

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
IZTAPALAPA



Casa abierta al tiempo

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

**ESTUDIO Y MODELAMIENTO MATEMÁTICO DE LA
BIODEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS EN BIORREACTORES
HETEROGÉNEOS**

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA

M. en B. SERGIO ALEJANDRO MEDINA MORENO

Comité Tutorial.

Dr. MARIANO GUTIÉRREZ ROJAS

Director de Tesis

Dr. SERGIO HUERTA OCHOA

Asesor

Dr. FELIPE LÓPEZ ISUNZA

Asesor


El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud
de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis que presentó

Sergio Alejandro Medina Moreno

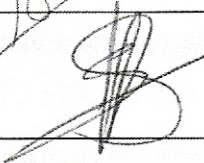
El día 11 de Enero del 2006

Comité Tutorial:

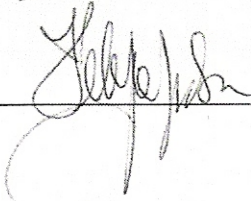
Tutor: Dr. Mariano Gutierrez Rojas




Asesor: Dr. Sergio Huerta Ochoa



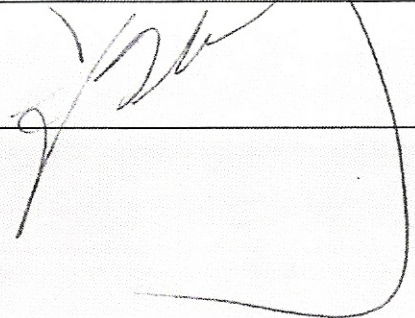
Asesor: Dr. Héctor Felipe López Isunza



Sinodal: Dr. Juvencio Galíndez Mayer



Sinodal: Dr. Luis Bernardo Flores Cotera



ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CONTENIDO.....	<i>i</i>
AGRADECIMIENTOS.....	<i>vi</i>
RESUMEN.....	<i>vii</i>
ABSTRACT.....	<i>viii</i>
1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	1
1.1 IMPACTO DE LA ACTIVIDAD PETROLERA SOBRE EL MEDIO AMBIENTE.....	1
1.2 HIDROCARBUROS TOTALES DEL PETRÓLEO.....	2
1.2.1 Propiedades fisicoquímicas y rutas microbianas de degradación de hidrocarburos.....	2
1.2.2 Biodegradación microbiana de contaminantes orgánicos y modelos cinéticos.....	8
1.3 BIODISPONIBILIDAD.....	11
1.3.1 Mecanismos que afectan la biodisponibilidad de contaminantes orgánicos.....	11
1.3.2 Sorción de contaminantes orgánicos.....	14
1.4 BIORREMEDIACIÓN Y BIORREACTORES.....	17
1.4.1 Tecnologías de biorremediación.....	18
1.4.2 Biorreactores de dos fases líquido-líquido.....	22
1.4.3 Modelos matemáticos para la biodegradación de contaminantes orgánicos en sistemas líquido-líquido.....	24
1.4.4 Biorreactor de lodos.....	26
1.4.5 Mezclado en reactores de lodos.....	28

1.4.6 Modelos matemáticos de la biodegradación de contaminantes orgánicos en sistemas de lodos.....	31
2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.....	34
3. OBJETIVOS.....	35
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	35
3.2 OBJETIVOS PARTICULARES.....	35
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	36
ESTRATEGIA EXPERIMENTAL.....	36
4.1 CONSORCIO DEGRADADOR DE HIDROCARBUROS Y BIORREACTORES DE DOS FASES LÍQUIDO-LÍQUIDO (BLL).....	37
4.1.1 Consorcio, medio mineral e hidrocarburos.....	37
4.1.2 Biorreactores tubulares de dos fases líquido-líquido (BLL).....	37
4.1.3 Transferencia y consumo de oxígeno en los BLL.....	
4.1.4 Sólidos suspendidos (SS) y carbono orgánico soluble (COS) en los BLL.....	39
4.1.5 Análisis microbiano en los BLL.....	39
4.1.6 Bioensayo de biodegradación y mineralización de HTPs.....	40
4.1.7 Análisis de hidrocarburos.....	40
4.2 BIORREACTOR DE LODOS (BLD) Y CONDICIONES ABIÓTICAS DE OPERACIÓN.....	41
4.2.1 Suelo.....	41
4.2.2 Configuración del BLD.....	42
4.2.3 Consumo de potencia, dispersión y suspensión de sólidos en el BLD.....	43
4.2.4 Transferencia de oxígeno bajo condiciones abióticas en el BLD.....	44

4.3 CINÉTICAS DE BIODEGRADACIÓN EN EL BIORREACTOR DE LODOS (BLD)	44
4.3.1 Consorcio, medio mineral y suelo	44
4.3.2 Arranque, operación y muestreo del BLD	46
4.3.3 Determinación de COS, CO₂ y O₂ en el BLD sin tolueno	47
4.3.4 Análisis microbiano en el BLD	47
4.3.5 Análisis de HTPs en el BLD	47
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
5.1 BIORREACTORES DE DOS FASES LÍQUIDO-LÍQUIDO (BLL)	48
5.1.1 Pérdida abiótica de hidrocarburos	48
5.1.2 Transferencia y consumo de oxígeno	50
5.1.3 Producción de sólidos suspendidos (SS) y carbono orgánico soluble (COS)	52
5.1.4 Biodegradación de hidrocarburos en los BLL	54
5.1.5 Balances de carbono y mineralización de hidrocarburos en los BLL	57
5.1.6 Crecimiento e identificación de microorganismos en los BLL	60
5.1.7 Biodegradación de HTPs libres de asfaltenos por el consorcio proveniente de los BLL	61
5.2 MODELADO Y SIMULACIÓN DE LA BIODEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS EN UN BLL	63
5.2.1 Desarrollo del modelo fenomenológico de biodegradación de hidrocarburos en un BLL	64
5.2.1.1 Balance de masa de los hidrocarburos no solubles en la FLNA	65

5.2.1.2 Balance de masa de los hidrocarburos solubles en la FLA.....	68
5.2.1.3 Producción de biomasa, CO ₂ y metabolitos solubles.....	68
5.2.1.4 Consumo de oxígeno	70
5.2.2 Análisis adimensional del modelo de biodegradación de hidrocarburos en un BLL.....	73
5.2.3 Estimación de parámetros, solución numérica y predicciones del modelo para la biodegradación de la MCP en los BLL.....	76
5.2.4 Análisis de biodisponibilidad en los BLL.....	82
5.2.5 Simulación y sensibilidad paramétrica del modelo de biodegradación en los BLL	86
5.3 CARACTERIZACIÓN ABIÓTICA Y CINÉTICAS DE BIODEGRADACIÓN EN EL BLD.....	94
5.3.1 Análisis de la distribución de la concentración de HTPs y sus fracciones en función del tamaño de las partícula de suelo.....	94
5.3.2 Consumo de potencia sin aireación en el BLD.....	97
5.3.3 Consumo de potencia con aireación en el BLD.....	99
5.3.4 Transferencia de oxígeno en el BLD.....	102
5.3.5 Cinéticas de biodegradación de HTPs en el BLD.....	105
5.4 MODELADO Y SIMULACION DE LA BIODEGRADACIÓN DE HTPs EN UN BIORREACTOR DE LODOS (BLD).....	109
5.4.1 Desarrollo del modelo fenomenológico de biodegradación de HTPs en el BLD.....	109
5.4.1.1 Balance de HTPs al interior de la partícula de suelo.....	112

5.4.1.2 Balance de HTPs en el seno de la fase líquida acuosa.....	118
5.4.1.3 Balance de biomasa y productos en el seno de la fase líquida acuosa.....	120
5.4.2 Análisis adimensional y solución numérica del modelo de biodegradación de HTPs en el BLD.....	122
5.4.3 Predicción y simulación de la biodegradación de HTPs en el BLD mediante el modelo DSB.....	130
5.4.3.1 Predicción del modelo para la biodegradación de HTPs en el BLD.....	130
5.4.3.2 Predicción del modelo para la biodegradación de HTPs en el BLD con pretratamiento de tolueno.....	134
5.4.3.3 Simulación de la biodegradación de HTPs en el BLD.....	136
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	141
6.1 CONCLUSIONES.....	141
6.2 RECOMENDACIONES.....	143
7.REFERENCIAS.....	144
8.ANEXOS.....	154
ANEXO I. Nomenclatura.....	154
ANEXO II. Programas en <i>Matlab</i> para la solución numérica de los modelos.....	160
ANEXO III. Diferencias finitas en coordenadas cilíndricas y esféricas.....	172
ANEXO IV. Artículo.....	174

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Residuos Sólidos del Departamento de Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. Agradezco profundamente al Dr. Mariano Gutiérrez Rojas por su dirección en el presente proyecto. Este trabajo también se realizó con el apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

Para el Dr. Sergio Huerta Ochoa del Departamento de Biotecnología y el Dr. Felipe López Isunza del Departamento de Ingeniería de Procesos e Hidráulica, les expresé un sincero agradecimiento por haber aceptado asesorar la tesis, compartiendo su experiencia e inquietudes para el desarrollo y terminación del presente trabajo.

Agradezco también por su apoyo incondicional a mis compañeros Ildefonso, Erika, Nancy y Ana. Finalmente, agradezco y brindó todo mi cariño y amor a los dos tesoros de mi vida, mi esposa Angie y mi hijo David, quiénes fueron el motivo principal para alcanzar esta meta en mi vida.

RESUMEN

Se desarrollaron dos modelos para la predicción en la biodegradación de hidrocarburos en biorreactores heterogéneos. El primer modelo se basó en las biorreacciones de consumo de sustrato y formación de productos que suceden en la fase líquida acuosa, y el transporte por convección de hidrocarburos y oxígeno en interfases líquido-líquido y líquido-gas respectivamente. Este primer modelo fue capaz de describir la biodegradación de una mezcla de crudo maya parafinas en un biorreactor de dos fases no miscibles líquido-líquido (BLL). El modelo también permitió proyectar el comportamiento del BLL bajo diferentes condiciones de operación bióticas y abióticas. Por otra parte, la operación secuencial durante 20 ciclos y en condiciones de limitación de oxígeno del BLL, permitió mejorar la capacidad de un consorcio microbiano para biodegradar una mezcla de crudo maya y parafinas, produciendo un patrón de biodegradación estable a partir del cuarto ciclo de operación del biorreactor. Además, el consorcio microbiano proveniente del BLL fue capaz de biodegradar y mineralizar sin inhibición, a una mezcla hidrocarburos totales del petróleo libre de asfaltenos.

Se llevaron a cabo estudios de consumo de potencia y suspensión de sólidos para el biorreactor de lodos (BLD) utilizado en la biodegradación de hidrocarburos totales del petróleo de un suelo con un alto nivel de intemperización. Los estudios mostraron que un impulsor de flujo descendente con paletas planas y 45° de inclinación, fue el que presentó el mejor desempeño en lo referente al consumo de potencia y suspensión efectiva de sólidos. Simultáneamente, se llevaron a cabo estudios en el transporte por convección de oxígeno en el BLD, determinándose que para cargas de sólidos hasta de un 10% p/v, los intervalos en los valores de la velocidad del impulsor ($N \text{ min}^{-1}$) y gasto de aire ($Q \text{ L min}^{-1}$), en los que se alcanzaron los valores más altos del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_L a \text{ h}^{-1}$) fueron $425 \leq N \leq 445$ y $5.25 \leq Q \leq 6.25$.

El segundo modelo desarrollado fue de difusión-sorción-biodegradación (DSB). El modelo fue capaz de predecir y describir la biodegradación de hidrocarburos totales del petróleo en el BLD para el suelo intemperizado en estudio. El modelo consideró un fenómeno de histéresis en los poros al interior de las partículas de suelo, en donde la trayectoria del equilibrio inicial de des-adsorción y solubilización de los HTPs (isoterma lineal), fue diferente a la trayectoria de un segundo equilibrio de re-adsorción (isoterma de Langmuir). El considerar para el segundo equilibrio una isoterma de tipo Langmuir, permitió explicar de manera clara el fenómeno de difusión retardada. Los modelos desarrollados pueden usarse como plataformas para la creación de criterios de diseño, así como para la determinación de las mejores condiciones de operación para la biodegradación de hidrocarburos mediante biorreactores heterogéneos.

ABSTRACT

Two models to predict the hydrocarbon biodegradation in heterogeneous bioreactors were developed. The first model was supported in liquid aqueous phase bioreactions such as substrate uptake and product formation, and hydrocarbons and oxygen convection transport in the liquid-liquid and liquid-gas interphases respectively. This first model was capable to describe the biodegradation of Maya crude oil-paraffin mixture in a two no miscible phase bioreactor (BLL). Furthermore, the model allowed projecting under different biotic and abiotic conditions the BLL behavior. On the another hand, the BLL sequential operation during 20 cycles under oxygen limited conditions, improved the capability of the microbial consortium to biodegrade a Maya crude oil-paraffin mixture, leading to stable pattern of biodegradation from the fourth operation cycle of the bioreactor. The microbial consortium coming from the BLL, also was capable of biodegrade and mineralize without inhibition a total petroleum hydrocarbons mixture free of asphaltens.

Power consumption and solid suspension studies in a sludge bioreactor (BLD) were carried out. The BLD was used to biodegrade the total petroleum hydrocarbons present in a weathered oil-contaminated soil. The studies showed that the flow descendent impeller with flat palettes and 45 degrees of inclination presented the better performance with respect to power consumption and effective solid suspension. Simultaneously studies of the oxygen convective transport in the BLD were carried out for soil loads until ten percent (w/v), being determined that the ranges in the impeller velocity (N , min^{-1}) and air flow (Q , L min^{-1}) that leading to the major values of the volumetric coefficient of oxygen transport ($k_L a$ h^{-1}) were $425 \leq N \leq 445$ and $5.25 \leq Q \leq 6.25$.

A diffusion-sorption-biodegradation (DSB) model also was developed. This second model was capable to predict and describe the biodegradation of total petroleum hydrocarbon from weathered contaminated soil in the BLD. The DSB model considered hysteresis phenomena inside of the soil particle porous, where the initial trajectory of equilibrium of solubility and de-adsorption (lineal isotherm) of the hydrocarbons is different to a second trajectory of re-adsorption (Langmuir isotherm). Considering a Langmuir isotherm for the second equilibrium, allowed explain the retarded diffusion phenomena. The developed models can be used as platform for the creation of design approaches, so as for the determination of the better operation conditions for the hydrocarbons biodegradation with heterogeneous bioreactors.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 IMPACTO DE LA ACTIVIDAD PETROLERA SOBRE EL MEDIO AMBIENTE

La población actual crece rápidamente, demandando cada vez un mayor uso de espacio, materiales y energía. Este crecimiento está acompañado de un incremento en los flujos de compuestos antropogénicos al medio ambiente. El término antropogénico, se refiere aquellos compuestos químicos introducidos a los ecosistemas debido a la actividad humana (Schwarzenbach et al., 1993).

Dos actividades que contribuyen al incremento en el flujo y uso de compuestos antropogénicos son: (i) la explotación, manejo y consumo de combustibles fósiles a nivel global la cual excede los 3,000 millones de toneladas volumétricas por año, y (ii) la producción de compuestos orgánicos derivados y/o sintéticos a partir del petróleo, la cual se ha incrementado exponencialmente desde las últimas décadas. Estas dos actividades, hacen suponer que la contaminación intencional o accidental provocada por compuestos antropogénicos seguirá sucediendo.

Dos ejemplos relativamente recientes y relevantes de percances debidos a manejo de compuestos antropogénicos como los combustibles fósiles son: (i) el derrame petrolero ocurrido el 24 de marzo de 1989 frente a las costas de Alaska en Prince William Sound, donde el tanque de almacenamiento de petróleo *Exxon Valdez* encalla, contaminando con petróleo alrededor de 1,300 kilómetros de la línea costera de Alaska, originando hasta ese momento el peor incidente petrolero en la historia de esta industria (Sugai et al., 1997), y (ii) el derrame ocurrido el 13 de Noviembre del 2002 frente a las costas de Galicia en España, donde el tanque petrolero *Prestige*, sufre un accidente que lo lleva a su hundimiento en el mar Atlántico a 3,500 metros de profundidad, con la liberación de alrededor de 30,000 m³ de crudo (DeValls, 2003). En ambos casos, el impacto de los derrames sobre el medio ambiente fue inicialmente aminorado por diferentes procesos naturales (atenuación natural) como la evaporación, disolución, dispersión y foto-oxidación, tal y como lo sugieren Sugai, et al. (1997). Sin embargo, aunque los ecosistemas poseen una capacidad inherente para recuperarse, esta es finita, y por lo tanto deben ser auxiliados.

La rapidez y magnitud de los flujos máxicos con que el hombre introduce el petróleo y sus derivados en los diferentes nichos ecológicos, lo ha conducido a la necesidad de tomar medidas preventivas y también al desarrollo de tecnologías capaces de remediar los daños causados al medio

ambiente. Es así, que el presente documento trata del estudio de la biodegradación de hidrocarburos totales del petróleo en sistemas heterogéneos, como una aportación al campo de la biorremediación. Debido a que los hidrocarburos totales del petróleo son los compuestos de estudio, en la siguiente sección se desarrolla una introducción referente a su composición, propiedades fisicoquímicas, así como de las principales vías metabólicas utilizadas por los microorganismos para su biodegradación.

1.2 HIDROCARBUROS TOTALES DEL PETRÓLEO

Los hidrocarburos totales del petróleo (HTPs), son una mezcla compleja de compuestos orgánicos, que se han subdividido en cuatro grandes grupos: *i*) asfaltenos (la fracción más pesada y viscosa), *ii*) hidrocarburos saturados e insaturados (parafinas y olefinas), *iii*) hidrocarburos aromáticos policíclicos (HPAs), y *iv*) compuestos polares de alto peso molecular ó resinas. Debido a la diversidad y naturaleza de los grupos que forman a los HTPs, su composición como contaminantes de fases naturales líquidas y/o sólidas, es una función del tiempo. Este cambio en su composición es inicialmente debido al efecto de mecanismos de atenuación natural como son la *volatilización*, *disolución*, *dispersión*, *foto-oxidación* y reacciones *bióticas*, todos son procesos que pueden llevarse de manera simultánea en el sitio contaminado. Sin embargo, aún después de la acción de los procesos de atenuación natural, fracciones importantes de los HTPs residuales llegan a permanecer durante largos periodos de tiempo *intemperizando* de esta manera al sitio contaminado. No obstante, una amplia diversidad de estos hidrocarburos, son susceptibles al ataque microbiano. Por lo tanto, una comprensión de los mecanismos de biotransformación microbiana de estos compuestos es relevante para el presente documento.

1.2.1 Propiedades fisicoquímicas y rutas microbianas de degradación de hidrocarburos

La transformación microbiana de las familias de compuestos orgánicos que conforman a los HTPs, frecuentemente se asocia con términos tales como detoxificación, degradación y mineralización (Cookson, 1995). La *detoxificación* puede definirse como la biotransformación de los compuestos contaminantes a una forma química menos tóxica. Por su parte, la *degradación* es referida a la desaparición del contaminante del sitio contaminado. Finalmente, la *mineralización* es referida a la oxidación completa del compuesto hasta CO₂ y H₂O (siempre que el proceso respiratorio sea aerobio). Es así, que la detoxificación y degradación son etapas previas a la mineralización. Para comprender como se llevan a cabo estas bio-transformaciones, deben conocerse las propiedades

físicoquímicas de los diferentes grupos que integran a los HTPs, así como las rutas metabólicas para su transformación.

Tabla 1.1 Géneros de los principales microorganismos degradadores de parafinas

<i>Acinetobacter</i>	<i>Flavobacterium</i>
<i>Actinomyces</i>	<i>Hansenula</i>
<i>Achromobacter</i>	<i>Hyphomicrobium</i>
<i>Aeromonas</i>	<i>Methylobacter</i>
<i>Alcaligenes</i>	<i>Micromonospora</i>
<i>Arthrobacter</i>	<i>Mycobacterium</i>
<i>Aspergillus</i>	<i>Nitrosomas</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Nocardia</i>
<i>Beneckea</i>	<i>Phanerochaete</i>
<i>Berijerinckia</i>	<i>Pichia</i>
<i>Brevibacterium</i>	<i>Pseudomonas</i>
<i>Candida</i>	<i>Rhodotorula</i>
<i>Corynebacterium</i>	<i>Saccharomyces</i>
<i>Cryptococcus</i>	<i>Vibrio</i>
<i>Debaryomyces</i>	<i>Xanthobacter</i>

Los hidrocarburos saturados e insaturados, están presentes como contaminantes del medio ambiente en forma de parafinas y olefinas de cadena larga (C₂₀-C₃₄). Los puntos de fusión de estos compuestos, se encuentran en un intervalo de 40-55°C. Dentro de este grupo de hidrocarburos, también se encuentran compuestos alicíclicos complejos denominados naftenos (C₁₀-C₃₀). Bajo condiciones de metabolismo aerobio, las parafinas son degradados por una extensa variedad de microorganismos. En el medio ambiente, suele encontrarse una gran diversidad de poblaciones microbianas capaces de utilizar 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 1.1**.

La ruta más común en la degradación de parafinas es la *oxidación del grupo terminal metilo*, la cual es llevada a cabo por dos tipos de enzimas: monooxigenasas y dioxigenasas (Wackett et al., 1989). Las parafinas en condiciones aerobias, son oxidadas a alcoholes y posteriormente a sus ácidos grasos correspondientes. Estos últimos a su vez son utilizados en la ruta catabólica de la *β-oxidación* (Bitton y Gerba, 1984) tal como se muestra en la **Figura 1.1a**.

En esta ruta, unidades de dos carbonos son removidos del ácido graso para la formación del acetil CoA, metabolito que posteriormente entra al ciclo de los ácidos tricarboxílicos, ciclo que genera el potencial de reducción (NADH) necesario en cadena respiratoria para la obtención de energía (ATP), con la consecuente mineralización hasta CO₂ y H₂O de la parafina.

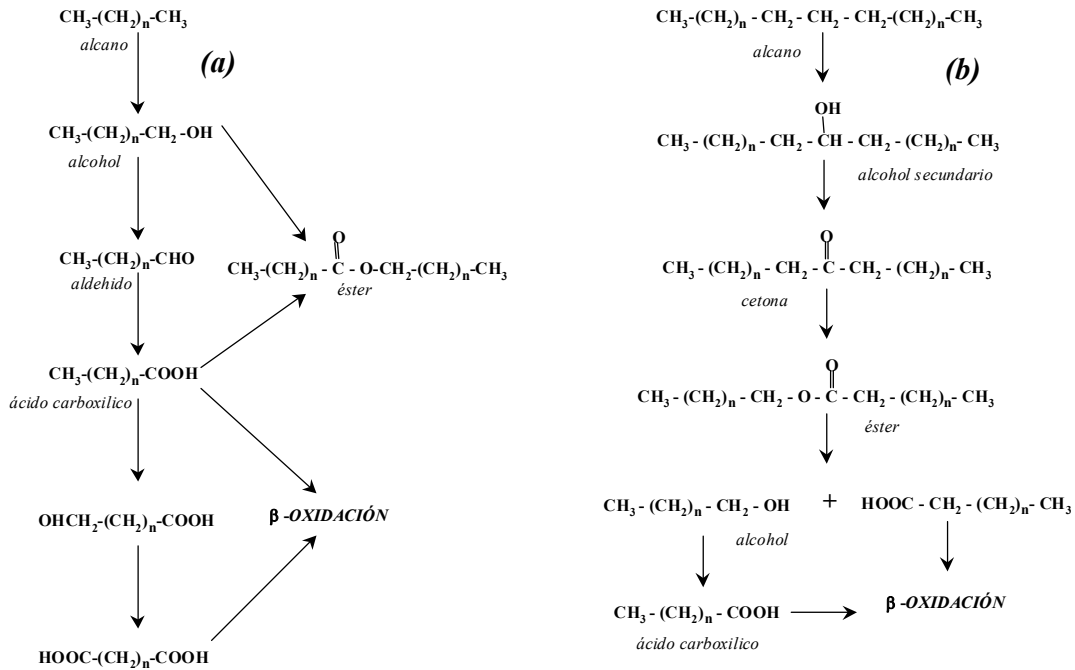


Figura 1.1. Rutas de biodegradación de parafinas. a) Oxidación al grupo terminal metilo
b) oxidación subterminal

Otra ruta alterna a la oxidación del grupo terminal metilo, es la oxidación subterminal (Bitton y Gerba, 1984), la cual se presenta en menor medida y también conduce a la β-oxidación (**Figura 1.1 b**). La degradación de las olefinas 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 olefinas en general es menor y menos específica a la de las parafinas, rindiendo productos tales como alcoholes

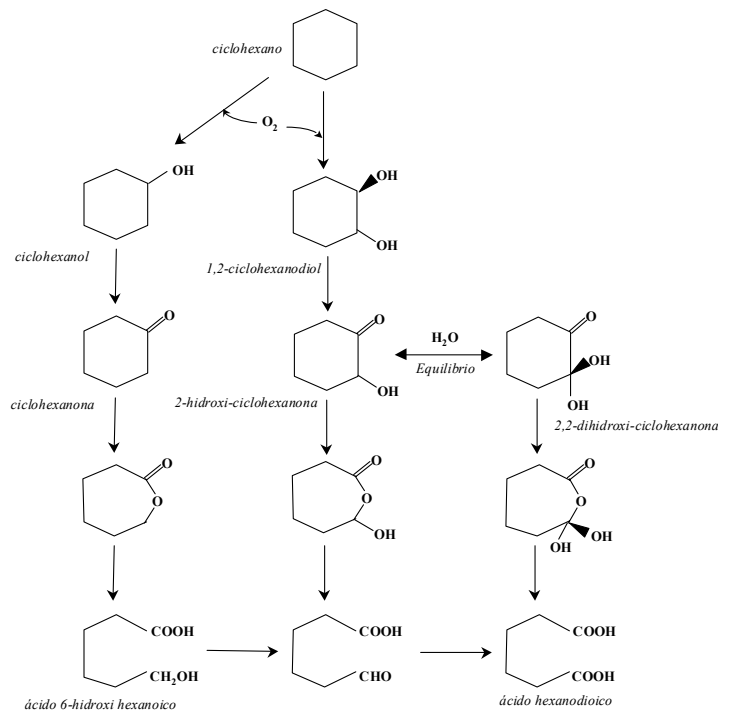


Figura 1.2. Rutas de biodegradación de compuestos alicíclicos

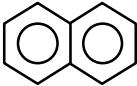
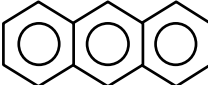
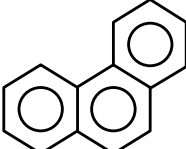
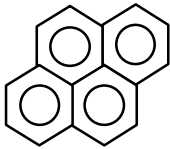
secundarios, metilcetonas, epóxidos y 1,2 dioles. Sin embargo, la oxidación del grupo metilo es considerada la ruta de mayor degradación tanto para parafinas como para olefinas (Zehnder y Edward, 1993). En lo que se refiere a los hidrocarburos con cadenas ramificadas, estos son menos susceptibles a la degradación, sin embargo algunos microorganismos son capaces de utilizarlos como única fuente de carbono y energía (Cookson, 1995). Finalmente, la degradación de compuestos alicíclicos o naftenos, se basa en la hidroxilación, rindiendo un cicloalcanol y posteriormente una cicloalcanona (Trudgill, 1984) los cuales son fácilmente metabolizados por un gran número de microorganismos como se ilustra en la **Figura 1.2**.

Los *hidrocarburos poliaromáticos (HPAs)*, están relacionados con la refinería y destilación del petróleo, así como con la quema de combustibles. Un gran número y concentración de HPAs puede encontrarse como contaminantes en suelos y sedimentos cercanos a refinерías (Díaz et al., 1993). Las propiedades físicas así como la estructura de los principales HPAs, se presentan en la **Tabla 1.2**.

La degradación oxidativa de los HPAs es llevada a cabo tanto por bacterias como hongos filamentosos. Sin embargo, el efecto del número de anillos fusionados, los grupos alquilo substituidos y la posición de estos últimos en la oxidación de los HPAs determina las rutas, esto 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 para la biodegradación de una gran variedad de HPAs (Gibson y Subramanian, 1984; Dagley, 1986; Zehnder y Edward, 1993).

Todas las rutas de degradación aerobia de los HPAs, comienzan con la oxidación en los sitios 1,2 de alguno de los anillos fusionados, produciendo alcoholes 1,2 dihidropoliaromáticos. Ya abierto uno de los anillos, prosigue una serie de ataques sucesivos a los demás anillos para fisionarlos y así generar compuestos más fácilmente metabolizables como el catecol. Este último es un intermediario común en la rutas metabólicas de degradación microbiana de HPAs. La degradación de los compuestos aromáticos policíclicos, por medio de este tipo de rutas, ha sido confirmada para géneros de bacterias tales como *Aeromonas*, *Beijerinckia*, *Flavobacterium* y *Pseudomonas* (Cookson, 1995). En la **Figura 1.3** se muestran las principales rutas oxidativas para la degradación de HPAs como el naftaleno y fenantreno.

Tabla 1.2. Propiedades fisicoquímicas de los hidrocarburos poliaromáticos (HPAs)

Nombre y estructura	Peso Molecular	Gravedad específica	Punto de fusión (°C)	Punto de ebullición (°C)	Solubilidad en agua (mg·L ⁻¹)
 <i>Naftaleno</i>	128.28	1.145 ^{20°C}	80.2	217.9	30
 <i>Antraceno</i>	178.22	1.25 ^{20°C}	217-218	340-342	0.05
 <i>Fenantreno</i>	178.2	1.179 ^{20°C}	99-100	340	1.1
 <i>Pireno</i>	202.24	1.277 ^{20°C}	149-150	>360	0.13

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 más átomos de carbono o hidrógeno substituidos por átomos de halógenos, oxígeno, nitrógeno o azufre. Los hidrocarburos polares que se encuentren como contaminantes en suelos y sedimentos, son compuestos de alto peso molecular, con altos puntos de ebullición y solubilidades relativamente altas en solventes polares (Cookson, 1995). Este tipo de hidrocarburos, se encuentra fuertemente asociado al grupo de los asfaltenos.

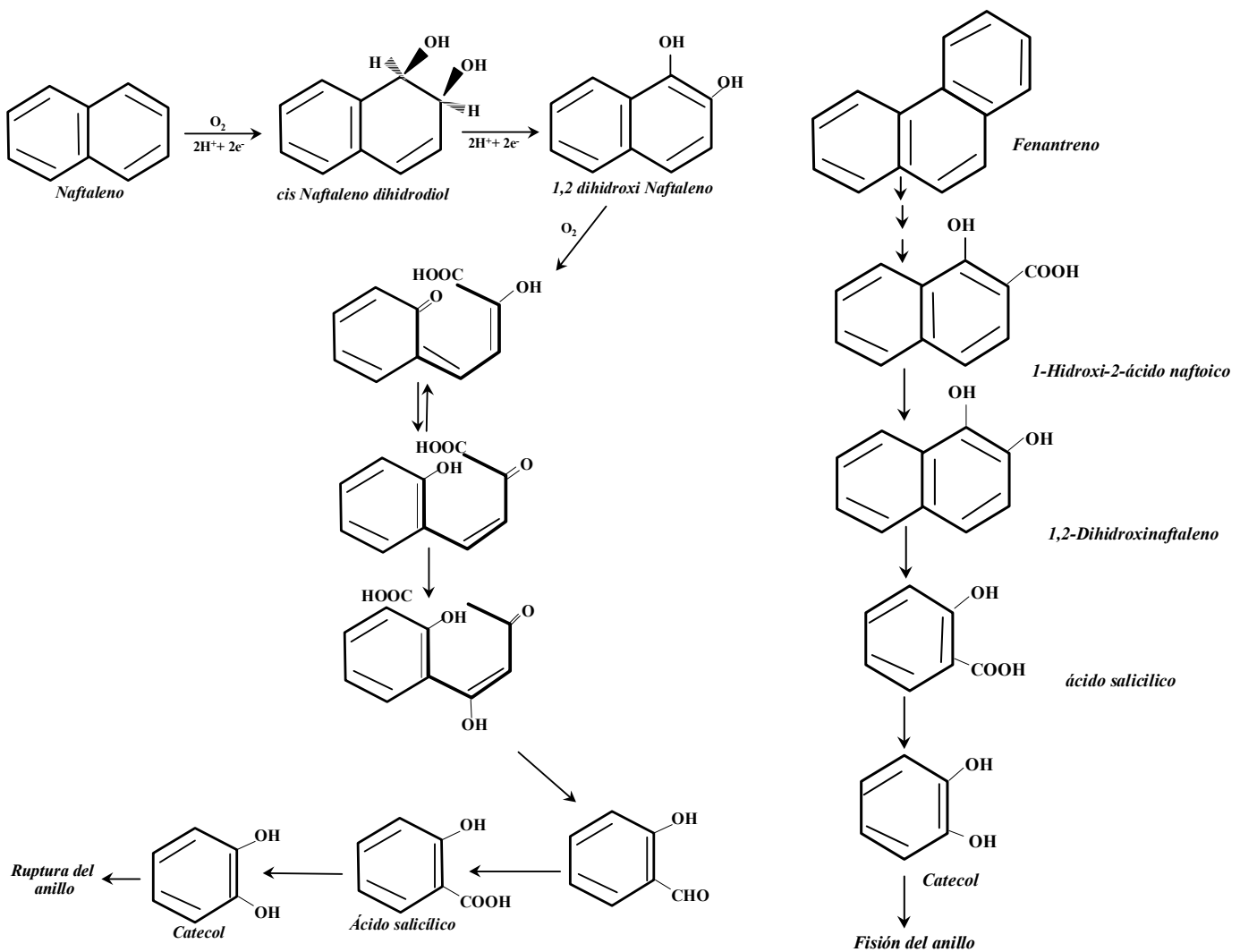


Figura 1.3. Rutas oxidativas de degradación microbiana del naftaleno y fenantreno

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 *n*-alcanos de bajo punto de ebullición como son el *n*-pentano y el *n*-hexano. Existe una relación íntima entre los asfaltenos, resinas e hidrocarburos policíclicos de alto peso molecular, siendo natural suponer que los asfaltenos podrían formarse como resultado de las reacciones abióticas de estos compuestos. Algunas propiedades químicas de los asfaltenos son: *i*) su hidrogenación produce hidrocarburos poliheterocíclicos aromáticos (hidrocarburos policíclicos aromáticos con átomos de carbono substituidos por átomos de oxígeno, azufre y nitrógeno), *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 la estructura poliaromática de estos componentes.

Se han realizado esfuerzos considerables para caracterizar los asfaltenos mediante análisis de estructura química y análisis elemental (Espinat, 1993; Yen, 1994; Mansoori, 1996; Strausz et al., 1999). Estos análisis, han conducido a modelos estructurales como los que se muestran en la **Figura 1.4**.

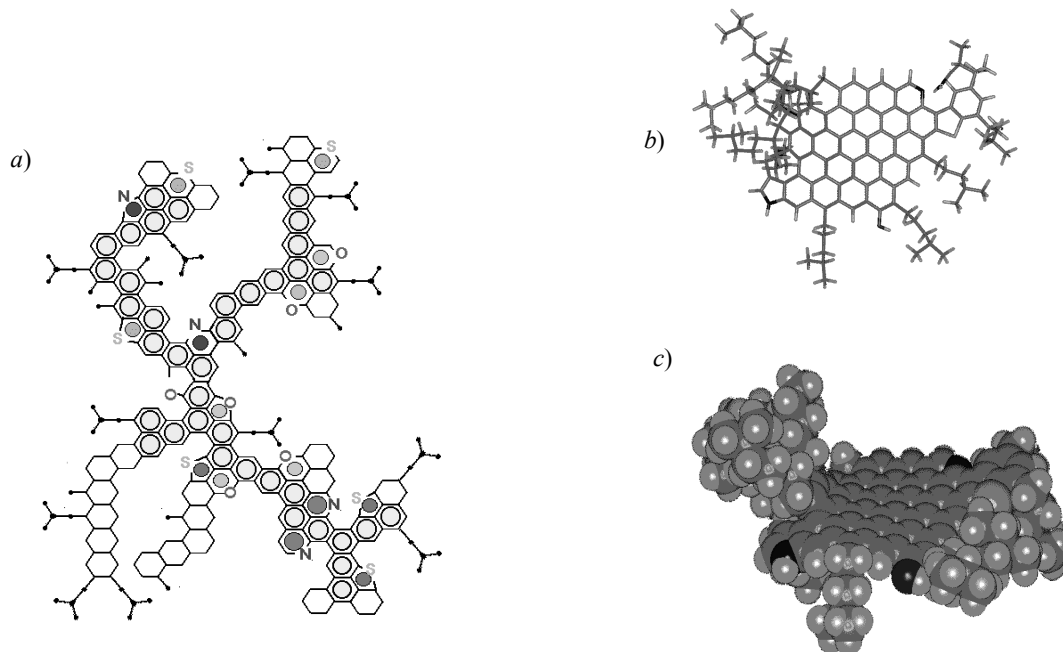


Figura 1.4 Modelos propuestos para la estructura química de los asfaltenos. *a)* modelo bidimensional; *b)* y *c)* modelos tridimensionales

Debido a su complejidad estructural, los asfaltenos son considerados los de mayor recalcitrancia, y por lo tanto los menos susceptibles a ser degradados por actividad microbiana. No obstante, existen estudios en los que se reporta la modificación a su estructura debido a la actividad microbiana (Pendry, 1989), así como de la factibilidad de ser biodegradados mediante la acción combinada de microorganismos con mecanismos de foto-oxidación ó cometabolismo (Pineda-Flores y Mesta-Howard, 2001).

1.2.2 Biodegradación microbiana de contaminantes orgánicos y modelos cinéticos

Muchas especies microbianas por si mismas, poseen un bagaje metabólico que les permite utilizar un amplio espectro de contaminantes orgánicos (plaguicidas, HPAs, explosivos, solventes, etc) como fuentes de carbono y energía. No obstante, el metabolismo de un solo microorganismo para la degradación de un compuesto orgánico altamente recalcitrante ó una mezcla compleja de

contaminantes orgánicos, generalmente resulta insuficiente y por lo general aleatoria cuando se lleva a cabo por cometabolismo. Es por esta razón que los consorcios microbianos han mostrado poseer una mayor versatilidad para la degradación de contaminantes en una amplia diversidad de factores ambientales (Braddock et al., 1999; Palittapongarnpim et al., 1998). Un consorcio puede definirse como la asociación interactiva entre microorganismos que generalmente conducen a una actividad metabólica combinada (Atlas y Bartha, 2002). Ejemplos de consorcios son las biopelículas, flóculos y gránulos como los formados de manera natural en plantas de tratamiento de aguas residuales.

La ventaja principal de los consorcios sobre los cultivos puros en su habilidad de biodegradar contaminantes orgánicos, radica en la diversidad e interacciones de las diferentes especies que conforman al consorcio. Estas proveen una alta carga de información genética (DNA), que asociada a los diferentes mecanismos de interacción microbiana (neutralismo, comensalismo, sinergismo, mutualismo, etc), ofrecen una gran flexibilidad para la *adaptación* de las poblaciones que integran al consorcio, permitiendo la utilización de diferentes tipos de sustratos, bajo una amplia variedad de factores ambientales. Esta capacidad de adaptación de los consorcios, es una característica altamente deseable para los procesos de biodegradación microbiana, pues permite su utilización en un amplio intervalo de condiciones. De esta forma, bajo las condiciones adecuadas, los consorcios muestran ser los catalizadores biológicos de excelencia para la degradación de contaminantes orgánicos.

Como entes biocatalizadores, tanto para cepas puras como para consorcios, se han propuesto diferentes modelos cinéticos no estructurados que permiten predecir la biodegradación de contaminantes orgánicos en diversos sistemas (**Tabla 1.3**), en donde se asume que la degradación ocurre en la fase líquida con o sin acumulación de biomasa. Los modelos van desde asumir biomasa constante (Chung et al., 1993; Geerdink et al., 1996; Ramaswami y Luthy, 1997), pasando por el modelo clásico de Monod (Harms y Bosma, 1997; Sekelsky y Shreve, 1999; Mulder et al., 2001), hasta otros en los que se consideran cinéticas más complejas como son inhibición por sustrato (García-Rivero et al., 2002), por producto (Ghoshal y Luthy, 1997), cinéticas de multisustratos (Guha et al., 1999) o una combinación de estos (Cruickshank et al., 2000). Cualesquiera de estas cinéticas, ponen de manifiesto la alta versatilidad de los microorganismos para biocatalizar contaminantes orgánicos.

Tabla 1.3. Modelos cinéticos empleados en la predicción y simulación de la biodegradación de contaminantes orgánicos

Modelo cinético	Nomenclatura	Microorganismo /substrato	Sistema (Referencia)
$\mu = 0$	μ : Tasa específica de crecimiento	- <i>Pseudomonas</i> sp./Fenol -Consortio microbiano/Diesel - <i>Pseudomonas</i> /Naftaleno	-Lodos (Chung et al.,1993) -Lodos (Geerdink et al., 1996) -Lodos (Ramaswami y Luthy, 1997)
$\mu_{max} \frac{C_H}{K_H + C_H}$	C_H : Concentración hidrocarburo K_H : Constante afinidad μ_{max} : Tasa específica máxima de crecimiento	- <i>Pseudomonas</i> sp./HPAs - <i>Pseudomonas</i> /Hexadecano	-Lodos (Mulder et al., 2001) -Acuoso/surfactante (Sekelsky y Shreve, 1999)
$\frac{q_{CO_2}}{Y_{CO_2/TPH}} \cdot \frac{C_L}{k_m + C_L + \frac{C_L^2}{k_i}}$	C_L : Concentración hidrocarburo k_m : Constante afinidad k_i : Constante de inhibición por substrato q_{CO_2} : Tasa volumétrica de producción de CO ₂ $Y_{CO_2/TPH}$: Rendimiento	-Consortio microbiano/HTPs	-Lodos (García-Rivero et al., 2002)
$\mu_{max} \left[\frac{C_t}{K_S + C_t} \right] \left[\frac{K_P}{K_P + P_r} \right]$	C_t : Concentración hidrocarburo P_r : Concentración producto K_S : Constante afinidad K_P : Constante inhibición por producto μ_{max} : Tasa específica máxima de crecimiento	- <i>Pseudomonas</i> /Naftaleno	-líquido-líquido (Ghoshal y Luthy, 1997)
$\frac{\mu_{max,i} \cdot C_i}{K_{Si} + \sum_{j=1}^n \frac{K_{Sj}}{K_{Sj}} C_j}$	C_i : Concentración del i -ésimo hidrocarburo C_j : Concentración del j -ésimo hidrocarburo K_{Si}, K_{Pj} : Constantes de afinidad $\mu_{max,i}$: Tasa específica máxima de crecimiento para el i -ésimo hidrocarburo	-Consortio Microbiano/HPAs mezclas	-Acuoso (Guha et al., 1999)
$\frac{\mu_{max} \cdot S}{K_S + S + \frac{S^2}{K_i}} \cdot \frac{C_{O_2}}{K_O + C_{O_2}}$	S : Concentración hidrocarburo C_{O_2} : Concentración oxígeno K_S, K_O : Constantes de afinidad K_i : Constante de inhibición por substrato μ_{max} : Tasa específica máxima de crecimiento	- <i>Pseudomonas</i> /fenol	-líquido-líquido (Cruickshank et al.,2000)

NOTA: Se conserva la misma notación de la referencia original

1.3 BIODISPONIBILIDAD

Muchos compuestos orgánicos presentes en el medio ambiente como contaminantes, han demostrado ser susceptibles al ataque microbiano a nivel laboratorio. No obstante, estos mismos compuestos no han podido ser biodegradados o biotransformados en los sitios contaminados de origen. Por ejemplo, en sedimentos contaminados por más de 40 años con clorofenoles, no se ha observado la biodegradación de estos compuestos. Sin embargo, la adición de cantidades frescas de clorofenoles a los mismos sitios contaminados, ha conducido a una biodegradación casi instantánea de los mismos (Salkinoja-Salonen et al., 1989). Resultados similares han sido reportados para HPAs (Weissenfels et al., 1992) y compuestos organoclorados como el α -Hexaclorociclohexano (Beurskens et al., 1993). Estos casos, muestran que la catálisis microbiana no es el único mecanismo a considerar durante el proceso de biodegradación.

Diferentes razones pueden ser las causantes de que no se lleve a cabo la biodegradación. Algunas de estas son (Martin, 1994): (a) inhibición por substrato, la cual es debida a la alta concentración de sustancias tóxicas, (b) niveles tan bajos de nutrientes diferentes a los hidrocarburos que no permiten sostener el crecimiento y (c) los contaminantes pueden encontrarse en tal forma que no sean *disponibles* para los microorganismos. De estas tres razones, la de mayor limitación para la biodegradación de contaminantes orgánicos ha mostrados ser su disponibilidad o *biodisponibilidad* (Blackburn y William, 1993).

1.3.1 Mecanismos que afectan la biodisponibilidad de contaminantes orgánicos

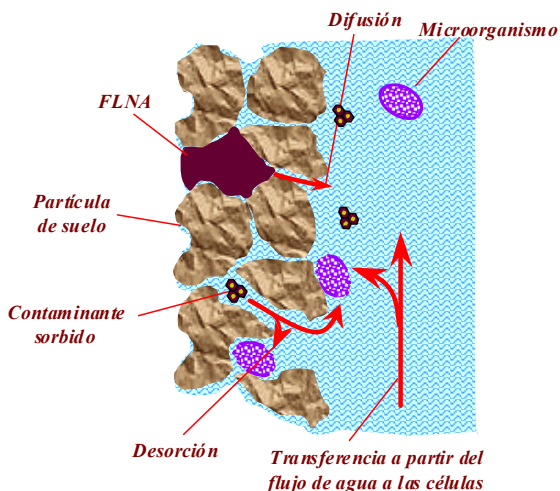


Figura 1.5. Factores que afectan la biodisponibilidad en un suelo contaminado.

Como se mencionó antes, en sitios contaminados durante largos períodos de tiempo, los contaminantes parecen ser inaccesibles para su biodegradación. La disminución en la biodisponibilidad con el transcurso del tiempo puede ser definida como *intemperización*. En casos extremos, los contaminantes pueden unirse irreversiblemente a diferentes fases presentes en el sitio contaminado, conduciendo a una falta total de biodisponibilidad. Los factores principales que afectan a la biodisponibilidad son: (i) reacciones abióticas de óxido-reducción, las cuales pueden conducir a la

incorporación irreversible de los contaminantes al interior de la matrices orgánicas naturales del sitio contaminado (Karimi-Lotfabad et al., 1996), (ii) una muy baja solubilidad de los contaminantes, (iii) una difusión retardada de los contaminantes dentro de la matriz porosa debida a fenómenos de sorción-desorción con la materia orgánica y arcillas, y (iv) la formación de películas semi-rígidas alrededor de las fases líquidas no acuosas (FLNA), conduciendo a una alta resistencia a la transferencia convectiva de masa hacia el seno acuoso (Luthy et al., 1997). De esta manera, los mecanismos que controlan la biodisponibilidad de contaminantes orgánicos son de naturaleza físicoquímica y de transporte, tales como la disolución, difusión, sorción, desorción y convección (**Figura 1.5**; Harms y Bosma ,1997).

Tomando en cuenta los mecanismos involucrados en la biodisponibilidad, la biodegradación en sistemas heterogéneos puede ser vista en similitud a un circuito eléctrico como un conjunto de resistencias (cuyos inversos son las tasas correspondientes a cada mecanismo) conectadas en *serie* y/o *paralelo* (**Figura 1.6**). En el estado estacionario, las tasas de todos estos mecanismos son iguales en magnitud. Sin embargo, en procesos dinámicos, el mecanismo con la menor tasa limita ó controla al proceso global de biodegradación (presenta la mayor resistencia). Así, la tasa global de biodegradación ($\mathcal{R}_{biodegradación}^{global}$), puede escribirse como función de las tasas de los diferentes mecanismos. Para la biodegradación de contaminantes orgánicos en fases sólidas como suelos y sedimentos y de acuerdo a la **Figura 1.6 a** se puede escribir como:

$$\mathcal{R}_{biodegradación}^{global} = \frac{I}{\frac{I}{\mathcal{R}_{disolución}} + \frac{(\mathcal{R}_{difusión} + \mathcal{R}_{sorción-desorción})}{\mathcal{R}_{difusión} \cdot \mathcal{R}_{sorción-desorción}} + \frac{I}{\mathcal{R}_{convección}} + \frac{I}{\mathcal{R}_{biodegradación}^{int rin seca}}} \quad \text{--- (1.1)}$$

Mientras que para la biodegradación en sistemas acuosos (**Figura 1.6b**):

$$\mathcal{R}_{biodegradación}^{global} = \frac{I}{\frac{I}{\mathcal{R}_{disolución}} + \frac{I}{\mathcal{R}_{convección}} + \frac{I}{\mathcal{R}_{biodegradación}^{int rin seca}}} \quad \text{---(1.2)}$$

Por lo general, se considera que el fenómeno de disolución esta descrito por un equilibrio de reparto instantáneo del contaminante entre las diferentes fases (Ramaswami y Luthy, 1997), siendo la difusión, sorción-desorción y convección, los principales mecanismos que influyen en la

biodisponibilidad en sistemas heterogéneos. En cambio, la biodegradación intrínseca es únicamente referida a la capacidad biocatalítica. Extrapolando el comportamiento de la tasa global de reacción de los sistemas catalíticos heterogéneos, se puede interpretar a la tasa global de biodegradación ($\mathcal{R}_{biodegradación}^{global}$) como una función del producto de la tasa intrínseca ($\mathcal{R}_{biodegradación}^{intrínseca}$) por un factor de efectividad (η_{eff}), es decir.

$$\mathcal{R}_{biodegradación}^{global} = \eta_{eff} \cdot \mathcal{R}_{biodegradación}^{intrínseca} \quad \text{---(1.3)}$$

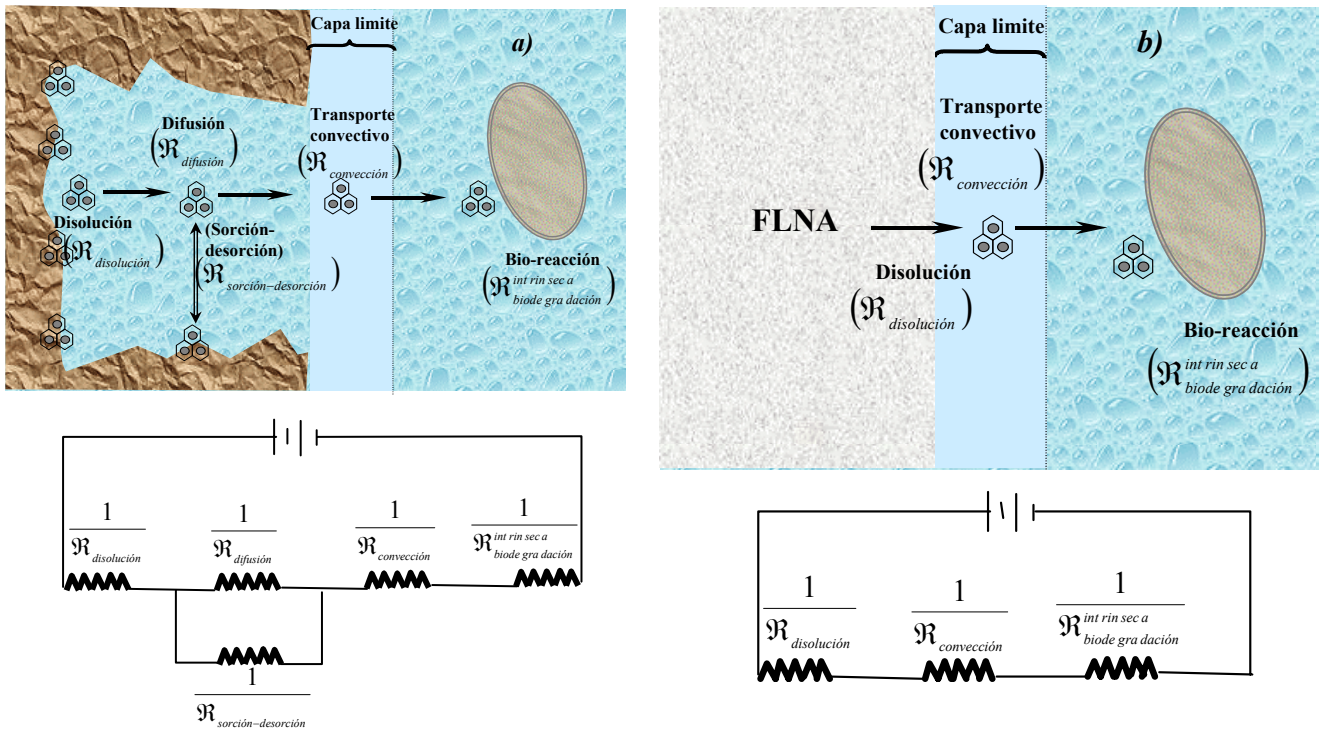


Figura 1.6. Mecanismos en serie y/o paralelo que controlan la biodegradación en estado dinámico de contaminantes orgánicos en a) suelos, sedimentos y b) Sistemas líquido-líquido

Este factor de efectividad, es una medida del grado de desviación de la $\mathcal{R}_{biodegradación}^{global}$ con respecto a la $\mathcal{R}_{biodegradación}^{intrínseca}$ y claramente se encuentra afectado por los mecanismos antes mencionados que controlan la biodisponibilidad. Cuando el factor de efectividad tiende a cero ($\eta_{eff} \rightarrow 0$), el proceso de biodegradación es controlado por los procesos de difusión, sorción-desorción y/o convección. Por otra parte, si el factor de efectividad tiende a uno ($\eta_{eff} \rightarrow 1$), el proceso de biodegradación es controlado por la biocatálisis.

Otra manera de determinar qué mecanismos controlan el proceso de biodegradación, es mediante la estimación de números adimensionales que surgen de la normalización de las ecuaciones de balance de materia así como de las respectivas condiciones frontera que gobiernan al proceso (Harms y Bosma, 1997; Ramaswami y Luthy, 1997). En el caso de la biodegradación de HTPs en sistemas líquido-líquido, la tasa de transporte convectivo y la tasa de biocatálisis, pueden ser relacionadas mediante un cociente que da origen a un número de *Damköhler* tipo I (Da_I) donde:

$$Da_I = \frac{\mathfrak{R}_{biodegradación}^{int\ rin\ sec\ a}}{\mathfrak{R}_{convección}} \text{ --- (1.4)}$$

La magnitud de este número, por lo general es indicativa del mecanismo que controla. Cuando *Damköhler I* $\gg 1$, se interpreta como una alta resistencia a la transferencia de masa de los hidrocarburos por convección, siendo este el mecanismo que controla, mientras que si *Damköhler I* $\ll 1$ es indicativo que la etapa controlante es la biocatálisis (o biodegradación intrínseca). Harms y Bosma (1997), definieron un número de biodisponibilidad igual al inverso de un *Damköhler I*. Otros dos números adimensionales de importancia son el *Biot* de masa (Bi_m) y el modulo de *Thiele* (ϕ). El primero relaciona las tasas de transporte difusivo y convectivo del contaminante, mientras que el segundo, a la tasa intrínseca de biodegradación del contaminante con su tasa de difusión.

$$Bi_m = \frac{\mathfrak{R}_{convección}}{\mathfrak{R}_{difusión}} \text{ --- (1.5)}$$

$$\phi = \frac{\mathfrak{R}_{biodegradación}^{int\ rin\ sec\ a}}{\mathfrak{R}_{difusión}} \text{ --- (1.6)}$$

La estimación de estos números adimensionales (ya sea de manera directa por estimación experimental de los parámetros que los integran, o de manera indirecta mediante el ajuste de modelos para la simulación), puede generar una herramienta poderosa que permita determinar los mecanismos de control en un proceso de biodegradación determinado.

1.3.2 Sorción de contaminantes orgánicos

Uno de los procesos más importantes que controlan la biodisponibilidad de contaminantes en sistemas heterogéneos en los que se presentan fases sólidas o semisólidas, es la *sorción*. Este es un mecanismo complejo que a su vez involucra a otros tales como la *adsorción* (fenómeno de superficie

reversible o irreversible) y/o *absorción* (retención reversible o irreversible de compuestos al interior del volumen o masa de una partícula o un cuerpo). El proceso de sorción, se presenta en sistemas en los que se encuentran fases sólidas como suelos y sedimentos. Diferentes factores influyen en la sorción de compuestos orgánicos. Algunos de estos son el tipo y cantidad de arcillas minerales, la cantidad de materia orgánica en el suelo, pH, temperatura, y la naturaleza química del contaminante.

La fracción sólida del suelo esta compuesta por diferentes fracciones: arena, arcilla y materia orgánica. De estas fracciones, la correspondiente a la fracción arenosa ha mostrado ser la de menor importancia con respecto a la contaminación con compuestos orgánicos, debido a la poca o nula sorción de los contaminantes en ella (Luthy et al., 1997). Por lo tanto, la sorción de compuestos orgánicos es debida principalmente a las fracciones arcillosa y orgánica del suelo.

Las arcillas pueden clasificarse en tres tipos dependiendo de la proporción de los átomos de silicio y aluminio que contengan. En el grupo de la Caolinita, Si y Al se encuentran en proporción de 1:1, mientras que en el de la Illita la proporción cambia a 2:1. En el tercer grupo de la Montmorillonita, Si y Al se encuentran en la misma proporción que el grupo de la Illita, sin embargo, algunos átomos de Si están sustituidos por Fe y Mg. Las principales propiedades de estos tres grupos de arcillas se presentan en la **Tabla 1.4**. (Cepeda, 1991).

Tabla 1.4 Propiedades de los diferentes tipos de arcillas presentes en suelos

PROPIEDAD	<i>Caolinita</i>	<i>Illita</i>	<i>Montmorillonita</i>
<i>Estructura</i>	$Al_4Si_4O_{10}(OH)_8$	$Al_4Si_8O_{20}(OH)_4$	$Al_4Si_8O_{20}(OH)_4nH_2O$
<i>Capacidad de intercambio catiónico(meq/100g)</i>	3-15	15-40	80-100
<i>Capacidad de intercambio de aniones</i>	Elevada	Media	Baja
<i>Cohesión y plasticidad</i>	Ninguna	Media	Muy alta
<i>Porosidad y permeabilidad</i>	Alta porosidad y permeabilidad	Mediana porosidad y permeabilidad	Baja porosidad y permeabilidad
<i>Tamaño de Partícula</i>	Grueso	Medio	Fino

Sin importar el tipo de arcilla, todas exponen una superficie al exterior que consiste en oxhidrilos y ligandos ricos en electrones (p. ej. oxígeno), y en el que a su vez destaca un plano de átomos deficientes en electrones (Si, Al, Fe y Mg). Basándose en datos de atracción en sílica pura Fowkes (1964) determinó la magnitud de las fuerzas de interacción molécula-superficie (**Figura 1.7**). Los *compuestos orgánicos hidrofóbicos* (COH) tales como los HTPs, son *adsorbidos reversiblemente*

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) con los grupos oxhidrilo y ligandos expuestos. Por otra parte, los átomos deficientes en electrones como Fe y Mg, promueven reacciones de oligomerización y una *adsorción irreversible* de los COH (Karimi-Lotfabad et al., 1996). Este tipo de *adsorción irreversible* es preponderante en la arcilla Montmorillonita, mientras que la *adsorción reversible* en las arcillas Illinita y Caolonita. Así, el proceso de sorción de los contaminantes en las arcillas se debe a un fenómeno de adsorción.

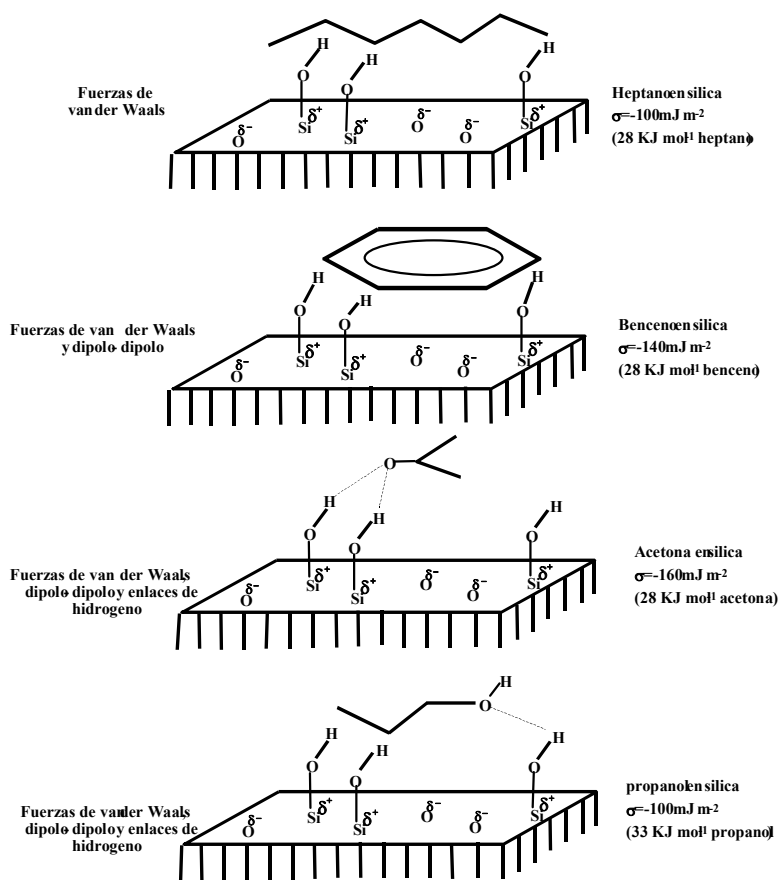


Figura 1.7 Interacciones de diferentes compuestos orgánicos con la superficie de la silica y medida de las energías de enlace (σ) derivadas de datos de tensión superficial.

interior de una matriz con alta afinidad por ellos, tal como es la materia orgánica de suelo y sedimentos (Chiou, 1989). De manera similar a la adsorción en arcillas la adsorción en la materia orgánica puede ser reversible o irreversible (Karimi-Lotfabad et al., 1996).

En la fracción orgánica de suelo y sedimentos, la retención de los contaminantes es principalmente por absorción, mecanismo altamente relacionado con la naturaleza hidrófoba de los hidrocarburos. Muchos hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPAs) y otros contaminantes no polares son ejemplos de este proceso. La magnitud de esta absorción puede correlacionarse en forma directa con el coeficiente de partición octanol-agua, (K_{ow} , equilibrio entre los moles de COH distribuidos entre una fase aceitosa u octanol y una fase acuosa). Como se mencionó antes, se piensa que la absorción de los hidrocarburos se lleva a cabo por hidrofobicidad, es decir los contaminantes difunden al

Si la sorción de los hidrocarburos en la fase sólida esta dado por un equilibrio de reparto que describa la distribución del hidrocarburo entre una fase acuosa (c_{Hs} , en mg HTPs·L⁻¹) y una fase sorbente, entonces la sorción puede describirse mediante isothermas (q , gHTPs·(g fase sólida)⁻¹) del tipo Langmuir o Freundlich. Debido a la naturaleza fenomenológica e hipótesis de la que surge la isoterma de Langmuir (adsorción en superficies), los procesos de sorción en fases sólidas ricas en arcillas, pueden ser descritos de manera muy precisa por la isoterma de la ecuación 1.7. La isoterma de Langmuir, presenta dos constantes con un significado físico relevante. Una es la q_{max} , constante referida como la máxima cantidad de hidrocarburo sorbido por unidad en peso de sorbente (gHTPs·(g fase sólida)⁻¹). La otra es K_{af} , una constate de afinidad de la fase sólida por el hidrocarburo (gHTPs·L⁻¹). Los valores de estas constantes, describen un comportamiento específico del proceso de sorción en sistemas hidrocarburos-arcilla.

$$q = \frac{q_{max} \cdot c_{Hs}}{K_{af} + c_{Hs}} \text{ ---(1.7)}$$

Por otra parte, para sistemas en donde la sorción se encuentra controlada preferentemente por la absorción (suelos y sedimentos ricos en materia orgánica), esta podría quedar descrita de una mejor manera por isothermas del tipo Freundlich (ecuación 1.8). Sin embargo, este tipo de isothermas es de naturaleza empírica, y las constantes que la integran (K y n) no poseen un significado físico si no que únicamente se emplean para el ajuste de datos. Sin importar el mecanismo dominante en la sorción de hidrocarburos en fases sólidas (absorción y/o adsorción), este es un factor de gran impacto en la actividad y crecimiento de los microorganismos (nativos o endógenos) utilizados en los tratamientos de biodegradación, pues es una etapa que determina en gran medida la biodisponibilidad de los contaminantes.

$$q = K_F \cdot c_{Hs}^n \text{ ---(1.8)}$$

1.4 BIORREMEDIACIÓN Y BIORREACTORES

Hasta este punto, ha sido visto como los contaminantes orgánicos son factibles de ser biodegradados por un amplio espectro de microorganismos. Además, se analizó como la biodisponibilidad puede estar controlada por diferentes mecanismos, y ser así, un factor determinante

en el proceso global de biodegradación. En base a lo anterior, la biorremediación puede definirse como un conjunto de mecanismos que incrementan de manera significativa el “*contacto*” entre contaminantes y sistemas biológicos (microorganismos, enzimas y/o plantas con una capacidad inherente de biodegradación), bajo condiciones ambientales adecuadas, con el objetivo de mejorar las tasas netas de biodegradación de los contaminantes. Por lo tanto, el conocimiento y adecuada aplicación de estos mecanismos genera tecnologías eficientes que permiten la remediación de los diferentes nichos ecológicos contaminados por la actividad humana.

1.4.1 Tecnologías de biorremediación

Dependiendo sí el proceso de *biorremediación* se lleva a cabo en el sitio contaminado o no, las diferentes tecnologías que la integran pueden clasificarse como *in-situ* o *ex-situ*. Las tecnologías *in-situ* consideran el tratamiento del material en el mismo sitio contaminado. El bioventeo y “*land farming*” son ejemplos de este tipo de técnicas. En contraste, las tecnologías *ex-situ* son aquellas en que el material contaminado es extraído y transportado a un sitio diferente al contaminado para su posterior tratamiento. Los biorreactores son ejemplo de este tipo de tecnologías. A continuación se describen algunas de las tecnologías de biorremediación más empleadas.

