocarburo. Se debe aclarar, que al observarse una tendencia estable de las cinéticas a las 168 horas, se consideró pertinente no continuar con los procesos a tiempos más prolongados.

Como se observa en las figuras ***5.19 Ia y IIa***, para ambos procesos de composteo a lo largo del tiempo el grupo de los asfaltenos no presenta diferencias significativas ni una tendencia clara, con lo que su concentración en el suelo permanece prácticamente constante. Esto es indicativo de que este grupo no puede ser degradado por los microorganismos bajo las condiciones utilizadas. Aunque para un ataque microbiano, las moléculas de los asfaltenos presentan un cierto grado de oxidación y varios radicales alquilo, también poseen una estructura base poliaromática muy compleja (***Fig.1.8*** de revisión bilbiográfica) que podría ser el principal problema para su degradación.

Para el grupo de los alifáticos, las cinéticas de degradación de las figuras ***5.19 Ib*** y ***IIb***, muestran diferencias claras. Los alifáticos en el suelo no lavado (***Fig.5.19Ib***), presentan diferencias significativas en su disminución durante las primeras 48, produciéndose una degradación final del 81%. Por su parte, los alifáticos del suelo lavado (***Fig. 5.19IIb***), no presentan diferencias significativas en su disminución a lo largo de todo el experimento. Sin embargo, al final se observa un decremento que representa el 40% de degradación respecto a la concentración inicial. Parece claro que dentro del grupo de los alifáticos, el lavado removió las moléculas de más fácil degradación. Los compuestos removidos probablemente fueron hidrocarburos lineales y cíclicos saturados de cadena larga (mayores de 20 carbonos), los cuales son relativamente fáciles de degradar por un gran espectro de microorganismos (McKenna, 1976; Ratledge, 1978; Bitton y Gerba, 1984; Rainwater y Scholze, 1991); mientras que los compuestos remanentes probablemente fueron hidrocarburos ramificados insaturados de cadena larga tanto lineales y cíclicos, menos susceptibles a un ataque microbiano.

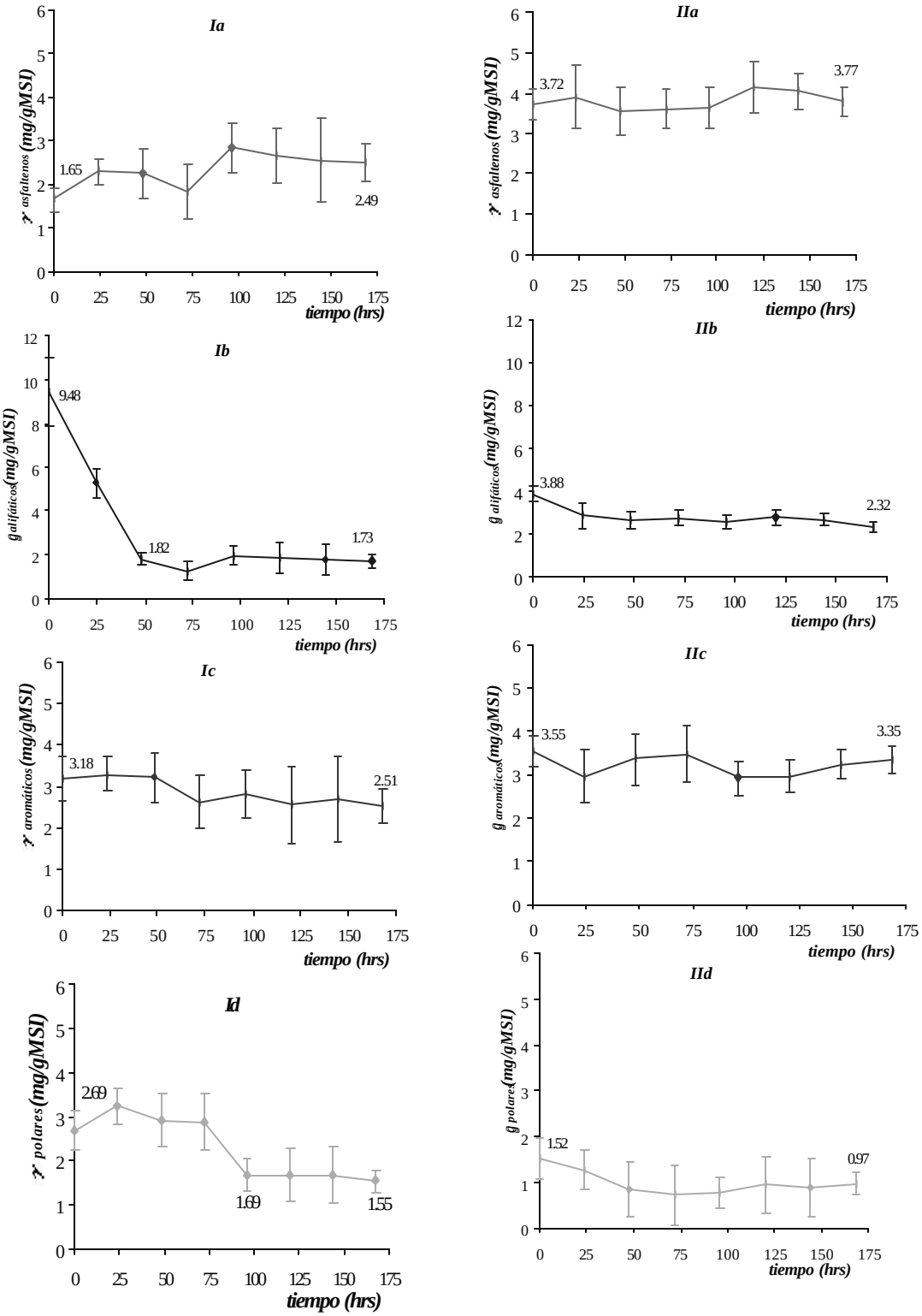


Fig. 5.19. Cinéticas de degradación para cada uno de los grupos presentes en los HTPs. *I.* Suelo no lavado donde: *Ia*) asfaltenos, *Ib*) alifáticos, *Ic*) aromáticos, *Id*) polares; *II.* Suelo lavado, donde: *IIa*) asfaltenos, *IIb*) alifáticos, *IIc*) aromáticos, *IId*) polares.

En lo referente al grupo de los aromáticos (***Fig.5.19 Ic y IIc***), en ambos experimentos las cinéticas de degradación no presentan diferencias significativas en la disminución de estos, aunque para el suelo no lavado (***Fig.5.19 Ic***), se observa una tendencia a disminuir su concentración en el suelo, alcanzando una degradación final del 21%. Este grupo no muestra una fácil degradación, sin embargo esta poca susceptibilidad al ataque microbiano probablemente no se debe a su estructura, sino a su baja biodisponibilidad debido a la fuerte absorción por parte de la materia orgánica presente en el suelo (Karickhoff, 1981; Chiou, 1989; Schwarzenbach *et al.*, 1993; Martin, 1994).

En lo que respecta al grupo de los polares, la cinética correspondiente al suelo no lavado (***Fig.5.19Id***), presenta diferencias significativas hasta las 96 horas, con una clara disminución a partir de este momento, alcanzando una degradación final del 42%. Para este suelo, es interesante observar que la degradación de los polares comienza cuando los alifáticos prácticamente ha terminado. La cinética de los polares del suelo lavado (***Fig. 5.19IId***), no presenta diferencias significativas a lo largo de todo el experimento, sin embargo se observa una tendencia a disminuir s u concentración en el suelo, alcanzando una degradación final del 36%. Al igual que con los alifáticos, el lavado removió los compuestos polares de más fácil degradación.

Para finalizar la discusión referente a las cinéticas de degradación de los diferentes grupos de hidrocarburos, debe tomarse en cuenta que durante el composteo, los microorganismos también transforman moléculas complejas en otras más simples (es decir que no necesariamente las mineralizan hasta CO_2 y H_2O), pudiéndose acumular estas nuevas moléculas, observándose un efecto neto durante las cinéticas (p. ej. ***Poliaromáticos*** $\xrightarrow[\searrow CO_2 + H_2O]{microorganismos}$ ***Alifáticos*** $\xrightarrow[\searrow CO_2 + H_2O]{microorganismos}$ ***Polares***).

Comparando las cinéticas de los HTPs para cada uno de los suelos, se observa que hay una disminución significativa en el suelo no lavado, mientras que en el lavado no. Basándose en este resultado la hipótesis alternativa debe ser la aceptada. Además, la disminución de los HTPs en el suelo no lavado, se debe principalmente a la degradación del grupo de los alifáticos, seguida de los polares y en menor medida al de los aromáticos.

5.4.2 Cinéticas de degradación del surfactante

Ya analizadas las cinéticas de degradación de los diferentes grupos de hidrocarburos durante el composteo, ¿qué sucede con el surfactante?. En la ***Fig. 5.20a y 5.20b***, se muestran las cinéticas de degradación del surfactante para los experimentos con suelo no lavado y lavado respectivamente. En

ambos casos se presentan diferencias significativas en la disminución del surfactante, alcanzado porcentajes de degradación para el suelo no lavado y lavado de 64.9 y 60.8% respectivamente.

El Tritón X-100 es un surfactante no iónico perteneciente a la familia de los alquilfenol etoxilatos, más específicamente al grupo de los *t*-octilfenol etoxilatos (***t-OFE$_n$***). Existen bastantes reportes referentes a la biodegradación de ***t-OFE$_n$*** en una gran diversidad de sistemas aireados, algunos de estos se muestran en la ***Tabla.5.15***. Su biodegradación comienza con la cadena etoxilca (Swisher, 1987), la cual es rápidamente oxidada rindiendo moléculas de acetato o etilenglicol y finalmente un alquil fenol o ***t-octil fenol*** (***Fig.5.21***). Aunque en condiciones aeróbias no se conoce la ruta exacta de biodegradación del ***t-octil fenol***, se tiene clara evidencia que esta primero se lleva a cabo con la ruptura oxidativa del anillo seguida de oxidaciones sucesivas que rinden una mezcla de ácidos carboxílicos (Swisher, 1987), aunque esta etapa es más lenta que la primera.

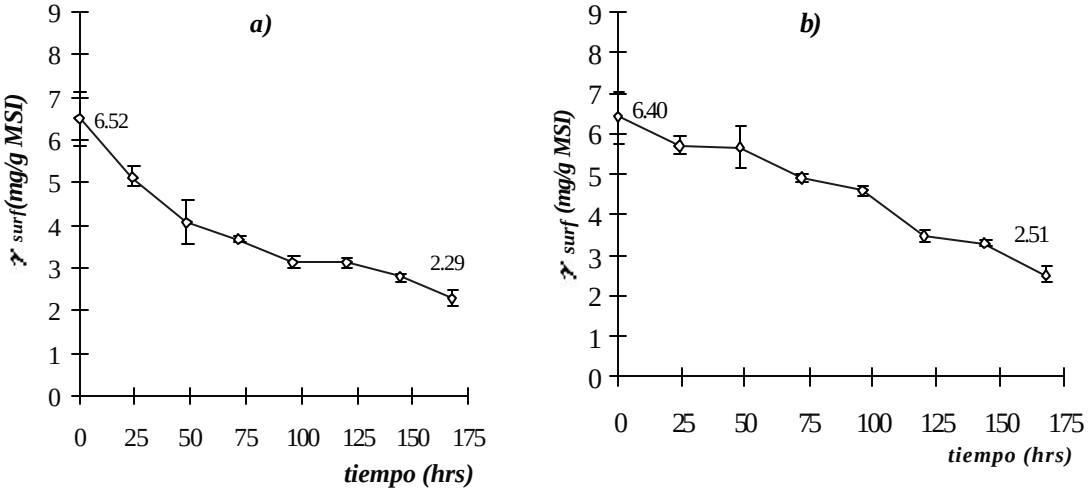


Fig.5.20 Cinéticas de degradación del surfactante no iónico Tritón X-100. ***a)*** suelo no-lavado; ***b)*** suelo lavado