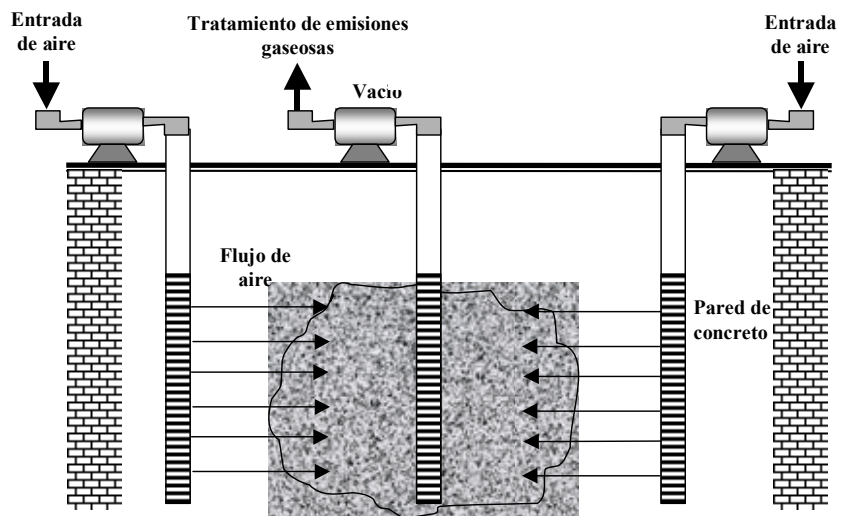


Figura1.8. Sistema de bioventeo vertical (Cookson, 1995)

Bioventeo. Esta es una tecnología de biorremediación *in situ* en la que aire es forzado a pasar a través de fases sólidas contaminadas como suelos y sedimentos. El objetivo es activar el metabolismo microbiano aerobio. El uso del bioventeo se limita a fases sólidas con alta permeabilidad, buena conductividad hidráulica y donde los contaminantes poseen una presión de vapor menor a la atmosférica (Cookson, 1995), para asegurar que la tasa de biodegradación sea mayor a la de volatilización. Una configuración típica del proceso se muestra en la **Figura 1.8**.

Land farming. Es una tecnología *in-situ* que se desarrolla en forma superficial o en celdas de tratamiento para suelos y sedimentos contaminados con hidrocarburos. Esta técnica ha sido utilizada satisfactoriamente en la eliminación de combustibles y otros tipos de mezclas de hidrocarburos que terminan como contaminantes debido a derrames generados por refinerías (Martin, 1994).

El equipo y operaciones requeridas en esta tecnología, son las típicas para las operaciones de labranza en la agricultura, y se utiliza para aumentar las tasas de degradación aprovechando el metabolismo aerobio de los microorganismos. En casos en que la cuenta total de microorganismos nativos degradadores es muy baja ($< 10^5 \text{ UFC} \cdot \text{g}_{\text{suelo}}^{-1}$), suelen adicionarse mezclas de microorganismos exógenos (*bioaumentación*). El uso de fertilizantes para proporcionar los nutrientes inorgánicos (N y P) necesarios para la actividad microbiana es muy común (**Figura1.9**).

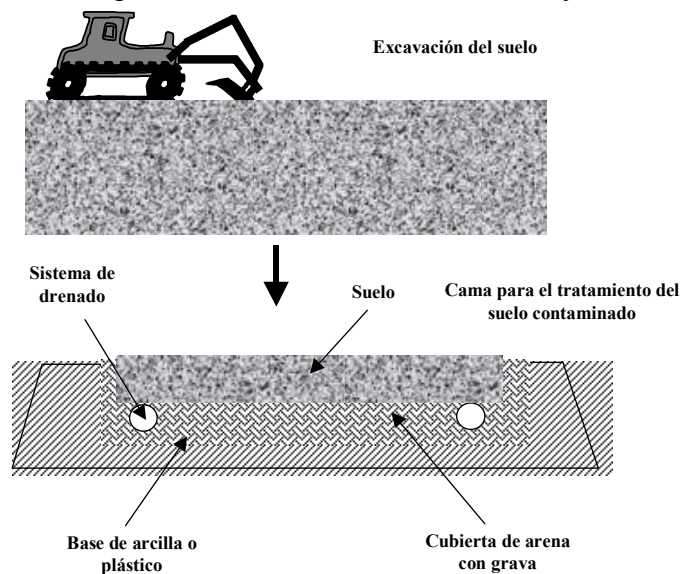


Figura1.9 Sistemas de land farming para el tratamiento de suelos contaminados superficialmente (Cookson, 1995)

Composteo. Este puede definirse como un proceso biooxidativo y termofílico controlado, que involucra microorganismos y sustratos orgánicos heterogéneos en estado sólido, el cual evoluciona generando dióxido de carbono, agua, minerales y un material orgánico estabilizado llamado composta (Doelle et al., 1992).

El composteo de fases sólidas contaminadas como suelos y sedimentos, es significativamente diferente al de desechos sólidos municipales y lodos activados. Esta diferencia radica en la cantidad de materia orgánica, puesto que no es común tener altos contenidos de esta en fases sólidas contaminadas con compuestos tales como hidrocarburos, pesticidas, compuestos halogenados, etc.

Debido al bajo contenido de materia orgánica, el composteo de fases sólidas con este tipo de contaminantes, procede a temperaturas menores a la del composteo de residuos sólidos municipales (entre 45 o 50°C; Cookson, 1995). Los sistemas de composteo, emplean agentes de volumen y empaque, con el fin de controlar 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 de volumen ayuda a incrementar la porosidad, lo cual contribuye a una mejor aireación, mejorando los procesos aerobios de composteo.

Los sistemas modernos de composteo, pueden clasificarse en tres grupos: Filas venteadas, biorreactores de composteo y pilas estáticas (Cookson, 1995). El sistema de filas venteadas es *in-situ*, y es el de menor costo y más sencillo de operar, pero de más difícil control puesto que requiere grandes espacios. Los biorreactores de composteo, son los de mayor nivel de operación y costo, pero mejor control sobre el proceso, además que el espacio de operación es menor. El sistema de pilas estáticas puede verse como un proceso intermedio entre los dos anteriores.

Biorreactores. Los biorreactores son usados para tratamientos de biorremediación *ex-situ*. Es así que pueden utilizarse para tratar líquidos contaminados (p.ej., bombeo de aguas subterráneas contaminadas), vapores (p.ej., solventes venteados a partir de ambientes superficiales contaminados), o sólidos en fases de lodos (p.ej., suelos excavados, lodos, o sedimentos). En general, los biorreactores son sistemas heterogéneos que permiten la optimización y control de los parámetros del proceso de biodegradación. Estos pueden utilizar microorganismos suspendidos o adsorbidos en biopelículas, nativos o exógenos, cultivos puros o microorganismos modificados genéticamente y consorcios. Pueden operar con o sin oxígeno, por ejemplo con la adición de otro aceptor de electrones (nitrato, dióxido de carbono, sulfato, metales oxidados) y con o sin limitación de otro tipo de nutrientes (nitrógeno, fósforo, minerales traza, co-substratos). Otras variables que pueden controlarse, incluyen la proporción de sólidos y agua, mezclas de contaminantes, sorción de los contaminantes a las diferentes matrices del suelo y sedimentos, pH, temperatura, y potencial redox. Los biorreactores comparados con otras tecnologías de biorremediación, presentan altos niveles de control y los procesos y fenómenos pueden ser modelados matemáticamente.

Muchos de los biorreactores empleados son similares a los usados en el tratamiento de aguas residuales. Algunos son móviles y pueden ser transportados de un sitio a otro. Otros se encuentran fijos, requiriéndose el movimiento del material contaminado al biorreactor. Existen una gran gama de

configuraciones de biorreactores para el tratamiento de fases sólidas y líquidas contaminadas, algunas se discuten a continuación.

Los *biofiltros* son sistemas para el tratamiento de compuestos orgánicos volátiles (VOCs) y olores presentes en los flujos de gases de desecho industrial, así como los vapores de suelos contaminados. Estos sistemas utilizan microorganismos, adheridos a composta o turba húmedas en forma de biopelículas, para catalizar reacciones químicas a productos inocuos. Como un flujo de un gas contaminado pasa a través del lecho del biofiltro, los contaminantes son transferidos de la fase gaseosa a la biopelícula y son consumidos por los microorganismos presentes. Los filtros de *lecho escurrido*, son similares a los biofiltros, ya que contienen material de empaque como composta o turba, pero operan con un flujo acuoso que recircula sobre el material empacado en contracorriente al flujo del gas. El líquido recirculante es inicialmente inoculado con microorganismos, y durante el proceso se forma rápidamente una biopelícula en el material de empaque. Los contaminantes son transferidos a, y degradados por, los microorganismos presentes tanto en el líquido recirculante como en la biopelícula (Parvatiyar et al., 1996).

Un reactor de *lecho empacado* consiste en una columna que contiene un medio que sirve como una superficie de adhesión para la retención de microorganismos. El reactor mantiene altas concentraciones de biomasa, proveyendo así una alta eficiencia volumétrica de degradación. El líquido contaminado fluye a través del reactor donde los microorganismos degradan los contaminantes. Este tipo de reactores es utilizado para el tratamiento de suelos y aguas contaminadas (Rosell et al., 1996).

Un *biorreactor de membrana* es un sistema híbrido de tratamiento consistente de una fase líquida en un biorreactor acoplada con una unidad de clarificación de membrana. El sistema de membrana puede operar en modo aerobio o anaerobio. Seguida de la oxidación o reducción biológica, el contenido del reactor es bombeado a la unidad de membrana de filtración para la separación líquido/sólido. Los sólidos de biomasa se retornan al reactor y la fase acuosa es removida del filtro en cantidades iguales a las tasas del agua residual alimentada (Brindle y Stephenson 1996).

En las siguientes secciones, se analizarán con más detenimiento dos tipos de biorreactores que han tenido un importante impacto en los procesos de biorremediación, estos son el biorreactor de dos fases líquido-líquido, y el de lodos.

1.4.2 Biorreactores de dos fases líquido-líquido

El concepto de biorreactores de dos fases líquido-líquido, también llamados biorreactores de partición (Daugulis, 2001), esta basado en el uso de fases orgánicas biocompatibles e inmiscibles en agua. La fase orgánica inmisible se utiliza para almacenar grandes cantidades de contaminantes orgánicos (esto es factible debido a su naturaleza hidrófoba), generando un reparto de los contaminantes entre la fase acuosa y la fase orgánica.

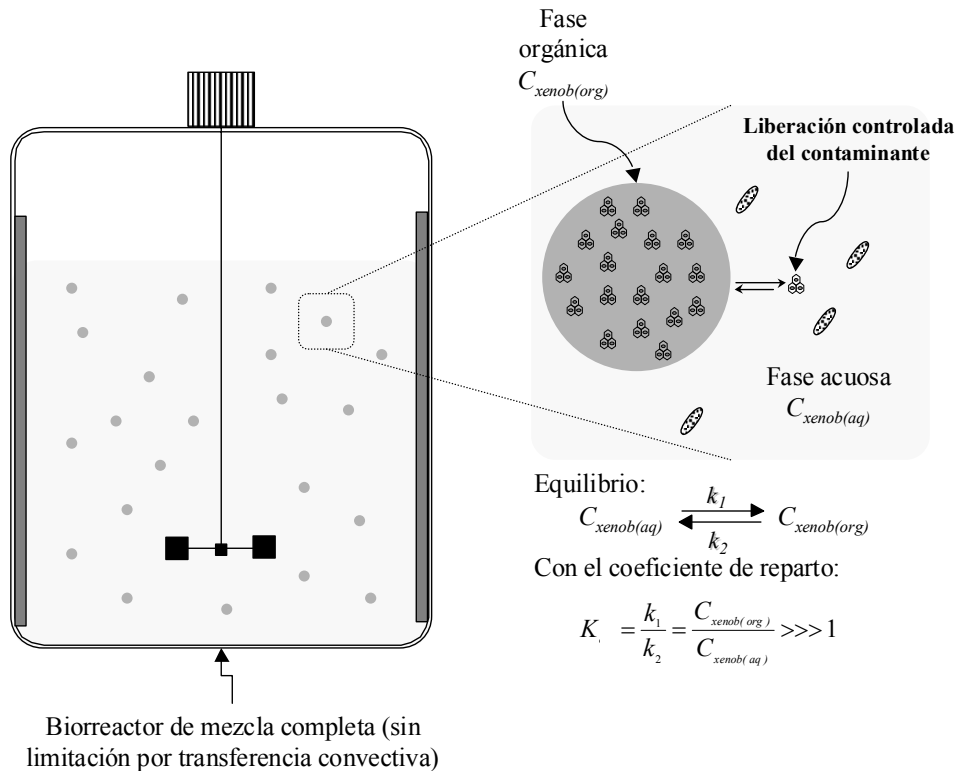


Figura 1.10 Esquematización y principio del funcionamiento de un biorreactor de dos fases líquido-líquido, para la eliminación de contaminantes orgánicos.

Aunque en el biorreactor se presente una alta concentración de contaminantes orgánicos, los microorganismos suspendidos en la fase acuosa, sólo se encuentran a concentraciones sub-inhedorias de estos compuestos. A medida que las células consumen a los substratos solubles en la fase acuosa, se crea un desequilibrio, que origina una fuerza conductora que ocasiona que el contaminante se transporte de la fase orgánica a la fase acuosa para mantener el equilibrio termodinámico. Por lo tanto, no sólo cantidades apropiadas del contaminante orgánico son liberados a los microorganismos, sino que la tasa de desaparición de los contaminantes queda determinada por

la actividad metabólica de estos. Además, como la concentración total de microorganismos aumenta, o comienza a adaptarse mejor un sustrato nuevo y posiblemente inhibitorio, la demanda por este también aumenta desplazando más rápidamente el equilibrio de reparto. De esta manera, si no se presentan limitaciones de transferencia, el control del proceso estará basado en la capacidad metabólica de los microorganismos. Un diagrama esquemático del proceso de biorreactores de dos fases líquido-líquido se muestra en la **Figura 1.10**.

Tabla 1.5 Sistemas de dos fases líquido-líquido, para la biodegradación de contaminantes orgánicos

<i>Contaminante orgánico</i>	<i>Microorganismo</i>	<i>Fase orgánica</i>	<i>Referencia</i>
<i>Estireno</i>	Consorcio	Aceite silicón	AlAalam et al. (1993)
<i>Fenantreno</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,2,4,4,6,8,8-Heptametilnonano	Kohler et al. (1994)
<i>Naftaleno</i>	<i>Corynebacterium sp.</i>	Decano, dodecano, hexadecano	Guyse et al. (2001)
<i>Mezcla de HPAs</i>	<i>Sphingomonas sp.</i>	Aceite silicón	Janikowski et al. (2002)
<i>2,4,6 Triclorofenol</i>	<i>Pseudomonas sp</i>	Aceite silicón	Ascon-Cabrera y Lebeault (1995)
<i>Dioxinas</i>	Consorcio	Decano	Barkowski y Adriaens(1995)
<i>Fenantreno</i>	<i>Pseudomonas sp</i>	Aceite de silicon	Bouchez et al. (1995)
<i>BTX</i>	<i>Pseudomonas sp</i>	Alcohol oleíco	Collins y Daugulis (1999)
<i>Mezcla HPAs</i>	<i>Consorcio</i>	2,2,4,4,6,8,8-Heptametilnonano	Marcoux et al. (2000)

En la **Tabla 1.5**, se muestra una variedad de sistemas en los que se ha empleado exitosamente el concepto de biorreactores de dos fases líquido-líquido. En todos estos trabajos, se ha determinado que los contaminantes orgánicos por si mismos son suficientes como fuentes de carbono y energía para el crecimiento microbiano. También, en todos ellos, los procesos de biodegradación han sido conducidos en condiciones aerobias. Sin embargo, poco ha sido estudiado en cuanto al efecto de las limitaciones de transferencia de masa de los contaminantes y/o del oxígeno. Referente a los microorganismos, las bacterias han sido los organismos seleccionados por sus altas tasas de crecimiento, y amplio espectro metabólico en la degradación de los diferentes contaminantes orgánicos.

1.4.3 Modelos matemáticos para la biodegradación de contaminantes orgánicos en sistemas líquido-líquido

Se han propuesto y desarrollado diferentes modelos para la predicción y simulación de la biodegradación de contaminantes orgánicos en sistemas de dos fases líquido-líquido (Tabla 1.6). Los modelos van desde considerar estado pseudo-estacionario, en el que prácticamente las magnitudes en las tasas de transporte y biocatálisis se mantienen constantes (Harms y Bosma, 1997), hasta modelos dinámicos con diversos mecanismos de control sobre el proceso global de biodegradación.

Tabla 1.6. Modelos matemáticos empleados en la predicción y simulación de la biodegradación de contaminantes orgánicos en biorreactores líquido-líquido

Modelo	Nomenclatura	Microorg/sustrato (Referencia)
<p style="text-align: center;"><i>Pseudoestacionario</i></p> $Q^* = \frac{1 + Bn^{-1}}{2(1 - C^*)} \left\{ 1 - \left[1 - 4C^* \frac{1 - C^*}{1 + Bn - 1} \right]^{1/2} \right\}$ $Q^* = q / q_{max}$ $C^* = C_d (C_d + K_m + q_{max} k^{-1})^{-1}$ $B_n = k / q_{max} K_m^{-1}$	<p>C_d: Concentración del contaminante orgánico en la fase acuosa k: Coeficiente de transporte convectivo q, q_{max}: Tasas específicas de consumo K_m: Constante de afinidad Q^*: Tasa de consumo adimensional C^*: Concentración adimensional B_n: Número de biodisponibilidad, adimensional</p>	<p>(Harms y Bosma, 1997)</p>
<p style="text-align: center;"><i>Dinámico</i></p> $\frac{dC_{tot}}{dt} = \Theta \frac{dC_{aq}}{dt} + (C_{aq} - C_{org}) \frac{d\Theta}{dt} + (1 - \Theta) \frac{dC_{org}}{dt}$ $\frac{dC_{aq}}{dt} = a \frac{k_s}{\Theta} \left[\frac{B}{K_B + B} \right] - \left[\frac{k_d C_{aq}}{C_{aq} + K_{dg}} \right] \frac{X}{\Theta}$ $\frac{da}{dt} = \frac{a^4 V_{H20}}{8l} \frac{1}{\rho} \frac{dC_{aq}}{dt}$ $\frac{d\Theta}{dt} = \frac{108\pi V_{H20}}{(V_{H20} + V_{org})^2} \frac{da}{dt}$ $\frac{d[B]_{aq}}{dt} = \frac{k_B}{\Theta} X - \left(\frac{1}{MSR} \right) \frac{dC_{aq}}{dt}$ $\frac{dX}{dt} = \mu_{max} \left[\frac{C_{aq}}{C_{aq} + K_G} \right] X$	<p>C_{tot}: Concentración total de hexadecano C_{aq}: Concentración de hexadecano disuelto B: Concentración de biosurfactante X: Biomasa Θ: Fracción de la fase acuosa a: Volumen específico de la fase orgánica k_B, k_s: Tasas específicas de solubilización hexadecano y biosurfactante K_B, K_G, K_{dg}: Constantes de afinidad MSR: Cociente de solubilización molar μ_{max}: Tasa específica máxima de crecimiento de células</p>	<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i> /Hexadecano (Sekelsky y Shreve, 1999)</p>

Tabla 1.6. Modelos matemáticos empleados en la predicción y simulación de la biodegradación de contaminantes orgánicos en sistemas líquido-líquido (continuación)

Modelo	Nomenclatura	Microorg/sustrato (Referencia)
<p style="text-align: center;"><i>Dinámico</i></p> $\frac{dB_t}{dt} = \left[\frac{\mu_m B_t C_t}{K_S + B_t} \right] \left[\frac{K_P}{K_P + Pr_t} \right] - k_d B_t$ $\frac{dC_t}{dt} = k_L a (C_{eq} - C_t) - \frac{1}{Y} \left[\frac{\mu_m B_t C_t}{K_S + B_t} \right] \left[\frac{K_P}{K_P + Pr_t} \right]$ $\frac{dP_{CO_2(t)}}{dt} = \frac{F_m V}{M_o Y} \left[\frac{\mu_m B_t C_t}{K_S + B_t} \right] \left[\frac{K_P}{K_P + Pr_t} \right] - k_d B_t$ $Pr_t = \frac{F_p M_{deg(t)}}{V}$	<p>C_i: Concentración naftaleno fase acuosa C_{eq}: Concentración de equilibrio naftaleno fase acuosa/fase orgánica P_{CO_2}: Concentración dióxido de carbono B_i: Biomasa Pr_t: Concentración de producto (1,2 naftoquinona) Y: Rendimiento biomasa-sustrato F_m, F_p: Fracciones de naftaleno convertidas en CO_2 y producto k_d: Tasa específica de muerte celular k_L, a: Coeficiente volumétrico de transferencia (naftaleno) K_S, K_P: Constante de afinidad e inhibición μ_m: Tasa específica máxima de crecimiento</p>	<p>Heptametilnonano/ naftaleno/ <i>Pseudomonas</i> sp. (Ghoshal y Luthy, 1998)</p>
<p style="text-align: center;"><i>Dinámico</i></p> $\frac{dX}{dt} = \mu X - k_m X - k_e \mu X$ $\frac{dS_{aq}}{dt} = K_L a \left(\frac{S_{org}}{D_{phenol}} - S_{aq} \right) - \frac{\mu X}{Y_{X/S}}$ $\frac{dS_{org}}{dt} = -K_L a \left(\frac{S_{org}}{D_{phenol}} - S_{aq} \right) \frac{V_{aq}}{V_{org}}$ $\frac{dC_{O_2}}{dt} = k_L a_{O_2} (C_{O_2}^* - C_{O_2}) - Y_{O_2/X} \mu X$	<p>S_{aq}: Concentración fenol fase acuosa S_{org}: Concentración fenol fase orgánica C_{O_2}: Concentración oxígeno fase acuosa X: Biomasa k_e, k_m: Factor de adherencia celular y tasa específica de muerte celular $K_L, a, k_{LA_{O_2}}$: Coeficientes volumétricos de transferencia D_{phenol}: Coeficiente de reparto fenol entre agua-2 undecano. $Y_{X/S}, Y_{O_2/X}$: Rendimientos celulares μ: Tasa específica de crecimiento</p>	<p><i>Pseudomonas putida</i> / Fenol / 2 undecano (Cruickshank et al., 2000)</p>

NOTA: Se conserva la misma notación de la referencia original

En los modelos dinámicos, los diferentes mecanismos que se consideran van desde incrementos en las tasas de disolución de los contaminantes orgánicos vía biosurfactantes (Sekelsky y Shreve, 1999), limitaciones en la transferencia del contaminante desde la fase orgánica a la acuosa con posterior inhibición por producto (Ghoshal y Luthy, 1998), o limitaciones en la transferencia tanto de oxígeno como de contaminante con posterior inhibición por sustrato (Cruickshank et al., 2000).

En conclusión, el diseño, desarrollo y modelado matemático de biorreactores de dos fases líquido-líquido, puede servir de plataforma para el desarrollo de tecnologías que permitan la eliminación de compuestos orgánicos almacenados por su naturaleza altamente tóxica; como para la biodegradación de contaminantes en fases acuosas (acuíferos, ríos, océanos, etc) contaminadas por derrames de hidrocarburos.

1.4.4 Biorreactor de lodos

Los biorreactores de lodos, son sistemas trifásicos que involucran la interacción entre una fase sólida como suelo o sedimento, con una fase acuosa en la que se encuentran microorganismos suspendidos y otra gaseosa generalmente aire. Los biorreactores de lodos utilizan algún sistema de agitación mecánica, y generalmente su operación es por lote (**Figura 1.11 a**). La agitación es tanto para mantener la homogeneidad global del sistema, como para incrementar el contacto entre fases. El promover el contacto entre fases, tiene como objetivos minimizar las resistencias al transporte de contaminantes y oxígeno (**Figura 1.11 b y c**), maximizando a su vez las tasas de disolución y biocatálisis (**Figura 1.11 d y e**).

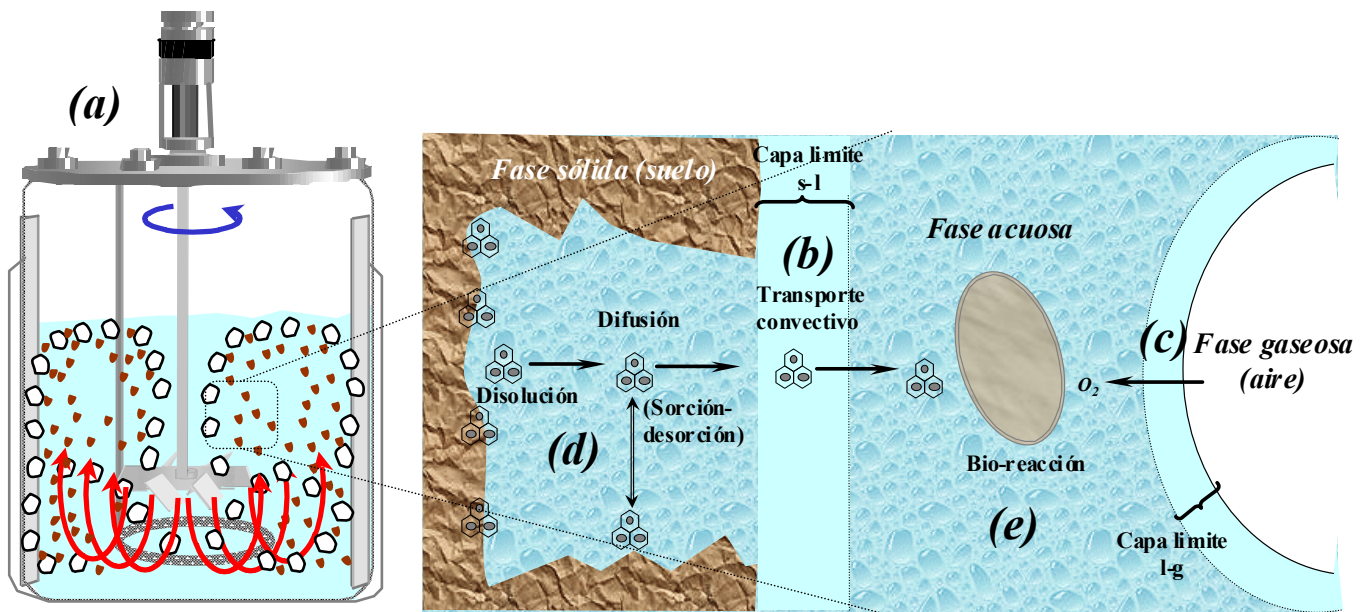


Figura 1.11 Esquematización y principio del funcionamiento de un biorreactor de lodos. *a)* agitación mecánica, *b)* transporte de contaminantes en la interfase *s-l*, *c)* transporte de oxígeno en la interfase *g-l*, *d)* disolución y difusión de contaminantes, y *e)* bio-catálisis

Uno de los biorreactores de lodos más reportado, es el EIMCO Biolafit. Este biorreactor, ha sido utilizado en la biodegradación de suelos contaminados con creosotas (mezcla compuesta principalmente de HPAs) y operados con cargas de sólidos de hasta un 30% w/v, y en los que como inóculo, se emplearon microorganismo nativos (Lauch y Herrmann,1992; Lewis, 1993; Castaldi, 1994). Aunque el diseño de los reactores EIMCO Biolafit se presta para estudios básicos de mezclado y transporte, las investigaciones se han enfocado en la determinación de tasas y eficiencias de biodegradación de los contaminantes (las cuales fueron altas). Sin embargo, dos críticas fuertes pueden ser destacadas. La primera, es que la concentración de contaminantes fue relativamente baja (menores a 10,000 ppm). La segunda es que su diseño ha manifestado problemas para la suspensión de sólidos (Castaldi, 1994).

Por otra parte, también han sido reportados otros biorreactores de lodos con geometrías menos complejas. Puskas et al. (1995) emplearon tanques con geometría estándar (5 a 20 L) para determinar eficiencias y tasas de degradación en la remoción de hidrocarburos en suelos arenosos recién contaminados con petróleo proveniente de Kuwait (**Figura 1.12**). Aunque el suelo no estuvo intemperizado, la concentración inicial de hidrocarburos osciló entre 50,000 y 110,000 ppm. Los biorreactores fueron operados con cargas de lodos al 10% w/w de suelo, inoculándose con microorganismos nativos, manteniendo una tasa de aireación de 0.25 vvm.

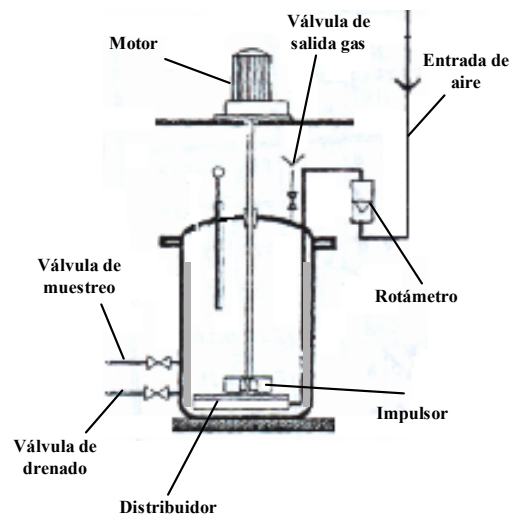


Figura1.12. Biorreactor de lodos empleado en los estudios de degradación de petróleo en un suelo contaminado de Kuwait.

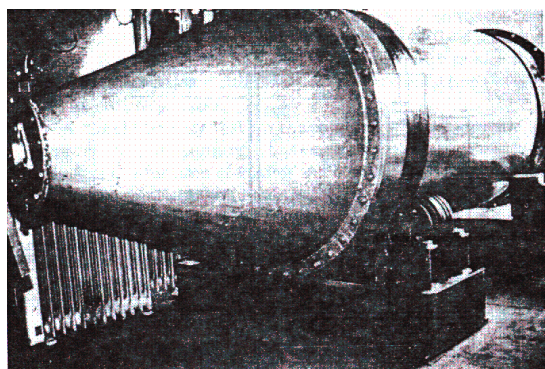


Figura1.13. Biorreactor de tambor rotatorio para lodos con altas cargas de sólidos, empleado en los estudios de degradación

Un diseño de biorreactor de lodos diferente, corresponde al de tambor rotatorio (**Figura 1.13**), cuyo objetivo es manejar altas proporciones de sólidos (65 a 75% en peso; Cookson, 1995). Sin embargo, debido a fuertes limitaciones en la transferencia de oxígeno (suministrado por ventilación natural desde la cabeza del tambor), estos biorreactores han sido usados solamente para la eliminación de contaminantes mediante

microorganismos con bajas demandas de oxígeno (Krüger et al., 1995).

Por otra parte, e independientemente al diseño de los sistemas utilizados, la investigación de la biodegradación de contaminantes orgánicos en sistemas de lodos, incluye estudios que van desde el mejoramiento de la capacidad de degradación microbiana mediante diversas técnicas de enriquecimiento (Ou et al., 1997; Chaíneau et al., 1995), el efecto de factores microbianos en la biodisponibilidad y las tasas de degradación (Huesemann et al., 2002), el impacto ecotóxico debido al tratamiento de lodos (Salanitro et al., 1997; Dasappa y Loehr, 1991), hasta la determinación en la capacidad de biodegradación de diversos consorcios, por medio de la estimación de tasas y eficiencias (Gray et al., 2000; Yamane et al., 1997; Potter y Duval, 2001). No obstante, el estudio referente a condiciones abióticas de operación en los sistemas de lodos, tales como el mezclado, consumo de potencia y transferencia de oxígeno, son necesarios.

1.4.5 Mezclado en reactores de lodos

El mezclado en un proceso de múltiples fases es de suma importancia, pues va directamente correlacionado con la transferencia de masa y calor, así como con la homogeneidad del sistema. Así, las resistencias al transporte de masa y calor, los gradientes de temperatura y concentración, son minimizados al incrementarse la agitación. No obstante, no todo queda solucionando con sólo incrementar la agitación, puesto que esta puede conllevar a consumos no permisibles de potencia y también a la destrucción de los materiales involucrados, generando un efecto negativo tanto en la factibilidad del proceso como en la eficiencia del mismo.

Los estudios de mezclado en tanques agitados que incluyen dos ó tres fases, han sido reportados en el área de la ingeniería química, en donde la fase sólida generalmente es un catalizador químico. Aplicaciones típicas incluyen a la hidrogenación catalítica, oxidación y amonólisis. El estudio de reactores de lodos para el tratamientos de suelos y/o sedimentos contaminados, es prácticamente nuevo. En la **Tabla 1.7**, se muestra un resumen de algunos de los estudios más significativos realizados en el área del mezclado de sistemas de múltiples fases.

Tabla 1.7. Desarrollo cronológico en el estudio del mezclado en sistemas de dos y tres fases en tanques agitados

Zwietering (1958)	Primer trabajo realizado en sistema de dos fases (líquido-sólido) en reactores agitados de geometría estándar. Desarrolla un modelo que permite determinar la velocidad crítica del impulsor N_s para la suspensión de esferas de vidrio.
Nienow (1968)	Se demuestra experimentalmente anomalías en la expresión de Zwietering para la evaluación de N_s . Se señala que las diferencias son debidas a que N_s es función de la altura del impulsor (h). Así, para relaciones geométricas de altura/diámetro del tanque (h/T) mayores de $1/6$, $N_s=f(h)$, mientras que para valores menores es independiente de h .
Baldi et al. (1978)	Desarrollan un nuevo modelo para N_s tomando en cuenta h/T . También demuestran que para valores de $h/T < 1/6$ N_s es independiente del consumo de potencia volumétrica.
Chudacek (1985)	Es el primero en clasificar los diferentes tipos de impulsores para la suspensión de sólidos en base al cociente del número de potencia (N_p) y número de flujo (N_q) como función de la altura del impulsor (h) en sistemas líquido-sólido.
Raghav y Joshi (1988)	Primeros en estudiar el consumo de potencia y tiempos de mezclado en función de la velocidad del impulsor en la suspensión de sólidos en tanques con geometría estándar. Llevan a cabo la construcción de curvas del número de potencia como función de la velocidad del impulsor para diferentes cargas de sólidos, tamaños de partícula e impulsores.
Frijlink et al. (1990)	Estudian el mezclado en tres fases líquido-sólido-gas en tanques agitados de geometría estándar e impulsores de flujo axial y radial, en la velocidad crítica del impulsor con una fase gaseosa (N_{sg}). También determinan el efecto que tiene sobre N_{sg} , el diseño y posición del distribuidor al interior del tanque.
Rewatkar et al. (1991)	Continúan con los estudios de consumo de potencia y tiempos de mezclado en función de la velocidad del impulsor en la suspensión de sólidos pero en sistemas de tres fases líquido-sólido-gas en tanques con geometría estándar. Llevan a cabo la construcción de curvas del número de potencia como función de la velocidad del impulsor para diferentes cargas de sólidos, gastos de aire, tamaños de partícula e impulsores.

Debe hacerse notar, que todos los trabajos en esta área han sido realizados con fases sólidas consistentes de partículas con geometría esférica y tamaño de partícula previamente establecido. De manera similar, los materiales que formaron a las fases sólidas en los diferentes estudios, variaron desde arena y vidrio hasta partículas de diferentes tipos de catalizadores comerciales. Aunque ninguno de estos trabajos ha sido enfocado a fases sólidas como suelos o sedimentos, todos estos trabajos aportan conclusiones extrapolables a los sistemas de lodos:

- i)* En el mezclado de sistemas de fases múltiples, las velocidades críticas del impulsor (N_s para sistemas líquido-sólido y N_{sg} para líquido-sólido-gas) son definidas en base al criterio de los dos segundos. Este criterio establece que las partículas de la fase sólida no deben permanecer más de 2 segundos en el fondo del tanque.
- ii)* Bajo las mismas condiciones de carga de sólidos (X) y diámetro de partícula (dp), la velocidad crítica del impulsor en presencia de un gas (N_{sg}) siempre es mayor que en su ausencia (N_s).

iii) Energéticamente, en el mezclado de las fases, suspensión de sólidos, y dispersión de la fase gaseosa, los impulsores de flujo axial son más eficientes que las de flujo radial.

iv) Impulsores pequeños son más eficientes para la suspensión de sólidos que los correspondientes de mayor tamaño

v) Una vez alcanzadas y superadas las velocidades críticas del impulsor (N_s o N_{sg}), la carga de sólidos (X) y el diámetro de partícula (dp) tienen poco efecto en el consumo de potencia (P) y tiempo de mezclado (θ_{mez}).

vi) La diferencia entre las velocidades críticas N_s y N_{sg} es dependiente de la velocidad superficial del gas (V_g), diseño y diámetro del impulsor y del diseño y localización del distribuidor del gas.

vii) El mezclado de un sistema de líquido-sólido-gas como función de la velocidad del impulsor (N), incluye cuatro etapas (**Figura 1.14**). A velocidades bajas se presenta un fenómeno de cavitación sin suspensión de sólidos. Un incremento sucesivo de la velocidad del impulsor, dispersa la fase gaseosa y empieza la suspensión de sólidos. Posteriormente, al alcanzar la velocidad crítica del impulsor, se presenta la dispersión y suspensión totales de las fases gaseosa y sólida. Finalmente, para velocidades del impulsor mayores a la crítica, se llega al mezclado total del tanque.

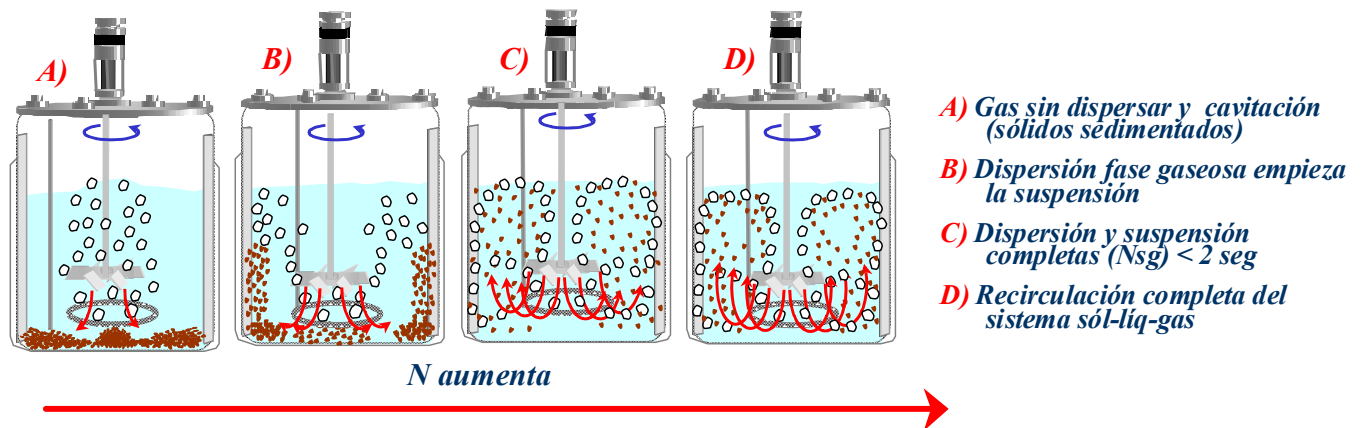


Figura 1.14. Etapas en el mezclado de un sistema líquido-sólido-gas en un tanque agitado en función de la velocidad del impulsor.

1.4.6 Modelos matemáticos de la biodegradación de contaminantes orgánicos en sistemas de lodos

El problema fundamental de cómo se biodegradan los contaminantes en un sistema de lodos, requiere que los mecanismos de disolución, sorción-desorción, difusión, transporte convectivo y bio-reacción, sean vinculados cuantitativamente. Una manera de abordar este problema, es mediante el modelamiento fenomenológico que permite describir, predecir y por lo tanto diseñar procedimientos que mejoren el proceso de biodegradación en suelos y/o sedimentos.

El desarrollo de modelos fenomenológicos para el estudio sistemático de la biodegradación de contaminantes orgánicos en sistemas de lodos, comenzó con trabajos clásicos como los de Dhawan et al., (1991) para la biodegradación de contaminantes en agregados de suelos. Desde entonces, se han desarrollado diferentes modelos (**Tabla 1.8**), basados todos estos en los mecanismos de difusión-sorción-biodegradación, por lo que han sido denominado modelos DSB (Chung et al., 1993).

Debido a que el proceso de biodegradación en un sistema de lodos opera de manera dinámica, y con múltiples fases, los modelos que describen y predicen el comportamiento de estos, conducen a sistemas de ecuaciones diferenciales parciales (EDP), acopladas a su vez con ecuaciones diferenciales ordinarias (EDO) y algebraicas, convirtiéndose la mayoría en problemas de condiciones inicial y en la frontera. Aunque los modelos DSB poseen como eje principal la ecuación de balance de materia sobre los contaminantes al interior de la partícula, difieren entre sí en características tan importantes como son las expresiones de equilibrio para los mecanismos de sorción-desorción, las expresiones cinéticas empleadas en la biocatálisis, y las condiciones frontera en las interfases. Es así, que modelos clásicos de DSB como los de Chung et al. (1993) y Ramaswami y Luthy (1997), consideran la desorción-sorción, difusión y transporte en la interfase, como los mecanismos relevantes en el proceso de biodegradación, asignándole únicamente a la biocatálisis, una tasa de consumo de primer orden. Por el contrario, modelos que dan un peso equivalente tanto a los mecanismos abióticos involucrados en la biodisponibilidad como a la biocatálisis, son los de Mulder et al. (2001) y Fu et al. (1996). Estos, consideran expresiones biocinéticas más complejas, y suponen, que no hay limitaciones en el transporte por convección. Finalmente, otros trabajos consideran la manera en que factores como los contenidos de materia orgánica y arcillas presentes en la fase sólida (Geerdink et al., 1996), ó la adición de solventes (García-Rivero et al., 2002), modifican los modelos clásicos de DSB.

Tabla 1.8. Modelos matemáticos empleados en la predicción y simulación de la biodegradación de contaminantes orgánicos en sistemas de lodos

Modelo	Nomenclatura	Microorg / sustrato/ fase sólida (Referencia)
$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{D_{eff}}{\varepsilon + (1-\varepsilon)\rho_s K} \left(\frac{\partial^2 C}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial C}{\partial r} \right)$ <p>C.F.I $\left. \frac{\partial C}{\partial r} \right _{r=0} = 0$</p> <p>C.F.II $D_{eff} \left. \frac{\partial C}{\partial r} \right _{r=R} = k_L (C_{(r=R)} - C_b)$</p> <p>C.I. $C = C_0 \quad a \quad t = 0$</p> $\frac{dC_b}{dt} = k_L a (C_{(r=R)} - C_b) - k C_b$ <p>C.I. $C_b = C_{b0} \quad a \quad t = 0$</p>	<p>C: Concentración contaminante dentro de los poros de las partículas C_b: Concentración contaminante fase acuosa r: radio de partícula D_{eff}: Coeficiente de difusividad efectiva k: Coeficiente para una tasa de biodegradación de 1^{er} orden k_L, a: Coeficiente de transferencia K: Coeficiente de reparto ε: Porosidad intrapartícula ρ_s: Densidad de la fase sólida</p>	<p><i>Pseudomonas</i> sp/ glutamato / agregados exclusión en gel (Chung et al., 1993)</p>
$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{D_{eff}}{\varepsilon + (1-\varepsilon)\rho_s n K_F C^{n-1}} \left(\frac{\partial^2 C}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial C}{\partial r} \right)$ <p>C.F.I $\left. \frac{\partial C}{\partial r} \right _{r=0} = 0$</p> <p>C.F.II $C _{r=0} = C_b$</p> <p>C.I. $C = C_0 \quad a \quad t = 0$</p> $\frac{dC_b}{dt} = k_L a (C_{(r=R)} - C_b) - \frac{\mu_{max} C_b}{K_s + C_b} \frac{X}{Y}$ $\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_{max} C_b}{K_s + C_b} X$ <p>C.I. $X = X_0 \quad C_b = C_{b0} \quad a \quad t = 0$</p>	<p>C: Concentración contaminante dentro de los poros de las partículas C_b: Concentración contaminante fase acuosa X: Biomasa r: radio de partícula D_{eff}: Coeficiente de difusividad efectiva μ_{max}: Tasa específica máxima de crecimiento K_s, Y: Constante afinidad y rendimiento k_L, a: Coeficiente volumétrico de transferencia n, K_F: Constantes isoterma de Freundlich ε: Porosidad intrapartícula ρ_s: Densidad de la fase sólida</p>	<p><i>Pseudomonas</i> sp/ Mezcla HPAs / suelo (Mulder et al., 2001)</p>
$\frac{dC_L}{dt} = k_L (C^* - C_L) - \frac{qCO_2}{Y_{CO_2/TPH}} \frac{C_L}{k_m + C_L + \frac{C_L^2}{ki}}$ <p>$C^* = k_p C_T$</p> $C_L = \frac{C_1 t}{k_2 + t}$	<p>C_L, C^*: Concentración contaminante fase acuosa y superficie partícula C_T: Concentración tolueno k_m, k_i: Constante afinidad e inhibición k_L: Coeficiente de transferencia $Y_{CO_2/TPH}, qCO_2$: Rendimiento y tasa experimental de producción CO_2 k_p: Coeficiente partición C_1, k_2: Máxima concentración desorbida a cierta CT y tiempo necesario para desorber la mitad máxima, ambas del contaminante.</p>	<p>Consorcio bacteriano/ HTPs / suelo (García-Rivero et al., 2002)</p>

Tabla 1.8. Modelos matemáticos empleados en la predicción y simulación de la biodegradación de contaminantes orgánicos en sistemas lodos (continuación)

Modelo	Nomenclatura	Microorg / sustrato/ fase sólida (Referencia)
$\frac{dq}{dt} = \frac{k_f A_p}{V_p \rho} (C_b - C_s)$ $\frac{dx_t}{dt} = \frac{(V - W / \rho) \mu_{Wmax} x_W C}{V} + \frac{W \mu_{Smax} x_S S}{V(K_S + S)} - \frac{b K_W x_t}{K_W + S_t}$ $\frac{dS_t}{dt} = - \frac{(V - W / \rho) \mu_{Wmax} x_W C}{VY} - \frac{W \mu_{Smax} x_S S}{VY(K_S + S)}$ $\varepsilon \frac{\partial C}{\partial t} + (1 - \varepsilon) \rho \frac{\partial S}{\partial t} = \varepsilon D_p \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{\partial C}{\partial r} \right)$ $q = \frac{3}{\rho R^2} \int_0^R [\varepsilon C + (1 - \varepsilon) \rho S] r^2 dr$ $\left. \frac{\partial C(r, t)}{\partial r} \right _{r=0} = 0$ <p>C.I. $C(r, t) = 0$ $x_t = x_{t0}$ $C_b = C_{b0}$ $C_s(t) = 0$ a $t = 0$</p>	<p>C: Concentración contaminante dentro de los poros de las partículas C_b: Concentración fase acuosa C_s: Concentración superficie de la partícula S: Concentración fase sólida S_t: Concentración total contaminante q: Concentración promedio en la partícula sólida x_p, x_W, x_S: Biomasa total, en fase acuosa y en fase sólida r: radio de partícula D_p: Coeficiente de difusión μ_{Smax}, μ_{Wmax}: Tasa específica máxima de crecimiento en fase sólida y acuosa b: Coeficiente de muerte celular K_W, K_S, Y: Constantes de afinidad y rendimiento W: Peso del sólido en el lodo k_f: Coeficiente de transferencia A_p, V_p: Área y volumen de partícula ε: Porosidad intrapartícula ρ: Densidad de la fase sólida</p>	<p>Consortio microbiano / fenol / suelo arcilloso (Fu et al., 1996)</p>
$\frac{dC_s}{dt} = f_0 \frac{dC_s}{dt} + f_c \frac{dC_s}{dt} + f_s \frac{dC_s}{dt}$ $\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\varepsilon D}{K_p (1 - \varepsilon) \rho_s} \left(\frac{\partial^2 C}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial C}{\partial r} \right)$ $\left. \frac{dC}{dr} \right _{r=0} = 0$ $\frac{dC_s}{dt} = \sum \left(\int_{r=0}^R \frac{dC}{dt} \right)$ <p>C.I. $C(r, t) = C_0 = \frac{q_0}{K_p}$ a $t = 0$</p>	<p>C: Concentración contaminante dentro de los poros de las partículas C_s: Concentración contaminante reactor r: radio de partícula D: Coeficiente de difusividad f_0, f_c, f_s: Fracciones del contaminante en las fases orgánica, arcillosa y acuosa K_p: Coeficiente de sorción ε: Porosidad intrapartícula ρ_s: Densidad de la fase sólida q_0: Concentración contaminante fases sólidas (orgánica y arcilla)</p>	<p>Consortio microbiano / diesel / suelo arcilloso (Geerdink et al., 1996)</p>

NOTA: Se conserva la misma notación de la referencia original

DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

México ha sido un país productor de petróleo por más de seis décadas. Los trabajos de exploración, perforación y petroquímica llevados a cabo durante este tiempo, han conducido de manera fortuita o no a la contaminación de una gran cantidad y variedad de sitios en el país. En 1994, el todavía Instituto de Ecología y Protección al Medio Ambiente (IEPM), reportó que la contaminación debida a la industria del petróleo representó más del 40% de la contaminación provocada por los diversos residuos tóxicos producidos en la República Mexicana, y proyectó un aumento en este valor para las próximas 2 décadas. Por su natural riqueza en hidrocarburos, las regiones más afectadas por contaminación con petróleo y sus derivados, se ubican en los estados del sudeste (**Figura 2.1**) tales como Veracruz, Tabasco, Campeche y Chiapas (Díaz et al., 1993).

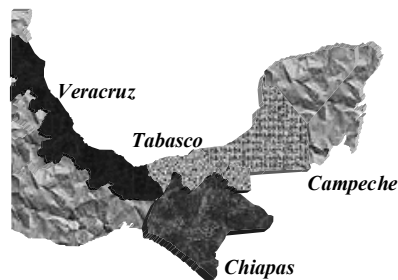


Figura 2.1 Principales estados de la República Mexicana con problemas de contaminación de petróleo y sus derivados.

Actualmente, en México, existe un gran interés por la restauración y limpieza de los sitios contaminados con petróleo y sus derivados. Sin embargo, se requiere que las tecnologías utilizadas para la biorremediación de estos sitios, sean capaces de remover y eliminar contaminantes orgánicos en elevadas concentraciones y en suelos y sedimentos con altos niveles de intemperización. Alternativas viables para la restauración de estos sitios, las representan tecnologías de biorremediación basadas en el uso de biorreactores heterogéneos (lodos y de dos fases líquido-líquido, ambas tecnologías *ex-situ*) junto con el desarrollo de nuevos biocatalizadores. El uso de estas tecnologías es relativamente reciente y su utilización ha sido enfocada a la remoción de sitios con contaminantes orgánicos en niveles bajos de intemperización y/o concentración.

Por lo tanto, un estudio sistemático de los biorreactores heterogéneos, así como su modelado matemático, permitiría un mejor entendimiento de los diferentes mecanismos fisicoquímicos, de transporte y biocatálisis involucrados. Esto a su vez, serviría de plataforma para el desarrollo de criterios en el diseño de sistemas de bioprocesos *ex-situ*, lo cual a su vez conduciría a la biorremediación de sitios con elevados niveles de contaminación e intemperización.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Desarrollar y validar modelos matemáticos basados en la biocatálisis y mecanismos que controlan la biodisponibilidad de los contaminantes orgánicos capaces de predecir la biodegradación de hidrocarburos totales del petróleo en sistemas heterogéneos tales como los biorreactores de dos fases líquido-líquido y de lodos.

3.2 OBJETIVOS PARTICULARES

3.2.1 Desarrollar mediante la operación de biorreactores de laboratorio por lote secuencial de dos fases líquido-líquido, un consorcio microbiano con una capacidad constante de biodegradación de hidrocarburos.

3.2.2 Elaborar y validar un modelo matemático capaz de predecir la biodegradación de hidrocarburos totales del petróleo en un biorreactor de laboratorio de dos fases líquido-líquido.

3.2.3 Evaluar en base al consumo de potencia y aireación, las condiciones abióticas que permitan determinar la mejores condiciones para la transferencia de oxígeno y mezclado de sólidos de un suelo intemperizado con hidrocarburos en un biorreactor de lodos a nivel laboratorio.

3.2.4 Evaluar en un biorreactor de lodos la biodegradación de hidrocarburos totales del petróleo presentes en un suelo intemperizado bajo condiciones de aireación y dispersión completas.

3.2.5 Elaborar y validar un modelo matemático capaz de predecir la biodegradación de hidrocarburos totales del petróleo presentes en un suelo intemperizado en un biorreactor de lodos.

MATERIAL Y MÉTODOS

4. MATERIAL Y MÉTODOS

ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

Se utilizó un conjunto de materiales y métodos para cumplir con los objetivos planteados. Brevemente se explica a continuación el alcance esperado en cada objetivo (ver **sección 3**) para comprender de forma más clara la estrategia experimental. El objetivo **3.2.1**, fue planteado con dos propósitos. El primero disponer de un consorcio cuya capacidad de biodegradación fuera alta y reproducible; mientras que el segundo generar datos de biodegradación en un biorreactor bifásico líquido-líquido, para la valoración del modelo propuesto en el objetivo **3.2.2**. En lo concerniente a las actividades para cubrir el objetivo **3.2.3**, estas sirvieron para determinar las mejores condiciones abióticas de operación del biorreactor de lodos, para utilizarlo en un proceso de biodegradación *ex-situ*. Finalmente, el tener un biocatalizador eficiente (consorcio microbiano) y a su vez establecidas las mejores condiciones abióticas de operación del biorreactor de lodos, el objetivo **3.2.4** pudo cubrirse, y los datos experimentales generados, se utilizaron para la valoración del modelo propuesto en el objetivo **3.2.5**. En la **Figura 4.1**, se muestra la estrategia experimental global.

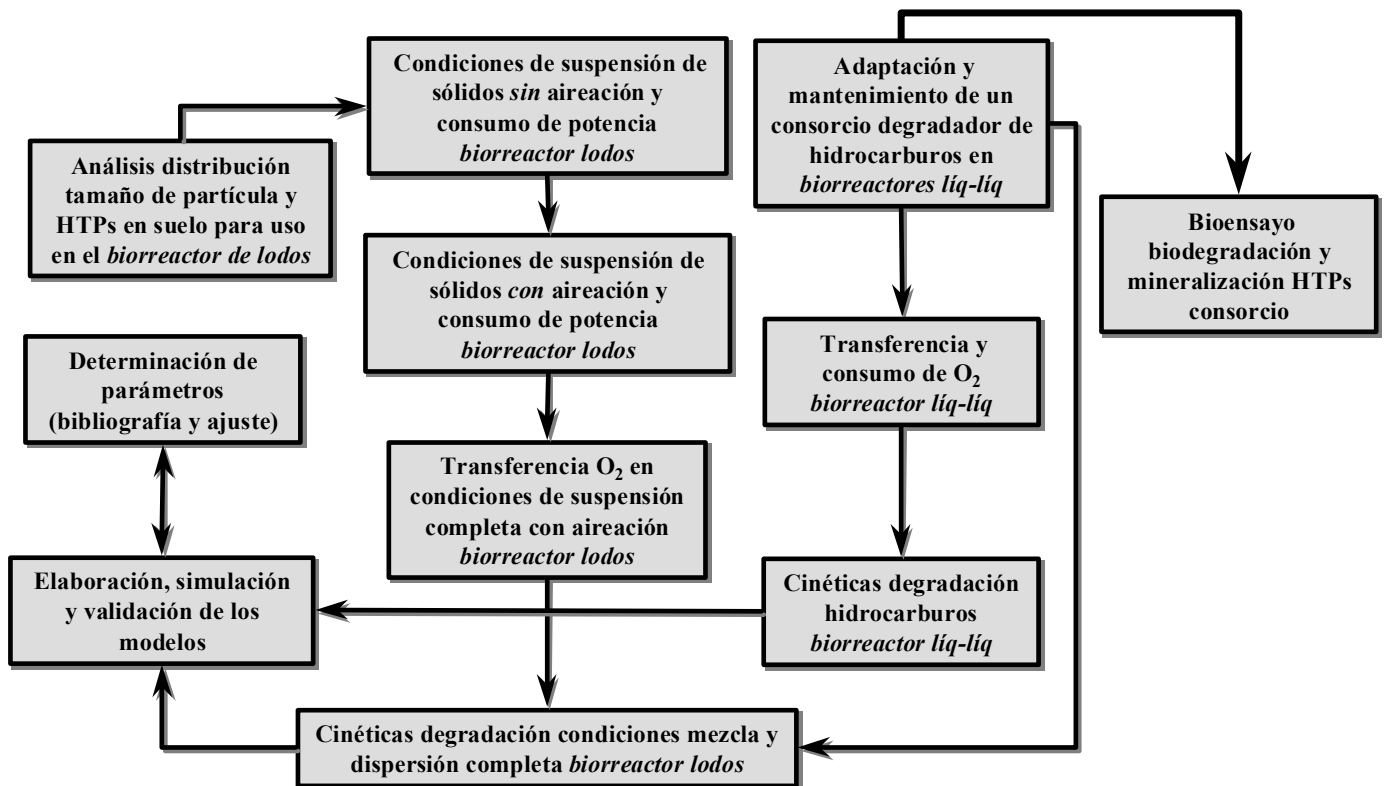


Figura 4.1. Estrategia experimental.

4.1 CONSORCIO DEGRADADOR DE HIDROCARBUROS Y BIORREACTORES DE DOS FASES LÍQUIDO-LÍQUIDO (BLL)

A continuación, se describen los materiales y métodos empleados para cubrir los objetivos 3.2.1 y 3.2.2.

4.1.1 Consorcio, medio mineral e hidrocarburos

El consorcio usado fue aislado de la rizósfera de la planta nativa *Cyperus laxus* LAM (Díaz-Ramírez et al., 2003) la cual crece naturalmente en una región pantanosa al sudeste del estado de Veracruz. La zona se encuentra contaminada e intemperizada con hidrocarburos (Gallegos-Martínez et al., 2000). La composición del medio mineral utilizado para la alimentación de los biorreactores bifásicos líquido-líquido fue (g L^{-1}): 6.75 NaNO_3 , 2.15 K_2HPO_3 , 1.13 KCl y 0.54 MgSO_4 . El pH del medio fue ajustado a 6.5 con una solución 1 N de HCl .

Para la alimentación de los biorreactores fue utilizada una mezcla (1:1 w/w) de crudo Maya (Instituto Mexicano del Petróleo) con *n*-parafinas (C_{10} to C_{28} , Hycel Lab., Mexico), la cual será referida como MCP (mezcla crudo maya parafinas). Para la MCP, se determinó la concentración inicial de equilibrio (saturación) mediante una curva de saturación. Por tetraplicado, matraces de separación con 100 mL del medio mineral se les adicionó alrededor de 1.3 g de la MCP y se agitaron vigorosamente durante 10 minutos. Posteriormente, se permitió la separación de fases, y a partir de la fase acuosa, se cuantificaron los hidrocarburos como carbono orgánico soluble (COS) mediante un analizador de carbono orgánico total (TOC) Shimadzu modelo 5000A. La densidad de la MCP, fue determinada mediante picnómetro a 25°C. También se utilizaron hidrocarburos totales del petróleo libres de asfaltenos (referidos como HTPs-LA), para un ensayo de biodegradación. Estos fueron extraídos del mismo suelo contaminado del que provino la planta *Cyperus laxus*, de acuerdo a la técnica 3540 de la EPA (1994). Los asfaltenos fueron removidos por precipitación en frío con *n*-pentano y filtración al vacío de acuerdo a la técnica D2007-91 de la Annual Book of ASTM Standards (1991).

4.1.2 Biorreactores tubulares de dos fases líquido-líquido (BLL)

Se utilizaron dos columnas de vidrio de 2.5 L sin agitación mecánica, operados en forma secuencial durante ciclos de 21 días, a 30°C y con una tasa específica de aireación de 2 litros de aire

por litro de medio por minuto (**Figura 4.2**). Cada biorreactor de dos fases líquido-líquido (BLL) contuvo al inicio 1500 mL del medio mineral, 13000 mg L⁻¹ de la mezcla MCP, y 500 mL de un cultivo del consorcio previamente crecido con MCP como única fuente de carbono. Al final de cada ciclo, 1500 mL del cultivo fueron retirados.

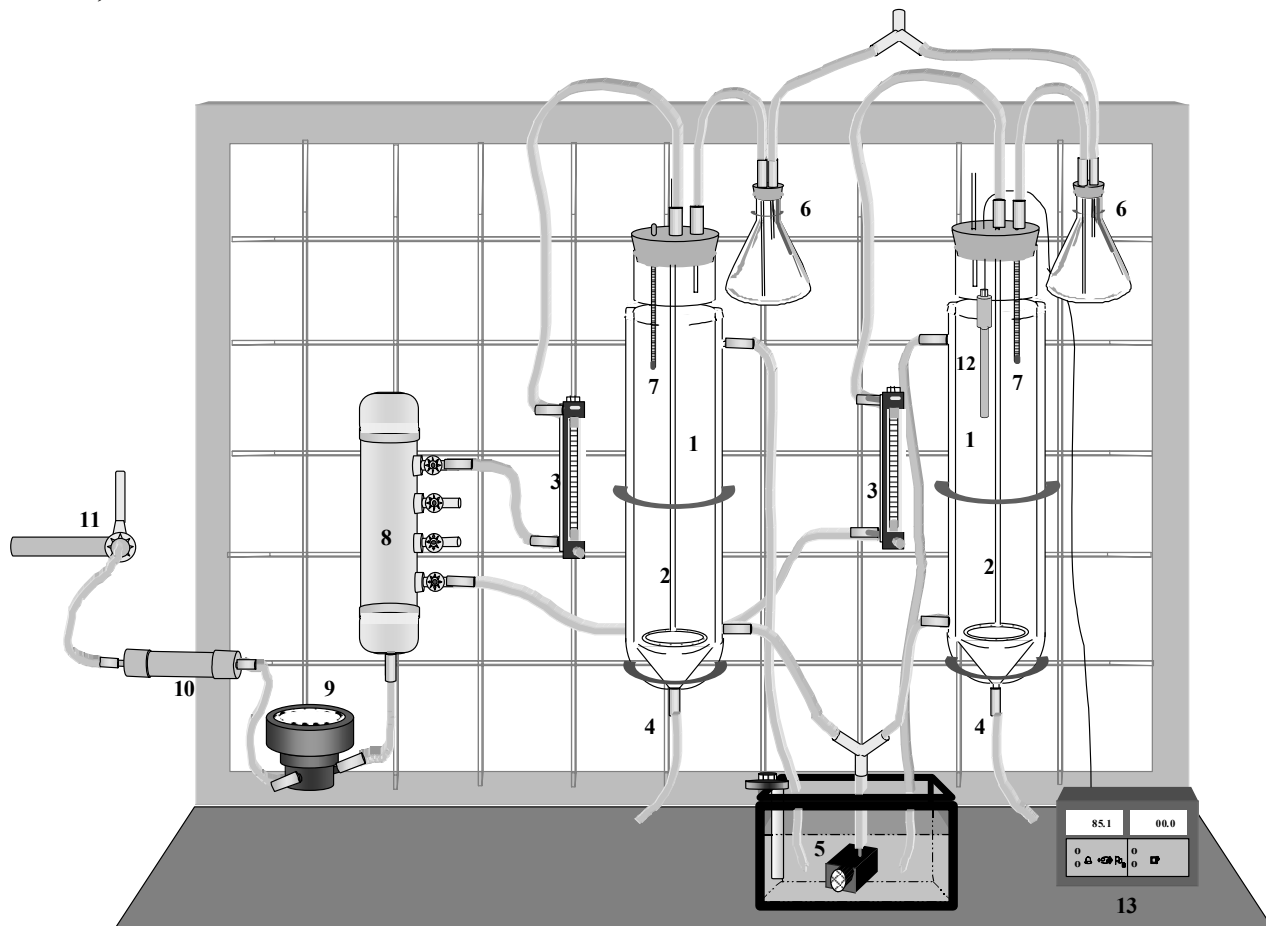


Figura 4.2. Banco de biorreactores líquido-líquido. 1) columnas de vidrio con chaqueta (8.5 cm d.i y 45 cm largo), 2) distribuidores de anillo de vidrio, 3) flujómetro, 4) puerto de muestreo, 5) baño de temperatura para las chaquetas (bomba y calentador), 6) trampas, 7) termómetros, 8) distribuidores de aire a los biorreactores, 9) regulador de presión, 10) filtro de aire, 11) línea general de aire, 12) electrodo de oxígeno disuelto, 13) analizador de oxígeno disuelto.

El cultivo remanente (≈300 mL) fue usado como inóculo para el ciclo siguiente, y las condiciones iniciales fueron restablecidas. Cada biorreactor se muestreó (10 mL) por cuadruplicado en los días 0, 3, 7, 12, 16 y 21. Los hidrocarburos perdidos abióticamente se determinaron mediante la operación independiente y por un ciclo de un reactor con la misma geometría, en condiciones estériles y bajo las mismas condiciones de operación pero sin inóculo.

4.1.3 Transferencia y consumo de oxígeno en los BLL

Para diferentes ciclos y en ambos BLL, se determinaron experimentalmente los coeficientes volumétricos de transferencia de oxígeno (k_La) y las tasas volumétricas de consumo de oxígeno (QO_2X) de acuerdo al método numérico establecido por Fujio et al. (1973). Un analizador de oxígeno (New Brunswick Scientific, model DO-40) con un electrodo de oxígeno de platino de respuesta rápida fueron usados para medir la concentración de oxígeno disuelto.