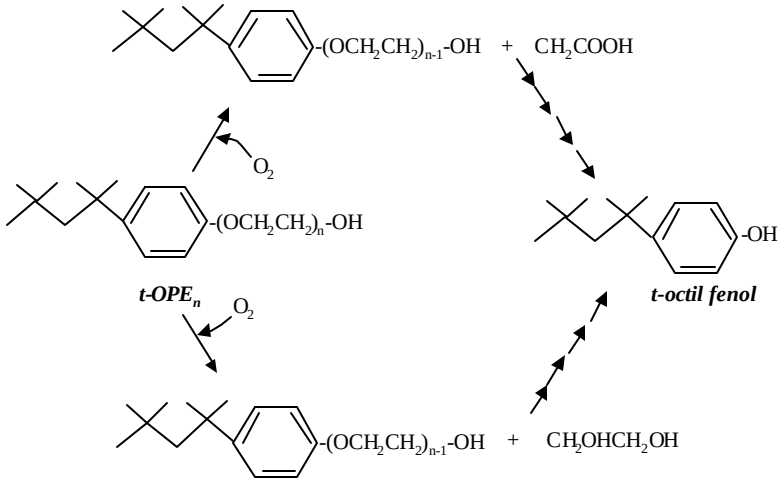


Fig.5.21. Ruta oxidativa para la biodegradación de la parte etoxilica de un ***t-OFE***$_n$ (Swisher, 1987)

Tabla 5.15. Reportes referentes a la biodegradación aeróbia de *t-octil fenol etoxitatos* (***t-OPE$_n$***)		
Porcentaje y tiempo de biodegradación	***Sistema***	***Referencia***
50%, 2 días	Tanque aséptico con cultivo puro por lote.	Booman *et al.*, 1965
40%, 1 día	Reactor de lodos activados por lote.	Huddleston, 1965
46%, 3 días	Tanque aséptico más suelo.	Lashen y Blankenship, 1966
44%, 14 días	Matraces agitados	SDA,1969
68%, 11 días	Aguas de río	Ruiz y Dobarganes, 1978
53%, 6 horas	Reactor de lodos activados en continuo.	Kozarac *et al.*, 1983

Para encontrar diferencias más sutiles, en ambas cinéticas se determinaron las velocidades iniciales de degradación del surfactante. Para el suelo no lavado, la velocidad inicial de degradación fue de 0.0526 mg surf/g MSI hora, mientras que para el suelo lavado fue de 0.0228mg surf/g MSI hora es decir la velocidad inicial de degradación del suelo lavado es menor a la del no-lavado. ¿Por qué las velocidades de degradación son diferentes? Una respuesta probable es la siguiente: en el suelo no lavado, el surfactante fue adicionado y mezclado como un componente más del material a compostear, mientras que en el suelo lavado, el surfactante se encuentra adsorbido en el suelo (por la parte arcillosa), haciéndolo menos disponible para ser usado por los microorganismos como substrato. Así esta menor disponibilidad del surfactante debido a su adsorción se ve reflejado en las velocidades iniciales de degradación.

Para ambos procesos de composteo, y principalmente para el caso del suelo no lavado, las cinéticas de gases junto con un balance de CO_2, permitirán determinar si en las cinéticas de degradación de hidrocarburos y surfactante, estos realmente están siendo mineralizados.

5.5. CINÉTICAS DE GASES Y TEMPERATURA

Mediante las cinéticas de temperatura y gases, se puede describir de forma aproximada la actividad de los lodos activados durante el proceso de composteo, mientras que un balance de CO_2, permitirá determinar hasta que grado están siendo mineralizados tanto los hidrocarburos como el surfactante.

5.5.1 Cinéticas de temperatura

Las cinéticas de temperatura, para cada uno de los procesos de composteo (suelo no lavado y lavado), se muestran en la ***Fig. 5.22***. Se determinaron cinéticas en cuatro diferentes puntos: altura media radio centro del reactor (***hmro***), altura media radio pared del reactor (***hmrp***), centro de la cámara para el control de temperatura (***Tcam***) y al exterior de la cámara es decir la temperatura ambiente (***Tamb***).

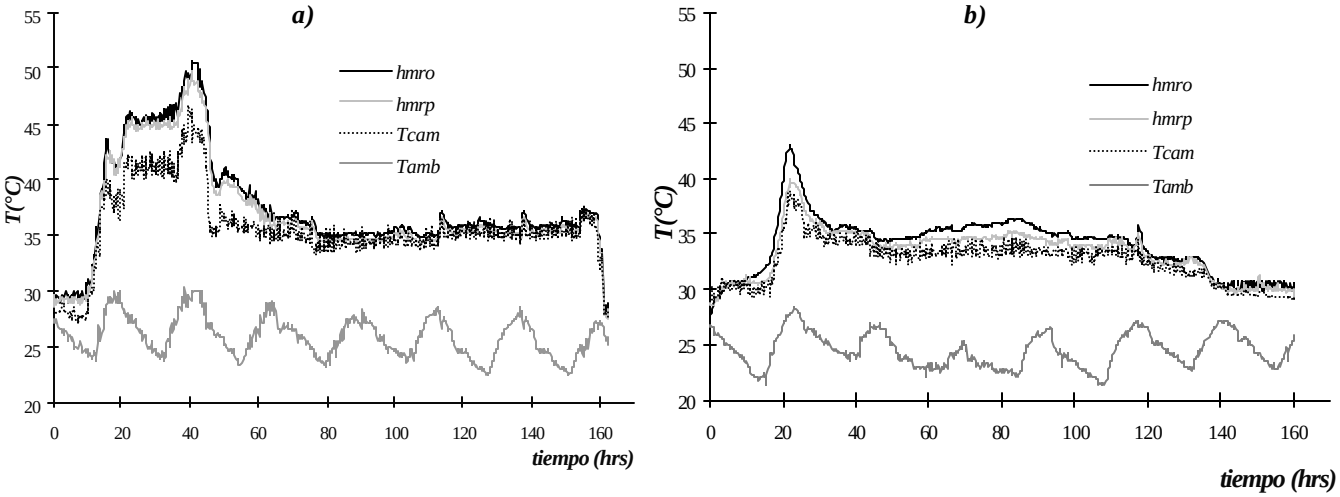


Fig. 5.22. Cinéticas de temperatura en cuatro diferentes puntos para los procesos de composteo en: ***a)*** suelo no lavado y ***b)***suelo lavado.

En ambos experimentos, se observa una clara independencia de la temperatura del sistema con respecto a la ambiente. Esto se interpreta como un buen control de la temperatura durante el proceso. También se observa que la temperatura al centro del reactor (***hmro***) durante las etapas de calentamiento (de las 11 hasta las 80 horas para el suelo no lavado y de las 17 hasta las 115 horas para el lavado) fue mayor a la temperatura de la pared (***hmrp***) y de la cámara (***Tcam***), lo que indica un calentamiento al interior de los reactores debido a la actividad microbiana y no por el equipo.

Para el suelo no lavado (***Fig.5.22 a***), alrededor de las 11 horas las temperaturas en el centro, pared y cámara, aumentaron con una velocidad de 2.8°C/hr. La temperatura del centro del reactor alcanza un máximo de 44°C a las 16 horas, disminuyendo a partir de este punto hasta un mínimo de 41°C a las 18 horas, aumentando nuevamente con una velocidad de 1.7°C/hr, hasta alcanzar a las 22 horas una temperatura de 46°C, manteniéndose así hasta las 36 horas, para volver a incrementarse con una velocidad de 0.8°C, alcanzando el último máximo de 51°C a las 41 horas. Desde este momento, la temperatura del reactor disminuye hasta que las temperaturas del centro, pared y cámara prácticamente se igualan a partir de las 80 horas. En este punto, el calor que mantuvo la temperatura hasta el fin del proceso, fue suministrado por el sistema de calentamiento.

En lo que respecta al suelo lavado (***Fig.5.22 b***), alrededor de las 17 horas las temperaturas en el centro, pared y cámara, aumentaron con una velocidad de 2.3°C/hr. La temperatura del centro del reactor alcanza un máximo de 43°C a las 22 horas, disminuyendo a partir de este punto hasta alcanzar una temperatura de 35-36°C a las 30 horas, manteniéndose esta hasta las 115 horas. A partir de este momento, las temperaturas del centro y pared del reactor como la de la cámara son iguales, disminuyendo todas hasta una temperatura de 30°C, manteniéndose así hasta el final del proceso. Comportamientos similares en cinéticas de temperatura durante la degradación de hidrocarburos en suelo mediante el composteo en reactores tubulares han sido reportados (Beaudin *et al.*, 1996; Aguilera, 1998).

En los dos experimentos, durante las primeras horas se presenta un comportamiento similar, donde el rápido incremento de temperatura al interior de los reactores, se debe seguramente a una alta actividad metabólica, ocasionada por el uso del azúcar sacarosa como fuente de fácil consumo. A partir de este punto, el comportamiento entre ambos procesos cambia radicalmente. Para el suelo no lavado, los posteriores incrementos y mantenimiento de temperatura, probablemente se deban a la degradación del grupo de los alifáticos y el surfactante, principalmente por la flora termofílica. Por otra parte, para entender por que las cinéticas de temperatura del suelo lavado no presentan un comportamiento parecido a las del suelo no lavado, deben tomarse en cuenta los cambios ocasionados por el proceso de lavado. Estos cambios influyen de forma directa en el uso de los contaminantes como fuentes de carbono, y son: *i*) la remoción de los hidrocarburos de más fácil degradación, *ii*) un menor acceso al surfactante debido a su adsorción en el suelo y *iii*) la desorción de compuestos tóxicos para los microorganismos.

5.5.2 Cinéticas de gases.

En la ***Fig.5.23***, se muestran las cinéticas de gases en forma de porcentajes de CO_2 y O_2, para ambos experimentos. Para el suelo no lavado, la cinética de $\%CO_2$ (***Fig.5.23 Ia***) muestra un máximo de 5.8% a las 16 horas, tiempo que concuerda con el primer máximo de la cinética temperatura de 44ºC. Posteriormente, aunque el $\%CO_2$ disminuye no lo hace en menos del 1%, manteniéndose algunas horas, cercano a este valor, para incrementarse nuevamente y alcanzar un segundo máximo de 1.56% a las 41-43 horas, concordando una vez más con un máximo de temperatura, pero ahora de 51ºC. A partir de este momento, el $\%CO_2$ disminuye para mantenerse prácticamente constante desde las 80 horas, teniendo así un comportamiento similar a la cinética de temperatura. Para este mismo suelo, la cinética de $\%O_2$ (***Fig.5.23Ib***) sigue el mismo comportamiento que él $\%CO_2$, solo que de manera especular.

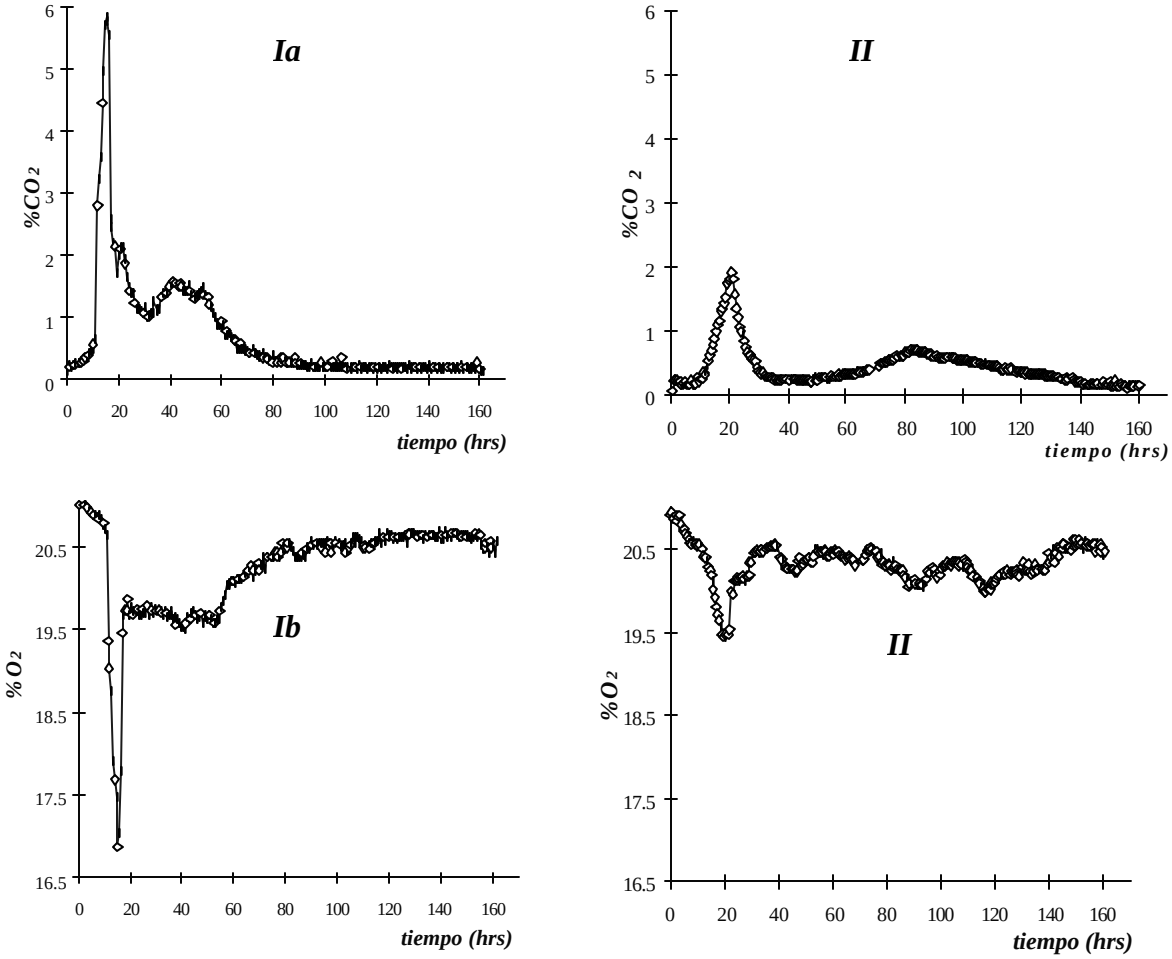


Fig.5.23 Cinéticas de gases en forma de porcentajes. I. Suelo no lavado: a) %CO2, b)%O2; II. Suelo lavado: a)%CO2, b)%O2.

En lo referente al suelo lavado, la cinética de $\%CO_2$ (***Fig.5.23 IIa***) presenta un máximo de 1.9 % a las 22 horas, concordando con el máximo de la cinética de temperatura de 43ºC. El $\%CO_2$ disminuye hasta un valor aproximado de 0.25%, manteniéndose así hasta las 50 horas, para aumentar nuevamente, alcanzando un segundo máximo de 0.7% a las 85 horas. A partir de este momento, el $\%CO_2$ disminuye lentamente hasta valores de 0.25% a las 140 horas. La cinética de $\%O_2$ para este suelo (***Fig.5.23IIb***), sigue un comportamiento aproximado a la cinética de $\%CO_2$ hasta las 40 horas, sin embargo a partir de ese momento su comportamiento es oscilante, llegando a presentar tres mínimos de 20.24, 20.07 y 20.01 por ciento a las 47, 93 y 118 horas respectivamente.

Como se muestra en las gráficas de la ***Fig. 5.24***, el incremento en el $\%CO_2$ durante las primeras horas de las cinéticas, concuerda con el consumo del azúcar. Sin embargo, la tasa de consumo del azúcar en el suelo lavado e s menor a la del no lavado, con lo cual se podría explicar las diferencias entre el valor de los primeros máximos. Esta diferencia en las tasas de consumo de azúcar, probablemente se deba a la desorción de compuestos tóxicos en el proceso de lavado. Para e l suelo no lavado, el mayor porcentaje de CO_2 hasta las 80 horas, se debe a la utilización del surfactante fácilmente disponible (no adsorbido como en el suelo lavado), así como los hidrocarburos de más fácil consumo (aquellos removidos en el suelo lavado). Se debe hacer notar que este periodo concuerda con la etapa de mayor degradación de alifáticos y el periodo en que se alcanzan las velocidades más altas de degradación del surfactante. Para el suelo lavado, el ligero incremento en el $\%CO_2$ que se observa en el periodo de 50 a 140 horas, debe ser originado principalmente por la degradación del surfactante.

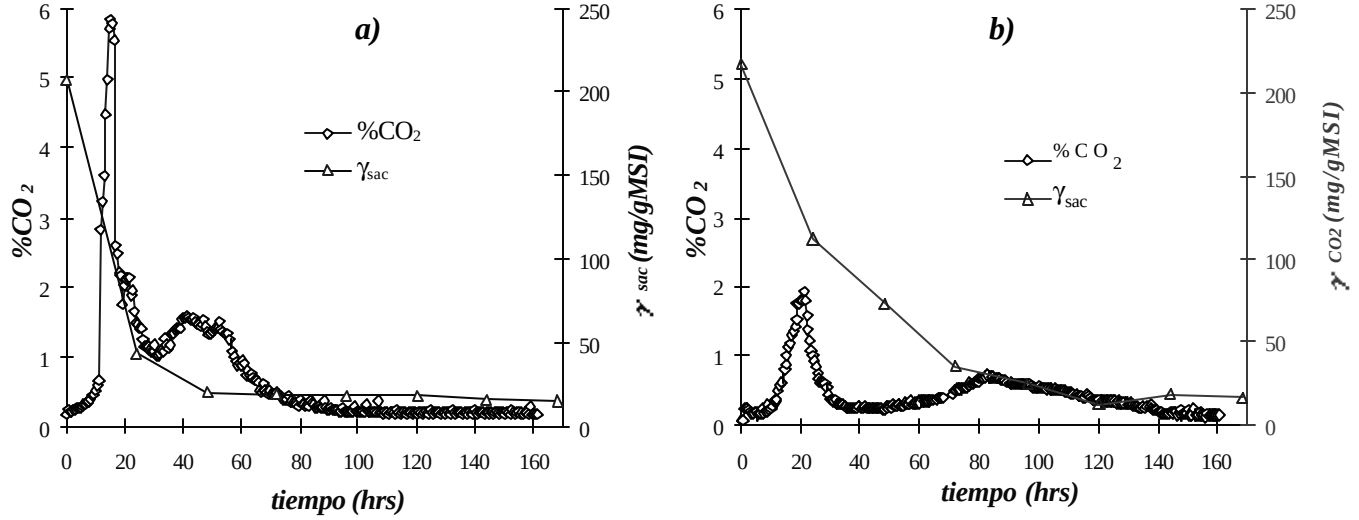


Fig.5.24 Gráficas de $\%CO_2$ generado y consumo de azúcar.a) Suelo no lavado; b) Suelo lavado

Utilizando los datos de porcentaje en las cinéticas de cada gas y mediante las ecuaciones 4.28 y 4.29 de material y métodos, se construyeron las gráficas de las tasas de producción de CO_2 y consumo de O_2, que se muestran en la ***Fig.5.25***. El comportamiento de estas curvas es prácticamente el mismo a sus correspondientes en los porcentajes. Su importancia radica, en permitir estimar un coeficiente respiratorio instantáneo mediante la ecuación:

$$CR_{inst} = \frac{G_{CO2} M_{O2}}{G_{O2} M_{CO2}} \text{ - - - - - - - - (5.36)}$$

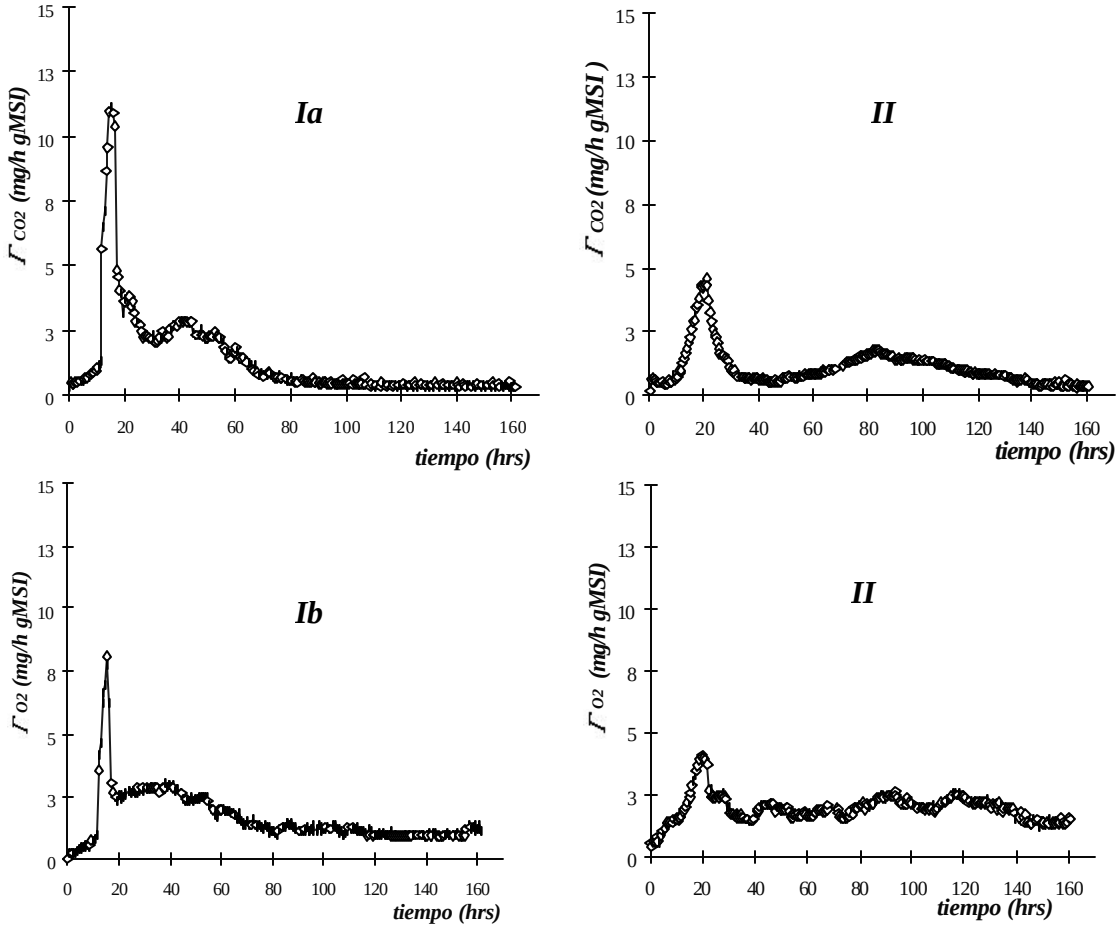


Fig.5.25 Tasas de producción y consumo de CO_2 y O_2. I. Suelo no lavado: a) Γ_{CO2}, b) Γ_{O2}; II. Suelo lavado: a) Γ_{CO2}, b) Γ_{O2}.

El coeficiente respiratorio relaciona los moles de CO_2 generado y O_2 consumido en la utilización de un sustrato como fuente de carbono y energía durante un proceso aeróbio. Este se interpreta como un indicador en el nivel final de oxidación del substrato. Variaciones en el valor característico de este, son

indicativas de cambios en el metabolismo. Por ejemplo en el uso de azúcares un CR=1, indica un correcto equilibrio entre anabolismo y catabolismo, en donde el rendimiento biomasa-substrato ($Y_{x/s}$) es de 0.5 (Pirt, 1975). Cuando el CR<1, indica un desacoplamiento entre anabolismo y catabolismo, predominando el primero. En este caso, una menor cantidad de substrato es oxidado, siendo usado principalmente como fuente de carbono que se integra a la biomasa, en donde el $Y_{x/s}$>0.5. Por el contrario, cuando el CR>1, indica un desacoplamiento en el que predomina el catabolismo sobre el anabolismo, y una mayor cantidad de substrato es oxidado, siendo usado principalmente como fuente de energía con $Y_{x/s}$<0.5. El valor característico del coeficiente respiratorio depende del substrato utilizado. Para compuestos lignocelulolíticos se han reportado valores de 0.75, mientras que para hidrocarburos de 0.69 (Beaudin *et al.*, 1996).