4.1.4 Sólidos suspendidos (SS) y carbono orgánico soluble (COS) en los BLL

Muestras provenientes de los BLL fueron centrifugadas (Solbat Centrifuge Equipment Co.) a 4 000 g en tubos Corex por 30 min. Se formaron tres fases: una orgánica, una acuosa y otra de sólidos. El carbono orgánico soluble (COS) fue determinado a partir de la fase acuosa por medio de un analizador de carbono orgánico total, previa acidificación y aireación de las muestras (TOC, Shimadzu modelo 5000A). Los sólidos suspendidos (SS) fueron determinados de la fase de sólidos, y de la fracción remanente atrapada en la fase orgánica. La fracción de SS atrapados en la fase orgánica fueron recuperados mediante tres extracciones líquido-líquido (1:5 v/v) con hexano y solución salina (1:3 v/v). Las fases orgánicas fueron colectadas y almacenadas. Todos los SS (los extraídos con hexano y solución salina y los provenientes de la fase sólida) fueron re-centrifugados tres veces con acetona - solución salina (1:20 v/v). Los SS fueron determinados por absorbancia a 620 nm (previa correlación con una curva estándar de SS en base seca) con un espectrofotómetro LKB Biochrom Ultraspec II. La fracción de carbono tanto de los SS como de la mezcla MCP fue determinada con un aparato periférico del TOC 5000 A.

4.1.5 Análisis microbiano en los BLL

En ambos BLL, el número total de heterótrofos determinados como unidades formadoras de colonias (UFC), fue ensayado para diferentes ciclos (en los días 0, 7, 16 y 21) mediante la técnica de cuenta en placa en agar soya tripticaseína (TSA, Bioxon) de acuerdo a Lorch et al. (1995). Las colonias con características diferentes fueron aisladas e identificadas por la empresa Microbial ID Inc (Newark, DE) basado en un análisis de ácidos grasos de la membrana celular. El criterio utilizado para la identificación de las cepas bacterianas fue un índice de similitud mayor o igual a 0.7. El número de microorganismos degradadores de hidrocarburos, fue determinado mediante la técnica del

número más probable (MPN) de acuerdo a Wrenn y Venosa (1996). El azul de tetrazolio (SIGMA) fue usado como indicador del crecimiento microbiano. Mediante un microscopio electrónico JEOL-JSM modelo 5900LV, fueron tomadas microfotografías de escáneo electrónico de oro espolvoreado a diferentes muestras de los sólidos suspendidos provenientes de los biorreactores.

4.1.6 Bioensayo de biodegradación y mineralización de HTPs

Un bioensayo de biodegradación y mineralización con hidrocarburos totales del petróleo libres de asfáltenos (HTPs-SA) fue llevado a cabo para determinar la capacidad del consorcio proveniente de los BLL. Matraces Erlenmeyer (125 mL) con baffles fueron utilizados. Cada matraz contuvo 50 mL del medio mineral estéril y fueron sellados con válvulas Mininert de Teflon. Los matraces fueron inoculados con 1 mL del cultivo proveniente de los biorreactores a cuatro diferentes concentraciones de HTPs-LA (3000; 6000; 9000 y 12000 mg L⁻¹). Para la determinación de los HTPs-LA, los matraces se muestrearon a las 90, 186, 282, 382 y 478 h. El CO₂ fue medido del volumen libre de cabeza de los matraces cada 12 h por cromatografía de gases (GOW-MAC 550, con detector TCD). Dos tipos de controles fueron empleados, no inoculados pero con HTPs-LA, y libres de HTPs-LA pero inoculados. Los primeros fueron usados para determinar la pérdida abiótica, mientras que los segundos para la respiración endógena. La relaciones C/N y C/P para cada concentración de HTPs-LA fueron ajustadas a 10 y 20, respectivamente. Todos los matraces fueron agitados (200 rpm, 30°C) y aireados bajo condiciones de esterilidad después del muestreo del volumen libre de cabeza. Los datos obtenidos del bioensayo correspondientes a rendimientos, tasas de biodegradación y producción de CO₂, se analizaron mediante la prueba estadística de diferencia de medias denominada Tuckey.

4.1.7 Análisis de hidrocarburos

La mezcla de hidrocarburos MCP residuales en los BLL fue extraída y determinada de acuerdo a Van Hamme et al. (2000), con diclorometano como solvente extractor. Los extractos fueron concentrados al vacío (Evaporador rotatorio R-205, BÜCHI) y secados a peso constante en una campana de extracción. La mezcla residual de MCP fue medida gravimétricamente. La eficiencia del proceso de extracción fue del 95%. La mezcla residual de MCP también fue analizada por cromatografía de gases (SRI 8610) con un detector FID y una columna capilar de 30 m x 0.25 mm (i.d.) DB-5 (J&W Scientific) con helio como gas acarreador. La rampa de temperatura (a partir de 50°C hasta 300°C) fue de 5 °C min⁻¹. La mezcla residual de HTPs-LA en el bioensayo, fue

recuperada en la misma manera que la mezcla de MCP, y fue cuantificada con un espectrómetro de infrarrojo Perkin Elmer 200 FT-IR, de acuerdo a García-Rivero et al. (2002).

4.2 BIORREACTOR DE LODOS (BLD) Y CONDICIONES ABIÓTICAS DE OPERACIÓN

A continuación se describen los materiales y métodos empleados para cubrir el objetivo 3.2.3. En todos los experimentos abióticos que a continuación se describen, se utilizó como fase líquida el mismo medio mineral usado en las cinéticas de biodegradación en el biorreactor de lodos (BLD). La composición del medio mineral, se reporta en la sección 4.4. Además, en la determinación de los coeficientes volumétricos de transferencia de oxígeno en el BLD bajo condiciones abióticas, se añadió azida de sodio (0.01% w/v) para evitar las interferencias por parte de los microorganismos nativos presentes en el suelo.

4.2.1 Suelo

Se utilizó suelo contaminado e intemperizado con hidrocarburos totales del petróleo, proveniente de la misma región pantanosa al sudeste del estado de Veracruz de la que se obtuvo la planta de *Cyperus laxus*. El suelo fue secado a temperatura ambiente en una campana de extracción. Del suelo, se determinaron el área superficial y el tamaño promedio de poros mediante isoterma de adsorción con N₂ y mediante el equipo ASAP-2000 a 77 K (Peralta, 2001). Las propiedades edafológicas del suelo se muestran en la **Tabla 4.1**.

Tabla 4.1 Propiedades edafológicas del suelo contaminado e intemperizado con HTPs

<i>Propiedad</i>	<i>valor</i>
<i>pH</i>	<i>4.8</i>
<i>Arena(%)</i>	<i>81.0</i>
<i>Limo(%)</i>	<i>11.8</i>
<i>Arcilla(%)</i>	<i>7.2</i>
<i>(%) Materia orgánica incluyendo HTPs</i>	<i>32.8</i>
<i>Textura</i>	<i>Franco-Arenoso</i>

Para el uso del suelo, se analizó la distribución de la concentración de HTPs y sus fracciones en función del tamaño de partícula. Para los análisis, se emplearon tamices con malla de 4, 8, 14, 20

y 30. Para cada fracción del suelo, la determinación del nivel de contaminación con HTPs se realizó por triplicado. Los HTPs fueron extraídos de acuerdo a la técnica 3540 de la EPA (extracción con hexano-acetona mediante Soxhlet), concentrados al vacío (Evaporador rotatorio R-205, BÜCHI) y la mezcla de solventes en exceso fue removida en campana de extracción hasta peso constante. Finalmente, los HTPs fueron cuantificados gravimétricamente y fraccionados de acuerdo a Díaz-Ramírez et al. (2003).

4.2.2 Configuración del BLD

Para la determinación de las condiciones de operación del BLD, y las cinéticas de biodegradación de los HTPs del suelo intemperizado, se utilizó un biorreactor de acero inoxidable enchaquetado y con un volumen nominal de 5L. En la **Figura 4.3**, se muestran las relaciones geométricas con las que se diseñó el reactor, junto con sus accesorios tales como impulsores, sistema de mamparas y distribuidor de aire. El BLD fue operado mediante una unidad de fermentación SEV modelo FA-5000, con agitación mecánica por patea. La unidad posee un control electrónico para el ajuste y lectura de la velocidad del impulsor, así como tres rotámetros para el control y lectura del gasto de entrada de aire al reactor ($100 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $1\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ y $10\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ respectivamente). El motor para la agitación del impulsor es de corriente directa (127 V y 1.3 A) con $\frac{1}{4}$ HP de potencia nominal, y con una eficiencia del 65%. El BLD constó también con un fondo y una sección transversal de vidrio, cuyo objeto fue el permitir observar los patrones de mezclado y suspensión de sólidos.

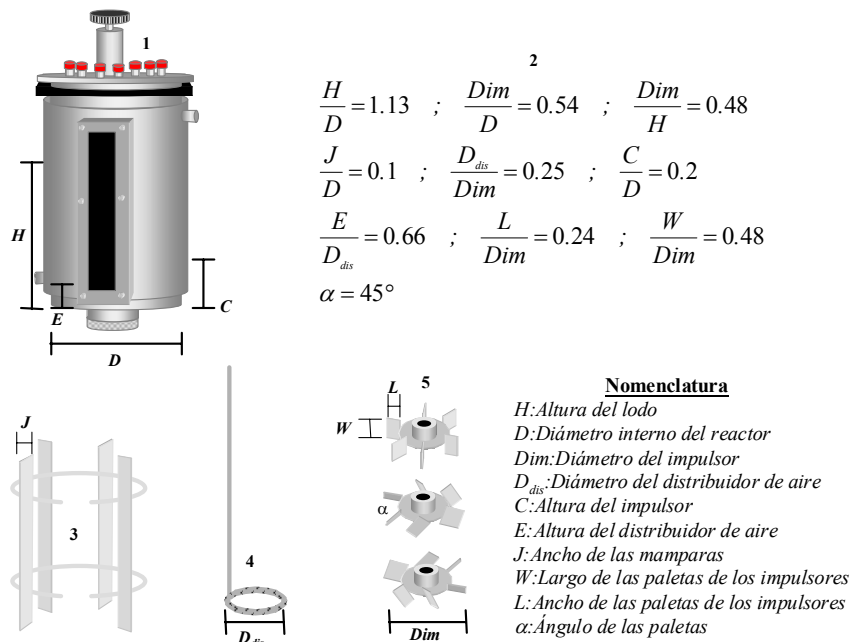


Figura 4.3. Biorreactor de lodos configuración y accesorios. 1) reactor de 5 L de acero inoxidable con chaqueta y mirillas de vidrio frontal y en la base 2) relaciones geométrica para el diseño del reactor, 3) sistema de mamparas, 4) distribuidor de aire de anillo, 5) juego de impulsores.

4.2.3 Consumo de potencia, dispersión y suspensión de sólidos en el BLD

Junto con el BLD, se utilizaron tres diferentes impulsores que permitieron evaluar las mejores condiciones de suspensión de sólidos, dispersión de la fase gaseosa y consumo de potencia. Los impulsores fueron de turbina con seis paletas planas pero con diferentes geometrías con respecto al ángulo de las paletas (**Figura 4.4a**). Un impulsor fue Rushton de paletas verticales con un patrón de flujo axial (R6PP90), mientras que los dos restantes fueron de paletas inclinadas, ambas con un ángulo de 45° con respecto a la horizontal, pero de flujo ascendente (R6PPFA45) y descendente (R6PPFD45) respectivamente.

Para las diferentes cargas de suelo ó sólidos utilizados (0, 10, 20 y 30% w/v), y para cada tipo de impulsor, se determinó el consumo de potencia con y sin aireación en función de la velocidad del impulsor (N en r.p.m). Con respecto a la determinación del consumo de potencia con aireación, se utilizaron gastos de aire que fueron desde 0.2 a 25 L/min por cada tipo de impulsor y carga de sólidos evaluada. El consumo de potencia fue medido a partir de las lecturas de voltaje y consumo de la cantidad de corriente (amperaje), medidas ambas por medio de un multímetro conectado en línea al motor de corriente directa (**Figura 4.4b**). En todos los casos, y de forma visual con la ayuda de un espejo ubicado en la parte inferior del BLD (**Figura 4.4 c**), se empleó el criterio de los 2 segundos para determinar los valores de las condiciones de mezclado total del sistema, tales como la velocidad del impulsor y el gasto de aire

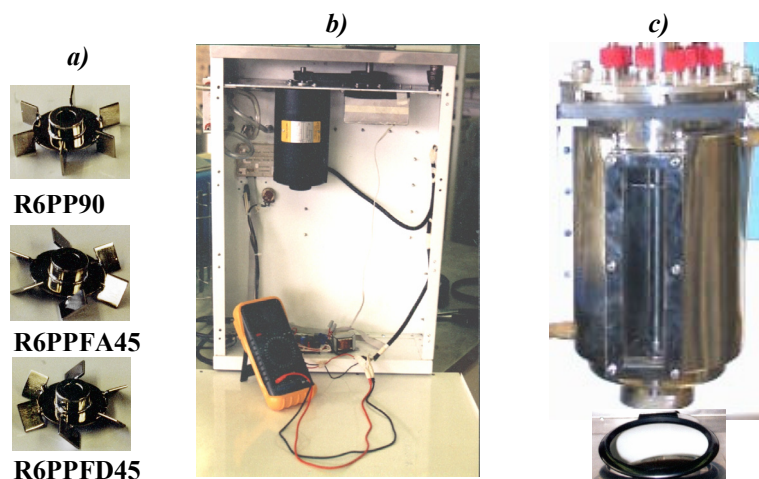


Figura 4.4. Equipo empleado para la determinación del consumo de potencia en el biorreactor de lodos *a)* geometría de los impulsores, *b)* conexión en línea de multímetro para medición de la potencia a partir de las lecturas de voltaje y consumo de corriente del motor de corriente directa, *c)* determinación visual de la suspensión de sólidos como criterio de los dos segundos para determinar las condiciones de mezclado.

4.2.4 Transferencia de oxígeno bajo condiciones abióticas en el BLD

Para el BLD se determinaron los coeficientes volumétricos de transferencia de oxígeno ($k_L a$) como función del gasto de aireación (Q en $L \cdot h^{-1}$) y la velocidad del impulsor (N en r.p.m). Los coeficientes fueron determinados en dos casos: sin carga de sólidos y con una carga de sólidos del 10% w/v. En ambos casos, el gasto se maneja en un intervalo de 3 a 7 L/min, mientras que para la velocidad del impulsor de 370 a 450 rpm. Los intervalos empleados en el gasto y la velocidad, fueron fijados con la finalidad de que el número de aireación fuese menor a 0.0248, esto en base los resultados previamente obtenidos en el mezclado y consumo de potencia, tal como se verá más adelante en la sección de resultados y discusión. En todas las corridas experimentales, se empleó un método de inyección de aire y desplazamiento de aire con nitrógeno para la determinación de los coeficientes volumétricos de transferencia de oxígeno. Para medir la concentración de oxígeno disuelto se utilizó un analizador de oxígeno (New Brunswick Scientific, modelo DO-40) junto con un electrodo de oxígeno de platino de respuesta rápida.

4.3 CINÉTICAS DE BIODEGRADACIÓN EN EL BIORREACTOR DE LODOS (BLD)

Se realizaron dos cinéticas de biodegradación de HTPs en el BLD. En ambas cinéticas el biorreactor se manejó bajo las mejores condiciones de operación. Estas condiciones fueron determinadas previamente en base a los materiales y métodos descritos en la sección 4.2. Debido a la fuerte intemperización de los hidrocarburos en el suelo, en una de las cinéticas se utilizó tolueno como fase extractiva, mientras que en la otra no. Con este antecedente, los materiales y métodos empleados para cubrir el objetivo 3.2.4 se describen a continuación.

4.3.1 Consorcio, medio mineral y suelo

En ambas cinéticas, se empleó un medio mineral mínimo cuya composición fue ($g L^{-1}$): 6.0 $NaNO_3$, 2.0 K_2HPO_3 , 1.0 KCl y 0.5 $MgSO_4$. El pH del medio fue ajustado a 6.5 con una solución de 1 N de HCl . Con el propósito de operar el biorreactor de lodos con un suelo de tamaño de partícula promedio de $654 \mu m$, y un intervalo en la concentración de HTPs de 140,000 a 160,000 ppm, se utilizó una mezcla conformada por cuatro fracciones del suelo intemperizado. En base al diámetro de partícula (dp), las proporciones en peso de las fracciones del suelo utilizadas en la mezcla fueron de

un 80% para un $dp < 570 \mu\text{m}$, 2.5% para $570 \mu\text{m} < dp < 869 \mu\text{m}$, 2.5% para un $869 \mu\text{m} < dp < 1598 \mu\text{m}$ y de un 15% para un $1598 \mu\text{m} < dp < 1765 \mu\text{m}$.

Como inóculo para la cinética de biodegradación en el BLD sin tolueno, se utilizó el consorcio proveniente de los BLL (**Figura 4.5a**) descritos en la sección 4.2.2. 250 mL tomados al séptimo día de cultivo de una de las cinéticas y de cada uno de los BLL, fueron centrifugados (Solbat Centrifuge Equipment Co.) a 4 000 *g* en tubos Corex por 30 min. De las tres fases formadas, la orgánica y acuosa se desecharon, mientras que la fase de SS se centrifugó y lavó con una solución salina por triplicado. Finalmente, los SS fueron suspendidos en medio mineral en un volumen igual del cultivo del que provinieron, inoculándose con esta suspensión al BLD sin tolueno.

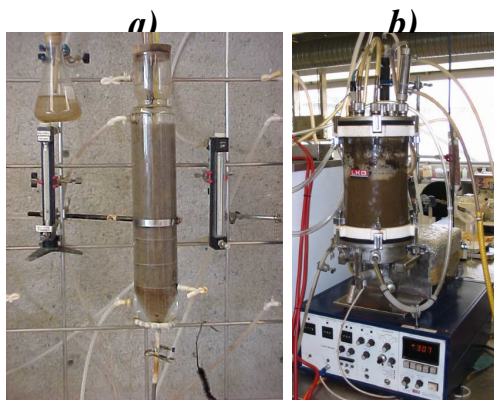


Figura 4.5. Fuente de los inóculos empleados en las cinéticas de biodegradación en el biorreactor de lodos, *a*) biorreactor tubular de dos fases líquido-líquido (BLL), *b*) biorreactor agitado de dos fases líquido-líquido alimentado con tolueno (BTLL).

En lo referente a la cinética de biodegradación en el BLD con tolueno, como inóculo, se utilizó un consorcio adaptado a una mezcla de hidrocarburos-tolueno como fuente de carbono. Este consorcio, proveniente originalmente de los BLL, fue propagado, adaptado y mantenido durante cinco lotes secuenciales de 21 días (purgando al final de cada lote un 50% v/v) en un biorreactor de dos fases líquido-líquido con agitación mecánica y alimentado con tolueno (BTLL). Los volúmenes nominal y de trabajo en el BTLL fueron de 3 L y 2 L respectivamente (**Figura 4.5b**). El BTLL, operó isotérmicamente a 30°C con un gasto de aire de 1 L min⁻¹ y una agitación de 200 r.p.m. El medio mineral utilizado fue el mismo que en los BLL. El BTLL se alimentó con 10,000 mgL⁻¹ de la mezcla MCP, adicionándosele 10 mL de tolueno cada 3 días por lote. El BTLL estaba constituido por un sistema de condensación de doble columna (ambas de acero inoxidable y con fluido de enfriamiento a 10°C) para minimizar las pérdidas tanto del tolueno como de la fase acuosa. El medio de cultivo

proveniente del BTLL, fue sometido al mismo procedimiento descrito anteriormente para la utilización de los SS como inóculo en la cinética de biodegradación con tolueno en el BLD.

4.3.2 Arranque, operación y muestreo del BLD

En ambas cinéticas, el BLD se cargó un 30% p/v de la mezcla del suelo intemperizado (1 kg por 3 L de lodo). Previo al arranque de las cinéticas, el BLD se operó sin aireación a 300 r.p.m durante 24 horas para la homogeneización y humectación del lodo. Esta operación fue necesaria, debida a la alta concentración de HTPs presentes en el suelo ($\approx 150,000$ ppm). En el caso de la cinética con tolueno, una vez formado el lodo, el solvente fue adicionado hasta una concentración de $14,000 \text{ mg kg}^{-1}$ suelo (García-Rivero et al., 2002), operando el BLD otras 24 horas bajo las mismas condiciones en las que fue formado el lodo. Para el arranque, en ambas cinéticas, el BLD fue inoculado en un 10 % v/v con el inóculo correspondiente al tipo de cinética, y, también para ambos casos, el BLD fue operado bajo las mejores condiciones abióticas de operación (agitación, aireación, geometría del impulsor, consumo de potencia) previamente determinadas. El BLD estaba constituido por un sistema de condensación (una columna de vidrio y con fluido de enfriamiento a 10°C), cuyo objetivo fue el minimizar las pérdidas de la fase acuosa y tolueno. El BLD, operó isotérmicamente a 30°C durante 30 días para ambas cinéticas, los tiempos de muestreo fueron como sigue: en la cinética sin tolueno, se tomaron muestras del BLD en los días 0, 7, 12, 19, 25 y 30, mientras que en la cinética con tolueno en los días 0, 6, 15, 22 y 30. Sin importar el tipo de cinética, el BLD se muestreó a tres diferentes alturas y por triplicado. En la **Figura 4.6**, se muestra una imagen de la configuración del BLD durante las cinéticas.



Figura 4.6. Configuración del biorreactor de lodos (BLD) utilizado durante las cinéticas de biodegradación

4.3.3 Determinación del COS, CO₂ y O₂ en el BLD sin tolueno

Estos análisis se realizaron para la cinética sin tolueno en el BLD. Las muestras provenientes del BLD fueron centrifugadas (Solbat Centrifuge Equipment Co.) a 500 g en tubos de teflón por 5 min. De las dos fases formadas, la fase sólida (suelo) fue almacenada para análisis posteriores de HTPs, mientras que de la fase acuosa, el carbono orgánico soluble (COS) fue determinado mediante un analizador de carbono orgánico total (TOC, Shimadzu modelo 5000A).

Por otra parte de la fase gaseosa a la salida del BLD se determinaron el CO₂ producido y O₂ consumido mediante un metabolímetro desarrollado en la UAM- Iztapalapa (Planta Piloto de Fermentaciones). El metabolímetro consta de los siguientes dispositivos: *i*) medidor de flujo para la mezcla de gases Neumotacómetro (Hans Rudolf Inc. 8300A), *ii*) detector de CO₂ de espectrofotómetro de absorción en infrarrojo (Servomex 1505) y *iii*) detector de O₂ paramagnético (Servomex 1111/000). Además, el sistema posee una computadora provista de una interfase (tarjeta) y su programa correspondiente (desarrollados también en la UAM- Iztapalapa), que permitió la calibración automática de los detectores, la programación de la frecuencia de los muestreos, el análisis de gases y el almacenamiento de datos.

4.3.4 Análisis microbiano en el BLD

Para ambas cinéticas, y a partir de muestras homogeneizadas de los lodos provenientes del BLD, se determinó el número total de heterótrofos como unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC mL⁻¹), para los diferentes días de muestreo, mediante la técnica de cuenta en placa en agar soya tripticaseína (TSA, Bioxon) de acuerdo a Lorch et al. (1995).

4.3.5 Análisis de HTPs en el BLD

Los lodos provenientes de las muestras centrifugadas del BLD en ambas cinéticas, se secaron a temperatura ambiente en campana de extracción. Una vez que las muestras de sólidos estuvieron a peso constante, los HTPs fueron extraídos de acuerdo a la técnica 3540 de la EPA (extracción con hexano-acetona mediante Soxhlet). Los HTPs extraídos fueron concentrados al vacío (Evaporador rotatorio R-205, BÜCHI) y la mezcla de solventes en exceso fue removido en campana de extracción hasta peso constante. Finalmente, los HTPs se cuantificaron gravimétricamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 BIORREACTORES DE DOS FASES LÍQUIDO-LÍQUIDO (BLL)

A continuación, se presentan los resultados obtenidos durante el tiempo en que fueron operados los BLL por lote secuenciado.

5.1.1 Pérdida abiótica de hidrocarburos

Con el propósito de determinar la pérdida abiótica de la mezcla de crudo maya y parafinas (MCP) y no sobrestimar los valores de la magnitud y tasas de biodegradación durante el tiempo de operación de los biorreactores, se operó y muestreó un BLL abiótico durante un ciclo de 21 días bajo las mismas condiciones que los BLL con el consorcio. Durante las primeras horas de operación, se observó una completa dispersión y homogeneización de la MCP, debido probablemente a la convección provocada por la aireación. En la **Figura 5.1**, son mostrados tanto la fracción residual de la MCP en el BLL abiótico como la tasa experimental volumétrica de la pérdida abiótica de la MCP ($\mathcal{R}_{abiótica}$). A partir de la figura, puede observarse que hasta el tercer día de operación, la $\mathcal{R}_{abiótica}$ fue de $548 \text{ mg L}^{-1}\text{d}^{-1}$, la cual posteriormente disminuyó de manera muy rápida. En base al porcentaje residual, también se observa, que al final del ciclo, la pérdida total de la MCP fue de un 26.9%. Esta pérdida abiótica de hidrocarburos, probablemente se debió al arrastre por la fase gaseosa de los compuestos volátiles y semivolátiles presentes en la MCP.

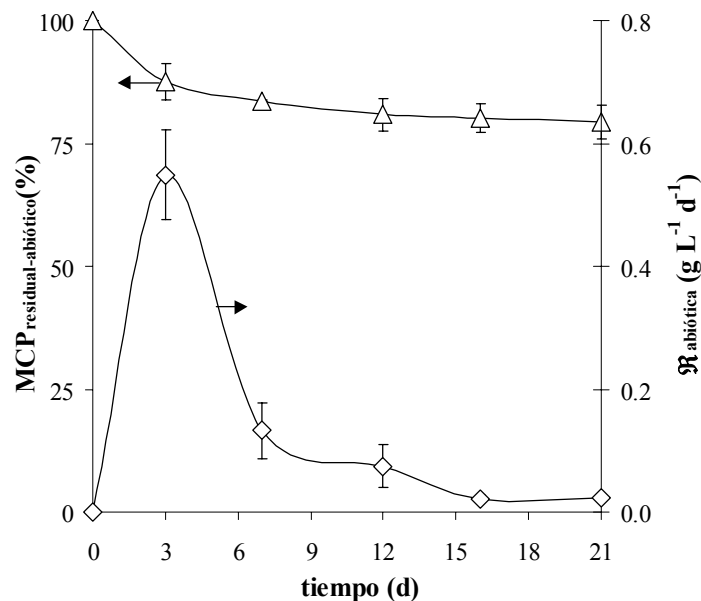


Figura 5.1. Pérdida abiótica de hidrocarburos en el BLL, donde (\diamond) representa la tasa volumétrica de pérdida abiótica de la MCP ($\mathcal{R}_{abiótica}$ en $\text{g L}^{-1}\text{d}^{-1}$), y (\triangle) la fracción residual de la MCP.

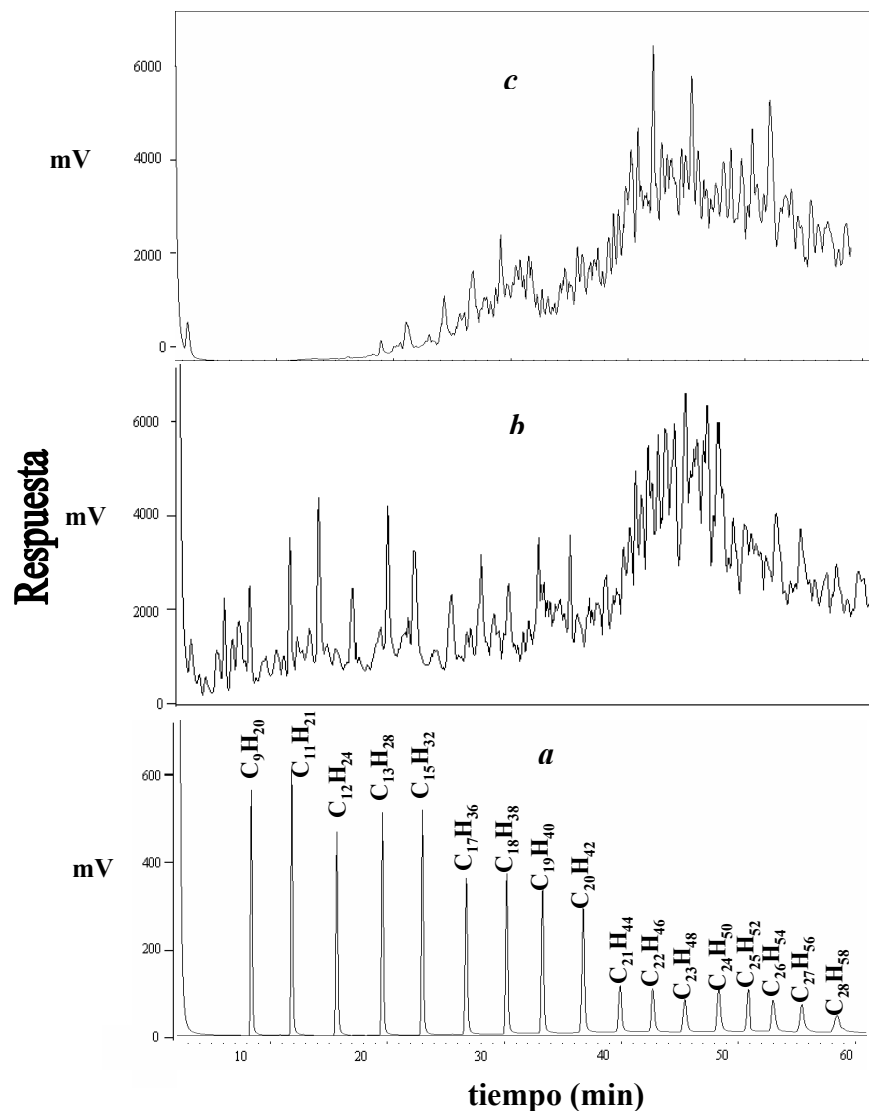


Figura 5.2. GC-FID cromatogramas para la mezcla de crudo maya-parafinas (MCP) provenientes del BLL abiótico, donde *a*) mezcla estándar de *n*-alcanos (C₉-C₂₈), *b*) MCP al día 0, y *c*) MCP al día 21.

Para determinar cualitativamente qué hidrocarburos se perdieron en el ensayo abiótico, las muestras residuales de la MCP provenientes del BLL abiótico, se analizaron mediante CG-FID. En la **Figura 5.2**, se muestra una comparación entre los cromatogramas de muestras de la MCP al inicio y final del ciclo, como material complejo sin resolución con respecto a un cromatograma con una mezcla estándar de *n*-alcanos. Cromatogramas similares han sido reportados durante la biodegradación de mezclas complejas de hidrocarburos, tales como la creosota (Potter y Duval, 2001). Puede observarse una desaparición de hidrocarburos con menos de doce carbonos, lo cual corrobora que la pérdida abiótica correspondió a los compuestos volátiles y semivolátiles presentes en la MCP.

Para no sobrestimar, y asegurar la confiabilidad de los datos en la concentración residual de la mezcla de crudo maya y parafinas ($[MCP]_{residual}^{t_i}$) en las cinéticas de biodegradación en los BLL, los valores experimentales de concentración de la mezcla de crudo maya y parafinas ($[MCP]_{exp}^{t_i}$) obtenidos durante la operación de los biorreactores con el consorcio, se corrigieron mediante la ecuación (5.1.1), la cual tomó en cuenta las tasas volumétricas en la pérdida abiótica de hidrocarburos ($\mathfrak{R}_{abiotico}^{t_i}$) y la eficiencia de extracción (ξ_{eff}) durante la cuantificación gravimétrica de la MCP.

$$[MCP]_{residual}^{t_i} = \frac{[MCP]_{exp}^{t_i}}{\xi_{eff}} + \mathfrak{R}_{abiotico}^{t_i} \cdot \Delta t_i \text{----(5.1.1)}$$

Para esta ecuación, t_i es el tiempo en que se tomó la i -ésima muestra ($i=1$ a 6) en los BLL con el consorcio ($t_1=0$, $t_2=3$, $t_3=7$, $t_4=12$, $t_5=16$ y $t_6=21$ días) y $\Delta t_i=(t_i-t_{i-1})$.

5.1.2 Transferencia y consumo de oxígeno

Con el fin de minimizar la pérdida abiótica de hidrocarburos de la MCP, así como los problemas de manejo de los BLL por formación de espuma, se decidió emplear una baja tasa de aireación (2 litros de aire por litro de medio por minuto ó 2 vvm). Para determinar si esta tasa de aireación en conjunto con la falta de agitación mecánica en los BLL podrían generar limitación de oxígeno, en diferentes ciclos y para los dos BLL operados con el consorcio, se llevaron a cabo cinéticas de oxígeno disuelto, en donde se aplicó el método dinámico de "gas-in, gas-out". El análisis de la información generada, se realizó con la simplificación de Fujio et al. (1973).

Para ambos BLL operados con el consorcio, a partir de las cinéticas de O_2 disuelto, se determinaron los coeficientes volumétricos de transferencia de oxígeno (k_La en h^{-1}) y tasas específicas de consumo (QO_2 en $mgO_2 \cdot (gSS \ h)^{-1}$), las cuales se muestran en la **Tabla 5.1**. Para ambos biorreactores y los diferentes ciclos, no se observaron diferencias significativas en los valores del k_La . Los valores permanecieron estables en un intervalo de 16.4 a 20.5 h^{-1} y fueron más bajos de lo esperado. Nielsen et al. (2003) han reportado que la presencia de fases orgánicas inmiscibles en sistemas acuosos, conducen a la disminución significativa de los coeficientes volumétricos de transferencia de oxígeno. En lo referente a los valores de QO_2 , estos fueron altos, tal y como se

esperaba ya que los hidrocarburos son compuestos altamente reducidos. Después del cuarto ciclo, también se observa que los valores de QO_2 se incrementaron a casi el doble, sugiriendo una mayor actividad metabólica. Puesto que los sólidos suspendidos (biomasa) no cambiaron significativamente durante los ciclos, las tasas volumétricas de consumo de oxígeno ($\mathfrak{R}_{O_2}^{consumo} = QO_2 \cdot x_{SS}$, donde x_{SS} representa la concentración de sólidos suspendidos) mostraron ser mayores que las tasas volumétricas de transferencia ($\mathfrak{R}_{O_2}^{transporte} = k_L a \cdot [c_l^* - c_l]$, donde c_l^* y c_l representan la concentración de saturación de oxígeno y la concentración de oxígeno en el seno de la fase acuosa respectivamente, y ambas están en mgL^{-1}), lo que condujo a que en todo momento, el cultivo microbiano estuviera limitado en oxígeno, tal como se muestra en la última columna de la **Tabla 5.1**, en donde el valor del cociente de la tasa de consumo entre la tasa de transporte, siempre fue mayor a la unidad.

Tabla 5.1. Coeficientes volumétricos de transferencia de oxígeno ($k_L a$) y tasas específicas de consumo de oxígeno (QO_2) para los BLL con el consorcio en diferentes ciclos y días

Número de BLL	Ciclo	día	$k_L a (h^{-1})$	$x_{SS} (g L^{-1})$	$QO_2 (mgO_2 \cdot (g SS h)^{-1})^*$	$\mathfrak{R}_{O_2}^{consumo} / \mathfrak{R}_{O_2}^{transporte}$
1	2	21	17.1	3.9	7.5	3.9
2	2	21	16.4	4.2	6.7	3.0
1	4	10	18.4	3.2	18.5	4.5
2	4	10	19.6	3.3	16.6	2.9
1	6	7	16.4	2.1	14.4	2.9
2	6	7	18.6	2.2	13.2	3.2
1	8	14	17.4	4.0	22.5	5.7
2	8	14	20.6	4.1	14.4	3.4
1	10	6	18.3	2.0	17.6	2.0
2	10	6	19.8	2.3	15.3	2.8
1	13	8	17.5	2.8	16.8	3.9
2	13	8	19.4	3.2	13.5	3.6

*La tasa específica de consumo de oxígeno fue determinada con el valor de saturación de $5 mg O_2 L^{-1}$ correspondiente a las condiciones de la Cd. de México (585 mm Hg y $25^\circ C$).

Como se verá más adelante, la operación de los BLL bajo condiciones de limitación en oxígeno, tuvo un efecto que se reflejó en la producción de sólidos suspendidos y carbono orgánico soluble. Eriksson et al. (2003) reportaron que durante la degradación aerobia de hidrocarburos aromáticos a bajas temperaturas, la composición y actividad de las comunidades microbianas se ve más afectada por la limitación de oxígeno que por factores como la temperatura o fuente del inóculo. Por lo tanto, el uso en los BLL con una tasa de aireación baja y sin agitación mecánica, sometió al

consorcio microbiano a una limitación en oxígeno, la cual se mantuvo durante todo el tiempo de operación de los BLL.

5.1.3 Producción de sólidos suspendidos (SS) y carbono orgánico soluble (COS)

Con el propósito de evaluar el efecto de la limitación de oxígeno sobre la formación de biomasa y productos de oxidación de la MCP, se estimaron las tasas experimentales volumétricas de producción de sólidos suspendidos (\mathcal{R}_{SS}) y carbono orgánico soluble (\mathcal{R}_{COS}) para los BLL con el consorcio. En la **Figura 5.3**, se muestran las tasas volumétricas para los veinte ciclos que se operaron los biorreactores. La producción de SS durante la biodegradación aerobia de hidrocarburos ha sido relacionada tanto a la formación de biomasa (Solano et al., 1999) como de metabolitos no solubles (Coty y Leavitt, 1999), mientras que el COS, se ha asociado a productos de oxidación tales como ácidos y diácidos orgánicos de hidrocarburos alifáticos, junto con una amplia variedad de cetonas y aldehídos derivados de compuestos aromáticos (Langbehn y Steinhart, 1995).

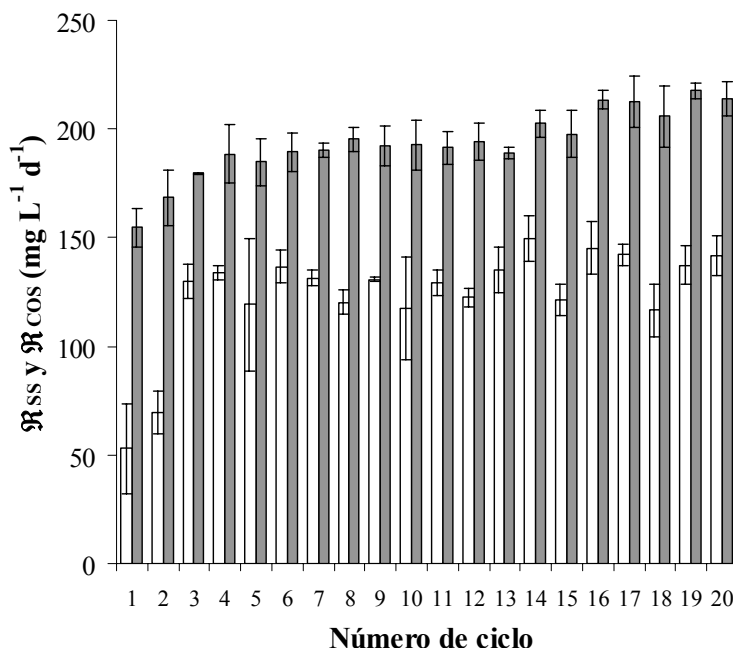


Figura 5.3. Tasas volumétricas de producción de sólidos suspendidos (\mathcal{R}_{SS}) y carbono orgánico soluble (\mathcal{R}_{COS}) en los BLL durante veinte ciclos de 21 días cada uno. Las tasas de producción de SS (■) y COS (□) fueron estimadas por regresión lineal. Las barras de error corresponden a una desviación estándar para muestras evaluadas por cuadruplicado.

A partir de la **Figura 5.3**, se puede observar que las tasas volumétricas de producción de los SS no cambiaron significativamente a través de los 20 ciclos, con un valor promedio de alrededor de 198 mg L⁻¹ d⁻¹. Sin embargo, las tasas volumétricas de producción de COS si aumentaron

significativamente hasta alcanzar valores tope a partir del cuarto ciclo de alrededor de $131 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Este incremento en el COS probablemente se debió a la acumulación de los metabolitos solubles formados por la oxidación parcial de los hidrocarburos como consecuencia de la limitación en oxígeno.

Con el propósito de comprender por qué se mantuvieron constantes las tasas volumétricas de producción de los SS, se estimaron los rendimientos máxicos con respecto a la MCP degradada ($Y_{SS/MCP}$) para cada uno de los ciclos en que se operaron los BLL que se muestran en la **Figura 5.4**. Puede observarse, que el rendimiento disminuyó marcadamente hasta el cuarto ciclo, alcanzando un valor constante de alrededor de 0.44 g g^{-1} . Estudiando la biodegradación aerobia de *n*-octadecano por *Nocardia* sp. en reactores de dos litros aireados y agitados mecánicamente, sin limitación de oxígeno y nutrientes, Raymond (1999) obtiene valores finales para rendimientos biomasa/hidrocarburos de 0.81 a 0.84 g g^{-1} . Acorde al diseño del medio mineral empleado, no hubo limitación en nutrientes como N y P, por lo tanto, la disminución en el $Y_{SS/MCP}$, probablemente sea efecto de la limitación de oxígeno sobre el consorcio.

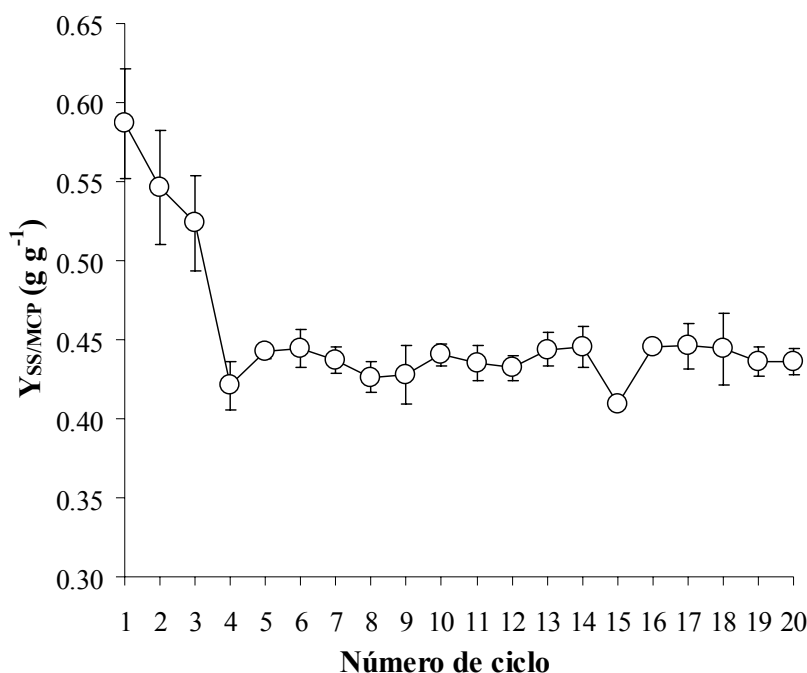


Figura 5.4. Rendimientos de SS/MCP degradado ($Y_{SS/MCP}$ en g g^{-1}) durante veinte ciclos de 21 días en los BLL. Las barras de error corresponden a la desviación estándar de muestras por cuadruplicado.

En nuestro trabajo, la actividad del consorcio como ente biocatalítico, fue claramente afectada por la limitación en oxígeno (Eriksson et al., 2003). Esta limitación, se reflejó en una alta

transformación de la MCP inicial en formas más solubles (COS), una baja producción de biomasa y metabolitos no solubles (SS), así como en la disminución y mantenimiento de un bajo rendimiento ($Y_{SS/MCP}$). No obstante, la limitación en oxígeno probablemente funcionó como una fuerza selectiva que modificó la composición original de las poblaciones del consorcio, lo cual a su vez condujo a mejorar su habilidad para biodegradar la MCP.

5.1.4 Biodegradación de hidrocarburos en los BLL

Una vez estimada la pérdida abiótica de la MCP, y evaluado el efecto de la limitación de oxígeno en la formación de SS y COS, lo siguiente fue determinar la capacidad del consorcio para biodegradar la MCP en los BLL. En la **Figura 5.5**, se muestra la cinética de biodegradación como $[MCP]_{residual}$ contra tiempo, para los 420 días de operación (veinte ciclos de 21 días) de los BLL. Los valores mostrados en la cinética fueron corregidos tomando en cuenta tanto los hidrocarburos de la MCP perdidos abióticamente, como la eficiencia en el proceso de extracción (ecuación 5.1.1). A lo largo de la cinética, se pueden apreciar de manera clara cada uno de los ciclos durante la operación por lote secuencial. También se puede observar, que la concentración final de los hidrocarburos residuales de la MCP a partir del cuarto ciclo, mantiene su valor más bajo, en promedio $4.8 \pm 0.4 \text{ g L}^{-1}$ (valor correspondientes a una tasa de biodegradación promedio por ciclo de $460 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Los resultados muestran que el consorcio mejoro su capacidad para biodegradar la MCP a partir del cuarto ciclo. Además, una extensa emulsificación y espuma estuvieron presentes a lo largo del tiempo de operación de los BLL, lo cual pudo deberse a la producción de metabolitos tales como los biosurfactantes (Sekelsky y Shreve, 1999).

Para determinar cualitativamente el tipo de hidrocarburos biodegradados por el consorcio, se analizaron los MCP residuales por cromatografía de gases (**Figura 5.6**). Para dos ciclos diferentes (6 y 20) y en los días 7, 16 y 21, los cromatogramas de la MCP residual muestra una clara desaparición de hidrocarburos de C_{13} a C_{28} . La suma de las áreas de los picos correspondientes al intervalo de compuestos de C_{13} a C_{28} , acumula entre el 60 y 70% de los hidrocarburos de la MCP, y representa la fracción no volátil. Debido que los resultados muestran un desaparición global de compuestos diferente a la ocurrida bajo condiciones abióticas, puede concluirse que el consorcio fue capaz de usar esta fracción como fuente de carbono y energía.

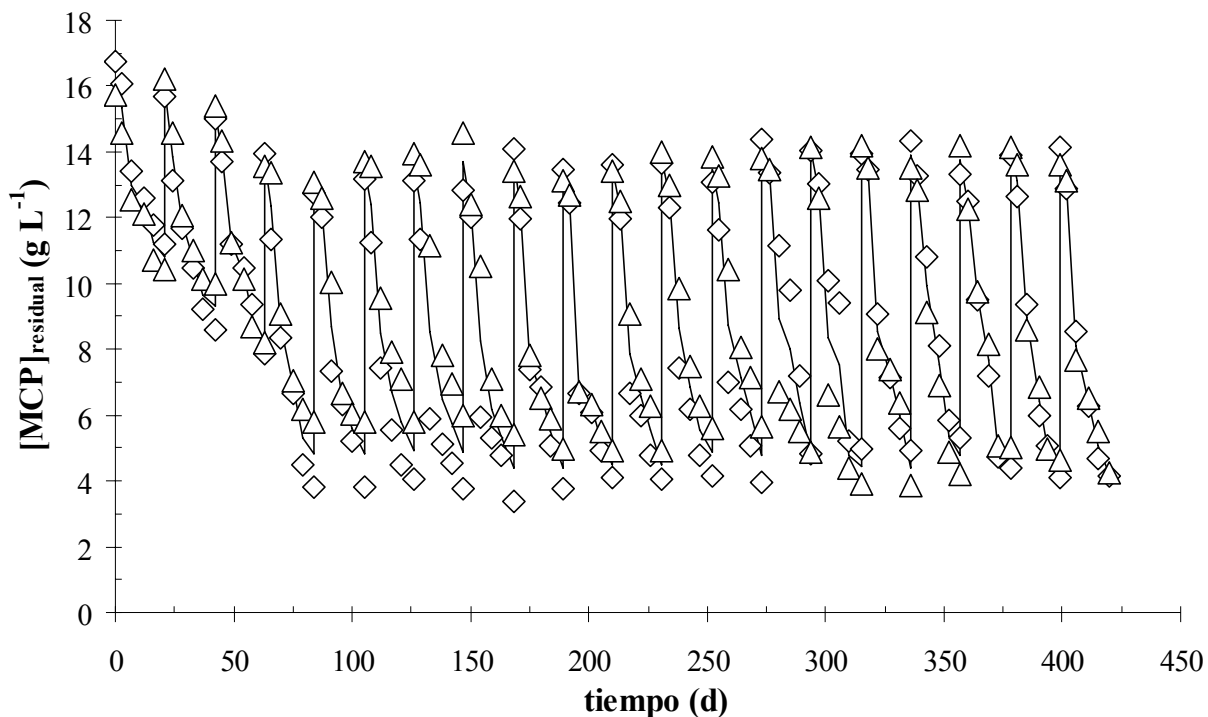


Figura 5.5. Cinética de biodegradación de la MCP como hidrocarburos residuales (g L⁻¹) en los BLL con el consorcio, operados de forma secuencial durante 20 ciclos de 21 días. En la cinética (◇) representa los valores para el biorreactor 1, y (△) para el biorreactor 2, mientras que línea continua es el valor promedio entre ambos biorreactores.

La fracción remanente de la MCP al final de cada ciclo no fue analizada; sin embargo, el mismo consorcio se ha reportado capaz de biodegradar crudo Maya libre de asfaltenos, mostrando que la fracción residual consiste predominantemente de compuestos polares (Díaz-Ramírez et al., 2003). En el presente trabajo los asfaltenos no fueron removidos, por lo tanto los hidrocarburos residuales al final de cada ciclo probablemente fueron ricos tanto en compuestos polares como en asfaltenos.

La magnitud en la biodegradación lograda en nuestro estudio fue similar a la alcanzada durante la biodegradación en cultivo líquido del crudo ligero Tapis (Palittapongarnpim et al., 1998), y del doble a la reportada por Sugiura et al. (1997) con crudo Maya. En ambos estudios, se utilizaron consorcios nativos. Por otra parte, la operación por lote secuencial en cultivo líquido a nivel laboratorio, también ha sido reportada para el mejoramiento de la habilidad de consorcios para biodegradar hidrocarburos (Venkateswaran y Harayama, 1995; Márquez et al., 2001). Sin embargo, no se dispone de información referente a la estabilidad y capacidad de los consorcios para biodegradar hidrocarburos en operación por lote secuencial en períodos largos de tiempo y bajo condiciones de limitación de oxígeno como en nuestro trabajo. Además, la operación por lote

secuencial, más precisamente la manipulación de descarga-carga, ofreció la ventaja de aproximarse a la restauración de las condiciones iniciales, lo que evitó problemas tales como inhibición por producto, debido principalmente a dos factores: la dilución del medio de cultivo y la adaptación del consorcio a las condiciones cíclicas de operación.

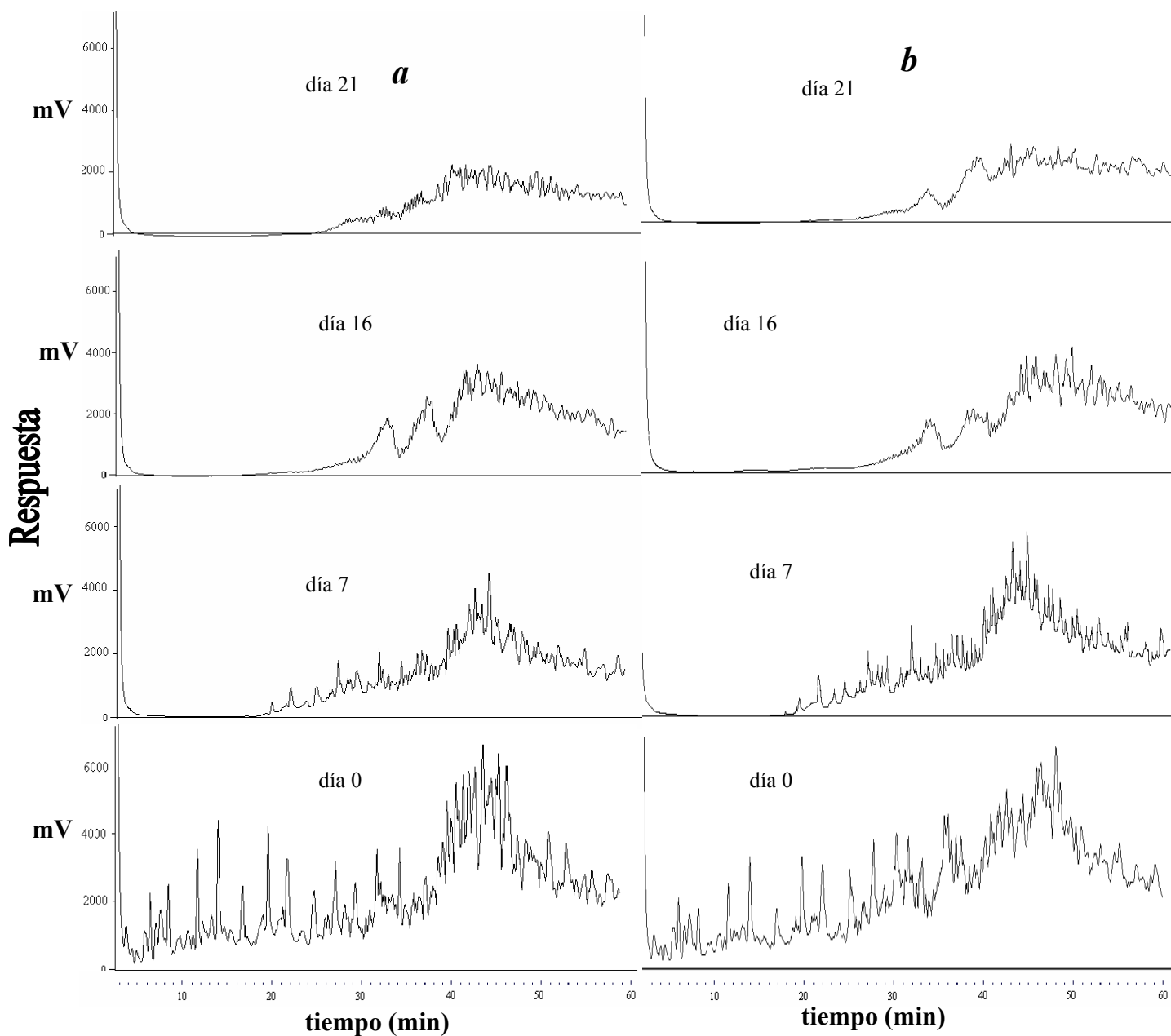


Figura 5.6 GC-FID cromatogramas de la mezcla de crudo Maya-parafinas para uno de los reactores en los días 0, 7, 16 y 21 en dos diferentes ciclos: *a*) ciclo seis y *b*) ciclo veinte.

En conclusión, estos resultados muestran que la operación por lote secuencial bajo condiciones de limitación de oxígeno, permitió al consorcio mejorar y mantener su capacidad de degradación de la MCP, alcanzando una respuesta estable, la cual produjo un patrón constante de biodegradación independientemente del ciclo en operación. Por otra parte, asociado a la biodegradación de la MCP en los BLL, están la capacidad de mineralización del consorcio (CMC) y la distribución del carbono de la MCP, los cuales se determinaron por medio de balances de carbono.

5.1.5 Balances de carbono y mineralización de hidrocarburos en los BLL

Tres aspectos muy importantes durante la biodegradación de la MCP fueron: *i*) la capacidad de mineralización del consorcio (CMC), *ii*) la distribución del carbono biodegradado de la MCP, y *iii*) la distribución total del carbono. Para cada ciclo, la distribución del carbono biodegradado de la MCP y la CMC, se estimaron indirectamente con un balance de carbono. En este balance se supuso que el carbono biodegradado de la MCP por el consorcio (ΔC_{MCP}), se usó como fuente de carbono para: *i*) La formación de biomasa y metabolitos no solubles (ΔC_{SS}), *ii*) la producción de metabolitos solubles (ΔC_{Cos}), y *iii*) la producción CO_2 debido a la obtención de energía y funciones de mantenimiento (ΔC_{CO_2}). Así, el balance para el carbono biodegradado de la MCP quedó descrito por la ecuación.

$$\Delta C_{MCP} = \Delta C_{SS} + \Delta C_{Cos} + \Delta C_{CO_2} \text{ ----(5.1.2)}$$

De manera independiente a esta última ecuación, el carbono biodegradado de la MCP (ΔC_{MCP}), se estimó en base a la ecuación (5.1.3) y los datos de las concentraciones residuales de la MCP al inicio (día 0) y final (día 21) de cada ciclo. En esta ecuación, FC_{MCP} (0.889) representa la fracción de carbono en la MCP.

$$\Delta C_{MCP} = FC_{MCP} \cdot ([MCP]_{residual}^{t_1=0} - [MCP]_{residual}^{t_6=21}) \text{ ----(5.1.3)}$$

Referente al carbono usado en la formación de biomasa y metabolitos no solubles (ΔC_{SS}), este se estimó en base a la ecuación (5.1.4) y los datos experimentales de la concentración inicial y final de los SS de cada ciclo. En esta ecuación, $FC_{inicial-SS}$ (0.4134) y $FC_{final-SS}$ (0.4992), representan las fracciones de carbono en los SS al inicio y final del ciclo respectivamente. Debe hacerse notar, que tanto para la MCP y los SS, las fracciones de carbono se determinaron experimentalmente con el equipo de análisis periférico de sólidos del TOC Shimadzu 5000.

$$\Delta C_{SS} = FC_{\text{final-SS}} \cdot [SS]_{\text{final}} - FC_{\text{inicial-SS}} \cdot [SS]_{\text{inicial}} \text{----(5.1.4)}$$

Respecto al carbono usado en la producción de metabolitos solubles (ΔC_{COS}), este se estimó en base a la ecuación (5.1.5) y los datos experimentales de las concentraciones de COS al inicio y final de cada ciclo.

$$\Delta C_{COS} = [COS]_{\text{final}} - [COS]_{\text{inicial}} \text{----(5.1.5)}$$

Finalmente, el carbono usado en la producción de CO_2 (ΔC_{CO_2}), se estimó a partir de la ecuación (5.1.2), mientras que la CMC (ecuación 5.1.6), se estimó como el cociente entre el carbono del CO_2 producido y el carbono inicial contenido en la MCP.

$$CMC(\%) = \left(\frac{\Delta C_{CO_2}}{FC_{MCP} \cdot [MCP]_{\text{inicial}}} \right) \cdot 100 \text{----(5.1.6)}$$

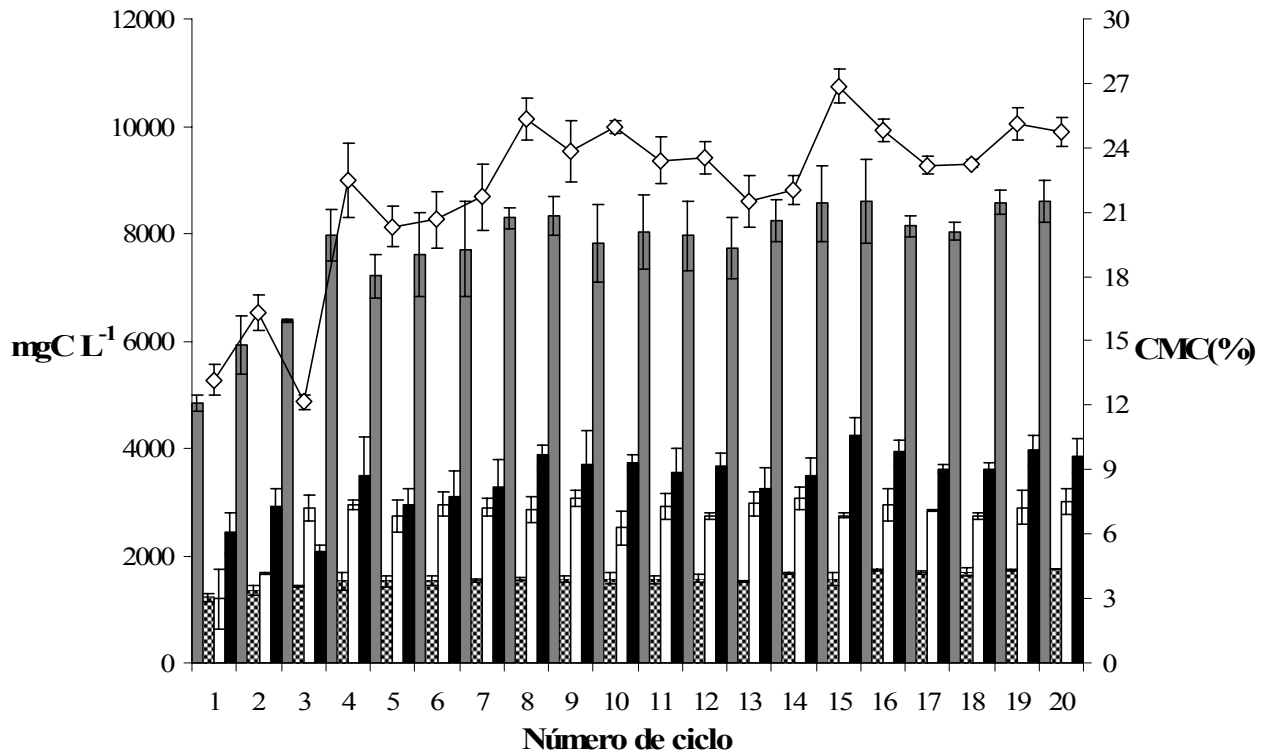


Figura 5.7. Distribución del carbono biodegradado de la MCP (mgC L^{-1}) y CMC (%) de la MCP para los veinte ciclos de operación secuencial de los BLL con el consorcio, donde (■) carbono degradado de MCP (ΔC_{MCP}); (▨) carbono en los SS (ΔC_{SS}); (□) carbono soluble (ΔC_{COS}); (■) Carbono del CO_2 (ΔC_{CO_2}); y (◇) Capacidad de mineralización del consorcio (CMC). Los valores son promedios de ambos biorreactores y las barras de error muestran la desviación estándar para muestras por cuadruplicado.

La **Figura 5.7**, muestra la distribución del carbono biodegradado de la MCP y la CMC durante los veinte ciclos en que se operaron los BLL con el consorcio. A partir de este balance, se puede observar, que la cantidad de carbono en los SS y el CO₂ producido no mostraron diferencias significativas durante los 20 lotes, manteniendo valores cercanos a 1560 mgC L⁻¹ y 3340 mgC L⁻¹ respectivamente. Este efecto en los SS y CO₂, probablemente se debió a la limitación de oxígeno. Sin embargo, la CMC aumentó en una manera significativa alcanzando y manteniendo valores a partir del cuarto lote de alrededor del 25%. Aunque en los BLL se presentó una limitación en oxígeno, el incremento en la CMC también indica el mejoramiento en la habilidad del consorcio para mineralizar la MCP. De la figura, también se puede observar que a partir del cuarto lote, la distribución del carbono biodegradado de la MCP fue prácticamente la misma.

Tabla 5.2. Valores promedio de la distribución total de carbono por cada 100 mgC de la MCP inicial para los ciclos 4-20 en los BLL con el consorcio

mgC-abiótico	mgC-biodegradado			mgC-residual
	mgC-SS	mgC-COS	mg C-CO ₂	
27	15	23	25	10

En la **Tabla 5.2** se muestran los valores promedio de la distribución total de carbono, por litro de cultivo y para los ciclos 4 a 20, en una base de 100 miligramos de carbono inicial de la MCP. Este balance toma en cuenta el carbono perdido de manera abiótica, el carbono biodegradado, y el carbono residual (el que no se biodegradó ni perdió abióticamente). Solano et al. (1999) durante la biodegradación aerobia en cultivo líquido y por lote de una gasolina comercial mediante lodos activados, reportaron que por cada 100 mg de carbono inicial, 62 mg terminaron como CO₂, 32 mg como biomasa y 6 mg como metabolitos solubles. Considerando que la MCP es una mezcla más compleja y recalcitrante que una gasolina, y además que el consorcio fue limitado en oxígeno, los valores obtenidos en la distribución de carbono hacen factible el uso del consorcio en procesos de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Nuestros resultados demuestran la viabilidad del uso del consorcio como biocatalizador en la degradación de la MCP. Para confirmar la viabilidad autocatalítica, así como las especies microbianas que la integran, se realizó una estimación del crecimiento tanto de microorganismos degradadores como heterótrofos, así como la identificación de diferentes especies microbianas que integran el consorcio.

5.1.6 Crecimiento e identificación de microorganismos en los BLL

Para determinar la viabilidad del consorcio en cada uno de los ciclos en que se operaron los BLL, se usó el método del número más probable (MPN) para enumerar los microorganismos degradadores de hidrocarburos (Wrenn y Venosa, 1996), junto con el uso de las placas de agar soya tripticaseína (TSA) para la cuenta total (heterótrofos) de la población del consorcio (Lorch et al., 1995). Van Hamme et al. (2000) usaron las mismas técnicas para enumerar la población de un consorcio degradador de petróleo en cultivo líquido. La **Tabla 5.3** muestra el crecimiento del consorcio en los BLL tanto para microorganismos heterótrofos como para los degradadores de hidrocarburos durante varios ciclos.