En la ***Fig.5.26***, se muestran las gráficas de coeficiente respiratorio instantáneo (CR_{inst}) para ambos procesos de composteo. Para el suelo no lavado (***Fig.5.26a***), el valor del CR_{inst} presenta valores cercanos a la unidad en el intervalo de tiempo en que se lleva a cabo el consumo del azúcar, mientras que su valor disminuye en la etapa de degradación del surfactante e hidrocarburos, oscilando en valores que van de 0.5-0.8 hasta las 80 horas. En lo que respecta al suelo lavado (***Fig. 5.26b***), el valor del CR_{inst}, también presenta valores próximos a la unidad en el periodo de consumo del azúcar, para posteriormente ubicarse en valores de 0.4-0.65 de las 60 a 110 horas, etapa de consumo del surfactante.

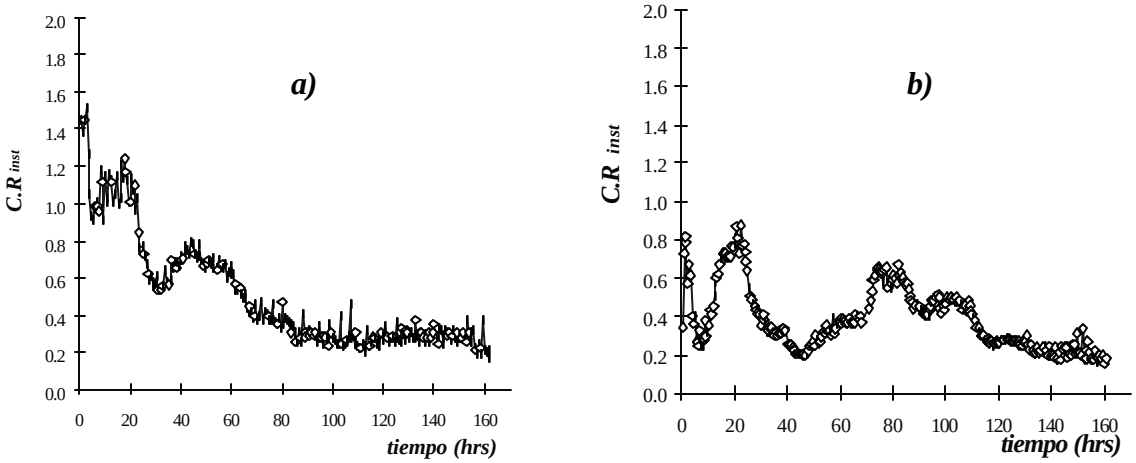


Fig.5.26. Coeficientes respiratorios instantáneos. ***a)*** Suelo no lavado; ***b)*** Suelo lavado

Considerando al surfactante como un hidrocarburo y basándose en el tiempo en que se consume cada sustrato (azúcar e hidrocarburo) en los composteos, no se observa una gran discrepancia entre los valores reportados del coeficiente respiratorio y los correspondientes a las gráficas de la ***Fig.5.26***. Esto puede ser interpretado como un correcto equilibrio entre el anabolismo y catabolismo de los diferentes microorganismos que integran al consorcio de los lodos activados.

5.5.3 Balance de CO_2

La producción total de dióxido de carbono como mg/gMSI durante el proceso de composteo vendrá dado por:

$$\frac{mgCO_2tot}{gMSI} = \frac{mgCO_2azúcar}{gMSI} + \frac{mgCO_2surf}{gMSI} + \frac{mgCO_2alif}{gMSI} + \frac{mgCO_2arom}{gMSI} + \frac{mgCO_2pol}{gMSI} \quad \text{- - (5.37)}$$

La cual se puede escribir como:

$$\frac{mgCO_2tot}{gMSI} = \sum_j \frac{mgCO_{2\,j}}{gMSI} \quad \text{- - - - - - - - (5.38)}$$

Donde *j= azúcar, surf, alif, arom, pol*. Por otra parte, los miligramos de dióxido de carbono por gramo de materia seca inicial para cada uno de los cinco grupos, pueden definirse en función de sus cinéticas de consumo o degradación por gramo de materia seca inicial (*g*), mediante la ecuación:

$$\frac{mgCO_{2\,j}}{gMSI} = \sum_{k=0} \left[g_j(t_k) - g_j(t_{k+1}) \right] \cdot Y_{x/s} \cdot f_{j\,esteq} \quad \text{- - - - - - - - (5.39)}$$

Donde $Y_{x/s}$ es el rendimiento biomasa-substrato y fi_{esteq} es un factor estequiométrico característico de cada grupo, que convierte los miligramos del *j-ésimo* grupo en mg de CO_2. En la ecuación (5.39), g_j se tiene como una función del tiempo. Substituyendo la ecuación (5.39) en la (5.38), se obtiene la ecuación final para el balance:

$$\frac{mgCO_{2tot}}{gMSI} = \sum_i \sum_{k=0} \left[g_j(t_k) - g_j(t_{k+1}) \right] \cdot Y_{x/s} \cdot f_{j\,esteq} \quad \text{- - - - - - - - (5.40)}$$

En este caso, al ser los procesos de composteo sistemas aeróbios, se supondrá un rendimiento constante de 0.5 g biomasa/g substrato para todos las fuentes de carbono (Pirt, 1975). Para conocer a los diferentes *gj* como función del tiempo, en cada experimento los datos correspondientes a las cinéticas de degradación de cada grupo, se ajustaron a diversos polinomios, tal como se muestra en las figuras ***5.27 y 5.28***. Finalmente para conocer los diferentes factores estequiométricos, se tomaron en cuenta reacciones de oxidación para cada grupo, como se muestra más adelante. Finalmente, en el caso del suelo lavado, solo se usaron los grupos del azúcar, surfactante y alifáticos para el balance, pues las curvas de degradación de aromáticos y polares no mostraron diferencias significativas.

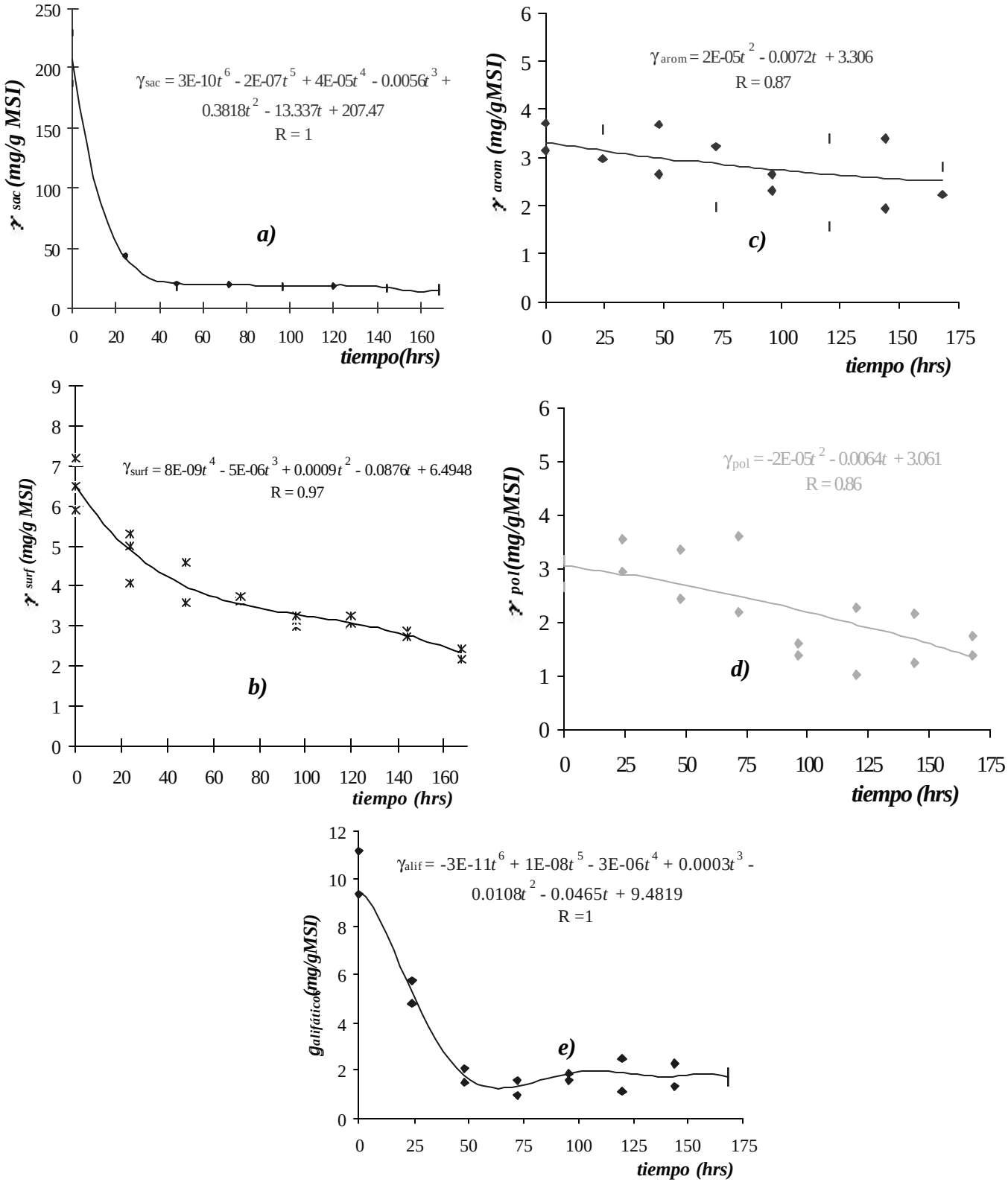


Fig.5.27. Ajustes de las cinéticas de consumo y degradación de cada uno de los grupos presentes en el composteo del suelo no lavado. a) azúcar, b) surfactante, c) alifáticos, d) aromáticos y e) polares

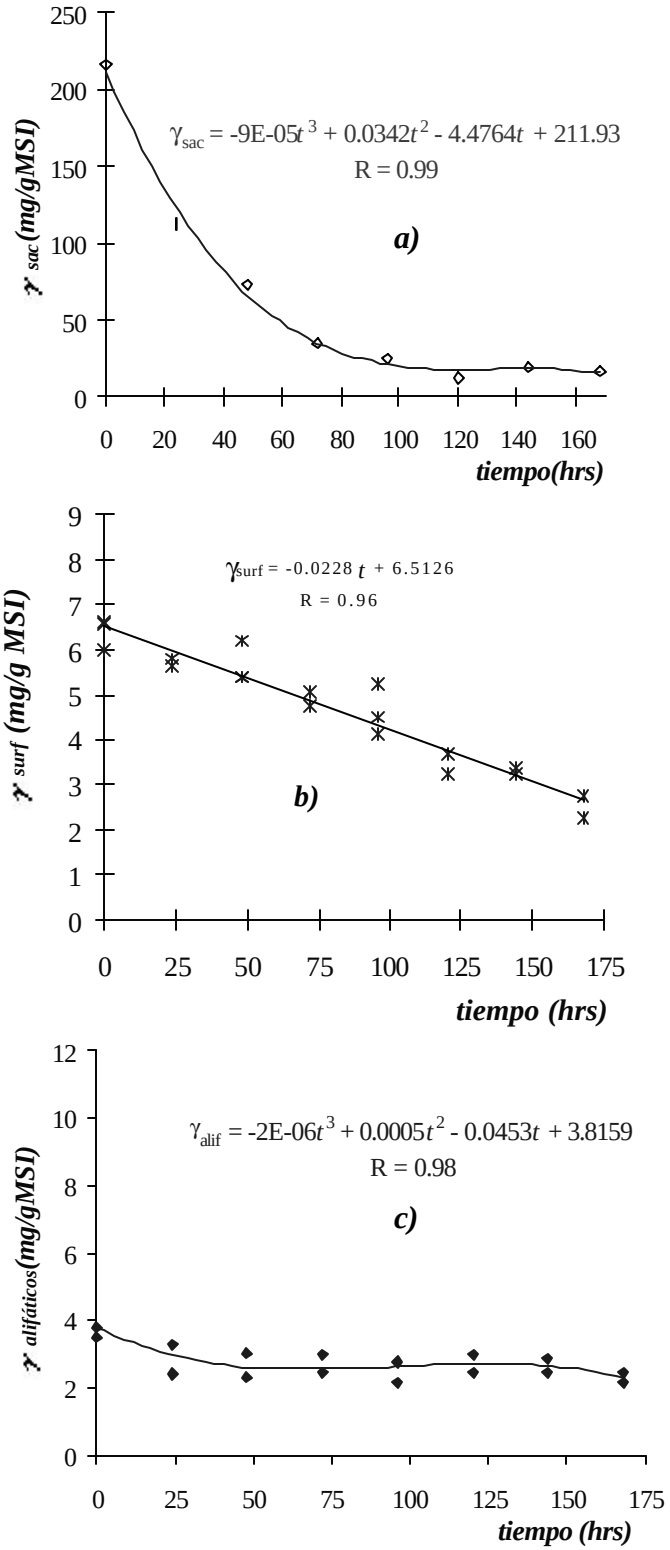


Fig.5.28. Ajustes de las cinéticas de consumo y degradación de tres grupos en el composteo del suelo lavado. a)azúcar, b) surfactante, c) alifáticos.