Tabla 5.3. Crecimiento de microorganismos heterótrofos (**Het**) y degradadores de hidrocarburos (**Deg**) para diferentes ciclos en UFC mL⁻¹

Día	<u>ciclo 1</u>		<u>ciclo 4</u>		<u>ciclo 7</u>		<u>ciclo 15</u>		<u>ciclo 20</u>	
	Het x10 ⁷	Deg x10 ⁷	Het x10 ⁷	Deg x10 ⁷	Het x10 ⁷	Deg x10 ⁷	Het x10 ⁷	Deg x10 ⁷	Het x10 ⁷	Deg x10 ⁷
0	3.6 ± 0.10	0.20 ± 0.05	2.6 ± 0.15	0.14 ± 0.03	2.5 ± 0.20	1.1 ± 0.06	3.8 ± 0.05	1.4 ± 0.04	4.4 ± 0.10	1.7 ± 0.12
7	3.3 ± 0.20	0.25 ± 0.02	200 ± 8.00	19 ± 1.00	370 ± 23	10 ± 0.12	286 ± 17	18 ± 1.50	360 ± 25	13 ± 1.00
16	89.0 ± 6.00	6.5 ± 0.15	980 ± 8.00	48 ± 2.00	960 ± 43	68 ± 6.00	770 ± 40	89 ± 4.10	890 ± 65	78 ± 4.80
21	16 ± 0.60	0.51 ± 0.03	9.7 ± 0.70	1.56 ± 0.20	7.1 ± 0.70	2.7 ± 0.20	12 ± 0.70	3.6 ± 0.20	11 ± 0.75	4.4 ± 0.10

El número total de heterótrofos al inicio de cada ciclo fue alto ($2.0-4.4 \times 10^7$ UFC mL⁻¹). Tanto los microorganismos degradadores de hidrocarburos como el número total de heterótrofos alcanzaron un máximo de crecimiento en el día 16 de cada ciclo, siendo su valor alrededor de dos ordenes de magnitud mayor que a los valores iniciales. Después del día 16, la población viable disminuyó, debido probablemente a una cantidad insuficiente de hidrocarburos capaces de sostener el crecimiento. El número promedio de microorganismos degradadores de hidrocarburos se incrementó de 6.5×10^7 (ciclos 1-3) a 2.2×10^8 (ciclos 4-10). Además, el cociente de la población microbiana degradadora de hidrocarburos con respecto a la de heterótrofos totales claramente aumentó con el número de ciclos, sugiriendo que la operación por lote secuencial mejoró la capacidad de biodegradación del consorcio. Resultados similares han sido obtenidos con cultivos líquidos operados de manera secuencial, y enriquecidos con consorcios bacterianos durante la biodegradación de crudo Arábigo (Venkateswaran y Harayama, 1995).

Con el propósito de determinar qué especies bacterianas integran al consorcio, diferentes aislados provenientes de las placas de TSA fueron identificados por la empresa Microbial ID Inc (Newark, DE, USA) en base al análisis de ácidos grasos de la membrana celular. Cinco de estos aislados fueron identificados como *Achromobacter (Alcaligenes) xylooxidans*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Brevibacterium luteum* y *Pseudomonas pseudoalcaligenes*. Todos estos géneros han sido reportados como capaces de degradar hidrocarburos (Komancová et al., 2003; Kumamaru et al., 1998; Lee y Cutright, 1997).

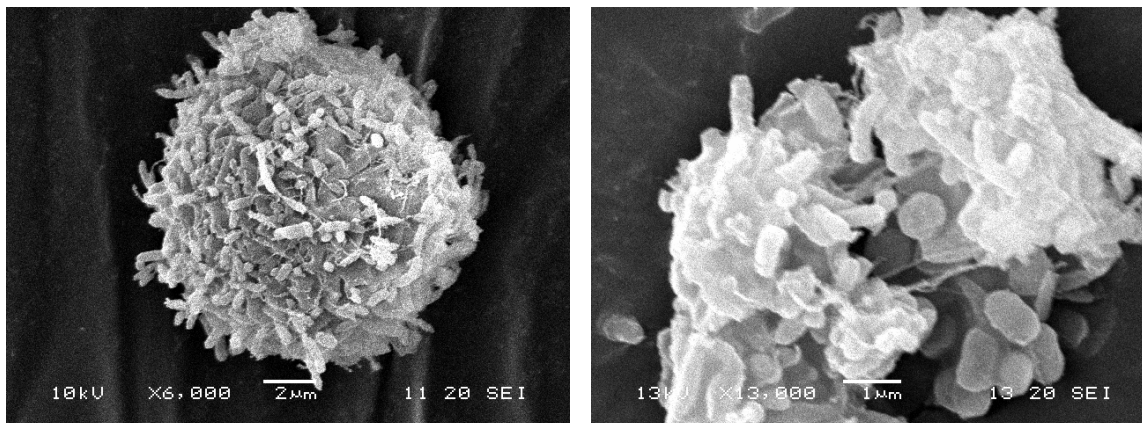


Figura 5.8. Microfotografías electrónicas del consorcio obtenidas a partir de los SS provenientes de los biorreactores

Con la finalidad de poder inferir en la estructura física del consorcio, así como en la morfología de los microorganismos que lo conforman, se tomaron microfotografías electrónicas de muestras de la fracción de SS obtenidos de los biorreactores (**Figura 5.8**). Las microfotografías mostraron morfologías bacterianas de bacilos y cocos, en la que los microorganismos del consorcio se encuentran formando flóculos, estructuras definidas como la asociación de microorganismos unidos por exopolímeros (Atlas y Bartha, 2002). El incremento de los microorganismos degradadores con respecto a los microorganismos heterótrofos conforme al aumento en el número de ciclos, puede interpretarse como una adaptación de las poblaciones del consorcio a las condiciones en que se operaron los BLL.

5.1.7 Biodegradación de HTPs libres de asfaltenos por el consorcio proveniente de los BLL

El ensayo de biodegradación de hidrocarburos totales de petróleo libres de asfaltenos (HTPs-LA), fue desarrollado a diferentes concentraciones iniciales con el propósito de determinar si la habilidad de degradación del consorcio también podía ser efectiva con una mezcla de hidrocarburos más recalcitrante y sin inhibición por sustrato. El ensayo fue desarrollado sin suelo para evitar la

interferencia de los fenómenos de sorción y su efecto negativo en la biodisponibilidad. El inóculo fue tomado de los BLL al día 7 y ciclo 15. Debe hacerse notar, que en los controles abióticos, no se observó pérdida de HTPs-LA, debido probablemente a que estos provenían del suelo intemperizado, prácticamente libre de fracciones volátiles del petróleo. La magnitud y tasas de biodegradación de los HTPs-LA se muestran en la **Tabla 5.4**.

Tabla 5.4. Biodegradación y mineralización de hidrocarburos totales del petróleo libres de asfaltenos (HTPs-LA) a diferentes concentraciones iniciales.

Concentración inicial de HTPs-LA (mg L ⁻¹)	*Biodegradación (%)	†Tasa de biodegradación (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	‡Tasa de producción de CO ₂ (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	‡Rendimiento (mg CO ₂ mg ⁻¹ HTPs-LA)
12 000	15.9	97.1	210.48	1.86
9 000	21.1	93.8	179.28	1.61
6 000	30.8	85.2	165.36	1.36
3 000	47.6	77.5	60.24	0.61

*Evaluado usando los valores final e inicial de la concentración de HTPs-LA

† Evaluado por regresión lineal

‡ Evaluado con los valores de CO₂ después de las 200 h (corregido por respiración endógena)

Como se puede observar, el consorcio fue capaz de biodegradar HTPs-LA a todas las concentraciones iniciales ensayadas. Debido a que la fase acuosa siempre estuvo saturada, se encontró una tasa de biodegradación constante, con un promedio de 88.4 mg L⁻¹ d⁻¹ (Tukey, $\alpha > 0.01$). Estos valores fueron cinco veces menores que los obtenidos en las tasas de biodegradación de la MCP en los BLL, y probablemente se debió a la naturaleza recalcitrante de los HTPs-LA.

La mineralización de HTPs-LA por el consorcio fue determinada mediante el CO₂ producido (**Figura 5.9**). El CO₂ producido a todas las concentraciones fue mayor que el control y claramente ninguno de estos alcanzó un máximo, sugiriendo que el tiempo para la biodegradación y mineralización de los HTPs-LA de los ensayos no fue suficiente. Durante la producción de CO₂ se distinguieron dos etapas. En la primera etapa (hasta las 200 h), las tasas de producción de CO₂ fueron menores que en la segunda etapa. Esto puede ser visto como una aclimatación del consorcio a la nueva fuente de carbono. Posteriormente se observó un incremento significativo en las tasas debido probablemente a una nueva distribución de la población bacteriana (similar al caso de la biodegradación de la MCP en los BLL, en donde los microorganismos degradadores de hidrocarburos predominaron al final de cada ciclo). A diferencia de las tasas de biodegradación de los HTPs-LA, las tasas de producción de CO₂ (mineralización) y los rendimientos fueron

significativamente diferentes (Tukey, $\alpha < 0.01$), sugiriendo acumulación de metabolitos. García-Rivero et al. (2002) encontraron que en lotes con lodos de suelos agitados y con adición de tolueno, tanto la mineralización como los rendimientos disminuyen cuando la concentración de HTPs-tolueno aumenta. Estos autores sostienen que la inhibición por sustrato fue debida a las altas cantidades de HTPs liberadas por el tolueno en la fase acuosa. En nuestro estudio, los HTPs-LA fueron liberados lentamente de la fase orgánica a la fase acuosa, produciendo perfiles de biodegradación y mineralización sin inhibición por sustrato pero si probablemente por productos parcialmente oxidados. De esta manera, el ensayo de biodegradación confirmó que el consorcio fue capaz de biodegradar y mineralizar, sin inhibición por sustrato, una mezcla de hidrocarburos más compleja y recalcitrante tal como los HTPs-LA.

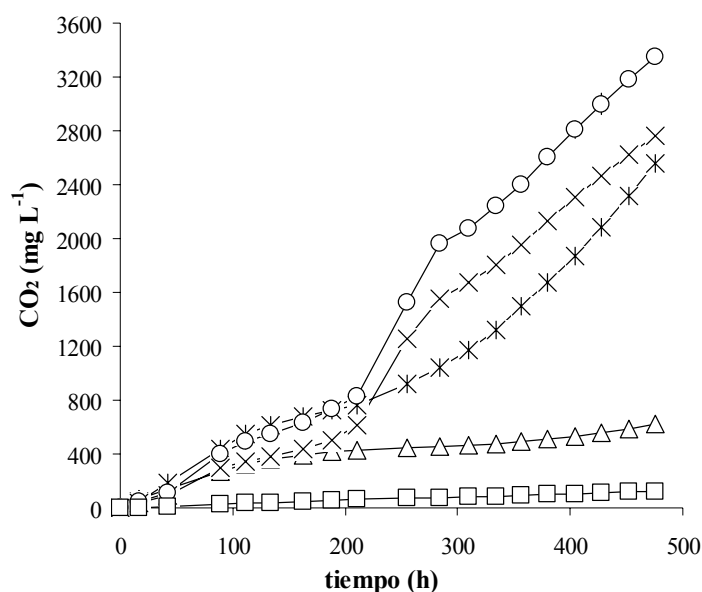


Figura 5.9 CO₂ producido durante el ensayo de biodegradación con diferentes concentraciones iniciales de HTPs-LA. El CO₂ es expresado como mg por litro de medio. Las curvas correspondientes a cada concentración inicial de HTPs-LA son (mg L⁻¹): (Δ) 3,000; (*) 6,000; (X) 9,000; (O) 12,000 y (□) control (respiración endógena)

5.2 MODELADO Y SIMULACIÓN DE LA BIODEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS EN UN BLL

En esta sección, se desarrolla un modelo fenomenológico que permite predecir y describir la biodegradación aerobia de hidrocarburos en un sistema heterogéneo de dos fases líquidas inmiscibles como en el caso de un BLL. Las simulaciones y predicciones del modelo se comparan y validan con los datos experimentales obtenidos de la operación de los BLL.

5.2.1 Desarrollo del modelo fenomenológico de biodegradación de hidrocarburos en un BLL

En la **Figura 5.10**, se esquematiza de manera conceptual el proceso de biodegradación aerobia de una mezcla de hidrocarburos que integran una fase líquida no acuosa (FLNA), y que a su vez se encuentra inmersa en una fase líquida acuosa (FLA).

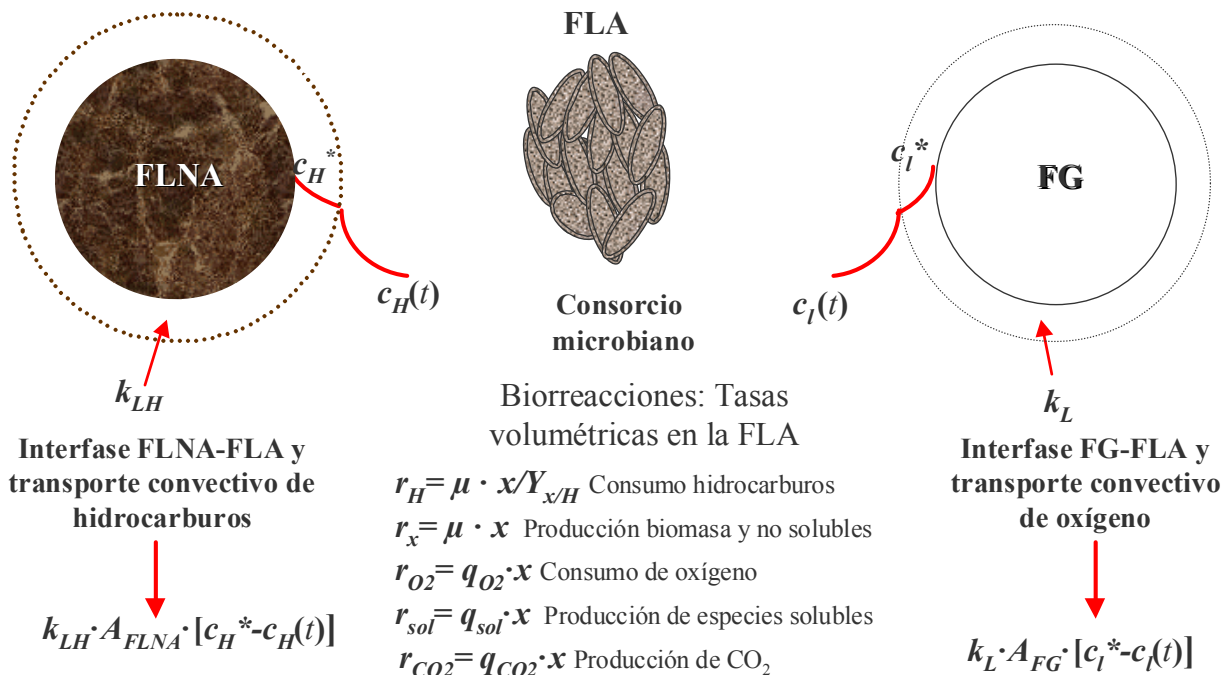


Figura 5.10 Conceptualización del sistema para el desarrollo del modelo de biodegradación aerobia de hidrocarburos en un sistema heterogéneo de dos fases líquidas inmiscibles.

Las suposiciones para el desarrollo del modelo son:

(i) El sistema opera isotérmicamente y por lote. Además, la pérdida abiótica de hidrocarburos del sistema queda descrita por una tasa volumétrica que se puede escribir como una función de la masa de los hidrocarburos presentes en el sistema.

(ii) Las poblaciones microbianas del consorcio poseen la capacidad metabólica para degradar los hidrocarburos solubles. En consecuencia, todas las bio-reacciones como son la degradación de hidrocarburos, formación de sólidos suspendidos (biomasa y no solubles), generación de solubles y CO_2 , se llevan a cabo únicamente en la FLA y sin inhibición por substrato o producto.

(iii) El transporte de hidrocarburos de la fase líquida no acuosa (FLNA) a la fase acuosa (FLA) está determinado por el coeficiente de convección k_{LH} ($m\ h^{-1}$) y por el gradiente de concentraciones. De manera similar, el transporte de O_2 de la fase gaseosa (FG) a la acuosa queda determinado por el coeficiente de convección k_L ($m\ h^{-1}$) y el gradiente respectivo de concentraciones.

(iv) Debido a que pueden presentarse deficiencias tanto de hidrocarburos como de O_2 en la FLA como consecuencia de limitaciones en el transporte por convección, ambos substratos son considerados limitantes para el crecimiento y por lo tanto para el proceso de biodegradación.

(v) Se asume que el equilibrio de reparto de los hidrocarburos entre la FLNA y la FLA es instantáneo, y que la densidad de la FLNA como la concentración en el equilibrio de la mezcla de hidrocarburos en la FLA (c_H^*) son constantes.

El desarrollo del modelo se fundamenta en las suposiciones descritas, y en los balances de masa de los cinco componentes siguientes: hidrocarburos, SS, O_2 , CO_2 y solubles. Todos definidos en cada una las fases en los que ocurren.

5.2.1.1 Balance de masa de los hidrocarburos no solubles en la FLNA

El balance abiótico de hidrocarburos se puede escribir como:

$$\frac{dm_{FLNA}}{dt} = -k_{LH} \cdot A_{FLNA} [c_H^* - c_H] + r_{abiot} \cdot V_{FLA} \text{-----}(5.2.1)$$

La ecuación (5.2.1) reconoce que la pérdida de masa de los hidrocarburos en la FLNA es debida a dos mecanismos. El primero es la transferencia de hidrocarburos de la FLNA a la FLA por convección, y el segundo se refiere a la pérdida abiótica expresada como una tasa teórica volumétrica referida a la fase acuosa (r_{abiot} en $mg\ L^{-1}\ h^{-1}$). En (5.2.1), m_{FLNA} es la masa (mg) de la mezcla de hidrocarburos que integran a la FLNA, t el tiempo (h), k_{LH} es el coeficiente convectivo de transferencia de hidrocarburos en la interfase ($dm\ h^{-1}$), c_H la concentración de hidrocarburos solubles en la FLA ($mg\ L^{-1}$), A_{FLNA} el área superficial total (dm^2) de la FLNA y V_{FLA} el volumen de la FLA (L) (Para un resumen de la definición y unidades de las diferentes variables y parámetros usados referirse el *anexo I*).

La masa de los hidrocarburos en la FLNA, puede ponerse en función de la densidad de la mezcla de hidrocarburos, es decir la densidad de la FLNA (ρ_{FLNA} en mg L^{-1}) así como también del volumen de la fase líquida no acuosa (V_{FLNA}), es decir, $m_{FLNA} = \rho_{FLNA} \cdot V_{FLNA}$. Con esto la ecuación (5.2.1) se puede escribir como sigue:

$$\frac{d(\rho_{FLNA} \cdot V_{FLNA})}{dt} = -k_{LH} \cdot A_{FLNA} [c_H^* - c_H] + r_{abiot} \cdot V_{FLA} \text{ ----(5.2.2)}$$

Durante la biodegradación, el volumen de la FLNA cambia significativamente con el tiempo. Por otra parte, aunque la FLNA este formada por una mezcla compleja de hidrocarburos, la mayoría no supera la densidad de la fase acuosa. Pensando que la FLNA podría ser algún tipo de crudo sea ligero (como el Arábigo, Breen, etc) o pesado (como el Maya de origen mexicano, o el Merey de origen venezolano), las densidades de cualesquiera de estos crudos, fluctúa entre 0.70 y 0.980 kgL^{-1} (Sugiura et al., 1997; Potter y Duval , 2001). Es factible suponer que la densidad de la FLNA se mantiene prácticamente constante durante el proceso de biodegradación, así:

$$\frac{dV_{FLNA}}{dt} = -\frac{k_{LH} \cdot A_{FLNA}}{\rho_{FLNA}} [c_H^* - c_H] + \frac{r_{abiot} \cdot V_{FLA}}{\rho_{FLNA}} \text{ ----(5.2.3)}$$

Por otra parte, el volumen total de líquido en el sistema, esta integrado tanto por el volumen de la fase acuosa como de la fase no acuosa, es decir $V_T = V_{FLNA} + V_{FLA}$. Definiendo a ε como la fracción volumétrica de la FLNA con respecto al volumen total en el BLL ($\varepsilon = V_{FLNA}/V_T$), se tendrá:

$$V_{FLNA} = \varepsilon \cdot V_T = \frac{\varepsilon \cdot V_{FLA}}{(1 - \varepsilon)} \text{ ----(5.2.4)}$$

Sustituyendo (5.2.4) en (5.2.3), y como el volumen de la fase acuosa es constante:

$$\frac{d}{dt} \left(\frac{\varepsilon}{1 - \varepsilon} \right) = -\frac{k_{LH} \cdot A_{FLNA}}{V_{FLA} \cdot \rho_{FLNA}} [c_H^* - c_H] + \frac{r_{abiot}}{\rho_{FLNA}} \text{ ----(5.2.5)}$$

Definiendo una nueva variable \mathfrak{S} (fracción volumétrica de la fase líquida no acuosa con respecto al volumen de la fase líquida acuosa), así como al coeficiente volumétrico de transferencia de hidrocarburos k_{LaH} (h^{-1}) como:

$$\mathfrak{S} = \left(\frac{\varepsilon}{1 - \varepsilon} \right) ; \quad k_L a_H = \frac{k_{LH} \cdot A_{FLNA}}{V_{FLA}} \text{ ----(5.2.6)}$$

con esto, la ecuación (5.2.5) puede escribirse:

$$\frac{d\mathfrak{S}}{dt} = - \frac{k_L a_H}{\rho_{FLNA}} [c_H^* - c_H] + \frac{r_{abiot}}{\rho_{FLNA}} \text{ ----(5.2.7)}$$

Debido a la baja solubilidad de los hidrocarburos en la FLA, estos se supone que se encuentran en condiciones de sobresaturación. Bajo esta condición, puede definirse una "concentración aparente" o carga de hidrocarburos en la FLA (C_{FLNA}^{ap} en mg L⁻¹) como:

$$C_{FLNA}^{ap} = \frac{m_{FLNA}}{V_{FLA}} = \frac{\rho_{FLNA} \cdot V_{FLNA}}{V_{FLA}} = \frac{\rho_{FLNA} \cdot \varepsilon}{(1 - \varepsilon)} = \rho_{FLNA} \cdot \mathfrak{S} \text{ ----(5.2.8)}$$

Por otra parte, la tasa volumétrica de la pérdida abiótica de hidrocarburos (r_{abiot}) puede ajustarse a una expresión empírica dependiente de la "concentración aparente", es decir:

$$r_{abiot} = -k C_{FLNA}^{ap\ n} = -k \rho_{FLNA}^n \mathfrak{S}^n \text{ ----(5.2.9)}$$

En donde n y k representan parámetros de ajuste. De esta manera, el balance de hidrocarburos de la FLNA está dado por el siguiente sistema de ecuaciones:

$$\begin{aligned} \frac{d\mathfrak{S}}{dt} &= - \frac{k_L a_H}{\rho_{FLNA}} [c_H^* - c_H] - k \cdot \rho_{FLNA}^{n-1} \mathfrak{S}^n \text{ ----(5.2.10)} \\ m_{FLNA} &= \rho_{FLNA} \cdot V_{FLA} \cdot \mathfrak{S} \end{aligned}$$

En esta última ecuación, la disminución de hidrocarburos en la FLNA debido al consumo de hidrocarburos en la FLNA, esta conectado mediante la fuerza motriz dada por la diferencia de concentraciones $[c_H^* - c_H]$. Esto conduce a un balance de los hidrocarburos solubles (m_H) en la FLA.

5.2.1.2 Balance de masa de los hidrocarburos solubles en la FLA

El balance de hidrocarburos solubles puede escribirse como:

$$\frac{dm_H}{dt} = k_{LH} \cdot A_{FLNA} [c_H^* - c_H] + r_H \cdot V_{FLA} \text{ ----(5.2.11)}$$

En este balance se reconoce que la acumulación de hidrocarburos en la FLA es afectado por dos mecanismos: uno es la transferencia de hidrocarburos a partir de la FLNA, y el segundo es la biodegradación de los hidrocarburos solubles por las poblaciones microbianas del consorcio, representado por la tasa volumétrica (r_H en $\text{mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). La ecuación (5.2.11) puede a su vez escribirse:

$$\frac{d(V_{FLA} \cdot c_H)}{dt} = k_{LH} \cdot A_{FLNA} [c_H^* - c_H] + r_H \cdot V_{FLA} \text{ ----(5.2.12)}$$

En tanto que el V_{FLA} a diferencia del V_{FLNA} es constante. Sustituyendo (5.2.6) en (5.2.12) se obtiene:

$$\frac{dc_H}{dt} = k_L a_H [c_H^* - c_H] + r_H \text{ ----(5.2.13)}$$

5.2.1.3 Producción de biomasa, CO₂ y metabolitos solubles

La biodegradación de los hidrocarburos ya solubles, debe asociarse al incremento de la biomasa, por lo tanto, la tasa de biodegradación puede expresarse como una función de los sólidos suspendidos (x_{SS}). Los sólidos suspendidos se consideran integrados por biomasa viable (microorganismos con actividad metabólica y capacidad de crecimiento) y biomasa no viable (microorganismos inactivos y productos no solubles asociados tales como exo-polímeros y/o restos celulares). De esta manera, la tasa volumétrica de biodegradación de hidrocarburos solubles (r_H) de la ecuación (5.2.13) puede expresarse como:

$$r_H = -\frac{\mu \cdot x_{SS}}{Y_{SS/H}} \text{ ----(5.2.14)}$$

En esta última ecuación, μ es la tasa específica de formación de sólidos suspendidos (h^{-1}); x_{SS} son los sólidos suspendidos ($mgSS L^{-1}$) y $Y_{SS/H}$ un rendimiento $mgSS \cdot mgH^{-1}$. Con esto, el balance de hidrocarburos solubles en la FLA, sustituyendo (5.2.14) en (5.2.13) estará dado por:

$$\frac{dc_H}{dt} = k_L a_H [c_H^* - c_H] - \frac{\mu \cdot x_{SS}}{Y_{SS/H}} \text{ ----(5.2.15)}$$

Por otra parte, el balance de masa que se refiere a la producción de los sólidos suspendidos en la FLA (m_x) se puede escribir como:

$$\frac{dm_x}{dt} = r_x \cdot V_{FLA} \text{ ----(5.2.16)}$$

Además, $m_x = V_{FLA} \cdot x_{SS}$ y $r_x = \mu \cdot x_{SS}$ y como el V_{FLA} es constante:

$$\frac{dx_{SS}}{dt} = \mu \cdot x_{SS} \text{ ----(5.2.17)}$$

Con la producción de sólidos suspendidos como productos de biodegradación, también se consideró la producción de CO_2 y compuestos solubles, ambos como derivados de los hidrocarburos en la fase líquida acuosa. El CO_2 producido, se considera directamente asociado al crecimiento y a la formación de sólidos suspendidos, puesto que es generado por la mineralización de los hidrocarburos solubles. Así, el balance de masa del CO_2 en la FLA puede escribirse como:

$$\frac{dc_{CO_2}}{dt} = r_x \cdot Y_{CO_2/SS} \text{ ----(5.2.18)}$$

Recordando que $r_x = \mu \cdot x_{SS}$, el balance para el CO_2 en la FLA será:

$$\frac{dc_{CO_2}}{dt} = \mu \cdot x_{SS} \cdot Y_{CO_2/SS} \text{ ----(5.2.19)}$$

Los compuestos solubles ó metabolitos, se derivan de la oxidación parcial de los hidrocarburos solubles en la FLA. Estos provienen de vías metabólicas bien definidas (Bitton y

Gerba, 1984; Trudgill, 1984; Cookson, 1995) en las que los hidrocarburos son utilizados como fuente de carbono y energía, ó bien son generados aleatoriamente por cooxidación (Ko y Lebeault, 1999), por lo que pueden considerarse como parcialmente asociados al crecimiento y por lo tanto seguir una cinética de formación de producto conforme a Leudeking y Piret (1959). En base a lo anterior, el balance de los compuestos solubles puede escribirse como:

$$\frac{dc_{sol}}{dt} = \alpha \cdot r_x + \beta \cdot x_{SS} \text{ ----(5.2.20)}$$

Nuevamente, como $r_x = \mu \cdot x_{SS}$, la expresión final para el balance de los compuestos solubles en la FLA será:

$$\frac{dc_{sol}}{dt} = (\alpha \cdot \mu + \beta)x_{SS} \text{ ----(5.2.21)}$$

En la ecuación (5.2.21) los compuestos solubles serán expresados en base al COS, por lo que α está expresado en $\text{mgCOS} \cdot \text{mgSS}^{-1}$ y representa un rendimiento asociado a la formación de producto por el crecimiento, mientras que β está expresado en $\text{mgCOS} \cdot (\text{mgSS} \cdot \text{h})^{-1}$, y representa una velocidad específica para la formación de productos no asociados al crecimiento.

5.2.1.4 Consumo de oxígeno

El último balance a considerar, es el correspondiente al del O_2 soluble en la FLA. Puesto que el proceso de biodegradación es aerobio, todas las biorreacciones en la FLA estarán limitadas a la disponibilidad del O_2 . De manera similar que el balance de hidrocarburos, para el O_2 puede escribirse:

$$\frac{dm_l}{dt} = k_L \cdot A_{FG} [c_l^* - c_l] + r_{\text{O}_2} \cdot V_{FLA} \text{ ----(5.2.22)}$$

Donde m_l , representa la masa de oxígeno que se solubiliza en la FLA, y, c_l ($\text{mgO}_2 \text{ L}^{-1}$) su concentración. El balance reconoce que la acumulación de oxígeno en la FLA, es afectado por dos mecanismos. Uno es la transferencia de hidrocarburos a partir de la FG, y el segundo el consumo de oxígeno soluble por el consorcio para la biodegradación de los hidrocarburos. Como el V_{FLA} es constante y definiendo $k_{La} = k_L \cdot A_{FG} / V_{FLA}$, (5.2.22) puede escribirse como:

$$\frac{dc_l}{dt} = k_L a [c_l^* - c_l] + r_{O_2} \text{ ----(5.2.23)}$$

Por lo que en el término de transporte, la transferencia de oxígeno queda determinada por un coeficiente volumétrico de transferencia ($k_L a$). De manera similar al balance sobre los hidrocarburos solubles, el término de consumo debe asociarse al crecimiento, por lo tanto, la tasa volumétrica de consumo de oxígeno, puede expresarse como función de la biomasa del consorcio mediante.

$$r_{O_2} = -\frac{\mu \cdot x_{SS}}{Y_{SS/O_2}} \text{ ----(5.2.24)}$$

Donde Y_{SS/O_2} es un rendimiento de consumo de la biomasa del consorcio con respecto al oxígeno soluble ($\text{mgSS} \cdot \text{mgO}_2^{-1}$). Con esto, el balance de oxígeno en la FLA puede escribirse como:

$$\frac{dc_l}{dt} = k_L a [c_l^* - c_l] - \frac{\mu \cdot x_{SS}}{Y_{SS/O_2}} \text{ ----(5.2.25)}$$

Las ecuaciones 5.2.10, 5.2.15, 5.2.17, 5.2.19, 5.2.21 y 5.2.25, representan los balances de masa para los hidrocarburos de la FLNA, en la FLA, biomasa y sólidos no solubles, CO_2 , compuestos solubles y O_2 , respectivamente. Este conjunto de ecuaciones, constituyen al modelo matemático que simula el proceso de biodegradación de hidrocarburos en un BLL. Sin embargo, es necesario desarrollar un punto más para finalizar el análisis fenomenológico del sistema, y es el referente a la cinética. Al suponer que los hidrocarburos y el oxígeno son substratos limitantes, se empleará una cinética no estructurada de doble Monod, expresada como:

$$\mu = \mu_{max} \left(\frac{c_H}{K_H + c_H} \right) \left(\frac{c_l}{K_l + c_l} \right) \text{ ----(5.2.26)}$$

El uso de esta expresión cinética supone que el consorcio actúa como un solo ente, en donde se agrupan las diferentes poblaciones que constituyen al consorcio microbiano. Finalmente, en la **Tabla 5.5**, se resumen el conjunto de ecuaciones (tanto diferenciales como algebraicas) que describen el modelo matemático del proceso de biodegradación de hidrocarburos en los BLL, el significado y magnitudes de cada una de las variables y parámetros del sistema, y las condiciones iniciales del problema.

Tabla 5.5. Ecuaciones dimensionales que gobiernan el modelado de un biorreactor bifásico líquido-líquido (BLL) para la biodegradación aerobia de hidrocarburos.

Ecuaciones diferenciales ordinarias y su condición inicial:

$$\frac{d\mathfrak{Z}}{dt} = -\frac{k_L a_H}{\rho_{FLNA}} [c_H^* - c_H(t)] - k\rho_{FLNA}^{n-1} \mathfrak{Z}^n$$

$$\frac{dc_H}{dt} = k_L a_H [c_H^* - c_H(t)] - \frac{\mu \cdot x_{SS}}{Y_{SS/H}}$$

$$\frac{dx_{SS}}{dt} = \mu \cdot x_{SS}$$

$$\frac{dc_{CO_2}}{dt} = \mu \cdot x_{SS} \cdot Y_{CO_2/SS}$$

$$\frac{dc_{sol}}{dt} = (\alpha \cdot \mu + \beta)x_{SS}$$

$$\frac{dc_l}{dt} = k_L a [c_l^* - c_l] - \frac{\mu \cdot x_{SS}}{Y_{SS/O_2}}$$

Condición inicial ($t=0$)

$$\mathfrak{Z}(0) = \mathfrak{Z}_0 = \frac{m_{FLNA_0}}{V_{FA} \cdot \rho_{FLNA}}$$

$$c_H(0) = 0$$

$$x_{SS}(0) = x_{SS_0}$$

$$c_{CO_2}(0) = 0$$

$$c_{sol}(0) = c_{sol0}$$

$$c_l(0) = 0$$

Ecuaciones algebraicas asociadas:

$$m_{FLNA} = \rho_{FLNA} \cdot V_{FLA} \cdot \mathfrak{Z}$$

$$\mu = \mu_{max} \left(\frac{c_H}{K_H + c_H} \right) \left(\frac{c_l}{K_l + c_l} \right)$$

$$C_{FLNA}^{ap} = \frac{m_{FLNA}}{V_{FLA}} = \rho_{FLNA} \cdot \mathfrak{Z}$$

Variables dimensionales

\mathfrak{Z} : Fracción volumétrica de la FLNA (adimensional).

C_{FLNA}^{ap} : Concentración aparente de la MCP en la FLA (mgMCP L⁻¹)

m_{FLNA} : Masa de hidrocarburos (FLNA) a $t=0$ y $t>0$ respectivamente (mgMCP)

c_H : Concentración de hidrocarburos solubles (mgH L⁻¹)

x_{SS} : Concentración de biomasa (consorcio) ó sólidos suspendidos (mgSS L⁻¹)

c_{CO_2} : Dióxido de carbono producido por unidad de volumen de la FLA (mgCO₂ L⁻¹)

c_{sol} : Concentración metabolitos solubles en la FLA (mgCOS L⁻¹)

c_l : Concentración oxígeno soluble en la FLA (mgO₂ L⁻¹)

Parámetros

$k_L a_H, k_L a$: Coeficientes volumétricos de transporte convectivo de masa (hidrocarburos y oxígeno en h⁻¹)

k, n : Velocidad específica de desaparición abiótica de hidrocarburos de la FLNA (Lⁿ⁻¹·mg¹⁻ⁿ h⁻¹) y orden de desaparición (adimensional)

m_{FLNA}^0, ρ_{FLNA} : Masa inicial y densidad de la FLNA (mgMCP L⁻¹)

μ, μ_{max} : Tasas específicas de formación de SS (h⁻¹)

α, β : Constantes de formación de producto (Leudeking y Piret, 1959) (mgCOS·mgSS⁻¹ y mgCOS·(mgSS h⁻¹)⁻¹ respectivamente).

$Y_{SS/H}, Y_{CO_2/SS}, Y_{SS/O_2}$: Rendimientos (mg·mg⁻¹)

K_H, K_l : Constantes de afinidad del consorcio, para hidrocarburos y oxígeno (mg L⁻¹)

c_l^* : Saturación del oxígeno en FLA (mgO₂ L⁻¹)

c_H^* : Saturación de la mezcla de hidrocarburos en la interfase (equilibrio) (mgH L⁻¹)

5.2.2 Análisis adimensional del modelo de biodegradación de hidrocarburos en un BLL

Con el objetivo de normalizar todas las variables dependientes del modelo de biodegradación de hidrocarburos en el BLL, así como para deducir diferentes números adimensionales que permitan analizar de manera macroscópica el fenómeno, el modelo fue adimensionalizado por medio de las variables mostradas en la **Tabla 5.6**.

Tabla 5.6. Conjunto de variables y parámetros empleados para la adimensionalización del modelo de biodegradación aerobia de hidrocarburos en un BLL.

<u>Variable</u>	<u>Símbolo dimensional</u>	<u>Símbolo adimensional</u>	<u>Relación adimensional</u>
Masa de hidrocarburos en el BLL (masa FLNA)	m_{FLNA}	Ω_{FLNA}	$\Omega_{FLNA} = \frac{m_{FLNA}}{m_{FLNA}^0}$
Concentración hidrocarburos solubles	c_H	ω_H	$\omega_H = \frac{c_H}{c_H^*}$
Concentración sólidos suspendidos (biomasa)	x_{SS}	χ	$\chi = \frac{x_{SS}}{x_{SS}^{max}}$
Concentración dióxido de carbono	c_{CO_2}	ω_{CO_2}	$\omega_{CO_2} = \frac{c_{CO_2}}{c_{CO_2}^{max}}$
Concentración de compuestos solubles	c_{sol}	ω_{sol}	$\omega_{sol} = \frac{c_{sol}}{c_{sol}^{max}}$
Concentración de oxígeno disuelto	c_l	ω_l	$\omega_l = \frac{c_l}{c_l^*}$
Tiempo	t	τ	$\tau = t \cdot \sqrt{k_L a_H \cdot k_L a}$

Con respecto a las cantidades x_{SS}^{max} , $c_{CO_2}^{max}$ y c_{sol}^{max} , de la **Tabla 5.6**, éstas se refieren a las máximas concentraciones que pueden ser alcanzadas para los sólidos suspendidos (biomasa), dióxido de carbono y metabolitos solubles respectivamente. Estas tres cantidades, son directamente dependientes de la cantidad inicial de la mezcla de hidrocarburos en la FLNA, así como de los diferentes rendimientos durante la biotransformación de los hidrocarburos. Matemáticamente, estas tres cantidades pueden definirse como:

$$x_{SS}^{max} = \frac{m_{FLNA}^0}{V_{FLA}} Y_{SS/H} \text{ ----(5.2.27)}$$

$$c_{CO_2}^{max} = \frac{m_{FLNA}^0}{V_{FLA}} Y_{CO_2/H} \text{ ----(5.2.28)}$$

$$c_{sol}^{max} = \frac{m_{FLNA}^0}{V_{FLA}} Y_{sol/H} \text{ ----(5.2.29)}$$

Aplicando a las ecuaciones del modelo dimensional, las relaciones de la última columna de la **Tabla 5.6** y sus definiciones dadas por las ecuaciones (5.2.27) a (5.2.29), se obtiene el sistema adimensionalizado mostrado en la **Tabla 5.7**.

Tabla 5.7. Sistema de ecuaciones adimensionales para el modelado de un biorreactor bifásico líquido-líquido (BLL) para la biodegradación aerobia de hidrocarburos

Ecuaciones diferenciales:

$$\frac{d\mathfrak{S}}{d\tau} = -\mathfrak{N}_L \cdot \frac{c_H^*}{\rho_{FLNA}} [\omega_H^* - \omega_H(\tau)] - k\rho_{FLNA}^{n-1} \mathfrak{S}^n$$

$$\frac{d\omega_H}{d\tau} = \mathfrak{N}_L [\omega_H^* - \omega_H(\tau)] - B_n^{-1} \cdot \left(\frac{\omega_H}{K_H^{a\dim} + \omega_H} \right) \left(\frac{\omega_l}{K_l^{a\dim} + \omega_l} \right) \chi$$

$$\frac{d\chi}{d\tau} = B_n^{-1} \cdot \Psi \cdot \left(\frac{\omega_H}{K_H^{a\dim} + \omega_H} \right) \left(\frac{\omega_l}{K_l^{a\dim} + \omega_l} \right) \chi$$

$$\frac{d\omega_{CO_2}}{dt} = B_n^{-1} \cdot \Psi \cdot \left(\frac{\omega_H}{K_H^{a\dim} + \omega_H} \right) \left(\frac{\omega_l}{K_l^{a\dim} + \omega_l} \right) \chi$$

$$\frac{d\omega_{sol}}{dt} = B_n^{-1} \cdot \left(\frac{\omega_H}{K_H^{a\dim} + \omega_H} \right) \left(\frac{\omega_l}{K_l^{a\dim} + \omega_l} \right) \Psi \cdot \chi + \beta^{a\dim} \chi$$

$$\frac{d\omega_l}{d\tau} = \mathfrak{N}_L^{-1} [1 - \omega_l] - B_n^{-1} \cdot \left(\frac{\omega_H}{K_H^{a\dim} + \omega_H} \right) \left(\frac{\omega_l}{K_l^{a\dim} + \omega_l} \right) \cdot \chi \cdot \varphi_{O_2}$$

Condición inicial ($\tau=0$)

$$\mathfrak{S}(0) = \mathfrak{S}_0 = \frac{m_{FLNA_0}}{V_{FA} \cdot \rho_{FLNA}}$$

$$\omega_H(0) = 0$$

$$\chi(0) = \frac{x_{SS_0}}{x_{SS}^{max}}$$

$$\omega_{CO_2}(0) = 0$$

$$\omega_{sol}(0) = \frac{c_{sol0}}{c_{sol}^{max}}$$

$$\omega_l(0) = 0$$

Ecuación algebraica asociada:

$$\Omega_{FLNA} = \frac{\rho_{FLNA} \cdot V_{FLA} \cdot \mathfrak{S}}{m_{FLNA}^0}$$

La elección de la raíz cuadrada del producto de los coeficientes volumétricos de transporte de hidrocarburos y oxígeno como tiempo característico para la definición del tiempo adimensional, fue

en base a dos factores. Primero por la fuerte dependencia del proceso global de biodegradación del oxígeno disuelto, y segundo al hecho de que ha sido reportado un efecto negativo de las FLNAs sobre el coeficiente que conduce a disminuciones significativas en el valor del $k_L a$, aunque en estos sistemas también se ha señalado que la FLNA podría funcionar como un reservorio de oxígeno que conduciría a un equilibrio de reparto del oxígeno entre la FLA y FLNA, controlado a su vez por el consumo de oxígeno por parte de los microorganismos (Nielsen et al., 2003).

En el modelo adimensional de la **Tabla 5.7**, aparecen diferentes números y cantidades adimensionales. El de mayor importancia, es el número de *Biodisponibilidad* (B_n) debido a que involucra los dos principales mecanismos del proceso global de biodegradación de los hidrocarburos: el transporte y la biorreacción (Harms y Bosma, 1997). En base al análisis adimensional este número se expresa como:

$$B_n = \frac{Y_{SS/H} \cdot c_H^* \sqrt{k_L a_H \cdot k_L a}}{\mu_{max} \cdot x_{SS}^{max}} = \frac{V_{FLA} \cdot c_H^* \sqrt{k_L a_H \cdot k_L a}}{\mu_{max} \cdot m_{FLNA}^o} \text{ ----(5.2.30)}$$

El número de Biodisponibilidad tal como se expresa en (5.2.30), debe interpretarse como el cociente de las tasas del transporte por convección entre la tasa máxima de biorreacción, y su magnitud, es indicativo del mecanismo de control en el proceso global de biodegradación en condiciones extremas. Así, cuando el $B_n < 1$, el efecto combinado de las tasas de transporte de hidrocarburos y oxígeno en las interfases correspondientes, son las que controlan la velocidad neta del proceso, pero si $B_n > 1$, el control es debido a la tasa de biorreacción.

Otro número adimensional, es el que se denominará de *transporte* (ecuación 5.2.31). Este representa el cociente entre la tasa específica de transporte volumétrico por convección de los hidrocarburos y la tasa específica de transporte volumétrico por convección de oxígeno. Cuando $\aleph_L > 1$, el sistema se encontrará limitado por transporte en oxígeno, afectando así al proceso de biodegradación aerobia, por lo que debe favorecerse que el $\aleph_L \leq 1$.

$$\aleph_L = \sqrt{\frac{k_L a_H}{k_L a}} \text{ ----(5.2.31)}$$

Por último, otras cantidades adimensionales que surgen del modelo son:

Una concentración de saturación (equilibrio) adimensional de la mezcla de hidrocarburos en la interfase:

$$\Psi = \frac{c_H^* \cdot V_{FLA}}{m_{FLNA}^0} \text{ ----(5.2.32)}$$

Un coeficiente adimensional de formación de producto no asociado al crecimiento:

$$\beta^{a \text{ dim}} = \frac{\beta}{Y_{sol/x} \cdot \sqrt{k_L a_H \cdot k_L a}} \text{ ----(5.2.33)}$$

Constantes adimensionales de afinidad tanto para los hidrocarburos y oxígeno:

$$K_H^{a \text{ dim}} = K_H / c_H^*, K_l^{a \text{ dim}} = K_l / c_l^* \text{ ----(5.2.34)}$$

Un rendimiento adimensional de oxígeno/hidrocarburos:

$$\varphi_{O_2} = Y_{O_2/H} \cdot \frac{c_H^*}{c_l^*} \text{ ----(5.2.35)}$$

5.2.3 Estimación de parámetros, solución numérica y predicciones del modelo para la biodegradación de la MCP en los BLL.

Los parámetros del modelo se estimaron mediante: *i*) Determinaciones experimentales independientes, *ii*) bibliográficamente y *iii*) por ajuste directo en el modelo.

Los parámetros estimados de manera experimental fueron las constantes (k y n) de la tasa volumétrica de la pérdida abiótica de hidrocarburos, la densidad de la MCP (ρ_{FLNA}), el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_L a$) y los rendimientos $Y_{SS/H}$ ($\text{gSS} \cdot \text{gMCP}^{-1}$), $Y_{CO_2/SS}$ ($\text{gCO}_2 \cdot \text{gSS}^{-1}$) y α ($\text{gCOS} \cdot \text{gSS}^{-1}$).

Los parámetros k y n , se estimaron a partir de los datos de la tasa experimental de la pérdida abiótica y concentración residual experimental de la MCP, obtenidos ambos de la operación del BLL abiótico (**Figura 5.1**), y la linearización de la expresión de velocidad correspondiente a la ecuación (5.2.9).

$$\ln(-r_{abiót}) = \ln k + n \cdot C_{FLNA}^{ap} \text{ ----(5.2.36)}$$

Debe hacerse notar que los datos de la C_{FLNA}^{ap} utilizados en (5.2.36) correspondieron al cociente entre las concentraciones determinada experimentalmente de la MCP en el BLL abiótico y la eficiencia de extracción ($C_{FLNA}^{ap} = [MCP]_{abiótico}^{t_i} / \xi_{eff}$). En la **Figura 5.11**, se muestran tanto la linearización como el ajuste a los datos experimentales en base a los parámetros estimados.

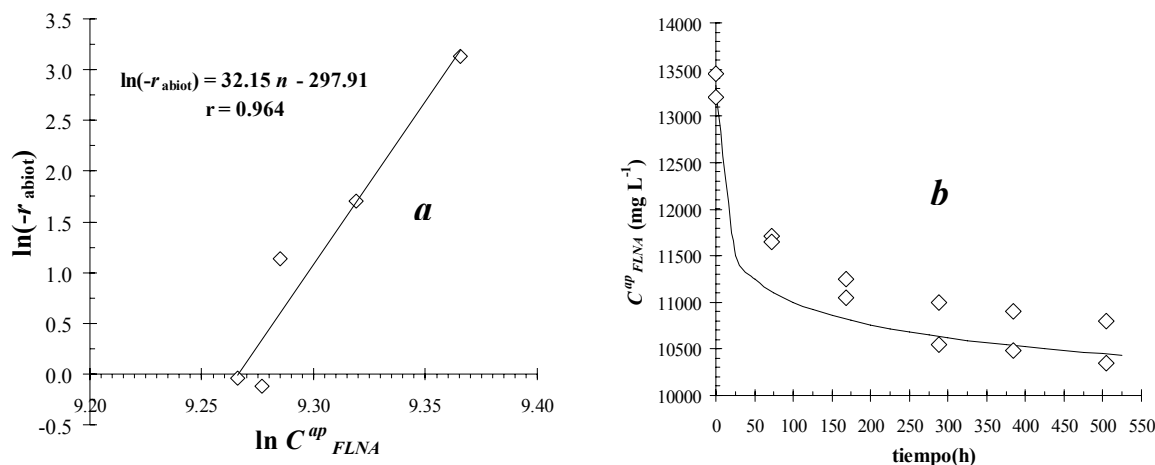


Figura 5.11 Determinación de los parámetros (k y n) en la desaparición abiótica de la MCP a partir de las tasas volumétricas y la [MCP] en el BLL abiótico. **a)** linearización, **b)** ajuste a los datos experimentales, donde (—) ajuste y (◇) datos experimentales.

La densidad de la MCP, fue medida con picnómetro, mientras que el valor del $k_L a$ fue tomado como el promedio de los coeficientes determinados experimentalmente (**Tabla 5.1**) por el método de Fujio et al. (1973). Los valores de α para cada ciclo, se estimaron mediante el cociente de las tasas volumétricas de formación de SS y COS mostradas en la **Figura 5.3**, de tal manera que $\alpha = \mathcal{R}_{COS} \cdot \mathcal{R}_{SS}^{-1}$. Los valores de $Y_{SS/H}$ para cada ciclo, correspondieron a los rendimientos determinados experimentales de SS/MCP ($Y_{SS/MCP}$) mostrados en la **Figura 5.4**, mientras que los rendimientos $Y_{CO2/SS}$ fueron estimados a partir de los valores de SS y CO₂ producidos (el dióxido de carbono calculado en base al balance de carbono) en cada uno de los ciclos en los que se valoró el modelo de biodegradación en el sistema de BLL con el consorcio.

Los parámetros estimados mediante bibliografía, fueron: el coeficiente de afinidad de hidrocarburos (K_H), el coeficiente de afinidad de oxígeno (K_I), el rendimiento SS/O₂ ($Y_{SS/O2}$) y la concentración de saturación de oxígeno (c_l^*). K_H fue tomado como el promedio de los valores experimentales reportados por Guha, et al. (1999), durante la biodegradación líquida de mezclas de HPAs (fenantreno y pireno) por un consorcio enriquecido. K_I y $Y_{SS/O2}$, fueron tomados de los valores

reportados por Cruickshank et al. (2000), durante la biodegradación de fenol en un sistema de biodegradación líquido-líquido con *Pseudomonas putida*. Finalmente, c_i^* fue tomado del valor reportado por Medina-Moreno et al. (2005).

Los parámetros estimados por ajuste del modelo, fueron: la concentración de saturación de la mezcla de hidrocarburos en la interfase (c_H^*), el coeficiente volumétrico de transferencia de hidrocarburos ($k_L a_H$), la constante de formación de producto (β) y la tasa específica máxima de formación de SS (μ_{max}). Para el ajuste del modelo se utilizó como función objetivo la relación normalizada de la suma de las raíces de los cuadrados de la diferencia entre los valores experimentales de SS y los predichos por el modelo (5.2.37), junto con el vector de prueba $\mathbf{P}_r=(c_H^*, k_L a_H, \beta, \mu_{max})$.

$$II_{BLL}(\mathbf{P}_r) = \sum_{i=1}^p \frac{\sqrt{\left(\hat{x}_{SS}^i - x_{SS}(t_i)\right)^2}}{x_{SS}(t_i)} \text{ ----(5.2.37)}$$

En (5.2.37) \hat{x}_{SS}^i corresponde al i -ésimo valor experimental de la concentración de SS, $x_{SS}(t_i)$ a la concentración predicha por el modelo y p al número total de datos experimentales ($p=5$). Mediante ensayos de prueba y error, se dieron valores a los parámetros del vector \mathbf{P}_r , tomando como criterio para el ajuste en cada uno de los ciclos valorados por el modelo que $II_{BLL}(\mathbf{P}_r) < 0.25$ (correspondiente a un error global menor al 5%). En la **Tabla 5.8**, se resumen los valores de los parámetros utilizados en el modelo.

Tabla 5.8. Valores de los parámetros del modelo de biodegradación aerobia de hidrocarburos en el BLL

Experimental		Bibliográfica		Ajuste	
n	32.15	$Y_{SS/O_2}(\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1})$	0.338	$c_H^*(\text{mg L}^{-1})$	4.00
$k(\text{L}^{n-1}/\text{mg}^{n-1} \text{ h})$	4.2 e^{-130}	$K_H(\text{mg L}^{-1})$	0.823	$k_L a_H (\text{h}^{-1})$	27.5
$\rho_{FLNA}(\text{mg L}^{-1})$	941000	$K_L(\text{mg L}^{-1})$	0.048	$\beta(\text{mg}\cdot(\text{mg h})^{-1})$	0.0012
$k_L a (\text{h}^{-1})$	17.00	$c_i^*(\text{mg L}^{-1})$	5.00	$\mu_{max}(\text{h}^{-1})$	0.055
$Y_{SS/H}(\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1})$	0.41 a 0.58				
$Y_{CO_2/SS}(\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1})$	0.7 a 1.5				
$\alpha(\text{mg}\cdot\text{mg}^{-1})$	0.3 a 0.6				

El sistema de EDO que integran al modelo, corresponde a un problema de valor inicial. Así, en cada j -ésimo ciclo de operación de los BLL en que se probó el modelo, se empleó un vector de condiciones iniciales $\mathbf{VCI}_j = (\mathfrak{V}_0^j, c_{H0}^j, x_{SS0}^j, c_{CO_20}^j, c_{sol0}^j, c_{10}^j)$. En todos los casos, se supuso que al inicio de cada ciclo, la concentración de hidrocarburos solubles (c_{H0}), dióxido de carbono (c_{CO_20}) y oxígeno soluble (c_{10}) fueron cero, mientras que los valores iniciales correspondientes a la fracción volumétrica de la MCP con respecto al volumen de la FLA (\mathfrak{V}_0), los sólidos suspendidos (x_{SS0j}), y metabolitos solubles (c_{sol0j}) fueron tomados de los determinados experimentalmente al inicio de cada ciclo. Para la solución numérica del modelo, se empleó el método corrector-predicor de Runge-Kutta-Fehlberg (RKF45). El algoritmo para la solución numérica por el método de RKF45, fue codificado en dos programas basados en lenguaje de MATLAB (*anexoII*). El primer programa denominado BLLec, contiene las EDO que integran al modelo, mientras que un segundo programa denominado BLL, resuelve el sistema, construye tablas, gráficas y almacena datos de la corrida.

El modelo, se valoró con los datos experimentales de concentración de SS, COS y MCP, así como con los estimados de CO_2 , correspondientes a los primeros ocho lotes ($j=8$) en que operaron los BLL con el consorcio, y cuyas predicciones se muestran en las **Figuras 5.12** y **5.13**. Debido a que el modelo considera la pérdida abiótica de hidrocarburos, para la cinética de biodegradación de la MCP, los valores del modelo son comparados con los datos de concentración de la MCP no corregidos con las tasas abióticas de la pérdida de hidrocarburos (**Figura 5.12 b**).

De las cuatro cantidades empleadas para valorar el modelo y sus variables correspondientes (x_{SS} , C_{FLNA}^{ap} , c_{sol} y c_{CO_2}), la mejor predicción del modelo fue para los SS, debido probablemente por ser x_{SS} , la variable de criterio empleada en la función Π_{BLL} para el ajuste del modelo. Para la MCP se observa que el modelo sobrestima la desaparición de la MCP en el primer ciclo, sin embargo, la habilidad de predicción del modelo se incrementa en los siguientes siete ciclos, mostrando una adecuada correspondencia entre los datos experimentales y el modelo. En lo concerniente al COS, el modelo es con la cantidad con la que presenta la peor predicción, puesto que a excepción del primer ciclo, en los siete posteriores subestima los valores de esta variable. Finalmente, para el CO_2 , el modelo muestra una muy buena correspondencia entre los datos experimentales y los predichos por el modelo.

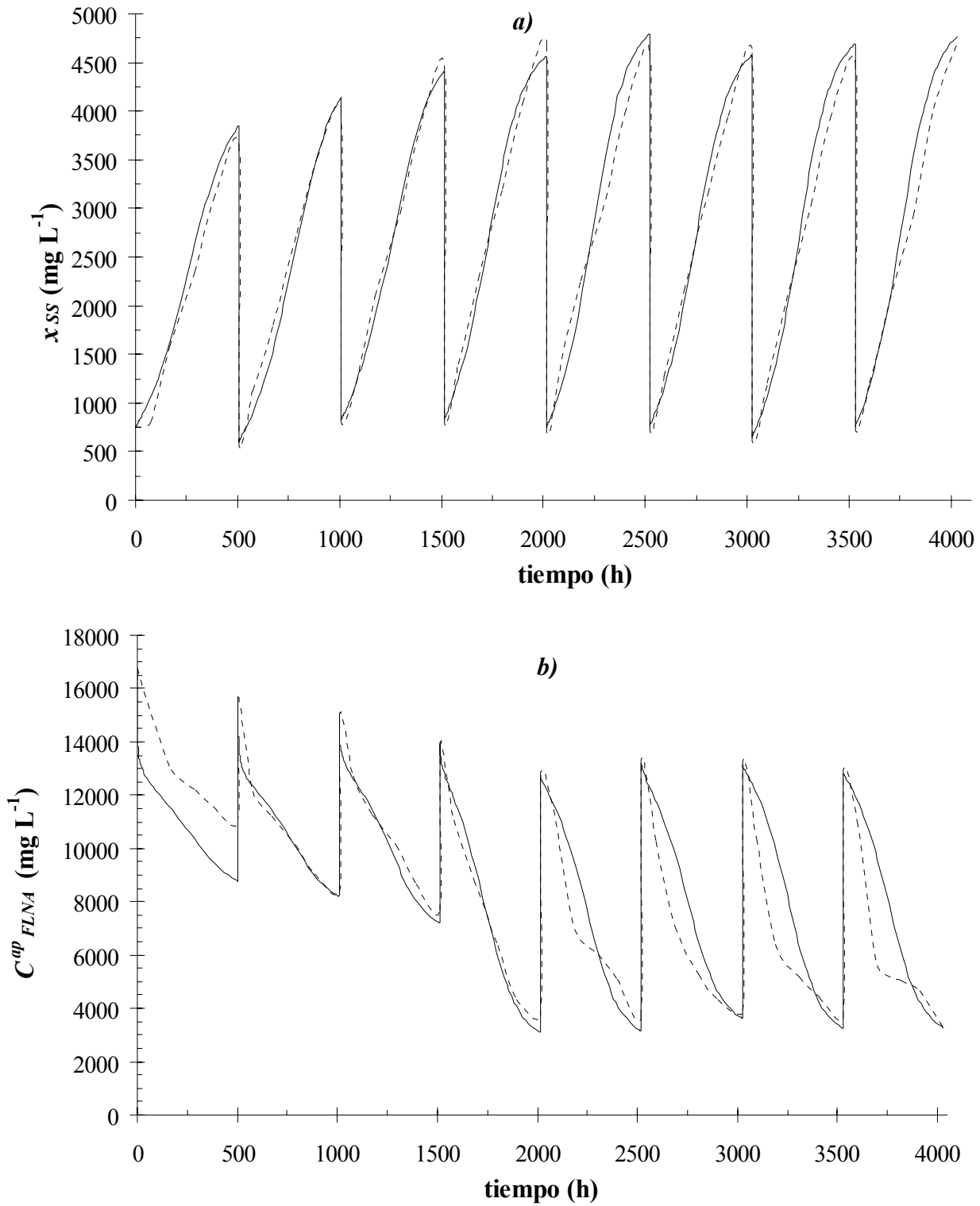


Figura 5.12 Predicción del modelo en la producción de SS (**a**) y la biodegradación de la MCP (**b**), para los ocho primeros lotes de operación de los BLL en donde (---) experimental y (—) modelo.

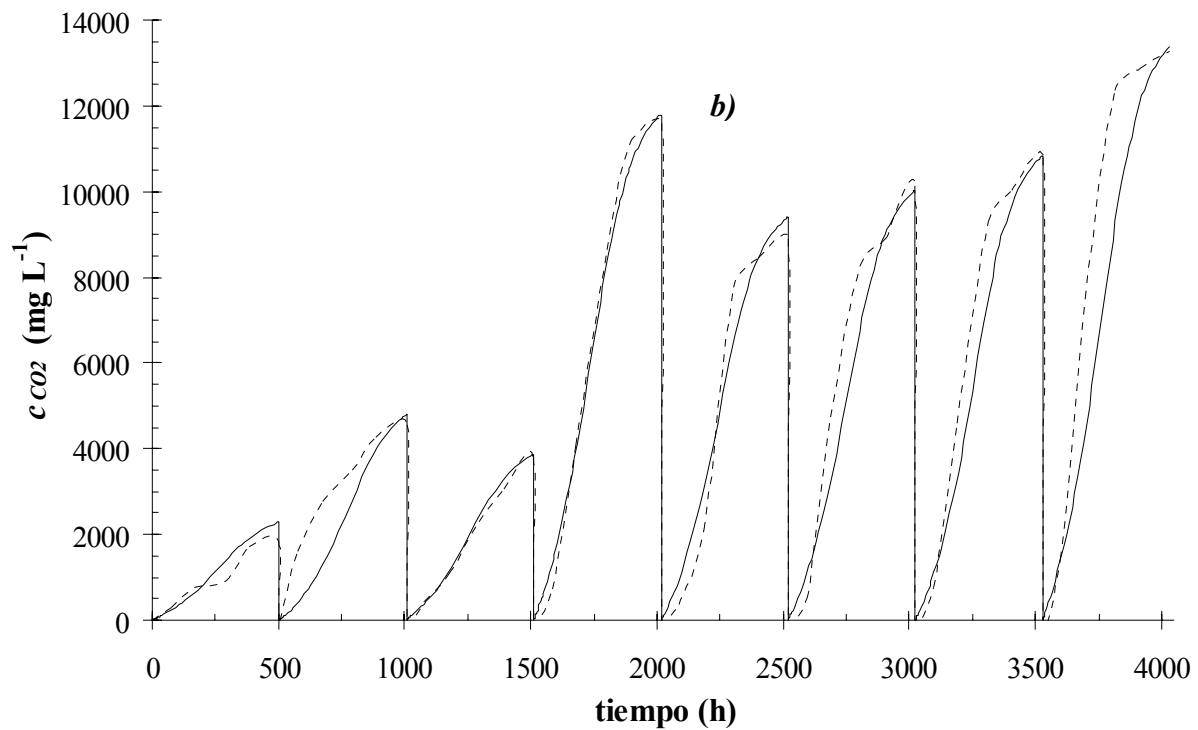
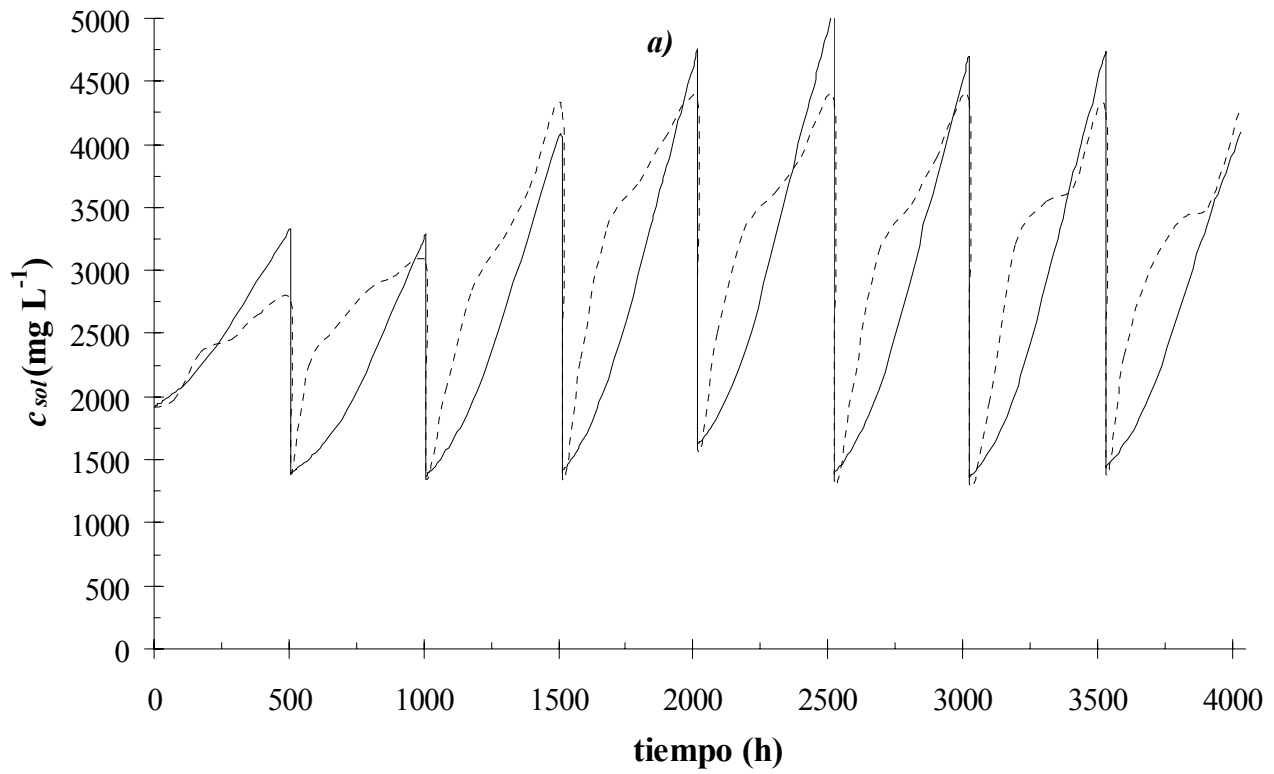


Figura 5.13 Predicción del modelo en la producción de solubles como COS (**a**) y CO₂ (**b**), para los ocho primeros lotes de operación de los BLL en donde (---) experimental y (—) modelo.

5.2.4 Análisis de biodisponibilidad en los BLL

Los mecanismos que se llevan a cabo durante la biodegradación aerobia de la mezcla de hidrocarburos en un BLL (**Figura 5.10**), pueden ser analizados de manera similar a un circuito de resistencias eléctricas, en donde la resistencia total a la biodegradación ($\Theta_{Biodegradación}$) está constituida por una resistencia global para el transporte ($\Theta_{transporte}^{Global}$) y otra para la biorreacción ($\Theta_{bioreacción}^{Global}$), ambas conectadas en serie (**Figura 5.14**). Asumiendo a su vez, que la resistencia global por transporte se constituye de dos resistencias individuales en paralelo, siendo una de estas para la convección de hidrocarburos ($\Theta_{Hidr}^{convección}$), y otra para la convección de oxígeno ($\Theta_{O_2}^{convección}$); y asumiendo también, que la resistencia global por biorreacción, se constituye por dos resistencias individuales de consumo en serie, siendo una para hidrocarburos ($\Theta_{Hidr}^{consumo}$) y otra para oxígeno ($\Theta_{O_2}^{consumo}$), se pueden deducir expresiones para las tasas globales de transporte ($\mathfrak{R}_{transporte}^{Global}$) y biorreacción ($\mathfrak{R}_{bioreacción}^{Global}$) en función de las tasas individuales.

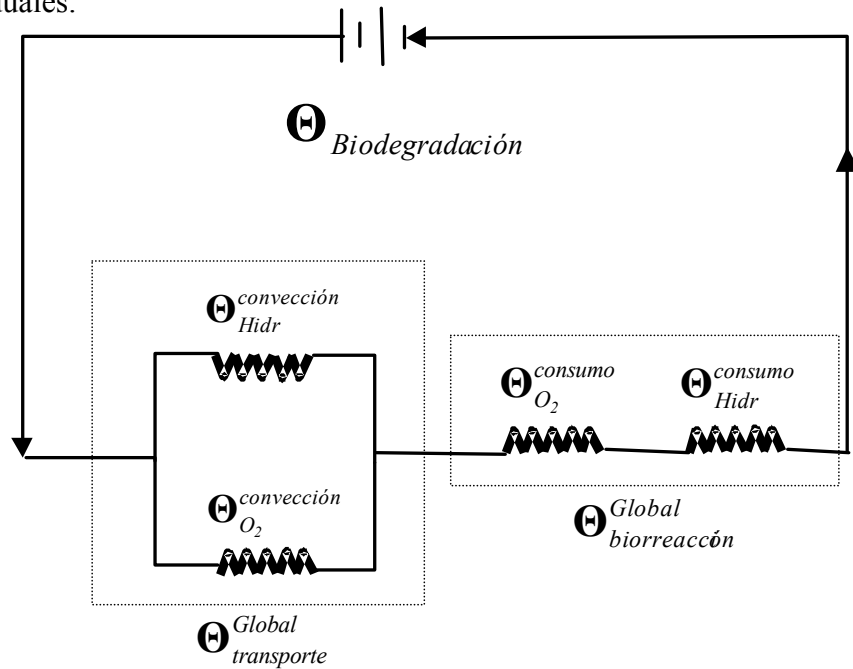


Figura 5.14. Configuración para las resistencias de los mecanismos en serie y paralelo que controlan la biodegradación aerobia de hidrocarburos en un BLL.

Cada resistencia, se relaciona con su tasa correspondiente de manera inversa ($\Theta = \mathfrak{R}^{-1}$). En base a lo anterior, para la resistencia y tasa global de transporte, al estar las resistencias individuales en paralelo, puede escribirse:

$$\Theta_{\text{transporte}}^{\text{Global}} = \frac{\Theta_{\text{Hidr}}^{\text{convección}} \cdot \Theta_{\text{O}_2}^{\text{convección}}}{\Theta_{\text{Hidr}}^{\text{convección}} + \Theta_{\text{O}_2}^{\text{convección}}} \quad \text{ó} \quad \mathfrak{R}_{\text{transporte}}^{\text{Global}} = \mathfrak{R}_{\text{Hidr}}^{\text{convección}} + \mathfrak{R}_{\text{O}_2}^{\text{convección}} \quad \text{----(5.2.38)}$$

Mientras que para la resistencia y tasa globales de biorreacción, al estar las resistencias individuales en serie:

$$\Theta_{\text{biorreacción}}^{\text{Global}} = \Theta_{\text{Hidr}}^{\text{consumo}} + \Theta_{\text{O}_2}^{\text{consumo}} \quad \text{ó} \quad \mathfrak{R}_{\text{biorreacción}}^{\text{Global}} = \frac{\mathfrak{R}_{\text{Hidr}}^{\text{consumo}} \cdot \mathfrak{R}_{\text{O}_2}^{\text{consumo}}}{\mathfrak{R}_{\text{Hidr}}^{\text{consumo}} + \mathfrak{R}_{\text{O}_2}^{\text{consumo}}} \quad \text{----(5.2.39)}$$

Dividiendo la tasa global de transporte (5.2.38) entre la tasa global de biorreacción (5.2.39) se tiene:

$$\frac{\mathfrak{R}_{\text{transporte}}^{\text{Global}}}{\mathfrak{R}_{\text{biorreacción}}^{\text{Global}}} = \frac{\mathfrak{R}_{\text{Hidr}}^{\text{convección}}}{\mathfrak{R}_{\text{O}_2}^{\text{consumo}}} + \frac{\mathfrak{R}_{\text{Hidr}}^{\text{convección}}}{\mathfrak{R}_{\text{Hidr}}^{\text{consumo}}} + \frac{\mathfrak{R}_{\text{O}_2}^{\text{convección}}}{\mathfrak{R}_{\text{O}_2}^{\text{consumo}}} + \frac{\mathfrak{R}_{\text{O}_2}^{\text{convección}}}{\mathfrak{R}_{\text{Hidr}}^{\text{consumo}}} \quad \text{----(5.2.40)}$$

En base a la definición dada del número de biodisponibilidad en la sección 5.2.2, y definiendo números de biodisponibilidad para los hidrocarburos (B_n^{Hidr}) y oxígeno ($B_n^{\text{O}_2}$) como:

$$B_n^{\text{Hidr}} = \frac{\mathfrak{R}_{\text{Hidr}}^{\text{convección}}}{\mathfrak{R}_{\text{Hidr}}^{\text{consumo}}} \quad \text{----(5.2.41)}$$

$$B_n^{\text{O}_2} = \frac{\mathfrak{R}_{\text{O}_2}^{\text{convección}}}{\mathfrak{R}_{\text{O}_2}^{\text{consumo}}}$$

La ecuación (5.2.40) puede escribirse como:

$$B_n = \frac{\mathfrak{R}_{\text{Hidr}}^{\text{convección}}}{\mathfrak{R}_{\text{O}_2}^{\text{consumo}}} + B_n^{\text{Hidr}} + B_n^{\text{O}_2} + \frac{\mathfrak{R}_{\text{O}_2}^{\text{convección}}}{\mathfrak{R}_{\text{Hidr}}^{\text{consumo}}} \quad \text{----(5.2.42)}$$

Por otra parte, y en función del número de transporte (\mathfrak{N}_L) definido en 5.2.2, el cociente entre las tasas volumétricas individuales por convección de hidrocarburos y oxígeno, puede escribirse como:

$$\frac{\mathfrak{R}_{\text{Hidr}}^{\text{convección}}}{\mathfrak{R}_{\text{O}_2}^{\text{convección}}} = \frac{k_L a_H \cdot [c_H^* - c_H]}{k_L a \cdot [c_l^* - c_l]} = \mathfrak{N}_L^2 \cdot \frac{\Delta c_H}{\Delta c_l} \quad \text{----(5.2.43)}$$

Debido a que la solubilidad en la FLA tanto de hidrocarburos como de oxígeno es muy baja y de un orden de magnitud similar, se supondrá que $\Delta c_H \approx \Delta c_L$, por lo que:

$$\frac{\mathfrak{R}_{Hidr}^{convección}}{\mathfrak{R}_{Hidr}^{consumo}} \approx \mathfrak{N}_L^2 \text{ ----(5.2.44)}$$

En base a la ecuación (5.2.44) y las definiciones dadas en (5.2.41) para B_n^{Hidr} y $B_n^{O_2}$, se pueden escribir las siguientes expresiones para los cocientes de las tasas en la ecuación (5.2.42):

$$\begin{aligned} \frac{\mathfrak{R}_{Hidr}^{convección}}{\mathfrak{R}_{O_2}^{consumo}} &= B_n^{O_2} \cdot \mathfrak{N}_L^2 \\ \frac{\mathfrak{R}_{O_2}^{convección}}{\mathfrak{R}_{Hidr}^{consumo}} &= \frac{B_n^{Hidr}}{\mathfrak{N}_L^2} \end{aligned} \text{ ----(5.2.45)}$$

Substituyendo las relaciones de (5.2.45) en (5.2.42) y desarrollando se tiene:

$$B_n = \left[\frac{1 + \mathfrak{N}_L^2}{\mathfrak{N}_L^2} \right] \left(B_n^{Hidr} + B_n^{O_2} \cdot \mathfrak{N}_L^2 \right) \text{ ----(5.2.46)}$$

La ecuación (5.2.46) expresa al número de biodisponibilidad para la biodegradación aerobia de hidrocarburos en un BLL, en función de números de biodisponibilidad independientes para cada uno de los sustratos, así como del número de transporte. Esta expresión puede ser empleada con las tasas máximas y en condiciones extremas para determinar de manera global o individual cuales son los mecanismo de control.

Por otra parte, con el objetivo de analizar de manera dinámica el control de los diversos mecanismos en la biodegradación, se utilizó la ecuación (5.2.46) junto con expresiones dinámicas para los números de biodisponibilidad de los sustratos basadas en expresiones de las tasas volumétricas de transporte (5.2.47) y consumo (5.2.48). Debido a que las condiciones de aireación y régimen de mezclado se mantuvieron constantes, se consideró un número de transporte (\mathfrak{N}) constante e igual a 1.272 (valor correspondiente a los coeficientes volumétricos empleados en el modelo).

$$B_n^{Hidr}(t) = \frac{k_L a_H \cdot [c_H^* - c_H(t)]}{Y_{SS/H} \left(\frac{c_H(t)}{K_H + c_H(t)} \right)} \cdot x_{SS}(t) \text{ ----(5.2.47)}$$

$$B_n^{O_2}(t) = \frac{k_L a \cdot [c_l^* - c_l(t)]}{\frac{\mu_{max}}{Y_{SS/O_2}} \left(\frac{c_l(t)}{K_l + c_l(t)} \right) \cdot x_{SS}(t)} \text{ ----(5.2.48)}$$

En la **Figura 5.15** se muestra el comportamiento dinámico de los números de biodisponibilidad para los lotes 1 y 8. Las gráficas en ambos casos, se construyeron a partir de los datos cinéticos de las concentraciones de hidrocarburos y oxígeno disueltos del modelo, empleándose los mismos valores de los parámetros mostrados en la **Tabla 5.8**.

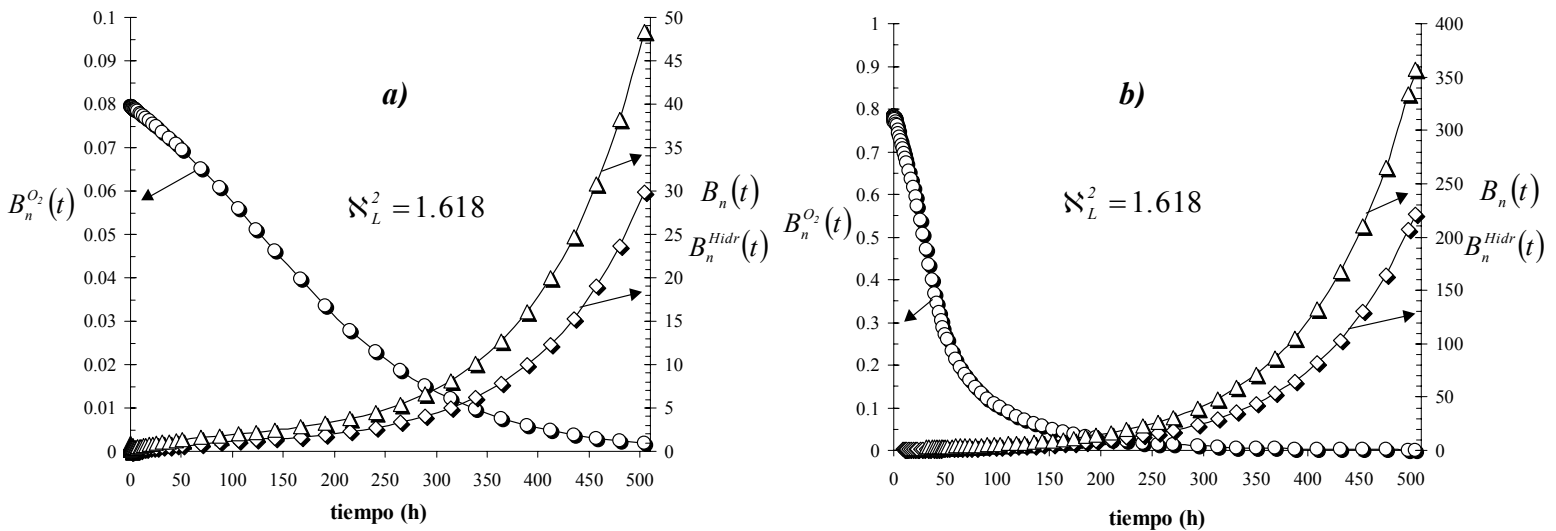


Figura 5.15 Predicciones en el comportamiento dinámico de los números de biodisponibilidad para la operación de los BLL en los lotes (a) uno y (b) ocho. En ambas gráficas, (O) corresponde al $B_n^{O_2}$, (\diamond) al B_n^{Hidr} , y (Δ) al B_n .

A partir de las gráficas de la **Figura 5.15** se observa que en ambos lotes desde el principio de las cinéticas se presentó una fuerte limitación en la biodisponibilidad de oxígeno, la cual fue acentuándose a lo largo del tiempo en ambos casos. En lo que respecta a los hidrocarburos, y para ambos lotes, hasta las 250 h, se da un equilibrio entre la biodisponibilidad y consumo de hidrocarburos, sin que predomine algún mecanismo sobre otro. Sin embargo, a partir de las 250 h, y para ambos lotes, el consumo de hidrocarburos comienza a dominar sobre la biodisponibilidad, acentuándose este comportamiento hasta el final de los lotes. Por lo tanto, el efecto combinado en estos mecanismos, condujo a que al final de la cinética, la biorreacción fuera el mecanismo dominante en el proceso de biodegradación aerobia de los hidrocarburos en los BLL. Ya que probablemente las tasas volumétricas de transferencia de masa de los substratos en las interfases permanecieron constantes, el comportamiento dinámico del B_n probablemente se debió a que las tasas

volumétricas individuales de consumo para ambos sustratos, se vieron afectadas por el incremento en la formación de SS, lo cual, produjo una alta demanda de oxígeno por los microorganismos del consorcio para la oxidación parcial y/o total de los hidrocarburos; demanda que no pudo ser satisfecha con las condiciones de aireación y mezclado utilizadas.

Como conclusión parcial, el modelo desarrollado es capaz de describir la biodegradación aerobia de una mezcla compleja de hidrocarburos mediante un consorcio microbiano en un BLL. Además, el uso del modelo junto con el análisis de biodisponibilidad permitió valorar el efecto de los mecanismos que controlan el proceso de biodegradación.

5.2.5 Simulación y sensibilidad paramétrica del modelo de biodegradación en los BLL

La simulación del proceso de biodegradación de la MCP en los BLL con el consorcio, se llevo a cabo mediante la variación de cuatro parámetros. Estos fueron ambos coeficientes volumétricos de transferencia ($k_L a_H$ y $k_L a$), la tasa máxima específica de crecimiento (μ_{max}) y la concentración de saturación de los hidrocarburos en la interfase (c_H^*). Los parámetros se seleccionaron debido a su efecto en los mecanismos de biodisponibilidad y biorreacción en el proceso global de biodegradación. Para las simulaciones, cada parámetro se incrementó y disminuyó hasta en un orden de magnitud con respecto al valor empleado en el modelo. Como variables respuesta en la simulación, se utilizaron la concentración de la MCP en la FLA (C_{FLNA}^{ap}), la concentración de SS (x_{SS}) y la concentración de CO_2 (c_{CO_2}). Los demás parámetros, se mantuvieron constantes de acuerdo con los valores mostrados en la **Tabla 5.8**. En cada simulación, el número de biodisponibilidad se estimó en base a la ecuación (5.2.30). Finalmente, las simulaciones se llevaron a cabo para un solo lote, cuyas condiciones de valor inicial correspondieron al lote ocho.

Junto con las simulaciones, y para cada parámetro ($k_L a_H$, $k_L a$, μ_{max} y c_H^*) se realizó un análisis de sensibilidad paramétrica. Para el análisis, el valor original del parámetro utilizado en el modelo, se incrementó y disminuyó hasta en un 90%, observándose su efecto en cada una de las variables de respuesta a las 250 y 504 h de la de la cinética de biodegradación. La sensibilidad fue definida de la siguiente manera:

$$S_{P_{V_R}}^{V_R} = \left| \frac{(\Delta V_R) / V_R}{(\Delta P_{V_R}) / P_{V_R}} \right| \text{----(5.2.49)}$$

Donde V_R es el valor de la variable de respuesta seleccionada correspondiente al valor original del parámetro, ΔV_R es la variación en esta variable debido a la variación del parámetro, P_{V_R} es el valor original del parámetro y ΔP_{V_R} es la variación del parámetro.

En la **Figura 5.16**, se muestran tres simulaciones correspondientes a la variación de los coeficientes volumétricos de transporte en las interfases. En todas las simulaciones, se dieron los mismos valores a ambos coeficientes con dos propósitos. El primero fue determinar el efecto global del transporte, debido a que ambos coeficientes son dependientes de un mismo régimen de mezclado en la FLA. El segundo, fue que el número de transporte (\mathcal{N}) se mantuviese constante e igual a la unidad, evitando así que la limitación en la disponibilidad por convección del oxígeno fuese mayor a la de los hidrocarburos (esta suposición se basó en el hecho de que las concentraciones de saturación de hidrocarburos y oxígeno en la FLA son muy similares). Los coeficientes se variaron en un orden de magnitud superior e inferior al valor correspondiente del coeficiente volumétrico de oxígeno utilizado en las predicciones del modelo ($k_L a = 17 \text{ h}^{-1}$).

Como se observa en la **Figura 5.16**, la disminución simultánea en los coeficientes volumétricos en un orden de magnitud con respecto a los valores base ($k_L a_H = 17 \text{ h}^{-1}$ y $k_L a = 17 \text{ h}^{-1}$) conduce a un efecto negativo en la biodegradación, con un control total del proceso por parte de la biodisponibilidad de los substratos (hidrocarburos y O_2), debido esto a los bajos valores de los coeficientes volumétricos de transporte en las interfases ($B_n = 0.0106$). Este efecto se refleja en una baja biodegradación de la MCP, como en una baja producción de SS y CO_2 . Por otra parte, el incremento en un orden de magnitud de los valores de los coeficientes volumétricos con respecto a los valores base, conduce a una mayor biodisponibilidad y por lo tanto a la mejora significativa en la biodegradación, sin el control de alguno de los mecanismos (biodisponibilidad ó biorreacción) sobre el proceso ($B_n = 1.06$). En un biorreactor como el BLL, la biodisponibilidad puede ser mejorada al incrementar los valores de los coeficientes volumétricos, ya sea por aumento en los coeficientes de transferencia (k_L), ó en el área específica de transferencia (a y a_H). En el primer caso, esto se logra mediante un incremento del régimen de mezclado (una mayor agitación, conduce a capas límite externas de menor espesor, disminuyendo la resistencia al transporte). En el segundo caso, tanto para hidrocarburos y oxígeno, puede lograrse diluyendo el medio, o en el caso particular de hidrocarburos, vía uso de dispersantes y/o surfactantes; mientras que en el caso particular del oxígeno reduciendo el tamaño de los orificios de salida en el distribuidor de aire. En cualquier caso, los coeficientes

volumétricos de transferencia de masa, son parámetros que en la práctica pueden modificarse con relativa facilidad, pues dependen de características físicas del sistema tales como la agitación y el tamaño de partícula.

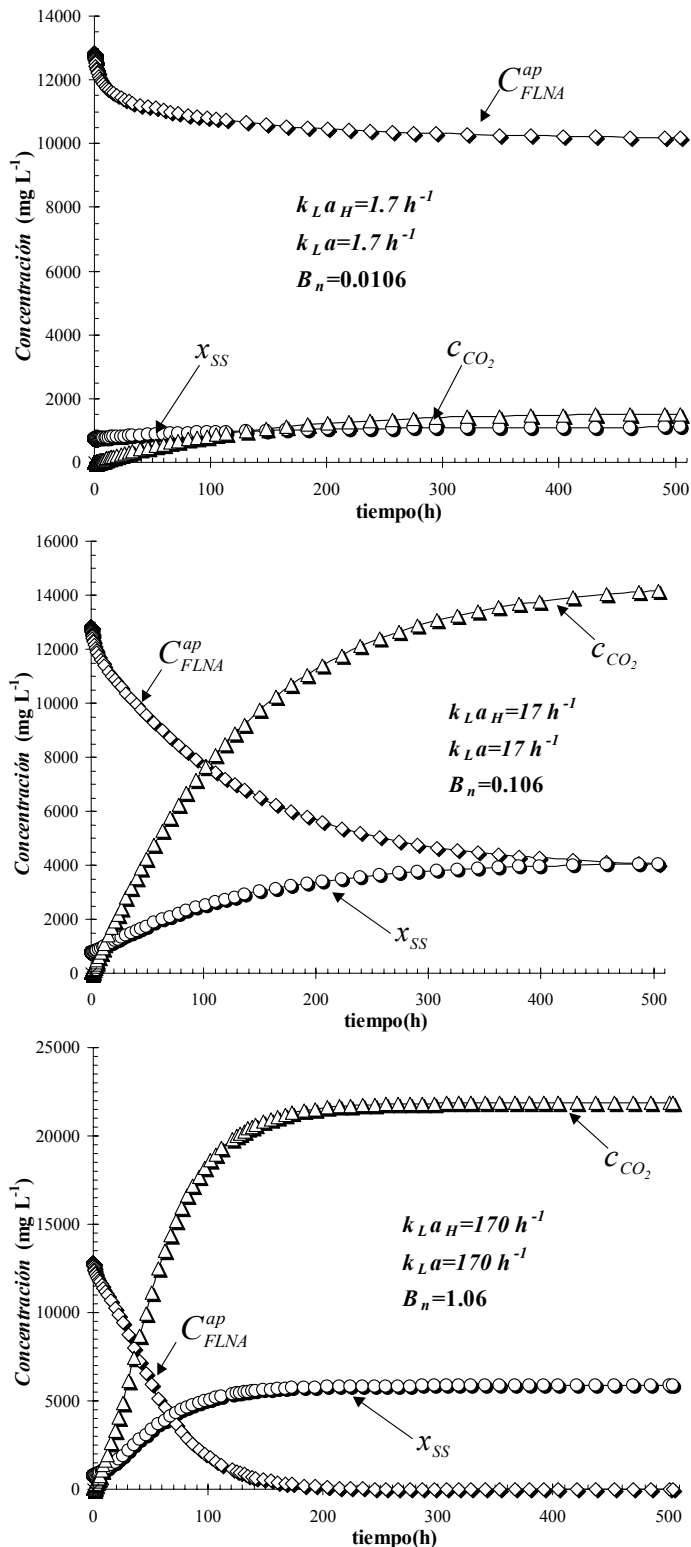


Figura 5.16 Simulaciones del modelo a diferentes valores de los coeficientes volumétricos de transporte en las interfases ($k_L a_H$ -y $k_L a$). En todos los casos, $\mu_{max}(\text{h}^{-1})=0.055$ y $C_H^*(\text{mg L}^{-1})=4.00$. En cada simulación, se representan a C_{FLNA}^{ap} con (\diamond), x_{SS} con (\circ), c_{CO_2} con (Δ).

Tabla 5.9. Sensibilidad paramétrica para k_{LaH} y k_{La} a las 250 h

Sensibilidad	Disminución del parámetro en un 90%	Valor base $k_{LaH}=17 \text{ h}^{-1}$ y $k_{La}=17 \text{ h}^{-1}$	Incremento del parámetro en un 90%
$S^{\frac{C_{FLNA}^{ap}}{\sqrt{k_{LaH} \cdot k_{La}}}}$	0.719	1.00	0.762
$S^{\frac{x_{SS}}{\sqrt{k_{LaH} \cdot k_{La}}}}$	0.843	1.00	0.991
$S^{\frac{c_{CO_2}}{\sqrt{k_{LaH} \cdot k_{La}}}}$	0.841	1.00	0.990

Tabla 5.10. Sensibilidad paramétrica para k_{LaH} y k_{La} a las 504 h

Sensibilidad	Disminución del parámetro en un 90%	Valor base $k_{LaH}=17 \text{ h}^{-1}$ y $k_{La}=17 \text{ h}^{-1}$	Incremento del parámetro en un 90%
$S^{\frac{C_{FLNA}^{ap}}{\sqrt{k_{LaH} \cdot k_{La}}}}$	0.514	1.00	0.777
$S^{\frac{x_{SS}}{\sqrt{k_{LaH} \cdot k_{La}}}}$	0.607	1.00	0.993
$S^{\frac{c_{CO_2}}{\sqrt{k_{LaH} \cdot k_{La}}}}$	0.604	1.00	0.992

En las **Tablas 5.9** y **5.10**, se muestra el efecto de la variación paramétrica de los coeficientes volumétricos de transporte (k_{LaH} y k_{La}) sobre los valores de sensibilidad de las tres variables de respuesta a las 250 y 504 horas respectivamente. Tomando como criterio los valores de sensibilidad para el valor base de los coeficientes de transporte, el modelo mostró la mayor sensibilidad para una disminución del 90%, y para las 504 h de la cinética. Además, de las tres variables respuesta la C_{FLNA}^{ap} mostró la mayor sensibilidad debido a la variación (tanto disminución como incremento) de los coeficientes volumétricos.

En la **Figura 5.17**, se muestran tres simulaciones correspondientes a la variación de la tasa específica máxima de crecimiento. La tasa se varió en un orden de magnitud superior e inferior al valor correspondiente del utilizado en las predicciones del modelo ($\mu_{max}=0.055 \text{ h}^{-1}$). La disminución en un orden de magnitud de la tasa con respecto al valor base, produce un efecto negativo en la biodegradación, sin el control de alguno de los mecanismos sobre el proceso ($B_n=1.35$). Aunque no se presentan limitaciones por biodisponibilidad ó biorreacción, la tasa global de biodegradación es baja debido a que tanto las tasas de transporte como de biorreacción también lo son. Esto se refleja en una baja degradación de la MCP, como en una baja producción de SS y CO_2 .

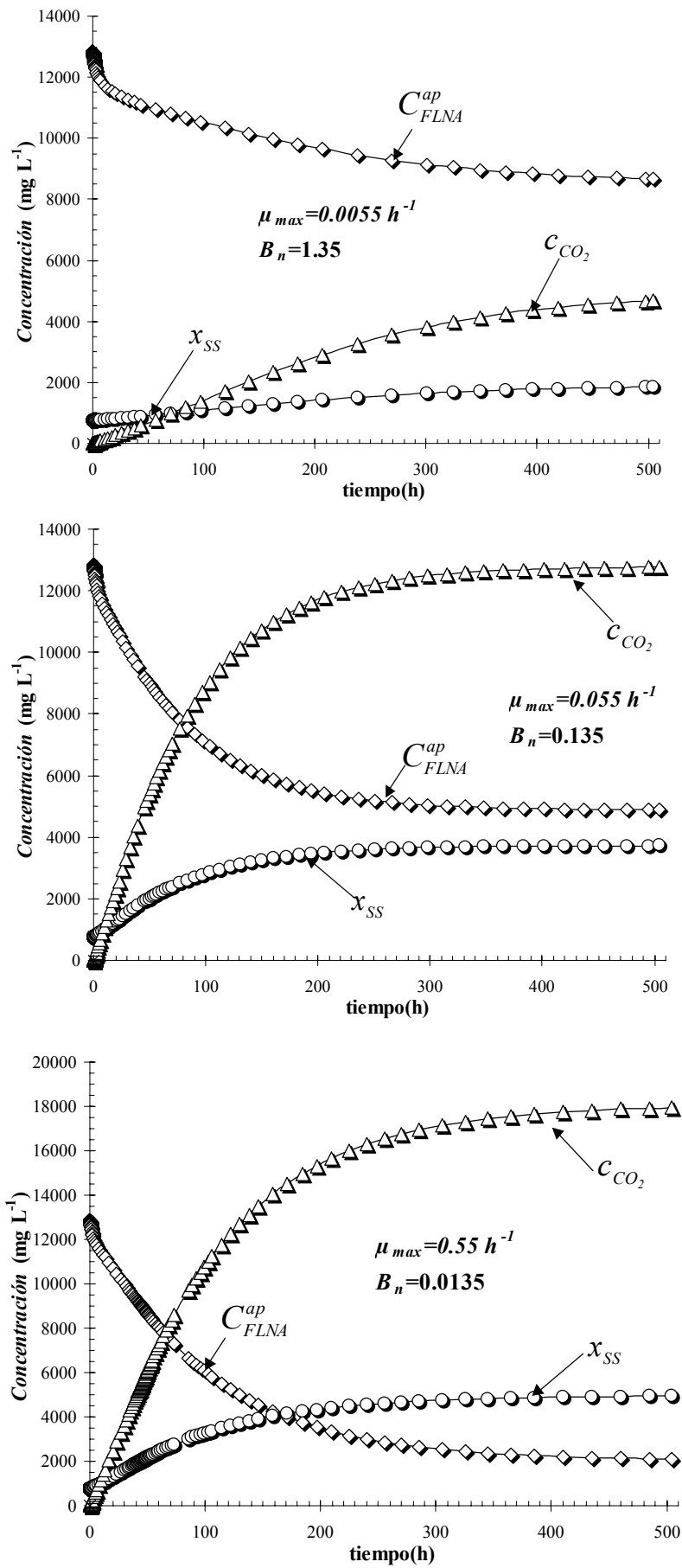


Figura 5.17 Simulaciones del modelo a diferentes valores de la tasa específica máxima de crecimiento (μ_{max}). En todos los casos, k_{LaH} (h^{-1})=27.50, k_{La} (h^{-1})=17.00 y c_H^* (mg L^{-1})=4.00. En cada simulación, se representan a C_{FLNA}^{ap} con (\diamond), x_{SS} con (\circ), c_{CO_2} con (Δ).

Por otra parte, el incremento en un orden de magnitud del valor de la tasa específica máxima de crecimiento con respecto al valor base, produce una mejora significativa en la biodegradación, en donde el control total del proceso es ahora debido a la biodisponibilidad (transporte en las interfases, $B_n=0.0135$). En el BLL, la biorreacción puede mejorarse vía el incremento de los valores de la tasa máxima (considerando que se mantienen las mismas condiciones ambientales como temperatura, acidez, fuerza iónica, etc.) lo cual puede llevarse a cabo mediante la adaptación de las poblaciones del consorcio vía enriquecimiento secuencial (Márquez et al., 2001; Díaz-Ramírez et al., 2003; Medina-Moreno et al., 2005), o mediante bioaumentación (Martin, 1994; Cookson, 1995). Sin embargo, la μ_{max} es un parámetro que en la práctica no es fácil de modificar, pues depende de la habilidad intrínseca del consorcio (biocatalizador) para biodegradar los contaminantes orgánicos provenientes de la FLNA.

Tabla 5.11. Sensibilidad paramétrica para μ_{max} a las 250 h

Sensibilidad	Disminución del parámetro en un 90%	Valor base $\mu_{max}=0.055 \text{ h}^{-1}$	Incremento del parámetro en un 90%
$S_{\mu_{max}}^{C_{FLNA}^{ap}}$	0.338	1.00	0.901
$S_{\mu_{max}}^{x_{SS}}$	0.391	1.00	1.080
$S_{\mu_{max}}^{c_{CO_2}}$	0.391	1.00	1.080

Tabla 5.12. Sensibilidad paramétrica para μ_{max} a las 504 h

Sensibilidad	Disminución del parámetro en un 90%	Valor base $\mu_{max}=0.055 \text{ h}^{-1}$	Incremento del parámetro en un 90%
$S_{\mu_{max}}^{C_{FLNA}^{ap}}$	0.394	1.00	0.532
$S_{\mu_{max}}^{x_{SS}}$	0.451	1.00	0.704
$S_{\mu_{max}}^{c_{CO_2}}$	0.451	1.00	0.704

En las **Tablas 5.11** y **5.12**, se muestra el efecto de la variación paramétrica de la tasa máxima específica de crecimiento (μ_{max}) sobre los valores de sensibilidad de las tres variables de respuesta a las 250 y 504 horas respectivamente. De manera similar que con los coeficientes volumétricos, el modelo mostró la mayor sensibilidad para una disminución del 90% de la tasa de crecimiento. Sin embargo, con respecto al tiempo, fue diferente, presentándose en este caso la mayor sensibilidad del modelo a las 250 h. Nuevamente, la C_{FLNA}^{ap} mostró la mayor sensibilidad debido a la variación (tanto

disminución como incremento) del parámetro μ_{max} , siendo aún mayor este efecto que con los coeficientes volumétricos de transporte.

En la **Figura 5.18**, se muestran tres simulaciones correspondientes a la variación de la concentración de saturación de los hidrocarburos en la interfase. Al igual que los dos parámetros anteriores, la concentración se varió en un orden de magnitud superior e inferior al valor correspondiente del utilizado en las predicciones del modelo ($c_H^* = 4.00 \text{ mg L}^{-1}$). La disminución en un orden de magnitud de la concentración de saturación de los hidrocarburos con respecto al valor base, produce un efecto negativo en la biodegradación, con un control total del proceso por parte de la biodisponibilidad de los hidrocarburos, pero debido en esta ocasión al bajo valor de la saturación de hidrocarburos en la FLA ($B_n=0.0135$) y no a su transporte en la interfase.

Por otra parte, el incremento en un orden de magnitud de la concentración de saturación, produce una mayor biodisponibilidad, mejorando significativamente la biodegradación sin el control de alguno de los mecanismos sobre el proceso ($B_n=1.35$). Aunque la concentración de saturación de los hidrocarburos en la interfase depende de los coeficientes de reparto (equilibrio) de los diversos compuestos orgánicos de la mezcla de hidrocarburos, en el BLL, la saturación puede ser incrementada mediante la adición de solventes orgánicos con poca miscibilidad en agua, y a concentraciones subinhibitorias para así evitar un efecto negativo en la biorreacción (Jimenez y Bartha, 1996; García-Rivero et al., 2002).

En las **Tablas 5.13** y **5.14**, se muestra el efecto de la variación paramétrica de la concentración de saturación de hidrocarburos (c_H^*) sobre los valores de sensibilidad de las tres variables de respuesta a las 250 y 504 horas respectivamente. De manera similar que con los coeficientes volumétricos de transporte, el modelo mostró la mayor sensibilidad para una disminución del 90% de la saturación y un tiempo de 504 h. Al igual que en los dos parámetros anteriores, la C_{FLNA}^{ap} mostró la mayor sensibilidad por la variación de la c_H^* , siendo aún mayor este efecto que con los coeficientes volumétricos de transporte.

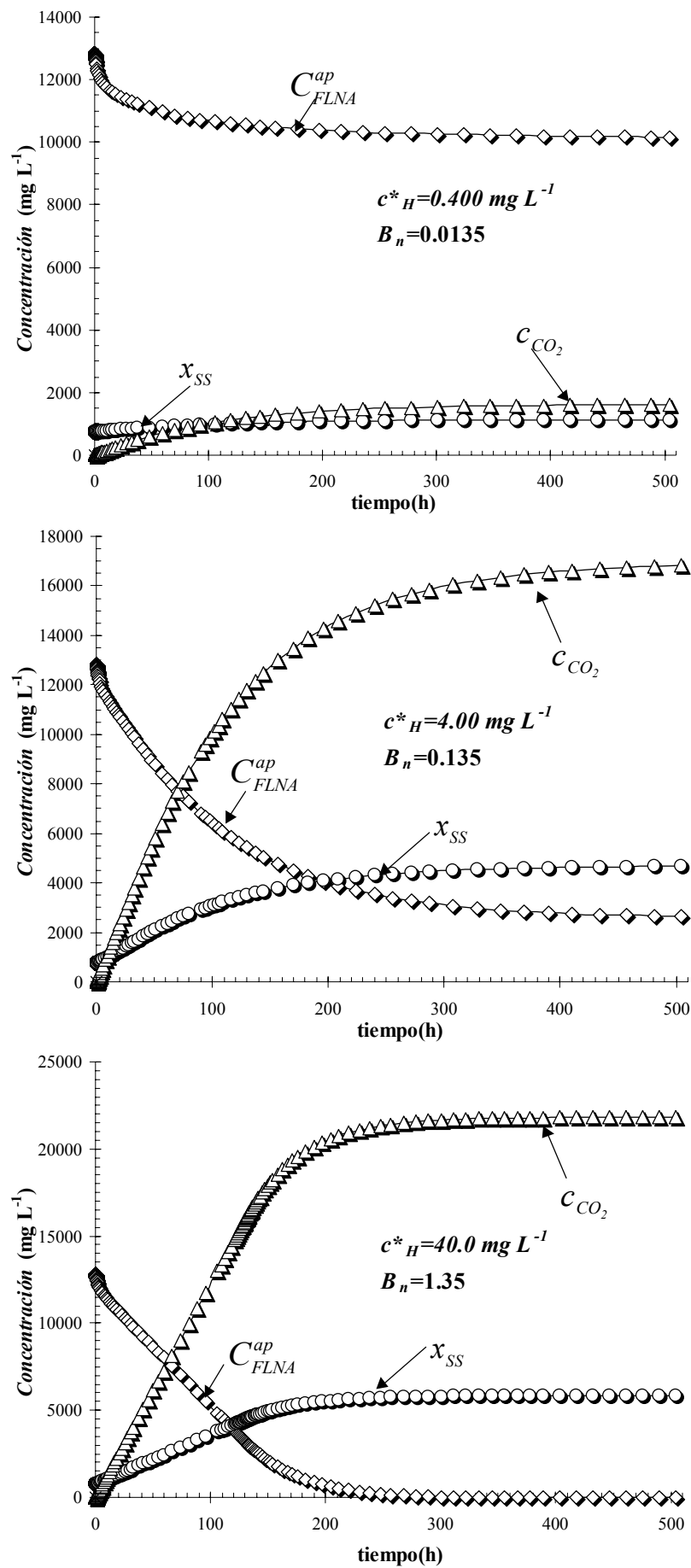


Figura 5.18 Simulaciones del modelo a diferentes valores de la concentración de saturación de los hidrocarburos (C_H^*). En todos los casos, $k_{LaH}(\text{h}^{-1})=27.50$, $k_{La}(\text{h}^{-1})=17.00$ y $\mu_{max}(\text{h}^{-1})=0.055$. En cada simulación, se representan a C_{FLNA}^{ap} con (\diamond), x_{SS} con (\circ), c_{CO_2} con (Δ).

Tabla 5.13. Sensibilidad paramétrica para c_H^* a las 250 h

Sensibilidad	Disminución del parámetro en un 90%	Valor base $c_H^*=4.00 \text{ mg L}^{-1}$	Incremento del parámetro en un 90%
$S_{c_H}^{C_{FLNA}^{*ap}}$	0.384	1.00	0.816
$S_{c_H}^{x_{SS}^*}$	0.425	1.00	1.003
$S_{c_H}^{c_{CO_2}^*}$	0.423	1.00	1.004

Tabla 5.14. Sensibilidad paramétrica para c_H^* a las 504 h

Sensibilidad	Disminución del parámetro en un 90%	Valor base $c_H^*=4.00 \text{ mg L}^{-1}$	Incremento del parámetro en un 90%
$S_{c_H}^{C_{FLNA}^{*ap}}$	0.288	1.00	0.826
$S_{c_H}^{x_{SS}^*}$	0.332	1.00	1.003
$S_{c_H}^{c_{CO_2}^*}$	0.331	1.00	1.005

5.3 CARACTERIZACIÓN ABIÓTICA Y CINÉTICAS DE BIODEGRADACIÓN EN EL BLD

A continuación, se describen y discuten los resultados correspondientes tanto a la caracterización abiótica del biorreactor de lodos (BLD), como a las cinéticas de biodegradación de HTPs en el BLD. Las conclusiones provenientes de la caracterización abiótica, permitieron determinar las mejores condiciones de operación del BLD para la cinéticas de biodegradación de HTPs.

5.3.1 Análisis de la distribución de la concentración de HTPs y sus fracciones en función del tamaño de las partículas de suelo

Para el suelo contaminado proveniente del sudeste del estado de Veracruz, en la **Figura 5.19**, se muestran tanto la distribución de la concentración de HTPs ($\text{mg} \cdot (\text{kg suelo})^{-1}$) como la distribución porcentual de los grupos orgánicos, ambas, en función de los intervalos de tamaño de partícula (dp en μm). Acorde al diámetro de partícula, la fracción correspondiente a un $dp < 570$, presentó el nivel más bajo en concentración de HTPs ($\approx 96,000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), mientras que los intervalos $833 < dp < 1168$ y

2362<dp<4699, presentaron el nivel más alto sin diferencias significativas ($\approx 330,000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). En lo referente a la distribución porcentual de los grupos orgánicos, pueden observarse dos características. La primera es que en todos los intervalos probados, la distribución porcentual es muy similar, lo que indica una clara independencia con respecto al tamaño de partícula. La segunda, es el predominio de los asfaltenos sobre las demás grupos, y cuyo valor promedio es alrededor de un 40%. Ambos aspectos, pueden ser explicados mediante los mecanismos de intemperización del suelo.

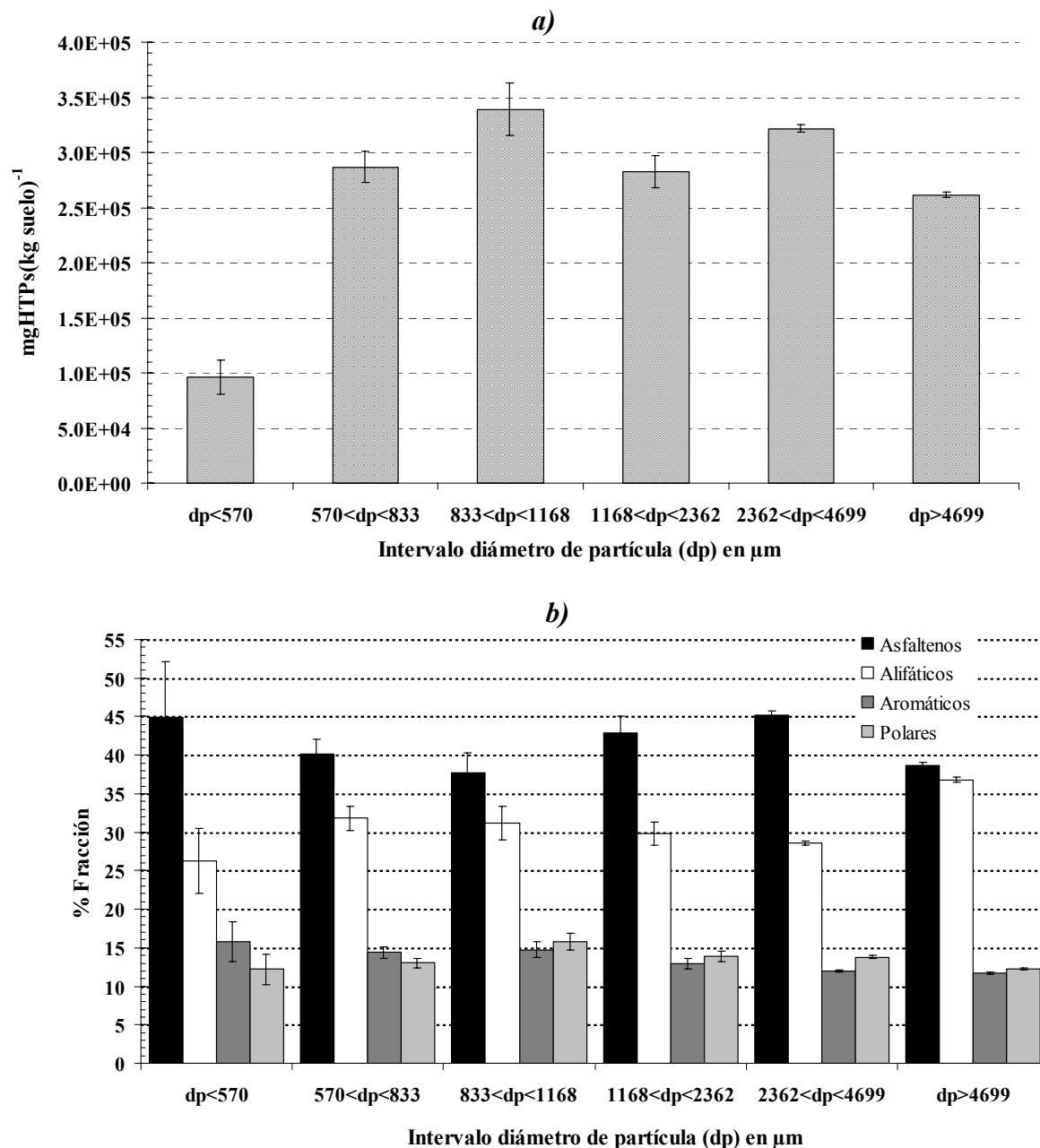


Figura 5.19 Distribuciones en función de los intervalos de tamaño de partícula del suelo intemperizado de: (a) la concentración de HTPs en $\text{mg}\cdot(\text{kg suelo})^{-1}$ y (b) los grupos orgánicos en forma porcentual.

Así, la alta homogeneidad de las fracciones orgánicas en los diferentes tamaños de partícula, probablemente fue debido a los elevados tiempos de contacto entre la mezcla de hidrocarburos y suelo, lo que condujo a la dispersión de los hidrocarburos, intensificándose ésta por las fuertes inundaciones en la región en donde fue recolectado el suelo (Gallegos-Martínez et al., 2000). El segundo, referente al marcado predominio de los asfaltenos, fue probablemente debido a su acumulación vía su alto nivel recalcitrante (biótica y abióticamente) y/o por su generación vía polimerización (catalizada por la fracción arcillosa) a partir de los demás grupos orgánicos (Karimi-Lotfabad et al., 1996). Por otra parte, considerando la distribución promedio de los cuatro grupos orgánicos presentes en el suelo (alrededor de 40% asfaltenos, 30% alifáticos, 15% aromáticos y 15% polares), junto con el alto nivel recalcitrante de los grupos de asfaltenos y polares (en comparación con los alifáticos y aromáticos), es evidente que no es factible superar niveles de degradación mayores a un 45% para este suelo (suponiendo una degradación total de alifáticos y aromáticos) mediante el uso exclusivo de tecnologías de biorremediación.

Por las razones mencionadas, para los estudios de biodegradación en el biorreactor de lodos (BLD), se utilizó un suelo "*artificial*" formado a partir de las diferentes fracciones en peso del suelo contaminado proveniente del sudeste de Veracruz. Este suelo *artificial*, se diseñó en base a dos criterios: el tamaño de partícula y la concentración de HTPs. De esta manera, el suelo *artificial* estuvo formado preferentemente de la fracción de menor tamaño de partícula, la cual a su vez presentó el menor nivel de concentración de HTPs. Esta forma de diseñar al suelo *artificial* para los estudios de biodegradación, se proyectó con dos propósitos. El primero fue evitar el considerar al dp como otra variable temporal de proceso, debido su disminución a causa de la agitación mecánica. El segundo, que los tiempos de biodegradación no fuesen tan prolongados, al utilizarse tanto el menor diámetro de partícula posible, como el menor nivel de concentración de HTPs. La composición en peso de las fracciones que integraron al suelo *artificial* de acuerdo al tamaño de partícula (dp en μm) fueron: 80% de la fracción con un $dp < 570$, 2.5% de la fracción en el intervalo $570 < dp < 833$, 2.5% de la fracción en el intervalos $833 < dp < 1168$ y 15% de la fracción en el intervalo $1168 < dp < 2362$. Por lo tanto, el suelo *artificial* empleado durante todos los estudios de biodegradación en el BLD, tuvo una concentración de HTPs alrededor de $135,000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, con un diámetro de partícula promedio de $650 \mu m$.

5.3.2 Consumo de potencia sin aireación en el BLD

Una vez caracterizada la fase sólida (suelo *artificial*) a utilizar en las cinéticas de biodegradación de HTPs, el paso siguiente, fue determinar el tipo de impulsor que permitiera mantener la suspensión del suelo con los menores consumos de potencia, tanto con y sin aireación, con el fin de establecer las mejores condiciones abióticas de operación del biorreactor agitado de cinco litros, descrito previamente en material y métodos (**sección 4.2.2**).

En la **Figura 5.20**, se muestra el número de potencia (N_p) como función de la velocidad del impulsor (N), durante el consumo de potencia sin aireación en el BLD, para las tres geometrías de impulsores y cargas de suelo *artificial* probadas. Por otra parte, en la **Tabla 5.15**, se señalan las velocidades críticas (N_s), a partir de las que se alcanza la suspensión total de sólidos de acuerdo a el tipo de impulsor y carga de suelo. En todos los casos, el número de potencia fue estimado mediante:

$$N_p = \frac{P}{N^3 D_{im}^5 \rho_{medio}} \text{ ----(5.3.1)}$$

En la ecuación (5.3.1), P es la potencia determinada experimentalmente (Watts), N la velocidad del impulsor (Hertz) y D_{im} el diámetro del impulsor (m). Debido a la dificultad para determinar la densidad y viscosidad del lodo, se decidió utilizar la densidad del medio (ρ_{medio} en kg m^{-3}) para la estimación numérica del N_p , y a la velocidad del impulsor en lugar del número de Reynolds (N_{Re}) como variable independiente. Por otra parte, las velocidades críticas de suspensión del suelo (N_s), fueron determinadas visualmente y en base al criterio de los dos segundos (Zwietering, 1958).

Tabla 5.15 Valores críticos de los impulsores (N_s) a partir de los que se alcanzó la suspensión total de la fase sólida sin aireación en el BLD

<i>Sólidos(%w/v)</i>	R6PPFA45° <i>N_s (rpm)</i>	R6PP90° <i>N_s (rpm)</i>	R6PPFD45° <i>N_s (rpm)</i>
10	300	320	280
20	350	350	330
30	370	420	350

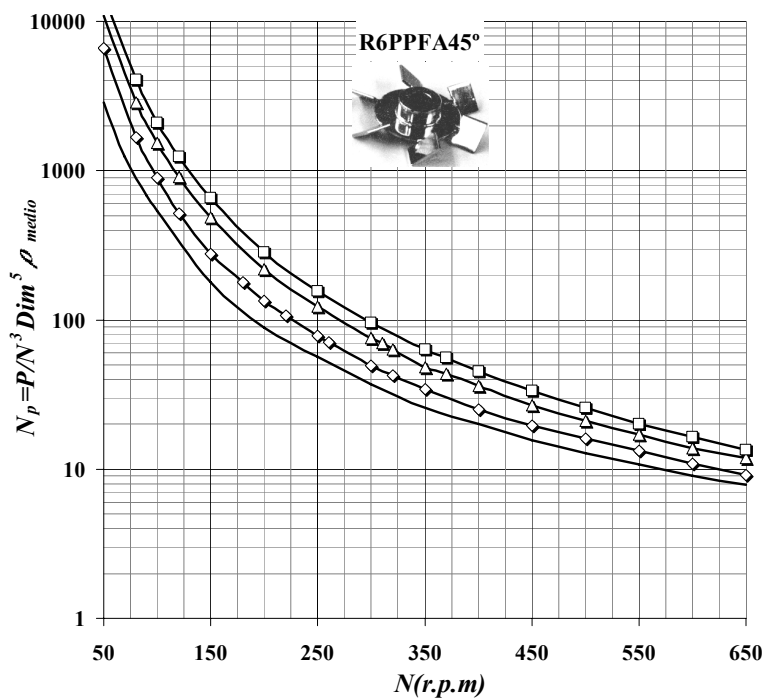
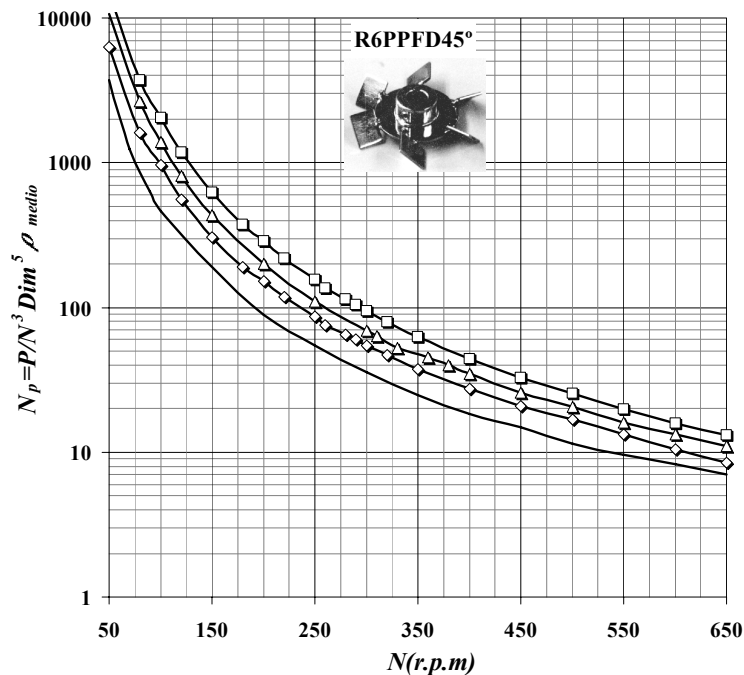
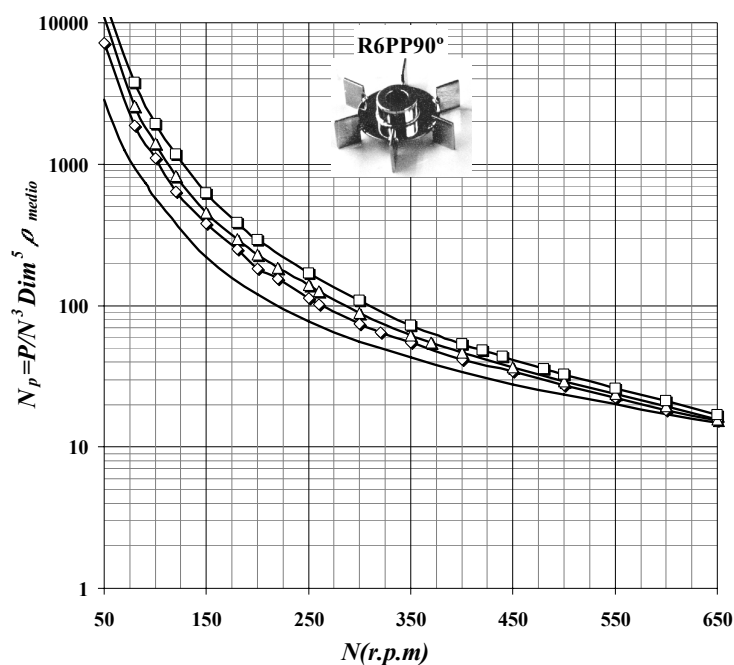


Figura 5.20 Número de potencia (N_p) como función de la velocidad del impulsor y carga de suelo durante el consumo de potencia sin aireación en el BLD para diferentes geometrías de impulsor. La nomenclatura para cada geometría de impulsor es: Rushton seis paletas planas de flujo axial (R6PP90°); Rushton seis paletas planas de flujo ascendente con inclinación de 45° (R6PPFA45°); Rushton seis paletas planas de flujo descendente con inclinación de 45° (R6PPFD45°). Para los tres impulsores, el N_p correspondiente a cada carga de suelo en % w/v es: — medio; —◇— 10%; —△— 20% y —□— 30%.

A partir de la **Figura 5.20**, y para cada impulsor, puede observarse que bajo las mismas condiciones, el número de potencia se incrementa, reflejándose esto en mayores consumos de potencia. También se observa, que cerca del límite de la velocidad del impulsor utilizado (650 rpm), el N_p parece entrar a un régimen en el que es independiente de la velocidad del impulsor. Además, cerca de esta velocidad, y en el caso particular del impulsor R6PP90°, el N_p no sólo aparenta ser independiente de N sino también de la carga de suelo. De manera similar a como la carga de suelo produjo incrementos en el consumo de potencia, esta misma, condujo a incrementos en el valor de la velocidad crítica de suspensión de sólidos (N_s) para cada uno de los impulsores.

En lo que respecta al análisis entre impulsores, en todas las cargas probadas, el N_p así como las N_s del impulsor R6PP90° fueron siempre mayores a la de los dos impulsores de paletas inclinadas, con lo cual se demuestra que el consumo de potencia siempre fue mayor en este tipo de impulsor. Aunque, los dos impulsores de paletas inclinadas, tuvieron prácticamente el mismo consumo de potencia en todas las cargas de suelo (el N_p fue ligeramente mayor para el impulsor de flujo ascendente), las N_s difirieron hasta en 20 rpm. De esta manera, para todas las cargas de suelo, se tiene el siguiente orden descendente en las velocidades críticas de suspensión de sólidos $N_{sR6PP90^\circ} > N_{sR6PPFA45^\circ} > N_{sR6PPFD45^\circ}$. Por lo tanto, y utilizando como criterios de selección primaria, al N_p y N_s , el impulsor que demostró proporcionar las mejores condiciones de suspensión de sólidos, por presentar la menor velocidad crítica de suspensión de sólidos, así como el menor consumo de potencia sin aireación fue el impulsor R6PPFD45°.

5.3.3 Consumo de potencia con aireación en el BLD

En la **Figura 5.21**, se muestra el cociente entre las potencias consumidas con y sin aireación (P_g/P) en función del número de aireación (N_a), para las tres geometrías de impulsores y cargas del suelo *artificial* probadas. En todos los casos, el número de aireación fue estimado mediante:

$$N_a = \frac{Q}{ND_{im}^3} \text{ ----(5.3.2)}$$

En la ecuación (5.3.2), Q es el gasto volumétrico de la fase gaseosa (aire en $m^3 s^{-1}$), N la velocidad del impulsor (Hertz) y D_{im} el diámetro del impulsor (m).

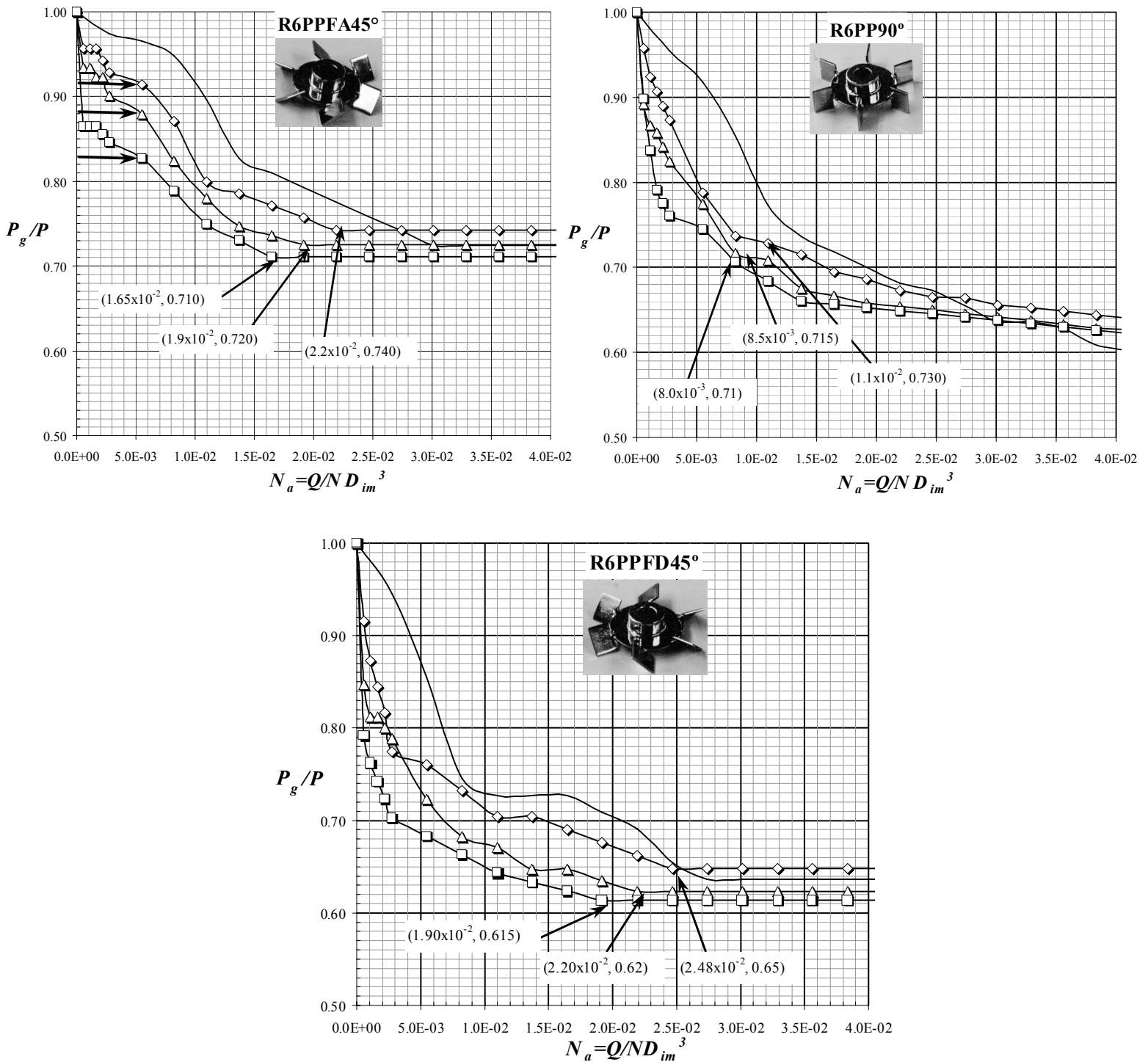


Figura 5.21 P_g/P contra el número de aireación (N_a) para diferentes tipos de impulsores y cargas de suelo durante el consumo de potencia con aireación en el BLD. Para los tres impulsores, el P_g/P correspondiente a cada carga de suelo en % w/v es: — medio mineral; —◇— 10%; —△— 20% y —□— 30%.

Debe aclararse, que en la determinación experimental de la P_g como función del N_a , los valores de la agitación, fueron mayor o igual a los de la N_s (velocidad crítica sin aireación) de cada uno de los impulsores y cargas de sólidos probados ($N \geq N_s$). También se recuerda que en la determinación experimental de P_g se utilizaron gastos de aire que fueron desde 0.2 a 25 L min⁻¹ por cada tipo de impulsor y carga de sólidos evaluada. De manera similar que en el consumo de potencia sin aireación, se empleó el criterio de los dos segundos (Zwietering, 1958) para determinar de manera visual la suspensión total del suelo en condiciones de aireación.

Tabla 5.16 Intervalos del N_a y valores correspondientes de P_g/P en el límite superior del intervalo en que se mantuvo la suspensión total de sólidos en condiciones de aireación en el BLD, para los tres impulsores y cargas de suelo probados

<i>Sólidos(%w/v)</i>	R6PPFA45°		R6PP90°		R6PPFD45°	
	$N_a \times 10^{-2} \leq$	$(P_g/P)_{\text{limite}}$	$N_a \times 10^{-2} \leq$	$(P_g/P)_{\text{limite}}$	$N_a \times 10^{-2} \leq$	$(P_g/P)_{\text{limite}}$
10	2.200	0.740	1.100	0.730	2.480	0.650
20	1.900	0.720	0.850	0.715	2.200	0.620
30	1.650	0.710	0.550	0.710	1.900	0.615

Para cada impulsor y carga de sólidos, en la **Tabla 5.16**, se muestran los intervalos del N_a y los valores correspondientes de P_g/P en el límite superior del intervalo en que fue posible visualizar experimentalmente la suspensión total de sólidos. Estos valores, también se muestran como los puntos ($N_a, P_g/P$) en la **Figura 5.21**. A partir de las gráficas y valores tabulados, puede observarse que el incremento en la carga de sólidos, conduce tanto a la disminución en el intervalo del N_a en que se mantiene la suspensión total de sólidos, como a la disminución en el valor del cociente P_g/P . La disminución en el intervalo del número de aireación con la carga de sólidos, indica que la velocidad del impulsor debe incrementarse para transferir la fuerza inercial o momentum que permita mantener la suspensión total de la fase sólida (con el D_{im} y Q constantes). En lo referente a la disminución del cociente P_g/P , primero debe señalarse que bajo cualquier condición y para los tres impulsores, siempre se observó que el consumo de potencia con aireación (P_g) fue mayor a medida que la carga de sólidos se incrementó, es decir : $P_g^{30\%} > P_g^{20\%} > P_g^{10\%} > P_g^{\text{medio}}$. De esta manera, la disminución del cociente P_g/P , indica que la diferencia entre los consumos de potencia con y sin aireación ($P - P_g$) aumentó proporcionalmente con la fracción de sólidos. Este comportamiento, probablemente fue debido a un efecto combinado entre la disminución del volumen específico de la fase acuosa con

respecto al volumen total del lodo, junto con la energía cinética proporcionada al sistema por la velocidad superficial de la fase gaseosa.

Los resultados referentes al dominio del N_a , en que la capacidad de suspensión total de sólidos bajo condiciones de aireación es mantenida por un impulsor en un tanque de lodos, concuerdan con los reportados por Rewatkar et al. (1991). Para un grupo de impulsores y distribuidores de aire, ambos con diversas geometrías, una fase sólida consistente en partículas de cuarzo ($100 \mu\text{m} \leq dp \leq 2000 \mu\text{m}$), aire como fase gaseosa y agua como fase líquida, estos investigadores determinaron que el número de aireación debe ser menor a $N_a < 5 \times 10^{-2}$, para que la condición de suspensión total de sólidos sea mantenida.

En base a lo anterior, el impulsor que menor consumo de energía requiera para la suspensión total de sólidos en condiciones de aireación, será el que posea los mayores intervalos del N_a en que se mantenga la suspensión total, junto con los valores más bajos de P_g/P . Tomando como base los análisis realizados en los estudios del consumo de potencia con y sin aireación, junto con los de suspensión de sólidos, el impulsor de turbina Rushton de seis paletas planas de flujo descendente con inclinación de 45° (R6PPFD45°), fue el que presentó el mejor desempeño, siendo por lo tanto el impulsor seleccionado para su uso en el BLD durante las cinéticas de degradación de los HTPs presentes en el suelo *artificial*.