Las reacciones para determinar el factor estequiométrico, suponen oxidaciones que llevan hasta la mineralización en CO_2 y H_2O de cada una de las moléculas. De esta forma, la reacción estequiométrica, para el grupo del ***azúcar*** fue la siguiente:

$$\underset{\text{sacarosa (342 mg)}}{C_{12}H_{22}O_{11}} + 12\,O_2 \longrightarrow \underset{(528\text{ mg})}{12\,CO_2 + 11\,H_2O}$$

El factor estequiométrico para el azúcar es $fsac_{esteq}$=528g CO_2/342 g azúcar = 1.54.

Para el ***surfactante***, la reacción estequiométrica fue:

$$\underset{\text{Tritón X-100 (1256 mg)}}{2\,C_{32}H_{58}O_{10}} + 83\,O_2 \longrightarrow \underset{(2816\text{ mg})}{64\,CO_2 + 58\,H_2O}$$

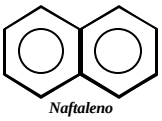
Con un factor estequiométrico $fsurf_{esteq}$=2168g CO_2/1256 g Tritón X-100 = 2.24.

En el grupo de los ***alifáticos***, solo se consideraron a los acíclicos saturados. En el petróleo se pueden encontrar compuestos (lineales y ramificados) que van de 18 a 36 carbonos (Mansoori, 1995). Tomando un promedio de 27 carbonos, tendremos que la reacción estequiométrica será:

$$\underset{\text{alifático (380 mg)}}{C_{27}H_{56}} + 41\,O_2 \longrightarrow \underset{(1188\text{ mg})}{27\,CO_2 + 28\,H_2O}$$

Siendo el factor estequiométrico de los alifáticos $falif_{esteq}$=1188g CO_2/380 g alif = 3.12.

En lo que respecta al grupo de los ***aromáticos***, solo se consideraron hidrocarburos poliaromáticos (HPAs). Se ha reportado que en sedimentos y acuíferos del golfo de México cercanos a la industria petrolera, los HPAs más frecuentes son los de 2 a 5 anillos (Díaz *et al.*, 1993). Tomando solo las estructuras de 2 y 3 anillos, las reacciones de oxidación vendrán dadas por:


Naftaleno

$$\underset{(128\text{ mg})}{C_{10}H_8} + 12\,O_2 \longrightarrow \underset{(440\text{ mg})}{10\,CO_2 + 4\,H_2O}$$

$f_{naf_{esteq}}$=3.43


Fenantreno

$2\ C_{14}H_{10} + 33\ O_2 \longrightarrow 28\ CO_2 + 10\ H_2O$
(356 mg) (1232 mg)
$ffen_{esteq}$=3.46

Los factores estequiométricos para naftaleno y fenantreno son prácticamente los mismos. Tomando el promedio, el factor para los aromáticos será $farom_{esteq}$=3.445.

Finalmente, en el grupo de los ***polares***, se pueden encontrar una extensa diversidad de compuestos de alto peso molecular como: alcoholes, fenoles, aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres, aminas, amidas, compuestos heterocíclicos, etc. Sin embargo los fenoles y ácidos carboxílicos como sus derivados, suelen integrarse de manera irreversible a la fracción orgánica o humus presente en el suelo (Cookson,1995), mientras que los compuestos heterocíclicos son tóxicos y difíciles de degradar (Wallnöfer *et al.*, 1984). Para las familias restantes, compuestos con estructuras lineales con diez o más carbonos, poseen solubilidades en agua muy bajas o nulas y puntos de ebullición mucho mayores que esta (Morrison y Boyd, 1990); por lo que se considerara este tipo de compuestos para determinar el factor estequiométrico de los polares. Se emplearan 4 grupos funcionales con estructuras lineales de 10 carbonos: un alcohol, una cetona, un aldehído y una amina.

CH_3-$(CH_2)_9$-OH *decanol* *alcohol*	$C_{10}H_{22}O + 15\ O_2$ (158 mg)	⟶	$10\ CO_2 + 11\ H_2O$ (440 mg) $falcohol_{esteq}$=2.78
CH_3-$(CH_2)_8$-CHO *decanal* *aldehído*	$2\ C_{10}H_{22}O + 29\ O_2$ (312 mg)	⟶	$20\ CO_2 + 20\ H_2O$ (880 mg) $faldehídol_{esteq}$=2.82
CH_3-$(CH_2)_7$-CO-CH_3 *2-decanona* *cetona*	$2\ C_{10}H_{22}O + 29\ O_2$ (312 mg)	⟶	$20\ CO_2 + 20\ H_2O$ (880 mg) $faldehídol_{esteq}$=2.82
CH_3-$(CH_2)_9$-NH_2 *decamina* *amina*	$8\ C_{10}H_{23}N + 134\ O_2$ (1256 mg)	⟶	$80\ CO_2 + 8\ NO_2 + 92H_2O$ (3520 mg) $famina_{esteq}$=2.80

De manera parecida que con los aromáticos, se presenta una consistencia en el factor estequiométrico de los polares, que tomando un promedio será de $fpol_{esteq}$=2.8.

Utilizando los diferentes parámetros ($g_j(t)$, fj_{esteq} y $Y_{x/s}$), junto con la ecuación (5.42), se construyeron las gráficas de CO_2 acumulado ($mgCO_2/gMSI$) contra tiempo que se muestran en la ***Fig.5.30***. En cada gráfica, también se muestran las curvas experimentales correspondientes.

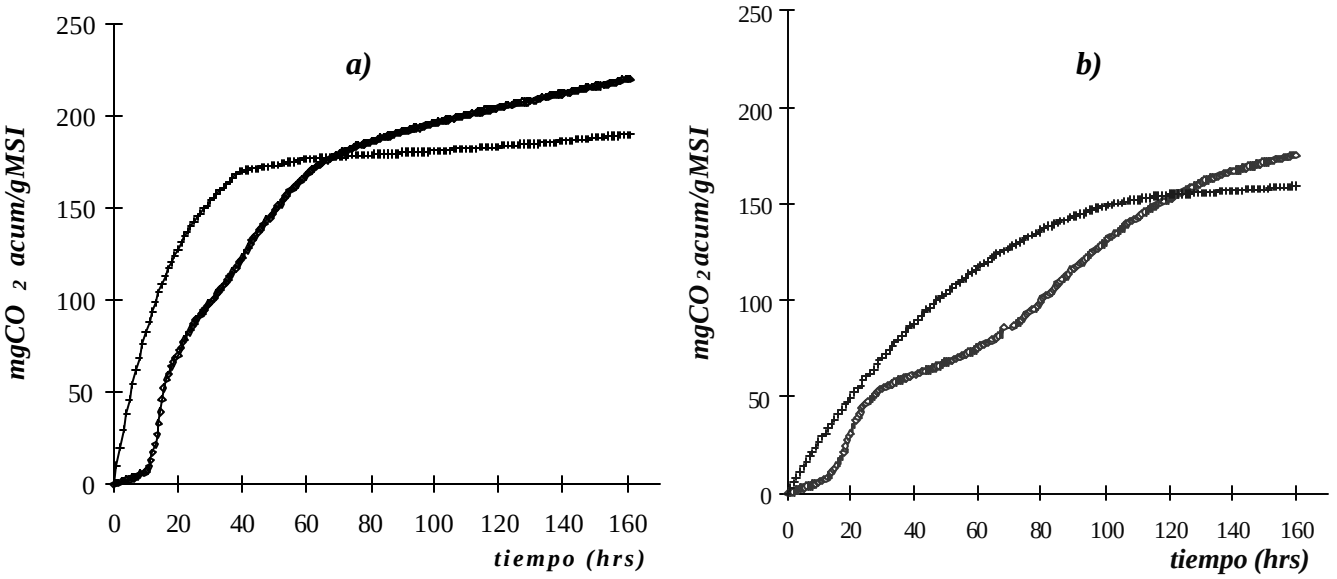


Fig. 5.29. CO_2 acumulado teórico (+) y experimental (G): ***a)*** suelo no lavado; ***b)*** suelo lavado.

Para el suelo no lavado (***Fig.5.29a***), el CO_2 acumulado como función del tiempo presenta un comportamiento similar entre el experimental y teórico, observándose en ambas curvas velocidades máximas en la producción de CO_2 de 3 y 3.9 mg CO_2/ g MSI·h respectivamente. Los CO_2 acumulados experimental y teórico al final del composteo, fueron de 191 y 220 mg CO_2/g MSI respectivamente.

En lo que respecta al suelo lavado (***Fig. 5.29b***), el CO_2 acumulado como función del tiempo también presenta un comportamiento similar entre el experimental y teórico, cuyas velocidades máximas en la producción de CO_2 fueron de 1.3 y 1.7 mg CO_2/ g MSI·h respectivamente. Los CO_2 acumulados experimental y teórico al final del composteo, fueron de 160 y 175 mg CO_2/ g MSI respectivamente.

Obsérvese que tanto para el suelo no lavado y el suelo lavado, el CO_2 experimental total (al final de los composteos), es mayor los teóricos en un 15 y 9% respectivamente. Esta diferencia puede deberse a dos razones: *i*) el uso del material lignocelulolítico del bagazo de caña y/o la materia orgánica de los lodos como fuentes de carbono y energía, *ii*) que los hidrocarburos presentes en el suelo se encuentran más reducidos que los supuestos en el balance teórico. De cualquier manera, el balance de CO_2 y las cinéticas de consumo y degradación, corroboran en forma global como las diferentes fuentes de carbono y energía en el composteo (azúcar, surfactante, hidrocarburos alifáticos, hidrocarburos aromáticos e hidrocarburos polares), son utilizados por los microorganismos de los lodos activados.

CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

6.1 CONCLUSIONES PARTICULARES

- El surfactante no iónico Tritón X-100, es adsorbido preferentemente por la fracción arcillosa del suelo en estudio, presentando una alta afinidad por este a concentraciones por debajo de la *CMC*. Su adsorción sigue el comportamiento de una isoterma de Langmuir con una constante de saturación ($Q_{máx}$) de 0.011± 0.002 g surf/ g suelo.

- Basándose en la constante de saturación, para el sistema suelo/solución micelar en estudio, los parámetros CMC_{suelo} y la *Csurf* del primer lavado vienen dados por las ecuaciones:

$$CMC_{suelo} = 0.0114\left(\frac{W_{suelo}}{V_{mic}}\right) + 0.11$$

$$Csurf = 0.0114\left(\frac{W_{suelo}}{V_{mic}}\right) + \boldsymbol{t}\,0.11$$

- El análisis estadístico de los factoriales y las superficies de respuesta, mostró que las condiciones de lavado para el suelo en estudio a 30ºC son: una concentración de surfactante (*Csurf*) de 40 CMC, un tiempo de lavado (*tl*) de 7.5 h y una agitación de 60 r.p.m.

- Con tres lavados sucesivos (n=3) a las condiciones establecidas, se desorben de un 50 a 56% de los hidrocarburos presentes en el suelo contaminado. Lavados posteriores no incrementan de manera significativa la desorción.

- El lavado desorbe y emulsifica de manera selectiva a los diferentes grupos de hidrocarburos presentes en el suelo contaminado. El grupo de los alifáticos mostró los valores más altos en las eficiencias de remoción ($d\boldsymbol{h}_i/dn$) y fracción emulsificada (F_n). Los aromáticos y polares, presentan valores similares entre sí en sus eficiencias de remoción y fracción emulsificada. El grupo de los asfaltenos no se desorbe, permaneciendo su concentración constante en el suelo en estudio.