5.3.4 Transferencia de oxígeno en el BLD

Una vez determinado bajo condiciones con y sin aireación, el impulsor que mantuvo una suspensión efectiva de sólidos con los consumos de potencia más bajos y los intervalos de velocidad más amplios, y como el proceso de biodegradación de HTPs en el BLD debe llevarse de manera aerobia, el siguiente paso fue establecer con el impulsor seleccionado, las condiciones que evitarán limitaciones severas en el transporte de oxígeno de la fase gaseosa hacia la fase acuosa del lodo. La velocidad del impulsor y el gasto de aire, fueron las variables de control seleccionadas para este propósito, puesto que son las que tienen un mayor efecto sobre la transferencia convectiva de oxígeno. En base a lo anterior, se estimaron los coeficientes volumétricos de transferencia de oxígeno en el BLD, tanto para el medio mineral como para una carga de suelo artificial del 10%. Para establecer los intervalos de trabajo de la velocidad del impulsor y el gasto de aire, se utilizó al número de aireación como criterio. Así, se empleó una combinación de la velocidad del impulsor y

gasto de aire, de tal manera que el número de aireación fuese menor al límite superior del intervalo en que se mantiene la suspensión de sólidos con el impulsor R6PPFD45° ($N_a < 2.48 \times 10^{-2}$). Por lo tanto, se estableció un dominio experimental, en el que el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno, fuese dependiente tanto de la agitación como del gasto de aire ($k_{La} = f(N, Q)$). La relación funcional entre estas tres variables, quedó descrita por las ecuaciones (5.3.3) y (5.3.4), las cuales, representan ajustes de tipo polinomial de segundo grado obtenidos por regresión no lineal múltiple de los datos experimentales. La ecuación (5.3.3) muestra la dependencia del $k_{La}(\text{h}^{-1})$ con respecto a la $N(\text{r.p.m})$ y $Q(\text{Lmin}^{-1})$ correspondiente a la operación del BLD únicamente con medio mineral, mientras que la ecuación (5.3.4) muestra esta misma dependencia, pero para la operación con una carga de *suelo artificial* del 10% w/v. Los coeficientes de correlación respectivos a cada ecuación de ajuste fueron de 0.944 (medio mineral) y 0.827 (10% w/v). Por otra parte, en la **Figura 5.22**, se muestran las superficies de respuesta junto con sus curvas de contorno, generadas ambas a partir de las ecuaciones de ajuste.

$$k_{La}(\text{h}^{-1}) = -3016 + 76.49 \cdot Q + 13.87 \cdot N - 6.691 \cdot Q^2 - 0.0160 \cdot N^2 \text{ ----(5.3.3)}$$

$$k_{La}(\text{h}^{-1}) = 567.2 + 24.58 \cdot Q - 2.962 \cdot N - 1.968 \cdot Q^2 + 0.0042 \cdot N^2 \text{ ----(5.3.4)}$$

A partir de las **Figuras 5.22 a.I** y **a.II**, se observa que para el BLD operado con el medio mineral, el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno presenta un máximo en la región experimental ensayada, siendo este $k_{La\text{máximo}}(435 \text{ r.p.m}, 5.75 \text{ L min}^{-1}) = 208.45 \text{ h}^{-1}$. De las curvas de nivel, también se observa, que la región "óptima" que presenta las mejores condiciones en la transferencia de oxígeno, esta delimitada de forma aproximada por los intervalos $425 \leq N \leq 445$ y $5.25 \leq Q \leq 6.25$. No obstante, fuera de la región óptima y en el resto del dominio experimental ensayado, los valores de k_{La} son lo suficientemente altos para no representar limitaciones en la transferencia de oxígeno. Sin embargo, para valores de $N < 425$ r.p.m y $Q < 5.25$ L min⁻¹, los valores de k_{La} son menores, probablemente por que los espesores de capa límite acuosa y diámetros de burbuja son mayores fuera de la región óptima, debido esto, a un efecto combinado entre la velocidad del impulsor y la velocidad lineal del aire. Por otra parte, y también fuera de la región óptima, pero para valores de $N > 445$ r.p.m y $Q > 6.25$ L min⁻¹, la disminución en el valor del k_{La} , probablemente se deba a burbujas con un diámetro mucho mayor, producido esto por un fenómeno de coalescencia entre las burbujas del aire, provocado a su vez por las altas velocidades del impulsor.

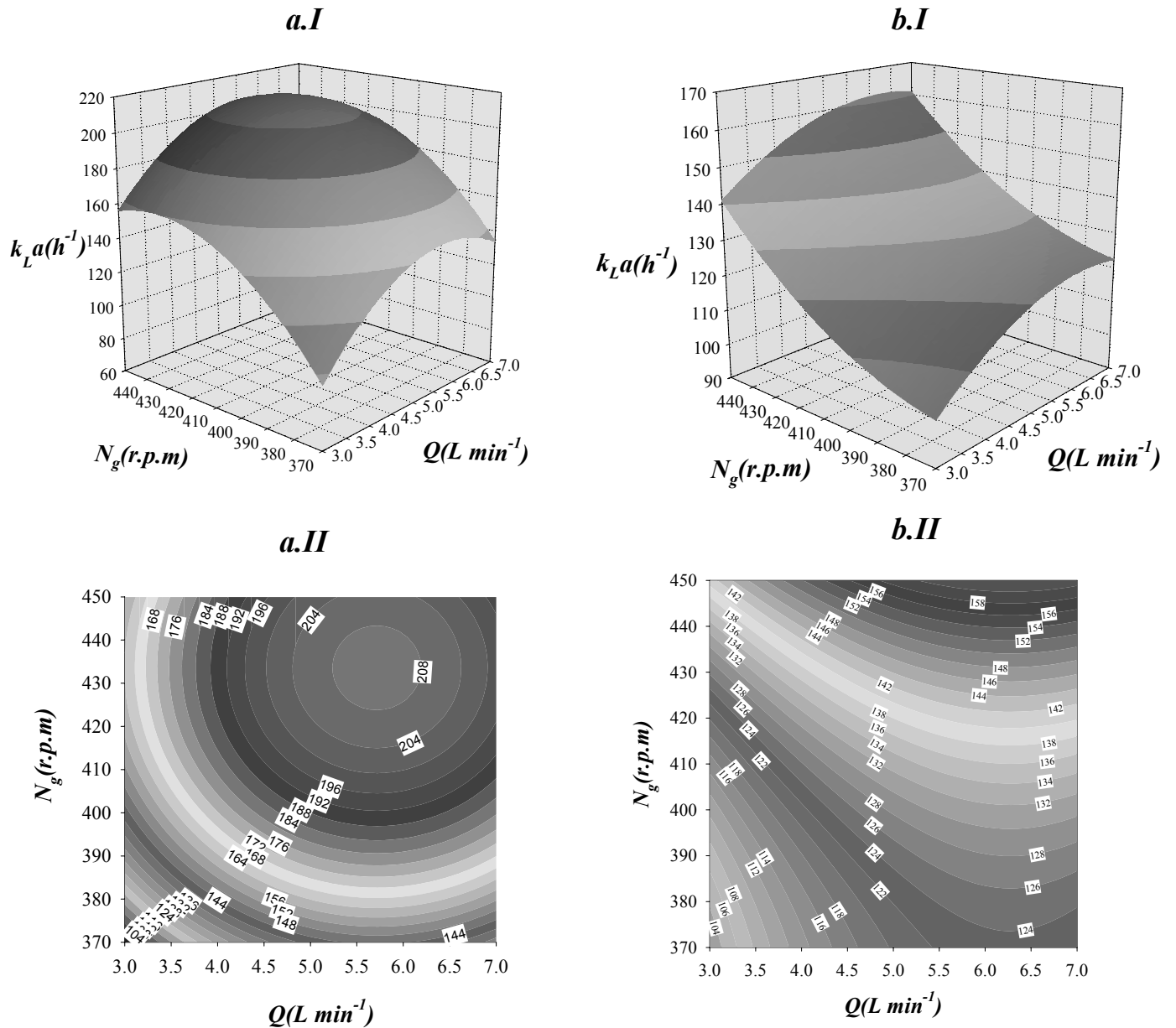


Figura 5.22 Superficies de respuesta y curvas de nivel para el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno en el BLD como función de la velocidad del impulsor y el gasto de aire. Las figuras **a.I** y **a.II**, corresponden al medio mineral (sin carga de suelo) y las figuras **b.I** y **b.II** a una carga de suelo artificial del 10% w/v.

En lo que respecta al BLD operado con una carga del 10% w/v, a partir de las **Figuras 5.22 b.I** y **b.II**, se observa que bajo las condiciones experimentales ensayadas, el $k_L a$ no presenta un máximo, de tal manera que los valores del $k_L a$ aumentan con incrementos tanto en la N como en el Q . No obstante, los valores del $k_L a$ en todo el dominio experimental probado ($>100 h^{-1}$), son lo suficientemente altos para considerar que en este caso tampoco hay limitaciones en la transferencia de oxígeno. Comparando los valores globales del $k_L a$ con los obtenidos en la operación sin carga de suelo, puede observarse que son significativamente menores. Este efecto debe ser atribuido a la presencia de la fase sólida. A diferencia de la operación sin carga de suelo, en que el momentum

transferido por el impulsor es usado tanto para mantener en movimiento al fluido como para dispersar la fase gaseosa, en el caso con carga de suelo, esta energía además debe usarse en mantener la suspensión total de la fase sólida. Así, al disponerse de menor energía para el movimiento del fluido, las capas límites acuosas son de un mayor espesor, ofreciendo con esto una mayor resistencia a la transferencia de oxígeno y conduciendo por lo tanto a una disminución del k_{La} .

Aunque no se realizó un análisis con cargas mayores del suelo artificial debido a la dificultad operativa para la determinación experimental del k_{La} , queda claro que la carga de suelo presenta un efecto negativo en la transferencia de oxígeno. Considerando la frontera de la región en que se alcanzó el $k_{La_{máximo}}$ sin carga de suelo, y suponiendo un comportamiento lineal en la disminución del k_{La} en esta misma región y para las demás cargas, por extrapolación puede estimarse que para cargas del 20 y 30% w/v, los valores respectivos de k_{La} serían alrededor de 108 y 58 h⁻¹ respectivamente. Aunque con la carga más alta de la fase sólida, los valores del k_{La} aparentan ser bajos, debe recordarse que el consorcio degradador de hidrocarburos utilizado en el BLD, proviene de un sistema operado con valores hasta cuatro veces menores del k_{La} , es decir con limitaciones bastante más severas en la transferencia de oxígeno. Por lo tanto, sin importar la carga de suelo, los intervalos de operación del BLD, con respecto a la velocidad del impulsor y la aireación utilizados en las cinéticas de biodegradación fueron $425 \leq N \leq 445$ y $5.25 \leq Q \leq 6.25$.

5.3.5 Cinéticas de biodegradación de HTPs en el BLD

Una vez caracterizado el suelo contaminado con hidrocarburos totales del petróleo (suelo *artificial*), determinadas las mejores condiciones abióticas de operación del BLD, así como el disponer de un consorcio con una respuesta estable en su capacidad de biodegradar mezclas complejas de hidrocarburos (MCP y HTPs-LA), el siguiente paso fue llevar a cabo las cinéticas de biodegradación en el BLD mediante la conjunción de todos estos elementos.

En las **Figuras 5.23a y b**, se muestran la cinética de biodegradación de los HTPs residuales en el suelo *artificial*, así como las tasas de biodegradación de HTPs por kg suelo artificial, ambas para el BLD sin tolueno. La remoción de HTPs alcanzada al final de los 30 días de operación del BLD fue de alrededor de 11,000 mgHTPs kg suelo⁻¹, y en donde la tasa más alta de remoción durante el tiempo de la cinética fue alrededor de 800 mgHTPs (kg suelo d)⁻¹. El análisis de las tasas de remoción, muestra una disminución de estas, hasta un valor de 9 mgHTPs (kg suelo d)⁻¹ al final de la

cinética. Esta disminución, probablemente no se deba a limitaciones en la capacidad de degradación de HTPs del consorcio, ya que se demostró su capacidad para degradar HTPs-LA a altas concentraciones (**sección 5.1.7**). Por otra parte, y considerando solamente el contenido del grupo de alifáticos iniciales presentes en los HTPs del suelo, al menos $47,400 \text{ mgHTPs kg suelo}^{-1}$ son una fuente de carbono de una relativa fácil biodegradación. Asumiendo que la degradación de los HTPs ocurre solo en el seno del fluido, y debido a que el suelo es la fuente de hidrocarburos, la disminución en las tasas de remoción probablemente se deba a una baja biodisponibilidad de los HTPs, la cual a su vez no permitió el sustento de las poblaciones microbianas del consorcio. Esta baja disponibilidad, probablemente sea debida a factores tales como un equilibrio de reparto de los HTPs desplazado preferentemente a la fase sólida (suelo) y no a la líquida (agua), limitaciones en la transferencia de masa de los HTPs debido a difusividad retardada por fenómenos de *re-adsorción* y *tortuosidad*, así como solubilidades muy bajas de los HTPs en la fase acuosa.

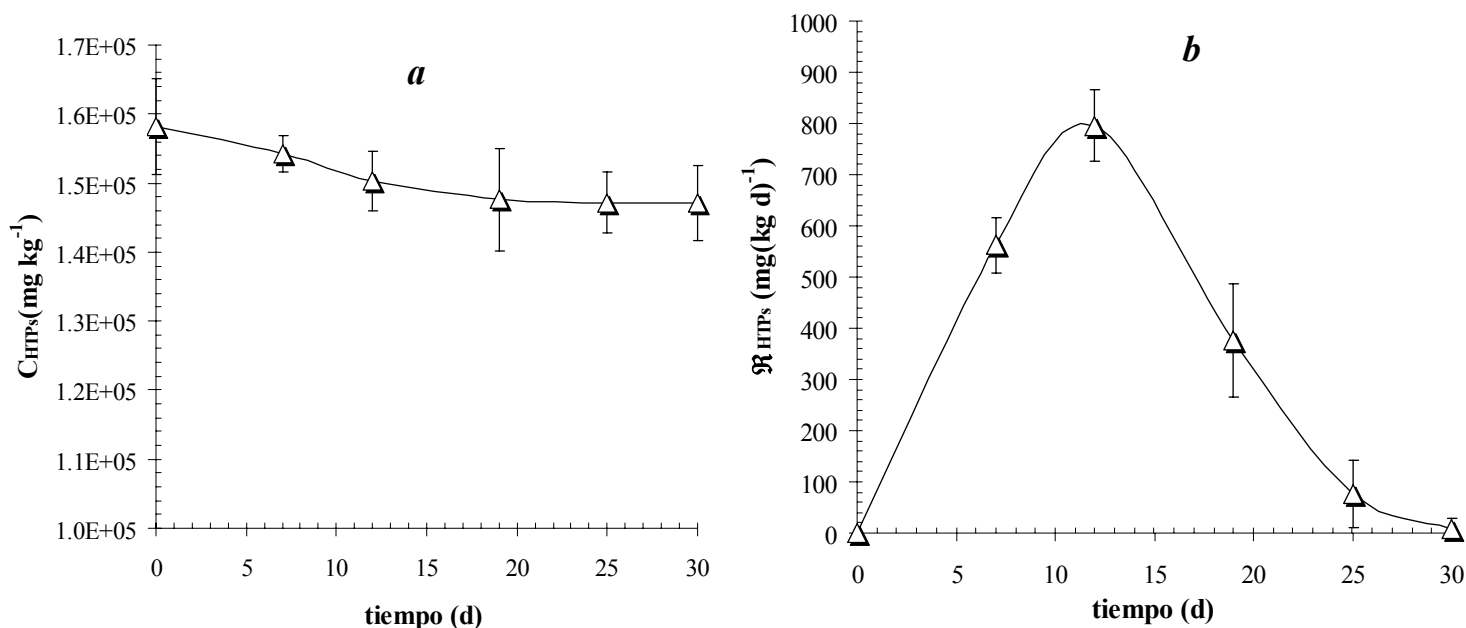


Figura 5.23 Biodegradación de HTPs en el BLD sin tolueno. *a*) Cinética biodegradación de HTPs residuales en el suelo artificial y *b*) tasas de biodegradación de HTPs por kg suelo artificial.

García-Rivero et al. (2002) demostraron que para un suelo intemperizado proveniente de la misma región que el suelo en estudio, pero con una contaminación inicial promedio de $292,000 \text{ mg HTPs kg suelo}^{-1}$, el uso de tolueno en concentraciones subinhibitorias para la actividad microbiana ($\leq 14,000 \text{ mg tolueno kg suelo}^{-1}$) conduce a mejoras significativas en la biodisponibilidad de los HTPs

y por lo tanto a una mejora en su biodegradación, alcanzando hasta un 45% de remoción de los HTPs presentes en el suelo en lotes de 30 días. En base a lo anterior, se realizaron dos modificaciones a la cinética de biodegradación en el BLD. La primera, fue el uso de tolueno previo a la cinética a una concentración de $14,000 \text{ mg kg suelo}^{-1}$. La segunda, fue el empleo del consorcio proveniente de los BTL (previamente adaptado a la degradación de la MCP en presencia de tolueno).

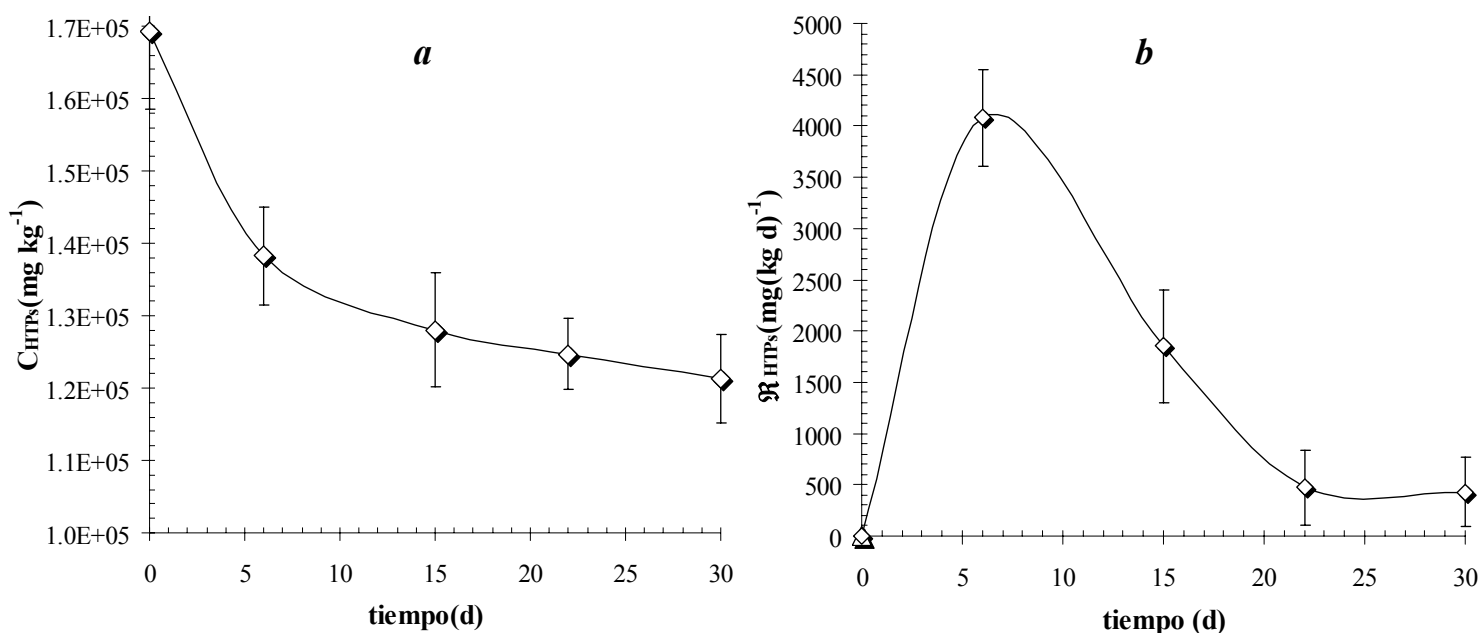


Figura 5.24 Biodegradación de HTPs en el BLD con una concentración inicial de tolueno de $14,000 \text{ mg Tolueno kg suelo}^{-1}$. *a)* Cinética biodegradación de HTPs residuales en el suelo artificial y *b)* tasas de biodegradación de HTPs por kg suelo artificial.

En las **Figuras 5.24a** y **b**, se muestran la cinética de biodegradación de los HTPs residuales en el suelo artificial, así como las tasas de biodegradación de HTPs por kg suelo artificial, ambas para el BLD con tolueno. La remoción de HTPs alcanzada al final de los 30 días de operación del BLD con tolueno fue de alrededor de $48,000 \text{ mgHTPs kg suelo}^{-1}$, y en donde la tasa más alta de remoción durante el tiempo de la cinética fue alrededor de $4,000 \text{ mgHTPs (kg suelo d)}^{-1}$. Aunque la magnitud en la remoción de los HTPs en el BLD con tolueno fue alrededor de dos y medio veces menor a la alcanzada por García-Rivero et al. (2002) ($131,400 \text{ mgHTPs kg suelo}^{-1}$), debe considerarse que la cinética realizada con tolueno en el BLD, fue a una escala cien veces mayor con respecto al peso de suelo utilizado. No obstante, los resultados obtenidos a partir de la utilización de tolueno en el BLD, muestran una mejora significativa en la remoción de HTPs del suelo artificial. El análisis de las tasas de remoción, también muestra que estas disminuyen alcanzando un valor al final de la cinética de 428

mgHTPs (kg suelo d)⁻¹, la cual, es mucho mayor a la tasa final en la cinética sin tolueno. En este caso, la disminución en la tasa de remoción muy probablemente se deba a limitaciones en la capacidad de degradación de HTPs del consorcio, y no a la falta de biodisponibilidad de los hidrocarburos.

En la **Figura 5.25**, se muestran las UFC mL⁻¹ en función del tiempo para ambas cinéticas de biodegradación. En ambos casos, se utilizó un tamaño del inóculo inicial de alrededor de 1X10⁷ UFC mL⁻¹. Para el caso de la cinética sin tolueno, se alcanza un máximo de 6.7 X10⁷ UFC mL⁻¹ alrededor del día 12, para posteriormente disminuir y alcanzar un valor final de 2.7X10⁷ UFC mL⁻¹. Este comportamiento en la cinética sin tolueno, puede ser explicado en base a la baja biodisponibilidad de los HTPs como fuente de carbono y energía, lo que condujo a su vez, a la muerte celular de las poblaciones del consorcio. Con respecto a la cinética con tolueno, y en comparación con la cinética sin tolueno, se observa de manera clara como las poblaciones se incrementan en una mayor velocidad y magnitud, alcanzando un máximo de 6.1 X 10⁸ UFC mL⁻¹ al final de la cinética (30 días). Este comportamiento en la cinética con tolueno, sugiere que el crecimiento microbiano no se encuentra limitado por la disponibilidad de los HTPs, por lo que la velocidad de remoción de los HTPs en el suelo, esta determinada por la capacidad de las poblaciones del consorcio para biodegradarlos.

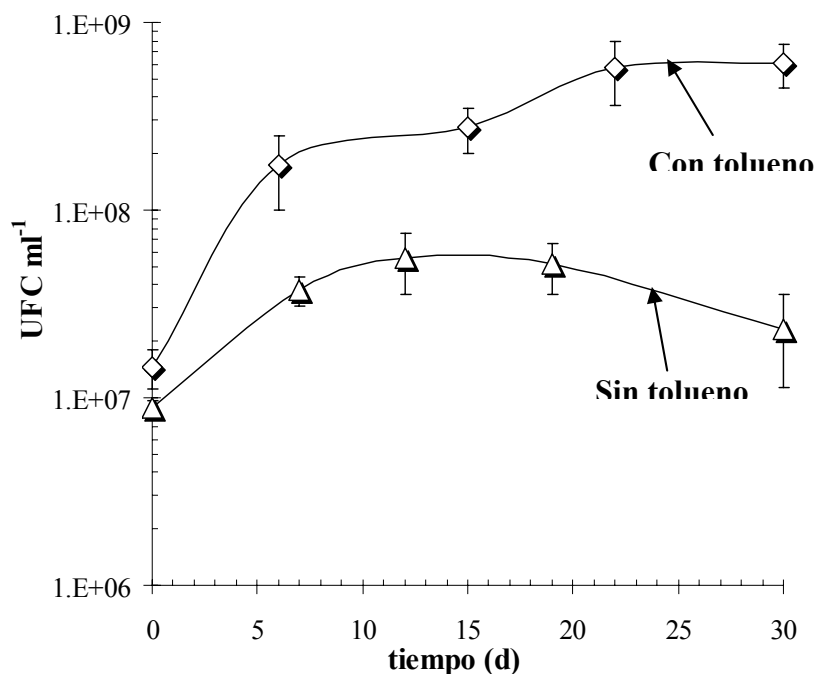


Figura 5.25 Evolución de las UFC mL⁻¹ con el tiempo para ambas cinéticas de biodegradación de HTPs en el BLD donde (Δ) corresponde a la cinética sin tolueno, y (◇) a una concentración inicial de 14,000 mg tolueno kg suelo⁻¹.

Diferentes estudios enfocados a la remoción de contaminantes orgánicos en suelos intemperizados mediante sistemas de lodos, argumenta que el control del proceso se debe a las tasas con que los contaminantes están biodisponibles (Rijnaarts et al., 1990; Jonge et al., 1997; García-Rivero et al., 2002); mientras que otros, atribuyen el control solamente a las tasas en que los contaminantes son biodegradados por los microorganismos (Huesemann et al., 2002). El presente trabajo, además de disponer de un sistema de contacto con las mejores condiciones permitidas de mezclado y transferencia convectiva, y con un consorcio con una capacidad de biodegradación alta y reproducible, también mostró que debido al alto grado de intemperización y contaminación del suelo, fue necesario el uso de un tratamiento consistente en la adición de un solvente orgánico (tolueno), cuyo objetivo fue el de mejorar la biodisponibilidad de los contaminantes, y así promover una mayor biodegradación de los HTPs que intemperizan el suelo en estudio.

5.4 MODELADO Y SIMULACIÓN DE LA BIODEGRADACIÓN DE HTPs EN UN BIORREACTOR DE LODOS (BLD)

En esta sección, se desarrolla un modelo fenomenológico de difusión-sorción-biodegradación (DSB), que permite predecir y describir el proceso de biodegradación aerobia de HTPs en un suelo intemperizado mediante un BLD. Las simulaciones y predicciones del modelo se comparan y validan con los datos experimentales obtenidos a partir de las cinéticas de biodegradación en el BLD de 5 L.

5.4.1 Desarrollo del modelo fenomenológico de biodegradación de HTPs en el BLD

Para el desarrollo del modelo, se consideró que el lodo es un sistema integrado por tres fases: *a)* Una fase sólida (FS) correspondiente al suelo contaminado con HTPs, *b)* una fase líquida o acuosa (FLA) en la que se encuentra suspendido el consorcio integrado por una población microbiana con la capacidad de biodegradar HTPs, y *c)* una fase gaseosa (FG) correspondiente al aire, en la que el oxígeno (O₂) se transfiere a la fase líquida en donde es utilizado por la población de microorganismos para la biodegradación aerobia de los HTPs solubles.

La operación del BLD se considera isotérmica, a volumen constante e intermitente. Las condiciones de mezclado se consideraron ideales, es decir, los sólidos se encuentran totalmente suspendidos por lo que los gradientes en la densidad del lodo son despreciables, tampoco hay

gradientes de concentración. Se consideró también que las limitaciones por transferencia convectiva de oxígeno son despreciables.

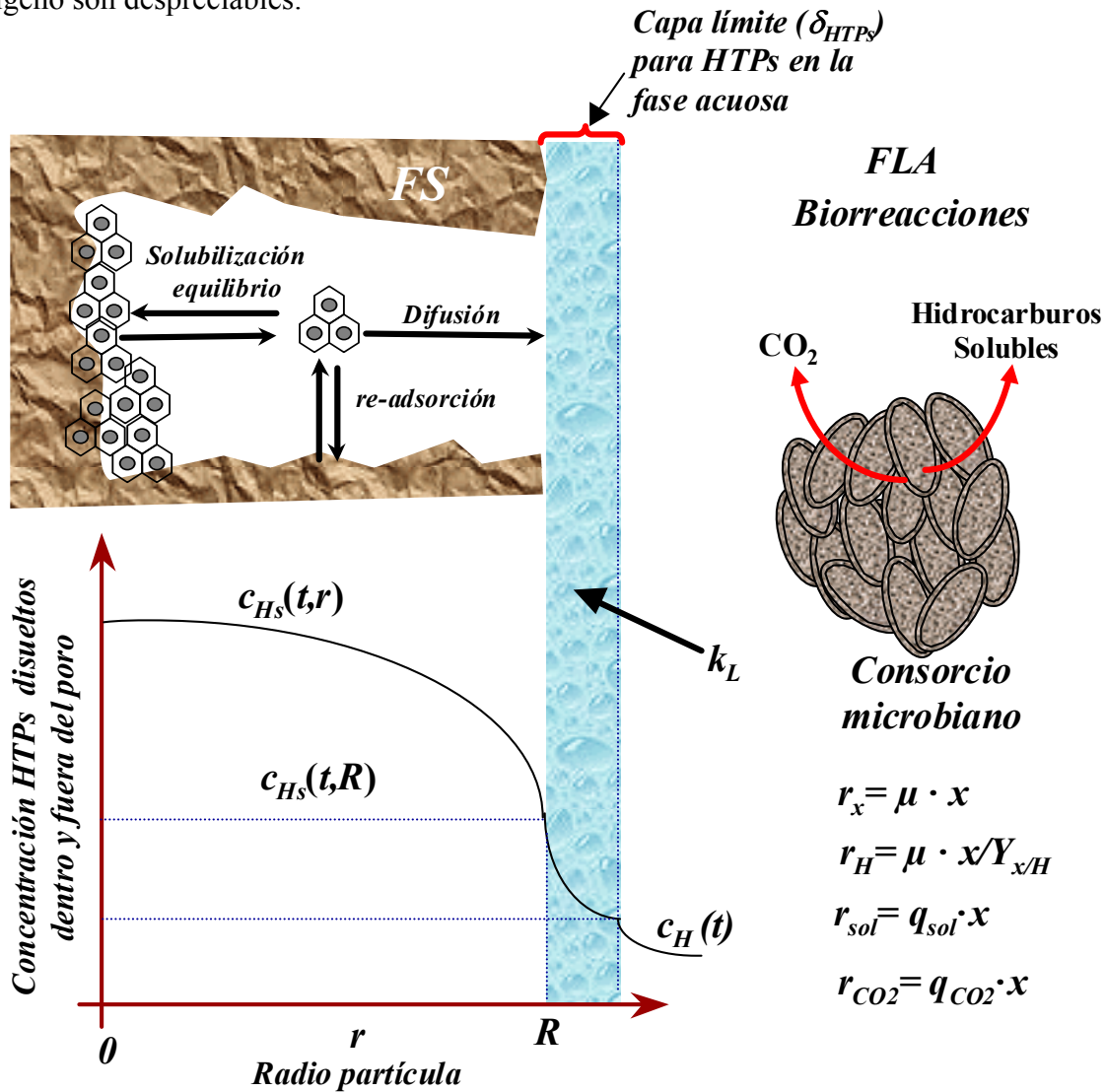


Figura 5.26 Conceptualización del sistema para el desarrollo del modelo de biodegradación aerobia de HTPs en un lodo mediante un BLD.

En la **Figura 5.26**, se esquematiza de manera conceptual el proceso de biodegradación aerobia de HTPs en el suelo intemperizado al interior del BLD. Finalmente, un conjunto de suposiciones más puntuales para el desarrollo del modelo fueron las siguientes:

(i) Los HTPs, al inicio del proceso, sólo se ubican al interior de los poros de las partículas de suelo. Además, se establece un primer equilibrio cuasi instantáneo entre los HTPs disueltos en la fase acuosa al interior de los poros (c_{H_s} en $mgHTPs \cdot L^{-1}$) con los HTPs adsorbidos (q en $mgHTPs \cdot kg^{-1}$) en

el suelo. Este equilibrio de reparto de los HTPs entre ambas fases (sólido-líquido), queda denotado por un equilibrio lineal de des-adsorción, en donde el cociente de distribución K_d viene dado por (Schwarzenbach et al, 1993):

$$K_d = \frac{q}{c_{H_s}} [=] \frac{L_{agua}}{kg_{suelo}} \text{ ----(5.4.1)}$$

(ii) Los HTPs solubles que difunden en los poros de la partícula de suelo, pueden ser nuevamente re-adsorbidos con la fase sólida de la partícula. Esta *re-adsorción* quedará descrita por una isoterma de *Langmuir*.

(iii) Tanto las diferentes especies químicas presentes en los HTPs, como las poblaciones del consorcio, se pueden tratar como "*agrupados*", es decir, se les puede considerar como un solo compuesto y un solo microorganismo.

(iv) Al interior de los agregados porosos, los HTPs solubles difunden de acuerdo a la primera ley de Fick y no a una difusión de tipo Knudsen. Esto se basa en dos aspectos, primero en la baja solubilidad de los HTPs en agua, ya que estos se encuentran muy diluidos en la fase líquida dentro del poro, y segundo en considerar que el tamaño promedio en el diámetro de poro es mucho mayor al tamaño molecular promedio de las moléculas de HTPs solubles. Además, como consecuencia del "*agrupamiento*", se utilizará una difusividad molecular de los HTPs en agua (D_{HTPs-H_2O}) constante e independiente de la composición y por lo tanto del tiempo. Sin embargo, debido a la tortuosidad inherente a las partículas de suelo, se considera un factor de tortuosidad ($f < 1$) en donde el producto por la porosidad de las partículas ($\xi < 1$) y la difusividad molecular genera un coeficiente de difusión efectiva (D_{eff} . [=] m²/hr) que se define como:

$$D_{eff} = f \cdot \xi \cdot D_{HTPs-H_2O} \text{ ----(5.4.2)}$$

(v) Se presenta acumulación de biomasa al interior del BLD, es decir, la biomasa no es independiente del tiempo. Además, por el "*agrupamiento*" de las poblaciones del consorcio, se considera una sola tasa máxima global de crecimiento (μ_{max}).

(vi) El tamaño promedio de las bacterias es mayor al tamaño de poros de la partícula de suelo, por lo que las bacterias sólo se ubican en la fase líquida fuera de la partícula. Además, debido a la baja solubilidad de los HTPs, estos se consideran como el sustrato limitante del crecimiento.

(vii) Como consecuencia del metabolismo de las poblaciones del consorcio durante la degradación de HTPs, se forman dos productos. Estos son el dióxido de carbono (CO₂, resultado de la oxidación total de HTPs) y los compuestos solubles (resultado de la oxidación parcial de los HTPs).

(viii) Durante el proceso de biodegradación, no se presenta ningún tipo de inhibición asociada a la fuente de carbono (HTPs), ni por parte de los productos generados por el metabolismo de las poblaciones microbianas.

El desarrollo del modelo se fundamenta en las suposiciones descritas, y en los balances de masa de los diferentes componentes (HTPs, biomasa, CO₂ y solubles) en cada una de las fases correspondientes.

5.4.1.1 Balance de HTPs al interior de la partícula de suelo

La masa total de HTPs una vez alcanzado el primer equilibrio (cuasi instantáneo) entre los HTPs adsorbidos y los disueltos en los poros al interior de las partículas de suelo, puede escribirse como:

$$m_{HTPs}^{totales} = m_{HTPs}^{adsorbidos} + m_{HTPs}^{disueltos} \text{ ----(5.4.3)}$$

Tomando en cuenta la densidad de las partículas de suelo (ρ_s en kg suelo·L⁻¹), que el volumen total de las partículas agregadas del suelo (V_T en m³) a su vez está formado por el volumen de la fase sólida de las partículas agregadas (V_S en m³) y el volumen intrapartícula de los poros (V_P en m³), es decir $V_T = V_S + V_P$, entonces, la masa de HTPs adsorbidos y disueltos puede escribirse como:

$$V_T \cdot c_{HTPs}^{total} = V_S \cdot \rho_s \cdot q + V_P \cdot c_{H_s} \text{ ----(5.4.4)}$$

En esta última ecuación, c_{HTPs}^{total} representa la concentración total de HTPs a nivel intrapartícula (referida a volumen de suelo, mgHTPs·L⁻¹), q es la concentración de HTPs en el suelo

(mgHTPs·kg suelo⁻¹), y c_{Hs} la concentración en la fase acuosa de los poros al interior de las partículas de suelo (mgHTPs·L⁻¹). Dividiendo (5.4.4) entre el V_T y definiendo la porosidad intrapartícula como $\xi = V_p/V_T$:

$$c_{HTPs}^{total} = \rho_s (1 - \xi) \cdot q + \xi \cdot c_{Hs} \text{ ---- (5.4.5)}$$

Substituyendo para q la expresión del equilibrio lineal de reparto dada por (5.4.1) en (5.4.5), la concentración total de HTPs, puede ser definida solamente en función de la concentración de los HTPs en la fase acuosa del poro. Además, al operar el BLD de manera intermitente, habrá acumulación, es decir que la c_{Hs} evoluciona con el tiempo, por lo que (5.4.5) se puede escribir como:

$$c_{HTPs}^{total}(t) = [\rho_s (1 - \xi) \cdot K_d + \xi] c_{Hs}(t) \text{ ---- (5.4.6)}$$

Para (5.4.6), se considera que el coeficiente de reparto K_d es independiente del tiempo y la posición. Por otra parte, la concentración de HTPs en la fase acuosa dentro de los poros a lo largo de toda la partícula de suelo, y para cualquier tiempo, esta dada por:

$$c_{Hs}(t) = \frac{\int_{V_{particula}} c_{Hs}(t, r) d(\xi \cdot V_{particula})}{\xi \cdot V_{particula}} \text{ ---- (5.4.7)}$$

Considerando la porosidad intrapartícula constante, que todas las partículas de suelo son esféricas y del mismo diámetro, y como:

$$V_{particula} = \frac{4}{3} \pi R^3 \quad ; \quad V_{particula}(r) = \frac{4}{3} \pi r^3 \quad \Rightarrow \quad dV_{particula} = 4\pi r^2 dr$$

Así, (5.4.7) puede escribirse:

$$c_{Hs}(t) = \frac{3}{R^3} \int_0^R r^2 c_{Hs}(t, r) dr \text{ ---- (5.4.8)}$$

Por otra parte, la concentración de HTPs adsorbidos en el suelo para $t > 0$ puede escribirse:

$$q(t) = \frac{c_{HTPs}^{total}(t)}{\rho_s(1-\xi)} \text{----(5.4.9)}$$

Substituyendo (5.4.6) en (5.4.9), se obtiene el balance de masa de HTPs adsorbidos en el suelo a cualquier tiempo $t > 0$ y en función de la concentración de HTPs disueltos en los poros:

$$q(t) = \left[K_d + \frac{\xi}{\rho_s(1-\xi)} \right] c_{Hs}(t) \text{---- (5.4.10)}$$

Hasta este punto, se tienen los balances de masa que permiten determinar cómo evolucionan con el tiempo las concentraciones de los HTPs al interior de la partículas de suelo. Sin embargo, todos estos balances, dependen de la $c_{Hs}(t,r)$. Para poder determinar $c_{Hs}(t,r)$, es necesario hacer un balance sobre los HTPs disueltos en la fase acuosa del poro.

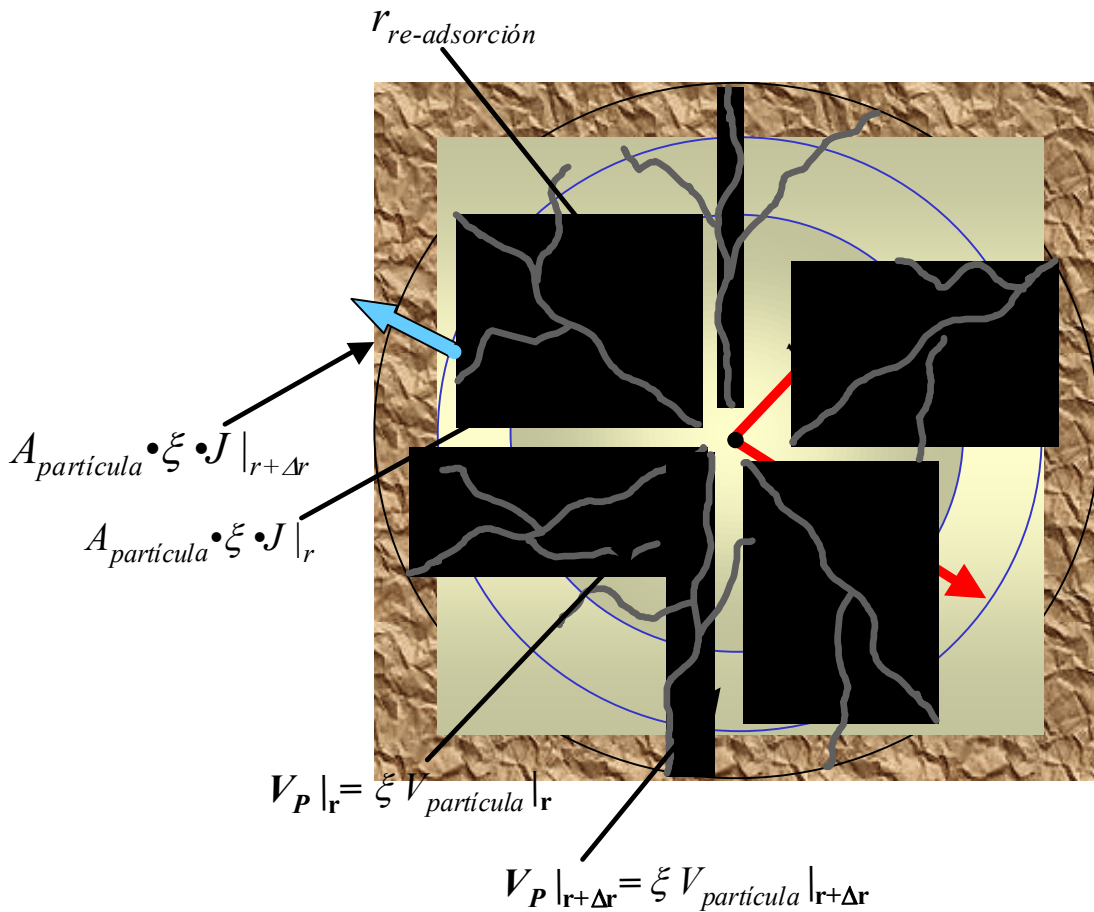


Figura 5.27 Balance diferencial de HTPs solubles al interior de una partícula de suelo (poros) con geometría esférica.

De acuerdo a la **Figura 5.27**, y tomando como base el elemento volumen para una partícula de suelo con geometría esférica, y como $\Delta V_{particula} = \Delta V_P + \Delta V_S$ (donde V_P es el volumen de poros y V_S el volumen de la fase sólida). Definiendo a la porosidad como $\xi = \Delta V_P / \Delta V_{particula}$, el balance diferencial sobre los HTPs disueltos en los poros esta dado por:

$$\xi \cdot \Delta V_{particula} \frac{\partial c_{Hs}(t, r)}{\partial t} = -\left(A_{particula} \cdot \xi \cdot J|_{r+\Delta r} - A_{particula} \cdot \xi \cdot J|_r\right) + \Delta V_S \cdot r_{re-adsorción} \quad (5.4.11)$$

La ecuación (5.4.11), establece la acumulación de los HTPs disueltos en el poro de la partícula de suelo, así como su difusión en la dirección radial, y además que estos nuevamente son re-adsorbidos. Notando que el elemento de volumen para la partícula de suelo viene dada por $\Delta V_{particula} = 4\pi r^2 \Delta r$, mientras que el área por $A_{particula} = 4\pi r^2$. Así, al substituir el área y dividir (5.4.10) entre el elemento de volumen se obtiene lo siguiente:

$$\xi \cdot \frac{\partial c_{Hs}(t, r)}{\partial t} = -\frac{\left(A_{particula} \cdot \xi \cdot J|_{r+\Delta r} - A_{particula} \cdot \xi \cdot J|_r\right)}{\Delta V_{particula}} + \frac{\Delta V_S}{\Delta V_{particula}} \cdot r_{re-adsorción} \quad (5.4.12)$$

$$\xi \cdot \frac{\partial c_{Hs}(t, r)}{\partial t} = -\frac{\left(4\pi r^2 \cdot \xi \cdot J|_{r+\Delta r} - 4\pi r^2 \cdot \xi \cdot J|_r\right)}{4\pi r^2 \cdot \Delta r} + (1 - \xi) \cdot r_{re-adsorción} \quad (5.4.13)$$

$$\xi \cdot \frac{\partial c_{Hs}(t, r)}{\partial t} = -\frac{\left(r^2 \cdot \xi \cdot J|_{r+\Delta r} - r^2 \cdot \xi \cdot J|_r\right)}{r^2 \cdot \Delta r} + (1 - \xi) \cdot r_{re-adsorción} \quad (5.4.14)$$

Tomando el límite cuando $\Delta r \rightarrow 0$

$$\xi \cdot \frac{\partial c_{Hs}(t, r)}{\partial t} = -\frac{1}{r^2} \lim_{\Delta r \rightarrow 0} \frac{\left(r^2 \cdot \xi \cdot J|_{r+\Delta r} - r^2 \cdot \xi \cdot J|_r\right)}{\Delta r} + (1 - \xi) \cdot r_{re-adsorción} \quad (5.4.15)$$

Por lo que la ecuación de balance es:

$$\xi \cdot \frac{\partial c_{Hs}(t, r)}{\partial t} = -\frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \cdot \xi \cdot J\right) + (1 - \xi) \cdot r_{re-adsorción} \quad (5.4.16)$$

Para el flux difusivo J , de acuerdo a la primera ley de Fick:

$$J = -f \cdot D_{HTPs-H_2O} \frac{\partial c_{H_s}(t, r)}{\partial r} \text{ ---- (5.4.17)}$$

Donde f es la tortuosidad debido a la canalización de los poros dentro de la partícula de suelo. Substituyendo (5.4.17) en (5.4.16):

$$\xi \cdot \frac{\partial c_{H_s}(t, r)}{\partial t} = -\frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(-r^2 \cdot \xi \cdot f \cdot D_{HTPs-H_2O} \frac{\partial c_{H_s}(t, r)}{\partial r} \right) + (1 - \xi) \cdot r_{re-adsorción} \text{ ----(5.4.18)}$$

La difusividad molecular de los HTPs en agua, la tortuosidad y la porosidad se consideran constantes. Estas cantidades están relacionadas mediante la difusividad efectiva dada en la ecuación (5.4.2). Substituyendo la difusividad efectiva (D_{eff}) en la ecuación (5.4.18):

$$\xi \cdot \frac{\partial c_{H_s}(t, r)}{\partial t} = \frac{D_{eff}}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{\partial c_{H_s}(t, r)}{\partial r} \right) + (1 - \xi) \cdot r_{re-adsorción} \text{ ----(5.4.19)}$$

Desarrollando el primer miembro de la derecha de (5.4.19) se obtiene:

$$\begin{aligned} \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{\partial c_{H_s}}{\partial r} \right) &= \frac{1}{r^2} \left(r^2 \frac{\partial}{\partial r} \left(\frac{\partial c_{H_s}}{\partial r} \right) + \frac{\partial c_{H_s}}{\partial r} \frac{\partial r^2}{\partial r} \right) \\ &= \frac{1}{r^2} \left(r^2 \frac{\partial^2 c_{H_s}}{\partial r^2} + 2r \frac{\partial c_{H_s}}{\partial r} \right) \text{ ----(5.4.20)} \\ &= \left(\frac{\partial^2 c_{H_s}}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial c_{H_s}}{\partial r} \right) \end{aligned}$$

Substituyendo (5.4.20) en (5.4.19):

$$\xi \cdot \frac{\partial c_{H_s}(t, r)}{\partial t} = D_{eff} \left(\frac{\partial^2 c_{H_s}(t, r)}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial c_{H_s}(t, r)}{\partial r} \right) + (1 - \xi) \cdot r_{re-adsorción} \text{ ----(5.4.21)}$$

Referente a la tasa volumétrica de *re-adsorción* ($r_{re-adsorción}$) en mg HTPs (L·h)⁻¹, esta viene dada en términos de la tasa de cambio de los HTPs adsorbidos, tal que $r_{re-adsorción} = -\rho_s \cdot \partial q / \partial t$. Así, (5.4.21) puede escribirse:

$$\xi \cdot \frac{\partial c_{H_s}(t, r)}{\partial t} = D_{eff} \left(\frac{\partial^2 c_{H_s}(t, r)}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial c_{H_s}(t, r)}{\partial r} \right) - \rho_s \cdot (1 - \xi) \cdot \frac{\partial q(t, r)}{\partial t} \text{ ----(5.4.22)}$$

El asumir que esta *re-adsorción*, sigue una isoterma de Langmuir, conduce a suponer a su vez un fenómeno de histéresis, puesto que la trayectoria de *des-adsorción* (primer equilibrio lineal y cuasi instantáneo en la solubilización de los HTPs) presenta una trayectoria diferente a la de *re-adsorción*. Esta suposición, difiere radicalmente con los demás modelos existentes, puesto que en éstos, se presupone que ambas isotermas (equilibrios) son lineales sin histéresis (Chung et al., 1993; Ramaswami y Luthy, 1997; Fu et al., 1996; Geerdink et al., 1996) ó que la isoterma de *re-adsorción* es de tipo Freundlich (Mulder et al., 2001). El utilizar una isoterma de tipo Langmuir, conlleva a:

$$\frac{\partial q}{\partial c_{H_s}} = \frac{\partial}{\partial c_{H_s}} \left(\frac{q_{max} \cdot c_{H_s}}{K_{af} + c_{H_s}} \right) = \frac{q_{max} \cdot K_{af}}{(K_{af} + c_{H_s})^2} \text{ entonces } \partial q = \frac{q_{max} \cdot K_{af}}{(K_{af} + c_{H_s})^2} \cdot \partial c_{H_s} \text{ ----(5.4.23)}$$

Substituyendo (5.4.23) en (5.4.22) y haciendo un poco de álgebra se obtiene:

$$\left[\xi + \frac{\rho_s \cdot (1 - \xi) \cdot q_{max} \cdot K_{af}}{(K_{af} + c_{H_s})^2} \right] \frac{\partial c_{H_s}(t, r)}{\partial t} = D_{eff} \left(\frac{\partial^2 c_{H_s}(t, r)}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial c_{H_s}(t, r)}{\partial r} \right) \text{ ----(5.4.24)}$$

Por lo tanto, el balance de HTPs como función del tiempo y el radio, al interior de la partícula de suelo vendrá dado por:

$$\frac{\partial c_{H_s}(t, r)}{\partial t} = \frac{D_{eff} \cdot (K_{af} + c_{H_s})^2}{\xi (K_{af} + c_{H_s})^2 + \rho_s \cdot (1 - \xi) \cdot q_{max} \cdot K_{af}} \left(\frac{\partial^2 c_{H_s}(t, r)}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial c_{H_s}(t, r)}{\partial r} \right) \text{ ----(5.4.25)}$$

Para resolver esta EDP parabólica, son necesarias una condición inicial y dos condiciones en la frontera. En lo que respecta a la condición inicial, el asumir un primer equilibrio lineal cuasi instantáneo, y debido a la baja solubilidad de los HTPs en agua, estos dos factores conducen a que desde un inicio, la fase acuosa al interior del poro se encuentre saturada con los hidrocarburos, por lo que:

$$\text{C.I: } t = 0; \quad 0 \leq r \leq R; \quad c_{H_s}(0, r) = c_H^* \text{ ----(5.4.26)}$$

En donde c_H^* es la saturación de HTPs en la FLA. Para la primer condición en la frontera, en el centro de la partícula de suelo ($r=0$) por cuestiones de simetría ($c_{Hs}(t,0)$ debe ser constante), se tiene que:

$$\text{C.F.I: } \left. \frac{\partial c_{Hs}}{\partial r} \right|_{r=0} = 0 \text{ ----(5.4.27)}$$

Mientras que para la segunda condición frontera, la cual se presenta en la interfase entre la superficie sólida de la partícula de suelo y la FLA al exterior de la partícula ($r=R$), los flux por difusión y convección deben ser iguales, es decir:

$$\text{C.F.II: } -D_{eff} \left. \frac{\partial c_{Hs}}{\partial r} \right|_{r=R} = k_L [c_{Hs}(t, R) - c_H(t)] \text{ ----(5.4.28)}$$

Esta última condición en la frontera, al conectar los flujos difusivo y convectivo en la interfase, a su vez conduce a un balance de los HTPs en en el seno de la FLA.

5.4.1.2 Balance de HTPs en el seno de la fase líquida acuosa

El balance de HTPs en el seno de la FLA (exterior de la partícula de suelo) puede escribirse como:

$$V_{FLA} \frac{dc_H(t)}{dt} = k_L \cdot n_{TP} \cdot a_p [c_{Hs}(t, R) - c_H(t)] - \frac{\mu \cdot x}{Y_{x/H}} \cdot V_{FLA} \text{ ----(5.4.29)}$$

Donde n_{TP} es el número total de partículas de suelo, y a_p la superficie de cada partícula. Asumiendo que todas las partículas de suelo son esféricas, con el mismo diámetro y que este no depende del tiempo, se tendrá que:

$$\begin{aligned} n_{TP} &= \frac{V_{suelo}}{V_{particula}} = \frac{3 \cdot m_s}{4 \cdot \pi \cdot R^3 \cdot \rho_s} \\ a_p &= 4 \cdot \pi \cdot R^2 \text{ ----(5.4.30)} \\ V_{FLA} &= V_{lodo} - V_{suelo} = \frac{(\rho_s \cdot V_{lodo} - m_s)}{\rho_s} \end{aligned}$$

Dividiendo (5.4.29) entre el V_{FLA} y substituyendo el conjunto de ecuaciones de (5.4.30), se tendrá el balance de HTPs en el seno de la fase líquida acuosa:

$$\frac{dc_H(t)}{dt} = k_L \cdot \frac{3m_s}{R(\rho_s \cdot V_{lodo} - m_s)} \cdot [c_{Hs}(t, R) - c_H(t)] - \frac{\mu \cdot x}{Y_{x/H}} \text{ ----(5.4.31)}$$

Donde (5.4.31) esta sujeta a la condición inicial:

$$\text{C.I: } t = 0; \quad c_H(0) = 0 \text{ ----(5.4.32)}$$

La ecuación (5.4.31), establece que la acumulación de los HTPs en el seno de la fase líquida acuosa (c_H en $\text{mgHTPs} \cdot \text{L}^{-1}$), es igual a la transferencia de HTPs proveniente de la partícula de suelo, menos el consumo microbiano de HTPs. En esta ecuación, k_L (m h^{-1}) es un coeficiente convectivo de transferencia de HTPs en la capa límite que rodea a cada partícula de suelo; m_s (kg) es la masa de suelo cargada al reactor, V_{lodo} (L) es el volumen del lodo, x es la biomasa (mg L^{-1}), μ la tasa específica de crecimiento (h^{-1}) y $Y_{x/H}$ el rendimiento biomasa-HTPs (mg mg^{-1}).

En este punto, es necesario aclarar que la suposición de agrupar los HTPs para considerarlos como una sola fuente de carbono y energía, esta basada en el comportamiento de los microorganismos bajo condiciones de estrés. Esto es, el consumo de multisustratos carbonados a concentraciones muy bajas. Bajo estas condiciones, se ha observado, que los multisustratos, son consumidos de manera simultánea tanto por microorganismos puros, como por consorcios (Mateles et al, 1967; Silver y Mateles, 1969; Egli et al., 1993). Es así, que el fenómeno de diauxia (o multiauxia) que se presenta de manera normal en cultivos por lote a altas concentraciones de sustratos carbonados, es un acontecimiento que no ocurre normalmente en la naturaleza (Veldkamp y Jannasch, 1972; Harder y Dijkhuizen, 1983). De acuerdo a lo anterior, y debido a que la partícula de suelo es la fuente que proporciona los HTPs para las poblaciones del consorcio en el seno de la fase acuosa, pero a concentraciones muy bajas (debido principalmente a fuertes limitaciones de solubilidad y transferencia difusional), se asume que las poblaciones del consorcio se encuentra estresadas, por lo que el consumo de los diferentes hidrocarburos que conforman a los HTPs se hará de manera simultánea. De esta forma, se utilizará una expresión no estructurada de Monod, para describir la cinética, es decir:

$$\mu = \mu_{max} \left(\frac{c_H}{K_H + c_H} \right) \text{----(5.4.33)}$$

Donde c_H es la concentración definida en la ecuación (5.4.31), K_H es la constante de afinidad del consorcio por los hidrocarburos en mg HTPs L^{-1} , μ y μ_{max} son las tasas global y global máxima de formación de biomasa (h^{-1}).

5.4.1.3 Balance de biomasa y productos en el seno de la fase líquida acuosa

El balance de biomasa en el seno de la fase acuosa y su condición inicial, vendrá dada por:

$$\frac{dx(t)}{dt} = \mu x(t) \text{----(5.4.34)}$$

$$\text{C.I: } t = 0; \quad x(0) = x_0 \text{----(5.4.35)}$$

La ecuación (5.4.34), establece que la acumulación en la concentración de biomasa en el seno de la fase acuosa, depende únicamente de su tasa de crecimiento. Para los productos, las ecuaciones de balance en la fase acuosa son:

$$\begin{aligned} \frac{dc_{CO_2}}{dt} &= Y_{CO_2/x} \cdot \mu \cdot x \\ \frac{dc_{sol}}{dt} &= Y_{sol/x} \cdot \mu \cdot x \end{aligned} \text{----(5.4.36)}$$

Sujetas a las condiciones iniciales siguientes:

$$\text{C.I: } t = 0; \quad c_{CO_2}(0) = c_{sol}(0) = 0 \text{----(5.4.37)}$$

El uso de (5.4.36) para las tasas de formación de CO_2 y compuestos solubles, se base en dos suposiciones. La primera es que los productos, se encuentran asociados al crecimiento microbiano. La segunda que en el seno del fluido no se presenta inhibición ni por sustrato, ni por producto. Finalmente, en la **Tabla 5.17**, se resumen el conjunto de ecuaciones (tanto diferenciales y algebraicas) que describen el modelo matemático del proceso de biodegradación de HTPs de un suelo intemperizado en un BLD, así como el significado y magnitudes de cada una de las variables y parámetros del sistema.

Tabla 5.17. Ecuaciones dimensionales del modelo DSB que gobiernan la biodegradación de HTPs de un suelo intemperizado en un biorreactor de lodos.

-Balance HTPs al interior de la partícula de suelo

$$\frac{\partial c_{H_s}(t, r)}{\partial t} = \frac{D_{eff} \cdot (K_{af} + c_{H_s})^2}{\xi(K_{af} + c_{H_s})^2 + \rho_s \cdot (1 - \xi) \cdot q_{max} \cdot K_{af}} \left(\frac{\partial^2 c_{H_s}(t, r)}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial c_{H_s}(t, r)}{\partial r} \right)$$

$$C.I \quad t = 0; \quad 0 \leq r \leq R; \quad c_{H_s}(0, r) = c_H^*$$

$$C.F.I \quad \left. \frac{\partial c_{H_s}}{\partial r} \right|_{r=0} = 0 \quad C.F.II \quad -D_{eff} \left. \frac{\partial c_{H_s}}{\partial r} \right|_{r=R} = k_L [c_{H_s}(t, R) - c_H(t)]$$

$$c_{H_s}(t) = \frac{3}{R^3} \int_0^{r=R} r^2 c_{H_s}(t, r) dr$$

$$c_{HTPs}^{total}(t) = [\rho_s (1 - \xi) \cdot K_d + \xi] c_{H_s}(t)$$

$$q(t) = \left[K_d + \frac{\xi}{\rho_s (1 - \xi)} \right] c_{H_s}(t)$$

-Balance HTPs, biomasa y productos en el seno de la FLA

$$\frac{dc_H(t)}{dt} = k_L \cdot \frac{3m_s}{R(\rho_s \cdot V_{lodo} - m_s)} \cdot [c_{H_s}(t, R) - c_H(t)] - \frac{\mu \cdot x}{Y_{x/H}}$$

$$\frac{dx(t)}{dt} = \mu \cdot x(t)$$

$$\frac{dc_{CO_2}}{dt} = Y_{CO_2/x} \cdot \mu \cdot x(t)$$

$$\frac{dc_{sol}}{dt} = Y_{sol/x} \cdot \mu \cdot x(t)$$

Condición inicial (t=0)

$$c_H(0) = 0$$

$$x(0) = x_0$$

$$c_{CO_2}(0) = 0$$

$$c_{sol}(0) = 0$$

-Cinética

$$\mu = \mu_{max} \left(\frac{c_H}{K_H + c_H} \right)$$

Tabla 5.17 (continuación). Variables dependientes y parámetros del modelo de biodegradación de HTPs de un suelo intemperizado en un biorreactor de lodos.

<u><i>Variables dependientes</i></u>	<u><i>Parámetros</i></u>
c_{H_s} :Concentración de HTPs solubles en el poro de la partícula de suelo (mgHTPs L ⁻¹)	m_s :Carga de suelo en el BLD (kg)
c_H :Concentración de HTPs solubles en el seno de la FLA (exterior de la partícula de suelo; mgHTPs L ⁻¹)	V_{lodo} :Volumen del lodo (L)
q :Concentración de HTPs adsorbidos en el suelo (mgHTPs kg ⁻¹)	D_{eff} :Coeficiente de difusividad efectiva (m ² h ⁻¹)
c_{HTPs}^{total} :Concentración de HTPs totales referidas al volumen total de las partículas de suelo (adsorbidos y solubles; mgHTPs L ⁻¹)	R :Radio de la partícula de suelo (m)
x :Concentración de biomasa (consorcio) en el seno de la FLA (mg L ⁻¹)	c_H^* :Saturación de HTPs en fase acuosa (equilibrio, mgHTPs L ⁻¹)
c_{CO_2} :Concentración del dióxido de carbono producido por unidad de volumen de la FLA (mg L ⁻¹)	K_d :Coeficiente de reparto (primer equilibrio) de los HTPs entre la FLA al interior del poro y el suelo (L kg ⁻¹)
c_{sol} :Concentración metabolitos solubles en el seno de la FLA (mg L ⁻¹)	K_{af} :Constante de afinidad de adsorción de los HTPs al suelo (mgHTPs L ⁻¹)
	q_{max} :Constante de re-adsorción máxima de HTPs en el suelo (mgHTPs kg ⁻¹)
	ξ :Porosidad intrapartícula del suelo (adimensional)
	ρ_s :Densidad del suelo (kg L ⁻¹)
	k_L :Coeficiente convectivo de transferencia de HTPs en la interfase (S-L) (m h ⁻¹)
	μ, μ_{max} :Tasa global y global máxima de formación de biomasa (h ⁻¹)
	$Y_{x/H}, Y_{CO_2/x}, Y_{sol/x}$:Rendimientos (mg·mg ⁻¹)
	K_H :Constante de afinidad HTPs-consorcio (mgHTPs L ⁻¹)

5.4.2 Análisis adimensional y solución numérica del modelo de biodegradación de HTPs en el BLD

Con el objetivo de normalizar todas las variables dependientes del modelo de biodegradación, así como para deducir diferentes números adimensionales que permitan analizar de manera macroscópica el fenómeno, el modelo fue adimensionalizado por medio de las variables mostradas en la **Tabla 5.18**

Todas las concentraciones son normalizadas con respecto a la concentración inicial de HTPs en el suelo (q_0). En lo referente a las cantidades x_{max} , $c_{CO_2}^{max}$ y c_{sol}^{max} de la **Tabla 5.18**, estas corresponden a las máximas concentraciones que pueden ser alcanzadas para biomasa, dióxido de carbono y metabolitos solubles respectivamente. Estas tres cantidades, son directamente dependientes de la cantidad inicial de HTPs en el suelo, como de los diferentes rendimientos. Matemáticamente, estas tres cantidades se definieron como:

$$x_{max} = q_0 \cdot \rho_s \cdot Y_{x/H} \text{ ---- (5.4.38)}$$

$$c_{CO_2}^{max} = q_0 \cdot \rho_s \cdot Y_{CO_2/H} \text{ ----(5.4.39)}$$

$$c_{sol}^{max} = q_0 \cdot \rho_s \cdot Y_{sol/H} \text{ ---- (5.4.40)}$$

Aplicando las relaciones de la última columna de la **Tabla 5.18** a las ecuaciones del modelo dimensional y sus definiciones dadas por las ecuaciones (5.4.38) a (5.4.40), se obtiene el sistema adimensionalizado mostrado en la **Tabla 5.19**. Durante la normalización del modelo, surgen diferentes números adimensionales. Por su relevancia, los tres de mayor importancia son dos números de biodisponibilidad, los cuales se denominarán de tipo I y II (B_{nI} y B_{nII}), y el *Biot* de masa (Bi_m). Estos tres números, involucran parámetros clave en la relación que hay entre diversos mecanismos del proceso global de biodegradación de los hidrocarburos en el lodo, tales como la difusión al interior de la partícula de suelo (D_{eff}), el transporte convectivo de hidrocarburos en la interfase (k_L) y la biorreacción en el seno del fluido (μ_{max}). En base al análisis adimensional, estos números son expresados como:

$$B_{nI} = \frac{k_L}{R \cdot \mu_{max}} \text{ ----(5.4.41)}$$

$$B_{nII} = \frac{D_{eff}}{R^2 \cdot \mu_{max}} \text{ ----(5.4.42)}$$

$$Bi_m = \frac{k_L \cdot R}{D_{eff}} \text{ ----(5.4.43)}$$

Tabla 5.18. Conjunto de variables y parámetros empleados para la adimensionalización del modelo de biodegradación aerobia de hidrocarburos en un BLL.

<u>Variable</u>	<u>Símbolo dimensional</u>	<u>Símbolo adimensional</u>	<u>Relación adimensional</u>
Concentración HTPs solubles en el poro de la partícula	c_{Hs}	ω_{Hs}	$\omega_{Hs} = \frac{c_{Hs}}{q_0 \cdot \rho_s}$
Concentración HTPs solubles en el seno de la FLA	c_H	ω_H	$\omega_H = \frac{c_H}{q_0 \cdot \rho_s}$
Concentración de HTPs totales por volumen total de la partícula de suelo	c_{HTPs}^{total}	ω_{HTPs}^{total}	$\omega_{HTPs}^{total} = \frac{c_{HTPs}^{total}}{q_0 \cdot \rho_s}$
Concentración de HTPs adsorbidos en el suelo	q	γ	$\gamma = \frac{q}{q_0}$
Concentración de biomasa	x	χ	$\chi = \frac{x}{x_{max}}$
Concentración dióxido de carbono	c_{CO_2}	ω_{CO_2}	$\omega_{CO_2} = \frac{c_{CO_2}}{c_{CO_2}^{max}}$
Concentración de compuestos solubles	c_{sol}	ω_{sol}	$\omega_{sol} = \frac{c_{sol}}{c_{sol}^{max}}$
Tiempo	t	τ	$\tau = t \cdot \mu_{max}$
Radio de la partícula	r	ψ	$\psi = \frac{r}{R}$

Tabla 5.19. Sistema de ecuaciones adimensionales para el modelado de la biodegradación de HTPs de un suelo intemperizado en un biorreactor de lodos.

-Balance HTPs al interior de la partícula de suelo

$$\frac{\partial \omega_{H_s}}{\partial \tau} = \frac{B_{nl} \cdot (K_{af}^{a \dim} + \omega_{H_s})^2}{\xi (K_{af}^{a \dim} + \omega_{H_s})^2 + \eta \cdot K_{af}^{a \dim} (1 - \xi)} \left(\frac{\partial^2 \omega_{H_s}}{\partial \psi^2} + \frac{2}{\psi} \frac{\partial \omega_{H_s}}{\partial \psi} \right)$$

$$\text{C.I} \quad \tau = 0; \quad 0 \leq \psi \leq l; \quad \omega_{H_s}(0, \psi) = \frac{c_H^*}{\rho_s \cdot q_0}$$

$$\text{C.F.I} \quad \left. \frac{\partial \omega_{H_s}}{\partial \psi} \right|_{\psi=0} = 0 \quad \text{C.F.II} \quad \left. \frac{\partial \omega_{H_s}}{\partial \psi} \right|_{\psi=l} = -Bi_m \cdot [\omega_{H_s}(\tau, l) - \omega_H(\tau)]$$

$$\omega_{H_s}(\tau) = 3 \int_0^{\psi=l} \psi^2 \omega_{H_s}(\tau, \psi) d\psi$$

$$\omega_{HTPs}^{total}(\tau) = [\rho_s (1 - \xi) \cdot K_d + \xi] \omega_{H_s}(\tau)$$

$$\gamma(\tau) = \left[K_d \cdot \rho_s + \frac{\xi}{(1 - \xi)} \right] \omega_{H_s}(\tau)$$

-Balance HTPs, biomasa y productos en el seno de la FLA

$$\frac{d\omega_H}{d\tau} = B_{nl} \cdot \varphi \cdot [\omega_{H_s}(\tau, l) - \omega_H] - \left(\frac{\omega_H}{K_H^{a \dim} + \omega_H} \right) \cdot \chi$$

$$\frac{d\chi}{d\tau} = \left(\frac{\omega_H}{K_H^{a \dim} + \omega_H} \right) \cdot \chi$$

$$\frac{d\omega_{CO_2}}{dt} = \frac{d\omega_{sol}}{dt} = \left(\frac{\omega_H}{K_H^{a \dim} + \omega_H} \right) \cdot \chi$$

Condición inicial ($\tau=0$)

$$\omega_H(0) = 0$$

$$\chi(0) = \frac{x_0}{Y_{x/H} \cdot q_0 \cdot \rho_s}$$

$$\omega_{CO_2}(0) = \omega_{sol}(0) = 0$$

El número de biodisponibilidad del tipo I (B_{nl}), puede definirse como el cociente entre la tasa máxima de transporte de los hidrocarburos en la interfase (sólido-líquido) y la tasa máxima de biorreacción en la FLA. De esta manera, cuando el $B_{nl} < 1$, es indicativo de que en el proceso de biodegradación la biodisponibilidad de los hidrocarburos es una etapa que limita a la biorreacción debido a la resistencia al transporte en la interfase. Al contrario, si el $B_{nl} > 1$, implica que la tasa de biorreacción en el seno de la FLA es menor a la tasa de transporte por convección en la interfase. En lo que respecta al número de biodisponibilidad del tipo II (B_{nll}), este puede definirse como el cociente entre la tasa máxima de transporte por difusión de los hidrocarburos al interior de las partículas de suelo y la tasa máxima de biorreacción en la FLA. De esta manera, cuando el $B_{nll} < 1$, es indicativo de que en el proceso de biodegradación la biodisponibilidad de los hidrocarburos es una etapa que limita a la biorreacción debido a la resistencia al transporte difusivo. Al contrario, si el $B_{nll} > 1$, implica que la tasa de biorreacción en el seno de la FLA es menor a la tasa de transporte por difusión. Es importante mencionar, que los números de biodisponibilidad B_{nl} y B_{nll} , tal como se muestran en las ecuaciones (5.4.41) y (5.4.42), corresponden a los inversos de los números de Damköhler tipo I (Bosma et al., 1997) y Damköhler tipo II (Himmelblau y Bischoff, 1992) respectivamente. Por otra parte, el Biot de masa (Bi_m) se define como el cociente entre la tasa máxima de transporte por convección en la interfase y la tasa máxima de transporte por difusión al interior de las partículas de suelo. De esta manera, valores del $Bi_m > 1$ indican que la biodisponibilidad de los hidrocarburos es controlada por el transporte difusivo intrapartícula, mientras que $Bi_m < 1$ indican que la biodisponibilidad es controlada por el transporte convectivo en la interfase. Debe hacerse notar, que el Bi_m tal como se define en (5.4.43), es el cociente entre los números de biodisponibilidad ($Bi_m = B_{nl} \cdot B_{nll}^{-1}$).

Junto con los números de biodisponibilidad I y II, y el *Biot* de masa, surgen otros dos números adimensionales, los cuales se denominarán como *módulo de re-adsorción* (η) y *número de carga* (φ). En base a la normalización del modelo, ambos números se definen matemáticamente en (5.4.44) y (5.4.45) como:

$$\eta = \frac{q_{max}}{q_0} \text{ ----(5.4.44)}$$

$$\varphi = \frac{3 \cdot m_s}{\rho_s \cdot V_{lodo} - m_s} = \frac{3 \cdot V_{suelo}}{V_{lodo} - V_{suelo}} \text{ ----(5.4.45)}$$

El que los hidrocarburo al interior de las partículas de suelo sean nuevamente re-adsorbidos, conduce a difusividades efectivas menores, lo que a su vez tiene un efecto decisivo en la biodisponibilidad de los contaminantes. En el modelo, este efecto es determinado mediante el módulo de *re-adsorción* (5.4.44). Para analizar esto, supongamos que $B_{nII} > 1$, $B_{nI} > 1$ y que el $Bi_m > 1$, y prestemos atención al término que multiplica al gradiente radial de concentración de lado derecho de la ecuación adimensional de balance para los hidrocarburos al interior de las partículas de suelo (**Tabla 5.19**), es decir:

$$\frac{B_{nII} \cdot (K_{af}^{a\dim} + \omega_{Hs})^2}{\xi(K_{af}^{a\dim} + \omega_{Hs})^2 + \eta \cdot K_{af}^{a\dim} (1 - \xi)} \text{ ----(5.4.46)}$$

Si el módulo de re-adsorción tiende a cero ($\eta \rightarrow 0$), el término mostrado en (5.4.46) tiende a B_{nII}/ξ , y por lo tanto el control en la biodisponibilidad de los hidrocarburos, dependerá principalmente de su difusividad al interior de las partículas del suelo. Por el contrario, si $\eta \rightarrow 1$, entonces (5.4.46) tiende a un valor mínimo en el que la biodisponibilidad de los hidrocarburos estará controlada exclusivamente por su re-adsorción al interior de las partículas de suelo.

Por su parte, el *número de carga* (5.4.45), es una relación entre el volumen de lodo y el volumen de suelo con que se opera el BLD, y el cual tiene un efecto directo en el flujo másico de los HTPs de las partículas de suelo hacia el seno de la FLA. Finalmente, en el modelo también aparecen dos constantes de afinidad adimensionales, una referente a la afinidad de adsorción de los HTPs por la matriz sólida del suelo (5.4.47), y otra referente a la afinidad del consorcio por los HTPs como sustrato (5.4.48).

$$K_{af}^{a\dim} = \frac{K_{af}}{\rho_s \cdot q_o} \text{ ----(5.4.47)} \quad K_H^{a\dim} = \frac{K_H}{\rho_s \cdot q_o} \text{ ----(5.4.48)}$$

Debido a la no linealidad de la EDP normalizada del balance de HTPs en la FLA del poro al interior de la partícula de suelo, el sistema de ecuaciones que gobiernan al modelo se resolvió de manera numérica. El método numérico utilizado fue el de líneas (Schiesser, 1991; Hoffmann, 1992; Schuring et al., 2001). Este consistió en la discretización de la variable espacial (ψ) de la EDP mediante el uso de diferencias finitas centradas en coordenadas esféricas (**anexo III**). El subdividir la variable espacial en "N" intervalos con un tamaño de paso constante $\Delta\psi$ (**Figura 5.28**), condujo a convertir la EDP en un sistema de "N" EDOs. Para la discretización de las condiciones en la frontera (**C.F.I** y **C.F.II**), se emplearon diferencias finitas hacia delante. En la **Tabla 5.20**, se muestran las

ecuaciones discretizadas del modelo. Obsérvese que en la **C.F.II**, la concentración adimensional ω_{Hs}^{N+1} , es en realidad un término cuya finalidad es conectar a la concentración de los HTPs solubles al interior de la partícula de suelo, con los HTPs en el seno de la FLA. De esta manera, el modelo discretizado, quedó integrado por $N+3$ EDOs y sus ecuaciones algebraicas asociadas. La solución numérica del modelo fue convergente para $N \geq 100$. Finalmente, para la solución numérica del sistema de EDOs del modelo, se empleó el método corrector-predictor de Runge-Kutta-Fehlberg (RKF45). El algoritmo para la solución numérica por el método de RKF45, fue codificado en dos programas basados en lenguaje de MATLAB (**anexoII**). El primer programa denominado BLDeq.m, contiene las EDOs y ecuaciones algebraicas que integran al modelo, mientras que un segundo programa denominado BLD.m, resuelve el sistema, construye tablas, gráficas y almacena datos de la simulación.

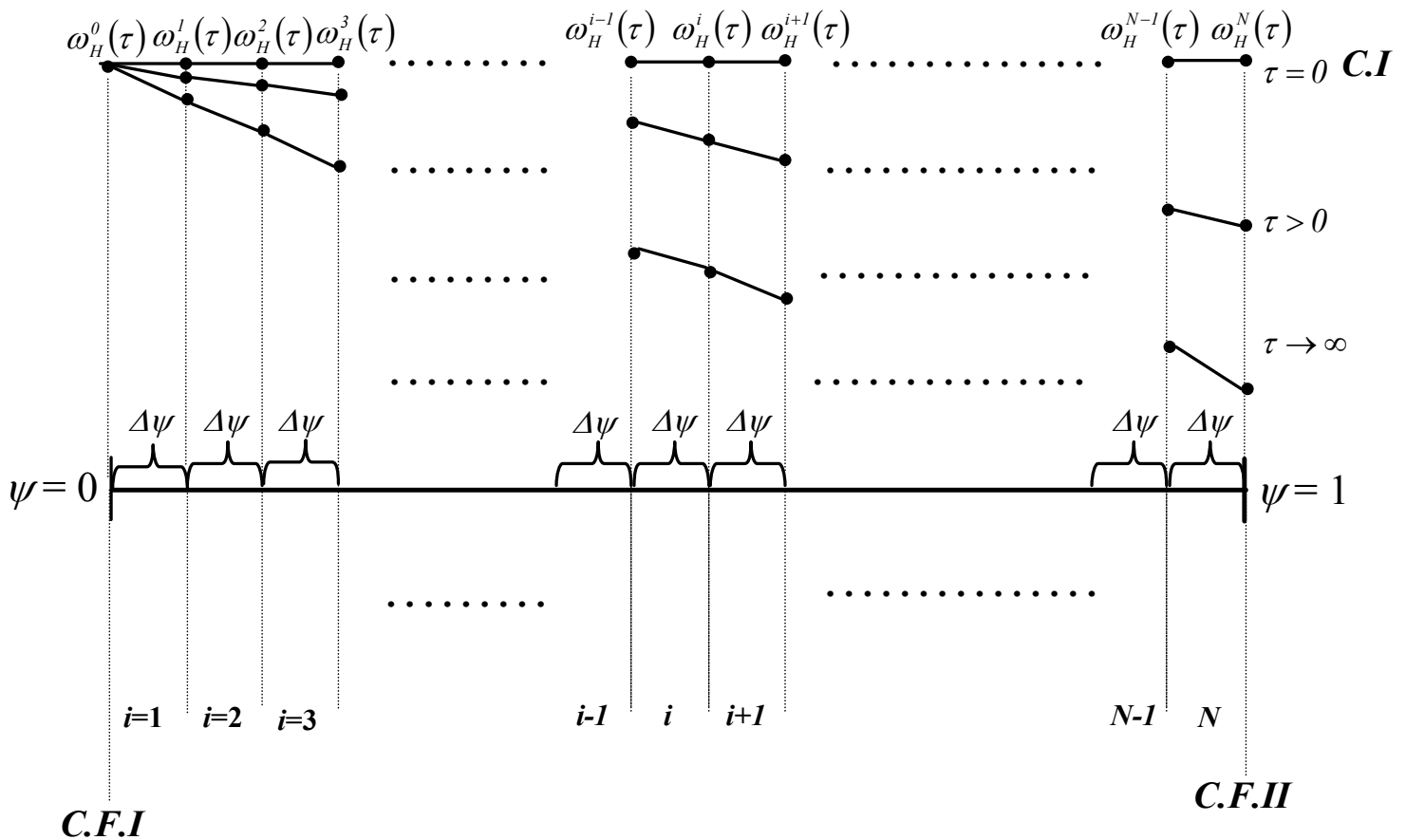


Figura 5.28 Conceptualización del método de líneas empleado para la solución numérica de la EDP correspondiente al balance diferencial de HTPs en la FLA al interior (poros) de la partícula de suelo.

Tabla 5.20. Solución numérica por el método de líneas, en el que se discretiza la variable radial (esféricas) adimensional ψ .

-Balance HTPs al interior de la partícula de suelo

$$\frac{d\omega_{H_s}^i}{d\tau} = \left[\frac{B_{nl} \cdot (K_{af}^{a \dim} + \omega_{H_s}^i)^2}{\xi (K_{af}^{a \dim} + \omega_{H_s}^i)^2 + \eta \cdot K_{af}^{a \dim} (1 - \xi)} \right] \cdot \left[\frac{(i+1) \cdot \omega_{H_s}^{i+1} - 2i \cdot \omega_{H_s}^i + (i-1) \cdot \omega_{H_s}^{i-1}}{i \cdot (\Delta\psi)^2} \right]$$

$$\text{C.I} \quad \tau = 0; \quad 1 \leq i \leq N; \quad \omega_{H_s}^i(0) = \frac{c_H^*}{\rho_s \cdot q_0}$$

$$\text{C.F.I} \quad \frac{\omega_{H_s}^1 - \omega_{H_s}^0}{\Delta\psi} = 0 \quad \therefore \quad \omega_{H_s}^1 = \omega_{H_s}^0$$

$$\text{C.F.II} \quad \frac{\omega_{H_s}^{N+1} - \omega_{H_s}^N}{\Delta\psi} = -Bi_m \cdot [\omega_{H_s}^N - \omega_H] \quad \therefore \quad \omega_{H_s}^{N+1} = \omega_{H_s}^N - Bi_m \cdot \Delta\psi \cdot [\omega_{H_s}^N - \omega_H]$$

$$\omega_{H_s}(\tau) = 3 \sum_{i=1}^N i^2 \cdot \omega_{H_s}^i \cdot (\Delta\psi)^3$$

$$\omega_{HTPs}^{total}(\tau) = [\rho_s (1 - \xi) \cdot K_d + \xi] \omega_{H_s}(\tau)$$

$$\gamma(\tau) = \left[K_d \cdot \rho_s + \frac{\xi}{(1 - \xi)} \right] \omega_{H_s}(\tau)$$

-Balance HTPs, biomasa y productos en el seno de la FLA

$$\frac{d\omega_H}{d\tau} = B_{nl} \cdot \varphi [\omega_{H_s}^N - \omega_H] - \left(\frac{\omega_H}{K_H^{a \dim} + \omega_H} \right) \cdot \chi$$

$$\frac{d\chi}{d\tau} = \left(\frac{\omega_H}{K_H^{a \dim} + \omega_H} \right) \cdot \chi$$

$$\frac{d\omega_{CO_2}}{dt} = \frac{d\omega_{sol}}{dt} = \left(\frac{\omega_H}{K_H^{a \dim} + \omega_H} \right) \cdot \chi$$

Condición inicial ($\tau=0$)

$$\omega_H(0) = 0$$

$$\chi(0) = \frac{x_0}{Y_{x/H} \cdot q_0 \cdot \rho_s}$$

$$\omega_{CO_2}(0) = \omega_{sol}(0) = 0$$

5.4.3 Predicción y simulación de la biodegradación de HTPs en el BLD mediante el modelo DSB

El modelo de difusión-sorción-biodegradación (DSB) desarrollado, se validó mediante su capacidad de predicción en los datos experimentales obtenidos durante las cinéticas de biodegradación aerobia de los HTPs en el BLD sin tolueno y con el pretratamiento de 14,000 mg L⁻¹ de tolueno. Además, el modelo fue utilizado para determinar mediante simulación, el efecto de diferentes parámetros sobre la biodisponibilidad y por lo tanto en la biodegradación de HTPs en el BLD de 5 L.

5.4.3.1 Predicción del modelo para la biodegradación de HTPs en el BLD

Los valores de los parámetros utilizados en el modelo, se muestran en la **Tabla 5.21**. Valores tales como la carga de suelo (m_s), el volumen del lodo (V_{lodo}) y el radio de la partícula de suelo (R), surgen directamente de las condiciones de operación del BLD y la caracterización del *suelo artificial* (**sección 5.3.1**). La biomasa inicial, aunque en sí es una condición inicial y no un parámetro, se determinó en base a la concentración de SS correspondiente al día y ciclo en que se tomó al consorcio del biorreactor líquido (BLL) para la inoculación del BLD. Los valores de los rendimientos ($Y_{x/H}$, $Y_{CO2/x}$, $Y_{sol/x}$), la constante de afinidad HTPs-consorcio (K_H), y la tasa máxima de formación de biomasa (μ_{max}), son los mismos que los utilizados en el modelo de biodegradación en el BLL (**sección 5.2.3**). La densidad del suelo (ρ_s), se estimó de manera ponderada tomando como base las densidades (Geankoplis, 1999) y fracciones (**Tabla 4.1**) de las tres principales componentes del suelo, que son: la arena (81.0 %, y densidad de 1826 kg m⁻³), la arcilla (7.2 %, y densidad de 1666 kg m⁻³) y el limo (11.8 %, y densidad de 600 kg m⁻³). La porosidad (ξ), se estimó con la relación (5.4.49), donde V_{esp} , es el volumen promedio de poros referido por masa de suelo (0.06 cm³_{poro} g⁻¹_{suelo}), reportada para este mismo tipo de suelo (Peralta, 2001).

$$\xi = \frac{V_{esp} \cdot \rho_s}{1 \times 10^6} \text{ ----(5.4.49)}$$

Para la estimación del coeficiente de difusividad efectiva (D_{eff}), se empleó la relación (5.4.50) reportada por Van Brakel y Heertjes (1974), basada en la difusividad de HPAs en agua y la porosidad intrapartícula (ξ).

$$D_{eff} = 0.66 \cdot \xi \cdot D_{HPAs-H_2O} \text{ ----(5.4.50)}$$

Debido al alto nivel de intemperización del suelo, los hidrocarburos que conforman a los HTPs, son estructuras complejas con una afinidad muy alta por el suelo y con solubilidades en agua extremadamente bajas. En base a lo anterior, se decidió utilizar el criseno (hidrocarburo poliaromático de cuatro anillos) como una molécula tipo, cuyas propiedades tales como solubilidad ($c_H^* = 2 \times 10^{-3} \text{ mg L}^{-1}$) y difusividad ($D_{HPAs-H_2O} = 2.32 \times 10^{-6} \text{ m}^2 \text{ h}^{-1}$), ambas en agua, se supusieron representativas para la mezcla de hidrocarburos que conforman a los HTPs, siendo por lo tanto, empleadas como parámetros del modelo. Finalmente, la constante de adsorción máxima de HTPs en el suelo (q_{max}), la constante de afinidad de adsorción de los HTPs al suelo (K_{af}) y el coeficiente convectivo de transferencia de HTPs en la interfase sólido-líquido (k_L), fueron parámetros que se estimaron por ajuste directo del modelo.

Tabla 5.21 Valores de los parámetros del modelo DSB para la biodegradación aerobia de HTPs en el BLD

Proceso		Bibliográfica		Ajuste	
m_s (kg)	1.00	D_{eff} ($\text{m}^2 \text{ h}^{-1}$)	1.534×10^{-7}	q_{max} (mgHTPs kg^{-1})	2,197.00
V_{lodo} (L)	3	ξ ($\text{m}^3_{\text{poro}}/\text{m}^3_{\text{suelo}}$)	0.1002	K_{af} (mgHTPs L^{-1})	3×10^{-4}
R (m)	625×10^{-6}	c_H^* (mg L^{-1})	2×10^{-3}	k_L (m h^{-1})	0.035
q_o (mg kg^{-1})	158,190.00	ρ_s (kg L^{-1})	1.670		
K_d (L kg^{-1})	q_o/c_H^*				
x_0 (mg L^{-1})	198				
$Y_{x/H}$ (mg·mg $^{-1}$)	0.58				
$Y_{CO_2/x}$ (mg·mg $^{-1}$)	1.5				
$Y_{sol/x}$ (mg·mg $^{-1}$)	0.6				
μ_{max} (h^{-1})	0.055				
K_H (mgHTPs L^{-1})	0.823				

Para el ajuste del modelo a los datos de la cinética sin tolueno, se utilizo un vector de prueba $\mathbf{P}_r = (q_{max}, K_{af}, k_L)$. La determinación de los intervalos de valores que podían tomar los parámetros k_L y K_{af} , se basaron en lo siguiente:

(i) Debido a que el BLD opera bajo condiciones de mezcla completa, se asumió que no se presentaron limitaciones por transporte de los hidrocarburos en la interfase sólido-líquido. Por lo

tanto, los valores permisibles del coeficiente convectivo de transporte (k_L), fueron aquellos que no controlaron la biodisponibilidad de hidrocarburos en la interfase ($Bi_m > 1$), y por lo tanto a la biorreacción en la FLA ($B_{nl} > 1$).

(ii) Debido a la baja solubilidad de los hidrocarburos en la FLA, y a que el equilibrio de reparto de los hidrocarburos esta desplazado preferentemente hacia la fase sólida (*suelo artificial*), los valores permisibles de la constante de afinidad de los hidrocarburos por el suelo (K_{af}), se encontraron en un intervalo a lo más igual ó menor a la concentración de saturación de los hidrocarburos en la FLA ($K_{af} \leq c_H^*$).

Como criterio para determinar el mejor ajuste del modelo, se utilizó como función objetivo la relación normalizada de la suma de las raíces de los cuadrados de la diferencia entre los valores experimentales de la concentración de HTPs adsorbidos en el suelo y los predichos por el modelo (5.4.51).

$$\Pi_{BLD}(\mathbf{P}_r) = \sum_{i=1}^p \sqrt{\frac{(\hat{q}_i - q(t_i))^2}{q(t_i)}} \text{ ----(5.4.51)}$$

En donde \hat{q}_i correspondió al i -ésimo valor experimental, $q(t_i)$ a la concentración predicha por el modelo y p al número total de datos experimentales ($p=5$). Mediante ensayos de prueba y error, se dieron valores a los parámetros del vector \mathbf{P}_r , tomando como criterio para el ajuste en cada uno de los ciclos valorados por el modelo que $\Pi_{BLD}(\mathbf{P}_r) < 0.3$ (correspondiente a un error global menor al 6%). En la **Tabla 5.21**, se resumen los valores de los parámetros utilizados en el modelo.

Los valores de los números adimensionales y las predicciones del modelo en la biodegradación de los HTPs en el BLD, se muestran en la **Tabla 5.22** y la **Figura 5.29**. De acuerdo a los valores de la **Tabla 5.22**, la biodisponibilidad vía convección en la interfase ($B_{nl} \gg 1$) y difusión efectiva intrapartícula ($B_{nll} \gg 1$), no fueron los mecanismos que limitaron el consumo de hidrocarburos en la FLA (biorreacción). Por lo tanto, el control de la biodisponibilidad, se atribuyó únicamente a la *re-adsorción* de los HTPs al interior de las partículas de suelo.

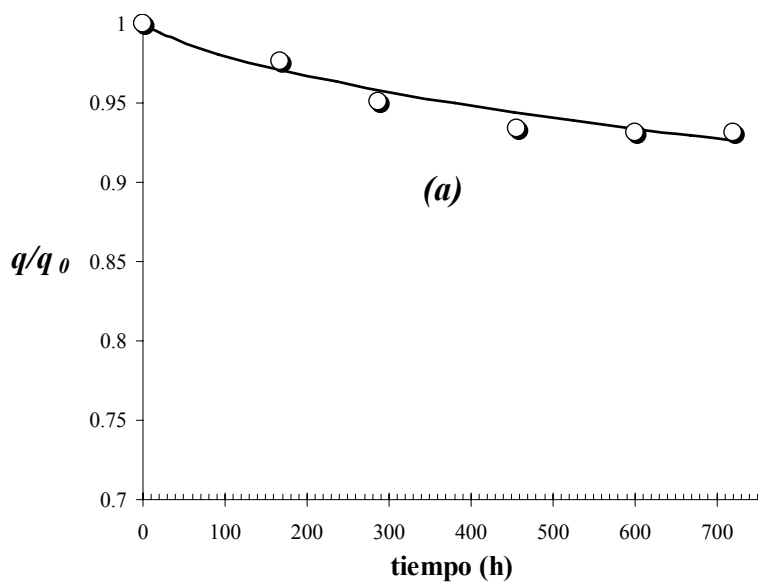


Tabla 5.22 Valores de los números adimensionales en la biodegradación aerobia de HTPs en el BLD

B_{nI}	B_{nII}	Bi_m	η
1018	7	143	0.014

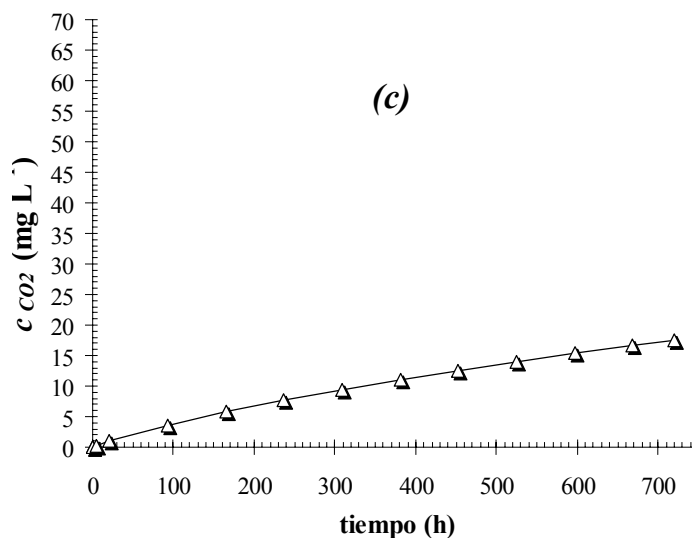
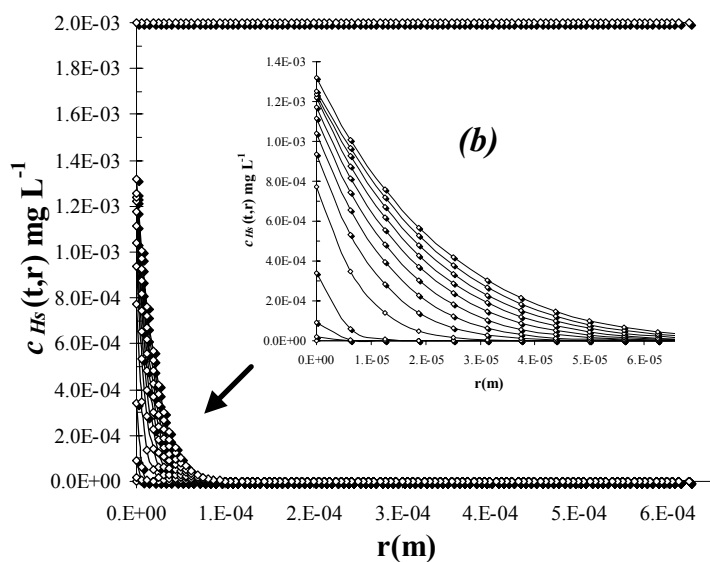


Figura 5.29 Predicciones del modelo DSB para la biodegradación de HTPs en el BLD. (a) Predicción del modelo en la fracción residual de HTPs en suelo (q/q_0) donde (O) corresponde a los datos experimentales y (—) al modelo; (b) predicción del modelo en los perfiles de concentración de los HTPs al interior de la partícula del *suelo artificial*, y (c) predicción del modelo en la evolución del CO_2 .

En la **Figura 5.29 a**, puede observarse que el modelo predice razonablemente los valores experimentales correspondientes a la fracción residual de los HTPs en el suelo artificial, los cuales a su vez, mostraron un bajo nivel de biodegradación. El modelo también predice una baja producción de CO_2 (**Figura 5.29 c**) debido al control de la biodisponibilidad por la *re-adsorción* de los hidrocarburos. Por otra parte, la predicción del modelo en los perfiles de concentración de los HTPs al interior de las partículas de suelo (**Figura 5.29 b**), mostraron una fuerte retención de los hidrocarburos solubles al interior de los poros, la cual se incrementó con el tiempo y la posición

radial. En la siguiente sección, se analizará el efecto del tolueno en el control de la biodisponibilidad debido a la re-adsorción.

5.4.3.2 Predicción del modelo para la biodegradación de HTPs en el BLD con pretratamiento de tolueno

La adición de tolueno a concentraciones sub-inhedoras para el crecimiento, produjo una nueva fase líquida "agua-tolueno" (FLAT), la cual, probablemente promovió que en el equilibrio de reparto, la concentración de hidrocarburos en el seno de esta nueva fase líquida se incrementase de manera significativa. Este efecto del tolueno sobre el equilibrio de reparto, probablemente condujo a una disminución de la constante de *re-adsorción* máxima de HTPs en el suelo (q_{max}), así como en incrementos tanto de la solubilidad de los HTPs (c_H^*), como en la constante de afinidad de los HTPs por el suelo (K_{af}). En base a lo anterior, para el ajuste a los datos de la cinética con el pretratamiento con tolueno, se utilizaron los mismos valores de la **Tabla 5.21**, pero con un nuevo vector de prueba $\mathbf{P}_{TOL}=(q_{max}, K_{af}, c_H^*)$. La función objetivo y criterio para el ajuste fueron los mismos que para la predicción sin tolueno. En este nuevo vector de prueba, se intercambi6 el parámetro k_L por c_H^* , pues se consider6 que el efecto de la adición de tolueno en el coeficiente de transporte por convección en la interfase, fue despreciable comparada con el efecto en la solubilidad de saturación de los HTPs en la nueva fase FLAT (no así con respecto a la fuerza motriz que determina el transporte en la interfase, es decir $[c_{Hs}(t,R)-c_H(t)]$). De manera similar, los valores de parámetros como D_{eff} , μ_{max} y K_H , se mantuvieron constantes al suponerse que el pretratamiento con tolueno, presentó su efecto más importante sobre el equilibrio de reparto en la re-adsorción de los HTPs.

Los valores de los números adimensionales y las predicciones del modelo en la biodegradación de los HTPs en el BLD con el pretratamiento de 14,000 mg tolueno kg^{-1} , se muestran en la **Tabla 5.23** y la **Figura 5.30**. De acuerdo al vector de prueba \mathbf{P}_{TOL} y el criterio para el ajuste del modelo, los valores de la constante de re-adsorción máxima, la constante de afinidad y la concentración de saturación de HTPs en la nueva FLAT, fueron $q_{max}=1208$ mgHTPs kg^{-1} , $K_{af}=0.006$ mgHTPs L^{-1} y $c_H^*=0.015$ mgHTPs L^{-1} . Al asumir que la adición de tolueno solamente tiene efecto en las constantes que describen los equilibrios de *solubilización* y *re-adsorción*, los valores de los

números adimensionales B_{nl} , B_{nII} y Bi_m , son los mismos, pero no así el valor para el módulo de *re-adsorción*, el cual disminuyó a la mitad (Tabla 5.23).

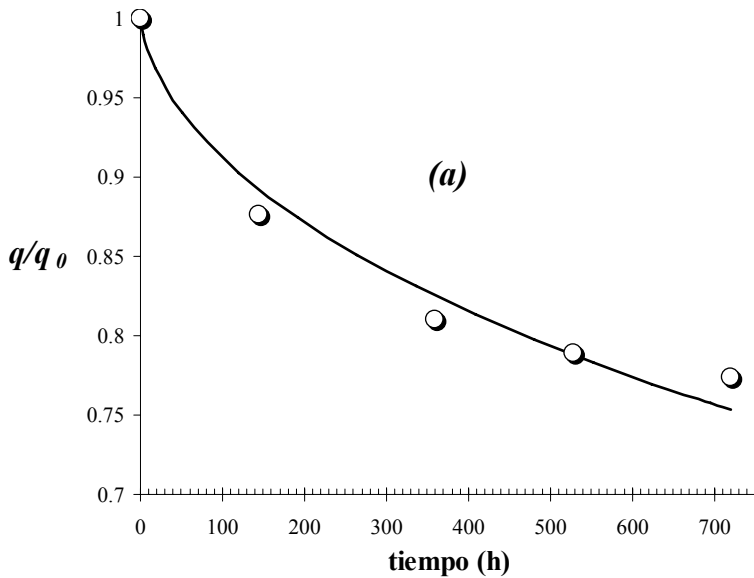


Tabla 5.23 Valores de los números adimensionales en la biodegradación aerobia de HTPs en el BLD con pretratamiento de tolueno

B_{nl}	B_{nII}	Bi_m	η
1018	7	143	0.007

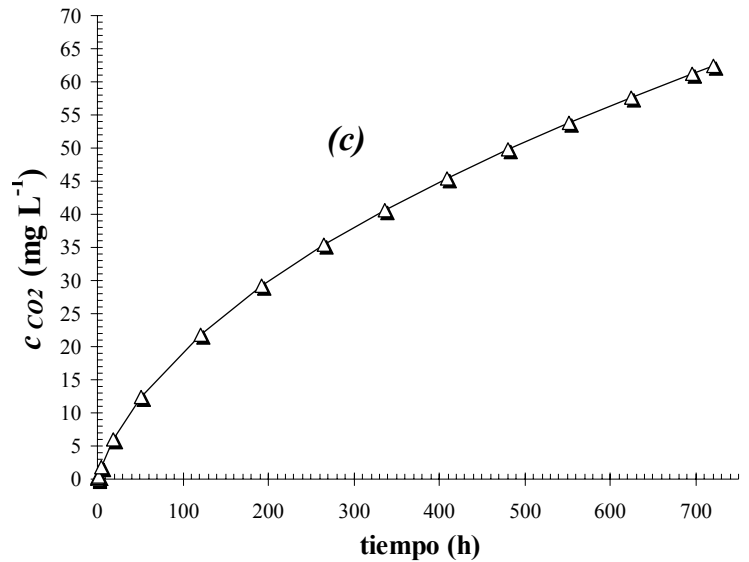
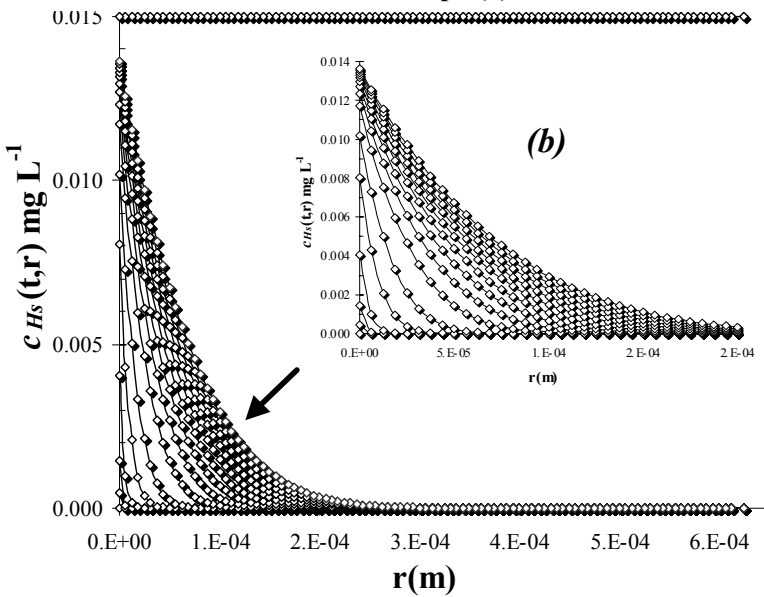


Figura 5.30 Predicciones del modelo DSB para la biodegradación de HTPs en el BLD con un pretratamiento de 14,000 mg tolueno kg^{-1} . (a) Predicción del modelo en la fracción residual de HTPs en suelo (q/q_0) donde (O) corresponde a los datos experimentales y (—) al modelo; (b) predicción del modelo en los perfiles de concentración de los HTPs al interior de la partícula del *suelo artificial*, y (c) predicción del modelo en la evolución del CO_2 .

Como se puede observar en la **Figura 5.30 a**, los valores utilizados de los parámetros en el vector de prueba, permitieron predecir de manera razonable el comportamiento experimental en la fracción residual de HTPs en el *suelo artificial*. Además, la adición de tolueno mostró un efecto positivo del solvente orgánico en las predicciones de las variables de proceso. Este efecto condujo a incrementos significativos en la producción de CO_2 (**Figura 5.30 c**), así como en una menor *re-*

adsorción de los HTPs solubles al interior (poros) de la partícula de suelo, tal como se observa en los perfiles de concentración (**Figuras 5.30 b**).

Hasta este punto, el modelo mostró la capacidad de predecir con una precisión razonable, la biodegradación de HTPs en el BLD de 5 L con un control de la biodisponibilidad vía la re-adsorción de hidrocarburos. En la siguiente sección, el modelo será utilizado para simular la biodegradación de HTPs en el BLD bajo condiciones diferentes de los mecanismos que controlan la biodisponibilidad.

5.4.3.3 Simulación de la biodegradación de HTPs en el BLD

En las dos secciones precedentes (**5.4.3.2** y **5.4.3.3**), el modelo DSB desarrollado, fue utilizado para explicar los datos experimentales de la biodegradación de HTPs obtenidos del BLD de 5 L. En ambas situaciones, la limitación en la biodisponibilidad de los hidrocarburos vía su re-adsorción reversible al interior de las partículas de suelo, se determinó que fue el mecanismo principal que controló de manera global al proceso de biodegradación. En esta sección, se llevarán a cabo tres simulaciones para analizar el efecto del control de la biodisponibilidad en la biodegradación, pero en este caso vía los mecanismos de difusión efectiva y transporte por convección en la interfase sólido-líquido.

Como punto de partida y referencia, la primera simulación para la biodegradación de HTPs se llevó a cabo en condiciones ideales, es decir, sin el control por ninguno de los mecanismos de biodisponibilidad sobre la biorreacción, de tal manera que la re-adsorción fuese despreciable ($\eta \rightarrow 0$), y ambas tasas, de difusión y convección fueran mayores a la de biorreacción ($B_{nl} > 1$ y $B_{nll} > 1$). Para esta primera simulación, se mantuvieron los mismos valores de los parámetros de la cinética de biodegradación de la **sección 5.4.3.2** (sin pretratamiento con tolueno), modificándose únicamente el valor de q_{max} (de 2197.00 a 1.00 mg kg⁻¹) y K_{af} . (de 3×10^{-4} a 2×10^{-3} mg L⁻¹). Los valores de los números adimensionales y las simulaciones del modelo en la biodegradación de los HTPs en el BLD sin limitaciones en la biodisponibilidad, se muestran en la **Tabla 5.24** y la **Figura 5.31**.

Como puede observarse en las simulaciones mostradas en la **Figura 5.31**, al no presentarse limitaciones de biodisponibilidad de hidrocarburos por difusión, convección o re-adsorción, y bajo las condiciones de operación utilizadas y en un mismo tiempo de cinética (720 h), el modelo predice una remoción y biodegradación casi total de los HTPs del *suelo artificial*.

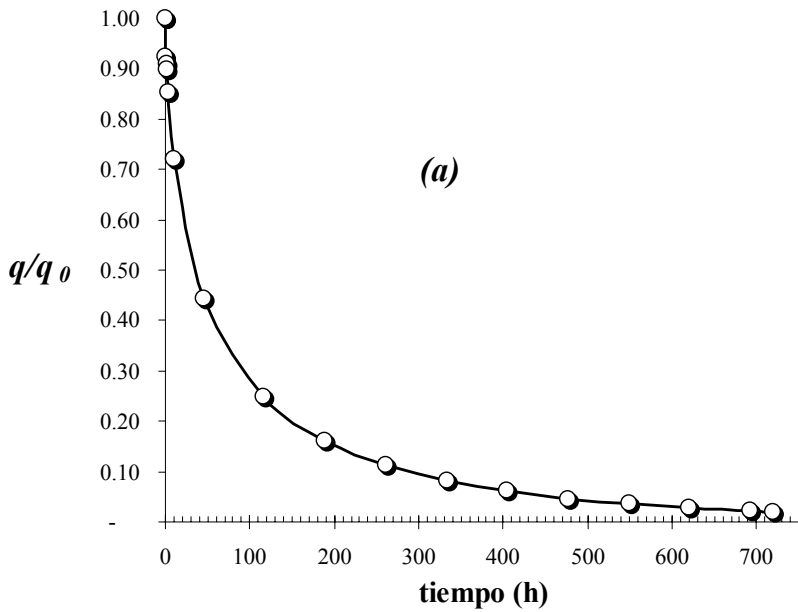


Tabla 5.24 Valores de los números adimensionales en la simulación de la biodegradación aerobia de HTPs en el BLD sin limitaciones de biodisponibilidad

B_{nI}	B_{nII}	Bi_m	η
1018	7	143	0.00001

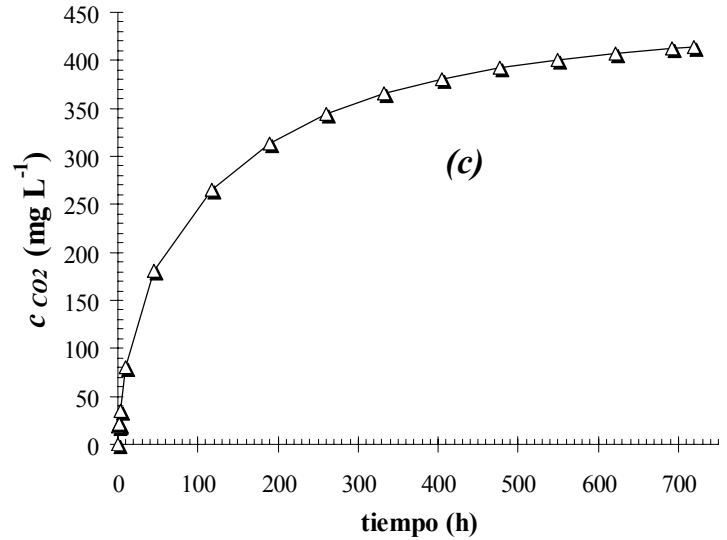
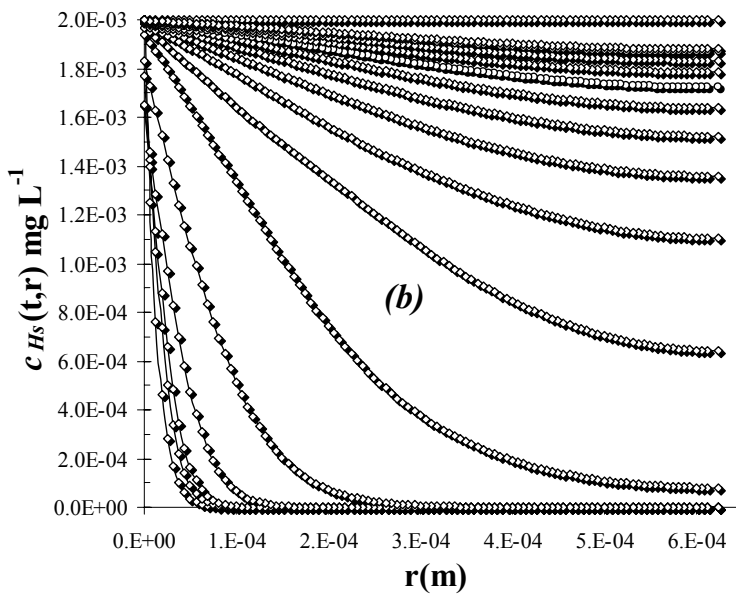


Figura 5.31 Simulaciones del modelo DSB para la biodegradación de HTPs en el BLD sin limitaciones en la biodisponibilidad. (a) Simulación del modelo en la fracción residual de HTPs en suelo (q/q_0) donde (O) corresponde a los datos experimentales y (—) al modelo; (b) simulación del modelo en los perfiles de concentración de los HTPs al interior de la partícula del *suelo artificial*, y (c) simulación del modelo en la evolución del CO_2 .

Para la segunda simulación, se determinó el efecto en el control de la biodisponibilidad debido a la difusión radial de los hidrocarburos. En esta simulación, la tasa de transporte por convección en la interfase, nuevamente fue mayor a las tasas de difusión ($Bi_m > 1$) y biorreacción ($B_{nI} > 1$). Sin embargo, en esta ocasión, la tasa de difusión fue menor a la de biorreacción ($B_{nII} < 1$) al utilizarse un valor menor de la difusividad efectiva (el cual cambio de 1.534×10^{-7} a $7.67 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ h}^{-1}$) y uno mayor del tamaño de partícula (el cual cambio de 625×10^{-6} a $1250 \times 10^{-6} \text{ m}$). Los valores de los parámetros de la cinética de biodegradación fueron iguales a los de la **sección 5.4.3.2** (sin

pretratamiento con tolueno). De manera similar, se conservaron los mismos valores de q_{max} y K_{af} utilizados en la primera simulación (re-adsorción despreciable, $\eta \rightarrow 0$). Los valores de los números adimensionales y las simulaciones del modelo en la biodegradación de los HTPs en el BLD con limitaciones en la biodisponibilidad vía difusión radial, se muestran en la **Tabla 5.25** y la **Figura 5.32**.

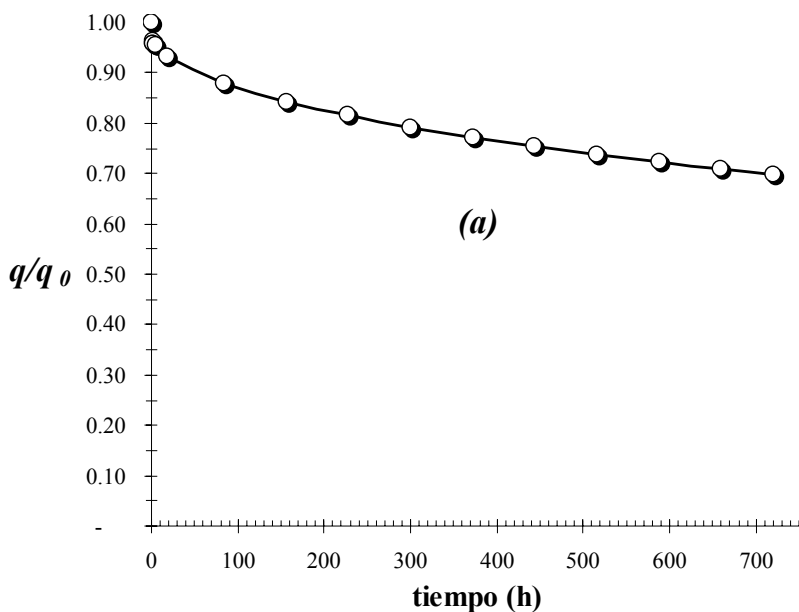


Tabla 5.25 Valores de los números adimensionales en la simulación de la biodegradación aerobia de HTPs en el BLD con limitación en la biodisponibilidad por difusión radial.

B_{nI}	B_{nII}	Bi_m	η
509	0.089	5704	0.00001

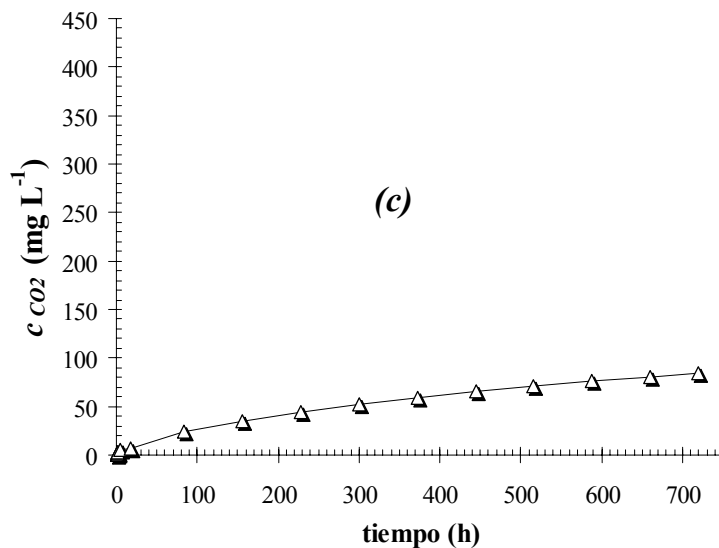
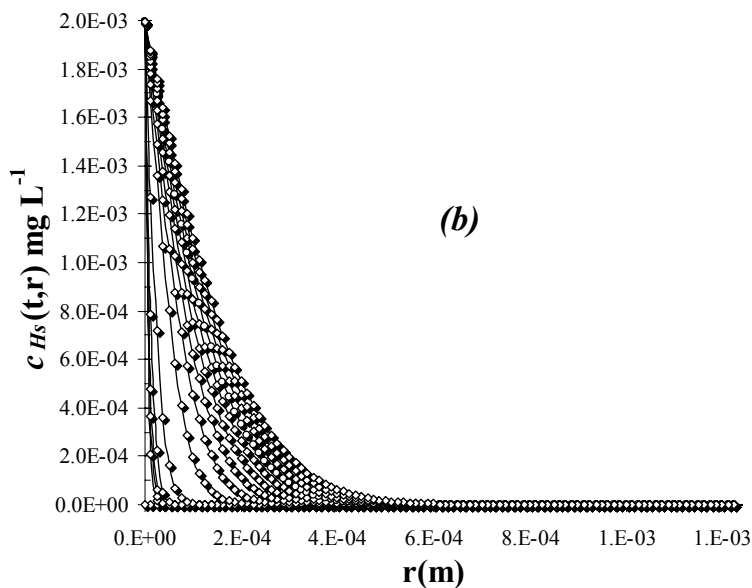


Figura 5.32 Simulaciones del modelo DSB para la biodegradación de HTPs en el BLD con limitaciones en la biodisponibilidad debido a la difusión radial. (a) Simulación del modelo en la fracción residual de HTPs en suelo (q/q_0) donde (O) corresponde a los datos experimentales y (—) al modelo; (b) simulación del modelo en los perfiles de concentración de los HTPs al interior de la partícula del *suelo artificial*, y (c) simulación del modelo en la evolución del CO_2 .

Las simulaciones mostradas en la **Figura 5.32**, muestran que limitaciones en la biodisponibilidad debido a una resistencia a la difusión radial, conducen a una disminución significativa en el nivel de biodegradación de manera similar al efecto del control de la biodisponibilidad por el equilibrio de re-adsorción. El modelo pronostica, que un aumento en el tamaño de partícula y/o una disminución de la difusividad efectiva, conducen a una mayor retención de los hidrocarburos al interior de las partículas de *suelo artificial* (tal como lo muestra la **Figura 5.32 b** para los perfiles de concentración), así como a una baja producción de CO₂ (**Figura 5.32 c**).

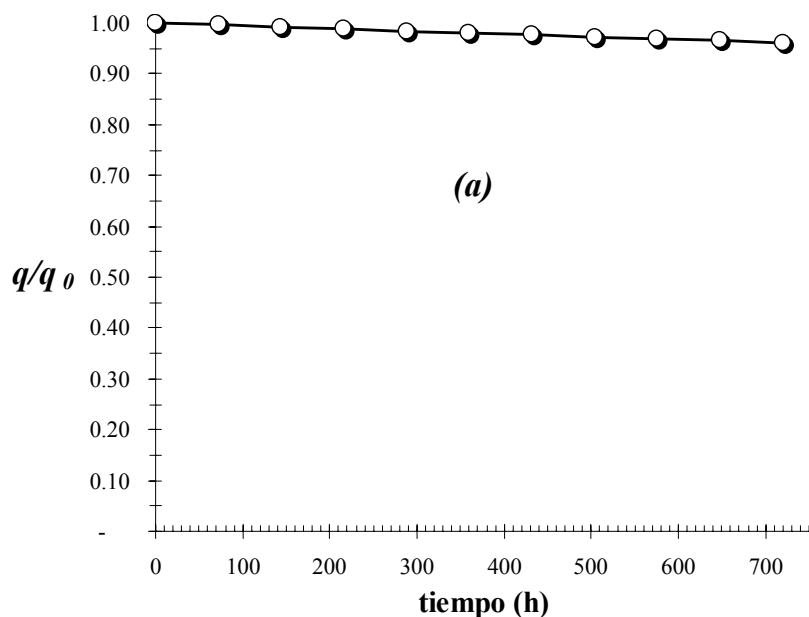


Tabla 5.26 Valores de los números adimensionales en la simulación de la biodegradación aerobia de HTPs en el BLD con limitación en la biodisponibilidad por convección.

B_{nl}	B_{nll}	Bi_m	η
0.102	7	0.014	0.00001

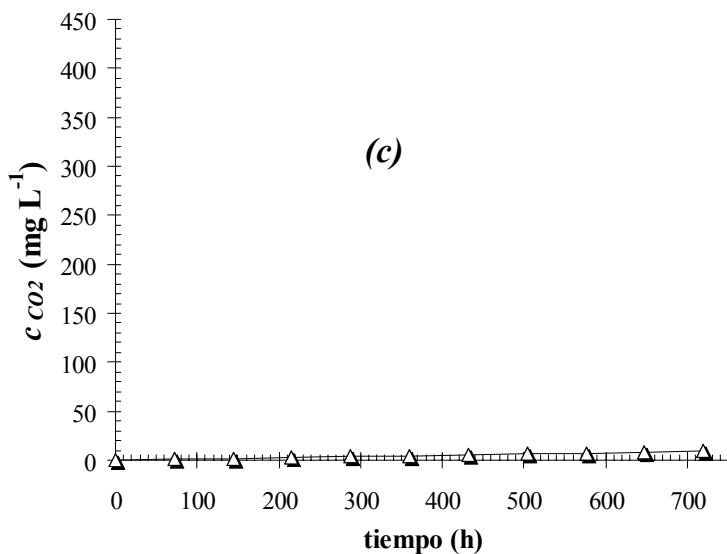
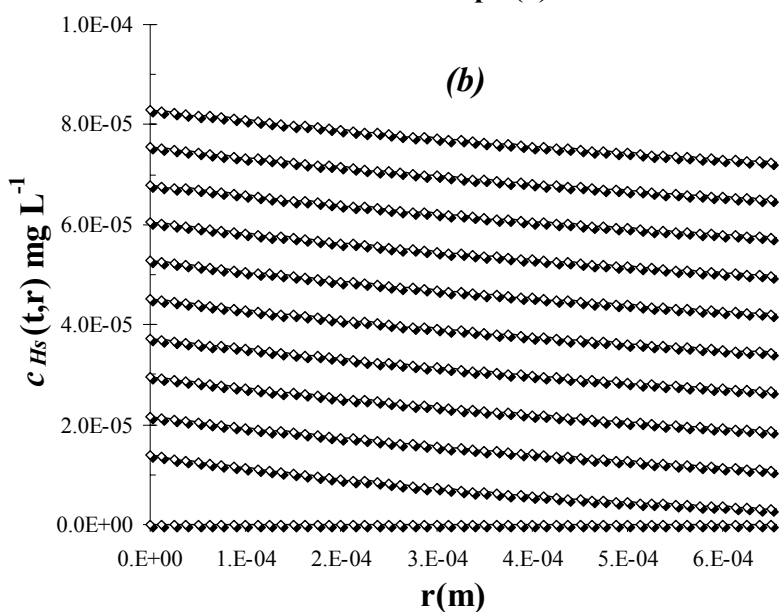


Figura 5.33 Simulaciones del modelo DSB para la biodegradación de HTPs en el BLD con limitaciones en la biodisponibilidad debido al transporte por convección en la interfase sólido-líquido. (a) Simulación del modelo en la fracción residual de HTPs en suelo (q/q_0) donde (O) corresponde a los datos experimentales y (—) al modelo; (b) simulación del modelo en los perfiles de concentración de los HTPs al interior de la partícula del *suelo artificial*, y (c) simulación del modelo en la evolución del CO₂.

En la tercera y última simulación, se determinó el efecto en el control de la biodisponibilidad debido a el transporte por convección de los hidrocarburos en la interfase sólido-líquido. En esta simulación, la tasa de transporte por convección, fue menor a las tasas de difusión ($Bi_m < 1$) y biorreacción ($B_{nl} < 1$) al cambiar su valor de 3.5×10^{-2} a $3.5 \times 10^{-6} \text{ m h}^{-1}$. La difusión efectiva y el tamaño de partícula volvieron a sus valores originales, por lo que la tasa de difusión fue mayor a la de biorreacción ($B_{nl} > 1$). Nuevamente, los valores de los parámetros cinéticos y del equilibrio de re-adsorción fueron los mismos. Los valores de los números adimensionales y las simulaciones del modelo en la biodegradación de los HTPs en el BLD con limitaciones en la biodisponibilidad vía transporte por convección en la interfase, se muestran en la **Tabla 5.26** y la **Figura 5.33**.

Las simulaciones mostradas en la **Figura 5.33**, muestran que el valor necesario en el coeficiente de transporte por convección para que la tasa de transporte en la interfase limite la biodisponibilidad, produce una disminución aún mayor en la magnitud de la biodegradación, que los controles en la biodisponibilidad vía la difusión radial ó el equilibrio de re-adsorción. Sin embargo, a diferencia de estos dos últimos, la resistencia al transporte vía el coeficiente de transferencia por convección, es un parámetro que puede ser modificado con relativa facilidad en base a la agitación. Para esta simulación, el modelo pronostica que una disminución fuerte en el coeficiente de transporte por convección, produce una baja producción de CO_2 (**Figura 5.33 c**), y genera perfiles de concentración lineales con una alta retención de los hidrocarburos solubles al interior de las partículas del *suelo artificial* (**Figura 5.33 b**).

Se desarrolló un modelo de difusión-sorción-biodegradación (DSB) capaz de predecir y describir la biodegradación de HTPs de un suelo intemperizado en un BLD. La principal aportación del modelo, radicó en considerar un fenómeno de histéresis en los poros al interior de las partículas de suelo, en donde la trayectoria del equilibrio inicial de *des-adsorción* y *solubilización* de los HTPs (isoterma lineal), es diferente a la trayectoria de un segundo equilibrio de *re-adsorción* (isoterma de Langmuir). Además, el considerar para el segundo equilibrio una isoterma de tipo Langmuir, permitió explicar de manera clara el fenómeno de difusión retardada por *re-adsorción*. Finalmente, el presente modelo, puede servir de plataforma para el desarrollo tanto de criterios de escalamiento y diseño, como para la determinaciones de las mejores condiciones de operación para la biodegradación de HTPs en suelos intemperizados, mediante biorreactores de lodos.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 CONCLUSIONES

I. La operación secuencial en condiciones de limitación de oxígeno de biorreactores de dos fases no miscibles líquido-líquido, permitió mejorar de manera significativa, la capacidad de un consorcio microbiano para biodegradar una mezcla de crudo maya y parafinas. Además, bajo estas condiciones, en los biorreactores se produjo un patrón de biodegradación estable a partir del cuarto ciclo de operación de los biorreactores.

II. El consorcio microbiano enriquecido, proveniente de los biorreactores de dos fases no miscibles líquido-líquido, también mostró ser capaz de biodegradar y mineralizar sin inhibición, a una mezcla hidrocarburos totales del petróleo libre de asfaltenos y procedente de un suelo con alto nivel de intemperización.

III. Se desarrolló un modelo fenomenológico, basado en la biorreacción en fase líquida acuosa y el transporte por convección de hidrocarburos y oxígeno en las interfases líquido-líquido y líquido-gas respectivamente. El modelo, fue capaz de describir con una precisión razonable, la biodegradación de la mezcla de crudo maya parafinas en los biorreactores de dos fases no miscibles líquido-líquido. Además, el modelo también permitió proyectar el comportamiento del biorreactor bifásico, bajo diferentes condiciones de operación bióticas y abióticas.

IV. Los estudios de consumo de potencia y suspensión de sólidos llevados a cabo para un grupo de tres tipos de impulsores Rushton de paletas planas en la caracterización abiótica del biorreactor de lodos, mostraron que sin aireación y con aireación, el impulsor de flujo descendente con paletas planas y 45° de inclinación, fue el que presentó el mejor desempeño. En cuanto a carga de sólidos y gasto de aire, fue el que produjo los consumos más bajos de potencia, y los intervalos de velocidad del impulsor más amplios para la suspensión efectiva de los sólidos.

V. Los estudios de transporte por convección de oxígeno realizados en el biorreactor de lodos para cargas de sólidos hasta de un 10% p/v, mostraron que el dominio en los valores de la velocidad del impulsor (N en min^{-1}) y gasto de aire (Q L min^{-1}), en los que se alcanzan los valores más altos del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno ($k_L a$), son $425 \leq N \leq 445$ y $5.25 \leq Q \leq 6.25$.

VI. Se desarrolló un modelo de difusión-sorción-biodegradación (DSB) capaz de predecir y describir la biodegradación de hidrocarburos totales del petróleo de un suelo intemperizado en un biorreactor de lodos. El modelo consideró un fenómeno de histéresis en los poros al interior de las partículas de suelo, en donde la trayectoria del equilibrio inicial de *des-adsorción* y *solubilización* de los HTPs (isoterma lineal), es diferente a la trayectoria de un segundo equilibrio de *re-adsorción* (isoterma de Langmuir). Además, el considerar para el segundo equilibrio una isoterma de tipo Langmuir, permitió explicar de manera clara el fenómeno de difusión retardada. Finalmente, el presente modelo, puede servir de plataforma para el desarrollo tanto de criterios de diseño, como para la determinación de las mejores condiciones de operación para la biodegradación de HTPs en suelos intemperizados, mediante biorreactores de lodos.

6.2 RECOMENDACIONES

I. Un aspecto importante es el seguimiento en los cambios de las poblaciones microbianas del consorcio al interior de biorreactores de dos fases inmiscibles líquido-líquido, mediante técnicas de biología molecular. Esto permitiría inferir el efecto de la operación por lote secuencial bajo limitación de oxígeno sobre la adaptación, estabilización y enriquecimiento del consorcio, viendo a todos estos procesos como herramientas para el mejoramiento de la biodegradación de hidrocarburos vía el biocatalizador.

II. Otro punto de desarrollo, es la estimación simultánea de los coeficientes volumétricos de transferencia de oxígeno e hidrocarburos bajo diferentes condiciones de operación en los biorreactores de dos fases inmiscibles líquido-líquido. Esto conduciría a una mayor comprensión de los mecanismos de biodisponibilidad, así como en una determinación más precisa de la biodegradación aerobia de los hidrocarburos.

III. Un tercer aspecto es referente al uso y/o desarrollo de técnicas experimentales que permitan determinar las isotermas de los equilibrios de adsorción de los hidrocarburos en los poros de las partículas del suelo contaminado. Esto conduciría a una estimación más precisa de los parámetros y trayectorias del mecanismo de adsorción, y por lo tanto al establecimiento de mejores criterios para el proceso de biodegradación aerobia de hidrocarburos en un biorreactor de lodos.

REFERENCIAS

7. REFERENCIAS

AlAalam, E. S., Pauss, A., Lebeault, J.M. 1993. High efficiency styrene biodegradation in a biphasic organic/water continuous reactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **39**: 696-699.

Annual Book of ASTM Standards. 1991. Standard test method for characteristic groups in rubber extender and processing oils and other petroleum-derived oils by the clay-gel absorption chromatographic method. Designation:D2007-91: 693-699.

Ascon-Cabrera, M. y Lebeault, J.M. 1995. Cell hydrophobicity influencing the activity/stability of xenobiotic degrading microorganisms in a continuous biphasic aqueous-organic system. *J. Ferment. Technol.* **80**: 270-275.

Atlas, R.M. y Bartha, R. 2002. Ecología microbiana y microbiología ambiental. *Addison Wesley*. Madrid, España.

Baldi, G., Conti, R., Alaria, E. 1978. Complete suspension of particles in mechanically agitated vessels. *Chem. Eng. Sci.* **33**: 21-25.

Barkowski, A. y Adriaens, P. 1995. Biological and abiotic dechlorination of highly chlorinated dioxins in biphasic microcosms. In *Bioremediation of Recalcitrant Organics*. (Hinchee, R.R., Ed). *Battelle Press*. **7**: 73-82.