- El lavado removió a los hidrocarburos de más bajo peso molecular y más fácil biodegradación, por lo que durante el composteo del suelo lavado no se observó una disminución significativa de los HTPs remanentes. Sin embargo, el surfactante no iónico mostró ser fácilmente biodegradado.

- En el composteo del suelo no lavado, se degradan de manera selectiva a los diferentes grupos de hidrocarburos presentes. Para los alifáticos y polares, se observó una disminución significativa en sus concentraciones. Aunque el grupo de los aromáticos no presentó cambios significativos, si se observo una tendencia de disminución. En lo que respecta al grupo de los asfaltenos, su concentración permaneció constante.

- Las cinéticas de gases (CO_2 y O_2) y temperatura, así como el balance de CO_2, corroboran de manera global que durante los composteos, las diferentes fuentes de carbono y energía son consumidas y/o degradadas por los microorganismos presentes en los lodos activados. Por su parte, el coeficiente respiratorio instantáneo (CR_{inst}), mostró un correcto equilibrio entre el anabolismo y catabolismo de los microorganismos durante los composteos.

6.2 CONCLUSIÓN GENERAL

Por separado, cada una de las tecnologías empleadas (lavado y composteo), mostraron disminuir en forma significativa la concentración inicial de HTPs del suelo en estudio. Sin embargo, el uso en forma secuencial de estas tecnologías, no contribuyó a un mayor decremento en la concentración de los hidrocarburos remanentes en el suelo. En particular, para la remoción de los hidrocarburos en el suelo en estudio, el composteo como alternativa de remediación, cumple por sí sola con el objetivo, sin requerirse de un lavado previo.

PERSPECTIVAS

7. PERSPECTIVAS

Basándose en la experiencia obtenida durante el presente trabajo, a continuación se comentan las siguientes perspectivas:

- La naturaleza del suelo es un factor fundamental de tomar en cuenta para los estudios de lavado, debido a que características inherentes de este como su consistencia (o textura), pueden variar la interacción del suelo con el surfactante utilizado, modificando de manera significativa las propiedades fisicoquímicas y los parámetros para el lavado. Por esta razón, para el lavado de un suelo en particular, además de conocer sus propiedades, una cuestión importante será determinar su interacción con un mayor espectro de surfactantes, buscando aquellos que presenten la menor sorción ($Q_{máx}$) con el suelo.

- La capacidad de emulsificación de los hidrocarburos en el suelo por parte del surfactante, es de vital importancia para mejorar la eficiencia de remoción. Esta característica dependerá en gran medida de la composición y tipo de hidrocarburos presentes en el suelo así como de la naturaleza misma del surfactante. De esta manera será fundamental estudiar la capacidad de emulsificación de aquellos surfactantes o sus mezclas que presenten las mayores eficiencias de remoción de los hidrocarburos del suelo en estudio.

- Otro aspecto fundamental de tomar en cuenta en la tecnología de lavado de suelos intemperizados, debe ser enfocado en procesos o técnicas que permitan recuperar de manera sencilla y barata al o los surfactantes presentes en los lixiviados del lavado para así ser reutilizados, aumentando de forma global la eficiencia con respecto a la cantidad total de surfactante utilizado.

- Finalmente, en lo concerniente al composteo para la degradación de hidrocarburos y surfactante residuales, al ser este un sistema de gran heterogeneidad y complejidad, requiere de una estandarización en el empleo del inóculo, procurando usar un consorcio microbiano previamente adaptado a la degradación de este tipo de compuestos.

APÉNDICES

APÉNDICE I.

NOTACIÓN

A_{CO2}, A_{O2}: Áreas bajo las curvas que representan la producción de CO_2 y consumo de O_2 en mg por gMSI respectivamente.

BPCs: Bifenilos policlorados.

BTEX: Abreviación para el grupo de los aromáticos de un solo anillo: benceno, tolueno, etilbenceno y xileno.

$C_{azúc}$: Concentración de azúcar determinado por el método de Fenol-súlfurico (g azúcar/L).

CMC: Concentración micelar crítica de un surfactante en solución (g surf/L).

CMC_{suelo}: Concentración micelar crítica de un surfactante en una suspensión suelo/solución micelar (g surf/L).

COH: Compuesto orgánico hidrófobo.

CR_{inst}: Coeficiente respiratorio instantáneo (mol CO_2/mol O_2).

C_{sorb}: Concentración del surfactante sorbido (g surf/L).

*Csurf**: Concentración de surfactante en el equilibrio (g surf/L).

Csurf: Concentración de surfactante (g surf /L).

DQO: Demanda química de oxígeno (mg/L).

DQO_{Hidr}: Hidrocarburos desorbidos y emulsificados cuantificados mediante un balance de *DQO*.

DQO_{suelo}: Sólidos solubles oxidables cuantificados mediante un balance de *DQO*.

DQO_{surf}: Surfactante en solución cuantificado mediante un balance de *DQO*.

F: Fracción emulsificada de un COH en un sistema suelo/solución micelar.

F_{asf}: Fracción de asfaltenos presente en los HTPs iniciales (g asfalteno/g HTPs).

F'_{asf}: Fracción de asfaltenos presente en los HTPs residuales (g asfaltenos/g HTPs).

f_{asf}^{surf} : Fracción del surfactante del Wp_{ext}^{surf} que precipito junto con los asfaltenos.

f_{CO2}: Fracción volumétrica de CO_2 corregido a la salida del fermentador (%CO_2/100).

F_i: Fracción del *i-ésimo* grupo (donde *i*= alifático, aromático ó polar) con respecto a los HTPs iniciales (g *i-ésimo* grupo/g HTPs).

F'_i: Fracción del *i-ésimo* grupo (donde *i*= alifático, aromático ó polar) con respecto a los HTPs residuales (g *i-ésimo* grupo/g HTPs).

f_i^{surf} : Fracción del surfactante del Wc_{ext}^{surf} que se fracciono con el *i-ésimo* grupo.

fj_{esteq}: Factor estequiométrico para convertir gramos del *j-ésimo* grupo en la composta a gramos de CO_2.

F_n: Fracción de hidrocarburos emulsificados hasta el *n-ésimo* lavado en un sistema suelo/solución micelar.

F_{n-1}: Fracción de hidrocarburos emulsificados en un solo lavado en un sistema suelo/solución micelar.

FNA: Fase no acuosa.

F_{ni}: Fracción del *i-ésimo* grupo de hidrocarburo emulsificados hasta el *n-ésimo* lavado en un sistema suelo/solución micelar.

f_{O2}: Fracción volumétrica de O_2 corregido a la salida del fermentador (%O_2/100).

HPA: Hidrocarburos poliaromáticos.

HTPs: Hidrocarburos totales del petróleo.

K_{af}: Constante de afinidad entre el surfactante y el suelo (g surf/L).

Kd: Coeficiente de partición de un COH, en una suspensión suelo/solución micelar (L /Kg).

Km: Coeficiente de partición de un COH, entre una pseudofase micelar (micela) y una fase acuosa (adimensional).

M_{CO2}, M_{O2}: Pesos moleculares del CO_2 (44 g/mol) y O_2 (32 g/mol) respectivamente.

n: número de lavados (*n*=1,2,3...7).

N: Número total de espacios disponibles para el surfactante en la superficie del suelo.

n_{COHmic}: Moles del COH en el seno de la solución micelar (mol/L).

$n_{COHsuelo}$: Moles del COH en el suelo (mol/g suelo).

$n_{HTPs\ ini}$: Moles iniciales de HTPs en el suelo (mol/g suelo).

$n_{HTPs\ mic}$: Moles de HTPs en el seno de la solución micelar (mol/L).

$n_{HTPs\ suelo}$: Moles de HTPs residuales en el suelo después del *n-ésimo* lavado (mol/g suelo).

P: Presión atmosférica a la altura de la Ciudad de México (592 mm Hg).

PMS: Pérdida de materia seca (gramos de materia seca por gramos de materia seca inicial, gMS/gMSI).

Qg: Surfactante sorbido por unidad en peso de suelo(g surf/g suelo).

Qi: Flujo total a la salida del reactor al tiempo *ti* (ml/min).

$Q_{máx}$: Constante de saturación en sistemas suelo/solución micelar (g surf/g suelo).

R: Constante de los gases ideales (0.082 atm L/mol °K).

$\Re$: Porcentaje de humedad en la composta (%).

$\Re^{to}$, $\Re^{tn}$: Porcentajes de humedad del material de composteo al inicio y al momento del muestreo respectivamente.

RME: Razón molar de emulsificación, definida como moles de COH emulsficado por mol de surfactante adicionado en sistemas COH/agua.

S_{COH}, S_{COHcmc}, S_{COHmic}: Solubilidad de un COH en agua (mol/L), concentración aparente de un COH en una solución micelar a una *Csurf=CMC* (mol/L) y concentración aparente de un COH en una solución micelar a una *Csurf>CMC* respectivamente (mol/L).

T: Temperatura del flujo a la salida del reactor (K).

t_{eq} : Tiempo en que se alcanza el equilibrio en la adsorción-desorción del surfactante en el suelo.

tl: tiempo de lavado (hrs).

Tsurf: Cantidad total de surfactante empleada en el proceso de lavado (g surf).

Vd: Velocidad desorción.

V_{ext}: Volumen de agua destilada con que se extrajo el azúcar de la muestra húmeda de la composta (0.05L).

V_{mic}: Volumen de la solución de surfactante (L).

Vs: Velocidad de adsorción.

Vw: Volumen molar del agua (0.01805 L/mol a 25°C).

W_{col}: Peso seco de la columna de vidrio (g).

W_{ch}: Peso seco de la charola (g).

W_{ch+sec}: Peso seco del material de composta más la charola (g).

W_{ext}: Peso seco en gramos del extracto de los HTPs iniciales sin asfaltenos utilizado para la cromatografía.

$W_{ext+surf}$: Peso seco en gramos del extracto de los residuales (HTPs y surfactante) sin asfaltenos utilizado para la cromatografía.

W_{ext}^{asf} : Peso seco del extracto de HTPs iniciales empleado en la determinación de los asfaltenos (g HTPs).

W_{ext}^{res} : Peso seco en gramos del extracto usado para la precipitación del residuo.

W_{ext}^{tot} : Peso seco en gramos del extracto total (HTPs y surfactante) extraído de la muestra de suelo contaminado lavado.

$W_{HTPs\ ini}$: Peso en gramos de HTPs iniciales en el suelo.

$W_{HTPs\ suelo}$: Peso en gramos de los HTPs residuales en el suelo después del *n-ésimo* lavado.

$W_{HTPs+ch}$,: Peso seco de los HTPs extraídos más la charola (g).

W_{hum}: Peso húmedo del material de composta (g).

$W_{hum+col}^{to}$, $W_{hum+col}^{tn}$: Peso de la columna de vidrio con el material de composteo al inicio y al momento del muestreo respectivamente (g).

W_i^{surf} : Peso seco en gramos del surfactante presente en el *i-ésimo* grupo.

W_{i+surf}: Peso seco en gramos del extracto correspondiente al *i-ésimo* grupo más el surfactante.

Wj: Peso seco en gramos del *j-ésimo* vial en que se recolecto *i* gramos del *i-ésimo* grupo.

W_j^i : Peso seco en gramos del *j-ésimo* vial con *i* gramos del *i-ésimo* grupo para los HTPs iniciales.

W_j^{i+surf} : Peso seco en gramos del *j-ésimo* vial con *i* gramos del *i-ésimo* grupo para los HTPs residuales.

W_{MS}: Peso seco en gramos de la muestra del material de composta.

W_{MSI}: Peso en base seca del soporte total en el reactor (gMSI).

W_p: Peso seco del papel filtro (g).

W_{pasf}: Peso seco del papel filtro con asfaltenos (g).

W_{pres}: Peso seco del papel filtro con el residuo en gramos.

W_{res}: Peso seco en gramos del residuo precipitado (asfaltenos y surfactante).

W_{res}^{surf} : Peso seco en gramos del surfactante presente en el residuo.

W_{RES+ch}: Peso seco del residuo extraído (HTPs y surfactante) más la charola (g).

W_{SC}: Peso seco de suelo contaminado sin tratamiento para la extracción con solventes (g suelo).

W_{SCT}: Peso seco de suelo contaminado con tratamiento para la extracción con solventes (g suelo).

W_{Ssurf}: Peso seco de suelo intemperizado con el surfactante para la extracción con solventes (g suelo).

W_{suelo}: Peso seco del suelo empleado en los procesos de lavado (g suelo).

W_{surf}: Cantidad de surfactante empleado por lavado (g surf/ lavado).

$W_{surf+ch}$: Peso seco del surfactante extraído más la charola (g).

W_v: Peso seco del vaso de precipitado (g).

W_{vasf} : Peso seco del vaso de precipitado con asfaltenos (g).

W_{vres} : Peso seco del vaso de precipitado con el residuo en gramos.

Wc_{ext}^{surf} : Peso seco en gramos del surfactante presente en el extracto usado para la cromatografía.

Wp_{ext}^{surf} : Peso seco en gramos del surfactante presente en el extracto usado para el precipitado.

Xm, Xa: Fracciones mol de un COH en la pseudofase micelar y la fase acuosa respectivamente.

$Y_{x/s}$: Rendimiento biomasa-sustrato (g biomasa/g sustrato).

LETRAS GRIEGAS

βo, β_1 y β_2: Coeficientes de los modelos de regresión lineal múltiple.

δ_{ijp} : Observación del *DQO*$_{Hid}$*r* en el *i-ésimo* nivel de la *Csurf* y *j-ésimo* nivel del *tl*, siendo la *p-ésima* repetición.

$\gamma_{azúc}$: Concentración en base seca inicial del azúcar en la composta (mg azúcar/gMSI).

γ_{HTPs}: Concentración en base seca inicial de los HTPs en la composta (mg HTPs/gMSI).

γ_i : Concentración en base seca inicial del *i-ésimo* grupo de hidrocarburo en la composta (mg *i-ésimo* grupo /gMSI).

γ_j : Concentración en base seca inicial del *j-ésimo* grupo (*j*= azúcar, surfactante, alifático, aromático, polar) en la composta (mg j-*ésimo* grupo/ gMSI).

γ_{surf} : Concentración en base seca inicial del surfactante en la composta (mg surf/gMSI).

$\frac{d\gamma_{surf}}{dt}$: Velocidad de degradación del surfactante (mg surf/gMSI hr).

$G_{CO2} = {dCO_2}/{MSI \cdot dt}$: Tasa de producción de CO_2 (*mg* CO_2/*h gMSI*).

G_{CO2i}, G_{CO2i+1}: Tasas de CO_2 producidos por gMSI a los tiempos t_i y t_{i+1}.

$G_{O2} = -{dO_2}/{MSI \cdot dt}$: Tasa de consumo de O_2 (*mg* O_2/*h gMSI*).

G_{O2i}, G_{O2i+1}: Tasas de O_2 consumidos por gMSI a los tiempos t_i y t_{i+1}.

η'_{HTPs}: Concentración en base seca de HTPs residuales en el suelo con tratamiento (g HTPs/g suelo).

$\eta'^{n-1}{}_{HTPs}$: Concentración en base seca de HTPs residuales en el suelo y en el *n*-1 lavado (g HTPs/g suelo).

η'^{n}_{HTPs}: Concentración en base seca de HTPs residuales en el suelo en el *n-ésimo* lavado (g HTPs/g suelo).

η_{HTPs}: Concentración en base seca de HTPs iniciales en el suelo sin tratamiento (g HTPs/g suelo).

η_i: Concentración en base seca del *i-ésimo* grupo de hidrocarburo residual en el suelo (g *i-ésimo* grupo/g suelo).

η_{surf}: Concentración en base seca de surfactante en el suelo intemperizado con el Tritón X-100 (g surf/g suelo).

$\frac{d\eta'_{HTPs}}{dn}$: Eficiencia de remoción de HTPs por el lavado (g HTPs/g suelo lavado).

$\frac{d\eta_i}{dn}$: Eficiencia de remoción del *i-ésimo* grupo de hidrocarburo por el lavado (g *i-ésimo* grupo/g suelo lavado).

τ_i: Efecto de la *Csurf* en su *i-ésimo* nivel, siendo la *p-ésima* repetición.

$(\tau T)_{ij}$: Efecto de la interacción del *i-ésimo* nivel de la *Csurf* y *j-ésimo* nivel del *tl*, siendo la *p-ésima* repetición.

T_j: Efecto del *tl* en su *j-ésimo* nivel, siendo la *p-ésima* repetición.

λ: Número de moléculas adsorbidas por unidad de volumen.

m: Gran media de DQO_{Hidr}.

θ: Fracción de la superficie del suelo (adsorbente) cubierta por el surfactante (adsorbato).

1-θ: Fracción de la superficie del suelo no cubierta por el surfactante.

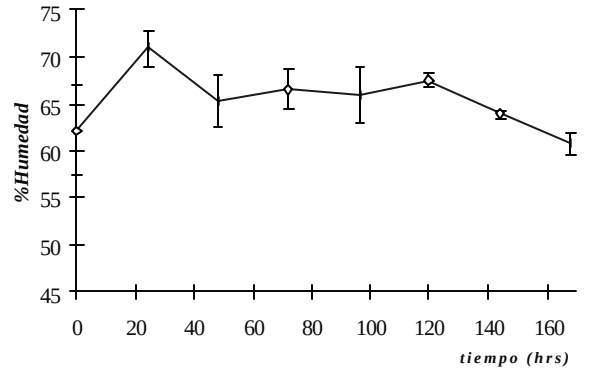
t: número de veces la CMC del surfactante (t=1,2,3,...40).

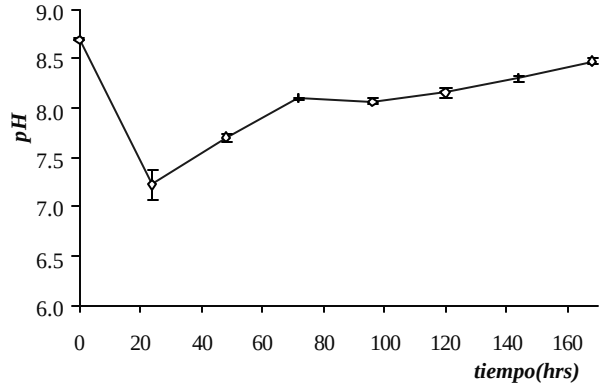
ε_{ijp}: Error experimental del *i-ésimo* nivel de la *Csurf* y *j-ésimo* nivel del *tl*, siendo la *p-ésima* repetición.

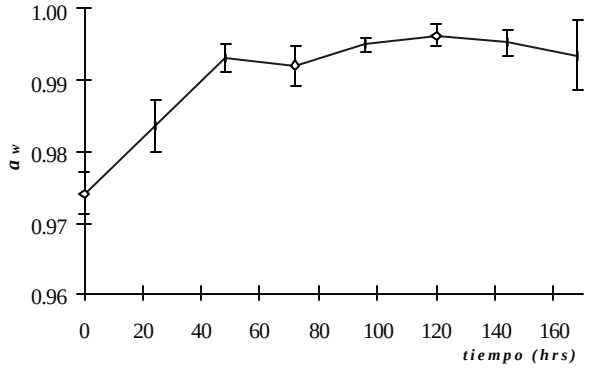
γ_{surf}: Concentración en base seca del surfactante en la composta (gsurf/ gMS),

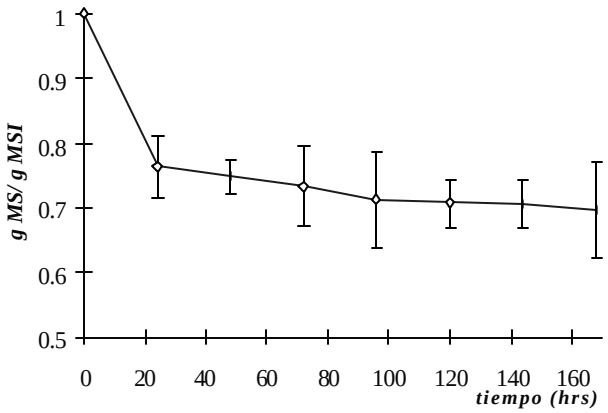
APÉNDICE II. *Cinéticas de humedad, pH, a_w y pérdidad de materia seca.*

CINÉTICAS DURANTE EL COMPOSTEO DEL SUELO NO LAVADO DE: *humedad, pH, a_w y pérdida de materia seca*

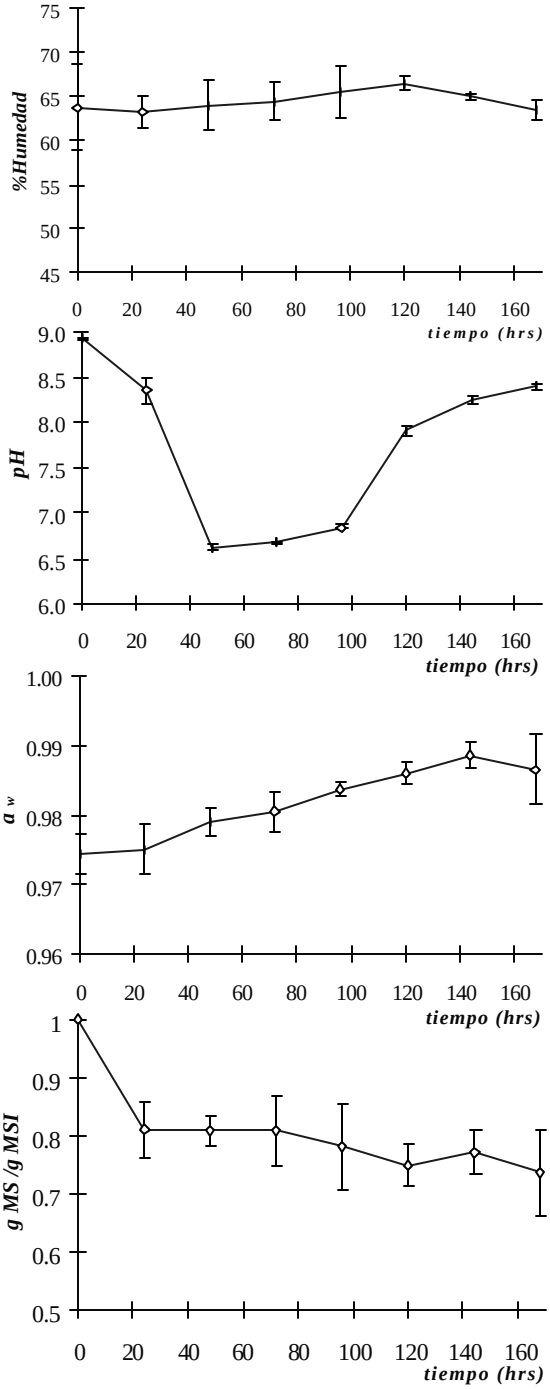








CINÉTICAS DURANTE EL COMPOSTEO DEL SUELO LAVADO DE: *humedad, pH, a_w y pérdida de materia seca*



REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- **Aguilera, V.L** (1998). *Escalamiento de biorreactores para co-composteo de suelos contaminados con petróleo*. Tesis para obtener el grado de Maestría en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.

- **Attwod, D; Florence, A.T.** (1983). *Surfactant systems. Their Chemistry, Pharmacy and Biology*. (Chapman, H. Ed.) New York, pp 345-450.

- **Baker, H. K; Herson, S.D** (1994). *Bioremediation*. Mc Graw-Hill Publishing Company, New York, pp 173-195.

- **Bates, R.L; Jackson J.A** (1984). *Dictionary of Geologic Terms.* 3ed. Anchor Books, Doubleday, New York.

- **Beaudin, R.F; Legros, R; Ramsay, J; Lawlor, L; Ramsay, B** (1996). *Cocomposting of weathered hydrocarbon- contaminated soil*. Compost Science & Utilization. Vol. 4, pp. 37-45.

- **Bitton, G; Gerba, C.P** (1984). *Groundwater Pollution Microbiology*. John Wiley & Sons, New York, pp 23-50.