Beurskens, J.E.M., Dekker, C.G.C., Jonkhoff, J., Pompstra, L. 1993. Microbial dechlorination of hexachlorobenzene in a sedimentation area of the Rhine river. *Biogeochemistry*. **19**: 61-81.

Bitton, G. y Gerba, C.P. 1984. *Groundwater Pollution Microbiology*. *John Wiley & Sons*, New York.

Blackburn, J.W. y William R. H. 1993. The impact of biochemistry, bioavailability and bioactivity on the selection of bioremediation techniques. *TIBTECH*. **2**: 328-333.

Bosma, T. N. P., Middeldorp, P.J.M., Schraa, G., Zehnder, A.J. 1997. Mass transfer limitation of biotransformation: Quantifying bioavailability. *Environ. Sci. Technol.* **31**: 248-252.

Bouchez, M., Blanchet, D., Vandecasteele, J.P. 1995. Substrate availability in phenanthrene biodegradation: transfer mechanism and influence on metabolism. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **43**: 952-960.

- Braddock, J.F., Walworth, J.L., y McCarthy, K.A. 1999. Biodegradation of aliphatic vs aromatic hydrocarbons in fertilized arctic soils. *J. Bioremediation*. **2**: 105- 116.
- Brindle K. y Stephenson T. 1996. The application of membrane biological reactors for the treatment of wastewaters. *Biotechnol Bioeng*. **49**: 601-610.
- Castaldi, F.J. 1994. Slurry bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil wash concentrates. *Applied Biotechnology for site remediation*. 99-109.
- Cepeda, D.J. 1991. Química de suelos. *Ed. Trillas*, México D.F.
- Collins, L.D. y Daugulis, A.J. 1999. Simultaneous biodegradation of benzene, toluene and p-xylene in a two phase partitioning bioreactor; concept demonstration and practical application. *Biotechnol. Prog.* **15**: 74-80.
- Cookson, J.T. Jr .1995. Bioremediation Engineering. *McGraw-Hill Publishing Company*, New York.
- Coty, V.F. y Leavitt, R.I. 1999. Microbial protein from hydrocarbons. *J. Ind. Microbiol. & Biotech.* **22**: 259-269.
- Cruickshank, S.M., Daugulis, A.J., McLellan, P.J. 2000. Dynamic modeling and optimal fed-batch feeding strategies for a two-phase partitioning bioreactor. *Biotechnol. Bioeng.* **67**: 224-233.
- Chaíneau, C.H., Morel, J.L., Oudot, J. 1995. Microbial degradation in soil microcosms of fuel oil hydrocarbons from drilling cuttings. *Environ. Sci. Technol.* **29**:1615-1621.
- Chiou, C.T. 1989. Reaction and movement of organic chemicals in soils. *Soil Science Society of America*, Madison, WI.
- Chudacek, M.W. 1985. Solids suspension behaviour in profiled bottom and flat bottom mixing tanks. *Chem. Eng. Sci.* **40**: 385-392.
- Chung, G.Y., McCoy, B.J., Scow, K.M. 1993. Criteria to asses when biodegradation is kinetically limited by intraparticle diffusion and sorption. *Biotechnol. Bioeng.* **41**: 625-632.
- Dagley, S. 1986. Biochemistry of aromatic hydrocarbon degradation in *Pseudomonas*. The bacteria. *Academic Press*.
- Dasappa, S.M. y Loehr, R.C. 1991. Toxicity reduction in contaminated soil bioremediation processes. *Wat. Res.* **25**: 1121-1130.

- Daugulis, A.J. 2001. Two-phase partitioning bioreactors: a new technology platform for destroying xenobiotics. *Trends. Biotechnol.* **19**:457-462.
- DelValls, A. 2003. The oil spill produced by the tanker Prestige (13/11/2002): Impact assessment of the northwest coast of the Iberian Peninsula. *Ciencias Marinas.* **29**: 1-3.
- Díaz, G.G., Vázquez, B.A., Ponce, V.G. 1993. Hidrocarburos Poli aromáticos en áreas costeras del Golfo de México. *Revista interna de Hidrobiología Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.* **3**:1-15.
- Díaz-Ramírez, I.J., Ramírez-Saad, H., Gutiérrez-Rojas, M., Favela-Torres, E. 2003. Biodegradation of Maya crude oil fractions by bacterial strains and a defined mixed culture isolated from *Cyperus laxus* rhizosphere soil in a contaminated site. *Can. J. Microbiol.* **49**:755-761.
- Dhawan, S., Fan, L.T., Erickson, L.E., Tuitemwong, P. 1991. Modeling, analysis, and simulation of bioremediation of soil aggregates. *Environ. Prog.* **10**: 251-260.
- Doelle, H.W., Mitchell D.A., Rolz, C.E 1992. Solid substrate cultivation. *Ed. Elsevier Applied Science*, London and New York.
- Egli, T., Lendenmann, U., Snozzi, M. 1993. Kinetics of microbial growth with mixtures of carbon sources. *Antoine van Leeuwenhoek.* **63**: 289-298.
- Environmental Protection Agency. 1994. EPA Method 3540, Soxhlet Extraction. Office of Solid Waste. Washington, D.C.
- Eriksson, M., Sodersten, E., Yu, Z., Dalhammar, G., Mohn, W. 2003. Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons at Low Temperature under Aerobic and Nitrate-Reducing Conditions in Enrichment Cultures from Northern Soils. *Appl Environ Microbiol.* **69**: 275-284
- Espinat, D. 1993. Colloidal structure of asphaltene solutions and heavy-oil fractions studied by small-angle neutron and X-ray scattering. SPE No. 25187. New Orleans. 365-373.
- Fowkes, F.M 1964. Attractive forces at interfaces. *Ind. Eng. Chem.* **56**: 40-52.
- Frijlink, J.J., Bakker, A., Smith, J.M. 1990. Suspension of solid particles with gassed impellers. *Chem. Eng. Sci.* **45**: 1703-1718.

Fu, C., Pfanstiel, S., Gao, C., Yan, X., Goving, R. 1996. Studies on contaminant biodegradation in slurry, wafer, and compacted soil tube reactors. *Environ. Sci. Technol.* **30**: 743-750.

Fujio, Y., Sambuichi, M., Ueda, S. 1973. Numerical method of the determination of k_{La} and respiration rate in biological system. *J. Ferment. Technol.* **51**: 154-158.

Gallegos-Martínez, M., Gómez Santos, A., González Cruz, L., Montes de Oca García, M. A., Yañez Trujillo, L., Zermeño Eguía Lis, J.A., Gutierrez-Rojas, M. 2000. Diagnostic and resulting approaches to restore petroleum-contaminated soil in a Mexican tropical swamp. *Water Sci. Technol.* **42**: 377-384.

García-Rivero, M., Saucedo-Castañeda, G., Flores De Hoyos, S., Gutierrez-Rojas, M. 2002. Mass transfer and hydrocarbon biodegradation of aged soil in slurry phase. *Biotechnol. Prog.* **18**: 728-733.

Geankoplis, C.J. 1999. Procesos de transporte y operaciones unitarias. *C.E.C.S.A.* México, D.F.

Geerdink, M.J., Van Loosdrecht, M.C.M., Luyben, K.CH. 1996. Model for microbial degradation of nonpolar organic contaminants in a soil slurry reactor. *Environ. Sci. Technol.* **30**: 779-786.

Ghoshal, S. y Luthy, R.G. 1998. Biodegradation kinetics of naphthalene in nonaqueous phase liquid-water mixed batch systems. Comparison of model predictions and experimental results. *Biotechnol. Bioeng.* **57**: 356-366.

Gibson, S.A. y Subramanian, V. 1984. Microbial Degradation of Aromatic Hydrocarbons. In *Microbial degradation of organic compounds.* (Gibson, D.T & Marcel, D Eds). New York. 181-252.

Gray, M.R., Banerjee, D.K., Dudas, M.J., Pickard, M.A. 2000. Protocols to enhance biodegradation of hydrocarbons contaminants in soil. *J. Bioremediation.* **4**: 249-257.

Guha, S., Peters, C.A., Jaffé, P.R. 1999. Multisubstrate biodegradation kinetics of naphthalene, phenanthrene, and pyrene mixtures. *Biotechnol. Bioeng.* **65**: 491-499.

Guyse, B., Cirne, MDTG., Mattiasson, B. 2001. Microbial degradation of phenanthrene and pyrene in a two-liquid phase-partitioning bioreactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **56**: 796-802.

Harder, W. y Dijkhuizen, L. 1983. Physiological responses to nutrient limitation. *Annu.Rev.Microbiol.* **37**: 1-23.

Harms, H. y Bosma, T.N.P. 1997. Mass transfer limitation of microbial growth and pollutant degradation. *J Ind. Microbiol.* **18**:87-105.

Himmelblau, D.M. y Bischoff, K. 1992. Análisis y simulación de procesos. *Reverte*. Barcelona.

Hoffman, J. 1992. Numerical methods for Engineers and Scientists. *McGraw-Hill*. New York.

Huesemann, M.H., Hausmann, T.D., Fortman, T.J. 2002. Microbial factors rather than bioavailability limit the rate and extent of PAH biodegradation in aged crude oil contaminated model soils. *J. Bioremediation.* **6**: 321-336.

Janikowski, T.B., Velicogna, D., Punt, M., Daugulis, A.J. 2002. Use of a two-phase partitioning bioreactor for degrading polycyclic aromatic hydrocarbons by *Sphingomonas* sp. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **59**: 368-376.

Jimenez, I.Y. y Bartha, R. 1996. Solvent-augmented mineralization of pyrene by a *Mycobacterium* sp. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**: 2311-2316.

Jonge, H., Freijer, J.I., Verstraten, J.M., Westerveld, J., Wielen V.F.W. 1997. Relation between bioavailability and fuel oil hydrocarbon composition in contaminated soils. *Environ. Sci. Technol.* **31**: 771-775.

Karimi-Lotfabad, S., Pickard, M.A., Gray, M.R. 1996. Reactions of polynuclear aromatic hydrocarbons on soil. *Environ. Sci. Technol.* **30**: 1145-1151.

Ko, S.H. y Lebeault, J.M. 1999. Effect of a mixed culture on co-oxidation during the degradation of saturated hydrocarbon mixture. *J. Appl. Microbiol.* **87**: 72-79.

Kohler, A., Schuttoff, M., Bryniok, D., Knackmub, H. 1994. Enhanced biodegradation of phenanthrene in a biphasic culture system. *Biodegradation.* **5**:93-103.

Komancová, M., Jurová, I., Kochánková, L., Burkhard, J. 2003. Metabolic pathways of polychlorinated biphenyls degradation by *Pseudomonas* sp. 2. *Chemosphere.* **50**:537-543

Krüger, M., Harrison, B., Betts, W.B. 1995. Treatment of hydrocarbons contaminated soil using a rotating drum bioreactor. *Microbios.* **83**: 243-247.

- Kumamaru, T., Suenaga, H., Mitsuoka, M., Watanabe, T., Furukawa, K. 1998. Enhanced degradation of polychlorinated biphenyls by directed evolution of biphenyl dioxygenase. *Nat Biotechnol.* **16**: 663-666.
- Langbehn, A. y Steinhart, H. 1995. Biodegradation studies of hydrocarbons in soils by analyzing metabolites formed. *Chemosphere.* **30**: 855-868.
- Lauch, R.P. y Herrmann, J.G. 1992. Removal of creosota from soil by bioslurry reactors. *Environ. Prog.* **11**:265-271.
- Lee, S. y Cutright, T. 1997. Nutrient medium for the bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soil. *Biotechnol. Adv.* **15**:307-308
- Lewis, R.F. 1993. SITE demonstration of slurry-phase biodegradation of PAH contaminated soil. *Air & Waste.* **43**: 503-508.
- Lorch, H.J., Benckieser, G., Ottow, J.C.G. 1995. Basic methods for counting microorganisms in soil and water. In Alef and Nannipieri (Ed) Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. *Academic Press.* Great Britain.
- Luedeking, R. y Piret, E.L. 1959. A kinetic study of the lactic acid fermentation batch process at controlled pH. *J. Biochem. Microbiol. Tech. & Eng.* **1**:393-397.
- Luthy, R.G., Aiken, G.R., Brusseau, M.L., Cunningham, S.D., Gschwend, P.M., Pignatello, J.J., Reinhard, M., Traina, S.J., Weber, W.J., Westall, J.C. 1997. Sequestration of hydrophobic organic contaminants by geosorbents. *Environ. Sci. Technol.* **31**: 3341-3347.
- Mansoori, G.A 1996. Asphaltene, resin, and wax deposition from petroleum fluids. *J. Arab Sci & Eng.* **21**: 707-723.
- Marcoux, J., Déziel, E., Villemur, R., Lépine, F., Bisailon J.G., Beauder, K. 2000. Optimization of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons degradation in a two-liquid-phase bioreactor. *J. Appl. Microbiol.* **88**:645-652.
- Márquez, R.F.J., Hernández, R.V., Lamela, M.T. 2001. Biodegradation of diesel oil in soil by a microbial consortium. *Water Air Soil Poll.* **128**:313-320.
- Martin, A 1994. Biodegradation and Bioremediation. *Academic Press. Inc* San Diego California.

Mateles, R.I., Chian, S.K., Silver, R. 1967. Continuous culture on mixed substrates. In *Microbial Physiology and Continuous Culture* (Powell, E.O., Evans, C.G.T., Strange, R.E., Tempest, D.W. Eds). London.

Medina-Moreno, S.A., Huerta-Ochoa, S., Gutiérrez-Rojas, M. 2005. Hydrocarbon biodegradation in oxygen-limited sequential batch reactors by consortium from weathered, oil-contaminated soil. *Can. J. Microbiol.* **51** :231-239

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.

Mulder, H., Breure, A.M., Rulkens, W.H. 2001. Prediction of complete bioremediation periods for PAH soil pollutants in different physical states by mechanistic models. *Chemosphere.* **43**: 1085-1094.

Nielsen, R.D., Daugulis, J.A., McLellan, P.J. 2003. A novel method of simulating oxygen mass transfer in two-phase partitioning bioreactors. *Biotechnol Bioeng.* **83**: 735-742.

Nienow, A.W. 1968. Suspension of solid particles in turbine agitated baffled vessels. *Chem. Eng. Sci.* **23**: 1453-1459.

Ou, L., Joy, P., Thomas, J.E., Hornsby, A.G. 1997. Stimulation of microbial degradation of methyl bromide in soil during oxidation of an ammonia fertilizer by nitrifiers. *Environ. Sci. Technol.* **31**: 717-722.

Palittapongarnpim, M., Pokethitiyook, P., Upatham, E.S., Tangbanlueka, L. 1998. Biodegradation of crude oil by soil microorganisms in the tropic. *Biodegradation.* **9**: 83-90.

Parvatiyar, M.G., Govind, R., Bishop, D.F. 1996. Treatment of trichloroethylene (TCE) in a membrane biofilter. *Biotechnol Bioeng.* **50**: 57--64.

Pendrys, J.P. 1989. Biodegradation of asphalt Cement-20 by aerobic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**:1357-1362.

Peralta, P.M.R. 2001. Obtención y caracterización de un soporte sólido modelo para el estudio del metabolismo de hongos filamentosos degradadores de fenantreno. Tesis Doctorado Biotecnología (UAM-Iztapalapa). México, D.F.

Pineda-Flores, G. y Mesta-Howard, A.M. 2001. Petroleum asphaltenes: generated problematic and possible biodegradation mechanisms. *Microbiología.* **43**: 143-150.

- Potter, T.L. y Duval, B. 2001. Cerro Negro bitumen degradation by a consortium of marine benthic microorganisms. *Environ. Sci. Technol.* **35**: 76-83.
- Puskas, K., Al-Awadhi, N., Abdullah, F., Literathy, P. 1995. Remediation of oil-contaminated sandy soil in a slurry reactor. *Environ. Int.* **21**: 413-421.
- Raghav, R. y Joshi, J.B. 1988. Liquid-phase mixing and power consumption in mechanically agitated solid-liquid contactors. *J. Chem. Eng.* **39**: 111-124.
- Rainwater, K. y 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). 3:107-122.
- Ramaswami, A. y Luthy, R. G. 1997. Mass transfer and bioavailability of PAH compounds in coal tar NAPL-slurry systems. 1. Model development. *Environ. Sci. Technol.* **31**:2260-2267.
- Raymond, R.L. 1999. Microbial oxidation of n-paraffinic hydrocarbons. *J. Ind. Microbiol. & Biotechnol.* **22**: 206-215.
- Rewatkar, V., Raghav, R., Joshi, J.B. 1991. Critical impeller speed for solid suspension in mechanically agitated three-phase reactors. 1. Experimental part. *Ind. Eng. Chem. Res.* **30**: 1770-1784.
- Rijnaarts, H.M., Bachmann, A., Jumelet, J.C., Zehnder, A.J. 1990. Effect of desorption and intraparticle mass transfer on the aerobic biomineralization of α -hexachlorocyclohexane in a contaminated calcareous soil. *Environ. Sci. Technol.* **24**: 1349-1354.
- Rosell, C.M., Vaidya, A.M., Halling, P.J. 1996. Continuous in situ water activity control for organic phase biocatalysis in a packed bed hollow fiber reactor. *Biotechnol Bioeng.* **49**: 284-289.
- Salanitro, J.P., Dorn, P.B., Huesemann, M.H., Moore, K.O., Rhodes, I.A., Jackson, L.M.R., Vipond, T.E., Western, M.M., Wisniewski, H.L. 1997. Crude oil hydrocarbon bioremediation and soil ecotoxicity assessment. *Environ. Sci. Technol.* **31**: 1769-1776.
- Salkinoja-Salonen, M.S., Middeldorp, P.J.M., Briglia, M., Valo, R.J., Haggblom, A., MacBain, A., Apajalahti, J.H.A. 1989. Cleanup of old industrial sites. In: Advances in Applied Biotechnology (Kamely, D., Chakrabarry, A., Omenn, G. Eds). Houston, TX. 347-365.

- Schiesser, W.E. 1991. The numerical method of lines: Integration of partial differential equations. *Academic Press*. San Diego.
- Schuring, D., Koriabkina, A.O., Jong, A.M., Smit, B., Santen, R.A. 2001. Adsorption and Diffusion of n-Hexane/2-Methylpentane mixtures in zeolite silicalite: Experiments and modeling. *J. Phys. Chem.* **105**: 7690-7698.
- Schwarzenbach, R.P., Gschwend, P.M., Imboden, D.M. 1993. Environmental organic chemistry. *John Wiley & Sons*, New York.
- Sekelsky, A.M. y Shreve, G.S. 1999. Kinetic model of biosurfactants-enhanced hexadecane biodegradation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Biotechnol. Bioeng.* **63**: 401-409.
- Silver, R.S. y Mateles, R.I. 1969. Control of mixed-substrate utilization in continuous culture of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **97**: 535-543.
- Solano, S.F., Marchal, R., Ropars, M., Lebeault, J.M., Vandecasteele, J.P. 1999. Biodegradation of gasoline: kinetics, mass balance and fate of individual hydrocarbons. *J. Appl. Microbiol.* **86**: 1008-1016.
- Strausz, P.O., Mojelsky, W. T., Faraji, F., Lown, M. E., Peng, P. 1999. Additional structural details on Athabasca asphaltene and their ramifications. *Energ. Fuel.* **13**: 207-227.
- Sugai, S. F., Lindstrom J.E., Braddock, J.F. 1997. Environmental influences on the microbial degradation of Exxon Valdez oil on the shorelines of Prince William Sound, Alaska. *Environ. Sci. Technol.* **31**:1564-1572.
- Sugiura, K., Ishihara, M., Shimauchi, T., Harayama, S. 1997. Physicochemical properties and biodegradability of crude oil. *Environ. Sci. Technol.* **31**: 45-51.
- 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. 131-180.
- Van Brakel, J. y Heertjes, P.M. 1974. Analysis of diffusion in macroporous media in terms of a porosity, a tortuosity and a constrictivity factor. *Int. J. Heat. Mass Transfer.* **17**: 1093-1103.
- Van Hamme, J.D. y Ward, O.P. 1999. Influence of chemical surfactants on the biodegradation of crude oil by a mixed bacterial culture. *Can. J. Microbiol.* **45**:130-137.

- Van Hamme, J.D., Odumeru, J.A., Ward, O.P. 2000. Community dynamics of a mixed-bacterial culture growing on petroleum hydrocarbons in batch culture. *Can. J. Microbiol.* **46**:441-450.
- Veldkamp, H. y Jannasch, H.W. 1972. Mixed culture studies with the chemostat. *J. Appl. Chem. Biotechnol.* **22**: 105-123.
- Venkateswaran, K. y Harayama, S. 1995. Sequential enrichment of microbial populations exhibiting enhanced biodegradation of crude oil. *Can. J. Microbiol.* **41**: 767-775.
- 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.* **55**: 2960-2964.
- Weissenfels, W.D., Klewer, H.L., Langhoff, J. 1992. Adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH's) by soil particles-influence on biodegradability and biotoxicity. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **36**: 689-696.
- Wrenn, B.A. y Venosa, A.D. 1996. Selective enumeration of aromatic and aliphatic hydrocarbon degrading bacteria by a most-probable number procedure. *Can. J. Microbiol.* **42**: 252-258.
- Yamane, A., Sakakibara, K., Hosomi, M., Murakami, A. 1997. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons in estuarine sediment of Tamaya river in Tokyo urban aera. *Wat. Sci. Tech.* **35**: 69-76.
- 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. y Edward, J.B. 1993. Bioremediation of organic compounds, putting microbial metabolism to work. *TIBTECH.* **2**: 360-367.
- Zwietering, T.N. 1958. Suspending of solid particles in liquid by agitators. *Chem. Eng. Sci.* **8**: 244-248.

ANEXOS

ANEXO I. Nomenclatura

A continuación, se presenta la nomenclatura más importante utilizada a lo largo de la Tesis. Para los modelos y fórmulas correspondientes a los trabajos de los diferentes autores mencionados en la revisión bibliográfica, se conservó su nomenclatura original, y esta, se indica directamente en el texto.

PARÁMETROS Y VARIABLES DIMENSIONALES

$[MCP]_{exp}^{t_i}$: Concentración experimental de la mezcla de crudo maya y parafinas (MCP) en los BLL ($mg L^{-1}$).

$[MCP]_{residual}^{t_i}$: Concentración residual de la mezcla de crudo maya y parafina (MCP) en las cinéticas de biodegradación en los BLL ($mg L^{-1}$). Obtenida a partir de $\mathfrak{R}_{abiotico}^{t_i}$ y $[MCP]_{exp}^{t_i}$.

α : Constante de formación de producto parcialmente asociado al crecimiento (Leudeking y Piret, 1959) ($mgCOS \cdot mgSS^{-1}$).

β : Constante de formación de producto parcialmente asociado al crecimiento (Leudeking y Piret, 1959) ($mgCOS \cdot (mgSS h)^{-1}$).

ρ_{FLNA} : Densidad de la fase líquida no acuosa ($mg L^{-1}$).

ρ_s : Densidad del suelo ($kg L^{-1}$).

ΔC_{CO_2} : Carbono del CO_2 producido en los BLL ($mgC L^{-1}$).

ΔC_{COS} : Carbono de los metabolitos solubles producido en los BLL ($mgC L^{-1}$).

ΔC_{MCP} : Carbono consumido (degradado) de la mezcla de crudo maya parafinas (MCP) en los BLL ($mgC L^{-1}$).

ΔC_{SS} : Carbono de biomasa y metabolitos no solubles producido en los BLL ($mgC L^{-1}$).

$\mathfrak{R}_{abiotico}^{t_i}$: Tasa experimental volumétrica de pérdida abiótica de hidrocarburos ($mg (L h)^{-1}$).

$\mathfrak{R}_{biodegradación}^{global}$: Tasa global de biodegradación ($mg h^{-1}$).

$\mathfrak{R}_{biodegradación}^{intrinseca}$: Tasa intrínseca de biodegradación ($mg h^{-1}$).

$\mathfrak{R}_{\text{COS}}$: Tasa experimental volumétrica de producción de carbono orgánico soluble (mg (L h)^{-1}) en el biorreactor de dos fases líquido-líquido (BLL).

$\mathfrak{R}_{\text{difusión}}$: Tasa de difusión (mg h^{-1}).

$\mathfrak{R}_{\text{sorción-desorción}}$: Tasa de sorción-desorción (mg h^{-1}).

\mathfrak{R}_{SS} : Tasa experimental volumétrica de producción de sólidos suspendidos (mg (L h)^{-1}) en el biorreactor de dos fases líquido-líquido (BLL).

μ : Tasa específica de formación de biomasa ó SS (h^{-1}).

μ_{max} : Tasa máxima de formación de biomasa ó SS (h^{-1})

a_p : Superficie externa de partícula de suelo (m^2)

A_{FLNA} : Área total de transferencia de la fase líquida no acuosa en el BLL (dm^2).

A_{FG} : Área total de transferencia de la fase gaseosa en el BLL (dm^2).

C_{CO_2} : Concentración de CO_2 producido por unidad de volumen de la FLA (mg L^{-1}).

C_H : Concentración de hidrocarburos solubles en el seno de la FLA (mg L^{-1}).

C_H^* : Concentración de saturación de la mezcla de hidrocarburos en la FLA (mg L^{-1})

C_{H_s} : Concentración de hidrocarburos solubles en el poro de la partícula de suelo (mg L^{-1})

$C_{\text{HTPs}}^{\text{total}}$: Concentración total de hidrocarburos, referida al volumen total de las partículas de suelo (adsorbidos y solubles; mg L^{-1})

C_l : Concentración oxígeno soluble en la FLA (mg L^{-1})

C_l^* : Saturación del oxígeno en FLA (mg L^{-1})

CMC: Capacidad de mineralización del consorcio (%).

C_{sol} : Concentración de metabolitos solubles en la FLA (mg L^{-1})

D_{eff} : Coeficiente de difusividad efectiva ($\text{m}^2 \text{h}^{-1}$)

D_{im} : Diámetro del impulsor (m).

k : Velocidad específica de desaparición abiótica de hidrocarburos ($L^{n-1} \cdot mg^{1-n} h^{-1}$), donde "n" es el parámetro de ajuste en la expresión de la tasa de desaparición abiótica.

K_{af} : Constante de afinidad del suelo por los hidrocarburos en la isoterma de Langmuir ($mg L^{-1}$).

K_d : Coeficiente de reparto (primer equilibrio) de los HTPs entre la FLA al interior del poro y el suelo ($L kg^{-1}$)

K_F : Constante en la isoterma de Freundlich ($L^n kg^{-1} mg^{n-1}$).

K_H : Constante de afinidad del consorcio por los hidrocarburos ($mg L^{-1}$)

K_I : Constantes de afinidad del consorcio por el oxígeno ($mg L^{-1}$)

k_{LH} : Coeficiente convectivo de transferencia de hidrocarburos en el BLL ($dm h^{-1}$)

k_L : Coeficiente convectivo de transferencia de HTPs en la interfase (S-L) ($m h^{-1}$)

$k_L a$: Coeficiente volumétrico de transporte convectivo de oxígeno (h^{-1})

$k_L a_H$: Coeficiente volumétricos de transporte convectivo de hidrocarburos (h^{-1})

m_{FLNA}^0 : Masa inicial ($t=0$) de la fase líquida no acuosa (mg)

m_{FLNA} : Masa de la fase líquida no acuosa a $t > 0$ (mg)

m_s : Carga de suelo en el BLD (kg)

N : Velocidad del impulsor sin aire (min^{-1}).

N_g : Velocidad del impulsor con aire (min^{-1}).

N_s : Velocidad crítica del impulsor sin aireación (min^{-1}).

N_{sg} : Velocidad crítica del impulsor con aireación (min^{-1}).

n_{TP} : Número total de partículas de suelo

P : Potencia sin aireación determinada experimentalmente (Watts).

P_g : Potencia con aireación determinada experimentalmente (Watts).

Q : Gasto volumétrico de la fase gaseosa (aire en $L min^{-1}$)

q : Concentración de hidrocarburos adsorbidos en el suelo ($mg kg^{-1}$).

q_{max} : Constante de adsorción máxima de hidrocarburos en el suelo (mg kg^{-1}).

QO_2 : Tasa específica de consumo de oxígeno ($\text{mg} \cdot (\text{gSS h})^{-1}$)

R : Radio de la partícula de suelo (m)

r : Variable radial de la partícula de suelo (m)

r_{abiot} : Tasa volumétrica de pérdida de hidrocarburos en el BLL (mg (L h)^{-1}).

r_H : Tasa volumétrica de consumo de hidrocarburos en la FLA (mg (L h)^{-1}).

$r_{re-adsorción}$: Tasa de *re-adsorción* de hidrocarburos al interior de la partícula ($\text{mg (L}_{suelo} \text{ h}^{-1})$)

r_x : Tasa volumétrica de formación de biomasa en la FLA (mg (L h)^{-1}).

V_{FLA} : Volumen de la fase líquida acuosa (L).

V_{FLNA} : Volumen de la fase líquida no acuosa (orgánica) (L).

V_{lodo} : Volumen del lodo (L)

V_P : Volumen de los poros en las partículas de suelo (m^3)

$V_{particula}$: Volumen de una partícula de suelo (m^3)

V_S : Volumen de la fase sólida (no porosa) de las partículas de suelo (m^3)

V_T : Volumen total al interior del BLL (L)

x : Concentración de biomasa (consorcio) en el seno de la FLA (mg L^{-1}) expresada para el BLD.

x_{SS} : Concentración de biomasa (consorcio) ó sólidos suspendidos (mg L^{-1}) expresada para el BLL.

$Y_{SS/H}$: Rendimiento sólidos suspendidos-hidrocarburos ($\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1}$) expresado para el BLL.

$Y_{CO_2/SS}$: Rendimiento CO_2 -sólidos suspendidos ($\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1}$) expresado para el BLL.

Y_{SS/O_2} : Rendimiento sólidos suspendidos-oxígeno ($\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1}$) expresado para el BLL.

$Y_{x/H}$: Rendimiento biomasa-hidrocarburos ($\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1}$) expresado para el BLD.

$Y_{CO_2/x}$: Rendimiento CO_2 -biomasa ($\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1}$) expresado para el BLL.

$Y_{sol/x}$: Rendimiento compuestos solubles-biomasa ($\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1}$) expresado para el BLD.

PARÁMETROS Y VARIABLES ADIMENSIONALES

$FC_{\text{final-SS}}$: Fracción final de carbono en los SS del BLL.

$FC_{\text{inicial-SS}}$: Fracción inicial de carbono en los SS del BLL.

FC_{MCP} : Fracción de carbono en la mezcla de crudo maya parafinas (MCP).

$\beta^{a\text{dim}}$: Coeficiente adimensional de formación de producto no asociado al crecimiento:

f : Tortuosidad.

\mathfrak{V} : Fracción volumétrica de la fase líquida no acuosa con respecto al volumen de la fase líquida acuosa.

ε : Fracción volumétrica de la FLNA en el volumen total del BLL

ξ : Porosidad intrapartícula del suelo (adimensional)

ξ_{eff} : Eficiencia de extracción de hidrocarburos líquido-líquido

γ : Concentración de HTPs adsorbidos en el suelo

$K_{af}^{a\text{dim}}$: Constante adimensional de afinidad de adsorción de los HTPs al suelo

$K_H^{a\text{dim}}$: Constante adimensional de afinidad del consorcio por los hidrocarburos

$K_l^{a\text{dim}}$: Constante adimensional de afinidad del consorcio por el oxígeno

n : Orden de desaparición abiótico de hidrocarburos.

η_{eff} : Factor de efectividad.

ω_{CO_2} : Concentración adimensional de dióxido de carbono

ω_H : Concentración adimensional de hidrocarburos solubles

ω_{Hs} : Concentración adimensional de hidrocarburos solubles en el poro de la partícula.

ω_{HTPs}^{total} : Concentración adimensional de hidrocarburos en las partículas de suelo

ω_l : Concentración adimensional de oxígeno disuelto

ω_{sol} : Concentración adimensional de compuestos solubles

Ψ : Concentración adimensional de saturación de hidrocarburos.

φ_{O_2} : Rendimiento adimensional de oxígeno/hidrocarburos:

Ω_{FLNA} : Masa adimensional de hidrocarburos en el BLL (masa FLNA)

τ : Tiempo adimensional

ψ : Radio adimensional de la partícula de suelo

χ : Concentración adimensional de biomasa ó sólidos suspendidos

GRUPOS ADIMENSIONALES

Bi_m : Biot de masa.

B_n : Número de biodisponibilidad

B_{nI} : Número de biodisponibilidad tipo I (relacionado al transporte convectivo)

B_{nII} : Número de biodisponibilidad tipo II (relacionado al transporte difusivo)

N_p : Número de potencia.

N_a : Número de aireación.

N_{Re} : Número de Reynolds.

φ : Número de carga.

\aleph : Número de Transporte

η : Modulo de re-adsorción

ANEXO II. Programas en *Matlab* para la solución numérica de los modelos

Para la resolución numérica de los modelos, se desarrollaron un total de cuatro programas en lenguaje *Matlab*. Al modelo de degradación de hidrocarburos en los BLL, corresponden los programas BLLeq.m y BLL.m, mientras que para el modelo DSB, los programas BLDeq.m y BLD.m. En ambos modelos, los programas "__eq.m", contienen los sistemas de EDOs y sus ecuaciones algebraicas asociadas, mientras que los otros dos programas, resuelven los sistemas de ecuaciones (mediante RKF45), almacenan datos y construyen gráficas.

BLLeq.m

```
function dC=BLLeq(t,C);
%La siguiente subrutina, presenta las ecuaciones diferenciales
dimensionales del sistema
%para la degradación de hidrocarburos en liquido donde C(1) corresponde a
la función de
%fracción volumétrica de hidrocarburos F; C(2) corresponde a los HTPs en
la FLA (CH);
%C(3) corresponde a la biomasa del consorcio o sólidos suspendidos (Xss)
%C(4) corresponde al dióxido de carbono producido (CCO2); C(5) a los
compuestos
%solubles formados (Csol) y C(6) al oxigeno disuelto(CL).

%PARAMETROS DEL MODELO

VFLA=2; %Volumen de la fase acuosa en litros(L)
mFLNAo=12835*VFLA; %Masa de la FLNA ó mezcla de hidrocarburos a t=0 (mg)
densFLNA=941000; %densidad de la FLNA (mg/L)
clsat=5; %Concentración saturación de oxígeno (mg/L)
cH0sat=4.0; %Concentración saturación de hidrocarburos FLNA a t=0
fcsol=0.75; %Fracción de carbono en compuestos solubles(mg/L)
k=4.2e-130; %Velocidad específica de desaparición abiótica de
%hidrocarburos (Ln-1/mgn-1 h)
n=32.15; %Orden de desaparición abiótica de hidrocarburos
KH=1.00; %Constante de afinidad HTPs (mg/L=1)
Kl=0.048; %Constante de afinidad O2 (mg/L)
umax=0.055; %Tasa específica máxima de crecimiento (hr-1
%0.05<u<0.03=0.0055)
alfa=0.2; %Término de formación de producto (solubles) asociado
al crecimiento (Leudeking & Piret; mg/mg)
beta=0.001; %Término de formación de producto no asociado
%(solubles)alcrecimiento (Leudeking & Piret; mg/mg h)
gamma=0.01; %Término de solubilidad de saturación de la mezcla de
%hidrocarburos (h-1=0.01)
kLa=17; %Coeficiente volumetrico de transporte de O2 (hr-1)
kLaH=27; %Coeficiente volumetrico de transporte de HTPs (hr-1)
```

```

Yxh=0.42;           %Rendimiento de biomasa por gramo de HTPs (mg/mg)
YxO2=0.338;        %Rendimiento de biomasa por oxígeno (mg/mg)
YCO2h=1.8;         %Rendimiento de CO2 por hidrocarburos (mg/mg)
YCO2x=YCO2h/Yxh;   %Rendimiento de CO2 por biomasa (mg/mg)
Ysolh=0.27;        %Rendimiento de solubles por gramo de HTPs (mg/mg)

```

```

%SISTEMA DE ECUACIONES DIFERENCIALES (MODELO)

```

```

dC=zeros(7,1);
u=umax*(C(2)/(C(2)+KH))*(C(6)/(C(6)+Kl));
dC(1)=-real((kLaH/densFLNA)*(C(7)-C(2))+k*densFLNA^(n-1)*C(1)^n);
dC(2)=kLaH*(C(7)-C(2))-(u*C(3))/Yxh;
dC(3)=u*C(3);
dC(4)=u*C(3)*YCO2x;
dC(5)=(alfa*u+beta)*C(3);
dC(6)=kLa*(clsat-C(6))-(u*C(3))/YxO2;
dC(7)=-gamma*C(7);

```

BLL.m

```

function []=BLL();
%Este programa resuelve el sistema de ecuaciones diferenciales del modelo
%de la degradación de hidrocarburos en un sistema de dos fases (FLNA y
%FLA) para un BLL, mediante el algoritmo de Runge Kutta-Corrector de
%cuarto orden
disp('El siguiente programa, resuelve el sistema de ecuaciones
diferenciales ');
disp('para la degradación de una mezcla de hidrocarburos en un sistema
heterogéneo');
disp('de dos fases inmiscibles, una acuosa y otra orgánica de un BLL');
disp('Los valores de los parámetros y el sistema de ecuaciones
diferenciales deben de ser');
disp('cambiados en los archivos bll.m y bllec.m');
disp(' ');
b=input('Introduzca el limite superior del tiempo ');

```

```

%PARAMETROS DEL MODELO

```

```

VFLA=2;           %Volumen de la fase acuosa en litros(L)
mFLNAo=12835*VFLA; %Masa de la FLNA ó mezcla de hidrocarburos a t=0 (mg)
densFLNA=941000;  %densidad de la FLNA (mg/L)
clsat=5;          %Concentración saturación de oxígeno (mg/L)
ch0sat=4.0;       %Concentración saturación de hidrocarburos FLNA a t=0
fcsol=0.75;       %Fracción de carbono en compuestos solubles(mg/L)
k=4.2e-130;       %Velocidad específica de desaparición abiótica de
                  %hidrocarburos (Ln-1/mgn-1 h)
n=32.15;          %Orden de desaparición abiótica de hidrocarburos
KH=1.00;          %Constante de afinidad HTPs (mg/L=1)
Kl=0.048;         %Constante de afinidad O2 (mg/L)
umax=0.055;       %Tasa específica máxima de crecimiento (hr-1
                  %0.05<u<0.03=0.0055)
alfa=0.2;         %Término de formación de producto (solubles) asociado
                  %al crecimiento (Leudeking & Piret; mg/mg)

```

```

beta=0.001;          %Término de formación de producto no asociado
                    % (solubles)alcrecimiento (Leudeking & Piret; mg/mg h)
gamma=0.01;         %Término de solubilidad de saturación de la mezcla de
                    %hidrocarburos (h-1=0.01)
kLa=17;             %Coeficiente volumetrico de transporte de O2 (hr-1)
kLaH=27;           %Coeficiente volumetrico de transporte de HTPs (hr-1)
Yxh=0.42;          %Rendimiento de biomasa por gramo de HTPs (mg/mg)
YxO2=0.338;        %Rendimiento de biomasa por oxígeno (mg/mg)
YCO2h=1.8;         %Rendimiento de CO2 por hidrocarburos (mg/mg)
YCO2x=YCO2h/Yxh;  %Rendimiento de CO2 por biomasa (mg/mg)
Ysolh=0.27;        %Rendimiento de solubles por gramo de HTPs (mg/mg)

```

%Valores iniciales y máximos

```

Fo=mFLNAo/(VFLA*densFLNA);      %Valor inicial F sin dimensiones
cH0=0;                            %Valor inicial de la concentración
                                %hidrocarburos solubles
X0ss=750;                          %Valor inicial de la biomasa (mg/L)
c0CO2=0;                           %Valor inicial de CO2 (mg/L)
c0sol=1441;                         %Valor inicial de solubles (mg/L)
c0l=0;                              %Valor inicial de oxígeno (mg/L)
CapH0=mFLNAo/VFLA;

```

%MAXIMOS

```

XssMax=(mFLNAo*Yxh)/VFLA;
csolMax=(mFLNAo*Ysolh)/VFLA;
cCO2Max=(mFLNAo*YCO2h)/VFLA;

```

%Vector condiciones iniciales

```
Ca=[Fo cH0 X0ss c0CO2 c0sol c0l cH0sat];
```

%DATOS EXPERIMENTALES

```

%Tiempo de cada cinética en horas
timesim=[0 72 168 288 384 504];
%Numero de lote=8;
%LOTE (HI   HII   SSI  SSII  solI  solII CO2)
Lote=[12835 12835 750   750   1467  1414  0;
      12006 10050 1300  1100  1924  2712  1412;
      5942 5250  2350  1750  2586  3432  7493;
      5323 4800  3250  2600  3094  3743  12681;
      4776 4550  4050  4000  3486  3514  12871;
      3362 3150  4650  4750  4146  4435  13263];
%Esta parte realiza la INTEGRACION NUMERICA por Runge Kutta-corrector.

```

```
[t,C]=ode15s('bllec',[0 b],[Fo cH0 X0ss c0CO2 c0sol c0l cH0sat]);
```

%SOLUCIONES DIMENSIONALES Y ADIMENSIONALES DEL MODELO, SUS GRAFICAS Y

```

ARCHIVO DE ALMACENADO
tiempo=t;
thao=t*(kLa*kLaH)^0.5;

```

```

F=C(:,1);
mFLNA=densFLNA*VFLA*C(:,1);

```

```

CapH=densFLNA*C(:,1);
CapHadim=CapH*VFLA/mFLNAo;

Xss=C(:,3);
Xssadim=Xss/XssMax;

csol=C(:,5)/fcsol;
csoladim=csol/csolMax;

cCO2=C(:,4);
cCO2adim=cCO2/cCO2Max;

cH=C(:,2);
cHadim=cH/cH0sat;

cl=C(:,6);
cladim=cl/clsat;

cHsat=C(:,7);
cHsatadim=cHsat/cH0sat;

u=umax.*((cH./(cH+KH)).*(cl./(cl+KL)))/%.^0.5;
uoxig=umax.*(cl./(cl+KL));
rO2=uoxig.*Xss./YxO2;
rtrO2=kLa.*(clsat-cl);
DaI=u.*XssMax./(cH0sat.*Yxh.*(kLa*kLaH)^0.5);
DaOxig=rO2./rtrO2;
DaH=DaI.^2./DaOxig;
T=gamma/(kLa*kLaH)^0.5;
KL=(kLaH/kLa)^0.5;
R=DaI/T;

BLLnumyval=[tiempo u uoxig rO2 rtrO2 thao DaI DaOxig R];
BLLnumyval2=[T KL];
BLLdimensional=[tiempo CapH Xss csol cCO2 cH cl cHsat];
BLLadimensional=[thao CapHadim Xssadim csoladim cCO2adim cHadim cladim
cHsatadim];
BLLadimensional2=[tiempo CapHadim Xssadim cCO2adim DaI];

save BLLadim BLLadimensional -ascii;
save BLLadim2 BLLadimensional2 -ascii;
save BLLdim BLLdimensional -ascii;
save BLLnumeros BLLnumyval BLLnumyval2 -ascii;

figure
plot(tiempo,CapH,'-k'...
,tiempo,Xss,'-b'...
,tiempo,csol,'-g'...
,tiempo,cCO2,'-r'...
,timesim,Lote(:,1),'sk'...
,timesim,Lote(:,2),'sk'...
,timesim,Lote(:,3),'db'...
,timesim,Lote(:,4),'db'...
,timesim,Lote(:,5),'^g'...
,timesim,Lote(:,6),'^g'...
,timesim,Lote(:,7),'hr'...

```

```

        , 'Markersize', [10]);
title('SIMULACIÓN(dimensional)', 'Fontname', 'times new
roman', 'FontSize', [12]);
legend('CapHidr', 'Xss', 'cCO2', 'csol');
xlabel('t (hrs)', 'FontSize', [9]); ylabel('CapHidr, Xss, cCO2, csol (mg/L)', 'Fon
tName', 'times new roman', 'FontSize', [11]);
grid on;

figure
plot(tiempo, cH, '-ok', tiempo, cHsat, '-<r', tiempo, cl, '-
>b', 'Markersize', [10]);
title('cH solubles, cHsat y cl (dimensional)', 'Fontname', 'times new
roman', 'FontSize', [12]);
legend('cH solubles', 'cHsat', 'cl');
xlabel('t (hrs)', 'FontSize', [9]); ylabel('cH, cl y
cHsat (mg/L)', 'FontName', 'times new roman', 'FontSize', [11]);
grid on;

figure
plot(tiempo, CapHadim, '-sk'...
    , tiempo, Xssadim, '-db'...
    , tiempo, csoladim, '-^g'...
    , tiempo, cCO2adim, '-hr'...
    , 'Markersize', [10]);
title('SIMULACIÓN(adimensional)', 'Fontname', 'times new
roman', 'FontSize', [12]);
legend('CapHadim', 'Xssadim', 'cCO2adim', 'csoladim');
xlabel('t (hrs)', 'FontSize', [9]); ylabel('CapHidr, Xss, cCO2, csol (mg/L)', 'Fon
tName', 'times new roman', 'FontSize', [11]);
grid on;

figure
plot(tiempo, cHadim, '-ok', tiempo, cHsatadim, '-<r', tiempo, cladim, '-
>b', 'Markersize', [10]);
title('cH solubles, cHsat y cl (adimensional)', 'Fontname', 'times new
roman', 'FontSize', [12]);
legend('cHsoladim', 'cHsatadim', 'cladim');
xlabel('t (hrs)', 'FontSize', [9]); ylabel('cH, cl y
cHsat (mg/L)', 'FontName', 'times new roman', 'FontSize', [11]);
grid on;

figure
plot(tiempo, DaI, '-<r', 'Markersize', [10]);
title('DaI', 'Fontname', 'times new roman', 'FontSize', [12]);
legend('DaI');
xlabel('t (hrs)', 'FontSize', [9]); ylabel('DaI', 'FontName', 'times new
roman', 'FontSize', [11]);
grid on;

figure
plot(tiempo, Daoxig, '->k', 'Markersize', [10]);
title('Daoxig', 'Fontname', 'times new roman', 'FontSize', [12]);
legend('Daoxig');
xlabel('t (hrs)', 'FontSize', [9]); ylabel('Daoxig', 'FontName', 'times new
roman', 'FontSize', [11]);
grid on;

```

```

figure
plot(tiempo, DaH, '->b', 'Markersize', [10]);
title('DaH', 'Fontname', 'times new roman', 'FontSize', [12]);
legend('DaH');
xlabel('t (hrs)', 'FontSize', [9]); ylabel('DaH', 'FontName', 'times new
roman', 'FontSize', [11]);
grid on;

```

```
%CICLO 1
```

```

Lote=[16753 16753 600 550 1646 1477 0;
      16078 14000 750 850 1858 2082 293;
      13417 12500 1650 1518 1974 2727 753;
      12591 11850 2400 2300 2213 2687 909;
      11786 11350 3150 3050 2377 2923 1704;
      11197 10750 3800 3500 2441 3059 1812];

```

```
%CICLO 2
```

```

Lote=[15670 15670 600 600 1355 1434 0;
      13140 11150 1150 1100 1856 2626 2534;
      11664 10800 1850 1750 2326 2774 3384;
      10478 9800 2950 2550 2658 3043 4088;
      9209 8850 3700 3350 2867 3033 4261;
      8569 8200 4150 3850 3001 3099 4565];

```

```
%CICLO 3
```

```

Lote=[15000 15000 900 750 1429 1306 0;
      13707 11700 1350 1050 1827 2274 455;
      11200 10350 2200 2000 2842 2858 1091;
      10478 9800 3000 2900 3114 3386 1868;
      9363 9000 3950 3650 3468 3832 2715;
      7847 7500 4550 4350 4137 4364 3805];

```

```
%CICLO 4
```

```

Lote=[13969 13969 950 700 1365 1438 0;
      11336 9400 1500 1300 1982 2619 746;
      8365 7600 2250 2300 2670 4009 4068;
      6664 6100 3250 3150 3229 4196 8645;
      4466 4250 4100 4050 3565 4526 11157;
      3826 3600 4550 4800 4245 4455 11594];

```

```
%CICLO 5
```

```

Lote=[12732 12732 850 650 1397 1830 0;
      12006 10050 1550 1350 1470 3549 365;
      7334 6600 2300 2200 2781 3862 2117;
      6303 5750 3150 3050 3174 4059 8155;
      5188 4950 3950 4000 3441 4357 8463;
      3826 3600 4550 4650 4343 4357 8912];

```

```
%CICLO 6
```

```

Lote=[13196 13196 800 700 1348 1424 0;
      11233 9300 1400 1150 1850 2250 518;
      7437 6700 2200 2100 2788 3494 4745;
      5530 5000 3300 3000 3238 3816 8716;
      4466 4250 4000 3900 3622 4147 8910;
      4033 3800 4500 4700 4151 4543 10117];

```

```
%CICLO 7
```

```
Lote=[13144 13144 700 600 1373 1337 0;
      11336 9400 1350 1050 1875 2025 764;
      5891 5200 2200 1900 2865 3559 4608;
      5117 4600 3250 2850 3238 3853 9885;
      4518 4300 4050 3800 3602 3698 10037;
      3775 3550 4500 4500 4148 4352 10802];
```

```
%CICLO 8
```

```
Lote=[12835 12835 750 750 1467 1414 0;
      12006 10050 1300 1100 1924 2712 1412;
      5942 5250 2350 1750 2586 3432 7493;
      5323 4800 3250 2600 3094 3743 12681;
      4776 4550 4050 4000 3486 3514 12871;
      3362 3150 4650 4750 4146 4435 13263];
```

BLDeq.m

```
function dw=BLDeq(thao,w);
```

```
    %NUMERO DE INTERVALOS EN LA VARIABLE ESPACIAL Y TAMAÑO DE PASO
```

```
N=30;
```

```
hr=1/N;
```

```
    %PARAMETROS
```

```
ms=1;
```

```
    %carga de suelo (kg)
```

```
dens=1669;
```

```
    %densidad partícula de suelo (kg/m3)
```

```
Vp=0.06;
```

```
    %volumen de poros en cm3/gsuelo
```

```
Vlodo=0.003;
```

```
    %volumen del lodo (m3)
```

```
Eps=Vp*dens/1000;
```

```
    %Porosidad intrapartícula
```

```
kL=3.5e-2;
```

```
    %coeficiente convectivo (m h-1)
```

```
umax=0.5;
```

```
    %tasa máxima de crecimiento (h-1)
```

```
qo=169182;
```

```
    %concentración inicial en suelo de HTPs
```

```
    %(mgHTPs kg-1)
```

```
qmax=qo/18;
```

```
    %máxima adsorción Langmuir (mgHTPs kg-1)
```

```
Deff=2.32e-6*Eps*0.66;
```

```
    %difusividad efectiva (m2 h-1)
```

```
R=6.25e-4;
```

```
    %radio de la partícula de suelo (m)
```

```
cHsat=27;
```

```
    %concentración saturación HTPs (mg/m3)
```

```
Kd=qo/cHsat;
```

```
    %coeficiente de reparto lineal (m3/kg)
```

```
Kaf=200.0;
```

```
    %coeficiente de afinidad HTPs por el suelo
```

```
    %(mg/m3)
```

```
KH=50.0;
```

```
    %coeficiente de afinidad consorcio HTPs
```

```
    %(mg/m3)
```

```
    %ADIMENSIONALES
```

```
thiele=R*(umax/Deff)^0.5;
```

```
Bim=kL*R/Deff;
```

```
DaI=umax*R/(kL);
```

```
Numcarga=3*ms/(dens*Vlodo-ms);
```

```
modads=(qmax/qo);
```

```
Kafadim=Kaf/(qo*dens);
```

```
KHadim=KH/(qo*dens);
```

```
    %SISTEMA DE ECUACIONES DIFERENCIALES
```



```

%Aquí N es el número de intervalos en que se discretizo el radio de la
%partícula donde w es la concentración
%adimensional de HTPs como f(tiempo,radio partícula suelo)y donde "i"
%(1<i<N) es el i-esimo intervalo
%de la variable radial discretizada, mientras que la derivada N+1 se
%refiere a la concentración de HTPs
%en el seno del fluido. Es muy importante darse cuenta, que la C.F.II
%conecta la concentración de HTPs al
%interior y exterior de la partícula.

```

```
dw=zeros(N+2,1);
```

```
%CONDICION FRONTERA I (centro de la partícula PHI=0)
```

```
w0=w(1);
```

```
i=1;
```

```
dw(i)=(1/thiele^2)*(((i+1)*w(i+1)-2*i*w(i)+(i-...
1)*w0)/(i*hr^2))*(((Kafadim+w(i))^2/(Eps*(Kafadim+w(i))^2+(1-...
Eps)*modads*Kafadim)));
```

```
%INTERIOR DE LA PARTICULA DE SUELO
```

```
for i=2:N-1;
```

```
dw(i)=(1/thiele^2)*(((i+1)*w(i+1)-2*i*w(i)+(i-1)*w(i-...
1))/i*hr^2))*(((Kafadim+w(i))^2/(Eps*(Kafadim+w(i))^2+(1-...
Eps)*modads*Kafadim)));
```

```
end
```

```
%CONDICION FRONTERA II (radio externo de la partícula PHI=1)
```

```
i=N;
```

```
wintfase=w(i)-Bim*hr*(w(i)-w(N+1));
```

```
dw(i)=(1/thiele^2)*(((i+1)*wintfase-2*i*w(i)+(i-1)*w(i-...
1))/i*hr^2))*(((Kafadim+w(i))^2/(Eps*(Kafadim+w(i))^2+(1-...
Eps)*modads*Kafadim)));
```

```
%FUERA DE LA PARTICULA DE SUELO (SENO DEL FLUIDO)
```

```
dw(N+1)=(Numcarga/DaI)*(w(N)-w(N+1))-w(N+1)/(KHadim+w(N+1))*w(N+2);
```

```
dw(N+2)=(w(N+1)/(KHadim+w(N+1)))*w(N+2);
```

BLD .m

```
function []=BLD
```

```
    %NUMERO DE INTERVALOS EN LA VARIABLE ESPACIAL Y TAMAÑO DE PASO
```

```
N=50;
```

```
hr=1/N;
```

```
    %PARAMETROS
```

```
ms=1;
```

```
dens=1669;
```

```
Vp=0.06;
```

```
Vlodo=0.003;
```

```
Eps=Vp*dens/1000;
```

```
kL=3.5e-2;
```

```
    %carga de suelo (kg)
```

```
    %densidad partícula de suelo (kg/m3)
```

```
    %volumen de poros en cm3/gsuelo
```

```
    %volumen del lodo (m3)
```

```
    %Porosidad intrapartícula
```

```
    %coeficiente convectivo (m h-1)
```

```

umax=0.5; %tasa máxima de crecimiento (h-1)
qo=169182; %concentración inicial en suelo de HTPs
           % (mgHTPs kg-1)
qmax=qo/18; %máxima adsorción Langmuir (mgHTPs kg-1)
Deff=2.32e-6*Eps*0.66; %difusividad efectiva (m2 h-1)
R=6.25e-4; %radio de la partícula de suelo (m)
cHsat=27; %concentración saturación HTPs (mg/m3)
Kd=qo/cHsat; %coeficiente de reparto lineal (m3/kg)
Kaf=200.0; %coeficiente de afinidad HTPs por el suelo
           % (mg/m3)
KH=50.0; %coeficiente de afinidad consorcio HTPs
          % (mg/m3)

```

%RENDIMIENTOS Y CONCENTRACION INICIAL BIOMASA

```

YxH=0.45; %rendimiento biomasa-HTPs (g/g)
YCO2H=1.5; %rendimiento CO2-HTPs (g/g)
YsolH=0.75; %rendimiento sol-HTPs (g/g)
xo=198e3; %concentración biomasa inicial (mg/m3)

```

%ADIMENSIONALES

```

thiele=R*(umax/Deff)^0.5;
Bim=kL*R/Deff;
DaI=umax*R/(kL);
Numcarga=3*ms/(dens*Vlodo-ms);
modads=(qmax/qo);
Kafadim=Kaf/(qo*dens);
KHadim=KH/(qo*dens);

```

```

DIMENSIONAL=[thiele Bim DaI modads Numcarga];

```

```

disp('TABLA VALORES NUMEROS ADIMENSIONALE PARA LA SIMULACION');
disp(' ');
disp(' thiele      Bim      DaI      Modads      Numcarga');
disp(DIMENSIONAL);
disp(' ');

```

%DATOS EXPERIMENTALES NORMALIZADOS DE LAS CINETICAS

```

time0=[0 168 288 456 600 720];
qexp0=[1 0.9761 0.9509 0.9342 0.9313 0.9310];

timetol=[0 144 360 528 720];
qexptol=[1 0.876 0.810 0.789 0.767];

```

%SOLUCION NUMERICA MODELO ADIMENSIONAL

```

topBLD=input('Tiempo de operación del BLD en horas ');
b=topBLD*umax;

%Construye el vector de condiciones iniciales para el modelo adimensional
for i=1:N
    wini(i)=cHsat/(dens*qo);
end
wini(N+1)=0; %Condición inicial para wH

```

```

wini(N+2)=xo/(YxH*dens*qo); %condición inicial para X(thao=0)

%Esta parte realiza la INTEGRACION NUMERICA por ode23s (Runge Kutta
%corrector-predicto)
%en donde "w" corresponde a wHs=f(thao,phi)del modelo adimensional

[thao,w]=ode23s('BLDeq',[0 b],wini);
M=length(thao);
wHs=w(1:M,1:N);
wH=w(:,N+1);
wx=w(:,N+2);
wprod=w(:,N+2)-xo/(YxH*dens*qo); %biomasa, CO2 y Solubles

%Estima numericamente la integral para determinar wHs(thao)a lo largo de
la partícula de suelo, y
%a partir de ella estiam wHTPstot(thao)y gamma(thao)
for i=1:N
    for j=1:M
        I(j,i)=3*i^2*wHs(j,i)*hr^3;
    end
end
wHsthao=(sum(I'))';
wHTPstot=(dens*(1-Eps)*Kd+Eps)*wHsthao;
gamma=(Kd*dens+(Eps/(1-Eps)))*wHsthao;

%CONVERSION A VALORES DIMENSIONALES, CONSTRUCCION DE GRAFICAS Y ARCHIVOS
DE DATOS

%Construye el vector dimensional del tiempo(h)
tiempo=thao/umax;

%Construye el vector dimensional del radio de la partícula (m)
r(1)=0;
for i=2:N
    r(i)=i*(1/(N))*R;
end
radio=r';

%Construye los datos dimensionales
tiempo;
radio=r';
cHs=qo*dens*wHs/1000; % (mg/L)
cHst=qo*dens*wHsthao/1000; % (mg/L)
cHTPstot=qo*dens*wHTPstot/1000; % (mg/L)
q=qo*gamma; % (mg/kg)
qadim=q/max(q); %sin dimensiones
cH=qo*dens*wH/1000; % (mg/L)
x=qo*dens*YxH*wx/1000; % (mg/L)
cCO2=qo*dens*YCO2H*wprod/1000; % (mg/L)
csol=qo*dens*YsolH*wprod/1000; % (mg/L)

%VECTOR SOLUCIÓN DIMENSIONAL DEL MODELO

solucion=[tiempo cHs qadim cHst cH x cCO2];
cHstr=cHs';

```

```

%Construye los perfiles temporales de cHs(t,r) al interior de la
partícula
figure;
for i=1:N
    plot(tiempo,cHs(:,i),'-pr');
    hold on;
end
title('Perfiles temporales de cHs(t,r) al interior de la
partícula','FontSize',[15]);
xlabel('tiempo (h)','FontSize',[13]); ylabel('cHs(t,r) en
mg/L','FontSize',[13]);

%Construye los perfiles radiales de cHs(t,r) al interior de la partícula
figure;
for j=1:10:M
    plot(r,cHs(1:j,1:N),'-hk');
    hold on;
end
title('Perfiles radiales de cHs(t,r) al interior de la
partícula','FontSize',[15]);
xlabel('radio partícula suelo (m)','FontSize',[13]); ylabel('cHs(t,r) en
mg/L','FontSize',[13]);

%Construye la solución tridimensional de la cHs(t,r) al interior de la
partícula
figure;
contour(r,tiempo,cHs(1:M,1:N),100);
surface(r,tiempo,cHs(1:M,1:N),'LineStyle','none');
colormap(hsv);
grid on;
material metal;
lighting gouraud;
title('"cHst(t,r) en 3D"', 'FontSize', [15]);
xlabel('radio de la partícula
(m)', 'FontSize', [13]); ylabel('tiempo (h)', 'FontSize', [13]); zlabel('cHs en
mg/L', 'FontSize', [13]);
rotate3d on;

%Construye la gráfica de la cHs(t) en toda la partícula
figure;
plot(tiempo,cHst,'-dk');
title('cHs(t) en toda la partícula','FontSize',[12]);
xlabel('tiempo (h)','FontSize',[13]); ylabel('cHs en
mg/L','FontSize',[13]);

%Construye la gráfica de la cHTPstot(t) en toda la partícula como función
del tiempo
figure;
plot(tiempo,cHTPstot,'-pk');
title('cHTPstot(t) en toda la partícula','FontSize',[12]);
xlabel('tiempo (h)','FontSize',[13]); ylabel('cHTPstot en
mg/L','FontSize',[13]);

%Construye la gráfica de la q(t) como función del tiempo
figure;
plot(tiempo,q,'-pk');
title('q(t) en toda la partícula','FontSize',[12]);

```

```

xlabel('tiempo (h)', 'FontSize', [13]); ylabel('q en
mg/kg', 'FontSize', [13]);

%Construye la gráfica de la cH(t) en el seno de la fase acuosa
figure;
plot(tiempo, cH, '-db');
title('cH(t) en el seno del fluido', 'FontSize', [12]);
xlabel('tiempo (h)', 'FontSize', [13]); ylabel('cH(t) en
mg/L', 'FontSize', [13]);

%Construye la gráfica de x(t) en el seno de la fase acuosa
figure;
plot(tiempo, x, '-db');
title('x(t) en el seno del fluido', 'FontSize', [12]);
xlabel('tiempo (h)', 'FontSize', [13]); ylabel('x(t) en
mg/L', 'FontSize', [13]);

%Construye la gráfica de cCO2 y csol en el seno de la fase acuosa
figure;
plot(tiempo, cCO2, '-dk');
title('cCO2(t) en el seno del fluido', 'FontSize', [12]);
xlabel('tiempo (h)', 'FontSize', [13]); ylabel('cCO2(t) en
mg/L', 'FontSize', [13]);

%Construye la gráfica qadim (valoración modelo sin tolueno)
figure;
plot(time0, qexp0, '-pk', timetol, qexptol, '-pk', tiempo, qadim, '-dr');
title('q(t)exp vs q(t)modelo', 'FontSize', [12]);
xlabel('tiempo (h)', 'FontSize', [13]); ylabel('q/qo ', 'FontSize', [13]);
axis([0 720 0.75 1]);

%Salva los datos en un archivo de texto que puede ser abierto por excel
save BLD r radio solucion cHstr -ascii;
save BLD2 solucion -ascii;

```

ANEXO III. Diferencias finitas en coordenadas cilíndricas y esféricas

Para la discretización del modelo DSB, se emplearon diferencias finitas centradas para la variable radial en coordenadas esféricas. A continuación, se describe la deducción de las fórmulas de diferencias centradas para la coordenada radial en el operador laplaciano tanto en coordenadas cilíndricas como en esféricas.

Para la coordenada radial en el operador laplaciano en coordenadas *cilíndricas*, se tiene:

$$\frac{1}{\psi} \frac{\partial}{\partial \psi} \left(\psi \frac{\partial \omega}{\partial \psi} \right) = \left(\frac{\partial^2 \omega}{\partial \psi^2} + \frac{1}{\psi} \frac{\partial \omega}{\partial \psi} \right) \text{----(A.IV.1)}$$

Por otra parte, las fórmulas básicas de diferencias centradas para las derivadas de primer y segundo orden, vienen dadas por:

$$\begin{aligned} \frac{\partial^2 \omega}{\partial \psi^2} &= \frac{\omega^{i+1} - 2\omega^i + \omega^{i-1}}{\Delta \psi^2} \\ \frac{\partial \omega}{\partial \psi} &= \frac{\omega^{i+1} - \omega^{i-1}}{2\Delta \psi} \end{aligned} \text{----(A.IV.2)}$$

Reconociendo que $\psi = i \cdot \Delta \psi$, substituyendo las ecuaciones (A.IV.2) en (A.IV.1), y realizando un poco de álgebra, se obtiene:

$$\left(\frac{\partial^2 \omega}{\partial \psi^2} + \frac{1}{\psi} \frac{\partial \omega}{\partial \psi} \right) = \frac{(2i+1)\omega^{i+1} - 4i\omega^i + (2i-1)\omega^{i-1}}{2i \cdot \Delta \psi^2} \text{----(A.IV.3)}$$

Así, (A.IV.3), es la fórmula de diferencia finita centrada para la coordenada radial en cilíndricas.

Para la coordenada radial en el operador laplaciano en coordenadas *esféricas*, se tiene:

$$\frac{1}{\psi^2} \frac{\partial}{\partial \psi} \left(\psi^2 \frac{\partial \omega}{\partial \psi} \right) = \left(\frac{\partial^2 \omega}{\partial \psi^2} + \frac{2}{\psi} \frac{\partial \omega}{\partial \psi} \right) \text{----(A.IV.4)}$$

Aplicando las fórmulas básicas de diferencias centradas para las derivadas de primer y segundo orden (A.IV.2), reconociendo al igual que en cilíndricas, que $\psi=i\cdot\Delta\psi$, y realizando un poco de álgebra, se obtiene:

$$\left(\frac{\partial^2 \omega}{\partial \psi^2} + \frac{2}{\psi} \frac{\partial \omega}{\partial \psi} \right) = \frac{(i+1)\omega^{i+1} - 2i\omega^i + (i-1)\omega^{i-1}}{i \cdot \Delta\psi^2} \text{ ----(A.IV.5)}$$

Así, (A.IV.5), es la fórmula de diferencia finita centrada para la coordenada radial en esféricas.