- **Blackburn, J.W; William R. H** (1993). *The impact of biochemistry, bioavailability and bioactivity on the selection of bioremediation techniques*. TIBTECH. Vol. II, pp 328-333.

- **Booman, K.A; Daugherty, D.E; Hagler, A.T** (1965). *Degradation studies on branched-chain EO surfactants.* Soap Chem Specialties. Vol. 41, pp. 60-63.

- **Cepeda, D.J** (1991). *Química de suelos.* Ed. Trillas, México D.F, pp 11-57.

- **Cookson, J.T. Jr** (1995) *Bioremediation Engineering*. McGraw-Hill Publishing Company, New York.

- **Crook, E.B; Fordyce, D.B; Trebbi, G.F** (1965) *J. Colloid Interface Sci*. Vol. 20, pp.191-193.

- **Chiou, C.T** (1989) *Reaction and movement of organic chemicals in soils*. Soil Science Society of America, Madison, WI.

- **Dagley, S** (1986) *Biochemistry of aromatic hydrocarbon degradation in Pseudomonas*. The bacteria. Vol. X, Academic Press, pp. 527-555.

- **Díaz, G.G; Vázquez, B.A; Ponce, V. G** (1993). *Hidrocarburos Poliaromáticos en áreas costeras del Golfo de México*. Revista interna de Hidrobiología Universidad Autonoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, Vol. 3 pp 1-15.

- **Dikie, J.P; Yen, T.F** (1967). *Macrostructures of the asphaltic fractions by various instrumental methods*. Anal. Chem, Vol. 39, pág 1847.

- **Doelle, H.W; Mitchell D.A; Rolz, C.E** (1992). *Solid substrate cultivation*. Ed. Elsevier Applied Science, London and New York, pp 211-245.

- **Dragun, J** (1988). *The Soil Chemistry of Hazardous Materials*. Hazardous Materials Control Research Institute, Silver Springs, Md.

- **Edwards, D.A; Luthy, G.R; Adeel, Z** (1994***a***). *Distribution of Nonionic Surfactant and Pheneanthrene in a Sedimen/Aqueos System*. Environ. Sci. Technol, Vol. 28, pp 1550-1560.

- **Edwards, D.A; Luthy, G.R; Liu, Z** (1991) *Solubilization of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Micellar Nonionic Surfactant Solutions*. Environ.Sci.Technol, Vol 25, pp 127-133.

- **Edwards, D.A; Luthy, G.R; Liu, Z** (1994***b***). *Experimental Data and Modeling for Surfactant Micelles, HOCs, and Soil*. J. Environ. Eng, Vol. 120, pp 23-35.

- **Espinat, D** (1993) *Colloidal structure of asphaltenes solutions and heavy-oil fractins studied by small-angle neutron and X-ray scattering*. SPE No. 25187. New Orleans., pp. 365-373.

- **Fowkes, F.M** (1964) *Attractive forces at interfaces*. Ind. Eng. Chem. Vol. 56 pp 40-52.

- **Gibson, S.A; Subramanian, V** (1984) *Microbial Degradation of Aromatic Hydrocarbons.* In Microbial degradation of organic compounds. (Gibson, D.T & Marcel, D Eds.) New York; pp. 181-252.

- **Giles, H; MacEwan, T; Nakhwa, S; Smith, D** (1960). *Adsorption of solids from solution*. J.Chem. Soc. pág 3973.

- **Harasawa, F; Saito, T; Nakajima, H; Fukushima, S.J** (1980). *Colloid Interface Sci*. Vol. 74, pág 435.

- **Hayase, K; Hayano, S** (1977). *Bull. Chem. Soc. Jpn.* Vol. 50, pág 83.

- **Hogan, J. A; Toffoli, G.R; Miller, F.C; Hunter, J.V; Finstein, M.S** (1988). *Composting physical model demonstration: Mass balance of hydrocarbons and PCBs*. Presented at the International Conference on Physicochemical and Biological Detoxification of Hazardous Wastes. (Wu, X.C. Ed.), Technomic Publication, Lancaster, Pa; Vol II, pp 742-758.

- **Huddleston, R.L** (1965). *Biodegradability of ethoxylated alkyl phenol surfactants.* JAOCS Vol. 42, pp 983-986.

- **Huling, S.G** (1989) *Facilitated Transport*. EPA Superfund Ground Water and Soils Issue, EPA/540/4-89/003; Robert S. Kerr Environmental Laboratoy, Ada, OK.

- **Karickhoff, S.W** (1981). *Semi-empirical estimation of sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments and soils.* Chemosphere, Vol. 10, pp.833-846.

- **Keryou, K; Koh, C; Yates, M; Readman, J** (1982). *Fundamentals of adsorption. Adsorption of ethoxylated alkylphenols*. (Rouquerol, J. and Sing K.S Eds.), Elsevier Santa Barbara Calif, pp. 403-413.

- **Kozarac, Z.A; Hrsák, D; Cosovic, D; Vrzlna J** (1983). *Electroanalytical determination of the biodegradation of nonionic surfactants.* Environ. Sci. Technol, Vol. 17, pp. 268-272.

- **Laha, S; Luthy R.G** (1992) *Effects of nonionic surfactants on the solubilization and mineralization of phenanthrene in soil-water systems.* J. Biotech & Bioeng, Vol. 40, pp. 1367-1380.

- **Lashen, E.S; Blankenship, K.A** (1966). *Biodegradation studies on a p-t-octylphenoxypolyethoxyethanol*. JAOCS ,Vol. 43, pp. 371-376.

- **Levitz,P; Van Damme,H.J** (1986). *Phys.Chem*. Vol. 90, pp.1302.

- **Liu, Z; Edwards, D; Luthy, R** (1992). *Sorption of non-ionico surfactants onto soil*. Wat. Res, Vol. 26, No. 10, pp 1337-1345.

- **Liu, Z; Laha, S; Luthy, R.G** (1991). .*Surfactant solubilization of polynuclear aromatic hydrocarbon*. Water Sci.Tech, Vol. 23, pp. 475-485.

- **Mansoori, G.A** (1995). *Arterial blockage in the petroleum and natural gas industries- heavy organics (asphaltene/bitumen, resin, organometallics, paraffin/wax, diamondoids, etc.) deposition from petroleum fluids*. An INTERNET publication. http://www. uic.edu/~mansoori/HOD_html.

- **Mansoori, G.A** (1996). *Asphaltene, resin, and wax deposition from petroleum fluids*. J. Arab Sci & Eng, Vol. 21, No 48, pp. 707-723.

- **Martin, A** (1994). *Biodegradation and Bioremediation*. Academic Press. Inc San Diego California.

- **McKenna, E** (1976). *Biodegradation of polynuclear aromatic hydrocarbon pollutants by soil and water microorganisms.* Final Report, Project No. A-073-ILL, University of Illinois, Water Resources Center.

- **Means, J.C; Wood, S.G; Hassett J.J; Banwart W.L** (1980*) Sorption of polynuclear aromatic hydrocarbons by sediments and soils*. Environ. Sci. Technol, Vol. 14 pp.1524-1528.

- **Mercer, J. W; Skipp, D.C; Ross, R.R** (1990). *Basics of Pump and Treat Ground-Water Remediation Technology*. United States Enviromental Protections Agency , (Ed. Robert S.Kerr) Environmental Research Laboratory, Ada, Okla., EPA-600/8-90/003.

- **Morrison, R.T; Boyd, R.N** (1990). *Química orgánica*. Addison-Wesley Iberoamericana.

- **Partyka,S; Zaina, S; Lindheimer, M; Brun, B** (1984) *Colloid Surf*, Vol.12, pág 255.

- **Perry, H.R; Green, D** (1984). *Perry´s Chemical Engineers´ Handbook*. Mc Graw Hill, United States of America.

- **Phelps, T.J; Niedzvelski, J.J; Schram, R. M; Herbes, S.E; White, D.C** (1990). *Biodegradation of trichloroethylene in continuos recycle expanded-bed bioreactors*. Appl. Environ. Microbiol, Vol. 56, pp. 1702-1709.

- **Pirt, S.J** (1975). *Principles of microbe and cell cultivation*. BlackWell Scientific Publications, Gran Bretaña, pp. 81-83.

- **Rainwater, K; Scholze, R.J** (1991). *In-situ biodegradation for treatment of contaminated soil and groundwater*. In Biological process-Innovative hazardous waste treatment technology series. (Freeman, H.M; Sferra, P.R. Eds) Vol. 3, pp. 107-122.

- **Ratledge, C** (1978). *Degradation of aliphatic hydrocarbons*. In Developments in biodegradation of hydrocarbons. (Watkinson, R.J. Ed.) Vol. 1, Applied Science, London, pp. 1-46.

- **Ruiz, C.J; Dobarganes G.M** (1978). *Biodegradation of nonionic surfactants in river water and determination of their bioegradability by different test methods*. Grasas Aceites. Vol. 29, pp. 1-8.

- **Saucedo, C, Trejo, H** (1994). *On-line Automated Monitoring and Control Systems for CO_2 and O_2 in Aerobic and Anaerobic Solid-State Fermentations*. Proc Biochem Vol. 29, pp. 13-24.

- **Schwarzenbach, R.P; Gschwend, P.M; Imboden, D.M** (1993) *Environmental organic chemistry*. John Wiley & Sons, New York pp. 255-341.

- **SDA Biodegradation Subcommittes** (1969). *The status of biodegradability testing of nonionic surfactants.* JAOCS, Vol. 46, pp. 432-440.

- **Sims, R.C; Overcash, M** (1981). *Environmental Aspects of Coal Conversion Technology VI.* A symposium on Coal-Based Synfuels. EPA Report No. EPA-600-9-82-017. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., pp. 218-230.

- **Somasundaran, P; Snell, E.D; Xu, Q** (1991). *J.Colloid Interface Sci*. Vol. 20, No. 191.

- **Swisher, R.D** (1987). *Surfactant biodegradation*. In Surfactant science. (Ed. Marcel Dekker) New York, Vol. 3, pp. 692-733.

- **Tanford, C** (1980). *The Hydrophobic Effect: Formation of Micelles and Biological Membranes*. 2nd Ed. John Wiley and Sons New York.

- **Tiehm A** (1994). *Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Presence of Synthetic Surfactants.* Appl. Environ. Microbiol., pp 258-263.

- **Trudgill, P.W** (1984). *Microbial degradation of the alicyclic ring: Structural relationships and metabolic pathways*. In Microbial degradation of organic compounds. (Gibson, D.T. Ed.),.New York, pp. 131-180.

- **Valoras, N; Letey, J; Osborn, J.F** (1969). *Adsorption on nonionic surfactants by soil materials*. Soil Sci. Soc. Am. Proc. Vol. 33, pp 345-348.

- **Volkering F; Breure, A.M; van Andel, J; Rulkens, W.H** (1995). *Influence of nonionic surfactants on bioavailability and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons*. Appl. Environ. Microbiol, pp. 1699-1705.

- **Wackett L. P; Brusseau, G.A; Hueseholder, S.R; Hansen, R.S** (1989*). Survey of Microbial Oxigenase: Trichloroethylene Degradation by Propane-Oxidizing Bacteria*. Appl. Environ. Microbiol., Vol 55, pp 2960-2964.

- **Wallnöfer, P.R; Hutzinger, O; Engelhardd, G** (1984) *Handbook of microbiology* (Eds. Laskin, A.J. and Lechavelier H.A), Vol. VIb. CRC Press, Cleveland.

- **Wang, Z; Finga, M; Li, K** (1994). *Fractionation of a crude oil and identification and quantitation of aliphatic, aromatic and biomarker compounds by GC-FID and GC-MS.* Journal of Chromatographic Science, Vol. 32, pp. 361-366.

- **William, D; Hubert, F.J** (1930) *A method for the determination of surface and interficial tension from the maximum pull on a ring*. J. Chem. Amer, Vol. 52, pp. 1751-1767.

- **Yen, T.F** (1994). *Multiple structural orders of asphaltenes.* In Asphaltenes and asphalt 1. Development in Petroleum Science, 40. (Yen T.F and Chilingarian G.V Eds.), Elsevier Science.

- **Zehnder, J.B; Edward, J.B** (1993). *Bioremediation of organic compounds, putting microbial metabolism to work*. TIBTECH. Vol. II, pp. 360-367.